

Role of homocysteine in the ischemic stroke and development of ischemic tolerance[J]. *Front Neurosci*, 2016, 10: 538.

[21] ABAIS J M, XIA M, LI G, et al. Contribution of endogenously produced reactive oxygen species to the activation of podocyte NLRP3 inflammasomes in hyperhomocysteinemia[J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 67(2): 211-220.

[22] ABAIS J M, XIA M, LI G, et al. Nod-like receptor protein 3 (NLRP3) inflammasome activation and podocyte injury via thioredoxin-interacting protein (TXNIP) during hyperhomocysteinemia[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289 (39): 27159-27168.

[23] ABAIS J M, ZHANG C, XIA M, et al. NADPH oxidase-mediated triggering of inflammasome activation in mouse podocytes and glomeruli during hyperhomocysteinemia[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(13): 1537-1548.

[24] MA C H, CHIU Y C, WU C H, et al. Homocysteine causes dysfunction of chondrocytes and oxidative stress through repression of SIRT1/AMPK pathway: a possible link between hyperhomocysteinemia and osteoarthritis[J]. *Redox Biol*, 2018, 15(3): 504-512.

[25] BONCIANI D, ANTIGA E, BONCIOLINI V, et al. Homocysteine serum levels are increased and correlate with disease severity in patients with lupus erythematosus[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2016, 34(1): 76-81.

[26] DING H, GAN H Z, FAN W J, et al. Homocysteine promotes intestinal fibrosis in rats with trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis[J]. *Dig Dis Sci*, 2015, 60 (2): 375-381.

[27] ZHU S, LI J, BING Y, et al. Diet-Induced hyperhomocysteinemia increases intestinal inflammation in an animal model of colitis[J]. *J Crohns Colitis*, 2015, 9(9): 708-719.

[28] FLANNIGAN K L, AGBOR T A, BLACKLER R W, et al. Impaired hydrogen sulfide synthesis and IL-10 signaling underlie hyperhomocysteinemia-associated exacerbation of colitis[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111 (37): 13559-13564.

[29] SIRCAR S, JOSHI G G, THAKUR B S, et al. Acute pancreatitis and its association with hyperhomocysteinemia[J]. *Indian J Gastroenterol*, 2007, 26(1): 103-104.

[30] SUSZYNSKA-ZAJCZYK J, SIKORA M, JAKUBOWSKI H. Paraoxonase 1 deficiency and hyperhomocysteinemia alter the expression of mouse kidney proteins involved in renal disease[J]. *Mol Genet Metab*, 2014, 113 (3): 200-206.

[31] ZHANG D, FANG P, JIANG X, et al. Severe hyperhomocysteinemia promotes bone marrow-derived and resident inflammatory monocyte differentiation and atherosclerosis in LDLr/CBS-deficient mice[J]. *Circ Res*, 2012, 111 (1): 37-49.

[32] ZARIC B L, OBRADOVIC M, BAJIC V, et al. Homocysteine and Hyperhomocysteinemia[J]. *Curr Med Chem*, 2018, 25(16): 301-306.

[33] JACOMO R H, SANTANA-LEMOS B A, LIMA A S, et al. Methionine-induced hyperhomocysteinemia reverts fibrinolytic pathway activation in a murine model of acute promyelocytic leukemia[J]. *Blood*, 2012, 120 (1): 207-213.

(收稿日期: 2019-05-18 修回日期: 2019-09-25)

• 综 述 •

嵌合抗原受体 T 细胞用于系统性红斑狼疮治疗的策略与研究进展*

曾星月, 翟建昭 综述, 武永康[△] 审校
(四川大学华西医院实验医学科, 四川成都 610041)

摘 要: 系统性红斑狼疮(SLE)是一种以产生一系列自身抗体为特征的慢性自身免疫性疾病。目前, SLE 尚不能根治, 糖皮质激素等药物治疗是临床治疗 SLE 的主要方法, 但会产生严重的不良反应。近年来, 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)免疫疗法作为血液肿瘤的新型治疗方法已被证实效果显著。CAR-T 细胞通过识别结合 SLE 中分泌自身抗体的 B 细胞的特异性表面标志进行研究设计, 以精准杀伤上述“坏”B 细胞, 达到减少甚至避免自身抗体产生的目的, 从而改善患者病情。本文将从 B 细胞表面标志物出发, 探讨 CAR-T 细胞用于治疗 SLE 的机制及研究进展, 为探索 SLE 治愈性方法提供新的思路。

关键词: 系统性红斑狼疮; 嵌合抗原受体 T 细胞; 自身抗体; B 淋巴细胞
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2020. 02. 026 **中图法分类号:** R593. 24+1
文章编号: 1673-4130(2020)02-0232-04 **文献标识码:** A

* 基金项目: 国家老年疾病临床医学研究中心项目(Z2018C03); 四川大学华西医院学科卓越发展 135 工程项目(ZYJC18042)。
[△] 通信作者, E-mail: vipwyk@163. com。
本文引用格式: 曾星月, 翟建昭, 武永康. 嵌合抗原受体 T 细胞用于系统性红斑狼疮治疗的策略与研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(2): 232-235.

