

CAR-NK 细胞治疗血液肿瘤的研究进展*

刘洪秀¹ 韩艳秋¹

[摘要] NK 细胞作为固有免疫细胞在肿瘤免疫监视中发挥重要作用。相比 CAR-T 其神经毒性、细胞因子释放综合征等不良反应和移植物抗宿主病鲜有发生,因此有希望成为嵌合抗原受体细胞免疫治疗更好的细胞来源。目前 CAR-NK 细胞的研究仍多使用根据 T 细胞激活原理设计的 CAR。该文针对 NK 细胞激活原理设计的 CAR 结构、可用于免疫治疗的 NK 细胞来源和 CAR-NK 细胞在白血病、淋巴瘤、骨髓瘤的临床前景及临床研究进展进行综述。分析得出,“现货型”CAR-NK 细胞将是血液肿瘤治疗的新方向,如何增加 CAR-NK 细胞在体内的存活时间仍是其应用于临床亟须解决的问题。

[关键词] CAR-NK;过继性细胞免疫治疗;血液肿瘤;NK 细胞

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2023.01.016

[中图分类号] R733 **[文献标志码]** A

Outlook for CAR-NK immunotherapy in hematological malignancy

LIU Hongxiu HAN Yanqiu

(Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot, 010050, China)

Corresponding author: HAN Yanqiu, E-mail: qyh1016@sina.com

Abstract Natural killer cell plays an important role in immune surveillance as a crucial component of the innate system. It's a promising alternative platform for CAR engineering owing to their lower risk of graft versus host disease and incidence of adverse events such as cytokine release syndrome or neurotoxicity. CAR constructs optimized for T-cell signaling and function still make up the majority of studies exploring CAR NK cells. In this review, it focuses on the details of CAR-NK technology, including the design of efficient CAR constructs and NK cell sources. It also provides an outlook on how these CAR-NK cell therapies treating various hematological malignancies, including leukemia, lymphoma and multiple myeloma. Off-the-shelf cellular therapy is likely to be the next frontier for hematological malignancies. Limitation of in vivo survival time for infused cells is the challenge urgently needs to be overcome.

Key words CAR-NK; adoptive cellular immunotherapy; hematologic tumor; natural killer cell

1 NK 细胞

NK 细胞是重要的固有免疫细胞,在肿瘤免疫监视中发挥关键作用。主要起源于造血干细胞,占成人外周血淋巴细胞的 5%~15%。在人类常以 CD56⁺CD3⁻且不表达 T 细胞受体(TCR)加以定义,根据 CD56 和 CD16 表达水平的不同分为 2 大亚群。其中,CD56^{dim}CD16^{high}表型的亚群,占外周血 NK 细胞的 85%~90%,主要介导细胞毒性反应;CD56^{bright}CD16^{low/-}表型的亚群主要存在于次级淋巴组织中,仅占外周血 NK 细胞的 10%~15%,具有较低的细胞毒性和较高的分泌细胞因子的作用。CD56^{dim}CD16^{high}是较 CD56^{bright}CD16^{low/-}成熟的阶段^[1]。

NK 细胞表面表达复杂的受体谱,主要包括杀

伤免疫球蛋白样受体(KIR)、C 型凝集素样受体家族(CD94-NKG2)和 NKp30、NKp44、NKp46 等激活性自然细胞毒受体(NCR)。按其识别的配体可分为识别 HLA I 类分子的受体和识别非 HLA I 类分子的受体。按其功能又可分为抑制性和活化性受体,与相应配体作用分别传导抑制性和活化性信号,NK 细胞的激活由 2 种信号间的平衡决定。不同于 T 细胞通过 TCR 特异性识别 MHC-抗原肽复合物产生活化信号进而激活的方式,NK 细胞发挥杀伤靶细胞的作用无须抗原刺激、抗原提呈且无自体 MHC 限制性。活化的 NK 细胞同细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)一样可以释放多种介质和细胞因子直接杀伤靶细胞,如穿孔素、颗粒酶、IFN- γ 、TNF 等,也可以通过表达 FasL 诱导靶细胞凋亡。此外,NK 细胞还有抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用(ADCC)。NK 细胞可释放炎症因子和趋化因子活化更多的免疫细胞,如 T 细胞、树突状细胞、巨噬细胞等^[2]。

*基金项目:内蒙古自治区科技计划项目(No:201702117)

