

多发性骨髓瘤的 CAR-T 治疗研究进展^{*}

何爱丽 付冰洁

(西安交通大学第二附属医院血液科, 陕西 西安 710004)

【摘要】 多发性骨髓瘤(MM)是发生于浆细胞的恶性肿瘤,单克隆浆细胞在骨髓中异常增殖并产生 M 蛋白。尽管蛋白酶体抑制剂、单克隆抗体、免疫调节剂等药物的应用显著延长了 MM 患者的生存期,但 MM 仍无法治愈。嵌合抗原受体 T(CAR-T)细胞可以特异性靶向并杀死带有特定抗原的 MM 细胞,但脱靶效应和耐药性的产生使 MM 存在复发难治的风险。双靶点 CAR-T 可以增大抗原的覆盖率,提高抗肿瘤能力,减少抗原逃逸,为 MM 的治疗提供了新思路。本文对现阶段 CAR-T 治疗多发性骨髓瘤的研究进展做一述评,旨在为临床提供一定的参考。

【关键词】 多发性骨髓瘤;嵌合抗原受体 T 细胞;双靶点

【中图分类号】 R733.3 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.10.001

Advances of chimeric antigen receptor T cell immunotherapy in multiple myeloma

HE Aili, FU Bingjie

(Department of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

【Abstract】 Multiple myeloma is a malignant tumor arising from plasma cells. Monoclonal plasma cells proliferate abnormally in bone marrow and produce M protein. Although proteasome inhibitors, monoclonal antibodies, immunomodulators and other drugs have significantly prolonged the survival of MM patients, MM is still incurable. Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells can specifically target and kill MM cells with specific antigens, but off-target effects and drug resistance make MM at risk of relapse and refractory treatment. Dual-target CAR-T can increase antigen coverage, improve anti-tumor ability and reduce antigen escape, which provides a new idea for the treatment of MM. This paper reviews the current research progress of CAR-T therapy in multiple myeloma, and provides some reference for clinical treatment.

【Key words】 Multiple myeloma; Chimeric antigen receptor T cells; Double targets

多发性骨髓瘤(Multiple myeloma, MM)是一种浆细胞恶性增殖性肿瘤,以骨髓中单克隆浆细胞异常积聚并产生单克隆免疫球蛋白或其片段(M 蛋白)为

特点,并导致相关器官或组织损伤,临床表现为高钙血症、肾功能不全、贫血和骨质破坏等。多发性骨髓瘤占肿瘤疾病的 1%,从 1990—2016 年,全球多发性骨髓瘤的发病率增加了 126%^[1]。尽管蛋白酶体抑制剂、免疫调节剂、单克隆抗体等药物的应用显著改善了 MM 患者的生存及质量,但疾病的复发和耐药性的出现使得 MM 目前仍无法治愈^[2]。

随着基因工程的发展,嵌合抗原受体 T(Chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞成为当今最为前沿的治疗肿瘤的方法。CAR-T 疗法的出现,改变了非霍奇金淋巴瘤、B 淋巴细胞白血病及多发性骨髓瘤的治疗格局^[3],为多发性骨髓瘤治疗带来突破性进展。然而 CAR-T 在实际应用过程中存在一系列不良反应及复发问题^[4-5]。为了提高 CAR-T 的抗肿瘤能力和敏感性,研究者们开始着眼于多靶点 CAR-T 尤其是双

基金项目: 陕西省重点研发计划项目(2023-ZDLSF-16)

执行编委简介: 何爱丽,女,医学博士,教授,主任医师,博士生导师,医学部名师,内科学系主任、血液科主任。主攻方向为血液恶性肿瘤的免疫逃逸机制及治疗。现任中国医师协会血液科分会常委、中国抗癌协会血液肿瘤委员会常委、中国女医师协会血液肿瘤委员会委员、陕西省医师协会血液科分会会长、陕西省抗癌协会血液肿瘤委员会主委、陕西省临床免疫学会副主任委员。主持国家自然科学基金 3 项、国家科技重大专项子课题 1 项、省级重点研发计划创新链项目 3 项。2012 年获陕西省第九届青年科技奖。以第一作者及通讯作者发表 SCI 收录论文 30 余篇,获陕西省科技科技成果二等奖 3 项、陕西省高等学校科学技术一等奖 1 项。E-mail:heaili@mail.xjtu.edu.cn

引用本文: 何爱丽,付冰洁.多发性骨髓瘤的 CAR-T 治疗研究进展[J].西部医学,2023,35(10):1405-1411,1417. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2023.10.001

靶点 CAR-T 的开发。本文对现阶段 CAR-T 治疗多发性骨髓瘤的研究进展做一述评,旨在为临床提供一定的参考。

1 CAR-T 治疗原理

CAR-T 细胞疗法是将采集的患者外周血中的 T 细胞分离出来,通过基因转导技术使分离出的 T 细胞得以表达 CAR,再将这些细胞回输到患者体内进行抗肿瘤治疗^[6]。CAR 是合成受体,由肿瘤相关抗原结合域(单链可变片段,ScFv)、细胞外铰链域、跨膜区域和细胞内信号转导域四部分组成^[7]。CAR 共有四代,第一代 CAR 只包含一个细胞内信号域,第二代增加了共刺激结构域 CD28 或 4-1BB 等来增强 CAR-T 的抗肿瘤效应^[8],第三代将共刺激结构域增加为 2 个以促进 CAR-T 的增殖和活化,第四代在第三代的基础上增加细胞因子以增强 CAR-T 对肿瘤的杀伤力。CAR-T 输入患者体内后,可以特异性识别并通过细胞溶解、释放细胞因子和 Fas/FasL 三种途径杀死表达特异性抗原的肿瘤细胞,且不受主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)的限制^[7-9]。

