

综述

CAR-T细胞免疫疗法在肿瘤中的研究进展

王顺娜^{1,2}, 史婷婷^{1,2}, 伍 杨^{1,2}, 郑晓凤³, 张久聪^{1*}

(¹中国人民解放军联勤保障部队第九四〇医院消化内科, 兰州 730050; ²甘肃中医药大学第一临床医学院, 兰州 730000; ³兰州大学第二医院消化内科, 兰州 730030)

摘要: 血液系统恶性肿瘤疾病的治疗一直以来是研究的难点, 也是研究的热点。近年来, 随着嵌合抗原受体-T(chimeric antigen receptor-T, CAR-T)细胞免疫疗法的推进, 在白血病、骨髓瘤和非霍奇金B细胞淋巴瘤等血液系统恶性肿瘤中, 过继CAR-T细胞免疫疗法在难治性患者化疗方面表现出显著疗效。同时, 在实体肿瘤方面, CAR-T细胞免疫疗法也逐渐发展起来, 越来越深入临床研究。因此, 本文就近年来CAR-T细胞免疫疗法的机制、局限性及在肿瘤中的研究进展进行综述, 以供临床医生参考。

关键词: 嵌合抗原受体-T细胞; 免疫疗法; 局限性; 实体肿瘤

The research progress of CAR-T cellular immunotherapy in oncology

WANG Shunna^{1,2}, SHI Tingting^{1,2}, WU Yang^{1,2}, ZHENG Xiaofeng³, ZHANG Jiucong^{1*}

(¹Department of Gastroenterology, The 940th Hospital of Joint Logistic Support Force of PLA, Lanzhou 730050, China;

²The First Clinical College of Medicine, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

³Department of Gastroenterology, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China)

Abstract: The treatment of haematological malignant diseases has always been a difficult and hot research topic. In recent years, with the advancement of chimeric antigen receptor (CAR)-T cell immunotherapy, in haematological malignancies such as leukaemia, myeloma and non-Hodgkin's B-cell lymphoma, over-the-counter CAR-T cell therapies have demonstrated significant efficacy in chemotherapy for refractory patients. Meanwhile, in solid tumours, CAR-T cell immunotherapy has also been gradually developed and increasingly delved into clinical studies. Therefore, this work provides an overview of the mechanisms, limitations and research progress of CAR-T cell immunotherapy in oncology in recent years for clinicians' reference.

Key Words: chimeric antigen receptor-T cell; immunotherapy; limitations; solid tumours

肿瘤是当今世界一个重要的健康问题, 发病率和死亡率都在逐年增加。传统治疗, 包括手术、放疗和化疗在内的治疗方式有很大缺点, 许多转移性复发性肿瘤患者仍然面临着令人沮丧的结

果^[1,2]。因此, 一种广泛成功的抗肿瘤细胞免疫治疗方法包括工程免疫细胞表达能够识别肿瘤细胞表面表达的抗原, 并摧毁其表面受体。随后, 基因修饰的免疫细胞通过嵌合抗原受体(chimeric

收稿日期: 2024-02-29

基金项目: 甘肃省青年科技基金项目(23JRRA1673); 联勤保障部队第九四〇医院拔尖项目(2021yxky002); 中央高校优秀青年团队培育项目(31920220065); 兰州市青年科技人才创新重点项目(2023-2-29)

第一作者: E-mail: 2251080082@qq.com

*通信作者: E-mail: zhangjiucong@163.com

antigen receptor, CAR)细胞定向到肿瘤细胞。目前, 批准的嵌合抗原受体-T(chimeric antigen receptor-T, CAR-T)细胞治疗靶点多为血液系统恶性肿瘤疾病, 对于实体肿瘤而言, 由于局限性的存在, 在治疗方面仍面临巨大挑战。因此未来需要投入更多的时间和精力探索新的CAR-T, 在结构上进一步改进, 实现更精准的靶向治疗。随着对自然杀伤细胞(natural killer, NK)和巨噬细胞(macrophage, M)突出特征的深入研究, 研究重点已从CAR-T扩展到嵌合抗原受体-自然杀伤细胞(chimeric antigen receptor-natural killer, CAR-NK)和嵌合抗原受体-巨噬细胞(chimeric antigen receptor-macrophage, CAR-M)细胞免疫疗法^[3,4]。在这里, 我们主要讨论了CAR-T细胞免疫疗法的局限性及其在肿瘤治疗中的研究进展。

