

急性髓系白血病免疫治疗方式及研究进展

李姗姗 潘慧 李茗达 崔昌浩*

(大连理工大学盘锦校区生命与医药学院, 盘锦 124221)

摘要 急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种侵袭性血液学恶性肿瘤,是由血液和骨髓中未成熟的白血病细胞积累引起的。目前的标准治疗方案是以大剂量的常规化疗进行诱导缓解,待取得完全缓解(complete remission, CR)后再进行后续治疗,以达到强化和维持治疗的作用,但此种治疗方法的预后及生存率仍不理想。对于不适合强化治疗方案的患者以及复发或难治性疾病患者,迫切需要用于替代的免疫治疗策略。在过去几年里,免疫疗法的进步使癌症治疗发生了革命性的变化。新的免疫治疗方法正在进入肿瘤学的主流,为AML的预后及生存率提供新的武器,并在AML的治疗中越来越显示出其相较于传统治疗的优势。该文将对造血干细胞移植(hematopoietic stem cell, HSC)、嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)、单克隆抗体药物、自然杀伤细胞(nature kill cell, NK)、树突细胞(dendritic cells, DC)疫苗这5种目前主要的免疫治疗方案的研究进展及相关分子机制进行综述。

关键词 急性髓系白血病; 免疫治疗; 靶向治疗

Advances in New Approaches for the Immunotherapy of Acute Myeloid Leukemia

LI Shanshan, PAN Hui, LI Mingda, CUI Changhao*

(School of Life Science and Medicine, Dalian University of Technology Panjin Campus, Panjin 124221, China)

Abstract AML (acute myeloid leukemia) is an invasive hematological malignancy caused by the accumulation of immature leukemia cells in the blood and bone marrow. It's core treatment, induction of remission with high-dose conventional chemotherapy, followed by CR (complete remission) to achieve intensive and maintenance therapy, but the survival rate and the prognosis of the disease is still not ideal. For patients who are not suitable for intensive treatment and patients with relapsed or refractory diseases, there is an urgent need for alternative immunotherapy strategies. The progress in immunotherapy have revolutionized the cancer treatment in the past few years. New immunotherapeutics are entering the mainstream of oncology, providing new weapons for the prognosis and survival of AML, and increasingly showing its advantages for traditional treatment in the treatment of AML. Currently, there are five main immunotherapy regimens: HSC (hematopoietic stem cell), CAR-T (chimeric antigen receptor T-cell), monoclonal antibody drugs, NK (natural killer cell), DC (dendritic cell) vaccine. This paper will review the current research progress of AML immunotherapy and related molecular mechanism.

Keywords acute myeloid leukemia; immunotherapy; targeted therapy

收稿日期: 2019-03-07 接受日期: 2019-07-05

辽宁省自然科学基金(批准号: 20170540184)和中央高校基本科研业务费(批准号: DUT18LK30、DUT17ZD214)资助的课题

*通讯作者。Tel: 18624391152, E-mail: changhaocui@dlut.edu.cn

Received: March 7, 2019 Accepted: July 5, 2019

This work was supported by the National Natural Science Foundation of Liaoning Province (Grant No.20170540184) and Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (Grant No.DUT18LK30, DUT17ZD214)

*Corresponding author. Tel: +86-18624391152, E-mail: changhaocui@dlut.edu.cn

网络出版时间: 2020-01-07 13:34:23 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20200107.1334.014.html>

造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)主要存在于骨髓中,位于骨髓中的基质细胞产生信号调节其自我更新、增殖和转运^[1]。急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种以分化阻断和克隆HSC或祖细胞增殖为特征的恶性疾病,如不进行治疗,可迅速导致患者骨髓衰竭并最终死亡^[2-3]。2000年,温伯格和哈纳汉^[3]描述了肿瘤的特征为无限复制,且通过促进血管生成获取营养、侵袭和转移,并在2011年进一步提出了肿瘤免疫逃逸理论,他们认为这是肿瘤生长的核心机制之一^[4]。AML的肿瘤免疫特性则最为突出^[4]。AML的常规治疗是以最大程度耐受性的诱导和缓解后治疗为基础。30多年前,“3+7”方案(柔红霉素3天联合阿糖胞苷7天)可使约60%的AML患者得到缓解,也因此成为治疗儿童和成人急性白血病的标准诱导治疗方案。上世纪90年代,临床专家开始关注缓解后治疗方案,并进行了大量的研究,其中包括高剂量阿糖胞苷化疗或造血干细胞移植(hematopoietic stem cell transplantation, HSCT)^[5-7]。但是治疗方案依然是基于蒽环类药物、核苷类似物及密集的诱导后治疗^[8]。为了提高AML患者的预后,临床上也采用包括米托蒽醌与去甲氧柔红霉素的替代治疗^[9]、阿糖胞苷强化^[10]治疗等方案。然而大多数临床研究显示,各治疗组的结局并不存在显著差异^[11]。

近年来,随着肿瘤免疫学的深入研究,免疫检查点抑制剂、嵌合抗原T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)、树突细胞(dendritic cell, DC)相关的肿瘤疫苗等新的免疫治疗策略不断涌现,使肿瘤的免疫治疗获得了快速发展^[12]。免疫疗法在AML的治疗中越来越显示出其相对于传统治疗的优势,成为AML治疗较为理想的方法。本篇综述将就现阶段免疫治疗的研究进展进行探讨。

1 HSC治疗AML的应用

HSC(hematopoietic stem cell)是血液系统中的成体干细胞,是一个异质性的群体,具有长期自我更新和分化成各类成熟血细胞的潜能。它是研究历史最长且研究最为深入的一类成体干细胞,对研究各类干细胞,包括肿瘤干细胞,具有重要指导意义。HSCT是通过大剂量放疗预处理,清除受者体内的肿瘤或异常细胞,再将自体或异体HSC移植给受

者,使受者重建正常造血及免疫系统,广泛地应用于AML的治疗。

大多数癌症随着时间的推移而发展,患者最初对治疗有反应,在复发时产生耐药性。癌症干细胞(cancer stem cell, CSC)被认为是癌症顽固性复发的蓄水池,但这种模型缺乏正式的证明^[13-14]。异体HSCT作为一种缓解后治疗方案能够降低这种复发风险^[15]。同种异体HSCT被认为是一种预防费城染色体阴性的急性淋巴细胞白血病患者复发的有效治疗方法,联合清髓剂量的化疗/放疗具有潜在的供者来源T细胞介导的移植物抗白血病反应(graft-versus-leukemia, GVL)^[16]。不幸的是,它也与非复发性死亡率显著相关,在来自匹配的兄弟供体的异体HSCT术后达到15%,来自不相关供体的异体HSCT术后达到22%^[17]。因此尽管HSCT能够治愈AML,但是寻找到合适的人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)全相合的相关和无关供者需大量时间和费用,特别是对于那些急需移植的高危患者^[18]。半相合HSCT对这些患者来说是一种有效的策略,具有如下优势:易于获得供者、优选的移植组成可受控、及时申请造血干细胞捐赠。但是,移植失败和急性移植物抗宿主疾病(graft-versus-host disease, GVHD)使得半相合移植广泛开展受限。近年来,支持治疗的改进和更全面的HLA和NK分型有助于降低HSCT治疗的副作用^[19]。因此,对于没有相合同胞供者又需要在限定时间内进行移植的高危AML患者而言,亲缘单倍体移植是可行合理的选择。

白血病患者最重要的是免疫的重建,因为患者自身的免疫系统无法对肿瘤产生足够的免疫反应。进行HSCT可以使患者的免疫系统重建,杀死体内残留的肿瘤细胞。但是这种来自捐赠者的细胞会攻击患者的健康组织,这种不良反应即所谓的“移植物抗宿主反应”(graft versus host reaction, GVHR)。GVHR可以通过药物抑制免疫系统得到一定程度的缓解,但是这也将降低抗癌效果。近期有研究提出,粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)与GVHR的产生密切相关。细胞因子GM-CSF的产生是产生GVHR这种不良反应的“决定性因素”^[20]。研究人员发现,在产生GVHR这种不良反应时,被移植至患者体内的干细胞产生了大量GM-CSF。如通过技术手