2 MM CAR-T 治疗靶点

理想情况下,CAR-T 的治疗靶点是在 MM 肿瘤细胞上特异性均匀表达但在正常细胞中不存在的表面抗原^[10]。目前,B 细胞成熟抗原(B cell maturation antigen, BCMA)、信号淋巴细胞激活分子家族成员 F7(Signaling lymphocyte activation molecule family member F7,SLAMF7)、G 蛋白偶联受体 C 类第 5 组成员 D (G protein-coupled receptor class C group 5 member D, GPRC5D)、CD38、CD19 等已被用作 MM CAR-T 治疗的靶点(见图 1),其中 BCMA-CAR-T 产品 bb2121 已于 2021 年 3 月被批准上市,2022 年 2 月另一项产品 cilta-cel 也被批准上市,其他几种抗原的研究也在进行中。

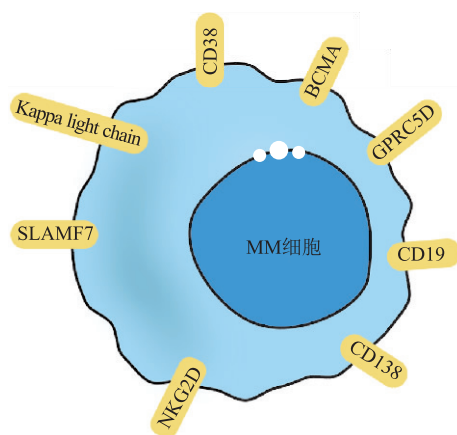


图 1 MM 治疗靶点

Figure 1 Therapeutic targets of MM

2.1 BCMA BCMA 是肿瘤坏死因子受体(Tumor necrosis factor receptor, TNFR)家族的成员,在 B 细胞成熟末期表达上调,尤其是在浆细胞上选择性表达,且在大多数多发性骨髓瘤细胞上高水平表达,但在幼稚 B 细胞、记忆 B 细胞及其他正常组织细胞上基本不表达。BCMA 通过与 B 细胞活化因子(B cell activating factor, BAF)结合,激活 NF-κB 和 MAPK/JNK 通路调节长寿浆细胞的存活,也可以通过结合增殖诱导配体(A proliferation-inducing ligand, APRIL)促进骨髓微环境中 MM 细胞的增殖^[6]。

bb2121 是一种由含有 BCMA CAR 的慢病毒载体转导的 CAR-T 产品, Raje 等^[11] 报告了一项 bb2121 治疗复发/难治性多发性骨髓瘤(Relapsed and refractory multiple myeloma, RRMM)的研究。患者在接受氟达拉滨和环磷酰胺处理后输注 bb2121,输注的剂量为 50×10^6 、 150×10^6 、 450×10^6 、 800×10^6 ,在剂量扩展阶段输注的 bb2121 剂量为 $150 \times 10^6 \sim 450 \times 10^6$ 。36 例复发难治 MM 患者纳入研究,3 例患者因疾病进展退出研究,其余 33 例患者的总体缓解率(Overall response rate, ORR)为 85%,完全缓解(Complete response, CR)率为 9%,严格完全缓解(Stringent complete response, sCR)率为 36%。bb2121 输注后的中位随访时间为 11.3 个月,中位无进展生存期(Median progression-free survival, mPFS)为 11.8 个月(95% CI, 6.2~17.8 个月),且 40% 的患者在 12 个月时无进展。强生公司生产的 cilta-cel 是另一种靶向 BCMA 的 CAR-T 产品,与其他 BCMA-CAR-T 疗法不同的是,它直接针对两个 BCMA 表位(VH1 和 VH2),提高了对表达 BCMA 的细胞的亲和力^[12-13]。Lin 等^[14] 研究结果提示,97 例患者在淋巴清除 5~7 d 后接受 0.75×10^6 /kg cilta-cel 单次输注,ORR 为 97.9%(95% CI: 92.7%~99.7%),其中 94.9% 的患者达到了 VGPR,82.5% 的患者达到了 sCR。在 61 例骨髓微小残留病(Minimal residual disease, MRD)可评估的患者中,92% 的患者 MRD 呈阴性,其中 44% 的患者(27/61)MRD 阴性持续 ≥ 6 个月,其 2 年 PFS 率为 91%;18% 的患者 MRD 阴性持续 ≥ 12 个月,其 2 年 PFS 率为 100%。以上研究可以看出,靶向 BCMA 的 CAR-T 疗法在 MM 治疗中取得了令人满意的临床疗效,RRMM 患者也可在 BCMA CAR-T 治疗中显著获益。研究者仍在不断改进 BCMA CAR-T 疗法。为进一步提高其安全性,2021 年的一项研究^[15] 成功构建了表达全人源化 BCMA 特异性的 ScFv(25C2)的自体 CAR-BCMA-T 细胞(CT053),结果说明 CT053 成功降低了非人类来源

成分的免疫原性,提高了 CAR-T 疗法的安全性。在提高 BCMA CAR-T 疗效方面,Janine 等^[16]使用了一种从 D 域噬菌体中发现的一种新型 BCMA 结合域,与 4-1BB 共刺激结构域和 CD3 ζ T 细胞激活域结合构建出了 ddBCMA CAR-T,相较于传统的 ScFv BCMA 结合域,ddBCMA 可以促进更高水平的细胞表面 CAR 表达,且不会引起任何功能的丧失。Frigault 团队^[17]进行了剂量递增的 CART-ddBCMA 首次 I 期人体试验,截至 2022 年 1 月 25 日,25 例患者(19 DL1;6 DL2)可评估安全性,24 例(18 DL1;6 DL2)可进行疗效分析,ORR 为 100%,67% 的患者达 sCR 或 CR,88% 的患者达到非常好的部分缓解(Very good partial response, VGPR),为其临床有效性提供了数据支持。Pont 等^[18]则发现将 MM 患者肿瘤样本暴露于多亚基 γ -分泌酶抑制剂可以减少 BCMA 从 MM 细胞脱落,增加 BCMA 表面表达,并增强 CAR-T 细胞在体外和体内对 MM 的识别,提高靶向 BCMA 的 CAR-T 细胞疗法的抗肿瘤功效,为临床增加疗效提供可能。在 2019 年美国血液学会年会上,Cowan^[19]报告了一项 γ 分泌酶抑制剂和 BCMA CAR-T 联合应用于 MM 患者的 I 期临床试验提示,患者接受 3 次口服 γ 分泌酶抑制剂治疗后,骨髓瘤细胞表面 BCMA 表达从 75% 增加到 99%,可溶性 BCMA 水平下降了 2 倍。与 BCMA CAR-T 细胞联合治疗,ORR 为 100% (1 VGPR, 1 PR),5 例达到 MRD 阴性。中位随访 5 个月(1~11 个月),没有患者复发。这项研究启示我们,除了专注于 CAR-T 本身,也可以将 CAR-T 疗法与其他治疗手段联合应用也可增强其临床疗效。