Strategy and research progress of chimeric antigen receptor T cells in the treatment of systemic lupus erythematosus*

ZENG Xingyue, ZHAI Jianzhao, WU Yongkang[△]

(Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan
University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic autoimmune disease characterized by the production of a series of autoantibodies. At present, SLE can not be cured. Glucocorticoids and other drugs are the main methods of clinical treatment of SLE, but they will produce serious adverse reactions. In recent years, the chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy has been proved to be effective as a new treatment for blood tumors. CAR-T cells are designed by identifying the specific surface markers of B cells that secrete autoantibodies in SLE, so as to kill the above "bad" B cells precisely, reduce or even avoid the production of autoantibodies, so as to improve the patient's condition. In this paper, the mechanism and research progress of CAR-T cells in the treatment of SLE will be discussed based on B cell surface markers, so as to provide new ideas for the exploration of the therapeutic methods of SLE.

Key words: systemic lupus erythematosus; chimeric antigen receptor T cell; autoantibody; B lymphocyte

系统性红斑狼疮(SLE)是一种好发于育龄期女性的自身免疫性疾病,我国 SLE 发病率约为 70/10 万人,估计有超过 100 万 SLE 患者^[1],此病发病机制尚不明确,目前普遍认为是在遗传及环境等多种因素的共同作用下,机体免疫平衡被打破,自身耐受功能障碍^[2]。自身抗原经抗原提呈细胞摄取或结合到 B 细胞表面,继而通过 B 细胞表面的人类白细胞抗原(HLA)分子提呈给 T 细胞,活化的 T 细胞分泌相关的细胞因子反作用于 B 细胞,诱导 B 细胞多克隆性增殖分化,产生一系列自身抗体,如抗双链 DNA 抗体(抗 dsDNA 抗体)、抗 Sm 抗体和抗 rib-P 抗体等^[3],自身抗体与自身抗原结合形成的循环免疫复合物沉积于机体各处,诱导炎性反应,造成多个器官组织的损伤与功能丧失。

目前, SLE 主要依靠糖皮质激素和生物制剂等药物进行治疗,但是这些疗法会造成免疫抑制、精神紊乱和骨质疏松等严重不良反应^[4],因此,有必要寻求新的治疗方法。嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)在治疗弥漫大 B 细胞淋巴瘤和 B 细胞白血病上获得成功^[5-6],为 SLE 的治疗提供了可行性选择。本文对 CAR-T 细胞治疗 SLE 进行综述,阐述其治疗策略及研究进展。

1 CAR-T 细胞技术

CAR-T 细胞免疫疗法由 GROSS 等^[7]在 1989 年首次提出,是一种极具临床应用价值的过继性 T 细胞回输免疫疗法。该疗效通过提取患者自身 T 淋巴细胞,根据靶细胞表面特异性标志物,对 T 细胞进行遗传修饰和细胞扩增,再重输回患者体内,改造后的 CAR 结构可识别并结合靶细胞膜上的标志物,从而达到特异性杀伤靶细胞的效果。CAR 结构在 CAR-T 细胞疗法中起着关键的作用, CAR 结构由细胞外抗原识别结构域、跨膜结构域和细胞内信号传导结构域

组成^[8]。胞外域通常为单克隆抗体单链可变区(ScFv),通过跨膜结构域锚定于 T 细胞上,并以高亲和力特异性结合靶抗原,继而将识别得到的抗原信号通过免疫受体酪氨酸活化基序刺激 T 细胞活化增殖,继而促使细胞因子释放和启动细胞毒性效应。CAR-T 细胞在输注以后,随循环迁移至多处淋巴结和器官,增殖分化而成的效应细胞与靶细胞结合,进而清除靶细胞;增殖分化而成的记忆 T 细胞将长期存在于全身各处,并保持长久的效应功能^[9]。

