

综述

新型受体酪氨酸激酶ROR1及其靶向肿瘤治疗的研究进展

陈思宇* 王毅刚

(浙江理工大学, 生命科学与医药学院, 杭州 310000)

摘要 近年来, 受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(receptor tyrosine-kinase-like orphan receptor 1, ROR1)因其独特的表达模式及其在肿瘤生物学中的关键作用, 逐渐成为肿瘤治疗研究的热点。在正常情况下, ROR1表达通常局限于胚胎发育的特定阶段及少数成人组织, 而在多种类型的恶性肿瘤中, ROR1却呈现出异常高表达。这种在正常组织与肿瘤组织间的差异性表达模式, 为ROR1作为肿瘤特异性治疗靶点提供了理论基础。研究表明, ROR1不仅参与调控肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭及血管生成等关键生理过程, 还在肿瘤对传统治疗手段的抗药性形成中扮演重要角色。鉴于ROR1的上述特性, 科学家们积极探索以ROR1为靶点的肿瘤靶向治疗策略, 旨在通过精准干预ROR1介导的信号通路, 实现对肿瘤细胞的特异性杀伤, 同时减少对正常组织的损伤。近年来, 针对ROR1的靶向药物研发取得了显著进展, 包括但不限于单克隆抗体、CAR-T细胞疗法、双特异性抗体及小分子抑制剂等。这些创新药物和治疗手段通过不同机制阻断ROR1的功能, 或诱导免疫细胞特异性识别并清除表达ROR1的肿瘤细胞, 为肿瘤免疫治疗开辟了新途径。该文综述了ROR1的结构与表达, 深入剖析了其在促进肿瘤生长、转移及抗药性方面的作用机制, 同时, 梳理了靶向ROR1在肿瘤免疫治疗领域的最新研究进展, 包括靶向药物的研发、临床试验结果和治疗策略的优化以及面临的挑战等。

关键词 ROR1; 恶性肿瘤; 靶向药物

Research Progress on a Novel Receptor Tyrosine Kinase ROR1 and Its Targeted Cancer Therapy Strategies

CHEN Siyu*, WANG Yigang

(College of Life Science and Medicine, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310000, China)

Abstract In recent years, ROR1 (receptor tyrosine-kinase-like orphan receptor 1) has gradually become a hot spot in tumor treatment research due to its unique expression pattern and key role in tumor biology. Under normal conditions, the expression of ROR1 is typically confined to specific stages of embryonic development and a few adult tissues, whereas in many types of malignant tumors, ROR1 is abnormally high expressed. This differential expression pattern between normal and tumor tissues provides a theoretical basis for ROR1 as a tumor-specific

收稿日期: 2024-11-16

接受日期: 2024-12-13

浙江省自然科学基金(批准号: KLY25H160065)资助的课题

*通信作者。Tel: 18828369701, E-mail: 3192504003@qq.com

Received: November 16, 2024

Accepted: December 13, 2024

This work was supported by the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China (Grant No.KLY25H160065)

*Corresponding author. Tel: +86-18828369701, E-mail: 3192504003@qq.com

therapeutic target. Studies have shown that ROR1 is not only involved in the regulation of tumor cell proliferation, migration, invasion and angiogenesis and other key physiological processes, but also plays an important role in the formation of tumor resistance to traditional therapies. In view of the above characteristics of ROR1, scientists are actively exploring tumor-targeted treatment strategies with ROR1 as the target, aiming to achieve specific killing of tumor cells through precise intervention in the ROR1-mediated signaling pathway, while reducing the damage to normal tissues. In recent years, significant progress has been made in the research and development of targeted drugs against ROR1, including but not limited to monoclonal antibodies, CAR-T cell therapy, bispecific antibodies, and small molecule inhibitors. These innovative drugs and therapeutics have opened up new avenues for tumor immunotherapy by blocking the function of ROR1 through different mechanisms or inducing immune cells to specifically recognize and clear ROR1-expressing tumor cells. This paper review the structure and expression of ROR1, and deeply analyze its mechanism of action in promoting tumor growth, metastasis, and drug resistance. At the same time this study sort out the latest research progress in targeting ROR1 in the field of tumor immunotherapy, including the development of targeted drugs, the results of clinical trials, and the optimization of therapeutic strategies as well as the challenges faced.

Keywords ROR1; malignant tumors; targeted drugs

根据全球癌症监测机构发布的最新统计数据, 2024年全球范围内, 癌症新发病例数量达到了1 997万例^[1], 这一数字不仅反映了癌症作为全球健康危机之一的严峻现状, 也凸显了寻找更有效治疗方法的紧迫性。同时, 该年度癌症导致的死亡人数高达974万例^[1], 这一触目惊心的数字再次敲响了抗癌斗争的警钟。

面对如此庞大的患者群体及其背后沉重的医疗负担, 传统的癌症治疗方式——化疗、放疗和手术治疗, 尽管在一定程度上能够延长患者的生存期, 但其局限性也日益显现。具体而言, 化疗和放疗在杀灭癌细胞的同时, 往往会对正常细胞造成不同程度的损害, 导致患者出现一系列副作用, 如恶心呕吐、脱发、免疫系统抑制等, 严重影响患者生活质量, 且长期效果有限, 存在较高的复发风险。手术治疗则受限于肿瘤的位置、大小及患者的身体状况, 对于已扩散至全身的晚期癌症患者而言, 其效果往往不尽如人意。

随着对肿瘤发病的分子机制与细胞功能认知的不断深化, 肿瘤新型治疗靶点的深度挖掘以及特征性标志物的精准识别, 肿瘤治疗迎来革新契机。肿瘤靶向治疗凭借高特异性、高亲和性, 精准聚焦肿瘤细胞“要害”, 有效规避对正常组织的不必要损伤, 克服传统治疗手段普适性有余而精准性欠佳的局限, 为肿瘤治疗策略开启新篇章。针对肿瘤特异性标志物开发的靶向治疗不仅具有长效性, 能够持

续监视并清除体内的癌细胞, 还因其对正常细胞的相对低毒性, 大大减少了传统治疗带来的副作用, 提高了患者的生存质量。

在众多潜在的肿瘤治疗靶点中, 受体酪氨酸激酶样孤儿受体1(receptor tyrosine-kinase-like orphan receptor 1, ROR1)因其独特的生物学特性和在多种疾病中的异常表达, 逐渐吸引了科学家们的广泛关注。ROR1作为一种跨膜受体蛋白, 自1992年首次人类神经母细胞瘤细胞系中被发现以来, 经过数十年的深入研究, 其在恶性肿瘤、缺血性疾病以及糖尿病等病理过程中的作用机制逐渐清晰^[2-5]。特别是在恶性肿瘤领域, ROR1的高表达与多种癌症的进展、转移及耐药性密切相关, 使其成为肿瘤免疫治疗领域极具潜力的新靶点。

通过靶向ROR1, 科学家们正努力开发一系列新型免疫疗法, 旨在通过抑制ROR1的功能或诱导针对ROR1的特异性免疫反应, 来阻断肿瘤的生长与扩散, 为癌症患者提供更加精准、有效的治疗选择。这一领域的研究不仅有望推动癌症治疗模式的根本变革, 也为其他难治性疾病的治疗提供了新的启示。

1 ROR家族

ROR家族包括ROR1和ROR2两个成员, 是受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase, RTK)家族中的跨膜蛋白。RORs最初是在对受体酪氨酸激酶进行PCR筛选时在神经母细胞瘤细胞系中发现的, 曾被命名为

