



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2022.09.001

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.09.001

· 综述与讲座 ·

# 多靶点 CAR-T 治疗血液系统恶性肿瘤研究进展

冯友琴 张棋琦 胡永仙 黄河

**【摘要】** 嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 治疗复发难治性血液系统恶性肿瘤疗效显著, 但仍有部分患者存在治疗无效或治疗后复发。CAR-T 治疗后复发的机制主要为抗原依赖性因素 (抗原逃逸、抗原脱落或抗 CAR 抗体) 及 T 细胞驱动性因素 (CAR-T 耗竭、免疫抑制性肿瘤微环境)。与单靶点相比, 多靶点 CAR-T 疗法可降低抗原丢失的可能性, 并增强其抗肿瘤活性。本综述总结了目前应用多靶点 CAR-T 治疗复发难治性血液系统恶性肿瘤临床转化研究的最新进展。

**【关键词】** 多靶点; 嵌合抗原受体 T 细胞; 血液系统恶性肿瘤; 综述

**【中图分类号】** R73 **【文献标识码】** A

嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 治疗复发难治性血液系统恶性肿瘤疗效显著, 成为近年来肿瘤治疗领域最重大的突破之一。据报道 CD19 CAR-T 治疗复发难治性急性 B 淋巴细胞白血病 (B-ALL) 及复发难治性 B 细胞非霍奇金淋巴瘤 (B-NHL) 的完全缓解率 (CRR) 分别是 60% ~ 90%<sup>[1-3]</sup> 和 40% ~ 50%<sup>[4-5]</sup>; B 细胞成熟抗原 (BCMA) CAR-T 治疗复发难治性多发性骨髓瘤 (RRMM) 的 CRR 为 39% ~ 80%<sup>[6-8]</sup>; G 蛋白偶联受体 C5 家族亚型 D 蛋白 (GPCR5D) CAR-T (OriCAR-017) 治疗 RRMM 的 CRR/严格意义的 CRR (sCRR) 为 60% (NCT05016778); CD7 CAR-T 治疗复发难治性 T 细胞急性淋巴细胞白血病 (T-ALL) 或淋巴母细胞淋巴瘤 (LBL) 的 CRR 可达 87.5% ~ 94.0%<sup>[9]</sup>。尽管单靶点 CAR-T 疗效显著, 但仍有部分复发难治性血液病患者存在治疗无效或治疗后复发。据文献报道, 复发难治性 B-ALL 患者在使用 CD19 CAR-T 治疗后的复发率约为 17% ~ 57%, 其中 CD19 阴性复发率为 7% ~ 25%<sup>[1,10]</sup>。

CAR-T 治疗后复发是目前临床面临的巨大挑战, 其涉及机制主要包括抗原依赖性因素 (抗原逃逸、抗原脱落或抗 CAR 抗体) 及 T 细胞驱动性因素 (CAR-T

耗竭、免疫抑制性肿瘤微环境)<sup>[11]</sup>。在血液系统肿瘤研究领域, 靶抗原的缺失是最具特征的耐药机制, 靶抗原阴性克隆的复发具有多种潜在机制, 如移码/错义突变或可变剪接、预先存在的抗原阴性亚克隆选择性扩增、表位遮蔽和谱系转换/转分化等<sup>[12]</sup>。另有研究表明 CAR-T 还可通过胞啃作用将肿瘤细胞表面的靶抗原转移到自身表面, 降低肿瘤细胞上靶点的密度, 并引起 CAR-T 之间相互攻击, 最终导致 T 细胞的耗竭与活性降低<sup>[13]</sup>。与单靶点 CAR-T 相比, 多靶点 CAR-T 可降低抗原丢失的可能性, 并可增加其抗肿瘤活性<sup>[13-14]</sup>。目前双靶点 CAR-T 研发及临床转化日渐增多, 从报道的综合临床数据可看出, 双靶点 CAR-T 展现出极富前景的应用价值。本综述总结了目前应用多靶点 CAR-T 治疗复发难治性血液系统恶性肿瘤临床转化研究的最新进展。

## 一、多靶点 CAR-T 结构

用于构建多靶点 CAR-T 的 CAR 结构主要包括: 鸡尾酒/序贯 CAR、共转导型 CAR、并联型 CAR、二价串联型 CAR、二价环形 CAR。

1. 鸡尾酒/序贯 CAR (图 1A): 分别用两种不同病毒载体转导的 T 细胞可产生两种单独的 CAR-T 产品, 然后将两种单独的 CAR-T 以 1:1 的比例混合在一起, 同时或序贯输注<sup>[15-16]</sup>。该方式可灵活调整组合和剂量, 但生产成本低, 从临床实践观察, 两个 CAR-T 共同或序贯回输, 可能以某一靶点 CAR 起主要作用。