2.2 SLAMF7 SLAMF7 又称 CD319、CRACC、CS-1,是信号淋巴细胞激活分子(Signaling lymphocyte activation molecule, SLAM)家族的成员,参与免疫细胞功能的调节。SLAMF7 在正常组织内的表达仅局限于造血系统,包括自然杀伤(Natural killer, NK)细胞、部分 T 细胞和 B 细胞、单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞。在正常 B 细胞的生命周期中,SLAMF7 在前 B 细胞和浆细胞中高表达,且在多发性骨髓瘤及意义未明的单克隆丙种球蛋白病和冒烟型骨髓瘤阶段的恶性浆细胞中都高水平表达^[20]。

O'Neal 等^[21]设计了靶向 SLAMF7 远端可变结构域的 Luc90-CS1-CAR-T 细胞,实验证实 CS1-CAR-T 在体外可以杀死表达 CS1 的 MM 细胞;在构建的 MM 小鼠模型体内,与对照组相比,接受 Luc90-CS1-CAR-T 治疗的小鼠肿瘤负荷显著减轻,生存时间明显延长,中位生存期达到了 50 d。Gogishvili 等^[20]将 SLAMF7-CAR-T 与骨髓瘤细胞系共培养时发现,

SLAMF7-CAR-T 细胞可以分泌更多的 IFN- γ 和 IL-2,显示出强大的细胞毒性;在 MM 异种移植小鼠模型中,通过生物发光技术观察到,相较于未治疗或给予 CD19-CAR-T 治疗的小鼠,接受 SLAMF7 CAR-T 细胞治疗的小鼠的体内代表骨髓瘤负荷的生物发光信号均减少,且在 8 周观察期结束时,该组小鼠全部存活。在这些临床前实验取得可喜成就的基础上,SLAMF7 CAR-T 疗法的临床研究稳步推进。德国研究人员在 CARAMBA 项目中将无病毒睡美人(Sleeping Beauty, SB)基因转移技术应用于制备 SLAMF7 特异性 CAR-T。CARAMBA 细胞的制造总共需要 14 d。从患者体内分离出 $\geq 5 \times 10^9$ 个白细胞后,将其分为两部分,使得这两部分包含大约相同数量的 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞。T 细胞经富集并活化后,通过电穿孔将编码 SB100X 转座酶的 mRNA 和编码 SLAMF7 CAR 的微型环载体转导到这些活化的 T 细胞中,然后将产生的 SLAMF7 CAR-T 细胞在体内进行扩增。CARAMBA 临床试验包括 I 期剂量递增部分和 IIa 期剂量扩大部分,计划将招募 38 例 MM 患者^[22],目前该项目正在稳步推进中,期待 CARAMBA 临床试验结果。

2.3 GPRC5D GPRC5D 是一种跨膜受体蛋白,主要在浆细胞表面表达,且在 MM 细胞中表达水平显著高于正常细胞,也被认为是 MM CAR-T 治疗的一个潜在靶点^[23]。免疫组化显示 GPRC5D 在恶性骨髓瘤细胞上普遍表达,分布类似但独立于 BCMA,且在正常组织表达仅限于毛囊。基于此,研究者设计了一种包含七种靶向 GPRC5D 的人类 ScFvs 的 CAR-T,可以根除异种移植 MM 小鼠模型中的 MM 细胞,并且使小鼠实现了长期存活,在注射 GPRC5D-CAR-T 100 天时保持 100% 的存活率,且没有引起脱发或皮肤损伤症状^[24],这为 GPRC5D 成为 MM 免疫治疗的重要临床靶点提供了重要临床前证据。

浙江大学医学院附属第一医院进行了一项输注自体靶向 GPRC5D CAR-T 细胞(OriCAR-017)的临床 I 期研究。自 2021 年 6 月 9 日—2022 年 1 月 31 日,9 例患者完成输注,8 例患者可用于疗效和安全性评估,其中 4 例接受过 BCMA CAR-T 治疗的患者 3 例可评估疗效。中位随访时间为 109.5 d(32~195 d),ORR 为 100%,其中 3 例 CR/sCR,2 例 VGPR,3 例 PR,并通过 qPCR 检测到 8 例患者外周血中 OriCAR-017 稳健扩增,中位峰值扩增时间为第 10 d(第 7~14 d)^[25]。这项 I 期研究结果说明,OriCAR-017 疗法应用在 RRMM 患者中安全且疗效显著,且接受 BCMA CAR-T 治疗后复发的患者仍可从 OriCAR-

017 的治疗中获益,是一项非常有前景的疗法。

2.4 CD38 CD38 是一种跨膜糖蛋白,在 B 细胞、浆细胞、T 细胞、NK 细胞和骨髓祖细胞上表达,但表达水平远低于 MM 细胞^[26]。Daratumumab 等^[27] 抗 CD38 单克隆抗体已被 FDA 批准用于治疗新诊断的 MM 和 RRMM,在一定程度上推动了 CD38 CAR-T 疗法的发展。Li 等^[26] 通过逆转录病毒载体转导成功构建了两种人类 ScFv 衍生的靶向 CD38 的新型二代 CAR-T 细胞。CD38 CAR-T 细胞在体外经 CD38 阳性肿瘤细胞刺激后可有效活化,并分泌大量 IFN- γ 、TNF- α 、IL-2 等细胞因子促进肿瘤细胞凋亡;在体内可以快速激活分泌 IFN- γ 并消除肿瘤。Drent 等^[28] 使用了三种不同 CD38 抗体的可变重链和轻链序列构建出与 Daratumumab 亲和力相当的包含 4-1BB (CD137) 和 CD3 ζ 激活结构域的 CD38 CAR-T,该 CAR-T 具有高度增殖能力,可产生炎症性 Th1 样细胞因子,并以 CD38 依赖性方式有效杀死恶性细胞,更重要的是,CD38 CAR-T 细胞似乎能够消除对各种化学疗法产生耐药性的患者的原代 CD38 阳性 MM 细胞;同时,该团队通过将诱导型 caspase-9 (iCasp9) 自杀基因导入 CD38-CAR-T 有效控制了治疗时对 CD38 的 T 细胞、B 细胞及 NK 细胞的毒性作用。这些临床前实验说明 CD38 CAR-T 疗法具有非常好的临床潜力,期待 CD38 CAR-T 疗法临床试验的开展。