神经营养酪氨酸激酶相关受体(NTRKR1/2)^[6]。

人类RORs的胞外区(extra-cellular domain, ECD)由位于氨基末端的免疫球蛋白样结构域(Ig-like domain)、富含半胱氨酸的卷曲结构域(Frizzled domain, CRD)及近膜端的环状结构域(kringle domain, KRD)构成。目前RORs的Ig-like结构域的具体功能尚未得到解析,但免疫球蛋白样结构域经常出现在各种类型的跨膜蛋白中,且该结构域一般参与蛋白质之间的相互作用,因此推测Ig-like结构域可能在某些方面有助于它们与配体的相互作用^[7]。CRD区域在整个Frizzled家族受体中都是保守的,是Wnt配体的结合位点^[8],可结合Wnt5a并介导非经典的Wnt信号通路,从而进行信号传递^[9];而KRD参与ROR1与ROR2形成寡聚体的过程,同时由于KRD结构域包含定义了多肽环的二硫桥,可借此参与蛋白质与蛋白质之间的相互作用。

ROR1和ROR2是相关蛋白,在进化过程中高度保守,主要在胚胎发育过程中表达。研究表明,ROR1在多种肿瘤类型中高表达,可作为异质性肿瘤细胞起源,从而促进肿瘤生长^[10],靶向ROR1可以提高患者对化疗的反应,是癌症治疗的理想靶点。相比之下,ROR2似乎具有双重作用,在不同肿瘤中发挥不同的功能。ROR2基因突变的人类和缺乏ROR2的小鼠表现出发育异常,包括侏儒症和心脏功能障碍。相反,缺乏ROR1的小鼠不会出现骨骼或心脏形态异常,但会在出生后24小时内因呼吸衰竭而死亡^[11]。

1.1 ROR1结构

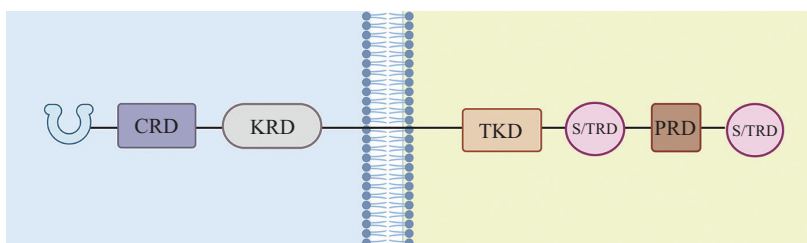
ROR1作为一种跨膜受体,包含胞外部分、跨膜部分和胞质区域,其胞外部分结构组成具有ROR家族分子的共性^[12],且其中CRD可通过招募含SH3结构域的蛋白来激活细胞迁移和增殖信号。胞质部分包括一个酪氨酸激酶结构域、两个丝氨酸/苏氨酸富集结构域和一个富脯氨酸结构域(图1)。

富含丝氨酸/苏氨酸的结构域与适配蛋白(如14-3-3 ζ)发生物理相互作用,从而导致细胞抗凋亡^[13]。ROR1的酪氨酸激酶结构域与Trk和MuSK相似,但有几个关键氨基酸与活性激酶的典型共识序列不同,故人们对ROR1的功能还存有一些疑问。通过 $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ 的激酶实验,实验人员发现携带从昆虫细胞中纯化的ROR1细胞内结构域的重组蛋白与其他活性酪氨酸激酶相比,缺乏强大的激酶活性,推测出现此结果的原因主要是由于激酶结构域中GXGXXG矩阵的几个高度保守的氨基酸发生了置换^[14]。

1.2 ROR1表达

ROR1起初是在血液恶性肿瘤中作为一种胚胎基因被发现的。多项研究结果显示,某些B细胞血液恶性肿瘤[如慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia, CLL)]细胞与正常B淋巴细胞相比,细胞中有更高的ROR1的转录水平^[15-16],而且ROR1蛋白在B-CLL细胞表面呈现均匀表达^[17]。此外,除骨髓中正常B细胞分化的早期阶段能观察到ROR1表达以外,ROR1还在中期和成熟的B细胞恶性肿瘤中能观察到^[16]。上述结果提示,ROR1表达的保留或重新激活在这些成熟的恶性B细胞克隆的细胞活力方面发挥了作用。

ROR1具有在多种肿瘤中表达的特性,但其在胚胎早期同样存在着较高水平的表达,且在胚胎发育过程中扮演着不可或缺的重要角色。与此同时,在部分成熟的成体细胞中,ROR1也维持着相对较低的表达量,其严格的低水平表达有效地确保了在正常生理状态下细胞分化、增殖、凋亡平衡。研究表明ROR1在胚胎早期发育过程中表达,然后在胚胎晚期和成熟的成体细胞中下调^[12]。在胚胎时期,ROR1具有较高表达量,对胚胎发育起重要作用。ROR1



CRD: 卷曲结构域; KRD: 环状结构域; TKD: 酪氨酸激酶结构域; PRD: 富脯氨酸结构域。

CRD: frizzled domain; KRD: kringle domain; TKD: tyrosine kinase-like domain; PRD: proline-rich domain.

图1 ROR1结构示意图

Fig.1 Schematic diagram of ROR1 structure

的缺失对心脏、骨骼、呼吸系统等组织器官发育起到一定的负面影响,甚至有致死的可能^[18-20]。早期对成人多种正常组织中ROR1蛋白表达的分析显示,ROR1蛋白在部分组织(如睾丸、子宫)中存在极低的表达量,但是在绝大多数组织样本中无表达^[17]。但近年来,通过使用ROR1特异性靶向单克隆抗体6D4 mAb标记,BASKAR等^[21]发现ROR1在几种正常组织(包括甲状旁腺、胰岛、食道、胃和十二指肠区域)上表达,且使用流式细胞术验证,细胞表面ROR1还存在于体外从脂肪细胞前体分化的脂肪细胞上。

作为受体酪氨酸激酶样孤儿受体家族的一员,ROR1在生物学特性上展现出了显著的独特性。在人体大部分正常组织中,ROR1的表达被严格限制在较低水平,这种精密的调控机制确保了生理状态下细胞分化、增殖与凋亡的平衡。然而,在多种恶性肿瘤的复杂环境中,ROR1却出现了异常高表达的现象,这不仅仅是一个简单的分子标记变化,它更深层次地揭示了肿瘤发生发展过程中细胞分化与增殖调控机制的紊乱。这种紊乱不仅为肿瘤细胞的无限增殖提供了条件,还通过影响细胞间的相互作用和信号转导网络,增强了肿瘤细胞的迁移、侵袭能力,以及对抗治疗药物的耐药性。由于其在部分成体细胞中的低表达,使用ROR1作为肿瘤治疗靶点时仍存在一定的风险,但其具备“在正常组织中表达被严格限制于较低水平,且在多种恶性肿瘤中异常高表达”这一特性,研究人员赋予了ROR1极高的临床价值,将其视为一种极具潜力和前景的新兴癌症预测标志物,提供了更为精准和早期的癌症诊断手段。

1.3 ROR1在肿瘤发展过程中的作用

多项研究表明,ROR1在肿瘤生长、发展与迁移过程中起到至关重要的作用^[22-25],其参与多种信号通路如非经典Wnt信号通路、PI3K/AKT/CREB信号、STAT3信号通路等的激活,从而促进肿瘤细胞增殖、迁移与抗凋亡。ROR1在多种肿瘤中过度表达,并与不良预后相关^[26-27]。因此,以ROR1为靶点的抑制策略能阻断其参与的信号通路,显著降低了肿瘤细胞的增殖和迁移活性,有效发挥了显著的肿瘤治疗效果。

