

通用型嵌合抗原受体 T 细胞治疗的研究进展

黄玥 胡珂嘉 胡永仙 黄河

浙江大学医学院附属第一医院, 杭州 310003

通信作者: 黄河, Email: huanghe@zju.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.09.015

Universal chimeric antigen receptor T cells therapy: current status and future perspectives

Huang Yue, Hu Kejia, Hu Yongxian, Huang He

The First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China

Corresponding author: Huang He, Email: huanghe@zju.edu.cn

嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T 细胞) 疗法是一种新型免疫细胞治疗, CAR 主要由识别肿瘤特异性抗原的单链抗体 (scFV) 段、铰链区及跨膜段、共刺激分子结构域、CD3 ζ 结构域构成, 通过将编码 CAR 的基因引入 T 细胞, 使 T 细胞实现不依赖于主要组织相容性复合体 (MHC) 抗原递呈系统的特异性杀伤。CAR-T 细胞近年来在治疗血液系统恶性肿瘤方面取得了巨大突破, 显著提高了各种血液肿瘤患者的完全缓解率及长期生存率。最新临床研究显示, CAR-T 细胞治疗难治复发急性 B 细胞白血病、B 细胞淋巴瘤和多发性骨髓瘤完全缓解率分别达 81%^[1]、52%~67%^[2]、73%~85%^[3]。

目前上市的 CAR-T 细胞均为自体细胞来源, 自体来源的 CAR-T 细胞存在以下缺陷: ① 婴幼儿或经过多线治疗的患者难以采集足够数量的外周血 T 细胞或 T 细胞功能受损导致其制备的产品质量下降; ② 由于自体 CAR-T 细胞不能大规模生产, 使用次数及剂量受患者自身情况所限; ③ 自体 CAR-T 细胞的生产成本较高; ④ 自体 CAR-T 细胞从采集到回输需要一定的时间, 有可能导致患者错过最佳治疗时机; ⑤ CAR-T 产品中易混入患者自身的肿瘤细胞。为此, 自体 CAR-T 细胞的应用受到了限制, 而通用型 CAR-T 细胞将成为这一领域的重要发展方向。2017 年至 2021 年, 全球 29 项通用型 CAR-T 细胞治疗临床试验已开始进行, 临床试验数目逐年扩增 (表 1)。但尽管如此, 通用型 CAR-T 细胞仍然面临重大挑战。本文从免疫排斥、细胞持久性和底盘细胞来源三个角度对目前通用型 CAR-T 细胞治疗中存在的问题和应对策略进行总结。

一、通用型 CAR-T 细胞治疗的免疫排斥

通用型 CAR-T 细胞治疗中最大的挑战在于宿主细胞对通用型 CAR-T 细胞的免疫排斥以及通用型 CAR-T 细胞攻击宿主组织器官。 $\alpha\beta$ T 细胞占 T 细胞总数 95% 以上, $\alpha\beta$ T 细胞的 T 细胞受体 (TCR) 由 α 链 (TRAC 基因编码)、 β 1 链 (TRBC1 基因编码) 和 β 2 链 (TRBC2 基因编码) 构成, 同种异基因 CAR-T 细胞表面 TCR 可以识别宿主细胞抗原, 引发移植物抗宿主病 (GVHD)。此外, 同种异基因 CAR-T 细胞表面的

MHC, 又称为人类白细胞抗原 (HLA), 诱发宿主 TCR 识别, 引起免疫排斥。HLA 可分为 HLA I 类分子和 HLA II 类分子, 前者由具有高度多态性的 α 链和由 B2M 基因编码的 β 链 (即 β_2 微球蛋白) 构成; 后者被发现高表达于活化的 T 细胞表面^[4], 为介导受体 CD4⁺ T 细胞发生免疫排斥的关键分子^[2]。

得益于锌指核糖核酸酶 (ZFN)、转录激活因子样效应因子核酸酶 (TALEN)、CRISPR/Cas9 等多种基因编辑技术的发展, 我们能够对 CAR-T 细胞 TCR 和 HLA 进行敲除, 以实现异基因 T 细胞免疫原性的消除, 降低免疫排斥和 GVHD。2012 年, 美国 Anderson 癌症中心的 Torikai 团队首次报道利用 ZFN 技术敲除 CAR-T 细胞表面 TCR α 或 β 链。CAR⁻TCR⁻ T 细胞不响应 TCR 刺激, 且展现出良好的抗 B 细胞肿瘤治疗的有效性和安全性, 成为通用型 CAR-T 的最初模型^[6]。使用相同技术进一步敲除 CAR-T 细胞表面 HLA-A 位点, 构建 HLA-A⁻ CAR-T 细胞, 能够消除宿主的免疫排斥反应^[7]。此外, 敲除编码 HLA II 类分子 α 链的基因 (HLA-DRA、DQA 和 DPA 基因)^[8], 也显示出良好的降低免疫原性作用。