CAR 结构识别结合抗原的能力无需抗原的加工与提呈,不依赖于主要组织相容性复合体(MHC)而直接实现, CAR-T 细胞不仅可以靶向存在于靶细胞表面的抗原,还能有效避免靶细胞下调 MHC 水平而导致的免疫逃逸现象,表现出较内源性 T 细胞更强的杀细胞效应^[10]。

2 CAR-T 细胞技术的不良反应

当 CAR-T 细胞靶向抗原以后,由于免疫细胞和非免疫细胞(如内皮细胞)大量活化增殖,免疫系统高度激活,使得白细胞介素(IL)-1、IL-6、干扰素- γ (IFN- γ)等一系列细胞因子级联释放^[11],即细胞因子释放综合征(CRS),使患者出现发热、低血压及呼吸窘迫等临床表现^[12]。CAR-T 细胞疗法还具有神经毒性的不良反应,临床表现多样,如头痛、谵妄、失语、癫痫等^[13]。此外, CAR-T 细胞输注以后可能存在脱靶效应。在诸多不良反应中, CRS 和神经毒性是 CAR-T 细胞疗法严重的致死性的毒不良反应。

目前,有研究发现巨噬细胞分泌的 IL-1 在 CRS 发生中起着重要作用,通过使用 IL-1 受体拮抗剂阿那白霉素可以下调一氧化氮合酶的表达,显著降低 CRS 的病死率^[14]。同时,由于 IL-1 会促进人星形胶质细胞活化及发生神经炎性反应,阻断 IL-1 还能降低神经毒性作用^[15]。另有研究证实,儿茶酚胺作为细胞因子

释放过程中重要的组成部分,而心房利钠肽(ANP)可以在不影响 CAR-T 细胞的治疗效果的基础之上,有效减少儿茶酚胺的释放,进而减轻 CRS 的严重程度^[16]。

3 SLE 与 CAR-T 细胞的关系

B 细胞在 SLE 的发生、发展中发挥重要作用,包括提呈抗原、激活 T 细胞、产生自身抗体等^[17],因此,降低 SLE 患者体内持续存在的分泌自身抗体的浆细胞和记忆 B 细胞是治疗 SLE 的关键。由于目前临床在用的药物大部分都不能影响浆细胞和记忆 B 细胞的寿命^[18-19],CAR-T 细胞成功治疗血液系统 B 淋巴细胞恶性肿瘤亦为 SLE 的治疗打开了新的思路^[12]。

基于 SLE 患者体内分泌抗 dsDNA 抗体的浆细胞和其特异性的记忆 B 细胞表面会高表达 CD27 分子和抗 dsDNA 抗体等自身抗体的原理,体外通过基因工程特异性设计 CAR 结构,回输到患者体内发挥免疫学效应,此法既可以避免对正常 B 细胞的损伤,而且有望精准杀伤分泌自身抗体的 B 细胞,从而在源头上避免抗 dsDNA 等自身抗体的产生,降低自身抗体的滴度,减轻甚至避免组织器官的损伤。

4 SLE 与 CAR-T 细胞研究

最为理想的 CAR 结构应针对靶细胞表面的特异性标志物,而此类标志物在其他细胞表面并不表达,方可达到精准杀伤效应,避免免疫抑制等不良反应。针对 SLE 中分泌自身抗体的浆细胞表面的不同标志物,现有大量相关的治疗性药物和 CAR-T 细胞等,作用机制和疗效也不尽相同。

4.1 CD19 CD19 是表达于所有 B 细胞表面的细胞标志,是用于鉴定 B 细胞最好的标志物。现阶段,CD19 靶向的 CAR-T 细胞是研究范围最广泛,临床疗效最佳的一类 CAR-T 细胞^[20]。2017 年,2 个 CD19 靶向的 CAR-T 细胞药物 Axicabtagene ciloleucel 和 Tisagenlecleucel 被批准进入临床,用于治疗复发性或难治性大 B 细胞淋巴瘤,且疗效显著^[21-22]。此外,另有研究发现,CD19 靶向的 CAR-T 细胞对 SLE 有良好的治疗效果,可以通过完全耗竭 CD19 阳性的 B 细胞,从源头上阻止自身抗体的产生,避免免疫复合物对多器官系统的损伤,从而治愈 SLE^[23]。目前,关于 CD19 靶向 CAR-T 细胞治疗 SLE 的研究正在进行临床试验,有望为 SLE 的治疗提供治愈性的选择。