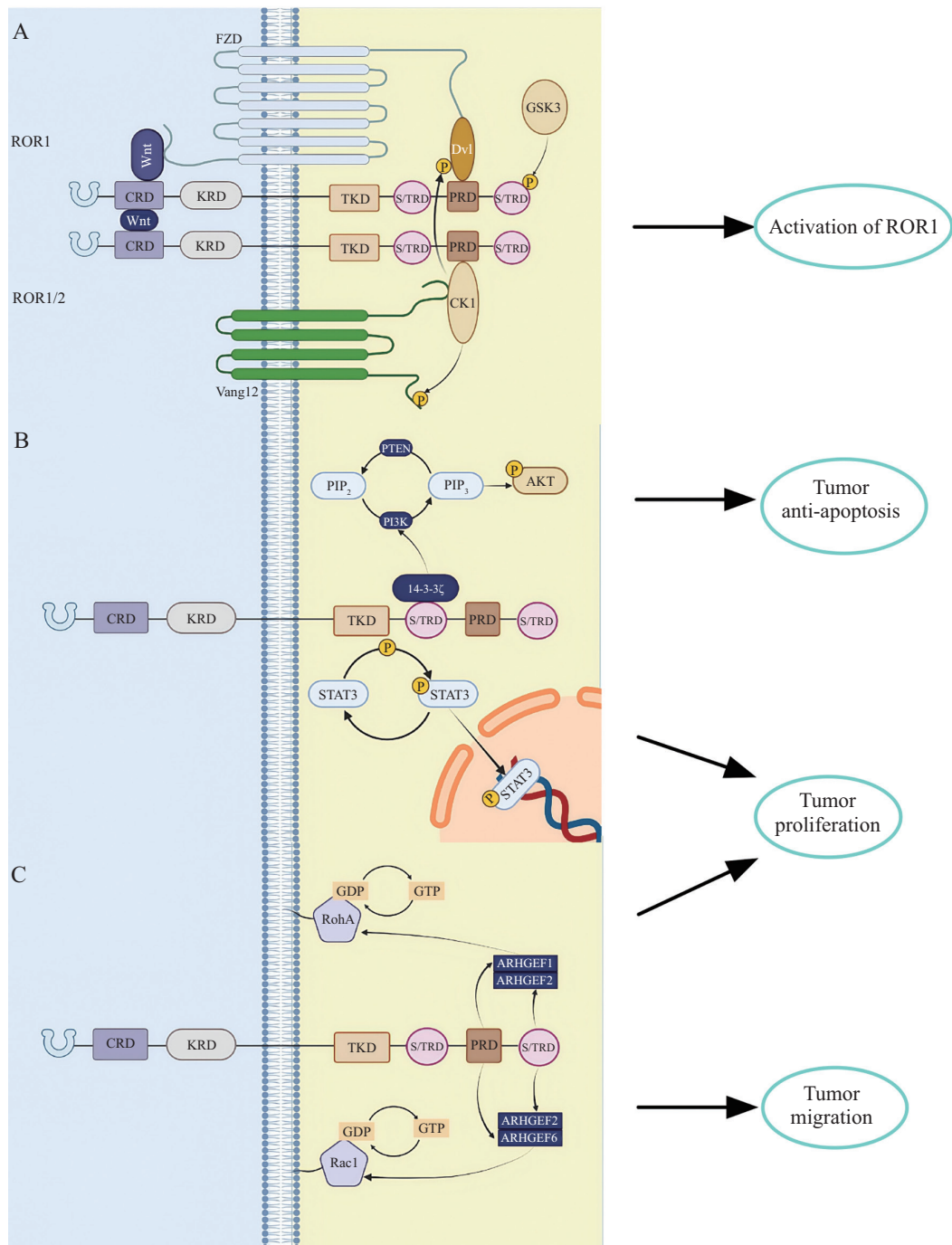
ROR1可作为Wnt5a信号的受体,从而诱导非经典Wnt信号,参与肿瘤细胞的定向迁移和平面细胞极性的形成^[28-29]。此外,CLL细胞中的Wnt5a可通过诱导ROR1/ROR2异源聚合(图2A),从而招募鸟嘌呤交换因子(guanine nucleotide-exchange factor, GEF)

激活Rho GTP酶(图2C)^[30],CLL的趋化与增殖能力得到增强,从而促进CLL细胞迁移^[31]。而近年来,又有研究发现Wnt5a可通过诱导ROR1依赖性皮质肌动蛋白磷酸化增强CLL细胞的迁移能力^[32]。

ZHANG等^[22]发现表达ROR1的细胞在体外具有更高的p-AKT、p-CREB水平和CREB靶基因表达量以及更快的细胞生长速度,而ROR1与酪蛋白激酶1 ϵ (casein kinase 1 ϵ , CK1 ϵ)相互作用可激活PI3K/AKT/CREB信号,进而诱导基因的表达,增强对细胞凋亡的抵抗力和/或促进肿瘤细胞的生长(图2B)。NKX2-1(又称TTF1和TTF-1)作为肺腺癌中的一种谱系存续癌基因(lineage-survival oncogene)能诱导ROR1的表达,维持促生存PI3K-AKT和促凋亡p38信号之间的有利平衡,进而对肺癌细胞发展起重要作用^[33],ROR1表达与肺腺癌的恶性特征明显相关,表明ROR1可作为肺腺癌患者的新型预后标志物^[34]。而对CLL细胞使用靶向ROR1的单克隆抗体诱导CLL凋亡时检测到其p-AKT、p-PI3K的p85亚型和p-mTOR水平降低,证明ROR1的异常表达可能与CLL细胞中PI3K/AKT通路相关^[35]。在卵巢癌细胞中,通过对ROR1进行敲除,证明其与Wnt5a介导的pERK/pAKT通路激活显著相关^[36]。

与此同时,ROR1可介导STAT3的自分泌激活,可能是STAT3/c-Myc通路的关键调控因子之一(图2B)^[37-38]。在白血病微环境中的CLL细胞中可检测到更高水平的ROR1与pSTAT3,CHEN等^[39]通过实验证明,在ROR1阳性的CLL中,Wnt5a可诱导STAT3磷酸化,而这一效应可被靶向ROR1的单克隆抗体药物阻断;而在缺乏ROR1表达的CLL细胞中,Wnt5a诱导pSTAT3的能力并不明显。IKEDA等^[40]通过间充质干细胞或基质细胞与胃癌细胞MKN45共培养,诱导MKN45细胞表达ROR1,从而激活STAT3信号通路,且通过与敲降ROR1的MKN45细胞对比,证实了ROR1可作用于STAT3信号通路以促进胃癌细胞的增殖和迁移。双氢青蒿素可阻断非小细胞肺癌中STAT3通路激活,从而抑制肿瘤生长,LI等^[41]通过引入外源ROR1,发现STAT3磷酸化水平显著提高,而阻断ROR1刚好相反,说明在非小细胞肺癌中,ROR1可能是STAT3通路的上游靶点之一。

高表达的ROR1在乳腺癌中起到提升肿瘤细胞迁移能力作用^[42],同时可促进肿瘤细胞的生长^[22],且这些乳腺癌细胞往往有较低分化能力,表达与上皮-间充



A: ROR1在Wnt5a信号作用下形成配体-受体复合物示意图。Wnt5a触发ROR1、ROR2、FZD和DVL的复合物形成,从而激活Wnt/PCP通路,其中ROR介导CK1对DVL和Vangl2的磷酸化,而GSK3被募集到受体复合物中,并在Wnt5a的刺激下磷酸化ROR^[8]; B: ROR1介导的PIP3/AKT与STAT3信号通路。ROR1激活PI3K并抑制PTEN,从而促进PIP3形成,PIP3将AKT募集到膜上并导致AKT磷酸化和激活。ROR1促进STAT3磷酸化,形成pSTAT3,随后pSTAT3进入细胞核,调控细胞增殖; C: ROR1募集GEF,激活Rac1和RhoA示意图。ROR1通过ARHGEF2(被Ser/Thr富集结构域募集)和ARHGEF6激活Rac1,通过ARHGEF1和ARHGEF2激活RhoA。

A: schematic diagram of the formation of a ligand-acceptor complex by ROR1 in response to Wnt5a signaling. Wnt5a triggers the formation of complexes of ROR1, ROR2, FZD, and DVL, thereby activating the Wnt/PCP pathway, where ROR mediates the phosphorylation of DVL and Vangl2 by CK1, and GSK3 is recruited into the receptor complex and phosphorylated ROR in response to Wnt5a^[8]; B: ROR1-mediated PIP3/AKT and STAT3 signaling pathways. ROR1 activates PI3K and inhibits PTEN, thereby promoting PIP3 formation, which recruits AKT onto the membrane and leads to AKT phosphorylation and activation. ROR1 promotes phosphorylation of STAT3 to form pSTAT3, which then enters the nucleus and regulates cell proliferation; C: schematic diagram of ROR1 recruiting GEF, activating Rac1 and RhoA. ROR1 activates Rac1 through ARHGEF2 (recruited by Ser/Thr enrichment domains) and ARHGEF6, and RhoA through ARHGEF1 and ARHGEF2.