2.5 CD19 CD19 是一种存在于大多数 B 细胞恶性肿瘤中的表面分子,且其表达相对较高^[29]。近年来,靶向 CD19 的 CAR-T 在治疗 B 细胞急性淋巴细胞白血病、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤等方面展示出良好疗效^[30]。相比之下,CD19 在多发性骨髓瘤中却是一种表达很少的靶向抗原,常规流式细胞术几乎无法检测到多发性骨髓瘤表面 CD19 的表达。Garfall 等^[31] 报告的 1 例 RRMM 患者,在接受清髓性化疗和自体干细胞移植后进行自体抗 CD19 嵌合抗原受体 T 细胞 (CTL019) 治疗获得完全缓解,且在治疗后 12 个月的评估中,没有发现疾病进展的证据,在血清和尿液中没有发现蛋白克隆。CD19 CAR-T 疗法在该病例身上取得的临床效果令人鼓舞,但是否具有普遍意义仍需更多的临床试验来进行验证。另一项研究中, Nerretter 等^[32] 通过超分辨率显微镜对 14 例 MM 患者的骨髓样本进行检测,只在其中 10 例患者样本中检测到 CD19 的表达。且在体外实验中,虽然表达 CD19 的骨髓瘤细胞亚群容易被靶向 CD19 的 CAR-T 细胞清除,但也有小部分 CD19 阴性的肿瘤细胞未被清除。这提示单独靶向 CD19 的 CAR-T 治疗可能无法使 MM 患者获得完全缓解,需要与其他药物联合使用才

能获得满意的临床疗效。

3 MM 双靶点 CAR-T

尽管 MM 患者接受 CAR-T 治疗后最初的反应率很高,但在临床研究中观察到因抗原逃逸而复发的患者比例也很高^[33],其机制可能与 CAR-T 细胞体内扩增与持久性较差、肿瘤相关抗原的丢失或者表达下调^[4,34-35] 以及肿瘤微环境中普遍存在的免疫抑制因子有关^[36]。由于已经批准的治疗方法很少,所以多数复发患者预后很差。一个明显的解决 CAR-T 治疗后抗原丢失问题的方法便是针对多个抗原受体的多靶点 CAR-T 的开发,以减少抗原逃逸的可能,主要集中在双靶点 CAR-T 的开发。目前研究出的双靶点 CAR 有以下几种形式:① CAR pool, 又称联合 CAR-T 疗法,即相继或同时输注 2 种或者多种针对不同靶抗原的 CAR-T 细胞^[37]。② Dual-CAR, 采用双顺反子表达载体制备包含两种独立的 CAR 结构,它们针对肿瘤细胞上的两种不同抗原。③ Tan CAR, 又称串联 CAR, 由拥有两个独立的抗原识别结构域的单受体构成,抗原结合域为单链跨膜糖蛋白,其抗肿瘤功能通过同时结合两种肿瘤抗原发挥作用^[38]。

大量临床研究证实 BCMA-CAR-T 用于 MM 患者治疗具有良好的临床疗效,所以目前所进行的 MM 双靶点 CAR-T 研究多着眼于在靶向 BCMA 的基础上增加对另一种抗原的靶向,进而扩大对 MM 细胞靶点的覆盖范围,希望可以在一定程度上提高 RRMM 患者的缓解率,延长其生存期。

3.1 靶向 BCMA+TACI 跨膜激活剂及钙调节剂和亲环素配体 (Transmembrane activator and calcium modulator and cyclophilin ligand, TACI) 也是一种 TNFR 超家族成员,几乎仅在浆细胞上表达,且在大多数骨髓瘤细胞中高水平表达。增殖诱导配体 APRIL 由骨髓中的骨髓细胞产生并以三聚体形式分泌,是 BCMA 和 TACI 的天然高亲和力配体,可以同时结合 BCMA 和 TACI 两种抗原^[39-40]。

Lee 等^[39] 使用截短形式的 APRIL 作为肿瘤靶向结构域 (ACAR), 可以同时识别 MM 细胞上的 BCMA 和 TACI。ACAR-T 细胞能够杀死表达任一受体的靶标,这有助于在 BCMA 下调或两种抗原同时表达的患者失去 BCMA 表达的情况下继续抑制疾病。另外,在肿瘤逃逸模型中,与以 BCMA 为靶点的 CAR 相比较,ACAR-T 细胞对肿瘤清除更加迅速且完全。Schmidts 等^[40] 设计了第二代具有三聚体 APRIL (TriPRIL) 结构域的 CAR-T, 证明了 MM 细胞在没有 BCMA 表达的情况下保留了 TACI 表达。与单体 APRIL 作为抗原结合域的 CAR-T 相比, TriPRIL-CAR-T

与 BCMA 和 TACI 的结合及体内外针对 MM 的活性均增强。这些研究说明 BCMA 和 TACI 双靶点的 CAR-T 与单独靶向 BCMA 的 CAR-T 相比,对骨髓瘤细胞的清除效果更显著,提示 BCMA 和 TACI 双靶点 CAR-T 可以作为一项新型有效的 MM 治疗方式。