4.2 CD20 CD20 分子在 B 细胞成熟的过程中出现,最后在完全分化的浆细胞中丢失^[24],参与跨膜 Ca^{2+} 电导的调节,且在 B 细胞增殖活化的过程中起重要作用^[25]。现有针对抗 B 细胞 CD20 单克隆抗体的生物制剂,如利妥昔单抗,通过去除淋巴组织及外周血中的 B 细胞,阻断抗体生成和对 T 细胞的抗原提呈而发挥作用^[26]。但也有研究发现,利妥昔单抗对于分泌自身抗体的 B 细胞的耗竭是不完全的,降低了利妥昔单抗用于 SLE 治疗的临床价值^[19]。由于 SLE 患

者体内存在大量功能异常的 B 淋巴细胞,而 CD20 分子作为 B 细胞表面的特异性标志物,通过设计 CD20 靶向的 CAR-T 细胞对于治疗 SLE 有着重要的价值。

4.3 CD27 CD27 分子不表达于未成熟的 B 细胞,高表达于记忆 B 细胞和浆细胞表面,且在 B 细胞分化为浆细胞和记忆 B 细胞过程中发挥着重要作用。CD27 分子可通过上调 BCl^- X 蛋白表达与促进 T 细胞分泌 IL-2,改善 CAR-T 细胞的存活率,进而提高 CAR-T 细胞疗法的临床疗效^[27]。因此,CD27 靶向的 CAR-T 细胞不仅能提高 CAR-T 细胞的持久性,还能精准杀伤分泌自身抗体的 B 细胞,对于 SLE 的治疗可达到显著的临床效用。

4.4 dsDNA 在 SLE 患者体内,由于自身耐受平衡被打破,自身组织的双链 DNA 会刺激 B 淋巴细胞产生抗 dsDNA 抗体。抗 dsDNA 抗体作为 SLE 患者的特征性标志抗体,是 SLE 分类诊断的重要标准之一。生物制剂阿贝莫司与 B 细胞表面的抗 dsDNA 抗体交联,不仅可以导致 B 细胞功能丧失或者凋亡,还能诱导 B 细胞对 dsDNA 产生耐受性,以减少抗 dsDNA 的生成^[28]。类似阿贝莫司(与聚乙二醇连接的四聚双链寡核苷酸)作用机制,设计靶向抗 dsDNA 抗体的 CAR-T 细胞可以达到精准杀伤靶细胞的效果,避免破坏其他细胞而造成的免疫抑制等不良反应。

4.5 Sm Sm 抗原是细胞核内富含尿嘧啶的小分子核糖核蛋白的核心蛋白,在 hnRNA 向 mRNA 转化的过程中发挥着重要作用^[29]。抗 Sm 抗体是 SLE 患者血清中的标志性抗体,虽然灵敏度低,但是特异度很高^[30]。因此,设计靶向抗 Sm 抗体的 CAR-T 细胞有望达到良好的治疗效果。

5 展 望

CAR-T 细胞疗法应用于 SLE 的治疗有着广泛的前景与市场。针对 SLE 中分泌自身抗体的浆细胞和特异性记忆 B 细胞表面特异性标志物设计 CAR 结构,进而靶向杀伤分泌自身抗体的 B 细胞,可能成为 SLE 的一种治愈性方法,而且还能为更多自身免疫病的治疗打开思路。

参考文献

- [1] 王军霞. 系统性红斑狼疮疾病的认知现状[D]. 北京:北京协和医学院,2018.
- [2] MAHAJAN A, HERRMANN M, MUNOZ L E. Clearance deficiency and cell death pathways: a model for the pathogenesis of SLE[J]. Front Immunol, 2016, 7(1): 35.
- [3] 黎毅, 潘邦贫, 李晓岚. 系统性红斑狼疮自身抗体的研究进展[J]. 医学综述, 2019, 25(1): 34-39.
- [4] ELLIOT M S, WILLIAM O. Glucocorticoid-induced myopathy in a patient with systemic lupus erythematosus (SLE): a case report and review of the literature[J]. Am J Case Rep, 2018, 19(2): 277-283.
- [5] MALONEY D G. Anti-CD19 CAR-T cell therapy for