1 CAR受体的分子结构

CAR-T细胞是人工产生的转基因细胞, 其基本结构是细胞外抗原识别结构域、间隔区结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域。抗原识别结构域, 通常由抗体衍生的单链变量片段(single-chain fragment variable, scFv)或重链单域抗体可变片段(variable domain of heavy chain of heavy-chain antibody, V_HH)组成。间隔区结构域具有可变的长度、构型和灵活性, 将抗原识别结构域连接到跨膜结构域。跨膜结构域将CAR牢固地锚定在磷脂双层细胞膜中, 并与细胞内的人工免疫受体连接。细胞内共刺激结构域和信号传导结构域通过信号级联将激活信号传递至细胞内, 以激活下游信号传导, 从而产生如细胞溶解、细胞因子分泌和增殖等各种效应功能。

衍生自CD8 α 、CD28和免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)铰链区的各种蛋白质亚基也与IgG CH2和CH3结构域和其他结构域组合, 被用作间隔结构域。最常用的跨膜结构域来源于CD8 α 和CD28^[5]。细胞内信号结构域通常包含一个或多个共刺激结构域和一个信号结构域。共刺激结构域主要来源于两个家族, 即以CD28和可诱导共刺激分子(inducible costimulator, ICOS)为代表的免疫球蛋白超家族, 以及以4-1BB、OX40和CD27为代表的肿瘤坏死因子受体超家族(tumour necrosis factor receptor superfamily, TNFR)。信号结构域主要来源于CD3 ζ 链, 而DAP12(NK细胞受体膜相关的同源二聚体)等替代信号结构域已被使用^[6](图1)。

2 CAR受体的进化

在CAR设计的进化过程中, 细胞内信号结构域的数量在后代中增加, 以增强CAR-T细胞的效力和持久性。第1代CAR仅具有细胞内CD3 ζ 信号模块, 其中信号传输过于简单且无效^[7]。第2代CAR将共刺激结构域(如CD28或4-1BB)与CD3 ζ 分子整合, 在细胞增殖和衰老方面表现出显著改善^[8]。第3代的CAR同时包含2种不同的共刺激信号, 如CD28和4-1BB。第四代CAR构建体可以结合4个信号结构域, 可以结合诱导型自杀开关(iCasp9)^[9], 或者可以在含有活化T细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)、核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)或AP-1响应元件的诱导型启动子下以CAR激活依赖性方式有条件地分泌细胞因子如白介素-12(interleukin-12, IL-12)^[10]。TRAC基因座的位点特异性CAR转基因整合导致CD3复合物的功能破坏[T细胞受体(T cell receptor, TCR)敲除, 移植

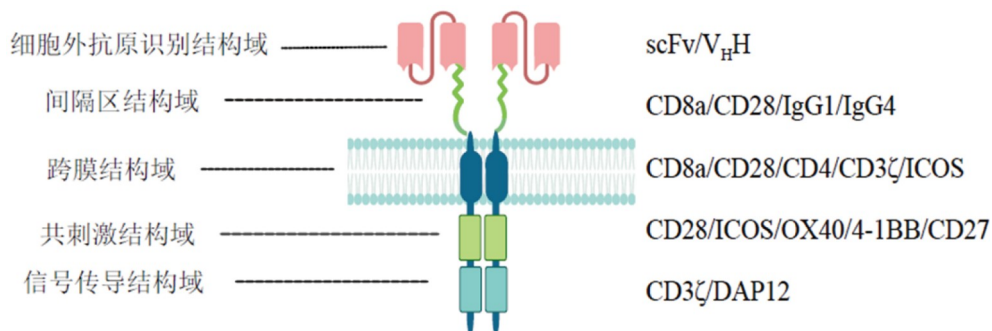


图1 CAR受体的分子结构

物抗宿主病(graft versus host disease, GVHD)的消除], 并可能促进更生理化的CAR表达^[11], 可被视为第五代CAR-T技术。此外, 允许JAK/STAT通路激活的IL-2受体 β (IL-2R β)信号的整合已被用于第五代CAR技术^[12], 大多数使用和验证的共刺激信号结构域包括CD28、4-1BB、OX40和CD27或其组合。CD3 ζ 链信号传导是迄今为止CAR受体最常见的信号传导成分(图2)。

3 CAR受体的功能及基本原理

3.1 功能

CAR架构及其模块定义了CAR受体的功能。表达CAR细胞的总体性能由细胞类型和细胞来源(NK细胞与T细胞)以及代表相互作用免疫受体多重性的免疫表型来决定^[13]。CAR的亚基与其主要和次要功能明显相关。CAR的主要功能和性能是抗原识别、表达CAR的细胞与靶细胞的结合、效应细胞的激活与极化、细胞裂解突触的形成、细胞毒性作用的启动以及由CAR介导的靶细胞凋亡的诱导, 以及基因表达的改变和持久的遗传印记。表达CAR细胞的次要功能因为时间的因素更复杂, 也更难评估。

