

DOI: 10.13376/j.cbls/2025113

文章编号: 1004-0374(2025)09-1173-10

· 技术与应用 ·

通用型CAR-T: 基因编辑驱动“即用型”疗法新突破

张 婧, 马 雯, 王清路, 周彩霞*

(山东体育学院研究生教育学院, 济南 250102)

摘 要: 嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞疗法在 B 细胞白血病等血液系统恶性肿瘤中取得了革命性突破, 但仍面临细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)、移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GvHD) 和抗原逃逸等挑战。通用型 CAR-T 细胞 (universal CAR-T, UCART) 利用 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术改造异体 T 细胞, 实现“即用型”供应并降低免疫排斥风险。本文综述了 UCART 细胞的构建策略, 包括筛选 T 细胞来源、优化 CAR 结构及 CRISPR/Cas9 等基因编辑技术的应用; 探讨了串联 CAR 和开关型 CAR-T 应对肿瘤异质性和抗原逃逸的策略。通过优化设计, UCART 细胞有望为肿瘤免疫治疗提供安全高效的新路径。

关键词: 嵌合抗原受体 T 细胞; 通用型 CAR-T 细胞; 基因编辑; 异体 T 细胞; 肿瘤免疫治疗; CAR 结构
中图分类号: R730.5; R733 **文献标志码:** A

Universal CAR-T: gene editing drives new breakthroughs in “off-the-shelf” therapies

ZHANG Jing, MA Wen, WANG Qing-Lu, ZHOU Cai-Xia*

(Graduate Education College, Shandong Sport University, Jinan 250102, China)

Abstract: Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cell therapy has achieved revolutionary breakthroughs in hematological malignancies such as B-cell leukemia, but still faces challenges such as cytokine release syndrome (CRS), graft-versus-host disease (GvHD), and antigen escape. Universal CAR-T cells utilize gene editing techniques such as CRISPR/Cas9 to modify allogeneic T cells, achieving "off-the-shelf" supply and reducing the risk of immune rejection. This article reviews the construction strategies of universal CAR-T cells, including screening T cell sources, optimizing CAR structures, and the application of gene editing technologies such as CRISPR/Cas9. Furthermore, we explore the issues of tandem CAR (TanCAR) and switchable CAR-T (sCAR-T) in addressing tumor heterogeneity and antigen escape. Through optimized design, universal CAR-T cells are expected to provide a safe and efficient new pathway for tumor immunotherapy.

Key words: chimeric antigen receptor T cells; universal CAR-T cells; gene editing; allogeneic T cells; tumor immunotherapy; CAR structure

嵌合抗原受体 T (chimeric antigen receptor T, CAR-T) 细胞疗法通过基因改造 T 细胞, 使其能够特异性识别并杀伤肿瘤细胞, 已成为肿瘤免疫治疗的重要手段。与传统免疫疗法相比, CAR-T 细胞不依赖于抗原呈递细胞 (antigen-presenting cells, APC) 和主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 分子, 显著提高抗肿瘤活性^[1]。目前, 美国食品药品监督管理局 (food and drug administration,

FDA) 批准的 6 款 CAR-T 细胞产品已被用于治疗血液系统恶性肿瘤 (如急性 B 淋巴细胞白血病), 其完全缓解率 (complete remission rate, CR) 高达 70%~90%^[2]。

收稿日期: 2025-04-01; 修回日期: 2025-06-16

基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金项目(YDZX-2022091)

*通信作者: E-mail: zhoucaixia@sdpei.edu.cn

然而, CAR-T 细胞疗法仍面临 T 细胞功能障碍、细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS)、抗原逃逸及高成本等挑战^[3, 4], 限制了其广泛应用。

为克服 CAR-T 细胞疗法在临床应用中面临的挑战, 通用型 CAR-T 细胞 (universal CAR-T, UCAR-T) 的出现标志着肿瘤免疫治疗进入异体通用化新阶段。UCAR-T 通过基因编辑技术改造异源 T 细胞, 在实现规模化制备降低成本的同时有效克服宿主抗移植物反应 (host versus graft reaction, HvGR), 为患者提供可及性更强的长效治疗方案。本文综述了 UCAR-T 细胞的最新研究进展, 探讨其在克服现有 CAR-T 疗法局限性方面的潜力, 并展望未来发展方向, 为肿瘤免疫治疗提供新的思路和策略。

1 UCAR-T细胞的构建策略

1.1 选择合适的细胞来源

1.1.1 健康供体来源的T细胞

健康供体来源的 T 细胞具有细胞活力强、数量充足的优势, 适合大规模生产 UCAR-T 细胞。然而, 免疫原性问题仍是主要挑战, 宿主对供体 T 细胞的排斥反应限制了其应用。目前, 常用策略包括利用 CRISPR/Cas9 敲除人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 基因或结合免疫抑制剂来降低排斥反应。尽管取得了一定进展, 但在不影响 T 细胞功能的前提下完全消除免疫排斥仍是亟待解决的难题。

1.1.2 iPSC来源的T细胞

诱导多能干细胞 (induced pluripotent stem cell, iPSC) 可分化为多种细胞类型, 为 UCAR-T 细胞的“即用型”生产提供了理想平台。通过将肿瘤抗原特异性 T 细胞重编程为 iPSC, 再分化为 T 细胞系, 从而实现大规模生产。本团队通过单细胞转录组分析揭示, 相较于胚胎干细胞 (embryonic stem cell, ESC), 帕金森病 (Parkinson's disease, PD) 模型中的 iPSC 表现出更单一的免疫细胞组成、神经发育关键基因 (如 *TH*、*GAP43*) 缺失及促肿瘤代谢特征, 为优化 iPSC 的神经分化能力以替代 ESC 治疗 PD 提供了理论依据^[5]。最新研究表明, 抑制 G9a/GLP 可促进 iPSC-T 细胞的成熟并增强其抗肿瘤活性^[6]。然而, iPSC-T 细胞的生产周期长、分化效率低, 限制了其工业化应用。基于此, 通过重编程、分化及扩增工序的自动化闭环整合构建集成化连续制造系统 (integrated continuous manufacturing system, ICMS), 可实现生产周期压缩与批次稳定性提升; 开发符合

监管标准 (current good manufacturing practice, cGMP) 的预优化 iPSC 细胞系可以通过规避包括 iPSC 生成和质量控制等来显著缩短生产时间^[7, 8]。未来, 开发无饲养层分化系统或优化分化流程可能是提高效率的关键方向。

1.2 基因编辑技术构建UCAR-T细胞

1.2.1 ZFN、TALEN技术在UCAR-T细胞构建中的应用

锌指核酸酶 (zinc finger nuclease, ZFN) 和转录激活因子样效应物核酸酶 (transcription activator-like effector nuclease, TALEN) 是早期用于 UCAR-T 开发的基因编辑工具^[9, 10]。这些技术通过精确地切割特定基因, 使供体来源的 CAR-T 细胞能够适用于不同患者, 并且降低免疫排斥反应和移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GvHD) 风险。