图2 ROR1参与肿瘤发展相关信号通路示意图

Fig.2 Schematic diagram of tumor development-related signaling pathways involved in ROR1

质转化(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)相关的标记物^[43], 沉默ROR1有可能抑制与侵袭转移、细胞迁移受损, 以及细胞肿瘤自我更新相关的基因^[23]。近期还有实验证明, 沉默ROR1可显著降低乳腺癌细胞中的CSCs和EMT活性^[44]。在卵巢癌细胞中, 具有高ROR1水平的OC肿瘤富集了与癌症干细胞和EMT相关的基因的表达特征, 从而促进了癌细胞迁移、转移发展, 同时提高了其耐药性^[36]。FERNÁNDEZ等^[45]通过沉默ROR1, 证实ROR1在黑色素瘤细胞中促进了多种EMT相关中间充质标志物的表达, 同时使黑色素瘤细胞黏附性丧失、运动和迁移量增加。

此外, ROR1高表达的浸润性肺腺癌具有较低的分化程度, Ki-67指数高, 该类型的肿瘤细胞的增殖活性强, 恶性程度高^[46]。与此同时, ROR1可作为洞穴蛋白-1(cavin-1)和洞穴素-1(caveolin-1, CAV1)的支架(cavin-1与CAV1是洞穴的两种重要结构成分), 促进cavin-1和CAV1在质膜上的相互作用, 从而阻止CAV1在溶酶体上的降解^[47]。而在乳腺癌细胞Ovsaho中敲低ROR1后, 可观察到RhoA、BMI-1和YAP/TAZ的下调, 且YAP/TAZ的表达和核定位的增加是ROR1依赖性的^[48]。弥漫性浸润是胶质母细胞瘤治疗过程中耐药与复发的主要原因, 近期有研究人员通过实验证明, 在胶质母细胞瘤中, ROR1可与配体IGFBP5结合, 通过ROR1/HER2-CREB信号转导轴加速胶质母细胞瘤侵袭, 并促进肿瘤生长^[49]。

2 靶向ROR1的肿瘤治疗策略

ROR1肿瘤特异性的高表达为癌症治疗提供了新的靶点, 使得靶向ROR1的疗法成为了癌症治疗领域的热门研究方向。检测ROR1的表达水平可以更早期地识别出潜在的癌症风险, 评估患者的预后情况, 从而制定出更具针对性和有效的治疗方案。

为充分利用ROR1作为肿瘤治疗靶点的潜力, 研究人员正投入大量精力开发能够特异性识别并结合ROR1的靶向药物。这些靶向药物包括但不限于单克隆抗体、CAR-T细胞疗法、小分子抑制剂等(表1), 它们通过不同的机制作用于ROR1, 或阻断其信号转导通路, 或诱导肿瘤细胞凋亡, 从而达到治疗癌症的目的, 为癌症患者带来了新的希望和曙光。

2.1 靶向ROR1的单克隆抗体(monoclonal antibody, mAbs)

已有多个临床前试验和临床研究证明靶向

ROR1单克隆抗体药物具有显著疗效, 研究覆盖多种类型癌症, 包括但不限于白血病、淋巴瘤、乳腺癌、卵巢癌等。研究表明, 靶向ROR1的单克隆抗体不仅展现出了对肿瘤细胞的高效抑制作用, 还显著改善了患者的生存质量, 延长了生存期。更重要的是, 这些药物在治疗过程中往往表现出良好的靶向性和安全性, 减少了传统化疗药物常伴随的全身毒性和副作用, 为患者提供了新的治疗选择和希望^[43,50-51]。

作为一种靶向ROR1的单克隆药物, ZV(Zilovetamab, 也称Cimrutuzumab)可与ROR1的IG/FZD结构域特异性结合, 同时阻止ROR1与Wnt5a的结合^[39], 从而激活ERK1/2、NF- κ B和NRF2靶基因。对癌症晚期患者使用Cimrutuzumab后, 未显示出特殊毒性, 但展现出抗肿瘤活性, 同时起到抑制癌症的生长和转移的作用^[52]。Cimrutuzumab为选择性靶向ROR1作为一种潜在的癌症治疗新方法提供了新思路。在近年完成的一项涉及复发/难治性CLL患者的I期试验中, 将Cimrutuzumab应用于CLL治疗中可抑制白血病细胞对Rho-GTP酶和ROR1信号的激活。Cimrutuzumab还能逆转治疗前白血病的干性基因表达特征^[53]。除此以外, Wnt5a可诱导ROR1与皮质素结合, 使皮质素发生酪氨酸磷酸化, 而Cimrutuzumab可以抑制这种作用, 同时降低Wnt5a增强CXCL12定向的CLL细胞迁移的能力, 且Wnt5a募集和激活ARHGEF1的能力也可以被Cimrutuzumab阻断^[32]。

Cimrutuzumab也被广泛应用于与其他药物联合治疗。如近年研究人员将Cimrutuzumab与紫杉醇联合使用, 对乳腺癌进行治疗, 结果显示治疗效果比单独使用其中任何一种治疗手段更显著^[54]。同时, Cimrutuzumab与Ibrutinib/Docetaxel联用治疗CLL/转移性抗癌前列腺腺癌的临床试验也正在进行中。

而近期WEI等^[55]通过互补决定区(complement determine region, CDR)嫁接技术对小鼠杂交瘤的抗体进行了人源化处理, 构建了两种新的靶向ROR1的人源化单克隆抗体, 将这两种人源化单克隆抗体分别命名为h1B8与h6D4, 并通过体外小鼠实验, 证明它们抑制了ROR1高表达癌细胞的生长和迁移, 同时具有高效的抗肿瘤活性, 为靶向ROR1的单克隆抗体药物提供了新的研究方向。

2.2 靶向ROR1的CAR-T疗法

特异性嵌合抗原受体T细胞疗法(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)作为一种

表1 靶向ROR1的抗肿瘤药物研究进展

Table 1 Research progress on anti-tumor drugs targeting ROR1

药物类型	名称	适应症	研究阶段
Type of medication	Name	Indications	Research phase
mAb	Cirmtuzumab	CLL	Complete
	h1B8	BC, HCC	\
	h6D4		\
CAR-T	PRGN-3007	ROR1 ⁺ hematologic malignancies (including CLL, MCL, ALL and DLBCL) and solid tumors (TNBC)	Phase 1/1b clinical trial
	RD14-01		Phase 1/2 clinical trial
	LYL797	ROR1 ⁺ relapsed or refractory TNBC, NSCLC, OV (including platinum-resistant epithelial ovarian/fallopian tube/primary peritoneal cancer) or UCEC	Phase 1 clinical trial
	ONCT-808	BCL (including LBCL and MCL mantle cell lymphoma)	Phase 1/2 clinical trial
BsAb	EMB-07	Locally advanced/metastatic solid tumors or Relapsed/refractory lymphoma	Phase 1 clinical trial
	APVO-425	TNBC	Preclinical studies
	NVG-111	CLL, SLL, MCL, FL and DLBCL	Phase 1 clinical trial
Small molecule drugs	ARI-1	NSCLC	\
	KAN0439834	CLL and PAAD	\
	KAN0441571C	MCL	\
	PGG	PRAD	\
ADC	BT-1	CLL and MCL	\
	Zilovetamab Vedotin	DLBCL	Phase 2/3 clinical trial
	CS5001	A variety of hematologic and solid tumors	Phase 1 clinical trial

