

通用型 CAR-T 细胞药物的开发策略及临床研究进展

王 辰, 张正平, 李盈淳*

(正大天晴药业集团股份有限公司研究院, 南京 211100)

摘 要 嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫疗法已在多种血液肿瘤的临床治疗中取得了突破性进展。然而,目前国内外获批上市的 CAR-T 细胞产品均属于自体 CAR-T。相比于自体 CAR-T 治疗,通用型 CAR-T 优势显著,可满足更多患者的治疗需求,但同时也具有较高的技术壁垒。本文围绕通用型 CAR-T 进行综述,明确指出通用型 CAR-T 发展面临的两大挑战,并从引起两大难题的机制出发总结分析可行的解决策略,同时对国内外通用型 CAR-T 布局企业及其优势产品的最新临床进展进行综述,从另一方面探讨开发策略的可行性,以期开发新一代通用型 CAR-T 细胞治疗产品提供思路。

关键词 CAR-T; 同种异体; 免疫排斥; 基因编辑; 临床研究; 进展

中图分类号 R730.51 **文献标志码** A **文章编号** 1000-5048(2023)02-0141-09

doi: 10.11665/j.issn.1000-5048.20211125001

引用本文 王辰,张正平,李盈淳.通用型 CAR-T 细胞药物的开发策略及临床研究进展[J].中国药科大学学报,2023,54(2):141-149.

Cite this article as: WANG Chen, ZHANG Zhengping, LI Yinchun. Development strategy and clinical research progress of universal chimeric antigen receptor T-cell drugs[J]. J China Pharm Univ, 2023, 54(2): 141 - 149.

Development strategy and clinical research progress of universal chimeric antigen receptor T-cell drugs

WANG Chen, ZHANG Zhengping, LI Yinchun*

Chia-Tai Tianqing Pharmaceutical Group Co., Ltd. Research Institute, Nanjing 211100, China

Abstract Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) immunotherapy has made a breakthrough in the clinical treatment of a variety of hematological tumors. However, the CAR-T cell products listed at China and abroad are all autologous CAR-T. Compared with autologous CAR-T treatment, universal CAR-T exhibits significant advantages, which could fulfill the treatment demand of more patients, but also displays high technical barriers. This paper reviews the universal CAR-T, clearly points out the two major challenges faced by the development of universal CAR-T, and then summarizes and analyzes the feasible solutions according to the mechanism causing the two major problems. This paper also summarizes domestic and foreign companies producing universal CAR-T and the latest clinical progress of their superior products, and then discusses the feasibility of the development strategy from another aspect, in order to provide ideas for developing a new generation of universal CAR-T cell therapy products.

Key words CAR-T; allogeneic; immune rejection; gene editing; clinical research; progress

近年来,免疫疗法已成为继手术治疗、放化疗和靶向药物治疗之后另一种新型的肿瘤治疗手段^[1]。其中,CAR-T作为肿瘤免疫治疗的新疗法,已在多种血液肿瘤的临床治疗中显示出了卓越的疗效^[2]。截至2022年12月,美国食品药品监督管理局

(FDA)已经批准了6款自体CAR-T产品上市,国家药品监督管理局(national medical products administration, NMPA)也于2021年先后批准了两款自体CAR-T产品上市。而自体CAR-T细胞药物的广泛应用仍存在着诸多限制。首先,自体CAR-T细胞

药物属于“个性化”产品,不利于规模化和标准化,且患者等待时间漫长^[3];其次,患者体内T细胞数量和质量往往难以满足体外扩增要求,致使CAR-T制备失败率高;此外,自体CAR-T细胞制备过程中易存在患者自身肿瘤细胞的污染,而肿瘤细胞经过慢病毒转导后亦可表达CAR,其表面抗原可通过与自身CAR结合而逃避CAR-T细胞的靶向攻击,最终导致临床治疗效果不佳^[4];最后,由于自体CAR-T细胞产品的“个性化”特点及复杂性,其硬件及软件成本均颇高,因而定价高昂,患者可及性存在困难^[5]。基于自体CAR-T细胞药物所面临的局限和挑战,通用型CAR-T(universal CAR-T, UCAR-T)疗法展现显著优势。通用型CAR-T又称同种异体CAR-T,是从健康供者体内采集T细胞,并在体外通过基因工程技术改造后大规模扩增,制备成现货型的细胞药物。由于其来源于健康供者,不受患者T细胞数量和质量影响,制备成功率高,单批次可满足上百人份的需求,具有绝对的时间和价格优势,能够使更多的患者受益^[6-7]。因此近几年,通用型CAR-T细胞疗法也在细胞治疗领域掀起了研发热潮。然而,同种异体T细胞可能引起的移植免疫排斥反应始终限制着通用型CAR-T

的发展,产品开发依然面临诸多挑战^[5]。本文对通用型CAR-T面临的挑战及其可行的解决策略进行总结与探讨,同时对国内外通用型CAR-T布局企业及其优势产品的最新临床进展进行综述,以期开发新一代通用型CAR-T细胞疗法产品提供思路。

1 通用型CAR-T面临的挑战及解决策略

移植免疫排斥反应是阻碍通用型CAR-T发展的主要挑战。一方面,供者T细胞抗原受体(T cell receptor, TCR)识别患者细胞表面人类白细胞抗原(human lymphocyte antigen, HLA),可引发移植物抗宿主病(graft versus host disease, GvHD),造成机体器官损伤。另一方面,供者T细胞表达的HLA被宿主免疫系统(T细胞和NK细胞)识别,即宿主抗移植物反应(host versus graft activities, HvGA)而被迅速清除,影响CAR-T在体内的存活。