ZFN 由锌指蛋白 (zinc finger protein, ZFP) 和 FokI 核酸酶组成: ZFP 用于识别特定 DNA 序列, 而 FokI 核酸酶需成对工作, 在靶位点形成二聚体后切割 DNA, 导致双链断裂 (double-strand break, DSB)。随后, 细胞的非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 修复机制会引起插入/缺失突变 (insertion/deletion, Indel), 从而破坏目标基因的功能。在 UCAR-T 细胞开发中, ZFN 主要用于: (1) 敲除 CD19 CAR-T 细胞内源性 $\alpha\beta$ T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 基因, 首次实现对 HvGR 的规避, 同时保留 CAR 的效应功能, 为 UCAR-T 的开发提供了理论基础^[11]; (2) 敲除 $\beta 2$ -微球蛋白基因 (*beta-2 microglobulin*, *B2M*), 减少主要组织相容性复合体 I 类抗原 (major histocompatibility complex class I, MHC I) 类分子表达以避免 CAR-T 细胞被宿主免疫系统清除。例如, Sangamo Therapeutics 利用 ZFN 敲除 TCR 以降低供体来源 CAR-T 细胞对患者组织的免疫反应; Kite Pharma 进一步推进了该技术在 CAR-T 疗法中的应用, 为 UCAR-T 细胞的开发奠定了基础。

TALEN 由转录激活因子样效应物 (transcription activator-like effector, TALE) 和 FokI 核酸酶组成。TALE 蛋白包含多个重复可变的 DNA 结合单元, 每个单元特异性识别一个碱基, 因此 TALEN 在靶点选择上更具灵活性和可定制性。与 ZFN 类似, TALEN 也通过形成 FokI 二聚体, 在目标 DNA 位点引入 DSB, 使基因失活。

在 UCAR-T 细胞开发中, TALEN 主要用于: (1) 敲除 TCR α 链恒定区基因 (*T cell receptor alpha constant*, *TRAC*), 防止 CAR-T 细胞引发 GvHD^[6]; (2) 敲除

B2M 基因, 降低宿主免疫系统对 CAR-T 的排斥反应; (3) 优化 CAR-T 结构, 增强其持久性或抗肿瘤活性。早期 Cellectis 公司使用 TALEN 技术敲除 TCR 相关基因和 *B2M* 开发了 UCART19, 用于治疗 B 细胞急性淋巴细胞白血病 (B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)^[12]。该疗法是全球首个进入临床试验的 UCAR-T, 2015 年在英国成功应用于两名儿童患者, 并在后续研究中展现出良好的疗效。CAR-T 在实体瘤中的疗效受限于肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 中癌相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblast, CAF) 介导的 T 细胞浸润抑制及功能障碍。最新研究表明, 基于 TALEN 基因编辑技术构建的同种异体 IF/THEN 门控双 CAR-T 细胞, 通过 AND 逻辑门控机制实现肿瘤特异性双重抗原识别, 在增强抗肿瘤活性的同时有效规避“靶向非肿瘤”毒性^[13]。

1.2.2 CRISPR/Cas9 技术在 UCAR-T 细胞构建中的应用

CRISPR/Cas9 技术因其高效、精准的靶向能力和操作简便性, 已成为 UCAR-T 细胞开发的主流基因编辑工具。在 UCAR-T 细胞构建中, CRISPR/Cas9 主要用于敲除特定基因, 以降低免疫排斥和毒性反应, 使其更适用于患者。

首先, 供体来源的 T 细胞因 TCR 识别患者自身抗原而引发 GvHD, 从而导致免疫并发症。为了避免这一风险, 研究人员利用 CRISPR/Cas9 技术敲除 *TRAC* 或 *TRBC*, 从而彻底消除 TCR 表达^[14]。这一改造使 CAR-T 细胞无法对患者组织产生自身免疫攻击, 有效降低 GvHD 发生的可能性^[15], 提高治疗的安全性。

另一方面, 患者的免疫系统通过主要 MHC I/II 类分子识别并排斥供体来源的 CAR-T 细胞触发 HvGR 以影响 CAR-T 的存活和疗效。为解决这类问题, CRISPR/Cas9 常被用于敲除 *B2M*, 从而降低 MHC I 类分子的表达, 使 CAR-T 细胞难以被 CD8⁺ T 细胞和自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK cell) 识别和清除^[16]。而敲除 *CHITA* (MHC II 类主控因子) 可减少 MHC II 类分子表达, 降低 CD4⁺ T 细胞介导的免疫排斥反应, 进一步提升 CAR-T 细胞在体内的存活率^[17]。此外, CRISPR-Cas9 介导的基因修饰和检查点抑制剂联合疗法可以改善 CAR-T 细胞的功能和持久性^[18]。CTLA-4、LAG-3 和 TIM-3 作为 T 细胞耗竭标志物, 靶向调控其表达可改善 CAR-T 细胞功能。临床前研究显示, CRISPR/Cas9 介导的

CTLA-4 敲除可恢复免疫抑制环境下功能受损的 CAR-T 细胞活性, 而 *LAG-3* 单敲除不影响 CAR-T 细胞活力与表型^[19]。进一步研究证实, CD8⁺ T 细胞中程序性死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PD-1)、淋巴细胞活化基因 -3 (lymphocyte activation gene-3, LAG-3) 和 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域分子 -3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing protein 3, TIM-3) 三联敲除可协同增强过继转移 T 细胞的持久性及增殖能力^[20]。

CRISPR/Cas9 基因编辑系统在 UCAR-T 细胞治疗领域取得革命性突破, 其多维度改造策略显著提升了细胞治疗的临床转化潜力。值得关注的是, 复发难治性 B 细胞急性淋巴细胞白血病 (relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia, R/R B-ALL) 的临床试验数据显示该技术具备良好的安全性特征, 受试者体内未见基因编辑相关毒性或细胞因子风暴等严重并发症^[21]。在功能性优化方面, 研究人员通过 TCR 和 HLA-I 双基因敲除成功构建 UCAR-T 平台, 不仅有效规避宿主免疫排斥和 GvHD 风险, 更赋予工程化 T 细胞优异的体内扩增特性和持续抗肿瘤活性^[22]。为规避 HLA-I 缺失引发的 NK 细胞激活风险, 研究通过靶向编辑在 *TRAC* 和 *B2M* 基因座插入 CAR 和 *HLA-E* 的同时敲除 *TRAC*/HLA-I 基因^[23], 使得它们通过双重免疫逃逸机制有效抵抗同种异体反应性 T 细胞及 NK 细胞的攻击。