段去除干细胞产生GM-CSF的能力或患者在移植前服用抑制GM-CSF作用的药物可能阻止GVHR。这一设想的动物实验取得了乐观的成果, 如果进行临床试验并确定是否GM-CSF这一细胞因子阻断可以使接受HSCT的患者不产生GVHR这一不良反应, 将为白血病患者带来福音^[20]。Yukimi等^[21]认为, 受体的胸腺阴性选择受损导致了慢性GVHD的致病T细胞的出现。其研究结果首次表明, T细胞从胸腺的阴性选择中逃逸可能导致慢性GVHD。这也提示, 供体T细胞的自身反应性在慢性GVHD中起作用, 改善胸腺功能可能具有降低慢性GVHD的潜力。一项应用CRISPR/Cas9基因编辑技术敲除CD7和T细胞受体 α 链的CAR-T疗法用于治疗急性淋巴白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)取得了良好的效果, 并且没有诱发GVHD^[22]。同样地, 应用CRISPR/Cas9技术敲除了HSC CD33基因联合CAR-T细胞免疫治疗在恒河猴体内进行移植实验, 结果表明, 敲除CD33基因没有影响HSC的功能, 也证明CD33敲除的HSC与靶向CD33的CAR-T结合可以产生一个功能造血系统, 这个功能造血系统可以特异性靶向AML^[23]。这些研究结果揭示了基因编辑技术在这种过继细胞疗法中应用的可能性。

HSCT治疗AML是目前具有优势的方法, 找到其引起不良反应的决定性因素是促进这一方法发展的关键。

2 单克隆抗体治疗AML的应用

细胞毒素类抗肿瘤药物在肿瘤的治疗中具有举足轻重的地位, 其主要通过抑制细胞DNA、RNA以及蛋白质合成或细胞有丝分裂来发挥作用, 可对多种癌症进行治疗。然而, 细胞毒性抗肿瘤药物在杀伤肿瘤细胞的同时也会产生细胞毒性, 即杀伤正常的细胞而对机体产生毒性。单克隆抗体可以与体内的特异抗原结合, 靶向肿瘤细胞表面的特异性抗原, 起到定位作用, 但其对靶细胞杀伤力很弱。因此, 抗体偶联药物(antibody-drug, ADC)技术应运而生。ADC可以将药物“精准”地运送到靶细胞, 既能有效提高肿瘤局部的药物浓度, 又能降低其在体内其他非靶组织、器官的药物浓度, 起到增效减毒的作用。

AML的治疗关键就是筛选合适的靶抗原。以抗原特异性为关键的单克隆抗体治疗技术的关键就依靠靶抗原的选择。AML的抗原筛选应符合以下几种规则。(1)抗原在AML细胞上特异性表达, 以减少ADC药物对正常细胞、组织的毒性。(2)在包括白血病干细胞(leukemia stem cells, LSCs)等所有的白血病细胞具有表达的普遍性, 以确保药物的作用。(3)抗原确定有致癌作用, 即此类抗原对癌细胞的增殖、分化、转移方面起关键作用。(4)具有免疫原性, 即能够激起宿主的免疫反应的特性。(5)具有临床应用性, 即具有临床研究价值, 有可能或能够应用于治疗。表1为AML干细胞的表型归纳。表2为AML的

表1 急性髓系白血病干细胞的表型
Table 1 Phenotype of acute myeloid leukemia stem cell

分级 Grading	表型 Phenotype
AML long-term stem cells	Lin ⁻ , CD34 ⁺ , CD38 ⁻ , CD90 ⁺
AML short-term stem cells	Lin ⁻ , CD34 ⁺ , CD38 ⁻ , CD90 ⁻
AML pluripotent stem cells	Lin ⁻ , CD34 ⁺ , CD38 ⁻ , CD90 ⁻ , CD45RA ⁻
AML myeloid progenitor cells	Lin ⁻ , CD34 ⁺ , CD38 ⁺ , CD123 ⁺ , CD45RA ⁻
AML granulocyte/macrophage progenitor cells	Lin ⁻ , CD34 ⁺ , CD38 ⁺ , CD123 ⁺ , CD45RA ⁻
AML megakaryocyte/erythroid progenitor cells	Lin ⁻ , CD34 ⁺ , CD38 ⁺ , CD123 ⁻ , CD45RA ⁻

表2 急性髓系白血病的细胞免疫表型
Table 2 Cellular immunophenotype of acute myeloid leukemia

抗体类型 Antibody type	表型 Phenotype
Common Myeloid cell antibody	MPO, CD33, CD13, CD11b, CD15, CD14
Other myeloid-related antibody	CD34, HLA-DR
Anti-blood albumin/anti-platelet protein	II b/III a I b (CD41a, CD41b, CD61, CD42a, CD42b)
Antibody for therapeutic research	CD33, CLL-1, CD44, CD47, CD123, PD-1, CTL-4, CXCR-4

免疫表型。

CD33已被证明在AML的细胞上高表达,因此常被作为AML治疗的靶点^[23]。CD33单抗吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab ozogamicin, GO)是一种人源化抗CD33单克隆抗体与卡其霉素结合用于AML的治疗。2000年5月,GO得到了美国食品和药品管理局(Food and Drug Administration, FDA)的加速批准,作为经历复发的CD33阳性AML老年患者的独立治疗方法。之后临床试验证明有严重的毒性,包括早期死亡而下市^[24]。2017年9月1日,Mylotarg(GO)再次被批准上市,用于治疗新诊断为AML的成人,其肿瘤表达CD33抗原。同时, FDA还批准了Mylotarg治疗复发或难治性的呈CD33阳性的2岁及以上的AML患者。由此,单抗药物治疗AML掀起了热潮。

新型双特异性双抗(BiTE)是一种以T细胞作为效应细胞的双特异性单链抗体,它可以同时和T细胞及表达特异性抗原的靶细胞结合,激活细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL)对靶细胞的杀伤作用。首个针对CD33的BiTE是AMG330(CD33/CD3),临床前研究显示其具有招募和扩增自体T细胞导致AML细胞溶解的能力^[24-26]。与此同时靶向CD123抗体和靶向PD-L1/PD-L2与PD-1、CTLA-4、CXCR4等免疫检查点的单抗药物正在进行临床试验,有望在AML治疗上取得进展^[18]。免疫检查点抑制剂的开发是癌症治疗领域的一个重大突破。由于在黑色素瘤和许多实体恶性肿瘤中的成功应用,这些药物在血液恶性肿瘤包括AML和骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)中的应用研究成为热点。免疫检查点通过调节平衡T细胞介导的免疫应答^[27]的刺激和抑制信号,在调节免疫稳态中发挥重要作用。在正常生理条件下,免疫检查点通过抑制免疫系统对致病性感染的反应来调节自身耐受,保护组织免受损伤。PD-1/PD-L1通路在AML等血液恶性肿瘤中发挥免疫逃避和CTL衰竭的作用,并可能与这些疾病的进展有关^[28]。PD-1抑制剂Pidilizumab在血液恶性肿瘤患者(包括9例AML)的I期试验中表现出良好的耐受性。表达在T细胞上的CTLA-4与CD28竞争性地与APC(antigen presenting cell)上表达的2种配体CD80和CD86结合,使TCR(T cell receptor)的活化下调。研究表明, B7-H1(PD-L1)或B7.1(CD80)过表达可能有助于白血病细胞获得免疫逃逸,促进AML小鼠模型的疾病长期持续^[29]。CTLA-4抑制剂

Ipilimumab在自体干细胞移植后复发AML患者I/Ib的研究中取得了令人鼓舞的结果,其中12个患者中的5个(42%) AML复发患者达到完全缓解,包括4个患者缓解持续超过1年^[30]。脊髓灰质炎病毒受体(poliovirus, PVR)和脊髓灰质炎病毒受体相关2(PVRL2)已被确定为新的免疫检查点。研究表明, PVR和PVRL2这2种免疫检查点与AML的不良预后有关。关闭这2种检查点能够显著增强BITE AMG330的细胞毒性^[31]。因此,用阻断抗体靶向PVR和PVRL2可能是AML未来一个有希望的治疗方案。免疫检查点在癌症的治疗中有广阔的前景。

单克隆抗体治疗AML较传统药物具有靶向性强,增效减毒的效果,但是肿瘤特异性抗原的筛选依然是这种技术发展最大的障碍。AML细胞表面特异性抗原的发现将为AML的治疗提供动力。

