

嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法治疗胶质母细胞瘤的研究进展

张杨, 黄煜伦

苏州大学附属第一医院神经外科, 江苏 苏州 215000

摘 要: 嵌合抗原受体 T 细胞 (CART) 免疫疗法近年来发展迅速, 但在以胶质母细胞瘤 (GBM) 为代表的实体瘤治疗中没有达到理想的效果。该文简要回顾了 GBM 的治疗现状、CART 的治疗原理及有效靶点, 并分析其疗效不显著的各种原因, 总结目前有希望的改进策略。

关键词: 嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法; 胶质母细胞瘤; 肿瘤免疫

中图分类号: R739.41

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.2020.06.019

Update on chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy in the treatment of glioblastoma

ZHANG Yang, HUANG Yu-Lun. Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou, Jiangsu 215000, China

Corresponding author: HUANG Yu-Lun, Email: huangyulun@suda.edu.cn

Abstract: Chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy has developed rapidly in recent years, but it has not achieved ideal results in the treatment of solid tumors represented by glioblastoma. This paper briefly reviews the current situation of the treatment of glioblastoma, introduces the therapeutic principle and effective target of chimeric antigen receptor T cells, analyzes the reasons why the curative effect is not significant, and summarizes the promising improvement strategies at present.

Key words: chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy; glioblastoma; tumor immunology

胶质母细胞瘤 (Glioblastoma, GBM) 是最常见的原发性恶性脑肿瘤, 占有原发性脑和中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 肿瘤的 16%, 目前还没有有效的治愈方法。手术切除是首选治疗手段, 但完整切除很困难, GBM 的高度浸润性可致后期疾病进展或复发。血脑屏障的存在限制大多数化疗药物在肿瘤部位积聚并增加全身毒性的风险。尽管最大限度的手术切除和放化疗联合治疗, GBM 患者的生存期仍旧很短暂, 迫切需要开发新的有效治疗方法。有研究发现, 用嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T-cell, CART) 进行靶向免疫治疗, 如 CD19 靶向 CART 可在血液病中诱导持久的抗肿瘤免疫反应^[1]。受血液肿瘤的启发, 人们将 CART 技术使用到 GBM 治疗中。

1 CART 治疗原理

肿瘤抗原激活宿主抗肿瘤免疫的级联反应, 被抗原提呈细胞摄取消化成免疫原性肽呈现于细胞表面, 激活 T 细胞并释放细胞毒分子, 作用于肿瘤。肿瘤通过募集白细胞并分泌免疫抑制性细胞因子, 抑制免疫细胞的浸润功能, 肿瘤细胞抗原提呈的下调及抗原的丢失使其能够逃避免疫检测。

嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) 是一种人工合成的抗原受体, 将抗体的特性与 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 在抗原结合时发出的信号相结合, 以更高的特异性重定其对特定肿瘤抗原的细胞毒作用, 直接识别肿瘤细胞表面抗原, 而不受 HLA 亚型的限制。CAR 包括细胞外域和细胞内域, 由一个铰链连接区和跨膜结构域 (trans-mem-

收稿日期: 2020-07-24; 修回日期: 2020-09-17

作者简介: 张杨 (1997-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事脑胶质瘤诊断和治疗机制研究。

通信作者: 黄煜伦 (1973-), 男, 博士后, 博士生导师, 主任医师, 主要进行脑肿瘤特别是胶质瘤的手术及综合治疗以及神经内镜微创手术。
Email: huangyulun@suda.edu.cn。

brane domain ,TMD) 连接,细胞外域通常由肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen ,TAA) 特异性单克隆抗体的单链可变片段组成,细胞内域来源于第一代 CAR 中经典 TCR 的 CD3 ζ 结构域,可能含有 1 个 (第二代) 或 2 个 (第三代) 额外的共刺激结构域,最常见的是 CD28、4-1 BB、CD27,可增加细胞的增殖、持久性和有效性。最常用的铰链连接区是 IgG1 铰链,或 IgG1/4 的 CH2CH3 结构域。最常用的 TMD 是 CD3、CD4、CD8 或 CD28,它能影响 CAR 表面的功能表达及位置。受体完成设置后,利用基因治疗病毒载体将编码 CAR 结构的基因转染到 T