¹内蒙古医科大学附属医院血液科(呼和浩特,010050)

通信作者:韩艳秋,E-mail:qyh1016@sina.com

2 CAR-NK 细胞

2.1 CAR 结构

CAR 结构由胞外结构域、跨膜区、胞内信号结构域组成。单链可变区(scFv)是最常用的胞外抗原结合区。T 细胞的 CAR 结构由 1 个与 TCR 结合传递“第一信号”的 CD3 ζ 和 1 或 2 个传递“第二信号”的共刺激分子组成,最常用的共刺激分子有 CD28 和 4-1BB^[3]。CD3 ζ 链胞内含有 3 个 ITAM,具有较强的活化作用。目前已有研究中 CAR-NK 多沿用为 T 细胞设计的识别受体和信号传导结构,虽然活化 T 细胞的 CAR 结构经研究证实也能激活 NK 细胞,但并不是 NK 细胞活化的主要信号通路。因此,近年专为活化 NK 细胞设计的 CAR 结构成为 CAR-NK 研究的重要方向之一。

2.1.1 NKG2D NKG2D 是 NK 细胞表面的 C 型凝集素家族受体,也表达于 NK T 细胞、激活的 CD8⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞和 $\gamma\delta$ ⁺ T 细胞等。人类 NKG2D 的配体有 8 种,即 MICA、MICB 及 6 个 UL-16 结合蛋白。这些配体在正常细胞表面不表达或弱表达,于恶性转化、病毒感染、炎症等应急诱导(stress-induced)条件下表达上调。NKG2D 是 NK 细胞重要的激活性受体,人类 NKG2D 受体复合物不含有 ITAM 结构,通过与 DAP10 结合招募 PI3K 和 Grb2-Vav1 复合物等激活下游信号通路。Chang 等^[4] 研究发现相比未经转导的 NK 细胞,NKG2D-DAP10-CD3 ζ 转导的 NK 细胞对多种白血病和实体瘤细胞系杀伤效果显著增加($P < 0.0001, n = 65$),进一步研究发现 NK 细胞的细胞毒性、细胞因子分泌水平和靶细胞凋亡增加。Li 等^[5] 构建了 9 种 CAR-NK-92,其中 scFv-NKG2D-2B4-CD3 ζ 的 NK 细胞毒性明显增强,高于表达 T 细胞 CAR 结构的 NK-92 细胞,通过制造位点突变证实 NKG2D 和 2B4 均有助于增加 NK 细胞毒性。Leivas 等^[6] 构建的 NKG2D-4-1BB-CD3 ζ -CAR NKAE 在体内外对骨髓瘤细胞均取得了较强的杀伤效果,对 NKG2DL 表达水平高的细胞系显示出更强的杀伤作用,且相较表达相同结构的 CAR-T 细胞,前者具有非常低的细胞因子分泌水平,因此在治疗过程中未引发严重的 CRS 等不良反应,具有更好的安全性。可见 NKG2D 作为 NK 细胞的自身激活元件,能更好地识别和激活 NK 细胞,是未来 CAR-NK 细胞受体发展的热门方向。NKG2D 作为 CAR 结构的受体,不再局限于攻击 1 种或 2 种靶向抗原,而是识别应急压力诱导下表达的多种分子,更大程度地发挥了 NK 细胞的杀伤作用,但何种胞内信号结构能更好地传递 NKG2D 的活化信号仍需进一步探索。

2.1.2 2B4(CD244) 2B4(CD244)属于信号淋巴细胞激活分子(SLAM)家族,主要表达于 NK 细胞、 $\gamma\delta$ ⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞,也表达于单核细胞、嗜碱性粒细胞、嗜酸性粒细胞、树突状细胞等。