2. 共转导型 CAR (图 1B): 用两个病毒载体同时

基金项目: 国家自然科学基金重点项目 (821300031); 浙江省科技厅重点研发计划项目 (2021C03010)

作者单位: 310006 杭州, 浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心 浙江大学医学中心良渚实验室 浙江大学血液学研究所 浙江省干细胞与细胞免疫治疗工程实验室

通讯作者: 胡永仙, E-mail: 1313016@zju.edu.cn; 黄河, E-mail: huanghe@zju.edu.cn

共转导,每个载体编码一个单独的 CAR 结构。其最终的混合产物中包含两个单独的单靶点 CAR-T 和一个双靶点 CAR-T<sup>[16]</sup>。但细胞产品中会存在没有转上 CAR 的 T 细胞,质控比较困难。

3. 并联型 CAR(图 1C):即双顺反子 CAR,带有不同单链抗体片段(scFv)的 CAR 分子转入同一个 T 细胞,其中每个 CAR 靶向不同的抗原结合域,且具有各自独立的信号传导途径<sup>[16-18]</sup>。但 CAR 分子较大易导致病毒包装或转导效率出现问题,且两个胞内信号更易导致 CAR-T 耗竭。

4. 二价环形或串联型 CAR(图 1D、1E):将一个二价病毒载体引入 T 细胞而产生双结构域。根据 scFv 的轻链可变结构域(VL)和重链可变结构域(VH)排列顺序的不同,可分为两种结构:串联和环形 CAR。两种结构的胞内均只有一个共同的信号传导途径<sup>[18-19]</sup>。串联结构是由一个 scFv 的 VL-VH 直接连接另一个 scFv 的 VL-VH,而环状结构则由一个 scFv 的 VL-VH 夹在另一个 scFv 的 VH-VL 中间形成。该类型 CAR-T 胞外结构复杂,质粒构建难度大。

## 二、多靶点 CAR-T 临床研究进展

截至目前,多靶点 CAR-T 治疗复发难治性血液病的临床研究已取得重大进展。同时靶向 CD19/CD20、CD19/CD22、CD19/BCMA 或 BCMA/CS1 的双靶点 CAR-T 在通过临床前研究证实具有强大的抗肿瘤活性后已进入临床试验阶段。本部分举例综述在不同血液系统肿瘤中多靶点 CAR-T 临床试验的安全性及疗效。见表 1。

1. 复发难治性恶性 B 细胞血液系统肿瘤:多项 CD19/CD20 及 CD19/CD22 双靶点 CAR-T 临床试验公布的结果表明,二者治疗复发难治性 B-NHL、复发难治性 B-ALL 均具有较高的缓解率且不良反应可控,同时也是目前开展最多的双靶点 CAR-T 治疗临床试验。韩卫东教授团队在 2017 年 5 月发起了一项开放标签、单臂 I/II 期临床试验(NCT03097770),以评估 CD19/CD20 双靶点 CAR-T(TanCAR7-T)治疗 B-NHL 的疗效及安全性<sup>[19]</sup>。截至 2021 年 3 月,研究共入组 87 例患者,总缓解率(ORR)达 78%,CRR 可达 70%。

9 例患者发生 3~4 级 CRS,仅 2 例患者发生 3 级神经系统反应(癫痫)且不良反应可控。中位随访 27.7 个月,仍有 60% 的患者维持持续缓解。

早在 2020 年 4 月韩卫东教授团队率先证实了 CD19/CD22 的双特异性 CAR-T 治疗 B-ALL 的安全性和有效性<sup>[20]</sup>。我中心团队近期开展了一项开放标签、剂量递增的 I 期临床试验(NCT04227015),以评估 CRISPR/Cas9 基因编辑的通用型 CD19/CD22 双靶点 CAR-T(CTA101)治疗复发难治性急性淋巴细胞白血病(ALL)的疗效和安全性。截至 2020 年 8 月,研究共入组 6 例患者,输注后的 CRR 为 83.3%,中位随访 4.3 个月,获得 CR 或 CR 伴不完全血液学缓解(CRi)的 5 例患者中有 3 例微小残留病灶(MRD)持续阴性<sup>[21]</sup>。

2. 复发难治性恶性浆细胞血液系统肿瘤:Ide-cel 是第一个被美国食品药品监督管理局(FDA)批准用于治疗 RRMM 的 BCMA CAR-T 产品,其疗效显著、不良反应可控<sup>[6]</sup>。但单靶点 BCMA CAR-T 治疗后仍有约 45% 患者出现肿瘤复发<sup>[22]</sup>,其中 4%~33% CAR-T 治疗后复发的患者出现 BCMA 抗原的丢失或下调<sup>[6,23]</sup>。同时研究发现其他浆细胞标志物和潜在的免疫治疗靶标,如 CD38 和 CS1(SLAMF7)在疾病进展过程中仍稳定表达<sup>[24]</sup>。这些现象均表明靶向多种浆细胞抗原的 CAR-T 疗法可能是避免抗原逃逸的一种可行方法。