细胞分离株的基因组中,产生的 CART 体外扩增并重新注入体内。

2 针对 GBM 的有效靶点

理想的 CART 靶点具有以下特点:①在肿瘤细胞表面的高表达,②高度同质性,③覆盖恶性表型,④正常组织上限制表达,⑤非患者特异性。因此确定 TAA 是 CART 治疗成功的关键,但根据现今的研究成果,均显示因肿瘤的高度异质性而产生抗原丢失,针对 TAA 治疗 GBM 具有挑战性。截止目前,研究发现的胶质母细胞瘤主要有效靶点见表 1。

表 1 治疗胶质母细胞瘤的有效靶点

靶点	名称或性质	功能
EGFRv III ^[2]	表皮细胞生长因子变异体 III	影响神经干细胞的迁移并促进细胞增殖,增强细胞的致瘤性、侵袭性和治疗耐药性,与不良预后相关。
IL-13R α 2 ^[3]	白细胞介素 13 受体 α 2	肿瘤细胞的一种逃逸机制,与肿瘤恶性程度、侵袭和转移及患者生存有关。
HER2 ^[4]	人类表皮生长因子受体 2	抑制凋亡并促进增殖,增加肿瘤侵袭力,是 GBM 患者生存的阴性预后指标。
EphA2 ^[5]	跨膜酪氨酸激酶受体	肿瘤起始、迁移、侵袭和血管生成的重要调节因子。
NKG2D ^[6]	自然杀伤细胞 2 组成员 D	决定 NK 细胞的激活,其配体的脱落是免疫逃避的一种手段,并与患者预后不良有关。
CD70 ^[7]	肿瘤坏死因子超家族成员, II 型跨膜蛋白	对免疫应答有调控作用,通过募集肿瘤相关巨噬细胞参与肿瘤侵袭和免疫抑制过程。
B7-H3 ^[8]	I 型跨膜蛋白	表达水平与肿瘤恶性程度及患者预后相关。
CD133 ^[9]	肿瘤干细胞标志物	与肿瘤进展、转移、预后、复发有关。
CSPG4 ^[10]	硫酸软骨素多糖蛋白 4	促进肿瘤生长,增强侵袭性和化疗耐受性。
神经节苷脂 GD2 ^[11]	神经节苷脂	诱导原癌基因激活,促进肿瘤的增殖和侵袭。
Podoplanin (PDPN) ^[12]	跨膜受体糖蛋白	增加了肿瘤克隆及上皮间质转化、迁移、侵袭、转移和炎症。
IDH1 ^[13]	基因	编码胞内异柠檬酸脱氢酶 1,保护细胞免受氧化应激,突变 IDH 通过 T 细胞为基础的突变表位靶点作用于肿瘤早期,降低免疫逃逸。
BIRC5 (Survivin) ^[14]	抑制性凋亡蛋白家族一员	促进 GBM 增殖,靶向治疗可抑制 GBM 癌细胞的生长。

3 治疗阻碍

要使 CART 能有效根治 GBM,必须使其迁移到肿瘤组织并浸润增殖足够长的时间以发挥治疗作用,且只能识别和摧毁 GBM 免疫抑制肿瘤微环境 (tumor microenvironment ,TME) 内表达抗原的细胞,这受到 GBM 特有的各种因素阻碍。

3.1 CNS 的特有免疫解剖

淋巴细胞进入脑实质受到血脑屏障 (blood brain barrier ,BBB) 和胶质界膜的严格调控,脑实质及其间质液被 BBB、周围血流、脑脊液分隔开,因脑部缺乏传统淋巴管,必须依赖脑脊液和间质液的有限交换才能到达外周淋巴系统。缺乏通往实质的常规淋巴通路将阻碍适应性免疫系统的传入。

