

# CAR-T 细胞治疗在自身免疫性疾病中的应用\*

李春晖 李春蕊\*

华中科技大学同济医学院附属同济医院血液内科,湖北武汉 430030

**摘要** 嵌合抗原受体 T(CAR-T) 细胞疗法在血液肿瘤取得了令人瞩目的成绩,研究者尝试将该技术拓展用于系统性红斑狼疮、视神经脊髓炎、重症肌无力、1 型糖尿病等自身免疫性疾病。本文概述了 CAR-T、嵌合自身抗体受体 T 细胞(CAAR-T)和嵌合抗原受体调节 T 细胞(CAR-Treg)治疗自身免疫性疾病的病理基础及研究进展。

**关键词** 嵌合抗原受体 T 细胞;嵌合自身抗体受体 T 细胞;嵌合抗原受体调节 T 细胞;自身免疫性疾病

**中图分类号** R593.2

**文献标识码** A

**DOI** 10.11768/nkjwzzzz20230503

**Application of CAR-T cell therapy in autoimmune diseases** Li Chun-hui, Li Chun-rui\*. Department of Hematology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Wuhan 430030, China  
Corresponding author: Li Chun-rui, E-mail: cunrui5650@hust.edu.cn

**Abstract** Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cell therapy has garnered remarkable achievements in the treatment of hematologic malignancies, prompting researchers to explore the application of CAR technology for refractory autoimmune disorders, including systemic lupus erythematosus, neuromyelitis optica, myasthenia gravis, type 1 diabetes, and so on. This article provides an overview of the pathological basis and recent advancements in utilizing CAR-T, chimeric autoantibody receptor T cells (CAAR-T), and CAR-T regulatory cells (CAR-Treg) for the treatment of autoimmune diseases.

**Key words** Chimeric antigen receptor T cell; Chimeric autoantibody receptor T cell; Chimeric antigen receptor regulatory T cell; Autoimmune diseases

自身免疫性疾病是免疫系统对自身机体产生免疫反应,导致自身组织受损的一类疾病。根据受累部位的不同,自身免疫性疾病可以分为两大类:一类是器官特异性自身免疫性疾病,例如神经系统受累的重症肌无力(myasthenia gravis, MG)、破坏胰岛细胞的 1 型糖尿病(type 1 diabetes, T1D)、累及肝脏的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)等;另一类是涉及多个组织和器官、反映免疫失衡的系统性自身免疫性疾病,如类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)、干燥综合征(Sjögren syndrome, SS)、系统性硬化症(systemic sclerosis, SSc)等。改善病情的抗风湿药、非甾体抗炎药和糖皮质激素是目前控制自身免疫疾病的主要手段,但仍有一半以上患者对上述治疗反应不佳<sup>[1]</sup>。嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞疗法在血液肿瘤中取得了显著的疗效,商品化 CD19 CAR-T 细胞治疗复发难治弥漫性大 B 细胞淋巴瘤的客观缓解率(objective response rate, ORR)率为 52%~82%,完全缓解(complete response, CR)率为 40%~58%,

1 年的无进展生存(progression-free survival, PFS)率为 33.2%~46.6%<sup>[2]</sup>。靶向 B 细胞成熟抗原(B-cell maturation antigen, BCMA)的商品化 CAR-T 治疗复发难治性多发性骨髓瘤的 ORR 为 72%~97%,CR 率为 28%~74.3%<sup>[3]</sup>。本文概述了 CAR-T、嵌合自身抗体受体 T 细胞(chimeric autoantibody receptor T cells, CAAR-T)和嵌合抗原受体调节 T 细胞(chimeric antigen receptor regulatory T cells, CAR-Treg)等疗法在自身免疫性疾病治疗领域的应用基础及研究进展,相关临床试验的开展见表 1。

## CAR-T 细胞治疗自身免疫疾病的基础

自身免疫性疾病的潜在致病因素未完全清楚,涉及的病理因素主要有 3 个:①自身抗体的存在;②与疾病相关的自身反应性淋巴细胞;③介导免疫耐受的 Treg 细胞减少或功能缺失。自身抗体可通过补体依赖的细胞毒作用(complement dependent cytotoxicity, CDC)和抗体依赖的细胞介导的细胞毒性作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)以及免疫复合物沉积等机制介导组织损伤。

\* 基金项目:国家自然科学基金(No:82170223)