基于该现象胡豫教授团队设计了 BCMA/CD38 双靶点 CAR-T,在体内外实验中评估其治疗的有效性和安全性后,发起一项 BCMA/CD38 CAR-T 治疗 RRMM 临床试验(ChiCTR1800018143)。该研究共入组 23 例患者,中位随访 9 个月,12 例(52%)患者达 sCR,另有 4 例(17%)获得非常好的部分缓解(VGPR)及 4 例(17%)出现部分缓解(PR)。87% 的患者出现 CRS,≥3 级 CRS 仅 22%,未发生任何级别神经不良反应。此外,该研究还发现 BM38 CAR-T 在 9 个月、12 个月时可分别在 77.8%、62.2% 的患者体内检测得到,表明其在体内持久性较好<sup>[17]</sup>。

2022 年第 27 届欧洲血液学年会(EHA)公布了 GC012F 的临床试验数据,这是一款可由亘喜生物 FasTCAR 平台开发的靶向 BCMA/CD19 双靶点自体 CAR-T。该研究共入组 28 例复发难治性 B-NHL 患者,

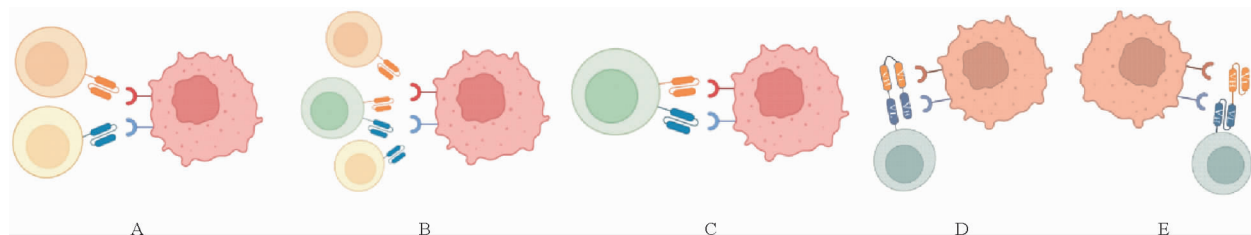


图1 多靶点 CAR-T 结构(A:鸡尾酒/序贯 CAR;B:共转导型 CAR;C:并联型 CAR;D:二价环形 CAR;E:二价串联型 CAR)