3.2 抗原高度异质性

抗原异质性是 GBM 的一个特征,除了瘤内、瘤

间异质性外,还有驱动突变表达的时间异质性,从诊断到疾病进展过程中的抗原丢失和不断演变的异质性,再加上复发的额外获得性突变,产生了对针对单一抗原的免疫治疗的抗药性,这导致没有单一的抗原可以作为涵盖整个肿瘤的通用靶点。

3.3 抗原逃逸

GBM 靶点是非均一表达的,容易发生抗原逃逸。肿瘤细胞通过抗原突变、下调或删除靶抗原,及抗原阴性肿瘤亚群的选择性存活来逃避免疫识别,比如 GBM 中靶向 HER2 会导致 HER2 缺失肿瘤细胞的出现,从而维持非靶向肿瘤相关抗原的表达^[15]。此外,GBM 发现能逃逸到外周,外周免疫系统的功能损害,如 KLRG1 (是位于 12 号染色体的基因) 和 CD57 等耗竭标志物的稳步增加,以及转移的发生和突变负担的增加,使得额外扩散和疾病

进展成为可能^[16]。

3.4 GBM 的免疫抑制 TME

GBM 高度免疫抑制 TME 限制了免疫治疗的疗效,主要由浸润的免疫抑制细胞和环境因素协同作用产生特有的 TME。

3.4.1 表面分子表达的变化 GBM 表达非经典 HLA I 类分子。HLA-G 影响肿瘤浸润淋巴细胞的功能,HLA-E 可上调自然杀伤细胞功能。GBM 能下调肿瘤表面 HLA I 类分子的表达并抑制 CD8⁺ T 细胞的活化。

3.4.2 缺氧的肿瘤环境 缺氧和营养耗竭是 GBM 共有的环境因素。栅栏样细胞过度表达缺氧诱导因子 1 α (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) 来适应低氧, HIF-1 α 促进髓源抑制性细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 的募集,并通过营养耗竭进一步限制 CTL 的功能,并导致免疫抑制的 TME。低氧介导的转录激活因子 3 (STAT3) 上调也是 GBM 的标志性致癌改变, STAT3 激活可导致抗原提呈减少,下调 CD40、CD80、CD86 和 MHC II,并诱导产生 TGF- β 、IL-10 等免疫抑制因子,抑制 STAT3 可以促进 T 细胞扩张并抑制调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 募集能力。

3.4.3 免疫抑制细胞在 GBM 微环境中募集 Tregs 特征性表达 FoxP3,通过产生免疫抑制因子 TGF- β 和 IL-10 来抑制效应 T 细胞的活性和增殖,其浸润程度与肿瘤分级和预后相关。髓样细胞的特定子集 MDSCs,是异质性的未成熟髓样细胞群体,能产生促肿瘤因子支持新生 GBM 生长,并刺激 Tregs 增殖,诱导 T 细胞凋亡。GBM 环境中恶性肿瘤浸润性巨噬细胞,主要表现为免疫抑制 (M2) 表型,这也有利于肿瘤细胞的生长、存活和转移。

3.4.4 GBM 相关免疫检查点异常表达 PD-L1 表达于多种癌细胞膜上,肿瘤相关 PD-L1 与细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTL) 上的 PD-1 结合,促进 CTL 凋亡,从而抑制抗癌免疫应答。另外,CTLA-4 和 PD-1 在免疫激活时上调,与其配体结合可抑制效应 T 细胞的增殖并增加 Tregs 和 MDSCs 的募集。

唾液酸聚糖-唾液酸结合性免疫球蛋白样凝集素-E (sialoglycan-Siglec-E) 检查轴是一种新的糖免疫检查轴,聚唾液酸参与细胞和基质的黏附,有助于 GBM 的迁移、侵袭和转移,唾液酸与免疫受体 (如 Siglecs) 结合,可增强癌细胞的免疫逃避。此

