

· 综 述 ·

嵌合抗原受体-T 细胞治疗多发性骨髓瘤研究进展

吴琪琪^{1,2}, 郭健敏^{2,3}, 梁 纯³, 杨 威^{1,2,3}

(1. 桂林医学院药学院, 广西 桂林 541199; 2. 广东莱恩医药研究院有限公司, 广东省药物非临床评价研究企业重点实验室, 国家中药现代化工程技术研究中心中药非临床评价分中心, 广东省创新药物评价与研究工程技术研究中心, 广东 广州 510990; 3. 香港科技大学生命科学部, 香港 999077)

摘要: 嵌合抗原受体-T(CAR-T)细胞治疗急性淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤等血液系统肿瘤已取得重大进展,近年来治疗多发性骨髓瘤亦取得突破性进展。CAR是CAR-T细胞中最核心的结构,可赋予免疫效应细胞针对靶抗原表位的特异性而活化T细胞,从而特异性识别抗原。目前CAR的结构已经过5代优化,最新结构为通用型CAR,可同时激活T细胞抗原、共刺激域和细胞因子三重信号,还可通过解除调节性T细胞的抑制效应、插入安全开关以减少脱靶效应。目前全球已有较多针对多发性骨髓瘤多类靶点的CAR-T细胞正进行非临床和临床研究,如靶向B细胞成熟抗原(BCMA)、CD38、CD138、免疫球蛋白κ轻链、CD319、CD56和NK细胞活化型受体NKG2D等,其中以靶向BCMA的研究最多。临床研究发现,CAR-T细胞免疫治疗可能导致细胞因子释放综合征、巨噬细胞活化综合征、神经毒性、脱靶效应和T细胞耗竭等不良反应,其发展仍面临毒性、脱靶和非持久性等许多挑战。实现CAR-T细胞的标准自动化生产及质量、疗效和风险可控仍是目前的首要任务。

关键词: 嵌合抗原受体; T细胞; 多发性骨髓瘤; 肿瘤免疫

中图分类号:R979.1,R730.51 文献标志码:A 文章编号:1000-3002-(2022)09-0680-11

DOI:10.3867/j.issn.1000-3002.2022.09.006

多发性骨髓瘤(multiple myeloma,MM)是一种血液系统恶性克隆性浆细胞疾病,多发于65~74岁老年人群,全球MM发病率在2/万~3/万。2020年的数据显示,全球有≥10万MM患者死亡^[1]。MM病因尚不完全清楚,但流行病学调查结果显示,MM的发生可能与电离辐射、遗传、基因突变、病毒感染、化学药物和环境变化等因素有关^[2-4]。该病早期较难诊断,多数MM患者确诊时已为中、晚期,典型的临床症状可表现为骨痛、贫血及肝和脾等免疫器官出现病变等,总生存期为2~3年^[5]。近10年来,随着蛋白酶体抑制剂、单克隆抗体、免疫调节药物和组蛋白去乙酰化酶抑制剂等药物的问世,使得MM的治疗有了很大进展^[6-8]。但MM患者往往因耐药而复发,致使MM

复杂难治,至今无法完全治愈。因此,寻找更有效、更具特异性且药效更持久的MM治疗药物尤为重要。

嵌合抗原受体-T细胞(chimeric antigen receptor-T cells, CAR-T细胞)免疫疗法是指将患者外周血中分离出的T细胞,通过基因工程技术改造成表面携带有特定跨膜受体CAR的T细胞,经体外大量扩增后再回输到患者体内,以特异性激活T细胞增殖,并迅速招募更多的免疫细胞对肿瘤细胞进行杀伤^[9-10]。目前,该疗法是一种非常有潜力的治疗难治性和复发性恶性血液肿瘤的辅助手段。近10年间,靶向CD19的自体CAR-T细胞免疫疗法相继成功应用于急性淋巴细胞白血病和非霍奇金淋巴瘤等血液肿瘤的临床治疗^[11-12],使得该疗法倍受关注。该疗法用于MM治疗最理想的方式是使目标抗原能够精准地表达于肿瘤细胞表面,而正常细胞或组织不表达。因此筛选最为合适的靶点可为临床应用提供更坚实的数据支持。

1 CAR的结构与发展

CAR是CAR-T细胞中最核心的结构,是一种合成的融合蛋白,由细胞外抗原识别结合域[通常指抗原特异性单链可变片段(single chain variable

基金项目: 广东省重点领域研发计划“新药创制”重点专项(2019B020202002);广州市基础与应用基础研究项目(202002030249);广东省科学院动物研究所博士研究生培养基金(GIABR-pyj201704)

作者简介: 吴琪琪,硕士研究生,主要从事新药药理毒理研究,E-mail:872158043@qq.com;杨威,博士,教授级高级工程师,主要从事新药药理毒理研究。

通讯作者: 杨威, E-mail:yangwei0719@163.com

fragment, scFv)]、细胞外铰链区、跨膜区和细胞内信号转导结构域组成。随着 CAR 结构发展,除细胞内信号转导结构域除 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)信号转导域(CD3 ζ)外,还可添加不同的共刺激域(如 4-1BB 和 CD28)和(或)蛋白分子(如细胞因子)激活信号区。当表达 CAR 的 T 细胞在体内与肿瘤相关抗原结合后,特异性激活 T 细胞,释放细胞因子和趋化因子。CAR-T 细胞还可改变 T 细胞活化之后的作用方向,靶向性地对肿瘤细胞进行特异性免疫监视^[13]。其中,CAR 的 scFv 还可被受体胞外区取代,也可被与受体结合的配体所取代,目前已报道的结构包括自然杀伤细胞(natural killer cells, NK 细胞)活化型受体 NKG2D(NK cell group 2D)、白细胞介素 13(interleukin-13, IL-13)和整合素 $\alpha\beta6$ 结合肽等。

T 细胞活化在机体免疫应答中最为关键,T 细胞增殖、分化为效应 T 细胞至发挥免疫效应这一过程除需抗原特异性信号外,还需共刺激信号。T 细胞通过 TCR 识别抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APC)表面的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)传递抗原特异性识别信号。共刺激信号主要由 T 细胞和 APC 表面的共刺激配体(如 B7 配体)与共刺激因子受体(如

CD28)以非共价键形成复合体,从而诱导 T 细胞活化、增殖及细胞因子产生,参与机体免疫识别、应答和清除。肿瘤细胞能够通过抑制 MHC 达到自我保护,并通过抑制 APC 对 T 细胞的激活实现免疫逃逸。而 CAR-T 细胞可通过 scFv 直接识别并传递抗原特异性信号,且第 2 代以后的 CAR 结构中带有刺激复合体,可使 T 细胞快速分化后发挥强大的抗肿瘤效应。整个过程不涉及 MHC 呈递抗原的环节,因此具有很强的特异性,这是其突出的优点之一。