目前已发现与 2B4 结合的只有 CD48。2B4 胞内域由 4 个 ITSMs 组成,第 1、第 2、第 4 个 ITSM 只与 SAP 结合并传递激活信号,第 3 个 ITSM 在缺乏 SAP 时还可与 SHP-1、SHP-2、SHIP、Csk 等结合传递抑制信号。最终产生激活还是抑制性信号与 CD244 和 SAP 的相对数量有关。2B4 在人体作为共刺激分子与 NKG2D、CD266 等一同活化 NK 细胞^[7]。Altvater 等^[8] 发现 2B4 单独作为激活分子不能完全活化 NK 细胞,但可以作为共刺激分子活化 NK 细胞,2B4 ζ 与 4-1BB ζ 分别作为共刺激分子对 NK 细胞的活化作用相似,和仅含有第 1 和第 2 个 ITSM 的 t2B4 ζ 相比,后者作为共刺激分子的 CAR-NK 对白血病细胞的杀伤作用更强。Li 等^[5] 的研究也证实 2B4 有助于增加 NK 细胞的毒性。Xu 等^[9] 通过在体内外比较 4-1BB 和 2B4 ζ 作为共刺激分子的 CD5-CAR NK 对于 T 细胞相关恶性肿瘤的杀伤作用,发现后者抗肿瘤能力更强。总之,相比经典的 T 细胞共刺激分子,2B4 能更有效地活化 NK 细胞,是未来提高 CAR-NK 杀伤作用的又一发展方向。

2.1.3 CD16(Fc γ R III) CD16 有 A、B 两种亚型,A 型表达于 NK 细胞、单核-巨噬细胞等,B 型表达于中性粒细胞、嗜碱性粒细胞等。NK 细胞的 CD16 A 与 IgG 结合,通过与胞内段 CD3 ζ 相连的 ITAM 传递激活信号发挥 ADCC 作用。但 Fc γ R III 属低亲和力受体,血浆中游离的单体 IgG 分子往往不能有效地激发 ADCC。此外,NK 细胞经由 CD16 激活发挥 ADCC 作用时分泌的 ADAM17 金属蛋白酶会特异的切割 CD16A 近细胞膜处,致使 CD16 的表达显著下调^[10]。为提升抗肿瘤作用,CD16-CAR 可联合单克隆抗体,不仅能更精准地控制给药频率和剂量,多种抗体联合使用还能避免抗原逃逸,出现不良反应时可通过停止输注单抗缓解,具有更高的安全性。Zhu 等^[11] 使用非金属酶裂解的高亲和力 CD16(high-affinity noncleavable CD16, hnCD16)构建的 hnCD16-CAR iNK 与利妥昔单抗联用在体内外均显示出较好的抗肿瘤作用,为未来 CAR-NK 向通用型发展提供了方向。

2.2 CAR-NK 的细胞来源

2.2.1 外周血 NK 细胞(PB-NK) NK 细胞仅占外周血淋巴细胞的 10%,因此需要体外扩增以获取可用于治疗的足够数量的 NK 细胞。PB-NK 的表型成熟,易于分离,省去了干细胞源性 NK 细胞较长的分化步骤,常用于临床前研究^[12]。正常情况下,NK 细胞表面表达一系列识别 HLA 的抑制性受体,以保护自体细胞免受攻击,主要有抑制性 KIR 和 CD94/NKG2A^[13]。基于 NK 细胞的“自我缺失”识别模式,无论是单独输注还是联合造血干细胞移植,与受者 KIR 基因不相合的供者 NK 细胞抗肿瘤作用更强^[14]。此外,血液肿瘤患者自体采集的 NK 细胞因原发疾病和前期治疗会面临数

量下降及功能障碍的问题^[15]。所以,异体 NK 细胞是 CAR-NK 更加理想的细胞来源,但是需要充分去除 T 细胞以避免 GVHD。

2.2.2 NK-92 细胞系 目前可用于研究的 NK 细胞系有 NK-92、NKG、YT、NK-YS、HANK-1、YTS 和 NKL 等,其中 NK-92 的研究及应用最为广泛。于 1992 年从大颗粒细胞来源的侵袭性淋巴瘤患者外周血中分离得到,其生长和杀伤作用依赖于 rIL-2。NK-92 高水平表达激活性受体,如 NKG2D、NKp30、NKp46 和 2B4 等,仅表达 KIR2DL4 一种抑制性 KIR 受体,因此 KIR 受体与 HLA 分子作用后传导的抑制性信号较正常 NK 细胞少。NK-92 细胞的杀伤作用虽较正常 NK 细胞高,但不能完整表达 CD16,因而不能介导 ADCC。由于来源于淋巴瘤细胞,故基因组异常且携带 EB 病毒 DNA^[16],需辐照后用于治疗,以防 NK 细胞进入体内无限制生长。受辐照后的 NK-92 细胞的毒性降低,功能受限。NK-92 不携带任何 T 细胞,不会引起 GVHD,短时间可以大量扩增以达到临床需要的数量,且细胞组成均一、生产成本低,便于作为成品药物标准化生产,这也是 CAR-NK 的发展方向。