- lymphoma-off to the races[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(Suppl 15): 279-280.
- [6] CHENG Z, WEI R H, MA Q L, et al. In vivo expansion and antitumor activity of coin fused CD28⁺ and 4-1BB-engineered CAR-T Cells in patients with B cell leukemia [J]. Mol Ther, 2018, 26(4): 976-985.
- [7] GROSS G, WAKS T, ESHHAR Z. Expression of immunoglobulin T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(24): 10024-10028.
- [8] ZHANG C, JUN C, ZHONG X, et al. Engineering CAR-T cells[J]. Biomark Res, 2017, 5(1): 22.
- [9] LIM W A, JUNE C H. The principles of engineering immune cells to treat cancer [J]. Cell, 2017, 168(4): 724-740.
- [10] CHMIELEWSKI M, HOMBACH A A, ABKEN H. Of CARs and TRUCKs: chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma [J]. Immunol Rev, 2014, 257(1): 83-90.
- [11] SARAH K T, REBECCA A G. CD19-redIRECTED chimeric antigen receptor-modified T cells: a promising immunotherapy for children and adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. Ther Adv Hematol, 2015, 6(5): 228-241.
- [12] YAN L. Chimeric antigen receptors: unleashing a new stage of anti-cancer therapy[J]. Cancer Cell Int, 2018, 18(1): 182.
- [13] KOCHENDERFER J N, DUDLEY M E, KASSIM S H, et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(6): 540-549.
- [14] GIAVRIDIS T, VAN DER STEGEN S J C, EYQUEM J, et al. CAR-T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade [J]. Nat Med, 2018, 24(6): 731-738.
- [15] TARASSISHIN L, SUH H S, LEE S C. LPS and IL-1 differentially activate mouse and human astrocytes: role of CD14[J]. Glia, 2014, 62(6): 999-1013.
- [16] STAEDTKE V, BAI R Y, KIM K, et al. Disruption of a self-amplifying catecholamine loop reduces cytokine release syndrome[J]. Nature, 2018, 564(7735): 273-277.
- [17] SANG A, ZHENG Y Y, MOREL L. Contributions of B cells to lupus pathogenesis[J]. Mol Immunol, 2014, 62(2): 329-338.
- [18] SANDRA V N, RENATO M G, ALBERTO E G, et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial[J]. Lancet, 2011, 377: 721-731.
- [19] MERRILL J T, NEUWELT C M, WALLACE D J, et al. Efficacy and safety of rituximab in moderately-to-severely active systemic lupus erythematosus: the randomized, double-blind, phase II/III systemic lupus erythematosus evaluation of rituximab trial[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(2): 222-233.
- [20] BERAHOVICH R, XU S, ZHOU H, et al. Flag-tagged CD19-specific CAR-T cells eliminate CD19-bearing solid tumor cells and in vivo[J]. Front Biosci, 2017, 22: 1644-1654.
- [21] BOUCHKOUJ N, KASAMON Y L, DE CLARO R A, et al. FDA approval summary: axicabtagene ciloleucel for relapsed or refractory large B-cell lymphoma[J]. Clin Cancer Res, 2019, 25(6): 1702-1708.
- [22] SCHUSTER S J, BISHOP M R, TAM C S, et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma[J]. N Engl J Med, 2019, 380(1): 45-56.
- [23] KANSAL R, RICHARDSON N, NEELI I, et al. Sustained B cell depletion by CD19-targeted CAR T cells is a highly effective treatment for murine lupus [J]. Sci Transl Med, 2019, 11(482). pii: eaav1648.
- [24] LEANDRO M J. B-cell subpopulations in humans and their differential susceptibility to depletion with anti-CD20 monoclonal antibodies [J]. Arthritis Res Ther, 2013, 15 Suppl 1: S3.
- [25] ZAHRA P, ALAGHEBAND B A, REYHANEH H, et al. The applications of anti-CD20 antibodies to treat various B cells disorders [J]. Sci Transl Med, 2019, 109: 2415-2426.
- [26] LIOSSIS S N, SFIKAKIS P P. Rituximab-induced B cell depletion in autoimmune diseases: potential effects on T cells[J]. Clin Immunol, 2008, 127(3): 280-285.
- [27] SONG D G, POWELL D J. Pro-survival signaling via CD27 costimulation drives effective CAR T-cell therapy [J]. Oncoimmunology, 2012, 1(4): 547-549.
- [28] ROBAK E, ROBAK T. Novel and emerging drugs for systemic lupus erythematosus: mechanism of action and therapeutic activity[J]. Curr Med Chem, 2012, 19(3): 438-453.
- [29] 陈颖娟. 研究一 抗 SmD1 抗体在系统性红斑狼疮中的临床意义——基于 CSTAR 数据研究 研究二 系统性红斑狼疮并发难治性血小板减少的临床特征研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [30] KALININA O, LOUZOUN Y, WANG Y, et al. Origins and specificity of auto-antibodies in Sm⁺ SLE patients [J]. J Autoimmun, 2018, 90(1): 94-104.

(收稿日期: 2019-05-21 修回日期: 2019-10-16)