外,用于脑水肿标准治疗的糖皮质激素能改变恶性肿瘤细胞中的蛋白质糖基化,增加唾液酸含量,加重逃逸^[17]。

3.4.5 基因突变 IDH1 和 IDH2 易发生突变,通过抑制 I 型免疫应答基因影响 TME。IDH 突变的 GBM 细胞产生信号转导和降低 STAT1 的水平,并下调效应 T 细胞吸引趋化因子水平及浸润率^[18],表明 GBM 基因突变能够改变 TME 的细胞组成,有助于免疫逃避。

3.4.6 代谢紊乱 GBM 重新编程营养获取和新陈代谢途径,以满足生物能量和合成需求,最主要的是糖酵解通量增加,肿瘤糖酵解活性与预后不良、肿瘤浸润和 T 细胞活化程度低有关。吡嗪胺-2,3-双加氧酶是色氨酸代谢的关键酶,其在 90% 的 GBM 中表达上调,通过代谢色氨酸以诱导 T 细胞无能并增加 Tregs 和 MDSCs 的募集,与高级别 GBM 及短生存期相关。

3.5 淋巴细胞归巢

肿瘤分泌的趋化因子诱导 T 细胞的优先迁移,归巢受体使激活的 T 细胞对趋化因子做出反应,并影响白细胞的迁移。GBM 能产生过度的血管内皮生长因子和血小板衍生生长因子,可抑制趋化因子的分泌并下调内皮细胞黏附分子的表达,招募内皮细胞,促进异常血管网络形成和瘤内间质压力升高,以抵抗淋巴细胞的浸润。GBM 还诱导邻近组织的结构修饰,用致密的肿瘤相关成纤维细胞形成的基质包围肿瘤,使肿瘤细胞与周围环境隔绝。

3.6 毒副反应

由于 BBB 的半渗透性,目前几乎所有针对 GBM 的 CART 实验都是静脉给药。由于高强度的免疫激活,细胞因子释放综合征和肿瘤溶解综合征是最常见且严重的靶向肿瘤毒性,与治疗反应和肿瘤负荷相关,神经毒性也有发生。有研究报道, GD2 靶向 CART 在抗肿瘤的急性阶段可引起瘤周神经炎并导致脑积水^[11],正常组织上的 CAR 靶抗原也是一种风险, CART 细胞误识别会导致脱靶毒性,此外,长时间低水平的 CART 活性会间接影响局部微环境,导致正常细胞稳态失调。

4 改进策略

4.1 提高 CART 细胞持久性

4.1.1 第四代 CART CART 与 4-1BB 衍生基团的共刺激可促进长寿记忆细胞的产生。第四代 CART 将 IL-7/12/15/18 等结构基因融合到 T 细

胞中,为 CART 提供有利于生存而在肿瘤外沉默的细胞因子来拮抗免疫抑制,增强 CART 增殖和抗肿瘤能力,减少未成熟 DC、肿瘤相关小胶质细胞/巨噬细胞、Tregs 和 MDSCs 的募集和抑制作用^[19]。

4.1.2 多靶点 CAR EGFR/EGFRv III 双靶向 CART 有效抑制 EGFR 和 EGFRv III 高表达肿瘤的生长,提高小鼠的存活时间^[20]。HER2/IL-13R α 2 双靶向 CART 不仅提高了抗肿瘤活性,还抵消了抗原逃逸^[15]。三价(HER2/IL13R α 2/EphA2) CART 介导强大的免疫突触与肿瘤靶标形成更极化的微管组织中心,显示可以克服患者间的差异倾向于捕获近 100% 的肿瘤细胞,具有更强的细胞毒性并提高治疗存活率^[21]。

4.1.3 替莫唑胺(TMZ)预处理 在 TMZ 被证明可以延长患者生存期后,便作为 GBM 的常规临床治疗手段,其副反应是淋巴毒性。研究发现,淋巴耗竭通过减少对 γ 链细胞因子的竞争及抑制免疫细胞的耗尽来改善转移 T 细胞在体内的植入和功能,可降低肿瘤负荷。因此, TMZ 预处理淋巴耗竭能经典地诱导体内 CART 的增殖,增加持久性^[22],环磷酸胺也有类似的作用。