该技术的创新应用已超越基础改造层面, 通过定向编辑转录调控网络, 诱导记忆性 T 细胞表型的形成, 可显著增强细胞持久性^[24]; 靶向敲除免疫检查点分子 (如 PD-1) 及 TME 敏感受体 (如 TGF- β R), 则能有效阻断 T 细胞耗竭通路, 大幅提升 CAR-T 在免疫抑制性微环境中的适应性^[25, 26]。本团队研究发现, 利用腺嘌呤碱基编辑器 (ABE)-xCas9 靶向编辑 T 细胞 PD-1 受体上的免疫受体酪氨酸开关基序 (ITSM), 可显著增强其在非小细胞肺癌模型中的抗肿瘤活性^[27]。更值得关注的是, 基于 CRISPR 文库的高通量筛选技术正在重塑靶点开发范式, 通过系统性筛选肿瘤特异性抗原组合^[28], 可为构建多靶点协同的智能化 CAR-T 系统提供理论支撑, 这将推动个体化肿瘤免疫治疗向精准化、广谱化方向跨越式发展。

CRISPR/Cas9 技术在 UCAR-T 细胞治疗领域虽前景广阔, 但其临床转化仍存在明显技术瓶颈, 图 1 总结了目前增强 CAR-T 细胞功能的策略。基因组编辑的精准性问题首当其冲, 脱靶效应引发的

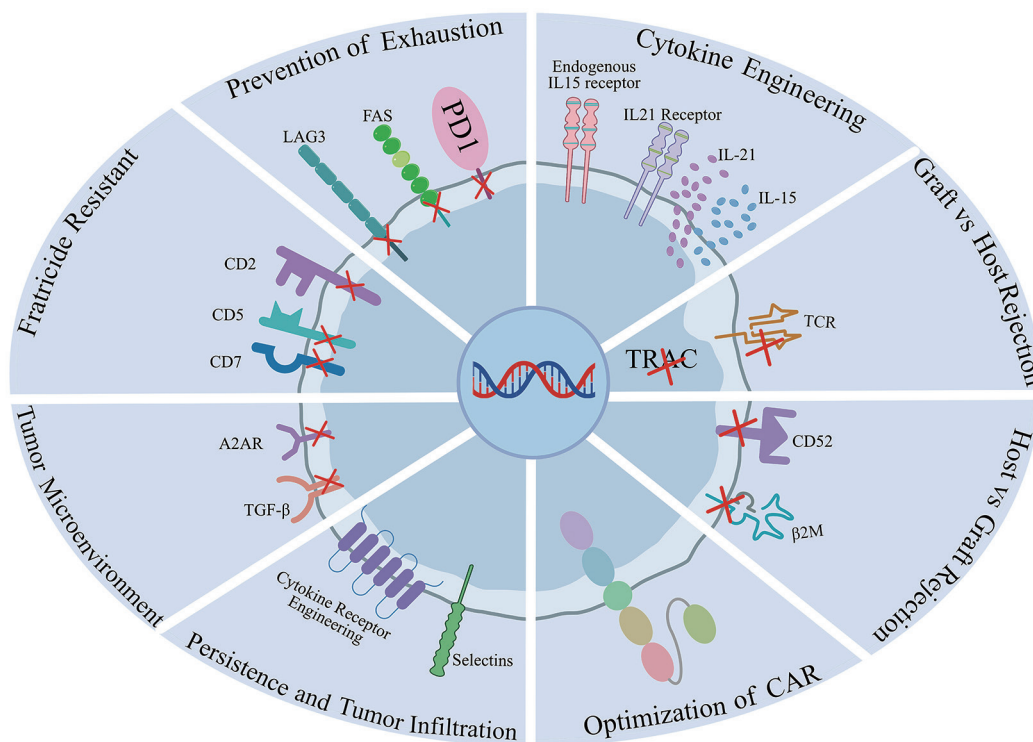


图1 优化CAR-T细胞功效的策略

非特异性基因剪切可能导致基因组不稳定性,进而干扰工程化T细胞的增殖与功能稳态。在临床应用层面,实体瘤治疗面临双重障碍:CAR-T细胞受限肿瘤基质屏障难以有效浸润靶组织,同时受TME代谢压力影响导致效应功能衰减,致使部分患者无法实现持续缓解。

1.3 优化CAR结构设计

1.3.1 不同代次CAR结构的特点与发展

自Gross首次提出嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)概念^[29]以来,CAR技术经历了从第一代到第五代^[30]的持续创新与优化(如图2),其结构设计和功能特性不断完善,显著提升了CAR-T细胞疗法的抗肿瘤活性和临床应用潜力,尤其在血液系统恶性肿瘤及部分实体瘤中展现出显著疗效。

第一代CAR的结构仅包含抗原识别域和T细胞激活信号模块(通常为CD3 ζ 链),虽然能够实现肿瘤细胞的特异性识别和杀伤,但由于缺乏共刺激信号,其在体内持续性不足,难以维持长期的抗肿瘤效应。第二代CAR在保留CD3 ζ 链的基础上,整合了共刺激分子结构域(如CD28或4-1BB),显著增强了T细胞的激活信号强度,从而提高了CAR-T细胞的存活能力和抗肿瘤效能。这一改进使CAR-T疗法在临床应用中取得了突破性进展,目前获得FDA批准的CAR-T产品(如Kymriah和Yescarta)

均采用第二代CAR结构,并在B细胞恶性肿瘤(如急性淋巴细胞白血病和弥漫性大B细胞淋巴瘤)治疗中实现了70%~90%的CR^[31]。第三代CAR进一步优化了共刺激信号系统,通过融合CD28、4-1BB和OX40等多个共刺激分子,显著提升了T细胞的增殖能力和体内持久性^[32-34]。CD126靶向的CAR-T细胞在多种癌细胞系,如前列腺癌、恶性黑色素瘤、肺癌等中表现出强大的体外活性,为应用于实体瘤治疗提供了新的可能性^[35]。第四代也被称为TRUCK细胞,即T重定向通用细胞因子杀伤细胞,通过基因工程手段改造后可定向分泌多种免疫调节因子,包括细胞因子、酶类及生物活性分子^[36]。TRUCK中常用的细胞因子包括白细胞介素-2(IL-2)、IL-15和IL-18,它们可增强针对实体瘤的免疫反应,并延长CAR-T细胞在TME中的持久性^[37,38]。本团队的研究表明,激活IL-15信号通路能增强NK、CD8⁺T和B细胞的抗肿瘤活性,抑制免疫逃逸^[39]。研究表明,CD8⁺T细胞的效应功能受FoxO1与T-bet表达的调控,两者的表达平衡直接决定T细胞功能。通过调控FoxO1/T-bet比值可维持CD8⁺T细胞对晚期肿瘤的持续性免疫攻击。IL-18作为关键调控因子,能够驱动T细胞向具有抗肿瘤效应的功能表型分化。研究证实,工程化表达IL-18的CAR-T细胞可通过建立促炎微环境,显著降低肿瘤