2.2.3 脐带血源性的 NK 细胞(CB-NK) NK 细胞占脐带血淋巴细胞的 15%~30%,显著高于外周血。CB-NK 功能不成熟,分泌穿孔素、颗粒酶、干扰素- γ 及表达 FasL 的水平低,与 PB-NK 相比表型不成熟,KIR 等激活性受体表达较低,NKG2A 等抑制性受体表达较高。因此对肿瘤细胞的毒性低于 PB-NK,但是在细胞因子的作用下两者具有相同的分泌功能和抗肿瘤作用^[17]。脐带血中 T 细胞多处于不成熟阶段,且数量较少,异体输注 GVHD 发生率要低得多^[18]。因其单倍体特性,便于选择错配供体以增强杀伤作用。Liu 等^[19]构建的 CD19-CAR-UB NK 已进行临床试验(NCT03056339)并报告了结果(详见 3.2 淋巴瘤)。

2.2.4 多能干细胞源性 NK 细胞 包括胚胎干细胞(human embryonic stem cell, hESC)、骨髓或外周血造血干细胞、脐带血造血干细胞和诱导多能干细胞(iPSC)等来源。目前研究多采用 hESC 或 iPSC 细胞系诱导分化 NK 细胞。干细胞诱导分化的 NK 细胞异质性低,利于标准化生产^[20]。Woll 等^[21]研究发现,hESC 细胞系分化的 NK 细胞较脐带血源性的 NK 细胞在小鼠体内抗肿瘤作用更好。iPSC 是通过体细胞重编程转变而来的多能干细胞。杜为等^[22]通过比较 PB-NK、CB-iPSCs-NK 和 CB-NK 在体外对肿瘤细胞的杀伤作用,发现三者对 K562 和 Raji 细胞杀伤活性差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),杀伤 Raji 细胞实验中 PB-NK 效果更好。Li 等^[5]研究发现 CAR-iPSC NK 在体内外对卵巢癌均有较好的抗肿瘤作用,在小鼠体内实验中与表达活化 T 细胞的 CAR 结构的 CAR-T 抗肿

瘤作用相似,但毒性更小。干细胞源性 CAR-NK 在血液肿瘤的应用仍需进一步研究。

3 临床应用

3.1 白血病

2018 年由 Tang 等^[23]构建的 CD33-CD28-4-1BB-CAR NK-92 在体外杀伤 HL-60 白血病细胞的实验中,相比 NK-92 显示出更强的细胞毒性。而后,在抢救性化疗后的 3 例复发/难治白血病患者中进行了临床研究(NC-T02944162),并评估了治疗的安全性。这也是首个 CAR-NK 细胞的临床研究,患者未获得长期缓解,考虑与 NK-92 细胞受辐照后存活时间、细胞毒性下降有关。值得注意的是实验中 CAR-NK 显示出较好的安全性,当剂量达到每例患者输注 5×10^9 (50 亿)个细胞时,仍未观察到明显的不良反应。NKX101 (NKG2D-OX40-CD3 ζ -IL15)在 AML 模型的临床前研究中较 NK 细胞毒性高 4~8 倍,在体内存活时间延长,一项 I 期临床研究(NCT04623944)正在 R/R AML 和高危 MDS 患者中进行^[24]。Salman 等^[12]发现 CD4-CAR-NK 细胞在体外杀伤 CD4⁺ 的 AML 细胞系的实验中,当效靶比为 5:1 时,细胞溶解率为 100%。而后进行的 AML 小鼠的体内实验中,CAR-NK 治疗组的小鼠生存时间显著延长($P=0.0017$)。一项关于 B-ALL 小鼠的研究发现,FLT3-CAR-NK 细胞能够显著延缓疾病的进展,对 CD19-CAR 的作用起补充作用,尤其是治疗后肿瘤细胞表面抗原变化的患者^[25]。