3 NK治疗AML的应用

NK细胞是先天免疫系统的细胞毒性效应细胞,能够在没有先前抗原暴露的情况下识别和根除肿瘤细胞。NK细胞的肿瘤浸润与癌症患者的存活延长相关,并且NK细胞高的细胞毒性可能降低癌症发生风险^[32]。由于NK细胞在特异性杀伤癌细胞方面具有高度活性,人们已致力于利用体外扩增供体NK细胞进行癌症治疗。NK细胞已被用于靶向多种恶性肿瘤,其中就包括了血液恶性肿瘤AML,显示了这种方法的特殊潜力,事实上,同源NK细胞已经成功治疗了一些AML患者^[33]。NK细胞在其表面表达多种激活(NKG2D)和抑制受体(如杀伤性抑制受体),导致癌细胞特异性杀伤。这些受体与靶细胞上的特定配体相互作用,这些激活和抑制信号的平衡决定了是否发生细胞杀伤。癌细胞通常上调NK细胞激活受体MICA/B的配体,下调抑制受体(如HLA-1类)的配体,这种HLA下调可避免T细胞识别,使许多癌细胞对NK细胞杀伤异常敏感。AML患者的NK细胞在细胞毒性活性方面表现出明显缺陷,数量明显减少^[33]。因此体外扩增NK细胞以及提高NK细胞的活性将成为日后应用NK细胞治疗AML的最佳方案。图1概括了NK细胞的肿瘤杀伤机制。

NK细胞可以诱导针对恶性细胞的抗原非依赖性免疫应答,越来越多的科学报告和临床研究表明,基于NK细胞的免疫疗法具有很好的抗肿瘤作用。以NK细胞为基础的癌症治疗主要通过细胞因子、

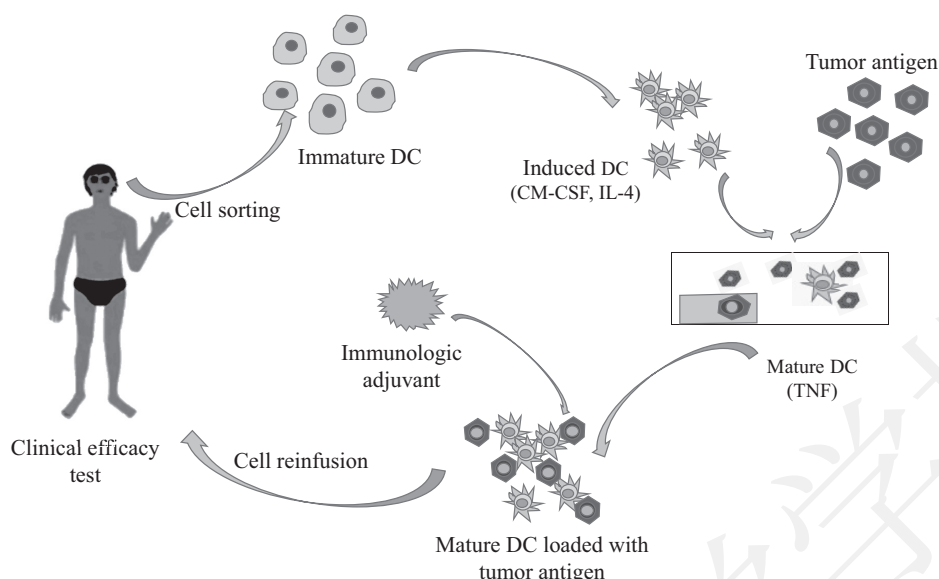


图1 NK细胞的肿瘤杀伤作用机制

Fig.1 Tumor killing mechanism of NK cell

抗体提高NK细胞的持久性、激活性和数量,或提高过继转移NK细胞的肿瘤细胞靶向性^[34]。细胞因子IL-2在加强NK作用上有着举足轻重的作用^[35],通过基因工程技术获得IL-2的突变体“Super-2”更是可以通过促进NK细胞的增殖和逆转NK细胞的失能而提高NK细胞的持久性^[36]。经过改造的细胞因子IL-15,即超级激动剂-15在髓系白血病中能够增强NK细胞的毒性,可用于NK细胞过继治疗时的辅剂。近期的研究也表明,细胞因子的应用可诱导NK细胞向记忆样NK细胞转化^[37-38],这种记忆样细胞在体内的生存期得到延长,这也就解决了NK细胞在体内生命周期短,仅能存活数周的问题^[39]。CAR-T疗法在近几年取得了突破性的研究进展。CAR修饰的T细胞疗法在治疗血液病性癌症(包括淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病和急性淋巴细胞白血病)方面取得了显著的成功。特别是CD-19靶向的CAR-T细胞对急性淋巴白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)患者的完全应答率为70%~90%^[40-41]。NK细胞表达多种活化受体(NKRs),如CD16、NKG2D、CD226、NKp30等,可能特异性识别肿瘤细胞上表达的配体。有研究表明, CAR-NK在体内和体外对癌细胞均表现出较好的肿瘤特异性靶向性和细胞毒性。NK细胞体内存在时间短,不会引起细胞因子风暴(cytokine release syndrome, CRS)^[42]而表现出较CAR-T细胞的安全性^[43]。

CAR-NK细胞的体外扩增是其临床应用面临的首要挑战。近年来,临床级NK细胞的纯化/扩增主要

集中在从外周血、脐带血和胚胎干细胞中产生NK细胞^[44]。故可使用功能相关的细胞因子各种组合方案辅助CAR-NK的治疗。2016—2017年进行了各种CAR-NK细胞的临床试验。NK细胞在细胞免疫治疗中具有广阔的应用前景。然而, CAR-NK细胞免疫治疗的结果仍然无法预测等问题仍然存在,尤其是对实体肿瘤。由于NK细胞的异质性,选择合适的NK细胞亚群(如杀伤细胞亚群)构建特异性CAR-NK细胞还有待探索。CAR-NK细胞可能不会引起细胞因子风暴,但它们在体内存活时间短,限制了它们对肿瘤的作用。但是,近年来临床顺应技术的进步和快速发展,能够大量扩增NK细胞和基因编辑NK细胞,使得CAR-NK细胞免疫治疗成为一个有前景的癌症治疗方式。

4 DC细胞治疗AML的应用

DC最初是Steinman^[45]和Cohn等^[46]在1973年从小鼠脾组织中分离发现的,因其具有树突状形态或伪足而得名。DC起源于髓系,是迄今为止人体功能最强大的抗原呈递细胞,能够诱导原发和继发的免疫应答,激活辅助T细胞(helper T cells, Th)和CTL,克服对肿瘤抗原的免疫耐受,从而产生强大的抗肿瘤反应,即对宿主起免疫监视和免疫调节作用,故DC在AML的治疗上有十分广阔的前景^[47]。

4.1 DC疫苗

在缓解后AML患者外周血单核细胞(monocytes,

MO)中分离得到正常DC(MO-DC), 其不表达白血病分子标志, 承载白血病相关抗原后, 可有效诱导CTL对白血病细胞的杀伤作用。在AML中白血病细胞可直接分化为DC(AML-DC)。这些白血病来源的DC可以表达白血病抗原(leukemia associated antigen, LAA), 有效诱导CTL对自身肿瘤细胞的杀伤作用, 根据这一原理设计的AML-DC及MO-DC疫苗正在进行临床I/II期试验^[47]。分离得到MO-DC和AML-DC同AML肿瘤抗原诱导成熟, 得到负载肿瘤抗原的DC成熟细胞, 配合免疫佐剂输回患者体内来活化AML患者体内的肿瘤特异性免疫反应(图2)。

新一代MO-DC疫苗是由Toll样受体在3天内诱导成熟的, 负载白血病相关抗原WT1及PRAME, 已用于缓解后AML患者的I/II期临床试验^[48]。研究表明, 在AML患者中有一种DC亚型DC8a, 可靶向先天免疫系统, 改善免疫耐受, 靶点为Toll样受体、CD47及STAT3, 提示在先天免疫水平上, 可以抑制肿瘤细胞的免疫逃逸, 从而有益于患者^[49]。

虽然DC疫苗在AML的治疗上取得很多成果, 但是DC细胞成为耐受性和免疫原性的具体机制仍需确定, 以此来探求DC疫苗的安全性, 从而提高DC在AML治疗中的应用, 降低患者的复发和死亡率。