虽然 CAR-T 细胞免疫疗法已取得一定进步,但 CAR-T 细胞体内持续增殖、肿瘤识别能力和安全性等方面仍需进一步完善。随着结构设计的不断改进, CAR 已发展到第 5 代(表 1)。1989 年 Gross 等^[14]首次提出 CAR 的概念,证实 CAR 结构与抗体的相似性,将表达特定抗体的基因嵌入细胞毒性 T 细胞,使 T 细胞可以识别半抗原 2,4,6-三硝基苯基,以非 MHC 限制的活化方式对肿瘤细胞进行杀伤。在此基础上,研究者们构建了第 1 代 CAR。第 1 代 CAR 只有 1 个胞内信号分子 CD3 ζ 激活 T 细胞,虽然也可引起细胞毒性,但由于信号强度很弱,在体内持续扩增有限。第 2 代 CAR 由 Gong 等^[15]和 Imai 等^[16]提出,是在第 1 代 CAR 的基础上增加 1 种共刺激信

表 1 嵌合抗原受体-T 细胞(CAR-T 细胞)中 5 代 CAR 的主要结构

CAR 代数	结构	优点	缺点	参考文献
第 1 代	细胞外抗原结合域+CD3 ζ	可特异性识别肿瘤细胞	缺乏第二信号(共刺激分子)的支持,体内作用持久性不佳	[14]
第 2 代	细胞外抗原结合域+T 细胞特异性表面糖蛋白(CD28, 4-1BB, OX40, ICOS 或 DAP10)+CD3 ζ	通过增加 T 细胞特异性表面糖蛋白(共刺激分子),可双重活化 T 细胞	转染病毒载体(逆转录病毒)可携带的基因片段有限,体内作用持久性不佳	[15-16]
第 3 代	细胞外抗原结合域 ≥ 2 的 T 细胞特异性表面糖蛋白(CD28, 4-1BB, OX40, ICOS 或 DAP10)+CD3 ζ	采用慢病毒作为转染载体,通过增加 2 个共刺激分子,进一步提高 T 细胞的杀伤能力	对 MM 细胞的杀伤活性相比第 2 代不显著, CAR 会造成 T 细胞刺激阈值降低,诱发细胞因子的过度释放	[17]
第 4 代	细胞外抗原结合域+功能原件(调控开关或自杀基因)+CD3 ζ	增加分泌细胞因子(如白细胞介素 12)基因,可在具有免疫抑制性肿瘤微环境中(实体瘤)释放炎症因子,提高安全性、可控性和作用持久性	缺乏临床数据支持	[18]
通用型	细胞外抗原结合域+敲除 T 细胞抗原受体、人类白细胞抗原、程序性死亡受体 1 或淋巴细胞活化基因 3 等靶点,插入调控元件控制 CAR 的表达+CD3 ζ	工业化生产,生产周期短,成本低	易引起机体排异反应,技术要求高,对安全性要求高	[19]

OX40: 肿瘤坏死因子受体超家族成员 40; ICOS: T 细胞可诱导共刺激分子; DAP10: DNAX 激活蛋白 10; MM: 多发性骨髓瘤。

号,如 CD28、4-1BB(CD137)、OX40(CD134)、可诱导 T 细胞共刺激分子(inducible T-cell costimulator)和 DNAX 激活蛋白 10(DNAX-activated protein 10)。与第 1 代相比,第 2 代 CAR 可显著刺激 T 细胞产生更多的细胞因子,发挥更强的抗肿瘤作用。第三代 CAR 则是在第 2 代的基础上增加 ≥ 2 个共刺激信号,进一步增强效果^[17]。第 4 代 CAR 则是在第 3 代的基础上增加编码 CAR 以及启动子的载体,使得 CAR 表达相关功能性转基因蛋白^[18],使其可释放 IL-12 和 IL-18 等细胞因子、分泌干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)、颗粒酶 B(granzyme B)和穿孔素(perforin)等效应因子,并招募 NK 细胞等免疫细胞以杀伤肿瘤细胞。通用型 CAR 除同时激活 TCR、共刺激域和细胞因子三重信号^[19],还可通过解除调节性 T 细胞的抑制效应,插入安全开关以达到减少脱靶效应的目的。

2 CAR-T 细胞免疫疗法治疗 MM 的靶点和应用

决定 CAR-T 细胞疗效和持续性的关键因素之一是靶抗原的选择^[20]。治疗 MM 的靶抗原需考虑两方面:一是具有靶向性和特异性,二是不表达于正常组织。虽然尚未发现可用来高度特异性识别 MM 的理想抗原,但目前全球已有较多针对 MM 各类靶点的 CAR-T 细胞正进行非临床和临床研究,如靶向 B 细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)、CD38、CD138、免疫球蛋白 κ 轻链、CD319、CD56 和 NKG2D 的研究,其中以靶向 BCMA 的研究最多。

2.1 靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞

BCMA 是来自肿瘤坏死因子超家族 17 的跨膜蛋白,是一种在骨髓瘤、浆母细胞和终末分化的浆细胞表面高度选择性表达的特异性抗原,不表达于其他正常组织和重要器官表面。有研究表明,BCMA 在 MM 患者恶性浆细胞中高表达,在多个经过验证的 MM 靶点中,仅 BCMA 表达在进展的 MM 中处于上调状态^[21-22],这使得 BCMA 成为治疗 MM 药物研发的一大热点。据病情恶化程度,MM 可分为意义未明单克隆免疫球蛋白血症(monoclonal gammopathies of un-determined significance)、冒烟型骨髓瘤(smoldering myeloma)和 MM。有研究表明,BCMA 在浆细胞上的表达水平与 MM 病情的恶化程度成正比,MM 的发展与浆细胞样树突状细胞 BCMA 表达升高有关^[23-24]。因此,BCMA 水平可作为 MM 患者预后监测的生物标志物。