CRISPR/Cas9 技术相比于 ZFN 和 TALEN, 有更高的基因位点选择性和准确性。将 CAR 载体定点插入基因组中可增加 CAR 表达的均一性, 2017 年 Sadelain 团队首次报道将 CAR 插入 TRAC 基因座中, 可减少 CAR 信号通路的持续激活以延缓 CAR-T 细胞的分化和衰竭, 增加 CAR-T 细胞的抗肿瘤活性^[9]。同年, 宾夕法尼亚大学 Ren 等^[10]运用 CRISPR/Cas9 技术实现 CAR-T 细胞 TCR 和 B2M 双敲除, 输注后未发生 GVHD; 在此基础上设计的 TCR、B2M 和 PD1 三敲除 CAR-T 细胞进一步显示出更显著的 T 细胞抗肿瘤活性。2019 年耶鲁大学陈斯迪团队开发 AAV-Cpf1 KIKO 技术, 建立了一个稳定的双 CAR 敲入和免疫检查点敲除系统, 一步法制备 CD22BBz 和 CD19BBz 双敲入的同时破坏 TRAC 及 PDCD1 功能的工程改造 T 细胞, 在体内外均表现出强效的细胞因子分泌功能和细胞毒性^[11]。

在临床应用方面, 法国 Cellectis 公司联合伦敦大学设计由 TALEN 技术敲除 TCR α/β 链和 CD52 的抗 CD19 UCART

表1 通用型CAR-T细胞治疗临床试验^a(2017—2021)

| 注册号 | 开始招募时间 | 试验阶段 | 靶点 | 研究机构 | 疾病 |
|-------------|------------|-------|------------------------|---|------------------------------------|
| NCT03166878 | 2017/6/1 | 1期/2期 | CD19 | 解放军总医院 | B细胞白血病、B细胞淋巴瘤 |
| NCT03190278 | 2017/6/19 | 1期 | CD123 | 法国Cellestis公司 | 难治复发急性髓系白血病 |
| NCT03389035 | 2017/12/20 | 1期/2期 | CD19 | Matilde Tettamanti Menotti De Marchi Onlus基金会 | 复发后急性淋巴细胞白血病 |
| NCT03398967 | 2018/1/2 | 1期/2期 | CD19+CD20/ CD22(双靶) | 解放军总医院 | B细胞白血病、B细胞淋巴瘤 |
| NCT03229876 | 2019/6/1 | NA | CD19 | 郑州大学第一附属医院、浙江大学附属第一医院 | 急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤 |
| NCT04173988 | 2020/1/9 | 1期(早) | CD19 | 上海复旦大学附属儿童医院 | 儿童急性淋巴细胞白血病 |
| NCT03666000 | 2019/3/11 | 1期/2期 | CD19 | 美国希望之城医疗中心等 | 急性B淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤 |
| NCT04150497 | 2019/10/14 | 1期 | CD22 | 法国Cellestis公司 | 急性B淋巴细胞白血病 |
| NCT03752541 | 2019/11/1 | NA | BCMA | 上海邦耀生物科技有限公司、同济大学医学院附属上海同济医院、中南大学湘雅第二医院 | 多发性骨髓瘤 |
| NCT04142619 | 2019/11/21 | 1期 | CS1 | 法国Cellestis公司 | 难治复发骨髓瘤 |
| NCT04227015 | 2020/1/8 | 1期(早) | CD19 | 浙江大学附属第一医院 | 急性淋巴细胞白血病、非霍奇金淋巴瘤 |
| NCT04173988 | 2020/1/9 | 1期(早) | CD19 | 复旦大学附属儿童医院 | 儿童急性B淋巴细胞白血病 |
| NCT04230265 | 2020/1/28 | 1期 | CD123 | 日本Cellex公司 | 急性髓系白血病、急性B淋巴细胞白血病、母细胞性浆细胞样树突状细胞肿瘤 |
| NCT04384393 | 2020/5/9 | 1期 | CD19 | 中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院) | B细胞肿瘤 |
| NCT04557436 | 2020/8/12 | 1期 | CD19 | 英国伦敦大学 | 急性B淋巴细胞白血病 |
| NCT04538599 | 2020/9/1 | NA | CD7 | 浙江大学附属第一医院 | T细胞恶性血液肿瘤 |
| NCT04556266 | 2020/9/14 | 1期 | CD19 | 美国西雅图儿童医院 | B细胞白血病、B细胞淋巴瘤 |
| NCT04288726 | 2020/9/16 | 1期 | CD30 | 美国贝勒医学院 | 结外型NK/T细胞淋巴瘤、鼻型/经典型霍奇金淋巴瘤 |
| NCT04601181 | 2020/10/23 | 1期 | CD22 | 中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院) | B细胞恶性肿瘤 |
| NCT04613557 | 2020/11/26 | 1期 | BCMA | 比利时Celyad Oncology公司 | 难治复发多发性骨髓瘤 |
| NCT04176913 | 2020/12/1 | 1期 | CD20 | 江苏省人民医院 | B细胞淋巴瘤 |
| NCT04796688 | 2021/3/10 | 1期 | CD19 | 华中科技大学同济医学院附属协和医院、成都美斯诺生物科技有限公司 | 急性淋巴细胞白血病、慢性淋巴细胞白血病、B细胞淋巴瘤 |
| NCT04881240 | 2021/5/1 | 1期 | CD19 | 美国St. Jude儿童研究医院 | 难治复发急性淋巴细胞白血病、儿童急性淋巴细胞白血病 |