1.1 GvHD解决策略

为了解决异体CAR-T细胞GvHD风险的问题,目前主要有两种可行的开发策略(表1):即对异体T细胞进行TCR基因编辑以及无需基因编辑,筛选T细胞来源。

表1 通用型CAR-T细胞移植物抗宿主病(GvHD)解决策略比较

策略	方法	代表企业	优势	劣势
TCR基因敲除	CRISPR	Allogene	可彻底有效避免GvHD	存在基因脱靶风险
	TALEN	CRISPR Therapeutics		
	ZFN	Precision BioSciences		
	ARCUS	亘喜生物		
TCR基因敲减	shRNA	Celyad		
非基因编辑,筛选T细胞来源	VST	Atara Biotherapeutics	1.能够迁移到肿瘤部位 2.细胞本身GvHD、脱靶等不良反应率低,无需基因编辑 3.细胞存活持久	目前应用限于HCT和OCT患者
	$\gamma\delta$ T	Adicet Bio	1.细胞本身GvHD等不良反应率低,无需基因编辑 2.兼具固有免疫和获得性免疫属性 3.实体瘤浸润性好	
	iNKT	Kuur Therapeutics	1.细胞本身GvHD等不良反应率低 2.兼具固有免疫和获得性免疫属性 3.针对实体瘤可能有良好疗效	分离培养困难

TCR: T细胞抗原受体; CRISPR: 规律成簇间隔短回文重复序列; TALEN: 转录激活因子样效应蛋白核酸酶; ZFN: 锌指核酸酶; GvHD: 移植物抗宿主病; shRNA: 小发夹RNA; VST: 病毒特异性T细胞; HCT: 造血干细胞移植; OCT: 实体器官移植; iNKT: 恒定自然杀伤T细胞

1.1.1 对异体T细胞进行TCR基因编辑 GvHD的主要病理机制是由于供体 $\alpha\beta$ T细胞表面的TCR识别受体细胞表面的MHC/肽类复合物而被激活,然后通过进一步克隆性增殖和分化形成细胞毒T

细胞,异常释放多种细胞因子,攻击受体靶器官,造成组织损伤^[8-9]。由此可知,直接导致患者体内发生GvHD的“罪魁祸首”是供者TCR,因而可以通过基因编辑手段敲除或敲减TCR的保守区基因,

例如 TRAC 或 TRBC 等,从而降低 GvHD 的发生风险^[10]。目前通用型 CAR-T 细胞治疗的主流产品即是通过基因编辑手段改造的 T 细胞,已有多项临床实验证明其可行性。

近 20 年来,基因编辑技术突飞猛进,从早期的锌指核酸酶(Zinc finger nucleases, ZFN)技术、转录激活因子样效应蛋白核酸酶(transcription activator-like effector nucleases, TALEN)技术到最近日臻成熟的规律成簇间隔短回文重复序列(clustered regularly interspaced short palindromic repeats, CRISPR)技术或是 Precision BioSciences 专有的 ARCUS 基因编辑技术,均能与靶向序列特异性结合的 DNA 结构域及靶向性核酸内切酶,成功实现精细可控的基因组编辑(表 2),目前基因编辑技术也已被广泛应用于细胞免疫治疗,为通用型 CAR-T 的开发带来了希望^[14]。除了上述几种靶向 DNA 的基因编辑技术,经典的 RNA 干扰(RNA interfering, RNAi)技术近年来也被应用于免疫细胞中的基因沉默^[15]。RNAi 可以通过靶向 RNA,在转录后水平有效下调基因表达,而不会导致基因功能的完全丧失,为 T 细胞相关基因表达的调控增

添了更多的可能。然而基因编辑技术潜在的脱靶(off-targets)隐患还是不容忽视的。当然随着人类对于基因组学认知的不断进步,研究者也通过对靶序列设计、靶位点选择、核酸酶改造、载体转运方式等方面进行优化有效增强了基因编辑技术的特异性,以期降低脱靶的风险^[16]。另一方面,可以通过生物信息学预测脱靶位点,研究者开发了 GUIDE-seq、CIRCLE-seq、SITE-seq 等多种非偏倚性脱靶检测方法,提高了脱靶效应检测的精度和广度,有效促进了基因编辑技术在基因治疗中的临床应用^[17-18]。除此之外,还可通过共表达人 CD3 ζ 序列的截断形式——T 细胞受体抑制分子(T-cell receptor inhibitory, TIM)来抑制供体 T 细胞的 TCR 信号通路,从而避免 GvHD 的发生^[19]。Celyad 公司基于 TIM 开发了全球首个非基因编辑的同种异体 CAR-T 临床研究项目 CYAD-101,其临床前研究表明,当 TIM 与 NKG2D 特异性 CAR 共表达时, CYAD-101 细胞显示出降低的同种异体潜能,体内实验未观察到 GvHD 反应,同时并不干扰 CAR-T 细胞介导的抗肿瘤活性。

表 2 DNA 基因编辑策略的比较^[11-14]

基因编辑技术	靶 DNA 识别方式	识别区域	核酸酶	识别序列长度	操作便利性	载体转运难度	脱靶率	成本	临床应用	代表企业
ZFN	蛋白-DNA 相互作用	ZFP	<i>Fok I</i>	9 ~ 18 bp	低	尺寸小,容易	低	高	较少	Sangamo
TALEN	蛋白-DNA 相互作用	TALE 蛋白的 RVD 区域	<i>Fok I</i>	≥30 bp	较高	尺寸大,困难	低	高	较少	Collectis
CRISPR	DNA-RNA 碱基配对、蛋白-DNA 相互作用	gRNA	Cas9	≥20 bp	高	尺寸相对较大,中等	较高	低	多	Precision Bio-Sciences
ARCUS	蛋白-DNA 相互作用	I-CreI	I-CreI	12 ~ 40 bp	高	尺寸小,容易	低	高	少,专有	CRISPR Therapeutics