\* 通信作者:李春蕊, E-mail: cunrui5650@hust.edu.cn, 湖北省武汉市硚口区解放大道 1095 号

表 1 CAR-T 及 CARR-T 细胞治疗自身免疫性疾病临床试验开展情况

| 临床研究             | 细胞治疗            | 疾病                                                      | 阶段     | 国家     |
|------------------|-----------------|---------------------------------------------------------|--------|--------|
| NCT05859997      | CD19 CAR-T      | 系统性红斑狼疮、干燥综合征、系统性硬化症、炎性肌病、ANCA 相关性血管炎、抗磷脂综合征            | 未知     | 中国     |
| NCT05263817      | CD19/BCMA CAR-T | POEMS 综合征、淀粉样变性、自身免疫性溶血性贫血、血管炎                          | I 期    | 中国     |
| NCT05798117      | CD19 CAR-T      | 系统性红斑狼疮、狼疮肾炎                                            | I/II 期 | 西班牙,德国 |
| NCT05030779      | CD19/BCMA CAR-T | 系统性红斑狼疮                                                 | I 期    | 中国     |
| NCT05765006      | CD19 CAR-T      | 系统性红斑狼疮                                                 | I 期    | 中国     |
| NCT05930314      | CD19 CAR-T      | 难治性系统性红斑狼疮、狼疮肾炎、免疫性血小板减少症                               | I 期    | 中国     |
| NCT05474885      | CD19/BCMA CAR-T | 复发/难治性系统性红斑狼疮                                           | I 期    | 中国     |
| NCT05846347      | CD19/BCMA CAR-T | 难治性系统性红斑狼疮、狼疮肾炎、免疫性血小板减少症                               | I 期    | 中国     |
| NCT05869955      | CD19 CAR-T      | 系统性红斑狼疮                                                 | I 期    | 美国,德国  |
| NCT05828225      | CD19 CAR-T      | 重症肌无力                                                   | I 期    | 中国     |
| NCT05828212      | CD19 CAR-T      | 视神经脊髓炎                                                  | I 期    | 中国     |
| NCT04146051      | BCMA CAR-T      | 全身型重症肌无力                                                | II 期   | 美国,加拿大 |
| NCT05085431      | CD19/BCMA CAR-T | 干燥综合征                                                   | I 期    | 中国     |
| NCT03605238      | tanCART19/20    | 视神经脊髓炎                                                  | I 期    | 中国     |
| NCT05239702      | CD7 CAR-T       | 克罗恩病、溃疡性结肠炎                                             | I 期    | 中国     |
| NCT05858684      | CD19/BCMA CAR-T | 难治性系统性红斑狼疮                                              | II 期   | 中国     |
| NCT05085418      | CD19/BCMA CAR-T | 免疫性肾炎、狼疮肾炎                                              | III 期  | 中国     |
| NCT05085444      | CD19/BCMA CAR-T | 系统性硬化症                                                  | IV 期   | 中国     |
| NCT04561557      | BCMA CAR-T      | 神经系统的自身免疫性疾病:视神经脊髓炎、重症肌无力、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经根神经病、免疫介导的坏死性肌病等 | VI 期   | 中国     |
| NCT03030976      | CD19 CAR-T      | 系统性红斑狼疮                                                 | I 期    | 中国     |
| NCT05459870      | 4SCAR-T         | 自身免疫性疾病                                                 | I/II 期 | 中国     |
| ChiCTR2200061267 | BCMA-CD19 CAR-T | 自身免疫性疾病                                                 | 0 期    | 中国     |
| ChiCTR2100049920 | CD19/BCMA CAR-T | 自身免疫性疾病                                                 | I 期    | 中国     |
| ChiCTR1900023139 | CD19 CAR-T      | 自身免疫性疾病                                                 | 0 期    | 中国     |
| NCT05451212      | MuSK-CAART      | MuSK 阳性重症肌无力                                            | I 期    | 美国     |
| NCT04422912      | DSG3-CAART      | 天疱疮                                                     | I 期    | 美国     |

注:根据 2023 年 7 月 9 日访问的网站 [www.clinicaltrials.com](http://www.clinicaltrials.com) 和 [www.chictr.org.cn](http://www.chictr.org.cn),目前有 26 项临床试验注册来评估 CAR-T/CAAR-T 治疗自身免疫性疾病,尚无 CAR-Treg 注册