注:NA:不适用;BCMA:B细胞成熟抗原。^a所有临床试验目前状态均为招募中

细胞(UCART19)^[12]。TCR α/β 链的缺乏消除了GVHD反应,而CD52的敲除使得CAR-T细胞获得对alemtuzumab(阿仑单抗,用于消除宿主T细胞的抗CD52单克隆抗体)的耐受性。随后1例骨髓移植后复发的急性淋巴细胞白血病(ALL)儿童患者接受上述UCART治疗,成功达到分子生物学缓解,无GVHD反应^[13],实现了通用型CAR-T细胞治疗在临床应用的里程碑式突破。在此基础上,一系列通用型CAR-T细胞临床试验陆续开展(表1)。

除编辑CAR-T外,在宿主体内构建适合的免疫细胞环境也是降低免疫排斥的重要策略,临床上通常采用预处理化疗方案以构建患者体内低淋巴细胞环境。目前CAR-T细胞治疗前常用预处理方案为氟达拉滨+环磷酰胺(FC),而对于通用型CAR-T细胞,在结合基因编辑技术的基础上,需要更

合适的淋巴细胞清除方案。早在2015年即有研究报道利用基因编辑技术敲除CAR-T细胞CD52基因,使得CAR-T细胞(UCART19)具有对阿仑单抗的抗性,同时在患者体内实现较为彻底的淋巴细胞清除预处理^[14]。本研究团队应用抗CD19/CD22双靶点CAR-T产品CTA101(CRISPR基因编辑技术敲除TRAC位点以及CD52基因;并在此基础上使用慢病毒转染CAR基因及“自杀开关”RQR8),开展通用型CAR-T细胞治疗成人R/R ALL的1期临床试验(NCT04227015),联合阿仑单抗的通用型细胞治疗策略完全缓解率达83.3%(5/6),且无GVHD及死亡病例^[15]。

在通用型CAR-T细胞治疗过程中,尽管通过基因编辑技术敲除B2M基因可降低HLA I介导的免疫原性,然而HLA-I是NK细胞主要的抑制性受体之一,敲除TCR及HLA

的 CAR-T 细胞仍无法逃避宿主 NK 细胞介导的免疫排斥^[16]。针对 NK 细胞介导的排斥反应问题,国际上目前手段聚焦于抑制 NK 细胞的功能。Gornalusse 等^[17]在多能干细胞(PSC)的 B2M 基因座处敲入 HLA-E 基因,使得这些 PSC 表达 HLA-E 单链二聚体或三聚体,不被宿主 CD8⁺ T 细胞识别,同时对 NK 介导的细胞毒作用具有抗性。此外,过表达 NK 细胞的 siglec 7 和 siglec 9 配体能够介导 NK 细胞功能下调,也被认为是有效的方法^[18]。但这类策略导致广泛抑制 NK 细胞作用被广泛抑制,致患者发生免疫抑制并出现感染等相关并发症。因此,如何特异清除异基因反应性的活化 NK 细胞,仍是亟待解决的问题。