4.1.4 糖原合成酶激酶 3(glycogen synthase kinase-3, GSK3)抑制剂 GSK3 在 CART 扩张高峰时活跃可导致克隆性收缩使 T 细胞死亡, GSK3 抑制剂可以改善 CART 的扩增和记忆 T 细胞的产生,用 GSK3 抑制剂处理的 IL-13R α 2 靶向 CART 表现出减少耗竭和增加效应记忆表型的功能,初次清除肿瘤后再次攻击不会出现新的病变^[23]。

4.1.5 CD4⁺ CART 细胞亚群 目前大多数临床试验使用 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的混合物或单独使用 CD8⁺ T 细胞,在 GBM 异种移植模型中,第二代 IL13R α 2CAR 转导到 CD8⁺ 或 CD4⁺ T 细胞, CD4⁺ CART 显示出更强的肿瘤杀伤力和持久性,因其分泌更多 IFN- γ 和 IL-2,而 CD8⁺ T 细胞更容易表达耗竭标志^[24]。

4.2 阻断免疫检查点

CRISPR-Cas9 技术可以干扰 PD-1 的信号传递,并同时编辑 TRAC 和 B2M 位点来创造潜在的现成的同种异体 CART 细胞,接受 PD-1 基因敲除的 CART 细胞的小鼠体外细胞因子分泌水平相似,但细胞毒性增强,肿瘤负荷降低,生存期延长^[25]。除了基因编辑技术,使用单克隆抗体的免疫检查点阻断(ICB)或 CART 细胞分泌 PD-1 阻断抗体片段也

很有前景^[26]。

4.3 基因编辑

CRISPR-Cas9 基因编辑技术的广泛应用使人们对特定基因进行靶向性研究,利用基因敲除及基因插入方法,可以改善 CART 的功能,且不会损害其效应功能。

4.3.1 基因敲除 除了敲除 T 细胞表面的免疫检查点分子,细胞内信号分子二酰基甘油激酶(diacylglycerol kinase, DGK)能降低 CART 活化,从缺乏 α 或 ζ 亚型的菌株中产生间皮素特异性 CART,两种异构体的敲除均能增强细胞毒作用和 IFN- γ 的分泌,且双基因敲除具有协同作用。与野生型 CART 相比,缺少 1 种或 2 种 DGK 亚型的 CART 具有抗肿瘤细胞毒性^[27]。

4.3.2 基因插入 对 CAR 表达的严格转录调控是有效根除肿瘤的关键,将 CAR 靶向 TCR 位点可提供更安全、更明确、更强力的 T 细胞。研究显示,使用 CRISPR-Cas9 结合提供 CD19CAR 供体模板破坏 TCR α 链基因座,同源定向修复产生的 CART 肿瘤控制和存活率提高,将 CAR 编码序列定位于 TCR 位点,并置于内源性调节元件的控制之下,可减少信号,避免 T 细胞耗尽,提高治疗效力^[28]。

4.4 建立表达归巢受体 T 细胞群

全身给药的有效性取决于 CART 向肿瘤部位的运输, CART 有效定位于肿瘤部位需要肿瘤表达的趋化因子配体及其受体的结合,可以用特定的趋化因子受体转导 CART 来决定组织趋向性。GBM 来源的 CCL2/MCP-1 影响 T 细胞对异种移植瘤部位的体内趋化作用,用 CCL2 受体 CCRb2 基因转染 CART,能增强 CART 在多种实体肿瘤异种移植模型中的迁移和瘤内蓄积^[29]。阻断 T 细胞上的 CXCR4 可以促进淋巴细胞从血管周围间隙逃逸到 CNS 实质,此外, CART 经过改造,可表达乙酰肝素酶,改善其降解细胞外基质的能力,增强浸润性和抗肿瘤活性。