ZFP: 锌指蛋白; RVD: 重复变异双残基; gRNA: 指导 RNA

1. 1. 2 筛选 T 细胞来源 病毒特异性 T(virus specific T, VST)细胞在临床上已广泛应用于同种异体造血干细胞移植(hematopoietic cell transplantation, HCT)或实体器官移植(solid organ transplant, SOT)后的抗病毒治疗,至今为止没有任何严重 GvHD 的报告^[5,7]。同时,随着技术手段的不断更新发展,目前研究者已可以从血清阳性供者、健康供者外周血或者脐带血中成功分离并生产获得大量可用的 VST 细胞^[20]。多个团体和机构也开发了异基因第三方商业化 VST 库,可用于 HCT 和 OCT 患者的治

疗,增强了 VST 细胞治疗的可及性^[21-22]。基于 VST 的这些特性, VST 细胞成为同种异体 CAR-T 细胞治疗的理想候选者。此外,基因标记试验显示, VST 在体内潜伏存活期可达 10 年之久,能够维持预防肿瘤复发的长期免疫^[22]。以 CD30(霍奇金淋巴瘤)、HER2(胶质母细胞瘤)和 GD2(神经母细胞瘤、骨肉瘤)为靶点的自体 CAR-VST 细胞已成功制造并输注入患者体内,呈现出令人鼓舞的安全性和有效性,证明了 VST 作为 CAR-T 细胞治疗的可行性^[22]。

不同于 $\alpha\beta$ T细胞, $\gamma\delta$ T细胞能够直接识别非肽类肿瘤抗原(IPP磷酸化代谢物),不依赖于特定的MHC,因而回输患者体内GvHD风险低,其临床安全性已在异体肿瘤的治疗中被多次证实^[23], $\gamma\delta$ T细胞亦是开发通用型CAR-T细胞的候选细胞来源。同时其类似自然杀伤(natural killer, NK)细胞,可通过其细胞表面表达的NKG2D受体作用直接快速杀伤肿瘤细胞,兼具固有免疫细胞和获得性免疫细胞的特点^[24]。此外, $\gamma\delta$ T细胞在对抗肿瘤症尤其是实体肿瘤浸润方面发挥着重要的作用,一项针对25种恶性肿瘤(5 782例肿瘤样本)及14种非脑实体瘤(3 238例肿瘤样本)的研究数据分析显示,瘤内 $\gamma\delta$ T细胞的浸润与良好的肿瘤预后具有显著的正相关性^[25]。目前国内外已有Adicet Bio、TC BioPharm、博生吉、河北森朗等多家公司开始布局 $\gamma\delta$ T细胞疗法平台用于通用型CAR-T的开发。虽然UCAR- $\gamma\delta$ T的相关研究还处于一个较初期的阶段,其体外分离培养困难、转导效率低的问题仍亟待解决,但是无法否认这项技术未来发展的潜力。

I型NKT细胞,或称恒定NKT(invariant NKT, iNKT)类似于 $\gamma\delta$ T细胞,其细胞表面仅表达恒定保守的TCR,识别肿瘤不受MHC限制^[26],亦不会介导GvHD,因而利用iNKT细胞进行通用型CAR-T细胞药物的开发也是可行的研究思路。iNKT除了能够直接杀伤CD1d⁺肿瘤,亦具有免疫辅助作用,可进一步激活DC细胞、NK细胞、CD8 T细胞等多种免疫细胞,在抗肿瘤免疫过程中发挥着重要作用^[27]。临床研究证实,iNKT细胞比例与实体瘤患者良好的预后及延长的生存期具有很强的正相关性^[27]。一项最新临床研究(NCT03294954)的初步

结果亦表明,采用GD2 CAR- iNKT细胞治疗儿童神经母细胞瘤患者是可行且安全的^[28]。目前Kuur Therapeutics公司与贝勒医学院合作开发了多款同种异体CAR-NKT产品,初步临床数据已证实CAR-NKT的巨大治疗潜力。

目前,国内外通用型CAR-T产品布局公司通过上述策略已经可以有效控制GvHD的发生,截至2020年12月,国内外通用型CAR-T未见任何3级以上严重GvHD不良反应报道,临床安全性良好。此外,临床经验数据显示,人体正常可耐受不超过5E4/kg异体T细胞而不引起GvHD,因而通用型细胞治疗企业据此对终产品制剂中异体TCR α 阳性细胞比例和数量进行严格质量控制,亦可进一步避免GvHD的发生。

1.2 HvGA改善方案

比较B细胞急性淋巴细胞白血病(B cell acute lymphocytic leukemia, B-ALL)患者接受自体CAR-T和通用型CAR-T治疗后的药代动力学数据,诺华公司针对CD19的自体CAR-T细胞产品Kymriah输注患者后,平均体内存续时间可达168 d^[29];而Cellectis公司靶向CD19的通用型CAR-T细胞产品UCART19给药后,大多数患者体内存续时间不足30 d,最长仅为120 d^[30]。而造成自体 and 通用型CAR-T细胞体内存续时间差异较大的直接原因就是宿主免疫系统对于异体细胞的排斥作用,相比于临床可控的GvHD,直接影响CAR-T细胞体内疗效发挥的HvGA无疑成为了通用型CAR-T发展过程中最大的障碍。目前改善HvGA的策略(表3)主要包括免疫清除或抑制,免疫逃逸以及HLA匹配方法。