CLL: 慢性淋巴细胞白血病; BC: 乳腺癌; MCL: 套细胞淋巴瘤; HCC: 肝癌; ALL: 急性淋巴细胞白血病; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤; TNBC: 三阴性乳腺癌; NSCLC: 非小细胞肺癌; OV: 卵巢癌; UCEC: 子宫内膜癌; BCL: 侵袭性B细胞淋巴瘤; PAAD: 胰腺癌LBCL: 大B细胞淋巴瘤; SLL: 小淋巴细胞淋巴瘤; FL: 滤泡性淋巴瘤; DLBCL: 弥漫性大B细胞淋巴瘤; NHL: 非霍奇金淋巴瘤; PRAD: 前列腺癌。 \: 尚未进入临床实验阶段。 CLL: chronic lymphocytic leukemia; BC: breast cancer; MCL: mantle cell lymphoma; HCC: liver cancer; ALL: acute lymphoblastic leukemia; DLBCL: diffuse large B-cell lymphoma; TNBC: triple-negative breast cancer; NSCLC: non-small cell lung cancer; OV: ovarian cancer; UCEC: endometrial cancer; BCL: aggressive B-cell lymphoma; PAAD: pancreatic cancer LBCL: large B-cell lymphoma; SLL: small lymphocytic lymphoma; FL: follicular lymphoma; DLBCL: diffuse large B-cell lymphoma; NHL: non-Hodgkin lymphoma; PRAD: prostate cancer. \: it has not yet entered the clinical trial stage.

先进的免疫治疗方法, 被广泛应用于靶向ROR1的肿瘤免疫治疗中。它首先通过抽取患者的血液来获取T细胞, 接着在实验室中对这些T细胞进行提取和扩增。随后, 利用基因工程技术改造T细胞, 使它们能够表达针对ROR1的特异性受体。最后, 将这些改造后的T细胞回输到患者体内, 以精准地识别和杀伤ROR1阳性的肿瘤细胞, 从而达到治疗的目的。有实验结果证明, 表达ROR1特异性CAR的CD8⁺T细胞在体外能选择性裂解原发性B-CLL和MCL, 但不能裂解正常的成熟B细胞^[56], 这表明ROR1特异性T细胞疗法可能是治疗ROR1阳性B细胞肿瘤患者的有效方法。

近年来, 多个靶向ROR1的CAR-T临床项目处于研发中, 其中包括国内生物公司的RD14-01、国外Lyell Immunopharma的LYL797、Precigen的PRGN-

3007以及Oncternal的ONCT-808。其中PRGN-3007 T细胞是自体T细胞, 目前正处于旨在评估该疗法在治疗中的安全性和有效性的1/1b期临床试验中, 其通过离体基因修饰, 使其具有表达ROR1特异性嵌合抗原受体(ROR1 CAR)与膜结合白细胞介素15(mbIL15)的能力, 同时它还能产生源自截短型人类表皮生长因子受体(HER1t)的杀伤开关, 其携带的内置机制可用于内在下调UltraCAR-T细胞上的程序性细胞死亡受体1(programmed death 1, PD-1)的表达。而LYL797结合了遗传和表观遗传重编程技术, 旨在克服实体瘤中CAR-T细胞疗法的障碍, 其通过过表达c-Jun来抵抗T细胞的衰竭, 并使用Epi-R技术制造, 以产生具有干细胞特性的T细胞群体, 这些细胞可减少T细胞的衰竭, 促进T细胞增殖及具有抗肿瘤活性。2024年6月公布的初步临床数据中显示

LYL797在三阴性乳腺癌(triple-negative breast cancer, TNBC)患者中显示出剂量依赖性的抗肿瘤临床活性, 这些数据表明LYL797 CAR T细胞在复发/难治性疾病患者中具有增殖、浸润肿瘤和杀死癌细胞的能力, 为实体瘤患者提供了一种潜在的新治疗选择。

此外, TRAN等^[57]构建了一种新型ROR1 CAR-1 T细胞, 其携带有自主开发的全人源结合域ScFv9, 同时CAR-1在体外可产生针对造血细胞与实体瘤细胞的促炎细胞因子IFN- γ 、TNF- α 等, 在体内抗癌时表现出强效的抗肿瘤能力和促进T细胞扩增的能力。

2.3 靶向ROR1的BiTE

双特异性抗体(bispecific antibody, BsAbs)与传统的单克隆抗体不同, 它可以同时靶向肿瘤细胞上的两个不同的抗原, 或者同时靶向免疫系统中的两个不同的分子, 从而更有效地激活免疫反应或抑制肿瘤生长。迄今为止, 大多数用于癌症治疗的双特异性抗体都被设计用于将免疫效应细胞重新定向到肿瘤细胞, 以增强对肿瘤的杀伤力^[58-59]。

双特异性T细胞衔接器(bispecific T-cell engager, BiTE)是一种双特异性抗体, 其设计理念是将两种不同特异性单链抗体通过一条短肽连接起来, 形成一种双特异性分子, 旨在通过连接T细胞和肿瘤细胞来重定向T细胞对肿瘤的细胞毒性作用。1995年, KUFER及其合作者^[60]在CHO细胞中制备出了这种针对EpCA和人类CD3的串联单链可变片段(single chain antibody fragment, scFv)。其上有两个不同的抗原结合位点, 一个用于结合T细胞上的CD3分子, 另一个用于结合肿瘤细胞上的特定抗原^[61], 大部分癌症特异性靶点都是嵌入癌细胞细胞膜的蛋白质^[62]。

靶向ROR1的BiTE能够特异性地结合ROR1阳性肿瘤细胞, 并激活T细胞对肿瘤细胞的杀伤作用, 达到治疗肿瘤的目的。靶向ROR1不仅能够特异地识别肿瘤抗原, 还具备诱导T细胞/与其他治疗联用高效杀伤肿瘤细胞而对机体低伤害的特点。靶向ROR1的BiTE结合了mAb的现成可用性和CAR-T细胞的T细胞诱导效力, 可为表达ROR1的癌症患者提供一种两全其美的选择^[63]。

NVG-111是一种人源化靶向ROR1与CD3的双特异性抗体, 先前已被证明这种抗体通过与ROR1的Wnt5a结合Frizzled结构域中的膜近端表位结合并在体外和体内诱导T细胞对肿瘤细胞的杀伤, 可在体外和体内对肿瘤细胞产生强效杀伤作用^[64], 其在临床

研究中展现出的疗效和安全性, 为癌症治疗提供了新的思路和方法。

GOHIL等^[65]通过实验证明ROR1 BiTE在体外极低的浓度(0.1 ng/mL)和较低的效应物以及低靶细胞比率下可对表达ROR1的胰腺癌细胞产生T细胞介导的抗原特异性细胞毒性。这种ROR1靶向的BiTE能防止胰腺肿瘤异种移植在小鼠模型中的移植, 缩减已形成的皮下胰腺肿瘤的大小(至少缩减为三分之一体积)。研究人员通过在体外、体内环境中进行实验, 证明了ROR1 BiTE对卵巢癌的显著细胞毒性, 以及对一系列组织学上不同的实体瘤细胞系的T细胞介导杀伤作用。