4.5 局部给药

GBM 处于免疫抑制微环境中,与体循环隔离,静脉输送受到诸多限制,局部给药的方法更为有利。临床研究证实, EGFRv III 靶向 CART 脑内注射可消退肿瘤^[30],脑内注射 IL13R α 2 靶向 CART, CART 持续存在 7 d 以上,并观察到脑脊液中趋化因子的诱导量增加,外周血则无变化,发现细胞主要停留在接种部位,这表明局部作用的 CART 有助

于提高 T 细胞持久性并规避肿瘤外识别毒性^[31]。

4.6 聚焦超声

一些旨在破坏血脑屏障的治疗方法正在开发,高强度聚焦超声是一种热消融技术,可以破坏血脑屏障,但也伴随着一些组织损伤。另一种聚焦超声,使用类似于诊断超声的强度,通过静脉注射将药物和细胞因子输送到脑实质,发现经聚焦超声暴露后,肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)和细胞毒性 T 细胞(CTL)增加^[32]。

5 展望

近年来,癌症免疫治疗取得了显著的进展和突破,但 GBM 的 CART 免疫疗法只取得了有限的效果,归咎于其独有的免疫抑制 TME、抗原异质性和免疫逃逸特征。GBM 需要更多的技术来增强 T 细胞免疫的治疗效果,在将临床前的想法转化为临床领域和设计临床试验时,需要更周到的手段和方式。CART 细胞在癌症的临床应用还处于初级阶段,前景十分广阔,并正在得到认可。

参 考 文 献

- [1] Wang H, Kaur G, Sankin AI, et al. Immune checkpoint blockade and CAR-T cell therapy in hematologic malignancies [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 59.
- [2] O' rourke DM, Nasrallah MP, Desai A, et al. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(399): eaaa0984.
- [3] Pituch KC, Miska J, Krenciute G, et al. Adoptive transfer of IL13R α 2-specific chimeric antigen receptor T cells creates a pro-inflammatory environment in glioblastoma [J]. *Mol Ther*, 2018, 26(4): 986-995.
- [4] Ahmed N, Brawley V, Hegde M, et al. HER2-specific chimeric antigen receptor-modified virus-specific T cells for progressive glioblastoma a phase 1 dose-escalation trial [J]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(8): 1094-1101.
- [5] Yi ZZ, Prinzing BL, Cao F, et al. Optimizing EphA2-CAR T cells for the adoptive immunotherapy of glioma [J]. *Mol Ther Methods Clin Dev*, 2018, 9: 70-80.
- [6] Weiss T, Weller M, Guckenberger M, et al. NKG2D-based CAR T cells and radiotherapy exert synergistic efficacy in glioblastoma [J]. *Cancer Res*, 2018, 78(4): 1031-1043.
- [7] Jin LC, Ge HT, Long Y, et al. CD70, a novel target of CAR T-cell therapy for gliomas [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(1): 55-65.
- [8] Tang X, Zhao SS, Zhang Y, et al. B7-H3 as a novel CAR-T therapeutic target for glioblastoma [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2019, 14: 279-287.
- [9] Vora P, Venugopal C, Salim SK, et al. The rational development of CD133-targeting immunotherapies for glioblastoma [J]. *Cell Stem Cell*, 2020, 26(6): 832-844. e6.
- [10] Anon. CSPG4 shows promise for glioblastoma CAR T therapy [J]. *Cancer Discov*, 2018, 8(5): 524-525.
- [11] Mount CW, Majzner RG, Sundaresh S, et al. Potent antitumor efficacy of anti-GD2 CAR T cells in H3-K27M(+) diffuse midline gliomas [J]. *Nat Med*, 2018, 24(5): 572-579.
- [12] Krishnan H, Rayes J, Miyashita T, et al. Podoplanin: an emerging cancer biomarker and therapeutic target [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(5): 1292-1299.
- [13] Schumacher T, Bunse L, Pusch S, et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity [J]. *Nature*, 2014, 512(7514): 324-327.
- [14] Liu YB, Miao CM, Wang ZJ, et al. Survivin small interfering RNA suppresses glioblastoma growth by inducing cellular apoptosis [J]. *Neural Regen Res*, 2012, 7(12): 924-931.
- [15] Hegde M, Corder A, Chow KK, et al. Combinational targeting offsets antigen escape and enhances effector functions of adoptively transferred T cells in glioblastoma [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(11): 2087-2101.
- [16] Mohme M, Maire CL, Schliffke S, et al. Molecular profiling of an osseous metastasis in glioblastoma during checkpoint inhibition: potential mechanisms of immune escape [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2020, 8(1): 28.
- [17] Wielgat P, Czarnomysy R, Trofimiuk E, et al. The sialoglycan-Siglec-E checkpoint axis in dexamethasone-induced immune subversion in glioma-microglia transwell co-culture system [J]. *Immunol Res*, 2019, 67(4/5): 348-357.
- [18] Chuntova P, Downey KM, Hegde B, et al. Genetically engineered T-cells for malignant glioma: overcoming the barriers to effective immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2019, 9: 3062.
- [19] Hu BL, Ren JT, Luo YP, et al. Augmentation of antitumor immunity by human and mouse CAR T cells secreting IL-18 [J]. *Cell Rep*, 2017, 20(13): 3025-3033.
- [20] Jiang H, Gao HP, Kong J, et al. Selective targeting of glioblastoma with EGFRvIII/EGFR bitargeted chimeric antigen receptor T cell [J]. *Cancer Immunol Res*, 2018, 6(11): 1314-1326.
- [21] Bielamowicz K, Fousek K, Byrd TT, et al. Trivalent CAR T cells overcome interpatient antigenic variability in glioblastoma [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(4): 506-518.
- [22] Suryadevara CM, Desai R, Abel ML, et al. Temozolomide lymphodepletion enhances CAR abundance and correlates with