4.2 DC细胞联合CIK

细胞因子诱导的杀伤细胞(cytokine-induced killer, CIK)是将单个核细胞在体外采用细胞因子进行诱导、刺激、培养成具有CD3⁺和CD56⁺的特征表型的细胞, 兼有T细胞强大的溶瘤效应和NK细胞非

主要组织相容性复合体限制性杀瘤特点, 故又称之为NK样T细胞^[50]。CIK细胞的迁移能力较强, 表明其对迁移的肿瘤仍然具有杀伤能力, 这正是CIK细胞对肿瘤具有强大的、广泛的杀伤作用^[51]。CIK细胞对LSC样细胞也具有杀伤作用^[52]。其在体内可大量增殖, 对耐药性肿瘤的杀伤活性无明显减弱, 对正常细胞无毒性, 用于肿瘤的治疗优势明显。

DC细胞和CIK细胞均具有显著的抗肿瘤效果。将DC细胞和CIK细胞在体外共培养, 可促进DC细胞的成熟及CIK细胞的活化、增殖及功能, 相互作用可激发DC细胞表面的刺激和抗原呈递分子的数量, 使细胞具有更大的抗肿瘤能力, 提高了免疫杀伤特异性^[52]。DC-CIK细胞抗肿瘤的机制^[50]: (1)成熟的DC细胞表面高表达多种抗原提呈分子, 有利于抗原向CIK细胞的提呈, 促进各种细胞因子的分泌, 促进CIK细胞的增殖、抗肿瘤活性; (2)DC细胞表面标志物抗原增加, 血清细胞因子分泌增加, 从而增加DC细胞与共刺激分子呈递抗原的特异性; (3)共培养可以降低具有免疫抑制作用的Treg细胞的数量以及IL-10的分泌量, 减弱Treg细胞的抗肿瘤抑制作用。

在AML的治疗应用上, 这种治疗方法仍处于临床试验阶段, 需要建立更健全的机制来研究其适应症、禁忌症等临床数据, 以此来发展这种治疗方法。

5 T细胞治疗AML的应用

5.1 T细胞介导的特异性抗肿瘤免疫

T细胞是介导肿瘤免疫的主要细胞。抗原被释放后由抗原呈递细胞呈递到CTL细胞和Th细胞, 导

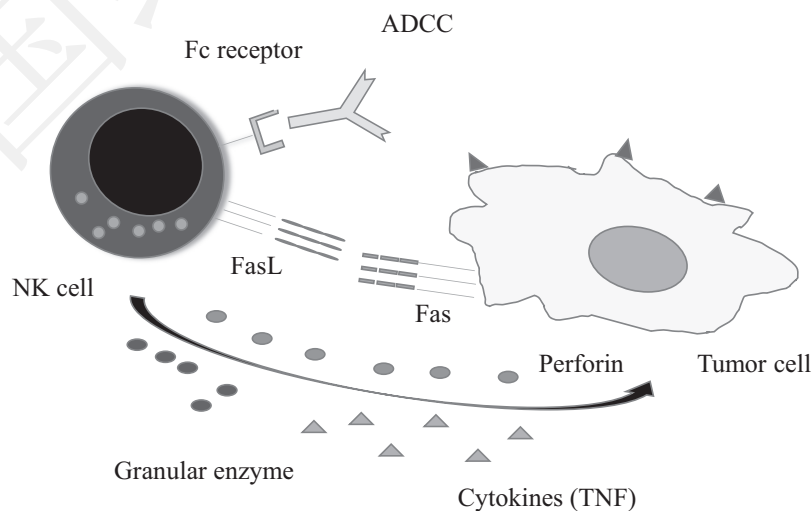


图2 DC治疗AML的流程

Fig.2 Flow chart of DC treatment of AML

致这2种细胞激活。肿瘤细胞表面共刺激分子高表达时,可直接将抗原呈递给 $CD8^+$ 细胞,并刺激其IL-2的合成、增殖并分化为特异性的CTL。当肿瘤细胞表面的共刺激因子不表达或者低表达时,活化的 $CD4^+$ Th辅助 $CD8^+$ 细胞增殖分化为CTL。CTL通过穿孔素-颗粒酶和Fas-FasL、TNF-TNFR途径对肿瘤细胞进行杀伤。Th细胞也可以通过产生细胞因子参与抗肿瘤免疫反应。近年,随着T细胞在体外的分离、活化和扩增技术的成熟,应用特异性的T细胞进行治疗成为了可能。过继性T细胞免疫治疗就是将自体或者异体的T细胞在体外扩增活化后,通过静脉注射等方式输入患者体内,一方面回输的T细胞可以直接杀死肿瘤细胞,另一方面还可以通过改变肿瘤微环境以及调动机体自身免疫系统从而发挥抑制肿瘤发展的作用^[53-54]。因此,过继性T细胞免疫治疗在AML的治疗中有着潜在的优势(图3)。

5.2 CAR-T治疗AML

T细胞是一种具有特异性抗肿瘤活性的免疫细胞,但其活性受MHC的影响。CAR-T作为一种新的免疫治疗策略,在血液恶性肿瘤的治疗中取得了显著的进展^[55]。CAR-T是将能够识别肿瘤特异性抗原的抗体结合部位与 $CD3-\zeta$ 或者 $Fc\epsilon RI\gamma$ 的胞外部分结构在体外偶联成为一个嵌合蛋白后转染来自患者/供体的T细胞,使其能够表达CAR。当患者自体T细

胞被修饰时产生大量肿瘤特异性CAR-T^[56]。这些CAR-T细胞以一种不依赖MHC的方式增强特异性和肿瘤细胞毒性。CAR-T细胞的过继细胞治疗是肿瘤免疫治疗领域的一种新方法^[57-59](图4)。

CAR-T治疗要解决的问题之一就是CRS。CRS是由于宿主免疫系统过度激活而产生的一种严重的副反应,很多患者接受CAR-T细胞治疗后引发严重的CRS^[60],包括高热、肌肉疼痛、乏力、低血压、疲劳、毛细血管渗漏等。多种细胞因子可在患者血清中剧烈的升高,如 $INF-\gamma$ 、IL-2、IL-6和IL-10。神经毒性可能与抗CD19的CAR-T细胞治疗有关,这可能是由于细胞因子水平升高所致。应用抗IL-6受体抗体妥珠单抗(tocilizumab)对所有CAR-T细胞增殖高的CRS严重病例均有疗效。

多项研究致力于提高CAR-T细胞治疗的靶向性和非肿瘤毒性,其中就包括选择合适的细胞外受体^[61],优化细胞内的共刺激分子^[62]。目前,基于CRISPR的基因组编辑技术正在被应用于开发下一代CAR-T细胞。这些方法包括敲除TCR、MHC、自体抗原等内源性基因建立同种异体CAR-T,破坏如CTLA-4、PD-1或LAG-3等抑制性受体来减轻副作用^[63]。虽然应用基因编辑技术也面临着脱靶和不可预测的基因转位这样的问题,但第一次使用基因编辑技术的CAR-T在黑色素瘤、滑膜肉瘤和多发性骨