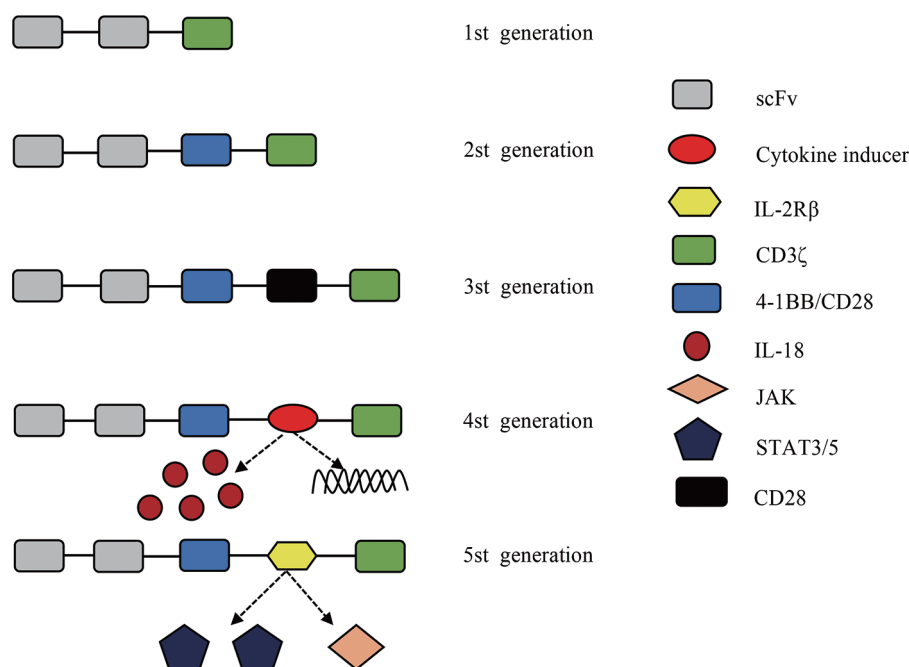


图2 CAR的演变

内 T 细胞耗竭比例, 并增强效应细胞活性, 从而提升实体瘤清除效率^[40]。第五代 CAR-T 引入细胞因子 (如 IL-2R β 链) 激活 JAK-STAT 信号通路, 使 T 细胞能够更有效地响应 TME 中的免疫信号, 从而提升其增殖能力和持久性^[30]。通过共价连接技术构建的模块化通用 CAR-T (MU-CAR-T) 细胞成功验证了 VRC01-scFv 或 CD5-CD30 scFv 介导的人类免疫缺陷病毒 1 型 (human immunodeficiency virus type 1, HIV-1) 潜伏感染细胞或 T 细胞淋巴瘤细胞的靶标识别能力和细胞毒性^[41]。

尽管 CAR-T 细胞疗法在血液系统肿瘤治疗中取得了显著成效, 其在实体瘤中的应用仍面临诸多障碍。实体瘤的 TME 具有高度异质性, 包含大量免疫抑制性细胞 (如调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 和髓源性抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs))、致密的细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 屏障以及缺氧、高乳酸、低 pH 值等不利条件, 这些因素显著限制了 CAR-T 细胞的浸润、存活和杀伤效能^[42, 43]。此外, 实体瘤细胞表面抗原的异质性表达使得部分肿瘤细胞能够通过抗原丢失或下调机制逃避免疫识别, 进一步削弱 CAR-T 细胞的治疗效果。针对实体瘤治疗中的挑战, 研究者采取多种策略 (如图 1), 通过基因工程手段引入趋化因子受体基因, 显著增强 CAR-T 细胞向肿瘤部位的定向迁移能力; 同时, 联合使用 PD-1 抗体或

PD-1/CD28 嵌合受体, 有效阻断 TME 中免疫抑制信号的传递, 从而提升 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性^[44]。在黑色素瘤和非小细胞肺癌实验模型中, 联合 PD-1 抗体的 CAR-T 细胞展现出了显著的肿瘤杀伤效果。此外, CRISPR/Cas9 基因编辑技术被用于优化 CAR-T 细胞的功能特性, 例如敲除内源性 *PDCDI* 基因以减少免疫抑制信号的干扰。一项创新性研究还开发了“开关型 CAR-T 细胞”, 通过小分子药物实现对细胞活性的精准调控, 从而有效控制治疗过程中的毒副作用。随着技术的持续突破, CAR-T 细胞疗法在实体瘤治疗领域为患者带来了新的希望。

1.3.2 新型CAR结构设计

传统 CAR-T 细胞由于其固定的靶向单一抗原表位的特性, 在面对肿瘤抗原异质性及抗原逃逸时, 疗效往往受到限制^[30]。为突破这一瓶颈, 科学家们开发了两种创新性技术: 串联 CAR (tandem chimeric antigen receptor, TanCAR) 和开关型 CAR-T (switchable CAR-T, sCAR-T)。这些新技术为提升 CAR-T 疗法的特异性、安全性和适应性提供了全新思路。

串联 CAR 通过整合两个抗原结合结构域, 使 CAR-T 细胞能够同时识别两种肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA)。这种双靶点设计不仅提高了治疗的特异性, 还显著增强了抗肿瘤活性。在实体瘤治疗中, 串联 CAR 的优势尤为突出: 它

不仅能直接靶向恶性肿瘤细胞,还能通过调节 TME 中的免疫抑制细胞,降低免疫抑制效应,从而进一步增强 CAR-T 细胞在肿瘤组织中的浸润和杀伤能力。TGF β 1 和 PDL1 是免疫抑制性 TME 中影响 T 细胞功能的关键抑制性调节因子,通过 Cas9 敲除 *TGFBR2* 和 (或) *PDCDI* 基因,并利用三种不同的单链抗体片段 (scFv 806、E2 和 NEC) 靶向神经鞘瘤表皮生长因子受体 (EGFR/HER1), 构建的 CAR-T 表现出显著的肿瘤细胞清除能力^[45]。