3.2 基本原理

CAR受体的基本原理是使效应细胞(如T细胞、NK细胞), 与表达靶向抗原的靶细胞(例如CD19)特异性结合。通过识别并结合靶抗原, 表达CAR的细胞在距离靶细胞10~40 nm处紧密连接, 该距离与T细胞受体-抗原肽主要组织相容性复合体分子复

合物相互作用相当^[14]。CAR受体的构建方式是将激活信号转导到CAR-T细胞中, 在大多数情况下, 这通过CD3 ζ 链信号模拟TCR的反应。基本上, CAR受体的机械杠杆导致信号传导进入T细胞, 模拟TCR信号传导, 从而在几分钟内触发具有多种效应器功能的复杂下游信号机制^[15](图3)。因此, CAR正在劫持TCR的功能, 以不依赖主要组织相容性复合体的非限制性方式有效地靶向表面表达的抗原(图4)。

4 CAR-T细胞免疫疗法的局限性及解决方案

4.1 局限性

全球癌症发病率的增加带来了重大的经济和社会挑战。虽然CAR-T细胞免疫疗法在血液系统恶性肿瘤中取得了显著的成功, 并获得了美国食品药品监督管理局的批准, 但其在治疗实体肿瘤方面仍面临着重大的挑战。特别是, CAR-T细胞的生产成本高昂、劳动密集型且在物流方面具有挑战性; 此外, CAR-T细胞输注产生的毒性, 如细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)和免疫效应细胞相关神经毒性综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS), 已被广泛研究^[16]。在实体瘤中, CAR-T细胞对表达靶抗原的非肿瘤组织的识别, 往往导致临床严重的非肿瘤靶向毒性(on target, off-tumor toxicity, OTOT), 其需迫切解决, 以提高临床应用的安全性^[17]。