表3 通用型CAR-T细胞宿主抗移植反应(HvGA)解决策略比较

策略	方法	代表企业	缺陷
免疫清除或抑制	CD52单抗	Allogene	给患者带来额外的感染风险
免疫逃逸	HLA 敲除;表达非经典HLA-E; 过表达siglec 7和siglec 9配体	CRISPR Therapeutics	由于NK细胞的异质性,采用广泛的策略来抑制所有NK细胞并不容易
HLA 匹配	HLA 纯合子供体库	Takeda	仅能适用于一部分患者;未分化iPSC的致癌风险

HvGA: 宿主抗移植反应;HLA: 人类白细胞抗原;NK: 自然杀伤细胞;iPSC: 诱导性多能干细胞

1.2.1 免疫清除或抑制 由于导致HvGA的直接原因是宿主T细胞及NK细胞等免疫细胞对于供体细胞的清除,通过减少宿主本身的免疫细胞数量可以有效抑制HvGA。首先可以从CAR-T输注前

的预处理方案着手,通用型CAR-T细胞比自体CAR-T细胞需要更加强烈的清淋措施,以给予异体CAR-T足够的存活和扩增时间。Cellectis公司通过在清淋方案中添加CD52单抗进一步清除患

者自身的T细胞^[6],临床研究结果证实给予CD52单抗的患者组相较于正常清淋组别呈现出更优的治疗效果^[30]。但是这种高强度的淋巴细胞耗竭可能给患者带来额外的感染风险^[31],T细胞和NK细胞的持续缺乏甚至会威胁生命。因而最理想的免疫抑制策略是可以抑制免疫排斥反应,但保留部分免疫保护。Mo等^[32]通过在通用型CAR-T细胞上共表达一种可识别4-1BB的同种免疫防御受体(alloimmune defense receptor, ADR),以期达到选择性清除同种反应性淋巴细胞,而不影响静息T细胞和NK细胞的目的。临床前实验已证实这种独特设计极大的增强了通用型CAR-T在荷瘤小鼠体内的持续性和有效性。

1.2.2 免疫逃逸 另一种改善HvGA的策略是通过基因编辑手段帮助异体CAR-T细胞逃避宿主免疫细胞的识别及清除。供体T细胞表面的HLA-I类分子是宿主T细胞免疫排斥的关键介质,基于所有HLA-I类分子中都含有一个绝对保守的 $\beta 2$ -微球蛋白($\beta 2$ -microglobulin, $\beta 2M$),因此可以通过基因编辑通用型CAR-T细胞上的 $\beta 2M$,阻断HLA-I类分子的表达,有效降低患者T细胞的免疫排斥作用^[33]。然而值得一提的是,HLA分子亦是NK细胞主要的配体抑制剂,若CAR-T细胞完全缺失HLA-I类分子,会导致患者体内的NK细胞将它们识别为“缺失自我”(“missing self”),无法再产生NK细胞抑制信号而导致NK细胞激活,从而造成受体NK细胞对异体CAR-T细胞的识别和杀伤更为敏感^[5]。为进一步防止NK细胞对异体CAR-T细胞的免疫排斥作用,可以使CAR-T细胞表达非经典HLA分子(如HLA-E和HLA-G)^[34],或过表达siglec 7和siglec 9配体^[35],保护通用型CAR-T免受NK细胞的杀伤。尽管目前已经开发了多种策略来抑制或清除受体体内的反应性NK细胞,但由于NK细胞的异质性,采用广泛的策略来抑制所有NK细胞并不容易。

1.2.3 HLA匹配 最后,使用HLA-A/B/DR位点为高频单倍体的纯合子供体生成通用型CAR-T产品库,即筛选与大多数人群HLA等位基因相匹配的T细胞来作为制备通用型CAR-T细胞的原材料,也为避免排斥提供了一种额外的可能性。诱导性多能干细胞(induced pluripotent stem cells, iPSC)兼具无限自我更新以及可分化为多种细胞的

优势^[36],借助其建立“超级供体”细胞库具有可观的前景。国际上,美国、欧洲、日本等均已建立覆盖人群范围广泛的“超级供体”iPSC库。另一方面,以iPSC为来源大规模制备CAR-T细胞的技术壁垒也已被研究者们攻克^[37],FATE Therapeutics公司开发的首个源自iPSC的通用型CAR-T细胞疗法产品FT819已在体内小鼠模型中显示了对抗血液肿瘤的有效性^[38]。然而,iPSC的永生化也存在一定的风险,因为尚不能排除未分化iPSC的致癌可能。

从CAR-T细胞的细胞组成以及CAR基因递送方式等方面入手,提高CAR-T细胞在体内的杀伤能力和持久性亦是通用型CAR-T的发展趋势之一。研究表明,CAR-T细胞终产品中低分化细胞干细胞样记忆型T细胞(stem cell memory T cells, T_{SCM})的比例与其体内扩增时间呈正相关,其对实现肿瘤的长期缓解至关重要^[39]。据此Poseida Therapeutics公司不断优化提高CAR-T产品中 T_{SCM} 的比例,并已成功应用于异体CAR-T细胞的开发。此外,CD4⁺和CD8⁺T细胞比率的平衡对CAR-T细胞的抗肿瘤活性具有重要影响。Juno Therapeutics公司亦发现CAR-T细胞产品中CD4⁺和CD8⁺组成比例为1:1时,治疗B-ALL患者可以达到更高的缓解率^[40]。同时,有别于传统CAR-T通过慢病毒或逆转录病毒将CAR基因随机插入T细胞基因组中,Precision BioSciences、CRISPR Therapeutics等公司通过基因编辑手段联合腺相关病毒载体实现了CAR基因在TRAC基因座位的定点插入,可一步法制备通用型CAR-T产品,这种策略不仅增加了产品的一致性,而且降低了随机插入的致癌风险,同时研究发现,将CAR定点插入TRAC位点可避免本底CAR信号传导,延迟效应T细胞的耗竭,从而有效增强CAR-T细胞在体内的持续性^[41]。此外,基于转座子/转座酶的基因递送手段也正在蓬勃发展,利用该系统可能产出具有更高比例 T_{SCM} 的CAR-T产物,且相比于病毒载体转导具有显著的成本优势。