与自身免疫性疾病相关的病理细胞主要包括产生自身抗体的 B 细胞、活化的 T 细胞和抗原呈递细胞 (antigen-presenting cells, APCs)。B 细胞通过产生自身抗体、释放促炎细胞因子和作为 APCs 激活自身反应性 T 细胞,在多种自身免疫性疾病的进展中发挥关键作用<sup>[4]</sup>。调节性 T 细胞能够直接抑制自身反应细胞的激活、扩增,调节免疫系统、避免机体发生免疫异常,对维持外周耐受性至关重要<sup>[5]</sup>。Treg 细胞表面高表达 CD25 可通过高亲和力竞争性结合 IL-2 来抑制效应性 T 细胞的激活;也可以分泌抗炎细胞因子如 IL-10、IL-35 和 TGF- $\beta$ <sup>[5,6]</sup>;还可以通过

CTLA4 导致 APC 抗原共刺激受体 CD80/CD86 发生胞噬作用,从而抑制 APC 对 T 细胞的激活和应答。

目前,CAR-T 细胞、CAAR-T 细胞和 CAR-Treg 细胞是研究最广泛的 3 种策略,见图 1。CAR-T 是一种过继性 T 细胞疗法 (adoptive T cell therapy, ACT),其通过逆转录病毒或慢病毒将带有特异性抗原识别结构域及 T 细胞激活信号的遗传物质转入 T 细胞,使 T 细胞直接与靶细胞表面的特异性抗原相结合而被激活,通过释放穿孔素、颗粒酶素 B 等直接杀伤靶细胞,同时还通过释放细胞因子募集人体内源性免疫细胞杀伤靶细胞。CAR-T 还可形成免

疫记忆 T 细胞,产生持久的治疗效果,这对于自身免疫疾病的长期管理和控制非常关键,可能降低复发的风险<sup>[7~9]</sup>。CAAR-T 是类似于 CAR-T 细胞的一种细胞,通过改造 T 细胞使其表达自身抗原,靶向 B 细胞表面的 B 细胞抗原受体 (B-cell receptor, BCR),从而特异性地清除导致自身反应的 B 细胞,而不影响正常 B 细胞功能。CAR-Treg 细胞,即将 CAR 结构装载到 Treg 细胞表面,靶向自身免疫部位,发挥 Treg 细胞的免疫抑制作用,恢复自身免疫部位的免疫平衡,且不产生全身免疫耐受<sup>[10,11]</sup>。相比传统的免疫调节治疗方法,CAR-Treg 治疗能够更准确地定位和调节病变部位的免疫反应,促进自身免疫性疾病患者重新建立免疫耐受,减少对正常免疫功能的干扰。

### CAR-T 和 CAAR-T 治疗自身免疫性疾病进展

**系统性红斑狼疮** SLE 主要特征是免疫失调、出现抗核抗体 (antinuclear antibody, ANA) 和细胞质抗体,这些抗体会形成免疫复合物,激活补体和促进炎症细胞因子释放,引起免疫系统攻击自身健康组织和细胞。B 细胞对 DNA 和核抗原的病理反应先于临床症状,故常常采用 B 细胞耗竭疗法,免疫抑制剂和激素类药物控制 SLE。2021 年 8 月,Georg Schett 团队报道了首例严重 SLE 患者接受 CD19 CAR-T 细胞治疗的数据<sup>[12]</sup>,在治疗后的第 44 天,该患者的 SLE 疾病活动指数从 16 分降至 0 分,未出现明显副作用。2022 年 9 月,该研究团队报道了另外 5 名接受 CD19 CAR-T 细胞治疗的难治性 SLE 患者,所有患者的病情均得到改善,所有患者的狼疮性肾炎均被治愈,血清补体、抗双链 DNA 抗体恢复正

常。此外,CAR-T 治疗后 SLE 相关其他症状如关节炎、疲劳、心脏瓣膜纤维化等消失,在长达 17 个月的随访中所有患者都实现了无药物缓解<sup>[13]</sup>。2023 年 4 月,靶向 CD19 的 CAR-T 药物——瑞基奥仑赛注射液 (简称 relma-cel) 用于治疗中重度难治性 SLE 的新药临床试验申请 (IND) 获得中国国家药品监督管理局 (NMPA) 的默示许可。