Ali 等^[25]构建了带有鼠源性 BCMA 抗体和 CAR 的 CAR-T 细胞,经体外扩增后输注至 MM 荷瘤小鼠体内。结果显示,鼠源 CAR-T 细胞可识别小鼠 MM 细胞的 BCMA,进而杀伤肿瘤细胞。在首次人临床试验中,Brudno 等^[26]用人源 BCMA 单克隆抗体并以 γ -逆转录病毒为转染载体构建靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞,进行 I 期临床研究。该研究纳入 26 例复发性或难治性多发性骨髓瘤(relapsed or refractory MM, R/R MM)患者,10 例接受低剂量治疗(0.3×10^6 细胞 \cdot kg^{-1}),16 例接受高剂量治疗(9.0×10^6 细胞 \cdot kg^{-1}),给药前均服用环磷酰胺等化疗药物。其中,低剂量组有 8 例病情得到控制,2 例得到部分缓解和暂时性部分缓解。高剂量组有 1 例获得完全缓解(complete remission, CR);1 例短期病情虽得到控制,但预后不佳,于 66 周后复发而死亡。由美国蓝鸟生物公司(Bluebird Bio)和美国新基医药(Celgene)公司共同研发的靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞 bb2121 (idecabtagene vicleucel, ide-cel)和 bb21217 均具有明显的抗 MM 效果,两者在非临床试验中动物生存率均高达 100%。在 bb2121 的 I 期临床研究中,接受高剂量(1.5×10^7 细胞 \cdot kg^{-1})治疗的 18 例 MM 患者中有 17 例症状明显缓解,其中 7 例达到 CR,3 例达到未经确认的 CR^[27]。bb21217 是在离体的条件下对 bb2121 产品进行改造,使用与 bb2121 相同的 CAR 结构,在磷脂酰肌醇 3 激酶抑制剂 bb007 存在的情况下在体外进行 CAR-T 细胞培养。随后进行 I 期临床试验研究,结果表明,12 例 MM 患者总体有效率为 83%,CR 为 40%^[28]。在由南京传奇生物科技公司设计的西达基仑赛(ciltacabtagene autoleucel, cilta-cel)注射液的 II 期临床研究中招募了 97 例 MM 患者,给药前均使用环磷酰胺去除淋巴细胞,给药客观缓解率(objective response rate, ORR)达到 97%,67% 获得 CR^[29];在随访的 8 个月内,20% 患者复发,仅 1 例患者发生神经毒性。在抗人 BCMA CAR-T 细胞注射液(上海恒润达生物科技公司设计)I 期临床试验研究中纳入 20 例 MM 患者,ORR 为 85%,CR 为 45%^[30]。在 CT053(上海科济生物医药公司设计)I 期临床试验研究中纳入 17 例 MM 患者,ORR 为 87.5%,CR 为 79.2%^[31]。

构建 CAR-T 细胞最常用的载体是逆转录病毒载体和慢病毒载体,但技术难度大,耗时长,基因片段长度有限,同时还存在安全性风险。而非病毒载体可克服上述困难,在 CAR 分子构建中逐渐受到重视。P-BCMA-101 是 2019 年美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)获批临

床的靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞,通过非病毒载体转座子 piggy-BAC 电转系统构建 CAR-T 细胞,由 CD3 ζ 或 4-1BB 信号结构域与非免疫球蛋白 centyrin 支架组成,优点是亲和力强、稳定性高和无需病毒载体,生产工艺相比病毒转染更方便且高效,可显著延长 CAR-T 细胞的持久性。从其 I 期临床研究报道可见,23 例 MM 患者在试验结束后未出现明显的细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)和神经毒性,总体有效率为 63%^[32]。2015–2020 年共有 640 例 MM 患者接受了不同靶向 BCMA CAR-T 细胞的临床试验,平均 ORR 为 80.5%, CR 为 44.8%,无进展生存期为 12.2 个月,CRS 发生率为 80.3%,神经毒性发生率为 10.5%^[33]。相较于其他靶点,临床上靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞治疗 MM 和 R/R MM 的疗效和安全性数据较好,抗肿瘤活性高,不良反应发生率低^[34]。BCMA 是较为理想的 MM 治疗靶点,但 BCMA 表达降低或丢失仍不可避免地导致肿瘤细胞逃逸。因此,药物研发过程中提高 CAR-T 细胞在体内的持久性和靶点特异性是对抗 MM 复发的难点。

2.2 靶向 CD38 的 CAR-T 细胞

CD38,又称环腺苷二磷酸核糖水解酶,是一种在恶性 B 细胞上高度表达的 II 型跨膜糖蛋白,参与细胞信号转导和细胞黏附^[35]。有研究表明,CD38 不仅在正常浆细胞和 MM 细胞上表达,在正常淋巴细胞和髓细胞及一些非造血组织上亦有表达^[36],这种“非肿瘤靶向”使得自身免疫反应加剧。CD38 作为 MM 的一种重要靶抗原,可在肿瘤微环境中产生免疫抑制作用,将促炎环境转化为含有腺苷的抗炎环境从而促进 MM 细胞生长。因此,在靶向 CD38 的 CAR-T 细胞研发中需进一步改进,降低其毒性反应。在一项非临床研究中,靶向 CD38 的 CAR-T 细胞可在体外杀伤 MM 细胞,且在 MM 荷瘤免疫缺陷小鼠体内也观察到较强的抗肿瘤作用^[37]。临床研究中,CD38 单靶点 CAR-T 细胞主要用于治疗 R/R MM,也有用于联合 BCMA 等多靶点靶点组合治疗的报道^[38]。

2.3 靶向 CD138 的 CAR-T 细胞

CD138 是一种在浆细胞和骨髓瘤细胞表面高度表达的细胞膜蛋白,又称为黏结蛋白聚糖 1,与细胞黏附和信号转导有关。与 CD38 相同,CD138 不仅在 MM 细胞上高表达,在正常 T 细胞上亦有表达,因此也具有“非肿瘤靶向”的特点。CD138 高表达一般表现在 MM 复发期和进展期,在早期表达较少,因此 CD138 可作为 MM 的基本诊断指标,监测 MM 的进展。Kawano 等^[39]于 2016 年首次使用靶向

CD138 CAR-T 细胞治疗 5 例 MM 患者,其中 4 例得到缓解,且治疗 3 个月后经复查均能从患者骨髓和血液中检测到 CD138,治疗过程中无明显的毒性反应,仅出现轻微的 CRS。

2.4 靶向免疫球蛋白 κ 轻链的 CAR-T 细胞

免疫球蛋白 κ 和 λ 轻链通常在正常 B 淋巴细胞和大多数淋巴瘤的表面同时表达,当 B 淋巴细胞恶化时,则只表达单一的 κ 轻链或 λ 轻链。Ramos 等^[40]设计了一种作用于 κ 轻链的 CAR,可选择性识别 MM 细胞上的 κ 轻链,从而杀伤 MM 细胞而不伤害其他正常组织或细胞。目前他们设计的该靶向免疫球蛋白 κ 轻链的 CAR-T 细胞进入 I 期临床试验,7 例 MM 患者均未出现严重不良反应,病情稳定且可持续 2~17 个月。但免疫球蛋白 κ 轻链在 MM 细胞上表达较弱,因此在研发中需着重提高对 MM 细胞上免疫球蛋白 κ 轻链的靶向性。