同时, 靶向ROR1的BiTE在ROR1⁺的癌细胞株中产生的细胞毒性比靶向Ig-like的BiTE持续时间更长、更强烈且可重复, 且其体外、体内和离体均显示出有效的选择性抗肿瘤活性。虽然目前ROR1 ECD的三维结构未有明确的报道, 但通过多种手段预测, 可推断Fz结构域中的BiTE表位比Ig结构域中的BiTE表位更贴近于细胞膜, 从而有利于促进T细胞和肿瘤细胞之间细胞溶解突触的形成^[63]。

2.4 靶向ROR1的小分子药物

靶向ROR1的小分子抑制剂治疗肿瘤的研究目前于起始阶段, LIU等^[66]通过计算机辅助药物设计, 同时基于细胞进行活性筛选出了一种新型的靶向ROR1的小分子ARI-1, 证实了ARI-1可通过ROR1依赖性方式调节PI3K/AKT/mTOR信号转导, 有效抑制了NSCLC细胞的增殖和迁移, 在体内显著抑制了肿瘤生长, 且无明显毒性。

GHADERI等^[67]通过对比小分子抑制剂KAN0441571C单独使用与和其他药物(Ibrutinib、Venetoclax、Idelalisib、Everolimus等)联用对套细胞淋巴瘤(mantle cell lymphoma, MCL)细胞的影响, 证实KAN0441571C具有诱导MCL细胞凋亡的能力, 且与多种药物联用可增强对ROR1的抑制作用, 显著阻止ROR1相关信号分子的磷酸化。

PGG(penta galloyl glucose)是一种植物来源的小分子抑制剂, 可调节ROR1介导的致癌信号转导并减轻前列腺癌表型。SIVAGANESH等^[68]通过实验证明, PGG对前列腺癌PC3细胞具有选择性细胞毒性, 并可诱导PC3凋亡, 与此同时, PGG可抑制PC3细胞中的ROR1和下游致癌途径, 说明PGG可能是一种选择性且有效的抗癌剂, 能够治疗表达ROR1的前列

腺癌。

2.5 靶向ROR1的抗体偶联药物(ADC)

免疫毒素是由具有特异性的靶抗原结合的配体或单克隆抗体和介导靶细胞杀伤的毒素(一般来自植物或细菌)组成的融合蛋白。BASKAR等^[69]验证了一种由截短的假单胞菌外毒素A(PE38)和2A2-IgG的VH和VL片段重组而成的靶向ROR1的免疫毒素BT-1,对CLL和MCL患者的恶性B细胞具有特异性的亲和能力,同时,BT-1可选择性诱导表达ROR1蛋白的细胞凋亡。

由Oncternal Therapeutics Inc研发的Zilovetamab Vedotin(也称VLS-101或MK-2140)是一种新型抗体-活性分子偶联物,由靶向ROR1的人源化单克隆抗体Zilovetamab和抗微管细胞毒素单甲基奥瑞他汀E(monomethyl auristatin E, MMAE)被蛋白酶切割的特定连接子连接而成,可通过与肿瘤细胞表面的ROR1结合,导致ADC复合物快速内化并进入溶酶体。在溶酶体内,ADC复合物裂解,释放出MMAE,该毒素能够抑制微管聚合,从而诱导细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用^[70]。

基石药业的CS5001处于临床I期,适应症涵盖血液瘤和实体瘤。CS5001通过定点偶联技术,结合了特有的 β -葡萄糖苷酸连接子和吡咯并苯二氮卓类(PBD)前毒素二聚体。其连接子和前毒素在血液流通中保持稳定的结构,但它们在遭遇癌细胞时,由于癌细胞内 β -葡萄糖醛酸酶的异常高表达,内源性含葡萄糖醛酸的糖醛酸聚糖会被该酶精准识别并切割。这种特异性作用导致PBD前毒素仅在肿瘤细胞内部被选择性释放,从而实现精准靶向肿瘤的治疗目的^[71]。同时,CS5001利用定点偶联技术获得精准的药物抗体比率,使均质生产及大规模生产便于实现。

3 问题与展望

鉴于ROR1在肿瘤细胞表面所展现出的独特且高度显著的表达模式,这一特性使其成为肿瘤生物学领域研究的热点。大量研究已揭示了ROR1参与调控肿瘤发展、增殖、迁移及侵袭等多种关键过程,其功能的多样性和重要性为肿瘤学基础与临床研究开辟了新路径。随着科研人员对ROR1分子结构、特异性表达谱及深层作用机制的持续深入剖析,ROR1不仅被广大学者广泛接纳为肿瘤发生发展的

重要标志物,更在肿瘤早期诊断中占据了举足轻重的地位,其检测结果的准确性对于患者预后评估及治疗方案的选择具有指导意义。

ROR1作为一个极具潜力的治疗靶点,正逐步在癌症治疗领域展现其独特价值。科学家们利用先进的生物技术和分子生物学手段,正在开发针对ROR1的多种靶向治疗药物,如单克隆抗体、BiTE和CAR-T细胞疗法等,旨在通过精准识别肿瘤细胞表面的ROR1,阻断其介导的信号通路,从而有效抑制肿瘤生长并促进肿瘤细胞的清除。这些创新疗法正逐步从实验室研究成果转化为临床治疗方案,为患者提供了除传统放化疗之外的更多选择,预示着肿瘤治疗新时代的到来。

然而,值得注意的是,ROR1在部分正常人体组织中的低水平表达也引发了人们对靶向治疗安全性的关注^[72]。尤其是在采用单克隆抗体或CAR-T细胞疗法时,可能存在非特异性结合健康细胞、引发免疫反应或导致肿瘤外毒性的风险。因此,如何优化靶向ROR1的治疗策略,提高治疗的特异性和安全性,成为当前研究的重要方向。首先,科学家们正致力于开发新型抗体药物,改良抗体结构、增强亲和力与特异性。其次,与其他治疗手段,如双特异性抗体、放化疗和溶瘤病毒治疗等联合,以期在最大限度杀伤肿瘤细胞的同时,减少对正常组织的损害。本实验室利用溶瘤腺病毒携带靶向ROR1的BiTE构建了携带靶向ROR1的BiTE的溶瘤腺病毒,并进行了体内外抗结直肠癌生长的实验研究,结果表明携带靶向ROR1的BiTE的溶瘤腺病毒有效抑制了结直肠癌移植瘤生长,并具有较好的安全性。

ROR1作为肿瘤免疫治疗领域的明星靶点,其应用前景极为广阔。随着科研的深入和技术的不断进步,我们有理由相信,通过进一步揭示ROR1与其他分子通路的复杂网络关系,精准调控其生物学功能,并结合多种创新治疗手段,如CAR-T、单克隆抗体及基因编辑技术等,将能够开发出更加精准、高效、安全的肿瘤治疗策略。这不仅将极大提升癌症患者的生存率和生活质量,也将为人类最终攻克癌症这一全球健康挑战贡献重要力量。

参考文献 (References)

- [1] BRAY F, LAVERSANNE M, SUNG H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality

- worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-63.
- [2] MARÍA JOSEFINA Q, PABLO L B. The signaling pathways activated by ROR1 in cancer [J]. *Cell Signal*, 2023, 104: 110588.
 - [3] CETIN M, ODABAS G, DOUGLAS L R, et al. ROR1 Expression and its functional significance in hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cells*, 2019, 8(3): 210.
 - [4] SIVAGANESH V, PEETHAMBARAN B. Receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1 inhibitor strictinin exhibits anti-cancer properties against highly aggressive androgen-independent prostate cancer [J]. *Explor Target Antitumor Ther*, 2023, 4(6): 1188-209.
 - [5] FULTANG N, ILLENDULA A, LIN J, et al. ROR1 regulates chemoresistance in breast cancer via modulation of drug efflux pump ABCB1 [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 1821.
 - [6] BORCHERDING N, KUSNER D, LIU G H, et al. ROR1, an embryonic protein with an emerging role in cancer biology [J]. *Protein Cell*, 2014, 5(7): 496-502.
 - [7] YODA A, OISHI I, MINAMI Y. Expression and function of the Ror-family receptor tyrosine kinases during development: lessons from genetic analyses of nematodes, mice, and humans [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2003, 23(1): 1-15.
 - [8] KAMIZAKI K, MINAMI Y, NISHITA M. Role of the Ror family receptors in Wnt5a signaling [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2024, 60(5): 489-501.
 - [9] SATO A, YAMAMOTO H, SAKANE H, et al. Wnt5a regulates distinct signalling pathways by binding to Frizzled2 [J]. *EMBO J*, 2010, 29(1): 41-54.
 - [10] YAMAZAKI M, HINO S, USUKI S, et al. YAP/BRD4-controlled ROR1 promotes tumor-initiating cells and hyperproliferation in pancreatic cancer [J]. *EMBO J*, 2023, 42(14): e112614.
 - [11] BROOME H E, RASSENTI L Z, WANG H Y, et al. ROR1 is expressed on hematogones (non-neoplastic human B-lymphocyte precursors) and a minority of precursor-B acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leuk Res*, 2011, 35(10): 1390-4.
 - [12] MASIAKOWSKI P, CARROLL R D. A novel family of cell surface receptors with tyrosine kinase-like domain [J]. *J Biol Chem*, 1992, 267(36): 26181-90.
 - [13] YU J, CHEN L, CHEN Y, et al. Wnt5a induces ROR1 to associate with 14-3-3 ζ for enhanced chemotaxis and proliferation of chronic lymphocytic leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2017, 31(12): 2608-14.
 - [14] BAINBRIDGE T W, DEALMEIDA V I, IZRAEL-TOMASEVIC A, et al. Evolutionary divergence in the catalytic activity of the CAM-1, ROR1 and ROR2 kinase domains [J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102695.
 - [15] ZHAO Y, ZHANG D, GUO Y, et al. Tyrosine kinase ROR1 as a target for anti-cancer therapies [J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 680834.
 - [16] BICOCCA V T, CHANG B H, MASOULEH B K, et al. Cross-talk between ROR1 and the Pre-B cell receptor promotes survival of t(1;19) acute lymphoblastic leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2012, 22(5): 656-67.
 - [17] BASKAR S, KWONG K Y, HOFER T, et al. Unique cell surface expression of receptor tyrosine kinase ROR1 in human B-cell chronic lymphocytic leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(2): 396-404.
 - [18] NOMI M, OISHI I, KANI S, et al. Loss of mRor1 enhances the heart and skeletal abnormalities in mRor2-deficient mice: redundant and pleiotropic functions of mRor1 and mRor2 receptor tyrosine kinases [J]. *Mol Cell Biol*, 2001, 21(24): 8329-35.
 - [19] PAGANONI S, FERREIRA A. Neurite extension in central neurons: a novel role for the receptor tyrosine kinases Ror1 and Ror2 [J]. *J Cell Sci*, 2005, 118(Pt 2): 433-46.
 - [20] TAKERU M, MASASHI N, MAKOTO I, et al. Expression of the receptor tyrosine kinase genes, Ror1 and Ror2, during mouse development [J]. *Mech Dev*, 2001, 105(1/2): 153-6.
 - [21] HUDECEK M, SCHMITT T M, BASKAR S, et al. The B-cell tumor-associated antigen ROR1 can be targeted with T cells modified to express a ROR1-specific chimeric antigen receptor [J]. *Blood*, 2010, 116(22): 4532-41.
 - [22] ZHANG S, CHEN L, CUI B, et al. ROR1 is expressed in human breast cancer and associated with enhanced tumor-cell growth [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e31127.
 - [23] ISLAM S S, UDDIN M, NOMAN A S M, et al. Antibody-drug conjugate T-DM1 treatment for HER2⁺ breast cancer induces ROR1 and confers resistance through activation of Hippo transcriptional coactivator YAP1 [J]. *EBioMedicine*, 2019, 43: 211-24.
 - [24] LIU Y, YANG H, CHEN T, et al. Silencing of receptor tyrosine kinase ROR1 inhibits tumor-cell proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in lung adenocarcinoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127092.
 - [25] ISOMURA H, TAGUCHI A, KAJINO T, et al. Conditional Ror1 knockout reveals crucial involvement in lung adenocarcinoma development and identifies novel HIF-1 α regulator [J]. *Cancer Sci*, 2021, 112(4): 1614-23.
 - [26] NEHAL ABD EL-GHAFFAR H, SARA A D, ASMAA MUSTAFA E. Evaluation of the prognostic significance of receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1 (ROR1) in lung carcinoma and its relation to lymphangiogenesis and epithelial mesenchymal transition [J]. *Pathol Res Pract*, 2023, 248: 154703.
 - [27] RASO M G, BARRIENTOS TORO E, EVANS K, et al. Heterogeneous profile of ROR1 protein expression across tumor types [J]. *Cancers*, 2024, 16(10): 1874.
 - [28] FUKUDA T, CHEN L, ENDO T, et al. Antisera induced by infusions of autologous Ad-CD154-leukemia B cells identify ROR1 as an oncofetal antigen and receptor for Wnt5a [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(8): 3047-52.
 - [29] WITZE E S, LITMAN E S, ARGAST G M, et al. Wnt5a control of cell polarity and directional movement by polarized redistribution of adhesion receptors [J]. *Science*, 2008, 320(5874): 365-9.
 - [30] YU J, CHEN L, CUI B, et al. Wnt5a induces ROR1/ROR2 heterooligomerization to enhance leukemia chemotaxis and proliferation [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(2): 585-98.
 - [31] HASAN M K, YU J, CHEN L, et al. Wnt5a induces ROR1 to complex with HS1 to enhance migration of chronic lymphocytic leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2017, 31(12): 2615-22.
 - [32] HASAN M K, RASSENTI L, WIDHOPF G F, et al. Wnt5a causes ROR1 to complex and activate cortactin to enhance migration of chronic lymphocytic leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2019, 33(3): 653-61.
 - [33] YAMAGUCHI T, YANAGISAWA K, SUGIYAMA R, et al. NKX2-1/TITF1/TTF-1-Induced ROR1 is required to sustain EGFR survival signaling in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer*