3.2 淋巴瘤

Liu 等^[19]用脐带血来源的 NK 细胞构建的抗 CD19-CAR-NK,导入了 IL-15 基因,通过自身分泌 IL-15 维持 CAR-NK 细胞在体内存活及增殖,还导入了 iC9 基因(CD19-CD28 ζ -2A-iCasp9-IL15)作为安全开关,可以在需要使用药物启动自杀基因以清除 CAR-NK 细胞。在体内外对 CD19⁺ 的淋巴瘤细胞均显示出较好的杀伤效果,显著延长了小鼠的生存时间。该团队进而开展了相同结构 CAR-NK 的临床试验(NCT03056339)^[26]。共 11 例患者,8 例(73%)的治疗反应具有临床意义,7 例(4 例淋巴瘤和 3 例 CLL)获得了 CR,并且没有观察到 CRS、神经毒性或 GVHD 等不良反应,甚至没有 IL-6 等炎症因子升高,具有较好的安全性。有应答者较无应答者的 CAR-NK 细胞拷贝数峰值显著增加,输注后至少 12 个月仍能检测到 CAR-NK。目前结果已证明用于治疗高危淋巴瘤恶性肿瘤的有效性,虽然仍需更大规模的多中心试验以评估长期疗效。Zhu 等^[11]构建表达 hnCD16-CAR-iNK 具有更强的 ADCC 作用,与利妥昔单抗联合治疗 B 细胞淋巴瘤小鼠,较 PB-NK、iNK 等显示出更好的杀伤作用。而后 Strati 等^[27]在 2021 ASCO 年会上报道了相同结构 CAR-NK 的临床试验(NCT04023071)的初步结果,11 例 R/R B-NHL

患者,8例(73%)获得客观缓解,6例(55%)CR,且未出现 CRS、ICANS 或 GVHD 等不良反应,目前仍在进行随访以明确长期疗效。但从这些结果可以看出,hnCD16-iNK 未来有希望用于治疗淋巴瘤及其他血液肿瘤。

3.3 骨髓瘤

骨髓瘤细胞表面已发现多种抗原表达增高,包括 CD19、CD38、CS1、CD138、BCMA 等。CS1-CAR-NK92、CD138-CAR-NK92 MI 和 CD38-CAR-NK92 对多发性骨髓瘤(MM)细胞均表现出较好的杀伤作用^[28-29],但由于正常情况 NK 细胞、T 细胞、B 细胞等也表达 CD38、CS1 等,针对这些抗原的 CAR-NK 杀伤肿瘤细胞的同时也会攻击体内正常细胞或其他 CAR-NK 细胞,因此为提升疗效,近年研究开始转为 NKG2D、BCMA 等。Leivas 等^[6]构建的 NKG2D-CAR-NKAE 在体内外对 MM 均显示出较好的抗肿瘤作用,且在 150 d 的实验中没有任何的 GVHD 或相关毒性,在体内外均显示较好的安全性。2021 年美国的一项多臂、前瞻性 I 期临床研究(NCT05182073)使用表达 hnCD16 和 BCMA 的 CAR-iPSC NK,前期研究中在体外对骨髓瘤细胞的杀伤效果和 BCMA-CAR-T 相同,且与达雷妥尤单抗联用的治疗效果优于两者单独使用^[30]。中国开展的分别针对 hnCD16^[31]和 BCMA 抗原的 2 项 CAR-NK 细胞的 I 期临床研究,也正在进行中(NCT04614636 和 NCT03940833)。

3.4 CAR-NK 临床应用中的挑战

生理状态 NK 细胞存活时间是 2 周,CAR-NK 细胞在体内缺乏外源性细胞因子支持的情况下存活时间短,这一特征在提高安全性的同时,也是限制其疗效的主要因素。外源性细胞因子因全身性不良反应、促进调节性 T 细胞等免疫抑制细胞扩张其应用受到限制。近年利用基因工程技术生产的自分泌 IL-2、IL-15 等细胞因子的 CAR-NK 细胞,在小鼠中也显示出增强的增殖能力和存活时间,而不会增加细胞因子的全身水平^[32]。此外,Gang 等^[33]使用 IL-12、IL-15 和 IL-18 诱导产生记忆性 NK 细胞(memory-like NK cell,ML NK),通过比较 CD19-CAR-ML NK 和 CD19-CAR-NK 在体外对 Raji 淋巴瘤细胞的作用,发现前者具有更高的脱颗粒和干扰素分泌水平以及更好的杀伤效果,进一步分析发现 CAR 和 ML 分化在增强 NK 细胞功能中具有协同作用,为延长 CAR-NK 细胞在体内的存活时间提供了新方向。