2 全球通用型CAR-T临床研究进展

通用型CAR-T已经成为细胞治疗免疫领域的必然趋势,具有明显的优势,国内外众多企业对其进行了布局,越来越多兼具安全性及有效性的通

用型 CAR-T 产品涌现出来,为更多的肿瘤患者提供了希望。下文将对国内外通用型 CAR-T 产品的主要临床进展情况进行综述,表 4 也对通用型 CAR-T 产品的代表企业及其优势产品的技术特点及临床治疗效果进行了汇总分析。

2018 年 ASH 年会上,Allogene 公司公布了全球第 1 个针对 CD19 靶点的通用型 CAR-T 细胞产品 UCART19 的 I 期临床试验数据^[30],入组的受试者包括 7 名儿童及 14 名成人复发/难治性 (relapsed/refractory, R/R) B-ALL 患者,疗效数据令人鼓舞,接受 CD52 单抗预处理方案的患者中,82% 患者达到了完全缓解 (complete response, CR) 或完全缓解伴随不完全血液恢复 (complete remission with incomplete count recovery, CRi)。安全性方面,3/4 级别细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS) 发生率为 14%,未观察到 3 级及以上免疫效应细胞相关神经毒性综合征 (immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS) 或 GvHD。

ALLO-715 是一种靶向 BCMA 的通用型 CAR-T 疗法,是用于治疗多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 的新疗法。UNIVERSAL 研究纳入了 35 例 R/R MM 患者,结果表明 ALLO-715 的疗效及其在患者体内的扩增情况与 CAR-T 细胞的剂量呈正相关性^[42]。高剂量组患者客观缓解率 (objective response rate, ORR) 达 60%,其中 40% 患者获得了非常好的部分缓解 (very good partial response, VGPR) 或者更好的应答,而在这 6 名 VGPR 或更优应答患者中 5 例达到微小残留病灶 (minimal residual disease, MRD) 阴性。同时,各剂量的 ALLO-715 均展现出了良好的耐受性,在 31 例可评估安全性的患者中,未观察到 GvHD、ICANS 和 3 级及以上的 CRS 不良反应。

CYAD-101 是 Celyad 公司开发的全球首个非基因编辑的同种异体 CAR-T 细胞产品。I 期 alloSHRINK 临床试验^[43]观察到了 CYAD-101 对于实体瘤令人鼓舞的临床疗效,入组的 15 例转移性结直肠癌 (metastatic colorectal cancer, mCRC) 患者总体疾病控制率 (disease control rate, DCR) 达 73%,2 名患者达到了部分缓解 (partial remission, PR),9 名患者达到了疾病稳定 (stable disease, SD)。中位无进展生存期 (progression free survival, PFS) 为 3.9 个月。安全性方面,所有患者均未发生

3 级及以上治疗相关的严重不良事件。

2021 年 12 月, Precision BioSciences 公司在 ASH 年会公布了靶向 CD19 的现货 CAR-T 产品 PBCAR0191 治疗 R/R 非霍奇金淋巴瘤 (non-Hodgkin lymphoma, NHL) 和 B-ALL 患者的 I/II a 期临床试验数据^[44],结果表明,加强预处理方案 (enhanced lymphodepletion, eLD) 相比于标准预处理方案 (standard lymphodepletion, sLD) 呈现出更高峰值的 CAR-T 扩增及更持久的扩增时间,单次注射 DL3 剂量的 PBCAR0191 有效性良好,ORR 和 CR 率分别达 75% 和 50%,且在既往接受过 CAR-T 治疗的患者中同样有效。此外,无 3 级以上 CRS 发生,仅有 1 例 3 级及以上 ICANS 发生,未观察到任何 GvHD 事件。

2021 年 10 月, CRISPR Therapeutics 公司更新了靶向 CD19 的同种异体 CAR-T 疗法 CTX110 用于治疗 R/R CD19⁺ B 细胞恶性肿瘤的 I 期临床试验 (CARBON) 数据^[45],该试验已纳入 30 例 R/R 大 B 细胞淋巴瘤 (large B-cell lymphoma, LBCL) 患者,单次注射 DL2 及以上剂量的 CTX110,ORR 和 CR 率分别为 58% 和 38%。CTX110 在所有剂量下都具有良好的耐受,无 GvHD、3 级以上 CRS 或 ICANS 不良反应。

2021 年 12 月, Adicet Bio 公司公布了同种异体靶向 CD20 的 CAR $\gamma\delta$ T 细胞疗法 ADI-001 治疗 R/R B-NHL 患者的 I 期临床试验 (GLEAN-1) 中期数据^[46]。截至 2021 年 11 月 22 日,6 例患者接受了 ADI-001 治疗。4 例可评估疗效患者,ORR 为 75%,CR 率为 50%。同时,ADI-001 表现出良好耐受性,未报告 GvHD、ICANS 或 3 级或以上 CRS。

KUR-502 是 Kuur Therapeutics 公司首款靶向 CD19 的通用型 CAR-NKT 细胞疗法,其 I 期临床试验 (ANCHOR) 最新数据^[47]表明,7 例可评估的 R/R CD19 阳性恶性肿瘤患者,总体 CR 率达 43%,PR 率达 14%,且 2 例患者完全缓解 (CR) 持续超过 6 个月,ORR 和 DCR 分别为 57% 和 71%。此外,2 例既往自体 CAR-T 治疗后复发的患者,回输 KUR-502 后亦观察到缓解。同时,KUR-502 表现出良好的耐受性,无 ICANS 和 GvHD 报道,3 例患者出现 1 级 CRS。