3.2 靶向 BCMA+CD19 苏州大学第一附属医院进行了一项序贯输注 CD19-CAR-T 和 BCMA-CAR-T 的临床试验^[41],10 例 RRMM 患者纳入该研究,7 例接受自体输注,3 例接受异体输注,结果提示,中位随访期为 20 个月,ORR 为 90%(5 例 PR 和 4 例 sCR),达到 sCR 的 4 位患者中 3 例患者无进展生存期超过 2 年。在该医院另外一项纳入 16 例 RRMM 患者的临床试验^[42]中,采取了同样的方法输注 CD19-CAR-T 和 BCMA-CAR-T 细胞后,虽然观察到细胞因子释放综合征(Cytokine release syndrome, CRS),患者的体温及炎症因子水平均升高,但经过适当的治疗及护理后均恢复正常水平。这些临床试验结果初步证明了序贯输注 CD19-CAR-T 和 BCMA-CAR-T 可以使 RRMM 患者获得良好的临床疗效,且输注后的 CRS 可控,具有良好的耐受性和安全性。

徐州医科大学在 2017 年 5 月~2019 年 1 月进行的一项 II 期临床试验^[43]中,21 例 RRMM 患者淋巴细胞清除后,同时输注人源化抗 CD19 CAR-T 细胞和鼠抗 BCMA CAR-T 细胞。在 179 d 的中位随访中,ORR 为 95%,其中 9 例(43%)达 sCR,3 例(14%)达 CR,5 例(24%)达 VGPR,3 例(14%)达 PR。Du 等^[44]开发了一种名为 GC012F 的 Dual-CAR-T,同时靶向 BCMA 和 CD19,纳入研究的 28 例 RRMM 患者被分为三组,淋巴细胞清除 2~3 d 后分别接受剂量为 1×10^5 /kg(DL1, $n=2$)、 2×10^5 /kg(DL2, $n=10$)和 3×10^5 /kg(DL3, $n=16$)的 GC012F 单次输注。中位随访 6.3(1.8~29.9)个月时,DL1 ORR 为 100%(2/2),DL2 ORR 为 80%(8/10),DL3 ORR 为 93.8%(15/16)。GC012F 输注后,共有 25 例患者出现了 CRS,但多为低级别,说明 GC012F 具有良好的安全性。以上研究结果证实 BCMA-CD19 双靶点 CAR-T 是 RRMM 患者一种有希望的治疗选择。

3.3 靶向 BCMA+CD38 有研究构建了一种新型靶向 BCMA 和 CD38 的 BCMA-OR-CD38 Tan-CAR-T,当靶细胞上存在 BCMA 或 CD38 时,Tan-CAR T 细胞可以触发强大的 T 细胞介导的细胞毒性和细胞因子产生;当同时遇到 BCMA 和 CD38 抗原时,这些 Tan CAR-T 比单靶向 CAR-T 细胞具有显著更高的细胞毒性和增殖能力。在体内试验中,BCMA-OR-CD38 Tan CAR-T 细胞对携带骨髓瘤的异种移植

NPG 小鼠模型表现出强大的治疗作用,在给予第二剂 Tan-CAR-T 细胞后 4 d 即可实现肿瘤的完全清除,且没有观察到复发^[35]。另外一项研究^[45]中设计了一种靶向 BCMA 和 CD38 的人源化双特异性 BM38 CAR,相较于表达单个 BCMA 或 CD38 CAR 的 T 细胞,BM38 CAR-T 对异质 MM 细胞的体外细胞毒性更强,且在异种移植小鼠模型中也表现出有效的抗骨髓瘤活性。长江大学第二附属医院进行的一项临床研究^[46]中设计了一种抗 BCMA 和低亲和力抗 CD38 的 CAR-T,与单靶向 BCMA 或 CD38 的 CAR-T 细胞相比,该 BCMA-CD38 CAR-T 细胞在体外对 BCMA 阳性与 CD38 阳性的细胞表现出更强的杀伤作用。在体内抗肿瘤活性的研究中,本次临床试验招募了 16 例 RRMM 患者,输注 BCMA-CD38 CAR-T 细胞后,ORR 为 87.5%,1 年 PFS 率为 68.8%,且在中位随访 11.5 个月时,在 13 例实现 sCR 的患者中,76.9%(10/13)的患者在随访期间没有复发或进展。以上研究结果说明 BCMA-CD38 CAR-T 相较于 BCMA 单靶点 CAR-T 其抗肿瘤活性更强,在 RRMM 治疗中具有较高的临床疗效。

3.4 靶向 BCMA+CS1(SLAMF7) Golubovskaya 等^[47]制造了一种新型双特异性 CS1-BCMA 串联 CAR-T,靶向 BCMA 阳性和 CS1 阳性的 MM 细胞系,可以有效阻断 MM 异种移植小鼠模型肿瘤的生长。Zah 等^[48]设计了一种 BCMA/CS1 OR-gate CAR-T(Dual-CAR-T),该细胞可以有效地靶向表达 BCMA 或 CS1 的肿瘤细胞,同时保持强大的离体扩增,并且减少自相残杀的副作用。与同时表达两种靶向 BCMA 和 CS1 的单独 CAR 的 T 细胞相比,BCMA/CS1 OR-gate CAR-T 细胞具有更好的 CAR 表达和增殖能力,在体内实验中可以更好地控制 MM 肿瘤的生长,明显延长小鼠生存期。他们还证明了 BCMA/CS1 OR-gate CAR-T 与抗 PD-1 抗体联合治疗可以进一步加快体内初始肿瘤的清除率。Li 等^[49]设计了一种鼠源化双特异性 CS1-BCMA 串联 CAR-T,共 13 例患者接受了 CS1-BCMA CAR-T 细胞输注,ORR 为 76.9%(10/13),其中 4 例达到 sCR,2 例 VGPR,4 例 PR。9 个月时 PFS 为 77.1%。在接受 CAR-T 输注后,4 例患者(31%)发生 CRS,但未观察到神经毒性。该研究表明双特异性 CS1-BCMA CAR-T 细胞在经过大量预处理的 MM 患者中具有良好的临床活性和安全性。

3.5 靶向 BCMA+GPCR5D 为探讨两种单靶向 CAR-T 混合,双顺反子 CAR-T 和串联 CAR-T 的活性,Larrea 等^[50]设计了不同形式的 BCMA 和