二、通用型 CAR-T 细胞的持久性

多项试验表明, CAR-T 细胞的疗效和预后与细胞在体内的持久性有密切关联。相比自体 CAR-T 细胞,异基因 CAR-T 细胞在体内的持久性明显降低。近期一项利用 HLA 全相合或半相合同种异基因 CAR-T 细胞治疗 ALL 的研究中,所有(8/8)患者的 CAR-T 细胞在输注后 30 d 内低于检测下限,其中 4 例 HLA 半相合 CAR-T 细胞治疗患者均在短期内复发死亡^[19]。CAR-T 细胞体内的分化能力是影响 CAR-T 细胞在体内持久性的重要因素。中央记忆型 T 细胞(Tcm)和干细胞样记忆型 T 细胞(Tscm)是两种能够在体内持久扩增细胞类型,提高输注前 CAR-T 产品中 CAR-Tcm、CAR-Tscm 的占比有利于细胞在体内的有效扩增。一方面,体外培养体系中的细胞因子成分被认为是影响 CAR-T 细胞亚群占比和细胞功能的重要因素,IL-7、IL-15 和 IL-21 与 Tm 细胞的状态维持有关。IL-7 和 IL-21 促进 T 细胞脂肪酸氧化,提高记忆性 CD8⁺ T 细胞的比例^[20-21];在 IL-15 条件下培养的 CAR-T 细胞(CAR-T/ILT15)表现出低分化 Tscm 表型,这与 mTORC1 活性下降和糖酵解酶表达减少密切相关^[22]。另一方面,采用合适的 CAR-T 细胞共刺激域也是有效的策略,自体 CAR-T 细胞治疗临床试验数据表明,装载 CD28 共刺激域的 CAR-T 细胞在输注后 68 d 内 CAR-T 细胞完全耗竭^[23];相比之下,4-1BB/CD3-z CAR-T 细胞产品 tisagenlecleucel (Kymriah)有更明显的记忆样 T 细胞表型,tisagenlecleucel 在外周血中位持续时间为 168 d^[24],在中国人群中 4-1BB/CD3-z CAR-T 细胞的最长存活时间为 7 个月^[25]。

此外,已有多篇文献报道在 T 细胞里过表达记忆细胞形成相关的转录因子,如 c-JUN^[26]和 c-Myb^[27]等,可以提高 T 细胞的体内持久性。得益于基因编辑技术的发展,通用型 CAR-T 能够在此基础上对细胞耗竭、细胞记忆性相关转录因子进行编辑,提升 CAR-T 细胞产品的体内持久性。本研究团队采用 CRISPR/Cas9 基因编辑技术对 T 细胞 PDCD1 基因进行特异性切割并导入 CD19-CAR 元件,该新型 CAR-T 细胞显著提高复发难治淋巴瘤患者中的疗效,不良反应轻且可控。

关于敲除 TCR 对 CAR-T 细胞在体内扩增的影响存在争议。有研究表明,CAR 和 TCR 的双重激活可能是 CD8⁺ CAR-T 细胞凋亡增加及出现耗竭表型的一大原因,TCR 的

存在可能加快了 CAR-T 细胞在体内的耗竭^[28]。因此,敲除内源性 TCR 可能有利于 CAR-T 细胞在体内的扩增。然而,也有实验表明内源性 TCR 的存在使得 CAR-T 细胞的扩增更为长久,在异种移植模型小鼠中,杀伤肿瘤的能力更强,被输注 TCR⁺ CAR-T 细胞的小鼠的生存周期更长^[29]。由于两者所用小鼠模型存在差异,CAR-T 细胞上 TCR 的敲除对其扩增的影响尚待进一步研究。

三、底盘细胞的来源

如前文所述, $\alpha\beta$ T 细胞所介导的免疫识别是引起 GVHD 的主要因素,研究者们尝试使用其他能够实现表面受体特异性重定向、同时易于体外扩增和转导的非 $\alpha\beta$ T 细胞。目前已有的研究包括 NK 细胞、巨噬细胞、 $\gamma\delta$ T 细胞和 NKT 细胞,在异基因细胞治疗中具有巨大的潜力^[30]。