**视神经脊髓炎谱系障碍** 视神经脊髓炎谱系障碍 (neuromyelitis optica spectrum disorder, NMOSD) 是一种中枢神经系统的自身免疫性炎症性疾病,发病特征包括急性发作的双侧或短时间内相继出现的视神经炎 (导致严重视力丧失) 或横贯性脊髓炎 (常引起肢体无力、感觉缺失和膀胱功能障碍),并有典型的复发病程。视神经脊髓炎 (neuromyelitis optica, NMO) 的病因主要与水通道蛋白 4 抗体 (aquaporin-4 immunoglobulin G, AQP4-IgG) 介导的脱髓鞘和轴突损伤有关。B 细胞及浆细胞会产生抗 AQP4 抗体,通过 ADCC、CDC 效应损伤星形胶质细胞,进而诱导自身免疫相关的脱髓鞘改变<sup>[14]</sup>。基于 CAR-T 细胞在清除 B 细胞肿瘤方面的卓越能力,可被用于复发/难治性 NMOSD 的治疗中。一种靶向 CD19 和 CD20 的串联 CAR-T 细胞 (tanCART19/20) 正在临床试验 (NCT03605238),以评估其治疗 NMOSD 方面的安全性和有效性<sup>[15]</sup>。另外,华中科技大学同济医学院附属同济医院王伟教授团队发起的一项开放标签的 I 期临床试验 (NCT04561557) 使用 BCMA 特异性 CAR-T 细胞治疗 AQP4 抗体相关的 NMOSD 患者<sup>[16]</sup>。共有 12 名患者接受了 BCMA CAR-T 细胞治疗,中位随访 5.5 个月,11 例 (92%) 受试者未观察到 NMOSD 的复发。所有 12 例受试者发生了 1

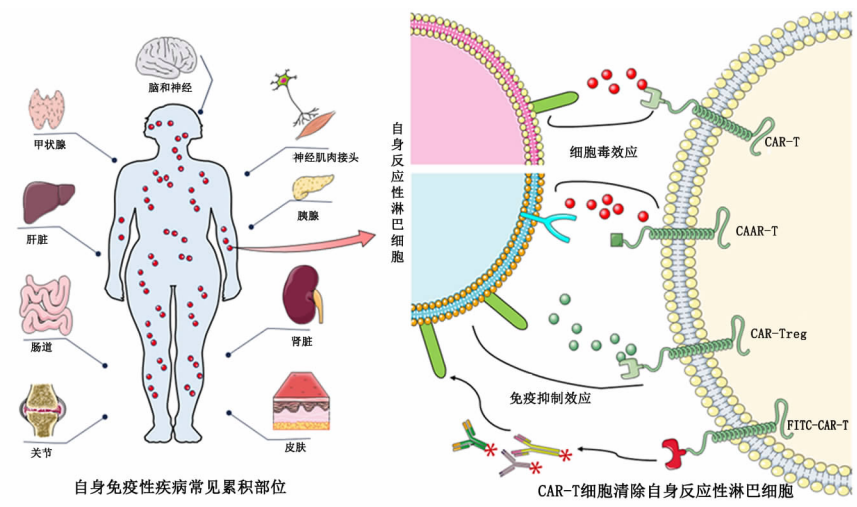


图 1 自身免疫性疾病常见累计部位与 CAR-T 及其衍细胞相关细胞治疗自身免疫疾病的机制

至2级的细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS),但均未发生任何免疫效应细胞相关神经系统综合征(immune effector cell-associated neurologic syndrome, ICANS)。其中6例(50%)受试者视力改善、8例(67%)受试者行走能力改善、9例(75%)受试者直肠膀胱功能改善。在其它生活质量量表与疼痛量表方面也观察到了相应的改善。

**重症肌无力** MG是一种由自身抗体介导的获得性神经-肌肉接头(neuromuscular junction, NMJ)传递障碍的自身免疫性疾病,主要由抗乙酰胆碱受体(acetylcholine receptor, AChR)抗体引起<sup>[17]</sup>。B细胞在MG的病理过程中发挥着至关重要的作用<sup>[4,18]</sup>。Descartes-08是由mRNA表达CAR来制备CAR-T的疗法,可短暂而非永久的表达CAR分子,从而降低了传统CAR-T细胞疗法的固有风险,其靶向BCMA,用于治疗全身型重症肌无力(generalized myasthenia gravis, gMG)。最近Tahseen Mozaffar等公布了使用Descartes-08治疗gMG患者的Ib/IIa期临床试验的结果<sup>[19]</sup>,第一个队列的3例gMG患者均表现出显著的疾病改善,且对药物耐受良好,没有发生CRS或其它严重的不良反应。第2部分的11例gMG患者中位随访5个月(范围3~9个月),没有剂量限制性毒性、CRS或神经毒性,且在输注后长达9个月的随访中,MG临床表现显著改善。