- antitumor efficacy against established glioblastoma [J]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(6): e1434464.
- [23] Sengupta S, Katz SC, Sengupta S, et al. Glycogen synthase kinase 3 inhibition lowers PD-1 expression, promotes long-term survival and memory generation in antigen-specific CAR-T cells [J]. *Cancer Lett*, 2018, 433: 131-139.
- [24] Wang DR, Aguilar B, Starr R, et al. Glioblastoma-targeted CD4⁺ CAR T cells mediate superior antitumor activity [J]. *JCI Insight*, 2018, 3(10): e99048.
- [25] Zhu HF, You YP, Shen ZM, et al. EGFRvIII-CAR-T cells with PD-1 knockout have improved anti-glioma activity [J]. *Pathol Oncol Res*, 2020, 26(4): 2135-2141.
- [26] Choi BD, Yu XL, Castano AP, et al. CRISPR-Cas9 disruption of PD-1 enhances activity of universal EGFRvIII CAR T cells in a preclinical model of human glioblastoma [J]. *J Immunother Cancer*, 2019, 7(1): 304.
- [27] Riese MJ, Wang LC, Moon EK, et al. Enhanced effector responses in activated CD8⁺ T cells deficient in diacylglycerol kinases [J]. *Cancer Res*, 2013, 73(12): 3566-3577.
- [28] Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection [J]. *Nature*, 2017, 543(7643): 113-117.
- [29] Moon EK, Carpenito C, Sun J, et al. Expression of a functional CCR2 receptor enhances tumor localization and tumor eradication by retargeted human T cells expressing a mesothelin-specific chimeric antibody receptor [J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(14): 4719-4730.
- [30] Choi BD, Suryadevara CM, Gedeon PC, et al. Intracerebral delivery of a third generation EGFRvIII-specific chimeric antigen receptor is efficacious against human glioma [J]. *J Clin Neurosci*, 2014, 21(1): 189-190.
- [31] Brown CE, Alizadeh D, Starr R, et al. Regression of glioblastoma after chimeric antigen receptor T-cell therapy [J]. *N Engl J Med*, 2016, 375(26): 2561-2569.
- [32] Chen PY, Hsieh HY, Huang CY, et al. Focused ultrasound-induced blood-brain barrier opening to enhance interleukin-12 delivery for brain tumor immunotherapy: a preclinical feasibility study [J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 93.