NK 细胞应用最为广泛。目前体外研究的 CAR-NK 细胞主要来源于细胞系(主要为 NK-92 细胞系)、脐带血和外周血。相比于 T 细胞,NK 细胞在接触抗原后无需经过分化即可激活产生免疫应答,且表面既表达识别 MHC I 类分子的活化及抑制受体,也表达识别非 MHC I 类分子的杀伤活化受体,因此在抗肿瘤免疫反应中发挥重要作用^[31]。CAR-NK 细胞相比 CAR-T 细胞在循环内存在的时间较短,因此产生的毒副作用低,显示出更好的安全性^[32]。但临床试验显示,其体外扩增和体内持久性仍有待提高。目前已注册的 CAR-NK 临床试验除包括治疗血液肿瘤(NCT02944162、NCT02892695、NCT02742727、NCT03056339、NCT04796688、NCT04796675、NCT04639739、NCT04747093)和实体肿瘤(NCT02839954)。

属于固有免疫系统的 $\gamma\delta$ T 细胞表现出高效的细胞毒性且不受 MHC 限制而识别目标抗原^[33],且除 TCR 外,其表面还表达 NK 型受体如 NKG2D,因此 CAR- $\gamma\delta$ T 细胞也可像 CAR-NK 细胞一样,允许除 CAR 引导的抗原识别反应外靶向其他多个肿瘤相关抗原^[34]。目前已有多项临床试验开展,在治疗急性髓系白血病(NCT03790072)、B 系淋巴系统疾病(NCT02656147)和急性 T 淋巴细胞白血病(NCT04702841)领域均展现出杰出的应用前景。

此外,NKT 细胞和巨噬细胞也是底盘细胞的选择之一,NKT 细胞主要识别鞘糖脂、糖脂或脂质抗原等,目前已有多项已开展的临床研究(NCT03294954 和 NCT03774654)。巨噬细胞作为重要的固有免疫细胞,M1 型具有抗肿瘤免疫作用,如何维持 CAR-巨噬细胞维持 M1 表型提高其抗肿瘤作用并减少全身毒性是其未来发展方向。

以上所提及的固有免疫细胞作为 CAR 的底盘细胞仍面临挑战,其中最主要的是细胞来源和感染效率问题。不同于 T 细胞,大部分固有免疫细胞在外周血白细胞中的比例并不高,NK 细胞占 2%~5%, $\gamma\delta$ T 细胞占 1%~5%,NKT 细胞仅占 0.01%~0.5%。巨噬细胞为单核细胞穿出血管后分化而成,几乎不可能从外周血中获得。因此不少研究针对从诱导干细胞分化而来,尤其是 NK 细胞和巨噬细胞。目前有部分研究聚焦于造血干细胞或诱导干细胞(iPSC),以作为通用型

CAR底盘细胞的来源。目前已有团队成功制造了iPSC来源的CAR-NK细胞^[35]和CAR-巨噬细胞^[36],并证明了其强大的抗肿瘤功能。其次,尽管固有免疫细胞难以被病毒感染,但随着非病毒转染细胞技术迅猛发展,一定程度上使得装载CAR的固有免疫细胞产品化成为可能。CAR-T细胞、CAR-NK细胞及CAR- $\gamma\delta$ T细胞优缺点见表2。

四、总结与展望

全球正步入免疫治疗的新时代,CAR-T细胞治疗谱写了血液系统恶性肿瘤的治疗新前景。在此基础上开发“现货型”通用CAR-T细胞,能够以更低的成本、更模式化的生产工艺和更广泛的适应症显著增加此类疗法的应用。基因编辑技术的发展能够通过有效消除TCR、HLA的表达来控制GVHD风险的策略。尽管如此,在提高CAR-T细胞的功效以及宿主的免疫排斥方面,仍然存在许多挑战。但正如我们所讨论的,目前越来越多的技术和方法可以实现免疫治疗的优化。

我们认为,在已有的技术基础上,一方面,利用合成生物学方法设计可时空性调控细胞存续的通用型CAR-T,能够完善对靶抗原的筛选设计和对治疗安全性的优化,实现新型通用型CAR-T产品的临床设计;另一方面,基于原位单细胞检测技术的临床前及临床研究是下一代细胞免疫治疗的重要基石,能够深度阐明通用型细胞免疫治疗的作用机制,对新型通用型CAR-T不同层面的解析,促进新型免疫细胞治疗产品实现临床转化。

参考文献

[1] Laetsch TW, Myers GD, Baruchel A, et al. Patient-reported quality of life after tisagenlecleucel infusion in children and young adults with relapsed or refractory B- cell acute lymphoblastic leukaemia: a global, single-arm, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2019, 20(12):1710-1718. DOI: 10.1016/S1470-2045(19)30493-0.