表 1 多靶点 CAR-T 治疗的临床试验

靶点	研究单位	临床试验号	试验阶段	复发难治性血液病类型	疗效	不良事件
CD19/CD20 (LV20.19)	美国威斯康星医学院	NCT03019055	I 期	DLBCL(11 例)MCL (7 例)CLL(3 例)FL (1 例)	ORR:82% CRR:64%	CRS:64% (≥3 级 5%) ICANS:32% (≥3 级 14%)
CD19/CD20	徐州医科大学附属医院	NCT03207178	II 期	DLBCL(21 例)	ORR:81% CRR:52.4%	CRS:100% (≥3 级 28.5%) ICANS:23.8% (≥3 级 9.5%)
CD19/CD20 (TanCAR7)	中国人民解放军总医院	NCT03097770	I / II 期	DLBCL(58 例)FL (13 例)tFL(6 例) PMBCL(5 例)其他 B-NHL(5 例)	ORR:78% CRR:70%	CRS:70% (≥3 级 10%) ICANS:17% (≥3 级 2%)
CD19/CD22	美国斯坦福大学医学院	NCT03233854	I 期	B-ALL(17 例)LBCL (21 例)	ORR:(B-ALL 100%; LBCL 62%) CRR:(B-ALL 88%; LBCL 29%)	CRS:76% (≥3 级 5%) ICANS:37% (≥3 级 11%)
CD19/CD22 (AUTO3)	英国伦敦大奥蒙德街儿 童医院	NCT03289455	I 期	儿童/年轻 B-ALL (15 例)	CRR:86%	CRS:80% (≥3 级 0%) ICANS:27% (≥3 级 0%)
CD19/CD22 (鸡尾酒)	华中科技大学同济医学 院附属同济医院	ChiCTR-OPN- 16009847	I 期	DLBCL(30 例)tFL (7 例)DH-HGBL (2 例)其他(3 例)	ORR:90.5% CRR:81%	CRS:95% (≥3 级 5%) ICANS:21% (≥3 级 5%)
CD19/CD22 (CTA101)	浙江大学医学院附属第 一医院	NCT04227015	I 期	复发难治性 B-ALL (6 例)	CRR:83.3%	CRS:100% (≥3 级 16.7%) ICANS:0%
CD19/CD22 (CD19.22.BBζ)	美国国家癌症研究所	NCT03448393	I 期	复发难治性 B-ALL (20 例)	ORR:75% CRR:60%	CRS:50% (≥3 级 15%) ICANS:5% (≥3 级 5%)
BCMA/CD38 (BM38 CAR-T)	华中科技大学同济医学 院附属协和医院	ChiCTR 1800018143	I 期	RRMM(23 例)	ORR:87% CRR:52%	CRS:87% (≥3 级 22%) CRES:0%
BCMA/CD38	湖北省荆州市中心医院	ChiCTR 1900026286	I 期	RRMM(16 例)	ORR:87.5% CRR:81.25%	CRS:75% (≥3 级 31.3%) ICANS:31.3%
CD19/BCMA (序贯)	苏州大学附属第一医院	NCT003455972	I 期	RRMM(16 例)	ORR:87.5% CRR:75%	CRS:100% (≥3 级 25%) CRES:6%
CD19/BCMA (鸡尾酒)	徐州医科大学附属医院	ChiCTR-OIC- 17011272	II 期	RRMM(62 例)	ORR:92% CRR:60%	CRS:95% (≥3 级 10%) ICANS:11% (≥3 级 3%)
CD19/BCMA (GC012F)	上海长征医院 空军军医 大学第一附属医院	NCT04236011 NCT04182581	I 期	RRMM(28 例)	ORR:DL1 100%; DL2 80%;DL3 93.8% CRR:75%	CRS:100% (≥3 级 7.1%) ICANS:0%
BCMA/CS1	华中科技大学同济医学 院附属协和医院	NCT04662099	I 期	RRMM(13 例)	ORR:76.9% CRR:30.8%	CRS:31% ICANS:0%
CD19/CD7 (GC502)	中国人民解放军联勤保 障部队第 920 医院	NCT05105867	I 期	复发难治性 B-ALL (4 例)	ORR:100% CRR:75%	CRS:100% (≥3 级 50%) ICANS:0%
CD123/CIL1	福建医科大学附属协和 医院	NCT03631576	III 期	招募复发难治性 AML	尚未更新数据	尚未更新数据
CD123/CD33	西部战区总医院 北京大 学深圳医院	NCT04156256	I 期	招募 AML、MDS、MPN、 CLL	尚未更新数据	尚未更新数据
CLL1/CD33	西部战区总医院 北京大 学深圳医院	NCT03795779	I 期	招募复发难治性 AML	尚未更新数据	尚未更新数据
ARPIL	浙江大学医学院附属第 一医院	NCT04657861	I 期	招募 RRMM	尚未更新数据	尚未更新数据
CD79a/CD20 (bbT369)	美国科罗拉多血液肿瘤 研究所 美国纳什维尔 Sarah Cannon 研究所	NCT05169489	I / II 期	招募复发难治性 DLBCL	尚未更新数据	尚未更新数据

注:DLBCL:弥漫性大 B 细胞淋巴瘤;MCL:套细胞淋巴瘤;CLL:慢性淋巴细胞白血病;ICANS:免疫效应细胞相关神经毒性综合征;FL:滤泡淋巴瘤;tFL:转化后的滤泡性淋巴瘤;CRS:细胞因子释放综合征

中位随访 6.3 个月,不同剂量水平(DL)的 ORR 分别为 100.0% (DL1)、80.0% (DL2) 及 93.8% (DL3),75% 患者获得 sCR。3 级以上 CRS 只有 7.1%,且所有患者均未发生任何级别神经不良反应(NCT04236011;NCT04182581)。此外第 27 届 EHA 还公布了 BCMA/CS1 双靶点 CAR-T 临床试验结果,共入组 13 例 RRMM 患者,其 ORR 和 CRR 分别为 76.9% 和 30.8%。31% 的患者发生 CRS,未见神经不良反应(NCT04662099)。

3. 多靶点 CAR-T 治疗其他复发难治性恶性血液系统肿瘤: 相比 B 细胞血液系统恶性肿瘤, 双靶点 CAR-T 治疗复发难治性急性髓系、T 细胞性血液系统恶性肿瘤面临更多挑战。

CAR-T 治疗复发难治性急性髓系白血病(AML)的主要障碍在于 AML 细胞异质性较大、缺少高度特异性靶点。AML 细胞上各种表面抗原如 CD123、CD34、CD33 等, 同时也在正常的造血干细胞、髓系和(或)淋巴祖细胞上表达<sup>[25]</sup>, 针对这些靶点的 CAR-T 治疗相关不良反应较大。此外有研究发现 AML 细胞可分泌抑制 T 细胞增殖的免疫抑制因子, 影响 CAR-T 在体内的扩增<sup>[26]</sup>。CAR-T 治疗 T-ALL 或 T 细胞非霍奇金淋巴瘤(T-NHL)面临的亟需解决的问题主要有 CAR-T 的自相残杀、患者 T 细胞缺乏、T 细胞性再生障碍性贫血及制备的自体 CAR-T 易被恶性 T 细胞污染等问题<sup>[27]</sup>。CAR-T 治疗急性髓系、T 细胞血液系统肿瘤有待寻找合适的靶点及改进制备工艺。