TruUCAR GC027 是亘喜生物公司开发的靶向 CD7 靶点的通用型 CAR-T 细胞产品,也是针对 R/

R T细胞急性淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)的首个进入临床阶段的通用型 CAR-T 细胞。2020 年 AACR 年会上,亘喜公布了 TruUCAR™ GC027 的最新临床试验结果^[48], 28 d 随访时间内,5 名入组患者均获得 CR,4 名受试者获得 MRD-CR。安全性方面,5 名患者均能够耐受 TruUCAR™ GC027 单次输注,试验中未观察到任何 ICAN 或急性 GvHD 发生,同时观察到 5 名患者出现不同程度的 CRS,但均在可控范围内。

CTA101 是北恒生物公司开发的靶向 CD19 及 CD22 双靶点的通用 CAR-T 细胞疗法产品,已于 2022 年 3 月获得 NMPA 的临床试验默示许可。

2020 年 ASH 年会上北恒生物公司公布了 CTA101 的安全性及有效性数据^[49],入组的 6 例 R/R B-ALL 患者中,5 例患者获得 CR/CRi,且均为 MRD 阴性。所有患者均未观察到 GvHD 及 ICAN 事件,1 例患者发生了 3 级 CRS。

3 总结与展望

综合来看,相比于自体 CAR-T 治疗,通用型 CAR-T 在细胞制备、质控、临床给药方面简化了细胞治疗的复杂程度,降低了产品成本,但同时也带来了新的挑战,同种异体 T 细胞可能引起的移植免疫排斥反应始终阻碍着通用型 CAR-T 的临床应用

表 4 国内外 UCART 重要临床进展

公司	产品	靶点	GVHD 改善策略	HVGA 改善策略	适应证	临床试验编号	安全性	有效性
Allogene	UCART19	CD19	敲除 TCRα (TALEN)	CD52 单抗	儿童及成人复发/难治性 B 细胞急性淋巴细胞白血病	NCT02808442 ^[30] ; NCT02746952 ^[30]	G3/4 GVHD: 0%; G3/4 CRS: 14%; G3/4 ICANS: 0%	FCA 组: CR/CRi: 82%
	ALLO-715	BCMA			复发/难治性多发性骨髓瘤	NCT04093596 ^[42]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 0%; ICANS: 0%	ORR: 60%; VGPR 或更优应答: 40%
Celyad	CYAD-101	NKG2DL	TIM	—	转移性结直肠癌	NCT03692429 ^[43]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 0%; G3/4 ICANS: 0%	DCR: 73%; PR: 13%; SD: 60%;
Precision BioSciences	PBCAR0191	CD19	敲除 TCRα (ARCUS)	加强预处理 eLD	复发/难治性非霍奇金淋巴瘤	NCT03666000 ^[44]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 0%; G3/4 ICANS: 8%	ORR: 75%; CR: 50%
CRISPR Therapeutics	CTX110	CD19	敲除 TCRα (CRISPR)	敲除 HLA-I (CRISPR)	复发/难治性大 B 细胞淋巴瘤	NCT04035434 ^[45]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 0%; G3/4 ICANS: 1 例	DL2 及以上: ORR: 58%; CR: 38%
Adicet Bio	ADI-001	CD20	γδT	加强预处理 eLD	复发/难治性非霍奇金淋巴瘤	NCT04735471 ^[46]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 0%; ICANS: 0%	ORR: 75%; CR: 50%
Kuur Therapeutics	KUR-502	CD19	iNKT	敲减 MHC-I 和 II 类分子 (shRNA)	复发/难治性非霍奇金淋巴瘤和 B 细胞急性淋巴细胞白血病	NCT03774654 ^[47]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 0%; G3/4 ICANS: 0%	CR: 43%; PR: 14%; ORR: 57%; DCR: 71%
亘喜生物	TruUCAR GC027	CD7	敲除 TCRα (CRISPR)	共表达特异性靶向患者自身 T 细胞和 NK 细胞的 CAR	复发/难治性 T 细胞急性淋巴细胞白血病	ChiC-TR1900025311 ^[48]	GVHD: 0%; G3/4 CRS: 100%; G3/4 ICANS: 0%	CR: 100%
北恒生物	CTA101	CD19&C D22	敲除 TCRα (CRISPR)	CD52 单抗	复发/难治性 B 细胞急性淋巴细胞白血病	NCT04227015 ^[49]	GVHD: 0%; CRS: 100% (G3/4: 1 例); ICANS: 0%	CR/CRi: 83%

TIM: T 细胞受体抑制分子; CR: 完全缓解; CRi: 完全缓解伴随不完全血液恢复; ORR: 客观缓解率; VGPR: 非常好部分缓解; DCR: 疾病控制率; PR: 部分缓解; SD: 疾病稳定; eLD: 加强预处理方案; FCA: 氟达拉滨、环磷酰胺以及阿仑单抗; G3/4: 3/4 级别; DL: 剂量水平; CRS: 细胞因子释放综合征; ICANS: 免疫效应细胞相关神经毒性综合征

及发展。本课题组前期研究探索也发现,相比于目前已能够通过基因编辑、终产品质量检测等手段有效控制的GvHD安全风险,患者体内免疫细胞对于异体细胞的快速清除问题才是通用型CAR-T产品开发过程中最大的障碍。然而随着基因编辑技术的不断进步,以及对于免疫细胞认知的不断深入,本文中介绍的一系列具有临床优势的UCAR-T产品也依靠独特的技术平台及开发策略杀出重围,在多项血液瘤甚至实体瘤的临床研究中展现出可喜的临床疗效及安全性,有望开发出新一代更加安全有效的通用型CAR-T产品,造福于更多肿瘤患者。