4 展望

NK 细胞是具有强大功能的固有免疫细胞,且有较好的安全性,因此成为过继性免疫治疗的理想选择。CAR-NK 除了可以通过 CAR 通路激活,还可以通过自身受体激活,杀伤不表达 CAR 靶向抗原的肿瘤细胞。目前 NKG2D、2B4、CD16 等根据

NK 细胞活化原理设计的 CAR 结构显著提升了 CAR-NK 的抗肿瘤作用。通过基因转染自分泌细胞因子可以维持 CAR-NK 在体内的存活和增殖,增强抗肿瘤疗效,但仍需进一步探索新的技术。已开展了多项临床前及临床研究,其中已经报道的结果证实了 CAR-NK 细胞在血液肿瘤中的良好应用前景和较少的不良反应。由于 NK 细胞独特的识别和杀伤机制,且较少引起 GVHD、CRS 等不良反应,因此 CAR-NK 细胞来源广泛,可以是无血缘关系的捐赠者、细胞系、脐带血和干细胞等等。标准化、低成本的“现货型”CAR-NK 可能在不久的将来出现并广泛用于临床。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Roma S, Carpen L, Raveane A, et al. The Dual Role of Innate Lymphoid and Natural Killer Cells in Cancer, from Phenotype to Single-Cell Transcriptomics, Functions and Clinical Uses[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(20):5042.
- [2] Shimasaki N, Jain A, Campana D. NK cells for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(3):200-218.
- [3] 赵恺,徐开林. 嵌合抗原受体 T 细胞的结构演变及展望[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(11):964-968.
- [4] Chang YH, Connolly J, Shimasaki N, et al. A chimeric receptor with NKG2D specificity enhances natural killer cell activation and killing of tumor cells[J]. *Cancer Res*, 2013, 73(6):1777-1786.
- [5] Li Y, Hermanson DL, Moriarty BS, et al. Human iPSC-Derived Natural Killer Cells Engineered with Chimeric Antigen Receptors Enhance Anti-tumor Activity[J]. *Cell Stem Cell*, 2018, 23(2):181-192. e5.
- [6] Leivas A, Valeri A, Córdoba L, et al. NKG2D-CAR-transduced natural killer cells efficiently target multiple myeloma[J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(8):146.
- [7] Agresta L, Hoebe K, Janssen EM. The Emerging Role of CD244 Signaling in Immune Cells of the Tumor Microenvironment[J]. *Front Immunol*, 2018, 9:2809.
- [8] Altwater B, Landmeier S, Pscherer S, et al. 2B4 (CD244) signaling by recombinant antigen-specific chimeric receptors costimulates natural killer cell activation to leukemia and neuroblastoma cells[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(15):4857-4866.
- [9] Xu Y, Liu Q, Zhong M, et al. 2B4 costimulatory domain enhancing cytotoxic ability of anti-CD5 chimeric antigen receptor engineered natural killer cells against T cell malignancies[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):49.
- [10] Romee R, Foley B, Lenvik T, et al. NK cell CD16 surface expression and function is regulated by a disintegrin and metalloprotease-17 (ADAM17) [J]. *Blood*, 2013, 121(18):3599-3608.
- [11] Zhu H, Blum RH, Bjordahl R, et al. Pluripotent stem cell-derived NK cells with high-affinity noncleavable CD16a mediate improved antitumor activity [J].