CAR-T细胞的持久性对维持患者的临床反应至

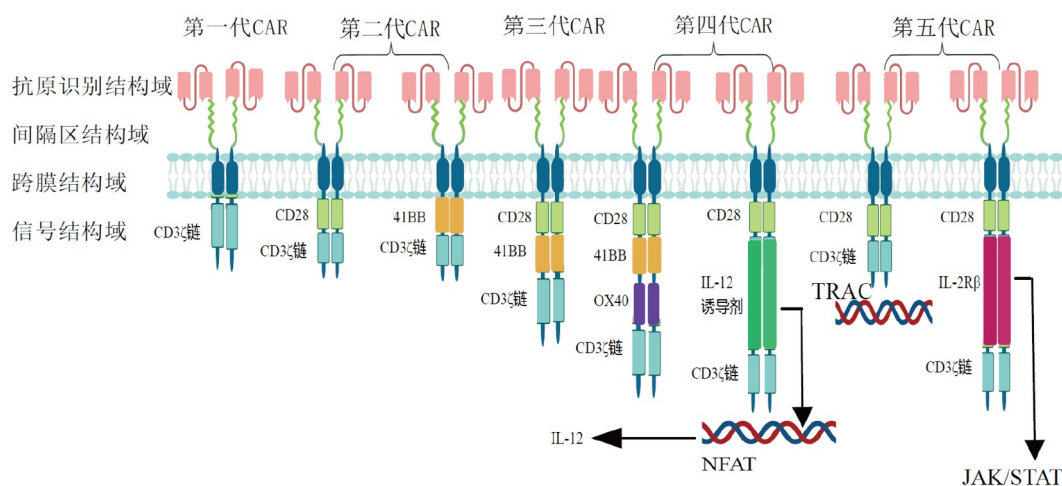


图2 CAR受体的进化

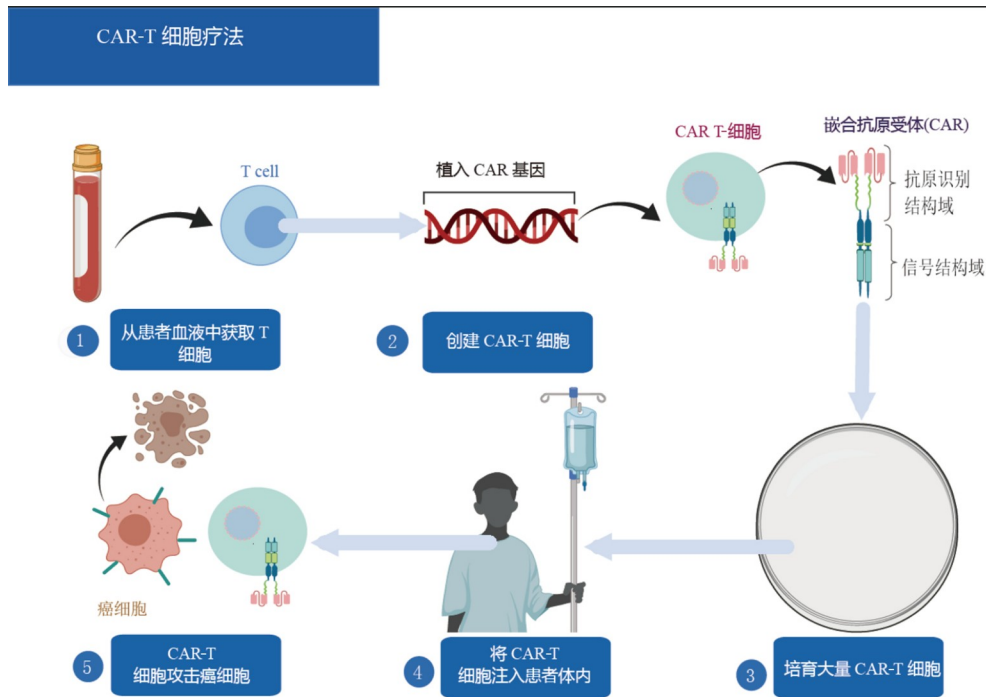


图3 CAR受体的构建

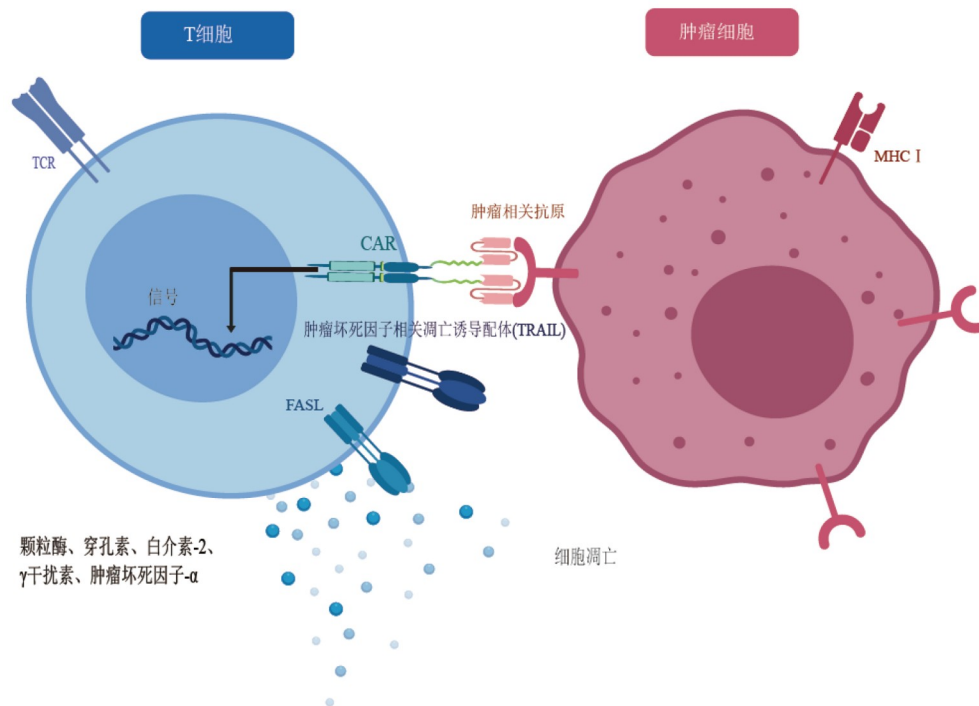


图4 CAR的作用原理

关重要。CAR-T细胞的增殖能力和持久性与输入产物的记忆状态呈正相关。然而，T细胞衰竭、毒性和肿瘤微环境(tumour microenvironment, TME)限制了其在实体肿瘤中的疗效。其中，TME带来

了许多挑战，可能会降低CAR-T细胞在患者中的疗效^[18]。因此，克服抑制性TME被认为是改善CAR-T细胞治疗的主要挑战。有研究表明，DNA甲基转移酶3α可以在表观遗传学上沉默编码转录

因子7和淋巴细胞增强子结合因子1的基因组位点,这2种基因对于在长时间抗原刺激后维持记忆T细胞特性至关重要^[19],具有改善CAR-T治疗的潜力,未来需深入探索。