国内一款靶向 CLL1/CD33 的 CAR-T 在治疗复发难治性 AML 中显示出积极疗效。西部战区总医院刘芳教授团队率先证实 CLL1/CD33 双靶点 CAR-T 在小鼠体内具有强大的抗肿瘤活性, 随后于 2020 年 EHA 上公布了该双靶点 CAR-T 的 I 期临床研究数据, 入组的 9 例复发难治性 AML 患者中 7 例达到 CR, 88.8% 患者发生 CRS 但不良反应可控(NCT03795779)。其余针对复发难治性 AML 治疗的双靶点如 CD123/CLL1(NCT03631576)、CD123/CD33(NCT04156256)也已显示出初步的疗效和安全性, 相关数据尚未证实发布。

### 三、多靶点 CAR-T 临床前研究进展

虽然多靶点 CAR-T 治疗复发难治性血液病取得了较大进展, 但同样面临着相应的临床挑战, 如脱靶效应、制备困难等。越来越多的研究者致力于新型多靶点 CAR-T 的研发, 包括 BAFF CAR-T 治疗 RRMM、CRISPR/Cas9 基因敲除 CD5/CD7 CAR-T 治疗 T-ALL 及三靶点 CAR-T 治疗复发难治性血液病等。同时越来越多的研究通过优化多靶点 CAR-T 的结构设计以减少不良反应的发生。

1. BAFF CAR-T/APRIL CAR-T: B 细胞激活因子(BAFF, BlyS)和增殖诱导配体(APRIL)是肿瘤坏死因子(TNF)超家族的两个同源成员, BAFF 可与表达在成熟 B 细胞上的 3 个受体 BAFF-R、BCMA 和穿膜蛋白活化物(TACI)结合, APRIL 可与 BCMA、TACI 结合, 启动下游信号转导以促进恶性浆细胞的增殖与存活<sup>[28]</sup>。以 BAFF 或 APRIL 作为 CAR-T 胞外识别结构域, 相当于可同时靶向肿瘤的多个抗原, 在治疗多种 B 细胞肿

瘤时可起协同作用。BAFF CAR-T 尚处于临床前研究阶段, Wong 及其研究团队<sup>[29]</sup>设计了基于 BAFF 配体的 CAR 构建体, 利用非病毒 TcBuster 转座子系统将 BAFF CAR 整合到 T 细胞中, 体内外实验均证实 BAFF CAR-T 具有显著的抗肿瘤能力。我中心开展的 APRIL CAR-T 治疗 RRMM 研究已转化临床(NCT04657861), 相关数据尚未正式公布。

2. 双特异性及分离型(Biss) CAR-T: 2020 年 He 等<sup>[30]</sup>构建出 BissCAR, 主要由 P2A(linker)连接纳米抗体 Nb157、CD3 $\zeta$  和 anti-TIM3-scFv、CD28、4-1BB。P2A 自剪切后 BissCAR 最终会分裂成两个 CAR。Nb157 是由作者开发的序列肿瘤选择抗体和抗原检索(STAR)技术筛选出来的纳米抗体, 能特异性识别在 AML 细胞上高表达的 CD13。为了成功靶向耐药 AML 干细胞而不“误杀”正常骨髓造血干细胞, 研究者选择了 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3(TIM3, 在骨髓造血干细胞低表达或不表达)作为另一种共刺激信号的靶抗原。实验证实 BissCAR-T 未攻击 K562-TIM3(CD13<sup>-</sup>TIM3<sup>+</sup>)系细胞, 对 NB4(CD13<sup>+</sup>TIM3<sup>-</sup>)系细胞仅表现出很低的杀伤作用, 而对 NB4-TIM3(CD13<sup>+</sup>TIM3<sup>+</sup>)系细胞却表现出最大的细胞毒性<sup>[30]</sup>。同时靶向 CD13 和 TIM3 的 BissCAR-T 可根除 AML 细胞, 且对正常造血干细胞影响较小, 具有更高的临床安全性。

3. synNotch “AND-gate” CAR-T: 2017 年 Morsut 等<sup>[31]</sup>在《Cell》上发布了一项研究, 首次设计了一种基于 Notch 的组装机受体即 synNotch 受体。随后该团队利用这一平台设计了 synNotch “AND-gate” CAR 系统, 其识别抗原 A 的人工受体 synNotch 基因, 包含了抗原 A 的识别片段及启动抗原 B 识别 CAR 基因转录的转录因子。装载 synNotch 系统的 CAR-T 只能识别和杀伤同时表达抗原 A 和 B 的肿瘤细胞<sup>[32]</sup>。该策略为 CAR-T 的精准识别和治疗提供了新模式。