Schneider 等^[46]设计了一种靶向 CD19 和 CD20 抗原的串联嵌合抗原受体 (CD19-CD20-tandem CAR), 将 TanCAR-T 细胞与白血病细胞系共培养后发现, 与非工程化 T 细胞相比, 其分泌的 IL-2、干扰素 γ (interferon-gamma, IFN- γ) 和肿瘤坏死因子 - α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α) 水平显著提高, 证明其可有效杀伤肿瘤细胞。此外, CD19-CD20-TanCAR 在清除癌细胞、减少肿瘤抗原逃逸和靶向非肿瘤效应相关毒性 (OTOT) 方面比单个 CD19-CAR-T 细胞更有效^[47]。针对 MUC1/PSCA 共表达 NSCLC 开发的串联 CAR-T, 通过抗原互补机制显著降低肿瘤免疫逃逸概率^[43]。在功能强化方面, 研究人员提出了“靶向 + 免疫重塑”的复合策略: 一方面通过 PD-1 抗体联合治疗阻断 TME 中的免疫检查点抑制信号, 使 CAR-T 细胞突破微环境代谢屏障^[48]; 另一方面运用抗原组合优化技术, 根据实体瘤异质性特征开发出 HER2-MUC1、CD19-CD22 及 EGFRvIII-IL13R α 2 等模块化靶点组合, 形成动态抗原响应系统^[49-51]。这种多维度改造不仅提升 CAR-T 的肿瘤浸润深度, 更通过信号通路级联放大效应延长效应细胞的体内存活周期, 为克服实体瘤治疗瓶颈提供了创新解决方案。

在 CAR-T 技术革新中, sCAR-T 通过构建“效应单元 - 调控开关”双模块系统实现精准治疗^[52], 其核心在于引入外源性调控元件 (如药物敏感型受体或光控开关), 使临床医师能够通过调控分子浓度梯度动态调节 T 细胞活性。例如, SynNotch 受体系统通过肿瘤特异性抗原 EGFRvIII 触发局部 CAR 表达, 协同靶向 EphA2 和 IL13R α 2 实现精准肿瘤杀伤, 其空间限制性激活机制可有效规避远端正常组织的脱靶毒性^[53]。Li 等^[54]开发了基于 NKG2D-DAP10 嵌合受体的双靶向系统, 通过整合天然 NKG2D 受体与抗 GPC3 scFv 实现双抗原协同识别, 显著增强对异质性肿瘤细胞的特异性清除能力。这种可逆性调控机制不仅显著减少 CRS 等剂量依赖性毒副

反应, 还可根据肿瘤免疫逃逸特征实时调整治疗窗口期, 通过间歇性激活策略维持 T 细胞功能稳态, 从而突破传统疗法对耐药性 TME 的应对局限。

1.3.3 CAR的抗原结合域亲和力

过去的研究主要集中在提升 CAR-T 细胞的疗效与持久性, 而对 CAR-T 细胞与癌细胞之间相互作用模式的关注相对较少。实际上, CAR-T 细胞识别肿瘤相关抗原 (tumor-associated antigen, TAA) 的能力是治疗成功的关键因素之一。抗原结合域的亲和力直接影响了 CAR-T 细胞的靶向性和疗效, 成为优化治疗的核心要素。

亲和力失衡会呈现双向风险: 超生理性结合会触发 T 细胞超活化级联反应, 导致耗竭加速并产生脱靶攻击; 而亚阈值结合则造成肿瘤逃逸与治疗抵抗^[55]。针对此瓶颈, 研究聚焦于构建结合强度 - 效应预测模型, 整合分子动力学模拟与高通量筛选技术, 开发具有反馈调节功能的智能受体系统, 实现治疗参数的动态优化。

工程化改造策略通过抗体构象优化、亲和力梯度筛选及异源双表位识别设计, 显著提高抗原识别特异性; 同步发展的可控型 sCAR-T 平台, 通过光控或小分子开关实时调节细胞活性, 有效降低细胞因子风暴风险; 前沿研究将亲和力适配与代谢通路重塑、免疫微环境调控相结合, 构建多维增效体系以攻克实体瘤屏障。

抗原结合域的模块化设计为 CAR-T 疗法提供了精准调控的分子基础。随着单细胞解析技术与合成受体技术的融合, 下一代智能细胞治疗系统将实现微环境响应型动态调控, 推动肿瘤免疫治疗向程序化、个体化方向迭代升级。

2 临床应用和挑战

2.1 临床应用

UCAR-T 细胞在治疗血液系统恶性肿瘤和实体瘤方面表现出广阔的应用潜力, 表 1 总结了目前正在进行的临床试验进展。血液瘤领域的一项 R/R B-ALL 研究表明, HLA-A/B-TRAC- 新型 CAR-T19 (nU-CAR-T19) 细胞在患者体内表现出强劲的扩增能力, 并快速清除 CD19⁺ 异常 B 细胞。临床数据表明, 患者在输注后 14 d 达到 CR, 未检测到微小残留病灶 (minimal residual disease, MRD), 且未观察到 GvHD 的现象^[56]。最新的研究表明, 新型人源化 CD19 定向 CAR-T (HCAR19) 已被批准用于 R/R B-ALL 的 I/II 期临床试验 (CTRI/2021/05/033348

表1 UCAR-T细胞临床研究进展

肿瘤类型	临床编号	细胞名称	疾病	靶向指标	阶段	起止时间
血液瘤	NCT04150497	UCART22	复发难治性B细胞急性淋巴细胞白血病(R/R B-ALL)	CD22	I/II期	2019-10-14至2026-01-31
	NCT05995015	4SCAR19UT	复发难治性B细胞恶性淋巴瘤	CD19	I期	2023-10-31至2026-12-31
	NCT06663046	REVO-UWD-00B	复发难治性多发性骨髓瘤	BCMA	I期	2025-07-01至2029-12-30
	NCT06662227	UWD-CD19	复发难治性B细胞淋巴瘤	CD19	I期	2024-10-24至2029-12-30
	NCT05607420	UCART20x22	复发难治性B细胞非霍奇金淋巴瘤(B-NHL)	CD20、CD22	I/II期	2022-11-01至2027-11
实体瘤	NCT06653023	REVO-UWD-03	肝细胞癌(HCC)和晚期非小细胞肺癌(NSCLC)	GPC3	I期	2024-10-23至2027-12-30
	NCT06653010	REVO-UWD-01	转移性结直肠癌	GCC	I期	2024-10-23至2027-12-30
	NCT04633148	UniCAR02-T-pPSMA	前列腺癌	PSMA	I期	2020-11-23至2024-03-28
	NCT06895811	PSMA-UCAR T (BRL-302)	难治性去势抵抗性前列腺癌(CRPC)		I期	2025-03-27至2025-11

和 CTRI/2023/03/050689), 并表现出安全性、可控的毒性和持久的缓解^[57]。

虽然 CAR-T 细胞疗法在实体瘤治疗中的疗效有限, 但也取得了令人鼓舞的进展。多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 研究显示, 靶向 BCMA/CD47 的 UCAR-T 细胞不仅对原代人 MM 细胞及细胞系表现出良好的抗肿瘤活性, 还显著延长了肿瘤移植 NCG 小鼠的存活时间^[58]。此外, 最新临床试验 (NCT00085930) 显示, 部分神经母细胞瘤患者接受治疗后, 肿瘤生长得到有效控制, 甚至实现超过 18 年的 CR, 初步证实了其安全性和可行性^[59]。