CAR-T细胞是工程化的T细胞,使用重组受体进行靶抗原识别,并以主要组织相容性复合体不受限制的方式发挥有效的抗肿瘤反应。除了上述不足之外,有证据表明,代谢重编程或肿瘤内代谢需求的干扰是导致T细胞抗肿瘤活性降低的原因^[20]。改善T细胞的代谢适应度大大增强了它们的持久性和抗肿瘤活性,这些代谢药物的功效正在临床评估中。人们正在寻求新的途径来塑造TME的代谢特征,并调整CAR-T细胞的代谢状态,以克服现有的障碍^[21]。

4.2 解决方案

尽管目前提高CAR-T细胞疗效和特异性的策略很有前景,但其也有自身的局限性,因此有必要开发新的基因工程策略。Khanali等^[22]研究发现,通过利用细胞内JAK/STAT信号通路识别肿瘤相关抗原,从而提高CAR-T细胞的效力和特异性。此外,这种新一代CAR-T细胞还能分泌针对癌症相关成纤维细胞的双特异性T细胞吞噬因子,从而减少肿瘤转移和血管生成,增加T细胞浸润。Cappuzzello等^[23]研究表明,针对CRS和ICANS,可以通过细胞因子诱导的杀伤细胞等替代细胞疗法产品可能克服其中的一些障碍。Mulgaonkar等^[24]的研究表明,免疫正电子发射断层扫描和单光子发射计算机断层扫描的分子成像模式为纵向检测体内目标抗原表达的动态变化提供了一个目标特异性、高灵敏度、定量、无创的平台。利用这些成像策略作为CAR-T细胞治疗的指导工具,可以及时识别耐药性机制和/或发生毒性事件,允许有效的治疗干预。此外,在产品开发和优化过程中跟踪CAR-T细胞药代动力学的这些方法的使用可能有助于评估它们的疗效,并相应地预测治疗结果。针对OTOT这一主要不良反应,Soto等^[17]的研究发现,开发可切换的适配器CAR系统,包括可切换的反向CAR(switchable reverse CAR, RevCAR)系统,通过RevCAR平台开发癌胚抗原和上皮细胞黏附分子特异性适配器反向靶模块(RevTMs),用于单特异性和门控性靶向结直肠癌细胞,是提高

CAR-T细胞疗法的肿瘤特异性和安全性的一种改进方法。Bassan等^[25]的研究表明,一种CAR NOT门结合了识别HLA-A*02(人类白细胞抗原)的抑制性CAR,能在A2杂合性缺失的情况下使用强效人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)激活CAR进行有效治疗,其可以在有效地防止肿瘤毒性的同时,允许高度有效的抗肿瘤活性。

5 CAR-T细胞免疫疗法在肿瘤中的研究进展

5.1 双靶点治疗

CAR-T细胞免疫疗法在治疗血液系统恶性肿瘤疾病中取得了显著的疗效,然而,在治疗实体肿瘤方面的潜力却很有限。这在很大程度上是由于在异质性疾病中只针对单一抗原。因此,双靶点治疗应用而生。对于单靶点和双靶点,通俗来讲,单靶点就是靶点用一只手捕捉坏人,而所谓的双靶点,就是CAR-T细胞拥有两只大手,去捕捉“坏人”,因此成功率大大提高。Hombach等^[26]的研究发现,通过CD30和结肠癌抗原双特异性CAR阻断T细胞上的CD30可提高CAR-T细胞对CD30⁺肿瘤的反应。Shu等^[27]的研究发现,在T细胞上共同表达TAG-72 CAR和CD47截断的单体CAR可能是一种有效的、双CAR-T细胞策略,用于卵巢癌,也适用于其他腺癌。CRS是CAR-T细胞治疗的主要不良反应,其中IL-6和干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ)是CRS中起主要作用的细胞因子。Zhang等^[28]的研究表明,通过IL-6和IFN- γ 双敲低可以消减CRS,其会抑制CAR-T细胞和外周血单核细胞释放多种细胞因子,从而降低CRS的影响,提高CAR-T细胞治疗的安全性,减少毒性,维持CAR-T细胞的功能。在TME的持续刺激下,程序性死亡-1(programmed death-1, PD-1)升高,并与PD配体1(programmed death-1 ligand, PD-L1)相互作用,导致CAR-T细胞的功能失调。Li等^[29]研究表明,对于肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)而言,通过建立双靶点治疗,也就是建立靶向GPC3(glypican 3)(一种肿瘤相关抗原)和阻碍PD-1-PD-L1结合的双靶点CAR-T细胞,相较于单靶点CAR-T细胞在HCC中表现出更强的肿瘤抑制作用。这表明双靶点CAR-T细胞在治疗HCC中具有增强活性