4. 抑制型 CAR-T: 当某种抗原在肿瘤细胞和正常细胞上同时表达时, CAR-T 治疗可能会引起脱靶效应, 产生相应的不良反应。早在 2013 年就有研究者开发了一种抑制型 CAR-T(iCAR), 在 CAR-T 中同时表达 CAR 和 iCAR。iCAR 是经过改造的抑制性受体[如程序性死亡受体 1(PD-1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)], 能够识别正常组织呈递的抗原。这种 CAR-T 作用于正常细胞时活性会被抑制, 从而精确靶向肿瘤细胞, 发挥杀伤的作用<sup>[33]</sup>。此外, 有些抗原在正常细胞中表达而在肿瘤细胞中不表达, 利用这一特性, synNotch “OFF-gate” CAR-T 在作用于正常细胞时可实现将 synNotch 通路激活的基因变成促凋亡相关基因, 从而使 T 细胞发生凋亡, 避免细胞治疗中

交叉反应而导致的不良反应<sup>[34]</sup>。抑制型 CAR-T 及 synNotch “OFF-gate” CAR-T 均为解决脱靶效应提供了新的策略。

5. CRISPR/Cas9 基因编辑 CAR-T:正如上述提及, CAR-T 疗法对于复发难治性 T 细胞血液系统肿瘤效果欠佳。针对 CAR-T 自杀伤这一问题,近期有研究在双特异性 CAR 的慢病毒转导之前进行基于 CRISPR/Cas9 的 CD5 和 CD7 基因敲除,功能实验证实基因敲除对细胞无明显影响。且随后的体内外实验证实相较于并联型 CAR-T,串联型 CD5/CD7 CAR-T 具有更高的杀伤活性,且能够更有效地防止肿瘤逃逸<sup>[35]</sup>。基于 CRISPR/Cas9 基因编辑的 CD5/CD7 双靶点 CAR-T 研究结果为 T 细胞血液系统肿瘤的免疫治疗提供了新的方向。

6. 三靶点 CAR-T:在双靶点 CAR-T 疗法取得积极成果的同时,三靶点 CAR-T 的临床前研究也取得相应进展。在一项新的研究中,Lentigen 研究人员开发出三特异性 duoCAR-T,由靶向 CD19 和 CD20 的串联 CAR 通过 P2A 自裂解肽连接到另一种靶向 CD22 的 CAR 上组成,且证实最有效的 duoCAR 结构包含 ICOS、OX40 或 CD27 共刺激域,而不是 CD28 或 4-1BB。体内外实验证实 duoCAR-T 拥有较高的抗肿瘤效力和持久性,同时克服了肿瘤异质性和肿瘤抗原逃逸的临床挑战<sup>[36]</sup>。三靶点 CAR-T 疗法无疑是在双靶点 CAR-T 的基础上进一步降低了因抗原逃逸或丢失导致的复发风险,深度消除肿瘤细胞。但目前该技术还处于临床前研发阶段,仍需大量研究以评估其临床前毒性、产品开发工艺与质控、适应证人群、给药剂量等问题。

#### 四、总结与展望

虽然 CAR-T 治疗在复发难治性血液系统恶性肿瘤中取得了卓越的疗效,但 CAR-T 治疗后复发的的问题依然严峻。与单靶点 CAR-T 相比,多靶点 CAR-T 主要的优势在于可减少肿瘤细胞的抗原逃逸。双靶点 CAR-T 治疗的疗效已在部分临床试验中得到了验证,同时各个临床试验报道的严重 CRS 和 ICANS 等不良反应的发生率也较低。多靶点 CAR-T 可能成为未来细胞免疫治疗领域研究的趋势。

尽管如此,多靶点 CAR-T 治疗仍面临着前所未有的挑战。首当其冲的是靶点的选择与验证。B 细胞血液系统肿瘤潜在免疫治疗靶点众多,如何优化靶点选择以更好提高疗效,还需更多基础研究与临床研究相结合。对于髓系血液系统肿瘤中双靶点的合理选择,如靶向 CD33/TIM3 或 CLL1/TIM3 仍待进一步探究。另一个亟需解决的问题是多靶点结构的优化。正如上

述提到串联型双靶点 CAR-T 的疗效优于并联型,但串联型 CAR-T 开发难度较大,linker 的选择也是需要关注的问题。最后就是新型 CAR-T 的技术优化与产品开发。自体 CAR-T 面临较多缺陷,如难以采集足够多的外周血 T 细胞、自体 CAR-T 不能大规模生产及从采集到制备耗时较长等问题,通用型多靶点 CAR-T 和诱导多能干细胞 (iPSCs) 来源的多靶点 CAR-T 为细胞治疗领域开辟了新的治疗方向。