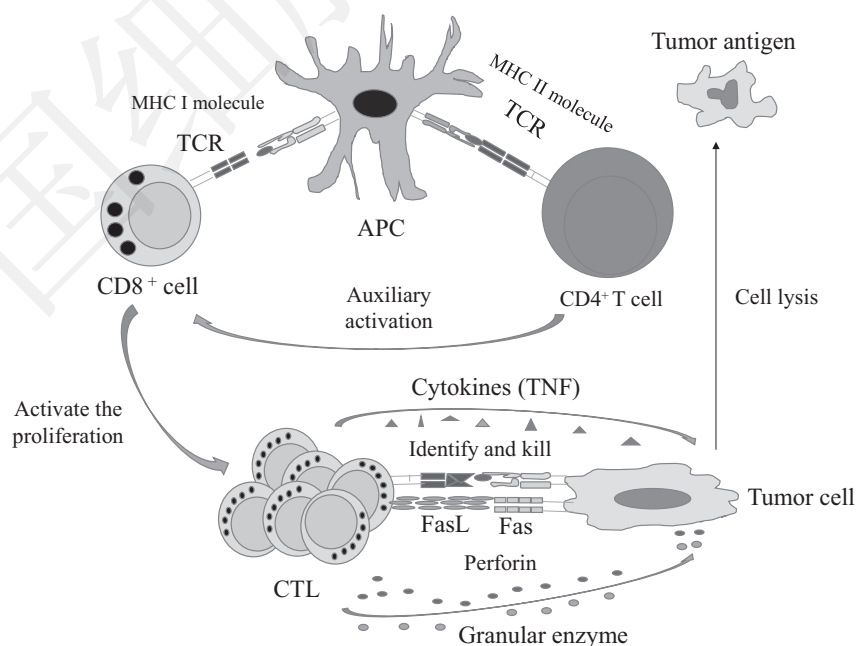


图3 T细胞的肿瘤细胞杀伤机制

Fig.3 Tumor cell killing mechanism of T cells

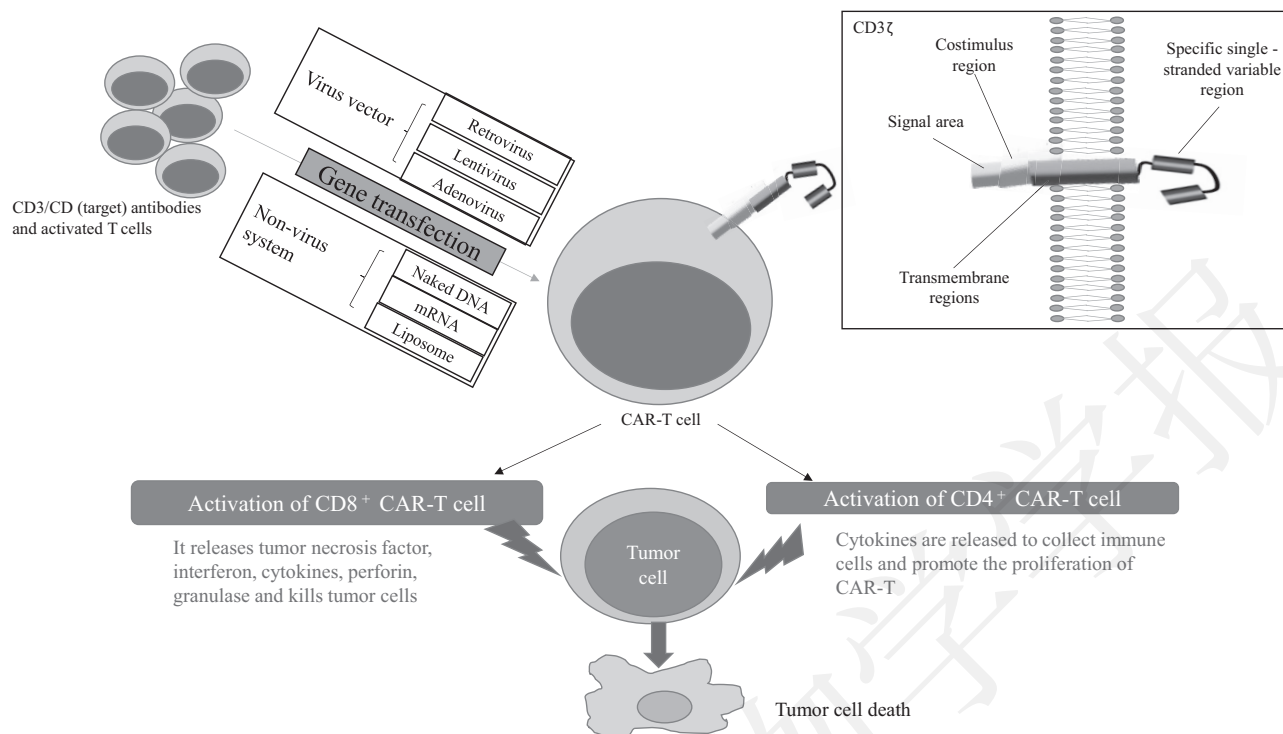


图4 CAR-T的激活及肿瘤杀伤过程

Fig.4 Activation of CAR-T and tumor killing process

髓瘤患者取得了较好的结果^[64]。因此基因编辑技术在CAR-T中的应用仍然具有前景。于此同时,允许通过表达单个受体的T细胞靶向多个肿瘤相关抗原(tumor-associated antigen, TAA)的各种通用免疫受体(universal immune receptor, UIR)也被开发用于减轻CAR-T引起的CRS和神经毒性。目前有4种UIR^[65]。(1)抗体依赖的细胞毒性细胞(K细胞)介导的Fc结合免疫受体,当靶细胞表面抗原与相应抗体结合后,抗体Fc段再结合到K细胞表面,形成一抗体桥与靶细胞接触而发生杀伤效应,此杀伤效应为非特异性的,且不需补体参加。(2)双特异性免疫受体,同时识别2个靶点。(3)天然结合伴侣免疫受体,即通过天然结合伴侣实现胞外结构域与目标配体上标记结合,如亲和素-生物素。(4)用Tag标签标记的免疫受体,即CAR与其同源抗原的标签进行结合。这些UIR都比标准CAR带来了潜在的好处,但也面临着临床效率和安全性的挑战。尽管如此,UIR为采用CAR-T提供了一个令人兴奋的新途径,并可能在目前CAR-T细胞疗法已经失败的领域得到更广泛的应用。

尽管开发针对多种肿瘤的CAR-T细胞面临巨大挑战,但在过去10年中,一些潜在的CAR-T细胞靶点在临床前研究和临床试验中得到了积极发展。如癌

胚抗原(carcino embryonic antigen, CEA)是一种分子量为180 kDa的糖基磷脂酰肌醇锚定糖蛋白,在许多上皮性肿瘤(包括结肠癌、胃癌、胰腺、癌、卵巢癌和肺癌)细胞表面均有高表达^[66]。正常人血清中CEA是微量存在的,因此它可以作为一个肿瘤相关抗原免疫疗法的有效靶点。有研究人员构建了一个临床相关的小鼠模型,使用CEA转基因小鼠,CEA作为一种自抗原在包括胃肠道在内的各种器官上皮细胞上的生理表达,与人类的情况十分相似,研究结果证明了以CEA为靶点的CAR-T细胞治疗的可行性,但也强调了除了CRS外,还存在肝毒性发展的潜在风险^[67]。因此,追求更安全、更有效的靶点仍然是CAR-T治疗需要克服的主要问题之一。表3为现阶段应用CAR-T治疗AML的研究进展。

FDA批准CAR-T细胞疗法治疗CD19⁺恶性肿瘤,已经确定将过继T细胞疗法作为治疗疾病的可行临床选择。新目标抗原的识别,加上CAR-T细胞设计和制造技术的改进,正在逐步克服目前面临的障碍,扩大CAR-T细胞在更多癌症类型的使用。

6 结语和展望

AML是一种侵袭性肿瘤疾病,其特点是增殖增

表3 CAR-T治疗AML的研究进展

靶点	问题	参考文献
Target	Problem	Reference
CD123	Cytotoxicity of Hematopoietic stem cell and endothelial	[60-63]
CD33	Hematopoietic toxicity and hepatotoxicity	[9,62,64-65]
CD44V6	Skin toxicity	[9]
FLT3	Endothelial cell expression and hematopoietic toxicity	[66]
Lewis	Skin toxicity and transient leukopenia in the bone marrow	[67]
Folate receptor β	Cytotoxicity, low affinity	[68-69]
CLEC12A	Strong heterogeneity in the role of LSC	[71]
CD38	Cytotoxicity	[72]
CD7	Inhibit proliferation of T cells	[73]
NKG2D	Cytotoxicity, CAR-T can not survive for a long time	[74-75]

强、分化受阻和凋亡失调。其细胞群表现出广泛的自我更新能力。AML目前仍是血液恶性肿瘤领域的治疗挑战之一。尽管在分子水平上对AML的理解取得了重大进展,但目前的AML治疗在最初缓解后几乎都失败了,并且在近40年的时间里基本没有变化。在过去的几十年,标准的诱导方案是阿糖胞苷和蒽环类药物联合应用。AML患者的预后随着标准诱导方案的修改而逐渐改善,但这些改善主要局限于特定的患者亚群,特别是具有良好风险特征的年轻患者。然而,对于老年患者和那些有不良症状的患者,预后仍然相对较差。化疗的剂量强化以及其他细胞毒性药物与标准诱导化疗的联合治疗通常无法改善这些历史上低危组的预后。因此针对分子突变的靶向治疗和基于免疫的新策略有望改善急性髓系白血病的预后,尤其是对那些具有相对耐细胞毒性化疗的复杂疾病的患者。