[2] Abramson JS, Palomba ML, Gordon LI, et al. Lisocabtagene maraleucel for patients with relapsed or refractory large B-cell

lymphomas (TRANSCEND NHL 001): a multicentre seamless design study [J]. *Lancet*, 2020, 396(10254):839-852. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31366-0.

[3] 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. DOI: 10.1056/NEJMoa2024850.

[4] Ko HS, Fu SM, Winchester RJ, et al. Ia determinants on stimulated human T lymphocytes. Occurrence on mitogen- and antigen-activated T cells[J]. *J Exp Med*, 1979, 150(2):246-255. DOI: 10.1084/jem.150.2.246.

[5] Sugita S, Iwasaki Y, Makabe K, et al. Lack of T Cell Response to iPSC-Derived Retinal Pigment Epithelial Cells from HLA Homozygous Donors [J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 7(4):619-634. DOI: 10.1016/j.stemcr.2016.08.011.

[6] 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[J]. *Blood*, 2012, 119(24):5697-5705. DOI: 10.1182/blood-2012-01-405365.

[7] Torikai H, Reik A, Soldner F, et al. Toward eliminating HLA class I expression to generate universal cells from allogeneic donors [J]. *Blood*, 2013, 122(8):1341-1349. DOI: 10.1182/blood-2013-03-478255.

[8] Lee J, Sheen JH, Lim O, et al. Abrogation of HLA surface expression using CRISPR/Cas9 genome editing: a step toward universal T cell therapy[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):17753. DOI: 10.1038/s41598-020-74772-9.

[9] 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. DOI: 10.1038/nature21405.

[10] Ren J, Liu X, Fang C, et al. Multiplex Genome Editing to Generate Universal CAR T Cells Resistant to PD1 Inhibition[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(9):2255-2266. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1300.

[11] Dai X, Park JJ, Du Y, et al. One-step generation of modular CAR-T cells with AAV-Cpf1 [J]. *Nat Methods*, 2019, 16(3):247-254. DOI: 10.1038/s41592-019-0329-7.

表2 转导嵌合抗原受体(CAR)载体的不同底盘细胞优缺点比较

| 类型 | 优势 | 劣势 |
|-----------------------|---|--|
| CAR-T | ① 在外周血中比例较高,易制备 ② 易被病毒转染 ③ 体外扩增能力强 ④ 体内杀伤维持能力相对久 | ① 识别同种异基因MHC分子,引起GVHD ② 细胞表面存在免疫抑制点(如PD1、LAG3等),与相应配体结合后抑制抗肿瘤活性 |
| CAR-NK | ① 不引起GVHD ② 毒副作用小 ③ 有独立于CAR识别的非特异性杀伤肿瘤作用 | ① 单次输注持久性有限 ② 不易被病毒转染 |
| CAR- $\gamma\delta$ T | ① 不引起GVHD ② 毒副作用较小 ③ 有独立于CAR识别的非特异性杀伤肿瘤作用 | ① 在外周血中比例极低,不易制备 ② 单次输注持久性有限 ③ 不易被转染/转导 |