#### 参 考 文 献

- [1] Park JH, Riviere I, Gonen M, et al. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. N Engl J Med, 2018, 378(5): 449-459.
- [2] Myers RM, Li Y, Barz Leahy A, et al. Humanized CD19-Targeted Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells in CAR-Naive and CAR-Exposed Children and Young Adults With Relapsed or Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. J Clin Oncol, 2021, 39(27): 3044-3055.
- [3] Hu Y, Wu Z, Luo Y, et al. Potent Anti-leukemia Activities of Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells against CD19 in Chinese Patients with Relapsed/Refractory Acute Lymphocytic Leukemia [J]. Clin Cancer Res, 2017, 23(13): 3297-3306.
- [4] June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy [J]. N Engl J Med, 2018, 379(1): 64-73.
- [5] Zhou L, Zhao H, Shao Y, et al. Serial surveillance by circulating tumor DNA profiling after chimeric antigen receptor T therapy for the guidance of r/r diffuse large B cell lymphoma precise treatment [J]. J Cancer, 2021, 12(18): 5423-5431.
- [6] Munshi NC, Anderson LD Jr, Shah N, et al. Idecabtagene Vicleucel in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma [J]. N Engl J Med, 2021, 384(8): 705-716.
- [7] Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ, et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study [J]. Lancet, 2021, 398(10297): 314-324.
- [8] Zhang M, Zhou L, Zhao H, et al. Risk Factors Associated with Durable Progression-Free Survival in Patients with Relapsed or Refractory Multiple Myeloma Treated with Anti-BCMA CAR T-cell Therapy [J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(23): 6384-6392.
- [9] Lu P, Liu Y, Yang J, et al. Naturally Selected CD7 CAR-T Therapy without Genetic Manipulations for T-ALL/LBL: First-in-human Phase I Clinical Trial [J]. Blood, 2022, 140(4): 321-334.
- [10] Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. N Engl J Med, 2014, 371(16): 1507-1517.
- [11] Manier S, Ingegnere T, Escure G, et al. Current state and next-generation CAR-T cells in multiple myeloma [J]. Blood Rev, 2022, 54: 100929.
- [12] Lemoine J, Ruella M, Houot R. Born to survive: how cancer cells resist CAR T cell therapy [J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 199.
- [13] Hamieh M, Dobrin A, Cabriolu A, et al. CAR T cell trogocytosis and cooperative killing regulate tumour antigen escape [J]. Nature, 2019, 568(7750): 112-116.
- [14] Zah E, Lin MY, Silva-Benedict A, et al. T Cells Expressing CD19/CD20 Bispecific Chimeric Antigen Receptors Prevent Antigen Escape by Malignant B Cells [J]. Cancer Immunol Res, 2016, 4(6): 498-508.
- [15] Van Der Schans JJ, Van De Donk N, Mutis T. Dual Targeting to Overcome Current Challenges in Multiple Myeloma CAR T-Cell Treatment [J]. Front Oncol, 2020, 10: 1362.
- [16] Jensen MC, Riddell SR. Design and implementation of adoptive therapy with chimeric antigen receptor-modified T cells [J]. Immunol Rev, 2014, 257(1): 127-144.
- [17] Mei H, Li C, Jiang H, et al. A bispecific CAR-T cell therapy targeting BCMA and CD38 in relapsed or refractory multiple myeloma [J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 161.
- [18] Miao L, Zhang J, Huang B, et al. Special Chimeric Antigen Receptor (CAR) Modifications of T Cells: A Review [J]. Front Oncol, 2022, 12: 832765.



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2022.09.002

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2022.09.002

· 综述与讲座 ·

# CAR-T 治疗非霍奇金淋巴瘤的抵抗机制与挽救策略

颜欣 韩为东

**【摘要】** 嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 疗法在 B 细胞白血病或淋巴瘤患者中显示出强大的抗肿瘤效果, 为复发难治性血液系统肿瘤患者提供了新的治疗手段。尽管 CAR-T 疗法已取得巨大成功, 仍有 50% 的非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 患者对 CAR-T 治疗不能实现完全缓解。这种免疫逃逸可能是由于 CAR-T 功能障碍、抑制性的肿瘤微环境或肿瘤细胞固有因素造成的。本文主要回顾肿瘤细胞对 CAR-T 治疗的固有抵抗机制及有前景的逆转策略。

**【关键词】** 嵌合抗原受体; 抵抗机制; 挽救治疗

**【中图分类号】** R733.4 **【文献标识码】** A

近年来, 嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 疗法已经成为多次标准治疗失败恶性血液系统肿瘤患者的新的挽救治疗方法。到目前为止, CAR-T 已被美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准用于治疗包括 B 细胞急性淋巴细胞白血病 (B-ALL) 和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤

(DLBCL) 在内的多种血液系统肿瘤。尽管 CAR-T 取得突破性进展, 但仍有部分患者对这种治疗产生了原发或继发抵抗<sup>[1-2]</sup>。除了肿瘤外部的因素包括 T 细胞耗竭、T 细胞长期存活减少和免疫抑制肿瘤微环境等可导致 CAR-T 疗法失败之外, 近期越来越多的学者开始关注肿瘤细胞对于 CAR-T 治疗不敏感 (肿瘤细胞固有抵抗) 的原因。为此, 我们总结了近年来 CAR-T 治疗非霍奇金淋巴瘤 (NHL) 的肿瘤细胞固有抵抗机制并讨论相应的挽救策略。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81830002, 82150108, 31991171)

作者单位: 250021 济南, 山东第一医科大学附属省立医院化疗科 (颜欣); 中国人民解放军总医院生物治疗科 (韩为东)

通讯作者: 韩为东, E-mail: hanwdrsw@163.com

- [19] Zhang Y, Wang Y, Liu Y, et al. Long-term activity of tandem CD19/CD20 CAR therapy in refractory/relapsed B-cell lymphoma: a single-arm, phase 1-2 trial[J]. Leukemia, 2022, 36(1): 189-196.
- [20] Dai H, Wu Z, Jia H, et al. Bispecific CAR-T cells targeting both CD19 and CD22 for therapy of adults with relapsed or refractory B cell acute lymphoblastic leukemia[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 30.
- [21] 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[J]. Clin Cancer Res, 2021, 27(10): 2764-2772.
- [22] Gagelmann N, Ayuk F, Atanackovic D, et al. B cell maturation antigen-specific chimeric antigen receptor T cells for relapsed or refractory multiple myeloma: A meta-analysis[J]. Eur J Haematol, 2020, 104(4): 318-327.
- [23] Brudno JN, Maric I, Hartman SD, et al. T Cells Genetically Modified to Express an Anti-B-Cell Maturation Antigen Chimeric Antigen Receptor Cause Remissions of Poor-Prognosis Relapsed Multiple Myeloma[J]. J Clin Oncol, 2018, 36(22): 2267-2280.
- [24] Da Via MC, Dietrich O, Truger M, et al. Homozygous BCMA gene deletion in response to anti-BCMA CAR T cells in a patient with multiple myeloma[J]. Nat Med, 2021, 27(4): 616-619.
- [25] Cummins KD, Gill S. Will CAR T cell therapy have a role in AML? Promises and pitfalls[J]. Semin Hematol, 2019, 56(2): 155-163.
- [26] Kenderian SS, June CH, Gill S. Generating and Expanding Autologous Chimeric Antigen Receptor T Cells from Patients with Acute Myeloid Leukemia[J]. Methods Mol Biol, 2017, 1633: 267-276.
- [27] Safarzadeh Kozani P, Safarzadeh Kozani P, Rahbarizadeh F. CAR-T cell therapy in T-cell malignancies: Is success a low-hanging fruit? [J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1): 527.
- [28] Mcallister E, Jellusova J. BAFF signaling in B cell metabolism[J]. Curr Opin Immunol, 2021, 71: 69-74.
- [29] Wong DP, Roy NK, Zhang K, et al. A BAFF ligand-based CAR-T cell targeting three receptors and multiple B cell cancers[J]. Nat Commun, 2022, 13(1): 217.
- [30] He X, Feng Z, Ma J, et al. Bispecific and split CAR T cells targeting CD13 and TIM3 eradicate acute myeloid leukemia[J]. Blood, 2020, 135(10): 713-723.
- [31] Morsut L, Roybal KT, Xiong X, et al. Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors[J]. Cell, 2016, 164(4): 780-791.
- [32] Roybal KT, Rupp LJ, Morsut L, et al. Precision Tumor Recognition by T Cells With Combinatorial Antigen-Sensing Circuits[J]. Cell, 2016, 164(4): 770-779.
- [33] Fedorov VD, Themeli M, Sadelain M. PD-1- and CTLA-4-based inhibitory chimeric antigen receptors (iCARs) divert off-target immunotherapy responses[J]. Sci Transl Med, 2013, 5(215): 215ra172.
- [34] Williams JZ, Allen GM, Shah D, et al. Precise T cell recognition programs designed by transcriptionally linking multiple receptors[J]. Science, 2020, 370(6520): 1099-1104.
- [35] Dai Z, Mu W, Zhao Y, et al. T cells expressing CD5/CD7 bispecific chimeric antigen receptors with fully human heavy-chain-only domains mitigate tumor antigen escape[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 85.
- [36] Schneider D, Xiong Y, Wu D, et al. Trispecific CD19-CD20-CD22-targeting duoCAR-T cells eliminate antigen-heterogeneous B cell tumors in preclinical models[J]. Sci Transl Med, 2021, 13(586): eabc6401.

(收稿日期: 2022-07-31)

(本文编辑: 余晓曼)