虽然异体HSCT是唯一能够为这些患者提供长期生存优势的治疗方式,但与其他细胞遗传学风险相比,这种治疗具有更高的复发率和明显较差的预后。AML的核型复杂性导致高复发率和较差的生存率,尤其是当患者仅接受常规化疗。因此,未来的研究应该重点发展更好的制备方法帮助减少移植前疾病负担以及移植后复发预防策略,比如移植后的细胞治疗和维持治疗的新方法。AML患者迫切需要能够有效根除耐药白血病克隆、预防移植后复发的调节性方案或细胞治疗,进一步改善移植结局。在“直接攻击”理论背景下,利用免疫系统攻击AML细胞最初不被认可。然而,异体HSCT的成功预示了

免疫治疗理念在这种致命疾病治疗中的重要性。近年来,越来越多的免疫系统靶向制剂进入临床。免疫治疗可导致持久的癌症缓解,而免疫原细胞代表着有希望的、肿瘤细胞独立的治疗靶点。最近,FDA批准BiTE博纳吐单抗治疗成人和儿童复发/难治性B细胞前体急性淋巴细胞白血病,临床数据显示出显著的生存优势^[84]。这项批准标志着自从吉妥珠单抗获得批准以来,FDA首次批准了一种用于治疗急性白血病的免疫疗法,标志着这种疾病治疗模式的变革开始。但是单克隆抗体治疗AML仍面临AML表面特异性分子筛选困难、对正常细胞的细胞毒性和不同患者的异质性问题。

NK细胞是先天免疫系统的细胞毒性效应物,其能够在没有MHC抗原暴露的情况下识别和根除肿瘤细胞。NK细胞的肿瘤浸润与癌症患者的延长存活相关,并且高NK细胞的细胞毒性与降低的癌症风险有关。从健康供体到癌症患者的同种异体过继转移NK细胞已经显示出作为控制或逆转多种人类恶性肿瘤(包括多发性骨髓瘤和AML)发展的有效手段。然而,这种治疗方式仍然存在诸如活化受体的丧失、转移的NK细胞中的细胞毒性潜力,以及强化的条件作用导致了明显的血液学和非血液学毒性等问题,这些问题破坏了使用过继转移NK细胞的长期癌症治疗的功效。因此有必要根据临床、细胞遗传学和分子特征对AML进行分层,以优化各种细胞疗法的应用。

鉴于AML细胞对免疫干预的高度适应性,DC细胞免疫接种在MRD环境中受到严格检查。DC疫

苗的目标是通过利用免疫系统的先天和适应性武器来产生抗肿瘤免疫攻击。考虑到免疫系统的2个分支在产生有效的抗肿瘤免疫反应方面具有明确的重要性并相互合作,这种双重作用是很有意义的。DC肿瘤疫苗接种在理想的单一肿瘤抗原靶点的选择、合适治疗策略的选择、将单个肿瘤抗原加载到DCs上、多个肿瘤抗原和/或全细胞方法的作用的确定等方面仍有很多挑战。

CAR-T细胞是治疗多种癌症的有力工具。然而,它们会引起一些不良反应,包括CRS、脱靶效应,导致潜在致命的器官损伤甚至死亡。特别是对于针对AML抗原的CAR-T细胞,骨髓抑制可能是一个挑战。

近年来,人们对免疫系统和癌细胞之间复杂相互作用的理理解取得了进展,这为AML的新治疗策略打开了大门。目前的研究也证实,免疫治疗的疗效取得了突破性的进展,在此背景下,免疫治疗与传统AML治疗相结合有望比单纯的标准治疗更有效地消灭白血病细胞。但是,免疫治疗仍然面临很多问题。(1)目前还缺乏识别和治疗免疫相关不良事件的标准方法。(2)免疫疗法是癌症治疗中最昂贵的一种,目前还不清楚患者和疾病的具体特征应该如何指导免疫疗法的选择。(3)关于其治疗、辅助和维持环境中的实施仍然存在问题。(4)为了确定免疫疗法在AML这类高度异质性疾病的治疗中所起的作用,需要进行成本高昂、规模庞大的随机试验,这些试验需要确定足够的生物标志物,以帮助预测治疗反应和毒性,并准确选择需要累积治疗的患者。

综上所述,虽然个体化治疗、替代治疗等方式取得了一定的进步,但仍不足以满足AML的治疗需要。今后应在发挥免疫治疗自身优势的前提下,最大限度地减少治疗的毒副作用,与常规治疗有效结合更好地治疗AML并预防复发。

参考文献 (References)

- Greenbaum A, Hsu YM, Day RB, Schuettelpelz LG, Christopher MJ, Borgerding JN, *et al.* CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature* 2013; 495(7440): 227-30.
- Kumar B, Garcia M, Weng L, Jung X, Murakami JL, Hu X, *et al.* Acute myeloid leukemia transforms the bone marrow niche into a leukemia-permissive microenvironment through exosome secretion. *Leukemia* 2018; 32(3): 575-87.
- Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100(1): 57-70.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
- Bachanova V, Cooley S, Defor TE, Verneris MR, Zhang B, McKenna DH, *et al.* Clearance of acute myeloid leukemia by haploidentical natural killer cells is improved using IL-2 diphtheria toxin fusion protein. *Blood* 2014; 123(25): 3855-63.
- 林婧祎, 张宇晶, 高锦程. 急性髓系白血病免疫治疗方式及研究进展. *中华全科医学*(Lin Jingwei, Zhang Yujing, Gao Jincheng. Advances in new approaches for the immunotherapy of acute myeloid leukemia. *Chinese Journal of General Practice*) 2017; 2017(10): 1763-7.
- 王珍珍, 邱少伟, 王建祥. 治疗急性髓系白血病新药的研究进展. *国际输血及血液学杂志*(Wang Zhenzhen, Qiu Shaowei, Wang Jianxiang. Research progress of novel drugs for treatment of acute myeloid leukemia. *International Journal of Blood Transfusion and Hematology*) 2017; 40(2): 169-73.
- 邱国胜, 于洁. 儿童复发难治性急性白血病分子靶向治疗进展. *现代医药卫生*(Qiu Guosheng, Yu Jie. Progress in molecular targeted therapy for children with relapsed and refractory acute leukemia. *Mod Med Health*) 2015; 31(17): 2604-7.
- Casucci M, Nicolis di Robilant B, Falcone L, Camisa B, Norelli M, Genovese P, *et al.* CD44v6-targeted T cells mediate potent antitumor effects against acute myeloid leukemia and multiple myeloma. *Blood* 2013; 122(20): 3461-72.
- Chan WK, Suwannasaen D, Throm RE, Li Y, Eldridge PW, Houston J, *et al.* Chimeric antigen receptor-redirected CD45RA-negative T cells have potent antileukemia and pathogen memory response without graft-versus-host activity. *Leukemia* 2015; 29(2): 387-95.
- Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, Klein JP, Wang T, Marsh SG, *et al.* Donor killer cell Ig-like receptor B haplotypes, recipient HLA-C1, and HLA-C mismatch enhance the clinical benefit of unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *J Immunol* 2014; 192(10): 4592-600.
- 魏晓莉. 肿瘤免疫治疗的研究进展. *国际药学研究杂志*(Wei Xiaoli. Cancer immunotherapy: research advances. *Int Pharm Res*) 2014; 41(1): 57-62.
- Ho TC, LaMere M, Stevens BM, Ashton JM, Myers JR, O'Dwyer KM, *et al.* Evolution of acute myelogenous leukemia stem cell properties after treatment and progression. *Blood* 2016; 128(13): 1671-8.
- Ye H, Adane B, Khan N, Sullivan T, Minhajuddin M, Gasparetto M, *et al.* Leukemic stem cells evade chemotherapy by metabolic adaptation to an adipose tissue niche. *Cell Stem Cell* 2016; 19(1): 23-37.
- Herrmann M, Krupka C, Deiser K, Brauchle B, Marcinek A, Ogrinc Wagner A, *et al.* Bifunctional PD-1 x alphaCD3 x alphaCD33 fusion protein reverses adaptive immune escape in acute myeloid leukemia. *Blood* 2018; 132(23): 2484-94.
- Wang T, Zou D, Zhang Y, Li Z, Sui W, Fu M, *et al.* Autologous hematopoietic stem cell transplantation in adults with Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a single center experience from the BDHALL2000/02 protocol. *Zhonghua xue ye xue za zhi* 2015; 36(6): 480-4.
- Giebel S, Labopin M, Socie G, Beelen D, Browne P, Volin L, *et al.* Improving results of allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with acute lymphoblastic leukemia in first complete remission: an analysis from the Acute Leukemia Working Party of