GPRC5D 双靶向 CAR-T 细胞,他们发现在异种移植骨髓瘤模型小鼠中,BCMA-GPRC5D-CAR-T 在有效清除体内肿瘤的同时可以有效防止由 BCMA 逃逸介导的肿瘤的复发。该研究同时还证明了在靶向 BCMA 阴性疾病时,双顺反子和混合方法的 CAR-T 疗法疗效较高;对于双抗原表达疾病,双顺反子方法比混合方法更有效。

4 小结

CAR-T 细胞治疗是目前 MM 免疫治疗中最具前景的疗法,相较于传统的蛋白酶体抑制剂、单克隆抗体、免疫调节剂等治疗手段,CAR-T 细胞疗法对骨髓瘤细胞表现出显著的靶向性及更强的杀伤能力,使 MM 患者的缓解深度及生存期得到持续改善。但 CAR-T 治疗后因肿瘤细胞免疫逃逸等而导致的复发问题仍是研究者们面临的巨大挑战,目前针对该问题所开发的 MM 多靶点尤其是双靶点 CAR-T 的临床研究已初见成效,增加 MM 细胞的抗原表达是另一解决问题的方向;其次,由于抑制性骨髓微环境、先前治疗引起的 T 细胞功能受损等因素,CAR-T 细胞输注后常出现 CAR-T 耗竭与功能紊乱等,所以如何提高 CAR-T 细胞治疗疗效的持久性兹待解决;另外,相较于单靶点,双靶点 CAR-T 制备的难度和成本大大增加,为解决此问题,需要积极开发无病毒转染技术等以降低生产成本,提高其临床可行性;最后,CAR-T 治疗的不良反应如 CRS、神经系统事件等提示 CAR-T 治疗相关技术需要进一步优化与完善,而且双靶点 CAR-T 是否会增加这些不良反应发生的风险也待进一步考究。综上,CAR-T 疗法治疗 MM 有广阔的研究空间,相信随着未来更多研究和临床试验的进行,CAR-T 细胞治疗的安全性和有效性会进一步提升,为 MM 患者带来更多的希望。

【参考文献】

- [1] VAN DE DONK N W C J, PAWLYN C, KL Y. Multiple myeloma[J]. *Lancet*, 2021, 397(10272):410-427.
- [2] CHIM C S, KUMAR S K, ORLOWSKI R Z, *et al.* Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies, immunotherapies and beyond[J]. *Leukemia*, 2018,32(2):252-262.
- [3] SENGSAYADETH S, SAVANI BN, OLUWOLE O, *et al.* Overview of approved CAR-T therapies, ongoing clinical trials, and its impact on clinical practice[J]. *eJHaem*, 2022, 3(S1):6-10.
- [4] STERNER R C, STERNER R M. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies[J]. *Blood Cancer Journal*, 2021, 11(4):69.
- [5] SCHUBERT M L, SCHMITT M, WANG L, *et al.* Side-effect management of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy [J]. *Annals of Oncology*, 2021, 32(1):34-48.
- [6] DEMING FENG J S. Overview of anti-BCMA CAR-T immunotherapy for multiple myeloma and relapsed/refractory multiple myeloma[J]. *Scand J Immunol*, 2020, 2(92):e12910.
- [7] WANG L, YAO R, ZHANG L, *et al.* Chimeric antigen receptor T cell therapy and other therapeutics for malignancies: Combination and opportunity[J]. *International Immunopharmacology*, 2019, 70:498-503.
- [8] DRENT E, POELS R, RUITER R, *et al.* Combined CD28 and 4-1BB Costimulation Potentiates Affinity-tuned Chimeric Antigen Receptor - engineered T Cells[J]. *Clinical Cancer Research*, 2019, 25(13):4014-4025.
- [9] PADDA J, KHALID K, ZUBAIR U, *et al.* Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy and Its Significance in Multiple Myeloma[J]. *Cureus*, 2021, 13(6):e15917.
- [10] GAGELMANN N, RIECKEN K, WOLSCHKE C, *et al.* Development of CAR-T cell therapies for multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2020, 34(9):2317-2332.
- [11] NOOPUR RAJE M D J B. Anti-BCMA CAR T-Cell Therapy bb2121 in Relapsed or Refractory Multiple Myeloma[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2019(380):1726-1737.
- [12] ZHAO W, LIU J, WANG B, *et al.* A phase 1, open-label study of LCAR-B38M, a chimeric antigen receptor T cell therapy directed against B cell maturation antigen, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2018, 11(1):141.
- [13] ZHAO W, WANG B, CHEN L, *et al.* Four-year follow-up of LCAR-B38M in relapsed or refractory multiple myeloma: a phase 1, single-arm, open-label, multicenter study in China (LEGEND-2)[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2022, 15(1):86.
- [14] LIN Y, MARTIN T, BERDEJA J G, *et al.* Ciltacabtagene autoleucel, a BCMA-directed CAR-T cell therapy, in patients with relapsed/refractory multiple myeloma: 2-year post LPI results from the phase 1b/2 CARTITUDE-1 study[J]. *HemaSphere*, 2022, 6(Suppl):851-852.
- [15] YANG M, ZHANG W, 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 (Roma)*, 2022(107):1960-1965.
- [16] BUONATO J M, EDWARDS J P, ZARITSKAYA L, *et al.* Preclinical Efficacy of BCMA-Directed CAR T Cells Incorporating a Novel D Domain Antigen Recognition Domain[J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2022, 21(7):1171-1183.
- [17] FRIGAULT M J, BISHOP M R, ROSENBLATT J, *et al.* Phase 1 study of CART-ddBCMA in relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *The American journal of pathology*, 2022, 192(9):488s.
- [18] PONT M J, HILL T, COLE G O, *et al.* γ -Secretase inhibition increases efficacy of BCMA-specific chimeric antigen receptor T cells in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2019, 134(19):1585-1597.