References

- [1] Esfahani K, Roudaia L, Buhlaiga N, *et al.* A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future[J]. *Curr Oncol*, 2020, **27**(Suppl 2): S87-S97.
- [2] Feins S, Kong WM, Williams EF, *et al.* An introduction to chimeric antigen receptor (CAR) T-cell immunotherapy for human cancer[J]. *Am J Hematol*, 2019, **94**(S1): S3-S9.
- [3] Köhl U, Arsenieva S, Holzinger A, *et al.* CAR T cells in trials: recent achievements and challenges that remain in the production of modified T cells for clinical applications[J]. *Hum Gene Ther*, 2018, **29**(5): 559-568.
- [4] Ruella M, Xu J, Barrett DM, *et al.* Induction of resistance to chimeric antigen receptor T cell therapy by transduction of a single leukemic B cell[J]. *Nat Med*, 2018, **24**(10): 1499-1503.
- [5] Depil S, Duchateau P, Grupp SA, *et al.* 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, **19**(3): 185-199.
- [6] Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, *et al.* Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells[J]. *Sci Transl Med*, 2017, **9**(374): eaaj2013.
- [7] Caldwell KJ, Gottschalk S, Talleur AC. Allogeneic CAR cell therapy-more than a pipe dream[J]. *Front Immunol*, 2021, **11**: 618427.
- [8] Hess NJ, Brown ME, Capitini CM. GVHD pathogenesis, prevention and treatment: lessons from humanized mouse transplant models[J]. *Front Immunol*, 2021, **12**: 723544.
- [9] Martin PJ, Levine DM, Storer BE, *et al.* Genome-wide minor histocompatibility matching as related to the risk of graft-versus-host disease[J]. *Blood*, 2017, **129**(6): 791-798.
- [10] Abdelhakim H, Abdel-Azim H, Saad A. Role of $\alpha\beta$ T cell depletion in prevention of graft versus host disease[J]. *Biomedicine*, 2017, **5**(3): 35.
- [11] Wang C, Zhao W. Gene editing technique and its application in host cell transformation[J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 2021, **28**(2): 192-199.
- [12] Zhang HX, Zhang Y, Yin H. Genome editing with mRNA encoding ZFN, TALEN, and Cas9[J]. *Mol Ther*, 2019, **27**(4): 735-746.
- [13] MacLeod DT, Antony J, Martin AJ, *et al.* Integration of a CD19 CAR into the TCR alpha chain locus streamlines production of allogeneic gene-edited CAR T cells[J]. *Mol Ther*, 2017, **25**(4): 949-961.
- [14] Bailey SR, Maus MV. Gene editing for immune cell therapies[J]. *Nat Biotechnol*, 2019, **37**(12): 1425-1434.
- [15] Setten RL, Rossi JJ, Han SP. The Current state and future directions of RNAi-based therapeutics[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2019, **18**(6): 421-446.
- [16] Bogdanove AJ, Böhm A, Miller JC, *et al.* Engineering altered protein-DNA recognition specificity[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, **46**(10): 4845-4871.
- [17] He XB, Gu F. Genome-editing: focus on the off-target effects[J]. *Chin J Biotechnol* (生物工程学报), 2017, **33**(10): 1757-1775.
- [18] Bao XR, Pan YD, Lee CM, *et al.* Tools for experimental and computational analyses of off-target editing by programmable nucleases[J]. *Nat Protoc*, 2021, **16**(1): 10-26.
- [19] Gilham DE, Michaux A, Breman E, *et al.* TCR inhibitory molecule as a promising allogeneic NKG2D CAR-t cell approach[J]. *J Clin Oncol*, 2018, **36**(15_suppl): e15042.
- [20] Bajwa G, Arber C. Rapid generation of TCR and CD8 $\alpha\beta$ transgenic virus specific T cells for immunotherapy of leukemia[J]. *Front Immunol*, 2022, **13**: 830021.
- [21] O'Reilly RJ, Prockop S, Hasan AS, *et al.* Therapeutic advantages provided by banked virus-specific T-cells of defined HLA-restriction[J]. *Bone Marrow Transplant*, 2019, **54**(Suppl 2): 759-764.
- [22] Perez C, Gruber I, Arber C. Off-the-shelf allogeneic T cell therapies for cancer: opportunities and challenges using naturally occurring universal donor T cells[J]. *Front Immunol*, 2020, **11**: 583716.
- [23] Yazdanifar M, Barbarito G, Bertaina A, *et al.* $\gamma\delta$ T cells: the ideal tool for cancer immunotherapy[J]. *Cells*, 2020, **9**(5): 1305.
- [24] Morandi F, Yazdanifar M, Cocco C, *et al.* Engineering the bridge between innate and adaptive immunity for cancer immunotherapy: focus on $\gamma\delta$ T and NK cells[J]. *Cells*, 2020, **9**(8): 1757.
- [25] Gentles AJ, Newman AM, Liu CL, *et al.* The prognostic landscape of genes and infiltrating immune cells across human cancers[J]. *Nat Med*, 2015, **21**(8): 938-945.
- [26] Terabe M, Berzofsky JA. Tissue-specific roles of NKT cells in tumor immunity[J]. *Front Immunol*, 2018, **9**: 1838.
- [27] Fujii SI, Shimizu K. Immune networks and therapeutic targeting of iNKT cells in cancer[J]. *Trends Immunol*, 2019, **40**(11): 984-997.
- [28] Heczey A, Courtney AN, Montalbano A, *et al.* Anti-GD2 CAR-