2.5 靶向 CD319 的 CAR-T 细胞

CD319,也称 CS1 或淋巴细胞激活信号家族成员 F7 (signaling lymphocytic activation molecule family member 7, SLAMF7),是一种作用于细胞膜表面的糖蛋白,在浆细胞、NK 细胞和树突状细胞中高表达^[41]。SLAMF7 是 MM 中正常浆细胞和恶性浆细胞的标志物,不仅稳定,且可以此为生物标志物在低温环境下从 MM 患者样品中分离出恶性浆细胞。早期研究发现,SLAMF7 与 NK 细胞黏附有关,通过与 NK 细胞相互作用,不仅可杀伤 MM 细胞,且还可持续活化 NK 细胞,从而产生长期的免疫力^[42]。由于其在 NK 细胞和 T 细胞上均有表达,因此在靶向 SLAMF7 的 CAR-T 中需采用基因敲除技术避免 NK 细胞和 T 细胞“自相残杀”^[43]。Wang 等^[44]设计了 2 种分别靶向 BCMA 和 SLAMF7 的 CAR-T 细胞,两者均对 MM 细胞产生强大的杀伤作用。因此,SLAMF7 可能是继 BCMA 后又一理想的 MM 治疗靶点。

2.6 靶向 CD56 的 CAR-T 细胞

CD56 是一种跨膜糖蛋白,正常浆细胞无表达,仅在骨髓瘤细胞上表达,可介导 MM 细胞的归巢,在 MM 治疗中发挥调节作用,因此其可能成为 MM 治疗的潜在靶点。由于 CD56 在中枢和外周神经系统的表达与神经毒性有关,介导神经细胞黏附,因此也称为神经细胞黏附因子。在一项 I 期临床试验中,靶向 CD56 的 CAR-T 细胞虽在 37 例 R/R MM 患者中显示出抗 MM 活性,但约 50% 患者出现神经毒性^[45]。虽然 CD56 可用以监测 MM 的进展,但仍有小部分 MM 患者不表达 CD56,所以现阶段临床上主要将 CD56 与 BCMA 等靶点进行联合,提高 MM 治疗的靶向性。

2.7 靶向 NKG2D 的 CAR-T 细胞

NKG2D 也是 MM 治疗的一个热门靶点。NKG2D 基因主要位于 NK 基因复合体,可表达于人和小鼠 NK 细胞、NKT 细胞、CD8⁺T 细胞及其他免疫活性细胞,但通常不表达于 CD4⁺T 细胞^[46]。它作为一种激活性受体可活化免疫细胞,杀伤靶细胞。MM 患者的 CD8⁺T 细胞 NKG2D 表达明显高于健康人群。NKG2D 在 CD8⁺T 细胞中发挥共刺激分子的作用,增强 CD8⁺T 细胞功能,其表达水平可作为 MM 患者病情进展和预后间接预测因子。Baumeister 等^[47]评估了靶向 NKG2D 的 CAR-T 细胞 1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 和 3×10^7 细胞·kg⁻¹ 共 4 个剂量的安全性,该试验共有 12 例患者,包括 5 例 MM 患者和 7 例急性髓系白血病患者,在治疗过程中未观察到严重毒性,未出现 CRS 反应,提示该靶点相比于其他靶点更具潜力。

3 CAR-T 细胞免疫疗法的不良反应

3.1 细胞因子释放综合征

CRS 是由于 CAR-T 细胞被过度激活和增殖,从而招募 T 细胞、B 细胞、NK 细胞和单核巨噬细胞等免疫细胞,通过释放大量的细胞因子和趋化因子使肿瘤细胞大量凋亡,同时过量的细胞因子被释放入血而引发的严重全身性炎症反应。

CRS 是 CAR-T 细胞治疗血液肿瘤的一种主要且最常见的不良反应,多发生在 CAR-T 细胞回输后 1~3 周内^[48],严重者可危及生命。治疗初期主要表现为发热、恶心或肌肉酸痛,随后可迅速发展为低血压、器官受损或呼吸困难。多项研究表明,IL-6 是引起 CRS 的主要细胞因子,IFN- γ 、肿瘤坏死因子 α 、IL-1 β 和 IL-2 等细胞因子水平明显升高也与严重 CRS 密切相关。其中 IFN- γ 又可通过进一步激活单核巨噬细胞,分泌肿瘤坏死因子 α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8 和 IL-10 等细胞因子,从而发挥抗肿瘤作用^[49]。目前临床重点监测的细胞因子主要有 IL-6 和 IFN- γ 。

CRS 的严重程度也与患者肿瘤类型、体内肿瘤细胞负荷量和 CAR-T 细胞输注量相关,肿瘤负荷大的患者血清中 IL-6 和 IFN- γ 等细胞因子升高更为明显^[50]。2018 年美国血液与骨髓移植学会上,将 CRS 按临床不良反应(如发热、低血压和低氧血症)及临床指标(如体温、IL-7、C 反应蛋白和铁蛋白等水平)进行分级,各级临床表现和治疗方法见表 2。低血压患者用药需根据 CRS 严重程度调整,必要时需使用 IL-6 抑制剂[如托利珠单抗(tocilizumab)和司妥昔单抗(siltuximab)]或糖皮质激素治疗^[51]。但在临床上如何最大程度降低 CRS 导致的不良反应,延长患者生存率,仍是 CAR-T 细胞免疫疗法研究的重点和难点。

3.2 巨噬细胞活化综合征

在系统性炎症疾病中,巨噬细胞活化综合征是一种潜在威胁患者生命的并发症^[52],又称噬血性淋巴组织细胞增生症。CRS 和巨噬细胞活化综合征存在一定的相似性,原因是 CRS 的促炎细胞因子主要来源于单核细胞和巨噬细胞。一项人源化小鼠 CRS 模型研究表明,CAR-T 细胞可诱导、招募大量单核细胞和巨噬细胞等免疫细胞,产生 IL-6、IL-1 β 和一氧化氮等炎症因子^[53]。另一项 CRS 机制研究表明,当 CAR-T 细胞特异性接触肿瘤细胞表面时可募集免疫细胞释放颗粒酶 B 和穿孔素等效应因子,通过激活胱天蛋白酶 3/胃泌素 E 信号通路,使肿瘤细胞发生焦亡,而焦亡的细胞会诱导、招募大量免疫细胞(如单核细胞和巨噬细胞)释放促炎细胞因子,从而引发 CRS。人体自身 T 细胞不引起胱天蛋白酶 3/胃泌素 E 信号通路激活^[54]。因此,与人体自身 T 细胞相比,CAR-T 细胞在获得更多炎症因子杀伤肿瘤细胞的同时,更需关注其安全性问题。

3.3 神经毒性

神经毒性,也称免疫效应细胞相关神经毒性综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS),是 CAR-T 细胞免疫治疗过程中的第二大中枢神经系统并发症,症状严重者可危