此外, UCAR-T 细胞的应用为自身免疫性疾病的治疗提供了新的思路。《新英格兰医学杂志》最新的一项研究显示, 15 例系统性红斑狼疮、系统性硬化症及炎症性肌病患者经 CD19 CAR-T 治疗后实现完全缓解且临床症状及血清学标志物得到显著改善^[60]。临床试验结果表明, 利用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术制备的靶向 CD19 的 UCAR-T 细胞 (TyU19) 在治疗风湿免疫病时, 能够在 3 个月内有效清除并重塑患者的 B 细胞, 同时未观察到严重的免疫相关不良反应^[61]。研究数据标志着 CAR-T 技术从肿瘤治疗向自身免疫疾病领域的重大跨越, 其高效性及安全性已引发多中心对照临床试验的加速推进, 为自身免疫性疾病治疗范式转变提供了强有力的支持。

2.2 挑战

尽管 UCAR-T 细胞疗法在临床应用中已取得

巨大突破, 但仍面临技术、临床和产业化层面的挑战。在技术层面, 基因编辑技术的脱靶效应、细胞来源相关技术以及移植免疫排斥反应 (包括 GvHD 和 HvGR) 是主要障碍, 其中 HvGR 会导致 UCAR-T 细胞持久性变差。在体内外模型中, 通过脂质纳米颗粒递送 Cas9 切口酶及多 sgRNA 精准切割避免脱靶, 通过阻断修复通路实现对肿瘤的高效杀伤, 均表现出精准抗癌潜力^[62]。此外, 理想靶抗原的缺乏、TME 的物理屏障以及 T 细胞内在的抑制机制, 均限制了 CAR-T 细胞在肿瘤组织中的有效浸润与杀伤能力^[63]。随着代谢和表观遗传学在癌症和细胞治疗中的重要性日益凸显, 糖酵解、甲基化和乙酰化成为关键的 CAR-T 细胞治疗靶点。通过 Cas9 敲除 *TRAC/B2M/HLA-DRA* 基因降低免疫原性, 并在 CAR 结构中整合 SAP 模块 (CD47 胞外域和突变型 IL7Rα 胞内结构域) 构建 SAP UCAR-T, 发现 SAP UCAR-T 显著改善先天免疫排斥和持久性不足^[64]。在临床层面, 长期疗效与安全性验证、质量标准控制仍是亟待解决的问题。在产业化层面, 标准的生产流程和控制合适的成本是推动 UCAR-T 细胞广泛应用的关键。FDA 于 2024 年发布的附加文件涵盖了 CAR-T 细胞、基因治疗等产品的制造和安全性测试等建议^[65], 如严格检测同种异体反应性 T 细胞与异常增殖风险, 需建立毒性分级监测体系, 重点追踪靶向编辑相关不良事件, 并要求 15 年长期随访以确保其安全性^[66-67]。同时, 全基因组测序 (whole genome sequencing, WGS) 技术是唯一可提供

全基因组范围内高分辨率定性与定量数据的技术,在检测脱靶效应及靶向测序等关键环节中具有不可替代性^[68],为基因组编辑的安全性评估提供了科学依据,并推动了基因编辑技术在临床转化中的规范化发展。

3 总结与展望

UCAR-T 细胞疗法作为一种极具潜力的免疫治疗手段,特别是在复发难治性 B 细胞恶性血液肿瘤的临床研究中已表现出显著的治疗优势,其 CR 和无进展生存期 (PFS) 均显著优于传统治疗方案。然而,在实体瘤治疗领域,UCAR-T 细胞疗法仍面临诸多挑战,包括 TME 的免疫抑制特性以及 CAR-T 细胞在实体瘤中的浸润和持久性不足等问题。随着基因编辑技术的快速发展和临床研究的不断深入,研究者正致力于通过优化 CAR 结构设计、改善 CAR-T 细胞在 TME 中的存活能力以及降低治疗成本等策略,以提升其在实体瘤治疗中的应用潜力。本团队在基因编辑 T 细胞和通用型 T 细胞治疗领域取得了系列创新成果,从 2018 年首次开发 PD-1 基因缺陷型 T 淋巴细胞制剂 (ZL20170649967.6) 开始,逐步建立了免疫检查点调控技术体系,包括 PD-1 解除抑制的 T 细胞制剂 (ZL201910349259.X)。近年来重点突破通用型技术瓶颈,成功研制出靶向 CEA 抗原的通用型 CEA-CART 细胞制剂 (ZL202411-895652.6),并配套开发了类干细胞化诱导培养基 (ZL202310122563.7) 等核心技术。同时,团队还构建了 hiPSC 来源的神经干细胞 (ZL202210624792.4) 和 FGF10 旁分泌成纤维细胞 (ZL202310122563.7) 等辅助治疗体系,形成了从基因编辑、免疫调控到干细胞技术的多维度治疗平台,在细胞治疗领域展现出持续的系统性创新能力。此外,还发表多篇论文报道了基因编辑和通用型细胞相关研究成果,详细阐述了通过 Cas9 技术对 PD-1 碱基对进行突变以增强 T 细胞杀灭肿瘤的效果;基于单细胞 RNA-seq 从基因水平和代谢水平探讨了 PD 脑中 ESC 和 iPSC 细胞类型的差异,为改进 iPSC 治疗 PD 提供理论依据;当前正致力于构建 UCAR-T 细胞,并在体内验证其治疗实体瘤的效果。未来,通过代谢重编程、多靶点设计、iPSC 技术及联合疗法,有望突破实体瘤壁垒并实现成本优化,使 UCAR-T 成为治疗多种恶性肿瘤的有效手段。UCAR-T 将为癌症患者提供更广泛的治疗选择,推动免疫治疗进入新的发展阶段。

[参 考 文 献]