的潜力,有待进一步开发。Jin等^[30]通过研究成功开发出了靶向CD123和NKG2D配体的双靶向CAR-T细胞,其对肿瘤细胞和免疫抑制细胞具有双重作用,可以避免靶逃逸,抵抗免疫抑制微环境的影响。Timpanaro等^[31]发表的研究表明,靶向CD276/成纤维细胞生长因子受体4的CD276-CAR-T细胞和双CAR-T细胞可促进正位小鼠模型中横纹肌肉瘤的清除。Sun等^[32]的研究表明,双特异性B细胞成熟抗原(CD269)/CD24 CAR-T细胞可控制多发性骨髓瘤的生长。Zhang等^[33]的研究结果表明,替雷利珠单抗(Tislelizumab)可增强CD19/22双靶向嵌合抗原受体T细胞对晚期复发或难治性B细胞非霍奇金淋巴瘤的疗效。Imai等^[34]发现,CD19/CD37双CAR-T细胞在体内和体外可能是有效的靶向B细胞肿瘤模型,其代表了一种有希望的治疗复发/难治性B细胞恶性肿瘤的方法。

5.2 单靶点治疗

CAR-T细胞免疫疗法在血液恶性肿瘤中取得了显著的成功,但它在转化为实体肿瘤时面临着重大的障碍,主要集中在识别可靠的肿瘤相关抗原和导航肿瘤微环境的复杂性。因此,探索新的治疗方法是我们未来迫切完成的任务。胶质母细胞瘤是一种最常见、侵袭性最强的中枢神经系统肿瘤。在高度异质性的肿瘤中,有研究表明,HER2和白细胞介素-13受体 $\alpha 2$ 引导的串联CAR-T细胞、靶向HER2、白细胞介素-13受体 $\alpha 2$ 和EphA2(受体酪氨酸激酶家族成员)的三价CAR-T细胞以及针对表皮生长因子受体和表皮生长因子受体VIII的CAR-T细胞已经在动物模型中证明了在减轻抗原逃避方面的良好效果^[35,36]。抗原逃逸和肿瘤内的免疫抑制仍然是对抗胶质母细胞瘤的主要挑战^[37]。局部晚期/复发的头颈部鳞状细胞癌与较高的发病率和死亡率相关,Papa等^[38]的研究发现,一种基于CD28的自体CAR-T疗法在晚期头颈部鳞状细胞癌中的应用是安全的。Grover等^[39]的研究发现,一种新型碳水化合物抗原F77在前列腺癌细胞上表达,这些F77特异性的CAR-T细胞在使用PC3细胞(人前列腺癌细胞)的人类异种移植模型中可根除前列腺肿瘤。这些发现证实F77是一种有希望的免疫治疗靶点,用于前列腺癌和其他具有这种异常碳水化合物结构的恶性肿瘤。癌胚抗原相关细胞黏附分子

(carcino-embryonic antigen related cellular adhesion molecule, CEACAM)家族蛋白参与了包括胰腺癌和乳腺癌在内的一系列恶性肿瘤的进展,是抗癌疗法的诱人靶点。Jancewicz等^[40]的研究发现,在它们的研究中,使用了一种新的CEACAM靶向2A3单域抗体CAR-T细胞,以评估其在体外和动物模型中的抗肿瘤特性,研究结果表明,2A3-CAR-T细胞的进一步发展,使其成为一种针对CEACAM5/6表达过高的癌症的潜在治疗策略。Jiang等^[41]的研究使用一种天然的类杀伤T细胞株,该细胞株对溶解15个癌细胞具有很强的细胞毒性,对正常细胞安全,并具有低或无移植物抗宿主活性,为在间皮素阳性实体肿瘤的治疗提供了一种新的细胞免疫治疗选择。

6 结语

CAR-T细胞免疫疗法是当前最热门的免疫疗法之一,在肿瘤治疗方面具有巨大潜力。尽管其在血液系统恶性肿瘤中的治疗效果显著,然而,由于局限性的存在,在治疗实体肿瘤方面仍面临巨大的挑战。因此,确定新靶点、改进或设计新的CAR结构、改变给药方法和探索联合疗法的策略有可能提高CAR-T细胞的安全性和有效性,同时减轻毒性和减少复发。此外,近年来,CAR-NK及CAR-M等替代免疫细胞疗法的研究正在进行中。未来CAR细胞疗法的发展充满希望,它可以针对一系列疾病进行精确和个性化的治疗。CAR结构的设计将是未来研究的重点,可能会在一定程度上降低不良反应的发生,未来有望深入探索。