注:MHC:主要组织相容性抗原复合体;GVHD:移植物抗宿主病

- [12] Poirot L, Philip B, Schiffer- Mannioui C, et al. Multiplex Genome- Edited T- cell Manufacturing Platform for "Off- the- Shelf" Adoptive T-cell Immunotherapies[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(18):3853-3864. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3321.
- [13] Qasim W, Amrolia PJ, Samarasinghe S, et al. First Clinical Application of Talen Engineered Universal CAR19 T Cells in B- ALL[J]. *Blood*, 2015, 126(23): 2046-2046.
- [14] Benjamin R, Graham C, Yallop D, et al. Genome-edited, donor-derived allogeneic anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells in paediatric and adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: results of two phase 1 studies[J]. *Lancet*, 2020, 396(10266):1885-1894. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)32334-5.
- [15] 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3863.
- [16] Deuse T, Hu X, Gravina A, et al. Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients [J]. *Nat Biotechnol*, 2019, 37(3):252-258. DOI: 10.1038/s41587-019-0016-3.
- [17] Gornalusse GG, Hirata RK, Funk SE, et al. HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells [J]. *Nat Biotechnol*, 2017, 35(8):765-772. DOI: 10.1038/nbt.3860.
- [18] Jandus C, Boligan KF, Chijioko O, et al. Interactions between Siglec-7/9 receptors and ligands influence NK cell-dependent tumor immunosurveillance [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(4): 1810-1820. DOI: 10.1172/JCI165899.
- [19] Jin X, Cao Y, Wang L, et al. HLA-matched and HLA-haploidentical allogeneic CD19-directed chimeric antigen receptor T-cell infusions are feasible in relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia before hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Leukemia*, 2020, 34(3):909-913. DOI: 10.1038/s41375-019-0610-x.
- [20] Cui G, Staron MM, Gray SM, et al. IL-7- Induced Glycerol Transport and TAG Synthesis Promotes Memory CD8+ T Cell Longevity [J]. *Cell*, 2015, 161(4):750-761. DOI: 10.1016/j.cell.2015.03.021.
- [21] Loschinski R, Böttcher M, Stoll A, et al. IL-21 modulates memory and exhaustion phenotype of T-cells in a fatty acid oxidation-dependent manner [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(17):13125-13138. DOI: 10.18632/oncotarget.24442.
- [22] Alizadeh D, Wong RA, Yang X, et al. IL15 Enhances CAR-T Cell Antitumor Activity by Reducing mTORC1 Activity and Preserving Their Stem Cell Memory Phenotype [J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(5):759-772. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0466.
- [23] Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose- escalation trial [J]. *Lancet*, 2015, 385(9967):517-528. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.
- [24] Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5):439-448. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866.
- [25] 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. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1799.
- [26] Lynn RC, Weber EW, Sotillo E, et al. c-Jun overexpression in CAR T cells induces exhaustion resistance [J]. *Nature*, 2019, 576(7786):293-300. DOI: 10.1038/s41586-019-1805-z.
- [27] Gautam S, Fioravanti J, Zhu W, et al. The transcription factor c-Myb regulates CD8(+) T cell stemness and antitumor immunity [J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(3):337-349. DOI: 10.1038/s41590-018-0311-z.
- [28] Yang Y, Kohler ME, Chien CD, et al. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9(417):eaag1209. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1209.
- [29] Stenger D, Stief TA, Kaeuferle T, et al. Endogenous TCR promotes in vivo persistence of CD19-CAR-T cells compared to a CRISPR/Cas9- mediated TCR knockout CAR [J]. *Blood*, 2020, 136(12):1407-1418. DOI: 10.1182/blood.2020005185.
- [30] Cortés-Selva D, Dasgupta B, Singh S, et al. Innate and Innate-Like Cells: The Future of Chimeric Antigen Receptor (CAR) Cell Therapy [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2021, 42(1):45-59. DOI: 10.1016/j.tips.2020.11.004.
- [31] Fauriat C, Long EO, Ljunggren HG, et al. Regulation of human NK-cell cytokine and chemokine production by target cell recognition [J]. *Blood*, 2010, 115(11):2167-2176. DOI: 10.1182/blood-2009-08-238469.
- [32] Liu E, Marin D, Banerjee P, et al. Use of CAR- Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(6):545-553. DOI: 10.1056/NEJMoa1910607.
- [33] Sebestyen Z, Prinz I, Déchanet- Merville J, et al. Translating gammadelta ($\gamma\delta$) T cells and their receptors into cancer cell therapies [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020,19(3):169-184. DOI: 10.1038/s41573-019-0038-z.
- [34] Rozenbaum M, Meir A, Aharoni Y, et al. Gamma-Delta CAR-T Cells Show CAR- Directed and Independent Activity Against Leukemia [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1347. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01347.
- [35] Li Y, Hermanson DL, Moriarty BS, et al. Human iPSC-Derived Natural Killer Cells Engineered with Chimeric Antigen Receptors Enhance Anti-tumor Activity [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2):181-192.e5. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.002.
- [36] Zhang L, Tian L, Dai X, et al. Pluripotent stem cell-derived CAR-macrophage cells with antigen-dependent anti-cancer cell functions [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):153. DOI: 10.1186/s13045-020-00983-2.

(收稿日期:2021-08-12)

(本文编辑:刘爽)