- [1] Gupta S, Simic M, Sagan SA, et al. CAR-T cell-mediated B-cell depletion in central nervous system autoimmunity. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 2023, 10: e200080
- [2] Wang M, Jia L, Dai X, et al. Advanced strategies in improving the immunotherapeutic effect of CAR-T cell therapy. *Mol Oncol*, 2024, 18: 1821-48
- [3] Borgert R. Improving outcomes and mitigating costs associated with CAR T-cell therapy. *Am J Manag Care*, 2021, 27: S253-61
- [4] Ismail AH, Khormi MA, Mawkili W, et al. Harnessing the potential of gene editing technology to overcome the current bottlenecks of CAR-T cell therapy in T-cell malignancies. *Exp Hematol*, 2025, 146: 104762
- [5] Zhang S, Jiang X, Yan M, et al. Revealing induced pluripotent stem cells' potential as a better alternative to embryonic stem cells for Parkinson's disease treatment based on single-cell RNA-seq. *Braz J Med Biol Res*, 2024, 57: e13482
- [6] Jing R, Falchetti M, Han T, et al. Maturation and persistence of CAR T cells derived from human pluripotent stem cells via chemical inhibition of G9a/GLP. *Cell Stem Cell*, 2025, 32: 71-85.e5
- [7] Madrid M, Lakshmipathy U, Zhang X, et al. Considerations for the development of iPSC-derived cell therapies: a review of key challenges by the JSRM-ISCT iPSC Committee. *Cytotherapy*, 2024, 26: 1382-99
- [8] Alidadi M, Barzgar H, Zaman M, et al. Combining the induced pluripotent stem cell (iPSC) technology with chimeric antigen receptor (CAR)-based immunotherapy: recent advances, challenges, and future prospects. *Front Cell Dev Biol*, 2024, 12: 1491282
- [9] Torikai H, Reik A, Soldner F, et al. Toward eliminating HLA class I expression to generate universal cells from allogeneic donors. *Blood*, 2013, 122: 1341-9
- [10] Poirot L, Philip B, Schiffer-Mannioui C, et al. Multiplex genome-edited T-cell manufacturing platform for "Off-the-Shelf" adoptive T-cell immunotherapies. *Cancer Res*, 2015, 75: 3853-64
- [11] Torikai H, Reik A, Liu PQ, et al. A foundation for universal T-cell based immunotherapy: T cells engineered to express a CD19-specific chimeric-antigen-receptor and eliminate expression of endogenous TCR. *Blood*, 2012, 119: 5697-705
- [12] Mohanty R, Chowdhury CR, Arega S, et al. CAR T cell therapy: a new era for cancer treatment. *Oncol Rep*, 2019, 42: 2183-95
- [13] Dharani S, Cho H, Fernandez JP, et al. TALEN-edited allogeneic inducible dual CAR T cells enable effective targeting of solid tumors while mitigating off-tumor toxicity. *Mol Ther*, 2024, 32: 3915-31
- [14] Foy SP, Jacoby K, Bota DA, et al. Non-viral precision T cell receptor replacement for personalized cell therapy. *Nature*, 2023, 615: 687-96
- [15] Benjamin R, Jain N, Maus MV, et al. UCART19, a first-in-class allogeneic anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for adults with relapsed or refractory B-cell

- acute lymphoblastic leukaemia (CALM): a phase 1, dose-escalation trial. *Lancet Haematol*, 2022, 9: e833-43
- [16] Hoerster K, Uhrberg M, Wiek C, et al. HLA class I knockout converts allogeneic primary NK cells into suitable effectors for "off-the-shelf" immunotherapy. *Front Immunol*, 2020, 11: 586168
- [17] Chang SH, Park CG. Comparing the benefits and drawbacks of stem cell therapy based on the cell origin or manipulation process: addressing immunogenicity. *Immune Netw*, 2023, 23: e44
- [18] Khan SH, Choi Y, Veena M, et al. Advances in CAR T cell therapy: antigen selection, modifications, and current trials for solid tumors. *Front Immunol*, 2024, 15: 1489827
- [19] Agarwal S, Aznar MA, Rech AJ, et al. Deletion of the inhibitory co-receptor CTLA-4 enhances and invigorates chimeric antigen receptor T cells. *Immunity*, 2023, 56: 2388-407.e9
- [20] Ciralo E, Althoff S, Ruß J, et al. Simultaneous genetic ablation of PD-1, LAG-3, and TIM-3 in CD8 T cells delays tumor growth and improves survival outcome. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 3207
- [21] Naeem M, Hazafa A, Bano N, et al. Explorations of CRISPR/Cas9 for improving the long-term efficacy of universal CAR-T cells in tumor immunotherapy. *Life Sci*, 2023, 316: 121409
- [22] Li W, Zhu X, Xu Y, et al. Simultaneous editing of TCR, HLA-I/II and HLA-E resulted in enhanced universal CAR-T resistance to allo-rejection. *Front Immunol*, 2022, 13: 1052717
- [23] Chocarro L, Arasanz H, Fernández-Rubio L, et al. CAR-T cells for the treatment of lung cancer. *Life (Basel)*, 2022, 12: 561
- [24] Wei W, Chen ZN, Wang K. CRISPR/Cas9: a powerful strategy to improve CAR-T cell persistence. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 12317
- [25] Hu Y, Zhou Y, Zhang M, et al. CRISPR/Cas9-engineered universal CD19/CD22 dual-targeted CAR-T cell therapy for relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res*, 2021, 27: 2764-72
- [26] Choi BD, Yu X, 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 Immunother Cancer*, 2019, 7: 304
- [27] Qi T, Fu J, Zhang W, et al. Mutation of PD-1 immune receptor tyrosine-based switch motif (ITSM) enhances the antitumor activity of cytotoxic T cells. *Transl Cancer Res*, 2020, 9: 6811-9
- [28] Hu S, Gan M, Wei Z, et al. Identification of host factors for livestock and poultry viruses: genome-wide screening technology based on the CRISPR system. *Front Microbiol*, 2024, 15: 1498641
- [29] Amor C, Feucht J, Leibold J, et al. Senolytic CAR T cells reverse senescence-associated pathologies. *Nature*, 2020, 583: 127-32
- [30] Kagoya Y, Tanaka S, Guo T, et al. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK-STAT signaling domain mediates superior antitumor effects. *Nat Med*, 2018, 24: 352-9
- [31] Capolla S, Rasool M, Toffoli G, et al. CAR-T cell manufacturing for hematological and solid tumors: from the preclinical to clinical point of view. *Cancer Med*, 2025, 14: e70726
- [32] Chmielewski M, Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15: 1145-54
- [33] Tahmasebi S, Elahi R, Khosh E, et al. Programmable and multi-targeted CARs: a new breakthrough in cancer CAR-T cell therapy. *Clin Transl Oncol*, 2021, 23: 1003-19
- [34] Au R. Immunooncology: can the right chimeric antigen receptors T-cell design be made to cure all types of cancers and will it be covered? *J Pharm (Cairo)*, 2017, 2017: 7513687
- [35] Mishra AK, Kemler I, Dingli D. Preclinical development of CD126 CAR-T cells with broad antitumor activity. *Blood Cancer J*, 2021, 11: 3
- [36] Miao L, Zhang J, Huang B, et al. Special chimeric antigen receptor (CAR) modifications of T cells: a review. *Front Oncol*, 2022, 12: 832765
- [37] Marei HE, Althani A, Caceci T, et al. Recent perspective on CAR and Fcγ-CR T cell immunotherapy for cancers: preclinical evidence versus clinical outcomes. *Biochem Pharmacol*, 2019, 166: 335-46
- [38] Figueroa JA, Reidy A, Mirandola L, et al. Chimeric antigen receptor engineering: a right step in the evolution of adoptive cellular immunotherapy. *Int Rev Immunol*, 2015, 34: 154-87
- [39] Liu Y, Ma W, Tian X, et al. Immunomodulatory roles of IL-15 in immune cells and its potential for cancer immunotherapy. *Anticancer Agents Med Chem*, 2024, 24: 1457-66
- [40] van Kempen LC, van den Oord JJ, van Muijen GN, et al. Activated leukocyte cell adhesion molecule/CD166, a marker of tumor progression in primary malignant melanoma of the skin. *Am J Pathol*, 2000, 156: 769-74
- [41] Chen T, Deng J, Zhang Y, et al. The construction of modular universal chimeric antigen receptor T (MUCAR-T) cells by covalent linkage of allogeneic T cells and various antibody fragments. *Mol Cancer*, 2024, 23: 53
- [42] Moghimi B, Muthugounder S, Jambon S, et al. Preclinical assessment of the efficacy and specificity of GD2-B7H3 SynNotch CAR-T in metastatic neuroblastoma. *Nat Commun*, 2021, 12: 511
- [43] Wang A, Lv T, Song Y. Tandem CAR-T cells targeting MUC1 and PSCA combined with anti-PD-1 antibody exhibit potent preclinical activity against non-small cell lung cancer. *Cell Immunol*, 2023, 391-392: 104760
- [44] Adhikary S, Pathak S, Palani V, et al. Current technologies and future perspectives in immunotherapy towards a clinical oncology approach. *Biomedicines*, 2024, 12: 217
- [45] Tang N, Cheng L, Hao J, et al. Development of CAR-T cell therapy for NF1/SWN-related nerve sheath tumor treatment. *Acta Neuropathol Commun*, 2025, 13: 45
- [46] Schneider D, Xiong Y, Wu D, et al. A tandem CD19/CD20 CAR lentiviral vector drives on-target and off-target