- the European Society for Blood and Marrow Transplantation. *Hematologica* 2017; 102(1): 139-49.
- 18 张王刚, 白菊. 急性髓系白血病免疫治疗的研究进展与展望. 西安交通大学学报(医学版)(Zhang Baigang. Advances and progress of research on immunotherapy of acute myeloid leukemia. *Journal of Xi'an Jiaotong University, Medical Sciences*) 2015; 36: 573-9.
- 19 Gami AS, Alonzo TA, Meshinchi S, Sung L, Gerbing RB, Raimondi SC, *et al.* Gemtuzumab ozogamicin in children and adolescents with *de novo* acute myeloid leukemia improves event-free survival by reducing relapse risk: results from the randomized phase III Children's Oncology Group trial AAML0531. *J Clin Oncol* 2014; 32(27): 3021-32.
- 20 Tugues S, Amorim A, Spath S, Martin-Blondel G, Schreiner B, De Feo D, *et al.* Graft-versus-host disease, but not graft-versus-leukemia immunity, is mediated by GM-CSF-licensed myeloid cells. *Sci Transl Med* 2018; 10(469): pii: eaat8410.
- 21 Sakoda Y, Hashimoto D, Asakura S, Takeuchi K, Harada M, Tanimoto M, *et al.* Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease. *Blood* 2007; 109(4): 1756-64.
- 22 Cooper ML, Choi J, Staser K, Ritchey JK, Devenport JM, Eckardt K, *et al.* An "off-the-shelf" fratricide-resistant CAR-T for the treatment of T cell hematologic malignancies. *Leukemia* 2018; 32(9): 1970-83.
- 23 Kim MY, Yu KR, Kenderian SS, Ruella M, Chen S, Shin TH, *et al.* Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Cell* 2018; 173(6): 1439-53, e19.
- 24 Jen EY, Ko C-W, Lee JE, Del Valle PL, Aydanian A, Jewell C, *et al.* FDA approval: Gemtuzumab ozogamicin for the treatment of adults with newly diagnosed CD33-positive acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2018; 24(14): 3242-6.
- 25 Krupka C, Kufer P, Kischel R, Zugmaier G, Lichtenegger FS, Kohnke T, *et al.* Blockade of the PD-1/PD-L1 axis augments lysis of AML cells by the CD33/CD3 BiTE antibody construct AMG 330: reversing a T-cell-induced immune escape mechanism. *Leukemia* 2016; 30(2): 484-91.
- 26 Aigner M, Feulner J, Schaffer S, Kischel R, Kufer P, Schneider K, *et al.* T lymphocytes can be effectively recruited for ex vivo and *in vivo* lysis of AML blasts by a novel CD33/CD3-bispecific BiTE antibody construct. *Leukemia* 2013; 27(5): 1107-15.
- 27 Zou W, Chen L. Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 2008; 8(6): 467-77.
- 28 Boddu P, Kantarjian H, Garcia-Manero G, Allison J, Sharma P, Daver N. The emerging role of immune checkpoint based approaches in AML and MDS. *Leuk Lymphoma* 2018; 59(4): 790-802.
- 29 Saudemont A, Quesnel B. In a model of tumor dormancy, long-term persistent leukemic cells have increased B7-H1 and B7.1 expression and resist CTL-mediated lysis. *Blood* 2004; 104(7): 2124-33.
- 30 Assi R, Kantarjian H, Ravandi F, Daver N. Immune therapies in acute myeloid leukemia: a focus on monoclonal antibodies and immune checkpoint inhibitors. *Curr Opin Hematol* 2018; 25(2): 136-45.
- 31 Stamm H, Klingler F, Grossjohann EM, Muschhammer J, Vettorazzi E, Heuser M, *et al.* Immune checkpoints PVR and PVRL2 are prognostic markers in AML and their blockade represents a new therapeutic option. *Oncogene* 2018; 37(39): 5269-80.
- 32 Bigley AB, Simpson RJ. NK cells and exercise: implications for cancer immunotherapy and survivorship. *Discov Med* 2015; 19(107): 433-45.
- 33 Rubnitz J E , Inaba H , Kang G , Gan K, Hartford C, Triplett BM, *et al.* Natural killer cell therapy in children with relapsed leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62(8): 1486-72.
- 34 Fang F, Xiao W, Tian Z. NK cell-based immunotherapy for cancer. *Semin Immunol* 2017; 31: 37-54.
- 35 Floros T, Tarhini AA. Anticancer Cytokines: Biology and clinical effects of interferon-alpha2, interleukin (IL)-2, IL-15, IL-21, and IL-12. *Semin Oncol* 2015; 42(4): 539-48.
- 36 Levin AM, Bates DL, Ring AM, Krieg C, Lin JT, Su L, *et al.* Exploiting a natural conformational switch to engineer an interleukin-2 'superkine'. *Nature* 2012; 484(7395): 529-33.
- 37 Pal M, Schwab L, Yermakova A, Mace EM, Claus R, Krahl AC, *et al.* Tumor-priming converts NK cells to memory-like NK cells. *Oncoimmunology* 2017; 6(6): e1317411.
- 38 Leong JW, Chase JM, Romee R, Schneider SE, Sullivan RP, Cooper MA, *et al.* Preactivation with IL-12, IL-15, and IL-18 induces CD25 and a functional high-affinity IL-2 receptor on human cytokine-induced memory-like natural killer cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2014; 20(4): 463-73.
- 39 Brehm C, Huenecke S, Esser R, Kloess S, Quaiser A, Betz S, *et al.* Interleukin-2-stimulated natural killer cells are less susceptible. *Cancer Immunol Immunother* 2014; 63(8): 821-33.
- 40 Wang J, Hu Y, Huang H. Acute lymphoblastic leukemia relapse after CD19-targeted chimeric antigen receptor T cell therapy. *J Leukoc Biol* 2017; 102(6): 1347-56.
- 41 Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 125(26): 4017-23.
- 42 Hu Y, Tian ZG, Zhang C. Chimeric antigen receptor (CAR)-transduced natural killer cells in tumor immunotherapy. *Acta Pharmacol Sin* 2018; 39(2): 167-76.
- 43 Hofer E, Koehl U. Natural killer cell-based cancer immunotherapies: from immune evasion to promising targeted cellular therapies. *Front Immunol* 2017; 8: 745.
- 44 Cheng M, Chen Y, Xiao W, Sun R, Tian Z. NK cell-based immunotherapy for malignant diseases. *Cell Mol Immunol* 2013; 10(3): 230-52.
- 45 Stein RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Rev Immunol* 1991; 9(1): 271-96.
- 46 Caux C, Dezutterdambuyant C, Schmitt D, Banchereau J. GM-CSF and TNF-ALPHA cooperate in the generation of dendritic langerhans cells. *Nature* 1992; 360(6401): 258-61.
- 47 周平, 石庆之. 树突状细胞治疗急性髓系白血病的研究进展. 实验与检验医学(Zhou Ping, Shi Qingzhi. Progress in the study of dendritic cells in the treatment of acute myeloid leukemia. *Ji-angxi J. Med Lab Sci*) 2006; 24(6): 547-8.
- 48 Subklewe M, Geiger C, Lichtenegger FS, Javorovic M, Kvalheim G, Schendel DJ, *et al.* New generation dendritic cell vaccine for immunotherapy of acute myeloid leukemia. *Cancer Immunol Immunother* 2014; 63(10): 1093-103.
- 49 Curran E, Corrales L, Kline J. Targeting the innate immune