参考文献

- [1] Knight SR, Shaw CA, Pius R, et al. Global variation in postoperative mortality and complications after cancer surgery: a multicentre, prospective cohort study in 82 countries. *Lancet*, 2021, 397(10272): 387-397
- [2] Albano D, Benenati M, Bruno A, et al. Imaging side effects and complications of chemotherapy and radiation therapy: a pictorial review from head to toe. *Insights Imag*, 2021, 12(1): 76
- [3] He B, Mai Q, Pang Y, et al. Cytokines induced memory-like NK cells engineered to express CD19 CAR exhibit enhanced responses against B cell malignancies. *Front Immunol*, 2023, 14: 1130442

- [4] Page A, Chuvin N, Valladeau-Guilemond J, et al. Development of NK cell-based cancer immunotherapies through receptor engineering. *Cell Mol Immunol*, 2021, 14(1): 7
- [5] Sun D, Shi X, Li S, et al. CAR-T cell therapy: a breakthrough in traditional cancer treatment strategies. *Mol Med Rep*, 2024, 29(3): 47
- [6] Xu T, Wang C, Wang X, et al. A novel TREM1/DAP12-based multiple chain CAR-T cell targets PTK7 in ovarian cancer therapy. *Med Oncol*, 2023, 40(8): 226
- [7] Eshhar Z, Waks T, Gross G, et al. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(2): 720-724
- [8] Chan W, Cao YM, Zhao X, et al. TCR ligand potency differentially impacts PD-1 inhibitory effects on diverse signaling pathways. *J Exp Med*, 2023, 220(12): e20231242
- [9] Qiu Y, Liao P, Wang H, et al. Enhanced tumor immunotherapy by polyfunctional CD19-CAR T cells engineered to secrete anti-CD47 single-chain variable fragment. *Int J Biol Sci*, 2023, 19(15): 4948-4966
- [10] Utkarsh K, Srivastava N, Kumar S, et al. CAR-T cell therapy: a game-changer in cancer treatment and beyond. *Clin Transl Oncol*, 2024, 26(6): 1300-1318
- [11] Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection. *Nature*, 2017, 543(7643): 113-117
- [12] Motaïs B, Charvátová S, Walek Z, et al. NK92 expressing Anti-BCMA CAR and secreted TRAIL for the treatment of multiple myeloma: preliminary *in vitro* assessment. *Cells*, 2023, 12(23): 2748
- [13] Miliotou AN, Georgiou-Siafis SK, Ntenti C, et al. Recruiting *in vitro* transcribed mRNA against cancer immunotherapy: a contemporary appraisal of the current landscape. *Curr Issues Mol Biol*, 2023, 45(11): 9181-9214
- [14] Mariuzza RA, Agnihotri P, Orban J. The structural basis of T-cell receptor (TCR) activation: an enduring enigma. *J Biol Chem*, 2020, 295(4): 914-925
- [15] Aheri FH, Hassani M, Sharifzadeh Z, et al. Tuning spacer length improves the functionality of the nanobody-based VEGFR2 CAR T cell. *BMC Biotechnol*, 2024, 24(1): 1
- [16] Gazeau N, Liang EC, Wu Q, et al. Anakinra for refractory cytokine release syndrome or immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome after chimeric antigen receptor T cell therapy. *Transplant Cell Ther*, 2023, 29(7): 430-437
- [17] Soto KEG, Loureiro LR, Bartsch T, et al. Targeting colorectal cancer cells using AND-gated adaptor RevCAR T-cells. *Front Immunol*, 2023, 14: 1302354
- [18] Kao KC, Vilbois S, Tsai CH, et al. Metabolic communication in the tumour-immune microenvironment. *Nat Cell Biol*, 2022, 24(11): 1574-1583
- [19] Prinzing B, Zebley CC, Petersen CT, et al. Deleting DNMT3A in CAR T cells prevents exhaustion and enhances antitumor activity. *Sci Transl Med*, 2021, 13(620): eabh0272
- [20] Lu Q, Kou D, Lou S, et al. Nanoparticles in tumor microenvironment remodeling and cancer immunotherapy. *J Hematol Oncol*, 2024, 17(1): 16
- [21] Wenes M, Jaccard A, Wyss T, et al. The mitochondrial pyruvate carrier regulates memory T cell differentiation and antitumor function. *Cell Metab*, 2022, 34(5): 731-746. e9
- [22] Khanali J, Azangou-Khyavy M, Boroomand-Saboore M, et al. JAK/STAT-dependent chimeric antigen receptor (CAR) expression: a design benefiting from a dual AND/OR gate aiming to increase specificity, reduce tumor escape and affect tumor microenvironment. *Front Immunol*, 2021, 12: 638639
- [23] Cappuzzello E, Vigolo E, D'Accordio G, et al. How can cytokine-induced killer cells overcome CAR-T cell limits. *Front Immunol*, 2023, 14: 1229540
- [24] Mulgaonkar A, Udayakumar D, Yang Y, et al. Current and potential roles of immuno-PET/-SPECT in CAR T-cell therapy. *Front Med*, 2023, 10: 1199146
- [25] Bassan D, Weinberger L, Yi J, et al. HER2 and HLA-A*02 dual CAR-T cells utilize LOH in a NOT logic gate to address on-target off-tumor toxicity. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(12): e007426
- [26] Hombach AA, Rappl G, Abken H. Blocking CD30 on T cells by a dual specific CAR for CD30 and colon cancer antigens improves the CAR T cell response against CD30⁺ tumors. *Mol Ther*, 2019, 27(10): 1825-1835
- [27] Shu R, Evtimov VJ, Hammett MV, et al. Engineered CAR-T cells targeting TAG-72 and CD47 in ovarian cancer. *Mol Theroncolytics*, 2021, 20: 325-341
- [28] Zhang H, Lv X, Kong Q, et al. IL-6/IFN- γ double knockdown CAR-T cells reduce the release of multiple cytokines from PBMCs *in vitro*. *Hum Vaccines Immunother*, 2022, 18(1): 1-14
- [29] Li D, Qin J, Zhou T, et al. Bispecific GPC3/PD-1 CAR-T cells for the treatment of HCC. *Int J Oncol*, 2023, 62(4): 53
- [30] Jin X, Xie D, Sun R, et al. CAR-T cells dual-target CD123 and NKG2DLs to eradicate AML cells and selectively target immunosuppressive cells. *OncoImmunology*, 2023, 12(1): 2248826
- [31] Timpanaro A, Piccand C, Dzhumashev D, et al. CD276-CAR T cells and dual-CAR T cells targeting CD276/