- antigen modulation in leukemia cell lines. *J Immunother Cancer*, 2017, 5: 42
- [47] Rong S, Segal S, Anver M, et al. Invasiveness and metastasis of NIH 3T3 cells induced by Met-hepatocyte growth factor/scatter factor autocrine stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994, 91: 4731-5
- [48] Anbari K, Ghanadi K. Colorectal cancer: risk factors, novel approaches in molecular screening and treatment. *Int J Mol Cell Med*, 2025, 14: 576-605
- [49] Nieto-Jiménez C, Sanvicente A, Díaz-Tejeiro C, et al. Uncovering therapeutic opportunities in the clinical development of antibody-drug conjugates. *Clin Transl Med*, 2023, 13: e1329
- [50] Benevolo Savelli C, Clerico M, Botto B, et al. Chimeric antigen receptor-T cell therapy for lymphoma: new settings and future directions. *Cancers (Basel)*, 2023, 16: 46
- [51] Ohno M, Ohkuri T, Kosaka A, et al. Expression of miR-17-92 enhances anti-tumor activity of T-cells transduced with the anti-EGFRvIII chimeric antigen receptor in mice bearing human GBM xenografts. *J Immunother Cancer*, 2013, 1: 21
- [52] 王秋霞, 时丽丽. 开关型嵌合抗原受体T细胞的研究进展. *药科学报*, 2019, 54: 2209-13
- [53] Choe JH, Watchmaker PB, Simic MS, et al. SynNotch-CAR T cells overcome challenges of specificity, heterogeneity, and persistence in treating glioblastoma. *Sci Transl Med*, 2021, 13: eabe7378
- [54] Li S, Zhao R, Zheng D, et al. DAP10 integration in CAR-T cells enhances the killing of heterogeneous tumors by harnessing endogenous NKG2D. *Mol Ther Oncolytics*, 2022, 26: 15-26
- [55] Mao R, Kong W, He Y. The affinity of antigen-binding domain on the antitumor efficacy of CAR T cells: moderate is better. *Front Immunol*, 2022, 13: 1032403
- [56] Chen X, Tan B, Xing H, et al. Allogeneic CAR-T cells with of HLA-A/B and TRAC disruption exhibit promising antitumor capacity against B cell malignancies. *Cancer Immunol Immunother*, 2024, 73: 13
- [57] Narula G, Keerthivasagam S, Jain H, et al. Novel humanized CD19-CAR-T (Now talicabtagene autoleucel, Tali-cel™) cells in relapsed/ refractory pediatric B-acute lymphoblastic leukemia- an open-label single-arm phase-I/ Ib study. *Blood Cancer J*, 2025, 15: 75
- [58] Lu Q, Li H, Wu Z, et al. BCMA/CD47-directed universal CAR-T cells exhibit excellent antitumor activity in multiple myeloma. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22: 279
- [59] Li CH, Sharma S, Heczey AA, et al. Long-term outcomes of GD2-directed CAR-T cell therapy in patients with neuroblastoma. *Nat Med*, 2025: 1125-9
- [60] Müller F, Taubmann J, Bucci L, et al. CD19 CAR T-cell therapy in autoimmune disease - a case series with follow-up. *N Engl J Med*, 2024, 390: 687-700
- [61] Wang X, Wu X, Tan B, et al. Allogeneic CD19-targeted CAR-T therapy in patients with severe myositis and systemic sclerosis. *Cell*, 2024, 187: 4890-904.e9
- [62] Lee S, Kim K, Jeong HJ, et al. Combining multiplexed CRISPR/Cas9-nickase and PARP inhibitors efficiently and precisely targets cancer cells. *Cancer Res*, 2025, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-24-2938
- [63] Pan K, Farrukh H, Chittepu V, et al. CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy. *J Exp Clin Cancer Res*, 2022, 41: 119
- [64] Zhang Z, Zhao L, Huang T, et al. A self-activated and protective module enhances the preclinical performance of allogeneic anti-CD70 CAR-T cells. *Front Immunol*, 2024, 15: 1531294
- [65] Gong T, Sun R, Bai J, et al. Calcitriol modulates hippocampal axon guidance through enhanced EfnA4-mediated PI3K/AKT signaling in an autism mouse model. *CNS Neurosci Ther*, 2025, 31: e70429
- [66] Moradi V, Khodabandehloo E, Alidadi M, et al. Progress and pitfalls of gene editing technology in CAR-T cell therapy: a state-of-the-art review. *Front Oncol*, 2024, 14: 1388475
- [67] Center for Biologics Evaluation and Research. Human gene therapy products incorporating human genome editing, guidance for industry[EB/OL]. (2024-03-05) [2025-02-01]. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/human-gene-therapy-products-incorporating-human-genome-editing>
- [68] Hunt JMT, Samson CA, Rand AD, et al. Unintended CRISPR-Cas9 editing outcomes: a review of the detection and prevalence of structural variants generated by gene-editing in human cells. *Hum Genet*, 2023, 142: 705-20