表 2 CAR-T 细胞免疫疗法中细胞因子释放综合征的临床分级、临床表现和治疗方法

分级	临床表现	治疗方法
1 级(轻度反应)	体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ (发热),器官毒性	常规治疗,维持性静脉补液
2 级(中度反应)	收缩压 < 90 mmHg(低血压),吸入氧浓度 $< 40\%$,器官毒性	补液(0.9%生理盐水),低剂量血管升压药
3 级(重度反应)	收缩压 < 90 mmHg(低血压),吸入氧浓度 $\geq 40\%$,器官毒性	联用血管升压药,吸氧维持疗法
4 级(危及生命的并发症)	收缩压 < 90 mmHg(低血压),吸入氧浓度 $\geq 40\%$,器官毒性	联用血管升压药,机械通气/透析维持疗法

及生命。其临床表现为头痛、表达性失语、意识障碍、癫痫或脑部水肿等。2019 年,美国移植与细胞治疗协会(ASTCT)共识将其定义为:经过任何免疫治疗后可能涉及到中枢神经系统的病理过程。这一过程会导致内源性或输注后的 T 细胞及其他免疫效应细胞的激活^[55],其机制仍不明确,但该症状与 CRS 相关。与神经毒性相关的促炎细胞因子不仅在血液中产生,在脑脊液中也会大量存在。因此,炎症因子可能会被动扩散于大脑,这将导致炎症因子急剧升高,造成内皮损伤、增加血管通透性及破坏血脑屏障。血脑屏障通透性增加则被认为是脑脊液细胞因子水平升高的主要原因^[56]。

近年来,许多研究机构采用神经毒性分级系统(CARTOX-10)对神经毒性进行分级。该系统主要用于监测与评估认知功能,如言语、辨认方向和书写等(表 3)。虽然 IL-6 抑制剂可以缓解 CRS 的症状,但由于抗体药物难以透过血脑屏障,临床上通常给予 ≥ 2 级 ICANS 患者糖皮质激素(地塞米松)缓解症状,缓解过程中出现癫痫时首选左乙拉西坦(levetiracetam);伴颅内压升高的 3 级 ICANS 患者常联合给予糖皮质激素和乙酰唑胺(acetazolamide);出现 4 级且脑水肿的 ICANS 患者则给予大剂量糖皮质激素、机械通气及脱水药物治疗。有研究表明,IL-1 受体拮抗剂阿那白滞素(anakinra)有抑制 CRS 和神经毒性的作用^[57]。

3.4 脱靶效应

CAR-T 细胞在特异性靶向肿瘤细胞的同时,对机体其他的正常组织造成杀伤,这种现象被称为脱靶效应(off-target effect)。因此,在 CAR-T 细胞产品研发过程中,首先需要考虑肿瘤特异性抗原的选择,保证正常组织或细胞不被杀伤,这就需要足够的可特异性识别 APC 表面抗原的 CAR-T 细胞。多项研究表明,肿瘤细胞可通过下调或可逆性地丢失其表面抗原,从而逃脱 CAR-T 细胞攻击,尤其是在实

体瘤中,肿瘤微环境的存在导致该情况更为显著,使得 CAR-T 细胞在实体瘤中的应用面临更艰难的挑战^[58]。Ahmed 等^[59]研究表明,具有低亲和力的 scFv 及低剂量的 CAR-T 细胞可最大程度地降低对正常组织或细胞毒性,但抗肿瘤活性相对较低。因此,寻找合适的靶抗原非常重要。

3.5 T 细胞耗竭

T 细胞耗竭是指在 T 细胞长期暴露于持续性抗原的过程中,T 细胞及记忆 T 细胞逐渐失去效应功能,直至 T 细胞功能完全丧失。因此,T 细胞耗竭是癌症患者免疫功能障碍的主要因素之一。一项 I 期临床研究表明,耗竭的 T 细胞功能降低,使 CAR-T 细胞的疗效受到限制。在慢性感染性疾病患者或长期癌症患者的 T 细胞中,常见许多典型的耗竭生物标志物高表达^[60]。对健康小鼠和 T 细胞耗竭小鼠的基因组进行对比分析发现,两者的基因表达模式具有显著差异:T 细胞耗竭小鼠出现了 T 细胞表达活性失衡的现象,而导致这一现象的关键原因在于一种可调节蛋白质表达的主要基因 c-Jun 氨基端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)。该研究揭示了 JNK 表达降低也会抑制 T 细胞活性^[61]。因此,T 细胞耗竭也是 CAR-T 细胞免疫治疗中出现的严重不良反应之一。

4 治疗 MM 的 CAR-T 细胞产品审批进展

截至 2022 年 6 月,全球共有 8 款 CAR-T 细胞上市,分别为 KYMRIAH、YESCARTA、TECARTUS、BREYANZI、ABECMA、瑞基奥仑赛(relmacabtagene autoleucel, relma-cel)注射液、西达基仑赛(clitacabtagent autoleucel, cilta-cel)注射液和阿基仑赛(axicabtagent ciloleucel injection, axi-cel)注射液,其中靶向 BCMA 的 ABECMA 和西达基仑赛注射液用于治疗 MM,目前已获美国 FDA 和欧盟批

表 3 CAR-T 细胞免疫疗法中相关脑病综合征系统分级、评估分数、临床表现和治疗方法

分级	评估分数	临床表现	治疗方法
1 级(轻度损伤)	7~9	不适用分级	常规治疗,维持性静脉补液
2 级(中度损伤)	3~6	不适用分级	皮质类固醇激素
3 级(重度损伤)	0~2	视乳头水肿 1~2 级,脑脊液压力 < 20 mmHg, 癫痫部分发作或非惊厥性发作	苯二氮草类,左乙拉西坦
4 级(危重/麻木)	无法评估	视乳头水肿 3~5 级,脑脊液压力 ≥ 20 mmHg, 癫痫全身性发作、惊厥发作或非惊厥持续状态发作	苯二氮草类,左乙拉西坦,大剂量皮质类固醇激素,机械通气,高渗治疗

准上市。伊基仑赛注射液是国内首款靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞产品,目前已纳入国家药品监督管理局药品审评中心优先审评品种公示。

ABECMA 于 2021 年 3 月获美国 FDA 批准上市,是全球首个获批靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞,适应证为接受 ≥ 3 次化疗后的 R/R MM 成人患者。在一项 128 例 R/R MM 患者 II 期临床试验中,总缓解率为 73%,完全缓解率为 33%^[62]。

西达基仑塞注射液是 Janssen(杨森)和传奇生物共同研发的靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞,在 2020 年底提交美国 FDA 上市申请,并于 2022 年 2 月正式获批上市,是全球首款由中国企业参与研发获得美国 FDA 批准上市的 CAR-T 细胞,适应证为 R/R MM 成人患者。为期 18 个月的临床随访数据显示,总缓解率高达 97%,完全缓解率为 80%^[63]。目前西达基仑赛注射液已在国内提交上市申请,尚未获批。