- NKT cells in patients with relapsed or refractory neuroblastoma: an interim analysis[J]. *Nat Med*, 2020, **26**(11): 1686-1690.
- [29] Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, *et al*. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, **378**(5): 439-448.
- [30] Benjamin R, Graham C, Yallop D, *et al*. Preliminary data on safety, cellular kinetics and anti-leukemic activity of UCART19, an allogeneic anti-CD19 CAR T-cell product, in a pool of adult and pediatric patients with high-risk CD19⁺ relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Blood*, 2018, **132**: 896.
- [31] Hill JA, Li D, Hay KA, *et al*. Infectious complications of CD19-targeted chimeric antigen receptor-modified T-cell immunotherapy[J]. *Blood*, 2018, **131**(1): 121-130.
- [32] Mo FY, Watanabe N, McKenna MK, *et al*. Engineered off-the-shelf therapeutic T cells resist host immune rejection[J]. *Nat Biotechnol*, 2021, **39**(1): 56-63.
- [33] Salas-McKee J, Kong WM, Gladney WL, *et al*. CRISPR/Cas9-based genome editing in the era of CAR T cell immunotherapy [J]. *Hum Vaccines Immunother*, 2019, **15**(5): 1126-1132.
- [34] Gornallusse GG, Hirata RK, Funk SE, *et al*. HLA-E-expressing pluripotent stem cells escape allogeneic responses and lysis by NK cells[J]. *Nat Biotechnol*, 2017, **35**(8): 765-772.
- [35] Chang LY, Liang SY, Lu SC, *et al*. Molecular basis and role of siglec-7 ligand expression on chronic lymphocytic leukemia B cells[J]. *Front Immunol*, 2022, **13**: 840388.
- [36] Nezhad MS, Abdollahpour-Alitappeh M, Rezaei B, *et al*. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) provide a potentially unlimited T cell source for CAR-T cell development and off-the-shelf products[J]. *Pharm Res*, 2021, **38**(6): 931-945.
- [37] Iriguchi S, Yasui Y, Kawai Y, *et al*. A clinically applicable and scalable method to regenerate T-cells from iPSCs for off-the-shelf T-cell immunotherapy[J]. *Nat Commun*, 2021, **12**(1): 430.
- [38] Chang C, Van Der Stegen S, Mili M, *et al*. FT819: translation of off-the-shelf TCR-less trac-1XX CAR-T cells in support of first-of-kind phase I clinical trial[J]. *Blood*, 2019, **134**(Supplement_1): 4434.
- [39] Arcangeli S, Falcone L, Camisa B, *et al*. Next-generation manufacturing protocols enriching T_{SCM} CAR T cells can overcome disease-specific T cell defects in cancer patients[J]. *Front Immunol*, 2020, **11**: 1217.
- [40] Stock S, Schmitt M, Sellner L. Optimizing manufacturing protocols of chimeric antigen receptor T cells for improved anticancer immunotherapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, **20**(24): 6223.
- [41] Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, *et al*. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection[J]. *Nature*, 2017, **543**(7643): 113-117.
- [42] Mailankody S, Matous JV, Liedtke M, *et al*. Universal: an allogeneic first-in-human study of the anti-bcma ALLO-715 and the anti-CD52 ALLO-647 in relapsed/refractory multiple myeloma [J]. *Blood*, 2020, **136**(Supplement 1): 24-25.
- [43] Prenen H, Dekervel J, Hendlisz A, *et al*. Updated data from alloSHRINK phase I first-in-human study evaluating CYAD-101, an innovative non-gene edited allogeneic CAR-T in mCRC [J]. *J Clin Oncol*, 2021, **39**(3_suppl): 74.
- [44] Shah BD, Jacobson CA, Solomon S, *et al*. Preliminary safety and efficacy of PBCAR0191, an allogeneic, off-the-shelf CD19-targeting CAR-T product, in relapsed/refractory (r/r) CD19⁺ NHL [J]. *J Clin Oncol*, 2021, **39**(15_suppl): 7516.
- [45] CRISPR Therapeutics. CRISPR Therapeutics reports positive results from its phase 1 CARBON trial of CTX110™ in relapsed or refractory CD19⁺ B-cell malignancies[EB/OL]. (2021-10-12) [2021-11-25]. <http://www.crisprtx.com/about-us/press-releases-and-presentations/crispr-therapeutics-reports-positive-results-from-its-phase-1-carbon-trial-of-ctx110-in-relapsed-or-refractory-cd19-b-cell-malignancies>.
- [46] BioAdicet. Adicet Bio announces positive interim clinical data from first-ever allogeneic, off-the-shelf, gamma delta CAR T investigational cell therapy[EB/OL]. (2021-12-06) [2022-01-20]. <https://investor.adicetbio.com/news-releases/news-release-details/adicet-bio-announces-positive-interim-clinical-data-first-ever>.
- [47] Athenex. Athenex presents interim data from phase 1 ANCHOR study of KUR-502 (allogeneic CD19 CAR-NKT cells) in relapsed or refractory lymphoma and leukemia at the 2022 transplantation & cellular ("Tandem") meetings of ASTCT and CIBMTR[EB/OL]. (2022-04-25) [2022-05-18]. <https://ir.athenex.com/news-releases/news-release-details/athenex-presents-interim-data-phase-1-anchor-study-kur-502>.
- [48] Wang XX, Li SQ, Gao L, *et al*. Safety and efficacy results of GC027: the first-in-human, universal CAR-T cell therapy for adult relapsed/refractory T-cell acute lymphoblastic leukemia (r/r T-ALL)[J]. *J Clin Oncol*, 2020, **38**(15_suppl): 3013.
- [49] Hu YX, Zhou YL, Zhang MM, *et al*. CRISPR/Cas9-engineered universal CD19/CD22 dual-targeted CAR-T cell therapy for relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, **27**(10): 2764-2772.