- system as immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Front Oncol* 2015; 5: 83.
- 50 谢裕安. 树突状细胞与细胞因子诱导杀伤细胞治疗肿瘤研究进展. 中国肿瘤(Xie Yu'an. Research progress on dendritic cells and cytokine induced killer cells for cancer treatment. *China Academic Journal Electronic Publishing House*) 2005; 41(2): 187-9.
 - 51 Cappuzzello E, Tosi A, Zanollo P, Sommaggio R, Rosato A. Retargeting cytokine-induced killer cell activity by CD16 engagement with clinical-grade antibodies. *Oncoimmunology* 2016; 5(8): e1199311
 - 52 Mosinska P, Gabrylska A, Zasada M, Fichna J. Dual functional capability of dendritic cells-cytokine-induced killer cells in improving side effects of colorectal cancer therapy. *Front Pharmacol* 2017; 8: 126.
 - 53 宋德刚. 表达嵌合性抗原受体的T淋巴细胞介导的肿瘤过继性免疫治疗作用的临床前研究. 山东大学(博士论文), 2011.
 - 54 韩双印, 朱武凌, 冯鹏飞. 肿瘤过继免疫治疗临床级抗原特异性T细胞的研究进展. 中国肿瘤生物治疗杂志(Han Shuangyin, Zhu Wuling, Feng Pengfei. Progress of clinical grade antigen-specific T cells for cancer adoptive immunotherapy. *China Academic Journal Electronic Publishing House*) 2014; 21(1): 104-8.
 - 55 Allegra A, Innao V, Gerace D, Vaddinelli D, Musolino C. Adoptive immunotherapy for hematological malignancies: current status and new insights in chimeric antigen receptor T cells. *Blood Cells Mol Dis* 2016; 62: 49-63.
 - 56 Schmitt TM, Aggen DH, Stromnes IM, Dossett ML, Richman SA, Kranz DM, *et al.* Enhanced-affinity murine T-cell receptors for tumor/self-antigens can be safe in gene therapy despite surpassing the threshold for thymic selection. *Blood* 2013; 122(3): 348-56.
 - 57 Fan M, Li M, Gao L, Geng S, Wang J, Wang Y, *et al.* Chimeric antigen receptors for adoptive T cell therapy in acute myeloid leukemia. *J Hematol Oncol* 2017; 10(1): 151.
 - 58 Gill S. Chimeric antigen receptor T cell therapy in AML: How close are we? *Best Pract Res Clin Haematol* 2016; 29(4): 329-33.
 - 59 曹玲, 张毅. 嵌合抗原受体修饰 T 细胞治疗恶性肿瘤的研究进展. 兰州大学学报(医学版)(Cao Yi, Zhang Yi. Progress in the study of chimeric antigen receptor-modified T cells in the treatment of malignant tumors. *Journal of Lanzhou University, Medical Sciences*) 2015; 41(1): 1-8.
 - 60 Mardiros A, Dos Santos C, McDonald T, Brown CE, Wang X, Budde LE, *et al.* T cells expressing CD123-specific chimeric antigen receptors exhibit specific cytolytic effector functions and antitumor effects against human acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 122(18): 3138-48.
 - 61 Gill S, Tasian SK, Ruella M, Shestova O, Li Y, Porter DL, *et al.* Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor-modified T cells. *Blood* 2014; 123(15): 2343-54.
 - 62 Pizzitola I, Anjos-Afonso F, Rouault-Pierre K, Lassailly F, Tettamanti S, Spinelli O, *et al.* Chimeric antigen receptors against CD33/CD123 antigens efficiently target primary acute myeloid leukemia cells *in vivo*. *Leukemia* 2014; 28(8): 1596-605.
 - 63 Luo Y, Chang LJ, Hu Y, Dong L, Wei G, Huang H. First-in-man CD123-specific chimeric antigen receptor-modified T Cells for the treatment of refractory acute myeloid leukemia. *Blood* 2015; 126(23): 3778.
 - 64 Dutour A, Marin V, Pizzitola I, Valsesia-Wittmann S, Lee D, Yvon E, *et al.* *In vitro* and *in vivo* antitumor effect of anti-CD33 chimeric receptor-expressing EBV-CTL against CD33 acute myeloid leukemia. *Adv Hematol* 2012; 2012: 683065.
 - 65 Kenderian SS, Ruella M, Shestova O, Klichinsky M, Aikawa V, Morrisette JJ, *et al.* CD33-specific chimeric antigen receptor T cells exhibit potent preclinical activity against human acute myeloid leukemia. *Leukemia* 2015; 29(8): 1637-47.
 - 66 Chien CD, Sauter CT, Ishii K, Sang Minh N, Shen F, Tasian SK, *et al.* Preclinical development of FLT3-redirected chimeric antigen receptor T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia. *Blood* 2016; 128(22): 1072.
 - 67 Ritchie DS, Neeson PJ, Khot A, Peinert S, Tai T, Tainton K, *et al.* Persistence and efficacy of second generation CAR T cell against the LeY antigen in acute myeloid leukemia. *Mol Ther* 2013; 21(11): 2122-9.
 - 68 Hui Wang, Xuan Zheng, Frederick G, Behm, Manohar Ratnam. Differentiation-independent retinoid induction of folate receptor type β , a potential tumor target in myeloid leukemia. *Blood* 2000; 96(10): 3529-36.
 - 69 Hao H, Qi H, Ratnam M. Modulation of the folate receptor type beta gene by coordinate actions of retinoic acid receptors at activator Sp1/ets and repressor AP-1 sites. *Blood* 2003; 101(11): 4551-60.
 - 70 Lynn RC, Poussin M, Kalota A, Feng Y, Low PS, Dimitrov DS, *et al.* Targeting of folate receptor beta on acute myeloid leukemia blasts with chimeric antigen receptor-expressing T cells. *Blood* 2015; 125(22): 3466-76.
 - 71 Kenderian SS, Ruella M, Shestova O, Klichinsky M, Kim MY, Soderquist C, *et al.* Leukemia stem cells are characterized by CLEC12A expression and chemotherapy refractoriness that can be overcome by targeting with chimeric antigen receptor T cells. *Blood* 2016; 128(22): 766.
 - 72 Yoshida T, Mihara K, Takei Y, Yanagihara K, Kubo T, Bhattacharyya J, *et al.* All-trans retinoic acid enhances cytotoxic effect of T cells with an anti-CD38 chimeric antigen receptor in acute myeloid leukemia. *Clin Transl Immunology* 2016; 5(12): e116.
 - 73 Silva D, Tashiro H, Srinivasan M, Brenner MK, Mamonkin M. CD7 CAR for the treatment of acute myeloid and lymphoid leukemia. *Blood* 2016; 128(22): 4555.
 - 74 Sentman CL1, Meehan KR. NKG2D CARs as cell therapy for cancer. *Cancer* 2014; 20(2): 156-9.
 - 75 Nikiforow S, Werner L, Murad J, Jacobs M, Johnston L, Patches S, *et al.* Safety data from a first-in-human phase 1 trial of NK-G2D chimeric antigen receptor-T cells in AML/MDS and multiple myeloma. *Blood* 2016; 128(22): 4052.
 - 76 Rafei H, Kantarjian HM, Jabbour EJ. Recent advances in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2019; 60(11): 2606-21.
 - 77 Leung WH, Gay J, Martin U, Garrett TE, Horton HM, Certo MT, *et al.* Sensitive and adaptable pharmacological control of CAR T cells through extracellular receptor dimerization. *JCI Insight* 2019; 5: pii: 124430.
 - 78 Lai Y, Weng J, Wei X, Qin L, Lai P, Zhao R, *et al.* Toll-like receptor 2 costimulation potentiates the antitumor efficacy of CAR T cells. *Leukemia* 2018; 32(3): 801-8.
 - 79 Liu J, Zhou G, Zhang L, Zhao Q. Building potent chimeric

- antigen receptor T cells with CRISPR genome editing. *Front Immunol* 2019; 10: 456..
- 80 Baylis F, McLeod M. First-in-human phase 1 CRISPR gene editing cancer trials: are we ready? *Curr Gene Ther* 2017; 17(4): 309-19.
- 81 Minutolo NG, Hollander EE, Powell DJ, Jr. The emergence of universal immune receptor T cell therapy for cancer. *Front Oncol* 2019; 9: 176.
- 82 Hammarström S. The carcinoembryonic antigen CEA family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. *Semin Cancer Biol* 1999; 9(26): 67-81.
- 83 Wang L, Ma N, Okamoto S, Amaishi Y, Sato E, Seo N, *et al.* Efficient tumor regression by adoptively transferred CEA-specific CAR-T cells associated with symptoms of mild cytokine release syndrome. *Oncoimmunology* 2016; 5(9): e1211218.
- 84 Topp M S, Zimmerman Z, Cannell P, Dombret H, Maertens J, Stein A, *et al.* Health-related quality of life in adults with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia treated with blinatumomab. *Blood* 2018; 131(26): 2906-14.