截至 2022 年 6 月,国家药品监督管理局药品审评中心共受理 > 160 项细胞治疗产品的申请。在受理的 94 款 CAR-T 细胞产品中,用于 MM 治疗的有 11 项(表 4)。

5 展望

CAR-T 细胞免疫疗法在血液系统恶性肿瘤治疗中取得非常显著的疗效。大量临床试验研究结果表明,CAR-T 细胞在 MM 治疗中具有很好的临床

应用前景。临床上应用 CAR-T 细胞联合免疫调节剂等靶向药物可进一步提高疗效。在给予靶向 SLAMF7 CAR-T 细胞的同时,与来那度胺(lenalidomide)联用可明显提高 CAR-T 细胞对 MM 患者的抗肿瘤活性^[64],CAR-T 细胞可在 MM 患者体内存活 3~6 个月,且持续对肿瘤细胞造成杀伤。但由于 MM 患者年龄、疾病状态可能会潜在地影响 T 细胞活性和数量,这为 CAR-T 细胞质量和治疗作用增加很多阻碍。有研究表明,患者体内 CAR-T 细胞数量与持久性呈正比趋势^[65]。目前提高 T 细胞活性的方法主要是通过扩增 CAR-T 细胞数量以保证其持续性、减少其凋亡速度并促进细胞因子释放。例如,bb2121 是通过增加磷脂酰肌醇 3 激酶抑制剂 bb007^[66],使机体 CAR-T 细胞中记忆 T 细胞数量增多且疗效持久。多靶点 CAR-T 细胞免疫疗法是通过联合、串联 CAR-T 细胞实现多靶点 CAR-T 细胞在同一表达载体上共表达。相比于单靶点,多靶点 CAR-T 细胞可降低脱靶风险,增加持久性,因此多靶点 CAR-T 细胞免疫疗法亦备受关注。

尽管 CAR-T 细胞免疫疗法在血液系统恶性肿瘤中取得显著疗效,为患者带来了更多的选择和希望,但仍存在安全性和可控性等难题,至今其回输人体后产生的毒性反应导致患者耐药而肿瘤复发、甚至死亡机制尚未明确。其中,CRS 是最主要也是最危险的不良反应,在早期安全性评价中,对于 IL-6 和 IFN- γ 等重要典型的细胞因子水平需重点监测。

表 4 国内治疗 MM CAR-T 细胞产品受理和获批情况(截至 2022 年 6 月 6 日)

受理号	药品名称	企业名称	承办日期	申请类型
CXSL1500082	LCAR-B38M CAR-T 细胞自体回输制剂	南京传奇生物科技有限公司	2017-12-11	新药
CXSL1800054	CT053 全人抗 BCMA 自体 CAR-T 细胞注射液	上海科济制药有限公司	2018-05-15	新药
CXSL1800063	抗人 BCMA T 细胞注射液	上海恒润达生物科技有限公司	2018-05-31	新药
CXSL1900060	全人源 BCMA 嵌合抗原受体自体 T 细胞注射液	南京驯鹿医疗技术有限公司	2019-06-21	新药
CXSL1900147	靶向 BCMA 嵌合抗原受体 T 细胞注射液	深圳普瑞金生物药业有限公司	2019-12-21	新药
CXSL2000060	CBM.BCMA 嵌合抗原受体 T 细胞注射液	上海赛比曼生物科技有限公司	2020-04-08	新药
CXSL2101172	JWCAR129(靶向 BCMA 嵌合抗原受体 T 细胞)	上海药明巨诺生物科技有限公司	2021-07-06	新药
CXSB2101043	CT053 全人抗 BCMA 自体 CAR T 细胞注射液	上海科济制药有限公司	2021-09-13	补充申请
CXSL2200233	伊基仑赛注射液	南京驯鹿生物医药有限公司	2022-05-28	新药
CXSL2200234	伊基仑赛注射液	南京驯鹿生物医药有限公司	2022-05-28	新药
CXSS2200055	伊基仑赛注射液	南京驯鹿生物医药有限公司	2022-06-06	新药

数据来源于国家药品监督管理局药品审评中心。BCMA: B 细胞成熟抗原。

为使患者不良反应最小化, 研究者们通过插入“自杀基因”和“安全开关”及使用抗粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子单抗和强力霉素(多西环素)(doxycycline)等方式提高 CAR-T 细胞免疫疗法的有效性和可控性, 使得在 MM 治疗过程中 CRS 症状得到控制^[67]。由于患者个体化差异大且 CAR-T 细胞产品制备周期长, 因此对于 CAR-T 输注风险以及 CAR-T 细胞质量及其控制是患者能否得到及时并有效治疗的最大阻碍。因此开发异体通用型 CAR-T 细胞显得非常必要。异体通用型 CAR-T 细胞是异体移植, 因此还需考虑机体宿主排斥反应。目前主要通过敲除异体 TCR 和 MHC 基因等方法消除患者对于异体通用型 CAR-T 细胞的排异反应^[68]。

CAR-T 细胞是一类特殊药品, 其产品供应模式和安全性风险与传统药物存在显著区别, 至今仍无统一的标准制备方式和理想的治疗方案。目前 CAR-T 细胞免疫疗法的发展仍面临着许多挑战, 如患者来源的 T 细胞如何标准化生产; 如何实现生产制备过程自动化, 降低生产周期; 如何实现大规模生产及药物监管部门如何做好监管工作等。因此, 对于实现 CAR-T 细胞标准自动化生产及质量、疗效和风险可控仍是目前的首要任务。阿基仑赛注射液和瑞基奥仑赛注射液在国内上市, 表明在 MM 治疗中, 越来越多的 CAR-T 细胞免疫疗法已被国内接纳。由于 CAR-T 细胞免疫疗法已在急性淋巴白血病和非霍奇金淋巴瘤的治疗方面取得了重大成就, 期待不久的将来, CAR-T 细胞免疫疗法也能为 MM 患者带来福音。