- FGFR4 promote rhabdomyosarcoma clearance in orthotopic mouse models. *J Exp Clin Cancer Res*, 2023, 42(1): 293
- [32] Sun F, Cheng Y, Wanchai V, et al. Bispecific BCMA/CD24 CAR-T cells control multiple myeloma growth. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 615
- [33] Zhang Y, Geng H, Zeng L, et al. Tislelizumab augment the efficacy of CD19/22 dual-targeted chimeric antigen receptor T cell in advanced stage relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma. *Hematological Oncol*, 2024, 42(1): e3227
- [34] Imai K, Takeuchi Y, Terakura S, et al. Dual CAR-T cells targeting CD19 and CD37 are effective in target antigen loss B-cell tumor models. *Mol Cancer Ther*, 2024, 23(3): 381-393
- [35] Cui Y, Luo M, Gu C, et al. CAR designs for solid tumors: Overcoming hurdles and paving the way for effective immunotherapy. *Biophys Rep*, 2023, 9(5): 279-297
- [36] Bielamowicz K, Fousek K, Byrd TT, et al. Trivalent CAR T cells overcome interpatient antigenic variability in glioblastoma. *Neuro Oncol*, 2018, 20(4): 506-518
- [37] Marei HE, Althani A, Afifi N, et al. Current progress in chimeric antigen receptor T cell therapy for glioblastoma multiforme. *Cancer Med*, 2021, 10(15): 5019-5030
- [38] Papa S, Adami A, Metoudi M, et al. Intratumoral pan-ErbB targeted CAR-T for head and neck squamous cell carcinoma: interim analysis of the T4 immunotherapy study. *J Immunother Cancer*, 2023, 11(6): e007162
- [39] Grover P, Nunez-Cruz S, Leferovich J, et al. F77 antigen is a promising target for adoptive T cell therapy of prostate cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 680: 51-60
- [40] Jancewicz I, Śmiech M, Winiarska M, et al. New CEACAM-targeting 2A3 single-domain antibody-based chimeric antigen receptor T-cells produce anticancer effects *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Immunol Immunother*, 2024, 73(2): 30
- [41] Jiang W, Gu G, Zhang Y, et al. Novel mesothelin-targeted chimeric antigen receptor-modified UNKT cells are highly effective in inhibiting tumor progression. *Pharmacol Res*, 2023, 197: 106942