- Cell, 2012, 21(3): 348-61.
- [34] ZHENG Y Z, MA R, ZHOU J K, et al. ROR1 is a novel prognostic biomarker in patients with lung adenocarcinoma [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36447.
- [35] DANESHMANESH A H, FARSANGI M H, MOSHFEGH A, et al. Apoptosis induction mediated through PI3-kinase/AKT/mTOR pathway using anti-ROR1 monoclonal antibody in chronic lymphocytic leukemia cells [J]. *JCO*, 2013, 31(15_suppl): 7087.
- [36] PIKI E, DINI A, RAIVOLA J, et al. ROR1-STAT3 signaling contributes to ovarian cancer intra-tumor heterogeneity [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 222.
- [37] YANPING L, HAOYI S, CAIHONG B, et al. Dihydroartemisinin inhibits tumor progress via blocking ROR1-induced STAT3-activation in non-small cell lung cancer [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 133: 112157.
- [38] YUN C, LIGUANG C, JIAN Y, et al. Cirmtuzumab blocks Wnt5a/ROR1 stimulation of NF- κ B to repress autocrine STAT3 activation in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Blood*, 2019, 134(13): 1084-94.
- [39] CHEN Y, CHEN L, YU J, et al. Cirmtuzumab blocks Wnt5a/ROR1 stimulation of NF- κ B to repress autocrine STAT3 activation in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Blood*, 2019, 134(13): 1084-94.
- [40] IKEDA T, NISHITA M, HOSHI K, et al. Mesenchymal stem cell-derived CXCL16 promotes progression of gastric cancer cells by STAT3-mediated expression of Ror1 [J]. *Cancer Sci*, 2020, 111(4): 1254-65.
- [41] LI Y, SUN H, BAI C, et al. Dihydroartemisinin inhibits tumor progress via blocking ROR1-induced STAT3-activation in non-small cell lung cancer [J]. *Int Immunopharmacol*, 2024, 133: 112157.
- [42] OBRADOVIĆ M M S, HAMELIN B, MANEVSKI N, et al. Glucocorticoids promote breast cancer metastasis [J]. *Nature*, 2019, 567(7749): 540-4.
- [43] ZHANG S, ZHANG H, GHIA E M, et al. Inhibition of chemotherapy resistant breast cancer stem cells by a ROR1 specific antibody [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(4): 1370-7.
- [44] ISLAM S S, AL-TWEIGERI T, AL-HARBI L, et al. Long non-coding RNA DLEU2 and ROR1 pathway induces epithelial-to-mesenchymal transition and cancer stem cells in breast cancer [J]. *Cell Death Discov*, 2024, 10(1): 61.
- [45] FERNÁNDEZ N B, LORENZO D, PICCO M E, et al. ROR1 contributes to melanoma cell growth and migration by regulating N-cadherin expression via the PI3K/Akt pathway [J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(11): 1772-85.
- [46] 沈旺寻, 杨银煜, 李灿伟, 等. ROR1在不同组织学分级浸润性肺腺癌中的表达与临床意义[J]. 昆明医科大学学报(SHEN W X, YANG Y Y, LI C W, et al. Expression and clinical significance of ror1 in different histologic types of invasive lung adenocarcinoma [J]. *Journal of Kunming Medical University*, 2024, 45(5): 60-5.
- [47] YAMAGUCHI T, LU C, IDA L, et al. ROR1 sustains caveolae and survival signalling as a scaffold of cavin-1 and caveolin-1 [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 10060.
- [48] KARVONEN H, ARJAMA M, KALEVA L, et al. Glucocorticoids induce differentiation and chemoresistance in ovarian cancer by promoting ROR1-mediated stemness [J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(9): 790.
- [49] LIN W, NIU R, PARK S M, et al. IGFBP5 is an ROR1 ligand promoting glioblastoma invasion via ROR1/HER2-CREB signaling axis [J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 1578.
- [50] DANESHMANESH A H, HOJJAT-FARSANGI M, KHAN A S, et al. Monoclonal antibodies against ROR1 induce apoptosis of chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells [J]. *Leukemia*, 2012, 26(6): 1348-55.
- [51] YIN Z, GAO M, CHU S, et al. Antitumor activity of a newly developed monoclonal antibody against ROR1 in ovarian cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 94210-22.
- [52] WANG M L, BARRIENTOS J C, FURMAN R R, et al. Zilover-tamab vedotin targeting of ROR1 as therapy for lymphoid cancers [J]. *NEJM Evid*, 2022, 1(1): EVIDoa2100001.
- [53] CHOI M Y, WIDHOPF G F 2nd, GHIA E M, et al. Phase I Trial: Cirmtuzumab inhibits ROR1 signaling and stemness signatures in patients with chronic lymphocytic leukemia [J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 22(6): 951-9.e3.
- [54] SHATSKY R A, BATRA-SHARMA H, HELSTEN T, et al. A phase 1b study of zilover-tamab in combination with paclitaxel for locally advanced/unresectable or metastatic Her2-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2024, 26(1): 32.
- [55] WEI R, LIAO X, LI J, et al. Novel humanized monoclonal antibodies against ROR1 for cancer therapy [J]. *Mol Cancer*, 2024, 23(1): 165.
- [56] MICHAEL H, THOMAS M S, SIVASUBRAMANIAN B, et al. The B-cell tumor-associated antigen ROR1 can be targeted with T cells modified to express a ROR1-specific chimeric antigen receptor [J]. *Blood*, 2010, 116(22): 4532-41.
- [57] TRAN T M, CHAND THAKURI B K, NURMUKHAMBE-TOVA S, et al. Armored TGF β RIIDN ROR1-CAR T cells reject solid tumors and resist suppression by constitutively-expressed and treatment-induced TGF β 1 [J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(4).
- [58] DHIMOLEA E, REICHERT J M. World bispecific antibody summit, september 27-28, 2011, Boston, MA [J]. *MAbs*, 2012, 4(1): 4-13.
- [59] CHITADZE G, LAQUA A, LETTAU M, et al. Bispecific antibodies in acute lymphoblastic leukemia therapy [J]. *Expert Rev Hematol*, 2020, 13(11): 1211-33.
- [60] MACK M, RIETHMÜLLER G, KUFER P. A small bispecific antibody construct expressed as a functional single-chain molecule with high tumor cell cytotoxicity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(15): 7021-5.
- [61] CHOI B D, CAI M, BIGNER D D, et al. Bispecific antibodies engage T cells for antitumor immunotherapy [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(7): 843-53.
- [62] YANG F, WEN W, QIN W. Bispecific antibodies as a development platform for new concepts and treatment strategies [J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 18(1): 48.
- [63] QI J, LI X, PENG H, et al. Potent and selective antitumor activity of a T cell-engaging bispecific antibody targeting a membrane-proximal epitope of ROR1 [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(24): E5467-e76.
- [64] GRANGER D, GOHIL S, BARBARULO A, et al. NVG-111, a novel ROR1xCD3 bispecific antibody for non-Hodgkin lymphoma [J]. *JCO*, 2021, 39(15_suppl): 7549.

- [65] GOHIL S H, PAREDES-MOSCOSSO S R, HARRASSER M, et al. An ROR1 bi-specific T-cell engager provides effective targeting and cytotoxicity against a range of solid tumors [J]. *Oncoimmunology*, 2017, 6(7): e1326437.
- [66] XUESHA L, WENCHEN P, HUAIYU H, et al. Novel ROR1 inhibitor ARI-1 suppresses the development of non-small cell lung cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 458: 76-85.
- [67] GHADERI A, ZHONG W, OKHOVAT M A, et al. A ROR1 small molecule inhibitor (KAN0441571C) induced significant apoptosis of mantle cell lymphoma (MCL) cells [J]. *Pharmaceutics*, 2022, 14(10): 2238.
- [68] SIVAGANESH V, TA T M, PEETHAMBARAN B. pentagalloyl glucose (PGG) exhibits anti-cancer activity against aggressive prostate cancer by modulating the ROR1 mediated AKT-GSK3 β pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(13): 7003.
- [69] BASKAR S, WIESTNER A, WILSON W H, et al. Targeting malignant B cells with an immunotoxin against ROR1 [J]. *MAbs*, 2012, 4(3): 349-61.
- [70] JIANG V C, LIU Y, JORDAN A, et al. The antibody drug conjugate VLS-101 targeting ROR1 is effective in CAR T-resistant mantle cell lymphoma [J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1): 132.
- [71] GREGSON S J, BARRETT A M, PATEL N V, et al. Synthesis and evaluation of pyrrolobenzodiazepine dimer antibody-drug conjugates with dual β -glucuronide and dipeptide triggers [J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 179: 591-607.
- [72] LAMERS C H, SLEIJFER S, VAN STEENBERGEN S, et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with CAIX CAR-engineered T cells: clinical evaluation and management of on-target toxicity [J]. *Mol Ther*, 2013, 21(4): 904-12.