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: LOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] Weinhold N, Ashby C, Rasche L, et al. Clonal selection and double-hit events involving tumor suppressor genes underlie relapse in myeloma [J]. *Blood*, 2016, 128(13): 1735-1744.
- [3] Kortüm KM, Mai EK, Hanafiah NH, et al. Targeted sequencing of refractory myeloma reveals a high incidence of mutations in CRBN and Ras pathway genes [J]. *Blood*, 2016, 128(9): 1226-1233.
- [4] Georgakopoulou R, Fiste O, Sergentanis TN, et al. Occupational exposure and multiple myeloma risk: an updated review of meta-analyses [J]. *J Clin Med*, 2021, 10(18): 4179-4191.
- [5] Joseph NS, Gentili S, Kaufman JL, et al. High-risk multiple myeloma: definition and management [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2017, 17S: S80-S87.
- [6] Kumar SK, Callander NS, Hillengass J, et al. NCCN Guidelines Insights: Multiple Myeloma, Version 1.2020 [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17(10): 1154-1165.
- [7] Kumar SK, Anderson KC. Immune therapies in multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2016, 22(22): 5453-5460.
- [8] Chim CS, Kumar SK, Orlowski RZ, et al. Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies, immunotherapies and beyond [J]. *Leukemia*, 2018, 32(2): 252-262.
- [9] 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.
- [10] June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer [J]. *Science*, 2018, 359(6382): 1361-1365.
- [11] Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(1): 45-56.
- [12] Vitale C, Strati P. CAR T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma and chronic lymphocytic leukemia: clinical trials and real-world experiences [J]. *Front Oncol*, 2020, 10: 849-868.
- [13] Neusser MA, Lindenmeyer MT, Edenhofer I, et al. Intrarenal production of B-cell survival factors in human lupus nephritis [J]. *Mod Pathol*, 2011, 24(1): 98-107.
- [14] Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86(24): 10024-10028.
- [15] Gong MC, Latouche JB, Krause A, et al. Cancer patient T cells genetically targeted to prostate-specific membrane antigen specifically lyse prostate cancer cells and release cytokines in response to prostate-specific membrane antigen [J]. *Neoplasia*, 1999, 1(2): 123-127.
- [16] Imai C, Mihara K, Andreansky M, et al. Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2004, 18(4): 676-684.
- [17] Tang XY, Sun Y, Zhang A, et al. Third-generation

- CD28/4-1BB chimeric antigen receptor T cells for chemotherapy relapsed or refractory acute lymphoblastic leukaemia: a non-randomised, open-label phase I trial protocol [J/OL]. *BMJ Open*, 2016, 6 (12): e013904 (2016-12-30) [2022-02-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28039295/>. DOI: 10.1136/bmjopen-2016-013904.
- [18] Chmielewski M, Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2015, 15 (8): 1145-1154.
- [19] Zhao J, Lin Q, Song Y, *et al*. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 132-141.
- [20] Ramos CA, Dotti G. Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered lymphocytes for cancer therapy [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(7): 855-873.
- [21] Lee L, Bounds D, Paterson J, *et al*. Evaluation of B cell maturation antigen as a target for antibody drug conjugate mediated cytotoxicity in multiple myeloma [J]. *Br J Haematol*, 2016, 174(6): 911-922.
- [22] Tai YT, Anderson KC. B cell maturation antigen (BCMA)-based immunotherapy for multiple myeloma [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2019, 19(11): 1143-1156.
- [23] Carpenter RO, Evbuomwan MO, Pittaluga S, *et al*. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(8): 2048-2060.
- [24] Schuh E, Musumeci A, Thaler FS, *et al*. Human plasmacytoid dendritic cells display and shed B cell maturation antigen upon TLR engagement [J]. *J Immunol*, 2017, 198(8): 3081-3088.
- [25] Ali SA, Shi V, Maric I, *et al*. T cells expressing an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma [J]. *Blood*, 2016, 128(13): 1688-1700.
- [26] 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.
- [27] Raje N, Berdeja J, Lin Y, *et al*. Anti-BCMA CAR T-cell therapy bb2121 in relapsed or refractory multiple myeloma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(18): 1726-1737.
- [28] D'Agostino M, Raje N. Anti-BCMA CAR T-cell therapy in multiple myeloma: can we do better? [J]. *Leukemia*, 2020, 34(1): 21-34.
- [29] 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 (CAR-TITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study [J]. *Lancet*, 2021, 398(10297): 314-324.
- [30] Durer C, Durer S, Lee S, *et al*. Treatment of relapsed multiple myeloma: evidence-based recommendations [J]. *Blood Rev*, 2020, 39: 100616-100629.
- [31] Yang M, Zhang WH, Yu K, *et al*. A novel BCMA CAR-T-cell therapy with optimized human scFv for treatment of relapsed/refractory multiple myeloma: results from phase I clinical trials [J]. *Haematologica*, 2022, 107(8): 1960-1965.
- [32] Gregory T, Cohen AD, Costello CL, *et al*. Efficacy and safety of P-BCMA-101 CAR-T cells in patients with relapsed/refractory (R/R) multiple myeloma (MM) [J/OL]. *Blood*, 2018, 132(S1) : 1012 (2018-11-29) [2022-02-02]. <https://doi.org/10.1182/b100d-2018-99-111419>.
- [33] Roex G, Timmers M, Wouters K, *et al*. Safety and clinical efficacy of BCMA CAR-T-cell therapy in multiple myeloma [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 164-178.
- [34] Raje N, Berdeja J, Lin Y, *et al*. Anti-BCMA CAR T-cell therapy bb2121 in relapsed or refractory multiple myeloma [J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(18): 1726-1737.
- [35] Morandi F, Airoidi I, Marimpietri D, *et al*. CD38, a receptor with multifunctional activities: from modulatory functions on regulatory cell subsets and extracellular vesicles, to a target for therapeutic strategies [J]. *Cells*, 2019, 8(12): 1527-1544.
- [36] Muñoz P, Navarro MD, Pavón EJ, *et al*. CD38 signaling in T cells is initiated within a subset of membrane rafts containing LCK and the CD3-zeta subunit of the T cell antigen receptor [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(50): 50791-50802.
- [37] Drent E, Groen RW, Noort WA, *et al*. Pre-clinical evaluation of CD38 chimeric antigen receptor engineered T cells for the treatment of multiple myeloma [J]. *Haematologica*, 2016, 101(5): 616-625.
- [38] Wu C, Zhang L, Brockman QR, *et al*. Chimeric antigen receptor T cell therapies for multiple myeloma [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1): 120-132.
- [39] Kawano Y, Fujiwara S, Wada N, *et al*. Multiple myeloma cells expressing low levels of CD138 have an immature phenotype and reduced sensitivity to lenalidomide [J]. *Int J Oncol*, 2012, 41(3): 876-884.
- [40] Ramos CA, Savoldo B, Torrano V, *et al*. Clinical responses with T lymphocytes targeting malignancy-associated κ light chains [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126 (7): 2588-2596.