- Blood, 2020, 135(6):399-410.
- [12] Salman H, Pinz KG, Wada M, et al. Preclinical Targeting of Human Acute Myeloid Leukemia Using CD4⁻ specific Chimeric Antigen Receptor(CAR) T Cells and NK Cells[J]. J Cancer, 2019, 10(18):4408-4419.
- [13] Sivori S, Vacca P, Del Zotto G, et al. Human NK cells: surface receptors, inhibitory checkpoints, and translational applications [J]. Cell Mol Immunol, 2019, 16(5):430-441.
- [14] Miller JS, Soignier Y, Panoskaltsis-Mortari A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer [J]. Blood, 2005, 105(8):3051-3057.
- [15] Scoville SD, Nalin AP, Chen L, et al. Human AML activates the aryl hydrocarbon receptor pathway to impair NK cell development and function [J]. Blood, 2018, 132(17):1792-1804.
- [16] Uphoff CC, Denkmann SA, Steube KG, et al. Detection of EBV, HBV, HCV, HIV-1, HTLV-I and-II, and SMRV in human and other primate cell lines[J]. J Biomed Biotechnol, 2010, 2010:904767.
- [17] Luevano M, Daryouzeh M, Alnabhan R, et al. The unique profile of cord blood natural killer cells balances incomplete maturation and effective killing function upon activation[J]. Hum Immunol, 2012, 73(3):248-257.
- [18] Nomura A, Takada H, Jin CH, et al. Functional analyses of cord blood natural killer cells and T cells: a distinctive interleukin-18 response [J]. Exp Hematol, 2001, 29(10):1169-1176.
- [19] Liu E, Tong Y, Dotti G, et al. Cord blood NK cells engineered to express IL-15 and a CD19-targeted CAR show long-term persistence and potent antitumor activity[J]. Leukemia, 2018, 32(2):520-531.
- [20] Heipertz EL, Zynda ER, Stav-Noraas TE, et al. Current Perspectives on "Off-The-Shelf" Allogeneic NK and CAR-NK Cell Therapies [J]. Front Immunol, 2021, 12:732135.
- [21] Woll PS, Grzywacz B, Tian X, et al. Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity[J]. Blood, 2009, 113(24):6094-6101.
- [22] 杜为, 崔丽娟, 徐迎, 等. 脐带血单个核细胞诱导多能干细胞来源自然杀伤细胞的生物学特性[J]. 中华细胞与干细胞杂志(电子版), 2021, 11(6):329-336.
- [23] Tang X, Yang L, Li Z, et al. Erratum: First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells; safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia[J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(9):1899.
- [24] Bachier C, Borthakur G, Hosing C, et al. A Phase 1 study of NKX101, an allogeneic CAR natural killer (NK) cell therapy, in subjects with relapsed/refractory (R/R) acute myeloid leukemia (AML) or higher-risk myelodysplastic syndrome (MDS) [J]. Blood, 2020, 136(Suppl 1):42-43.
- [25] Oelsner S, Waldmann A, Billmeier A, et al. Genetically engineered CAR NK cells display selective cytotoxicity against FLT3-positive B-ALL and inhibit in vivo leukemia growth[J]. Int J Cancer, 2019, 145(7):1935-1945.
- [26] Liu E, Marin D, Banerjee P, et al. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors[J]. N Engl J Med, 2020, 382(6):545-553.
- [27] Strati P, Bachanova V, Goodman A, et al. Preliminary results of a phase I trial of FT516, an off-the-shelf natural killer (NK) cell therapy derived from a clonal master induced pluripotent stem cell (iPSC) line expressing high affinity, non-cleavable CD16 (hnCD16), in patients (pts) with relapsed/refractory (R/R) B-cell lymphoma (BCL) [J]. J Clin Oncol, 2021, 39(15 Suppl):7541.
- [28] Chu J, Deng Y, Benson DM, et al. CS1-specific chimeric antigen receptor (CAR)-engineered natural killer cells enhance in vitro and in vivo antitumor activity against human multiple myeloma [J]. Leukemia, 2014, 28(4):917-927.
- [29] Hambach J, Riecken K, Cichutek S, et al. Targeting CD38⁻ expressing multiple myeloma and burkitt lymphoma cells in vitro with nanobody based chimeric antigen receptors (Nb-CARs) [J]. Cells, 2020, 9(2):321.
- [30] Goodridge JP, Bjordahl R, Mahmood S, et al. FT576 path to first-of-kind clinical trial: translation of a versatile multi-antigen specific off-the-shelf NK cell for treatment of multiple myeloma [J]. Cancer Res, 2021, 81(13 Suppl):1550.
- [31] Ryan B, Svetlana G, Karrune W, et al. FT538: Preclinical Development of an Off-the-Shelf Adoptive NK Cell Immunotherapy with Targeted Disruption of CD38 to Prevent Anti-CD38 Antibody-Mediated Fratricide and Enhance ADCC in Multiple Myeloma When Combined with Daratumumab [J]. Blood, 2019, 134(Suppl 1):133.
- [32] Soldierer M, Bister A, Haist C, et al. Genetic Engineering and Enrichment of Human NK Cells for CAR-Enhanced Immunotherapy of Hematological Malignancies [J]. Front Immunol, 2022, 13:847008.
- [33] Gang M, Marin ND, Wong P, et al. CAR-modified memory-like NK cells exhibit potent responses to NK-resistant lymphomas [J]. Blood, 2020, 136(20):2308-2318.

(收稿日期:2022-03-21)