- [19] ANDREW J, COWAN M D, MARGOT PONT PHD. Efficacy and Safety of Fully Human Bcma CAR T Cells in Combination with a Gamma Secretase Inhibitor to Increase Bcma Surface Expression in Patients with Relapsed or Refractory Multiple Myeloma[J]. *Blood*, 2019,134:204.
- [20] GOGISHVILI T, DANHOF S, PROMMERSBERGER S. SLAMF7-CAR T cells eliminate myeloma and confer selective fratricide of SLAMF7+ normal lymphocytes[J]. *Blood*, 2017, 30(26):2838-2847.
- [21] O'NEAL J, RITCHEY J K, COOPER M L, *et al.* CS1 CAR-T targeting the distal domain of CS1 (SLAMF7) shows efficacy in high tumor burden myeloma model despite fratricide of CD8+ CS1 expressing CAR-T cells[J]. *Leukemia*, 2022, 36(6):1625-1634.
- [22] PROMMERSBERGER S, REISER M, BECKMANN J, *et al.* CARAMBA: a first-in-human clinical trial with SLAMF7 CAR-T cells prepared by virus-free Sleeping Beauty gene transfer to treat multiple myeloma[J]. *Gene Therapy*, 2021, 28(9):560-571.
- [23] PILLARISSETTI K, EDAVETTAL S, MENDONÇA M, AT AL. A T-cell - redirecting bispecific G-protein - coupled receptor class 5 member D x CD3 antibody to treat multiple myeloma[J]. *Blood*, 2020, 135(15):1232-1243.
- [24] SMITH E L, HARRINGTON K, STAEHR M, *et al.* GPRC5D is a target for the immunotherapy of multiple myeloma with rationally designed CAR T cells[J]. *Science Translational Medicine*, 2019, 11(485):EAAU7746.
- [25] HUANG H, HU Y, ZHANG M, *et al.* Phase I open-label single arm study of GPRC5D CAR T-cells (OriCAR-017) in patients with relapsed/refractory multiple myeloma (POLARIS) [J]. *Journal of clinical oncology*, 2022, 40(16_suppl):8004.
- [26] LI X, FENG Y, SHANG F, *et al.* Characterization of the Therapeutic Effects of Novel Chimeric Antigen Receptor T Cells Targeting CD38 on Multiple Myeloma[J]. *Frontiers in Oncology*, 2021, 11:703087.
- [27] MINNIE S A, HILL G R. Immunotherapy of multiple myeloma [J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2020, 130(4):1565-1575.
- [28] DRENT E, GROEN R W, NOORT W A, *et al.* Pre-clinical evaluation of CD38 chimeric antigen receptor engineered T cells for the treatment of multiple myeloma [J]. *Haematologica*, 2016, 5(101):616-625.
- [29] GLOBERSON LEVIN A, RIVIÈRE I, ESHHAR Z, *et al.* CAR T cells: Building on the CD19 paradigm [J]. *European Journal of Immunology*, 2021, 51(9):2151-2163.
- [30] FRIGAULT M J, MAUS M V. State of the art in CAR T cell therapy for CD19+ B cell malignancies[J]. *Journal of Clinical Investigation*, 2020, 130(4):1586-1594.
- [31] GARFALL A L, MAUS M V, HWANG W, *et al.* Chimeric Antigen Receptor T Cells against CD19 for Multiple Myeloma [J]. *New England Journal of Medicine*, 2015, 373(11):1040-1047.
- [32] NERRETER T, LETSCHERT S, GÖTZ R, *et al.* Super-resolution microscopy reveals ultra-low CD19 expression on myeloma cells that triggers elimination by CD19 CAR-T[J]. *Nature Communications*, 2019, 10(1):3137.
- [33] RAFIQ S, HACKETT C S, BRENTJENS R J. Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR T cell therapy[J]. *Nature reviews. Clinical oncology*, 2020, 17(3):147-167.
- [34] FISCHER J W, BHATTARAI N. CAR-T Cell Therapy: Mechanism, Management, and Mitigation of Inflammatory Toxicities[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12:693016.
- [35] FENG Y, LIU X, LI X, *et al.* Novel BCMA-OR-CD38 tandem dual chimeric antigen receptor T cells robustly control multiple myeloma[J]. *OncoImmunology*, 2021, 10(1):1959102.
- [36] 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]. *European Journal of Haematology*, 2020, 104(4):318-327.
- [37] SHAH N N, MAATMAN T, HARI P, *et al.* Multi Targeted CAR-T Cell Therapies for B-Cell Malignancies[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9:146.
- [38] TAHMASEBI S, ELAHI R, KHOSH E, *et al.* Programmable and multi-targeted CARs: a new breakthrough in cancer CAR-T cell therapy[J]. *Clinical and Translational Oncology*, 2021, 23(6):1003-1019.
- [39] LEE L, DRAPER B, CHAPLIN N, *et al.* An APRIL-based chimeric antigen receptor for dual targeting of BCMA and TACI in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2018, 131(7):746-758.
- [40] SCHMIDTS A, ORMHØJ M, CHOI B D, *et al.* Rational design of a trimeric APRIL-based CAR-binding domain enables efficient targeting of multiple myeloma [J]. *Blood Advances*, 2019, 3(21):3248-3260.
- [41] YAN L, QU S, SHANG J, *et al.* Sequential CD19 and BCMA-specific CAR T-cell treatment elicits sustained remission of relapsed and/or refractory myeloma[J]. *Cancer medicine (Malden, MA)*, 2021, 10(2):563-574.
- [42] TANG F, LU Y, GE Y, *et al.* Infusion of chimeric antigen receptor T cells against dual targets of CD19 and B-cell maturation antigen for the treatment of refractory multiple myeloma[J]. *Journal of International Medical Research*, 2020, 48(1):1-7.
- [43] YAN Z, CAO J, CHENG H, *et al.* A combination of humanised anti-CD19 and anti-BCMA CAR T cells in patients with relapsed or refractory multiple myeloma: a single-arm, phase 2 trial[J]. *The Lancet Haematology*, 2019, 6(10):521-529.
- [44] DU J, JIANG H, DONG B, *et al.* Updated results of a multi-center first-in-human study of BCMA/CD19 dual-targeting fast CAR-T GC012F for patients with relapsed/refractory multiple myeloma (RRMM) [J]. *The American journal of pathology*, 2022, 192(9):489.
- [45] 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]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2021, 14(1):161.