- [41] Cannons JL, Tangye SG, Schwartzberg PL. SLAM family receptors and SAP adaptors in immunity [J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 665-705.
- [42] Malaer JD, Mathew PA. CS1 (SLAMF7, CD319) is an effective immunotherapeutic target for multiple myeloma [J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(8): 1637-1641.
- [43] Morgan MA, Büning H, Sauer M, et al. Use of cell and genome modification technologies to generate improved "off-the-shelf" CAR T and CAR NK cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1965-1980.
- [44] Wang XL, Walter M, Urak R, et al. Lenalidomide enhances the function of CS1 chimeric antigen receptor-redirected T Cells against multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(1): 106-119.
- [45] Abramson HN. B-Cell maturation antigen (BCMA) as a target for new drug development in relapsed and/or refractory multiple myeloma [J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(15): 5192 (2020-07-22) [2022-02-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32707894/>. DOI: 10.3390/ijms21155192.
- [46] Xu YJ, Zhou R, Huang CZ, et al. Analysis of the expression of surface receptors on NK cells and NKG2D on immunocytes in peripheral blood of patients with nasopharyngeal carcinoma [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(3): 661-665.
- [47] Baumeister SH, Murad J, Werner L, et al. Phase I trial of autologous CAR T cells targeting NKG2D ligands in patients with AML/MDS and multiple myeloma [J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(1): 100-112.
- [48] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47-62.
- [49] Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management [J]. *Blood*, 2016, 127(26): 3321-3330.
- [50] Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia [J/OL]. *Sci Transl Med*, 2013, 5(177): 177ra138 (2013-05-20) [2022-02-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23515080/>. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005930.
- [51] Dougan M, Luoma AM, Dougan SK, et al. Understanding and treating the inflammatory adverse events of cancer immunotherapy [J]. *Cell*, 2021, 184(6): 1575-1588.
- [52] Crayne CB, Albeituni S, Nichols KE, et al. The immunology of macrophage activation syndrome [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 119-130.
- [53] Giavridis T, van der Stegen SJC, Eyquem J, et al. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade [J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 731-738.
- [54] Liu YY, Fang YL, Chen XF, et al. Gasdermin E-mediated target cell pyroptosis by CAR T cells triggers cytokine release syndrome [J/OL]. *Sci Immunol*, 2020, 5(43): eaax7969 (2020-01-17) [2022-02-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31953257/>. DOI: 10.1126/sciimmunol.aax7969.
- [55] Lee DW, Santomasso BD, Locke FL, et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019, 25(4): 625-638.
- [56] Gust J, Taraseviciute A, Turtle CJ. Neurotoxicity associated with CD19-targeted CAR-T cell therapies [J]. *CNS Drugs*, 2018, 32(12): 1091-1101.
- [57] Norelli M, Camisa B, Barbiera G, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells [J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 739-748.
- [58] Rodriguez-Garcia A, Palazon A, Noguera-Ortega E, et al. CAR-T cells hit the tumor microenvironment: strategies to overcome tumor escape [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1109-1152.
- [59] Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) - specific chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of HER2-positive sarcoma [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(15): 1688-1696.
- [60] Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(26): 2545-2554.
- [61] 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.
- [62] 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.
- [63] Martin T, Usmani SZ, Berdeja JG, et al. Ciltacabtagene autoleucel, an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor T-cell therapy, for relapsed/refractory multiple myeloma: CARTITUDE-12-year follow-up [J/OL]. *J Clin Oncol*, 2022: JCO2200842 (2022-06-04) [2022-06-06]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35658469/>. DOI:10.1200/JCO.22.00842.
- [64] Mikkilineni L, Kochenderfer JN. Chimeric antigen

- receptor T-cell therapies for multiple myeloma [J]. *Blood*, 2017, 130(24): 2594-2602.
- [65] Liu XJ, Zhang YP, Cheng C, *et al.* CRISPR-Cas9-mediated multiplex gene editing in CAR-T cells [J]. *Cell Res*, 2017, 27(1): 154-157.
- [66] Srivastava S, Riddell SR. Chimeric antigen receptor T cell therapy: challenges to bench-to bedside efficacy[J]. *J Immunol*, 2018, 200(2): 459-468.
- [67] Bhoj VG, Arhontoulis D, Wertheim G, *et al.* Persistence of long-lived plasma cells and humoral immunity in individuals responding to CD19-directed CAR T-cell therapy [J]. *Blood*, 2016, 128(3): 360-370.
- [68] Drent E, Poels R, Mulders MJ, *et al.* Feasibility of controlling CD38-CAR T cell activity with a tet-on inducible CAR design [J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197349 (2018-05-30) [2022-02-02]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29847570/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0197349.

Advances in chimeric antigen receptor-T cell therapy for multiple myeloma

WU Qi-qi^{1,2}, GUO Jian-min^{2,3}, LIANG Chun³, YANG Wei^{1,2,3}

(1. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin 541199, China; 2. Guangdong Lewwin Pharmaceutical Research Institute Co., Ltd., Provincial Key Laboratory of Drug Non-Clinical Evaluation and Research, TCM Non-clinic Evaluation Branch of National Engineering Research Center for Modernization of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Engineering Research Center for Innovative Drug Evaluation and Research, Guangzhou 510990, China; 3. Division of Life Sciences, Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong 999077, China)

Abstract: There have been significant advances in using chimeric antigen receptor-T (CAR-T) cells in the treatment of hematological tumors such as acute lymphoid leukemia and non-Hodgkin's lymphoma, and in recent years breakthroughs have also been made in the treatment of multiple myeloma, where the CAR is the central structure of CAR-T cells, giving immune effector cells specificity to target antigen epitopes and activating T cells to specifically recognize antigens. The current CAR structure has been optimized over five generations, with the latest structure being the universal CAR, which can not only simultaneously activate the triple signaling of T cell antigens, co-stimulatory domain and cytokines, but also reduce off-target effects by disarming the inhibitory effect of regulatory T cells and inserting a safety switch. More CAR-T cells targeting various targets in multiple myeloma are currently undergoing non-clinical and clinical studies worldwide, such as targeting B-cell maturation antigens (BCMA), CD38, CD138, immunoglobulin κ light chain, CD319, CD56 and NK cell activation receptor NKG2D, with most of the studies targeting BCMA. Clinical studies have found that CAR-T cell immunotherapy can lead to adverse effects such as cytokine release syndrome, macrophage activation syndrome, neurotoxicity, off-target effects and T cell depletion, and its development still faces such challenges as toxicity, off-target and persistence. Achieving standard automated production of CAR-T cells with controlled quality, efficacy and risk remains a top priority.

Key words: chimeric antigen receptor; T cells; multiple myeloma; tumor immunity

Foundation item: New Drug Creation of Guangdong Key Research and Development Plan (2019B020202002); Guangzhou Fundamental and Application Foundation Research Project(202002030249); and Doctoral Researcher Training Fund of Institute of Zoology of Guangdong Academy of Sciences (GIABR-pyjj201704)

Corresponding author: YANG Wei, E-mail: yangwei0719@163.com

(收稿日期: 2022-04-27 接受日期: 2022-09-08)

(本文编辑: 齐春会)