- [18] THAVARAJ S, STOKES A, GUERRA E, *et al.* Evaluation of human papillomavirus testing for squamous cell carcinoma of the tonsil in clinical practice[J]. *J Clin Pathol*, 2011,64(4):308-312.
- [19] PRIGGE E S, ARBYN M, VON KNEBEL DOEBERITZ M, *et al.* Diagnostic accuracy of p16(INK4a) immunohistochemistry in oropharyngeal squamous cell carcinomas: A systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Cancer*, 2017,140(5):1186-1198.
- [20] JORDAN R C, LINGEN M W, PEREZ-ORDONEZ B, *et al.* Validation of methods for oropharyngeal cancer HPV status determination in US cooperative group trials [J]. *Am J Surg Pathol*, 2012,36(7):945-954.
- [21] COPELLI C, BIANCHI B, FERRARI S, *et al.* Malignant tumors of intraoral minor salivary glands[J]. *Oral Oncol*, 2008,44(7):658-663.
- [22] NAGLIATI M, BOLNER A, VANONI V, *et al.* Surgery and radiotherapy in the treatment of malignant parotid tumors: a retrospective multicenter study[J]. *Tumori*, 2009,95(4):442-448.
- [23] MARABELLE A, FAKIH M, LOPEZ J, *et al.* Association of tumour mutational burden with outcomes in patients with advanced solid tumours treated with pembrolizumab; prospective biomarker analysis of the multicohort, open-label, phase 2 KEYNOTE-158 study[J]. *Lancet Oncol*, 2020,21(10):1353-1365.
- [24] LIN V T G, NABELL L M, SPENCER S A, *et al.* First-Line Treatment of Widely Metastatic BRAF-Mutated Salivary Duct Carcinoma With Combined BRAF and MEK Inhibition[J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2018,16(10):1166-1170.
- [25] SUBBIAH V, WOLF J, KONDA B, *et al.* Tumour-agnostic efficacy and safety of selpercetinib in patients with RET fusion-positive solid tumours other than lung or thyroid tumours (LIBRETTO-001): a phase 1/2, open-label, basket trial[J]. *Lancet Oncol*, 2022,23(10):1261-1273.
- [26] CHUNG C H, LI J, STEUER C E, *et al.* Phase II Multi-institutional Clinical Trial Result of Concurrent Cetuximab and Nivolumab in Recurrent and/or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2022,28(11):2329-2338.
- [27] MARABELLE A, LE D T, ASCIERTO P A, *et al.* Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study[J]. *J Clin Oncol*, 2020,38(1):1-10.
- [28] EPSTEIN J B, THARIAT J, BENSADOUN R J, *et al.* Oral complications of cancer and cancer therapy: from cancer treatment to survivorship[J]. *CA Cancer J Clin*, 2012,62(6):400-422.
- [29] SROUSSI H Y, EPSTEIN J B, BENSADOUN R J, *et al.* Common oral complications of head and neck cancer radiation therapy: mucositis, infections, saliva change, fibrosis, sensory dysfunctions, dental caries, periodontal disease, and osteoradionecrosis[J]. *Cancer Med*, 2017,6(12):2918-2931.
- [30] LEFEBVRE T, TACK L, LYCKE M, *et al.* Effectiveness of Adjunctive Analgesics in Head and Neck Cancer Patients Receiving Curative (Chemo-) Radiotherapy: A Systematic Review[J]. *Pain Med*, 2021,22(1):152-164.
- [31] SMITH D K, CMELAK A, NIERMANN K, *et al.* Preventive use of gabapentin to decrease pain and systemic symptoms in patients with head and neck cancer undergoing chemoradiation[J]. *Head Neck*, 2020,42(12):3497-3505.
- [32] SIO T T, LE-RADEMACHER J G, LEENSTRA J L, *et al.* Effect of Doxepin Mouthwash or Diphenhydramine-Lidocaine-Antacid Mouthwash vs Placebo on Radiotherapy-Related Oral Mucositis Pain: The Alliance A221304 Randomized Clinical Trial[J]. *Jama*, 2019,321(15):1481-1490.
- [33] BAR AD V, WEINSTEIN G, DUTTA P R, *et al.* Gabapentin for the treatment of pain syndrome related to radiation-induced mucositis in patients with head and neck cancer treated with concurrent chemoradiotherapy[J]. *Cancer*, 2010,116(17):4206-4213.
- [34] YOU R, LIU Y P, HUANG P Y, *et al.* Efficacy and Safety of Locoregional Radiotherapy With Chemotherapy vs Chemotherapy Alone in De Novo Metastatic Nasopharyngeal Carcinoma: A Multicenter Phase 3 Randomized Clinical Trial[J]. *JAMA Oncol*, 2020,6(9):1345-1352.

(收稿日期:2023-05-16;修回日期:2023-08-20;编辑:王小菊)

(上接第 1411 页)

- [46] TANG Y, YIN H, ZHAO X, *et al.* High efficacy and safety of CD38 and BCMA bispecific CAR-T in relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2022,41(1):2.
- [47] GOLUBOVSKAYA V, ZHOU H, LI F, *et al.* Novel CS1 CAR-T Cells and Bispecific CS1-BCMA CAR-T Cells Effectively Target Multiple Myeloma[J]. *Biomedicines*, 2021,9(10):1422.
- [48] ZAH E, NAM E, BHUVAN V, *et al.* Systematically optimized BCMA/CS1 bispecific CAR-T cells robustly control heterogeneous multiple myeloma [J]. *Nature Communications*, 2020,11(1):2283.
- [49] LI C, WANG X, WU Z, *et al.* Bispecific CS1-BCMA CAR-T cells are clinically active in relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *HemaSphere*, 2022,6(S3):1667-1668.
- [50] FERNÁNDEZ DE LARREA C, STAEHR M, LOPEZ A V, *et al.* Defining an Optimal Dual-Targeted CAR T-cell Therapy Approach Simultaneously Targeting BCMA and GPRC5D to Prevent BCMA Escape-Driven Relapse in Multiple Myeloma[J]. *Blood Cancer Discovery*, 2020,1(2):146-154.

(收稿日期:2023-07-24;修回日期:2023-08-09;编辑:王小菊)