**寻常性天疱疮** 寻常性天疱疮(pemphigus vulgaris, PV)是一种自身免疫性大疱性疾病,其发病机制涉及针对桥粒蛋白1和桥粒蛋白3(Dsg3)的自身抗体。这些抗体会破坏桥粒,影响表皮角质形成细胞之间的内聚,对健康皮肤功能造成损害,在皮肤或黏膜(如生殖器或口腔)上形成水泡和溃疡。近期,Ellebrecht等设计了一种CAAR-T细胞治疗方法,可靶向产生Dsg3特异性自身抗体的B细胞。在体外培养的细胞中,Dsg3-CAAR-T细胞表现出对表达Dsg3 BCR的B细胞的特异性毒性,降低了Dsg3自身抗体的滴度。此外,对PV小鼠模型进行的研究显示,Dsg3-CAAR-T细胞可以在体内持续存在,并靶向抑制Dsg3特异性B细胞<sup>[20]</sup>。Dsg3-CAAR-T细胞针对黏膜型PV患者的一期临床试验(NCT04422912)数据尚未公布。这款Dsg3-CAAR-T细胞疗法,旨在选择性地靶向和杀死产生Dsg3抗体的B细胞,同时保留对免疫功能至关重要的健康B细胞。进一步的研究和临床试验将有助于评估CAAR-T在治疗PV方面的潜力。

**1型糖尿病** T1D是一种在自身免疫、遗传、病

毒感染等多种因素作用下,以T细胞介导的胰腺 $\beta$ 细胞破坏为特征的自身免疫性疾病<sup>[21]</sup>。用于治疗T1D的CAR-T细胞有两种,其中一种是靶向并摧毁参与破坏 $\beta$ 细胞的自身免疫细胞。非肥胖糖尿病小鼠(non-obese diabetic mouse, NOD)的主要自身抗原表位在胰岛素B链9-23肽段残基之间,与NOD MHC II类分子(I-Ag7)结合后,形成致病性复合物I-Ag7-B:9-23(R3)<sup>[22]</sup>。2019年李章等<sup>[23]</sup>首次将靶向这种致病复合物的单克隆抗体mAb287引入CAR结构,产生287-CAR,构建了细胞毒性287-CAR-T细胞。这种细胞能选择性地结合致病性复合物R3,延缓或预防T1D。虽然mAb287的确切作用机制尚不清楚,但推测其可能与287-CAR-T CD8+细胞消耗呈递R3的APC有关。2020年,亚利桑那大学Michael S. Kuhns等人报道了一种仿生五模块CAR(5MCAR),靶向糖尿病小鼠模型中的自身免疫CD4+T细胞<sup>[24]</sup>。5MCAR-T细胞能够清除致病的自身免疫T细胞,预防和治疗小鼠T1D。在接受治疗的小鼠中,观察到这些细胞可在体内持续存在长达一年。

**其他自身免疫性疾病** 在系统性风湿病中,有研究尝试将多种抗原纳入CAR结构,使单个CAR产品能够进行多靶点识别<sup>[25]</sup>。另外一种策略是利用生物正交分子反应<sup>[26]</sup>,如异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC),常被用来标记抗体,也可以与不同的自身抗原相耦联。FITC标记的抗原肽作为“转接头”,可以将抗FITC CAR-T导向不同的自身免疫细胞,产生全面而精准的细胞毒作用。在类风湿关节炎的临床前研究中,北京大学周德敏教授团队构建了靶向FITC的通用型CAR-T细胞,使其与FITC标记的不同的瓜氨酸化自身抗原肽表位结合,从而消除RA中识别这些抗原的自身反应性B细胞亚群<sup>[27]</sup>。但是B细胞的持续完全缺失会增加感染的风险,因此,需要进一步探索针对致病性B细胞的更精确的治疗。

CAR-T治疗中常见的不良反应包括CRS、ICANS、感染、B细胞发育不全、肿瘤溶解综合征和凝血障碍等,严重情况下可能危及患者的生命<sup>[28]</sup>。CAR-T回输后与靶细胞发生相互作用,大量释放细胞因子,产生连锁反应,募集并活化巨噬细胞和其它免疫细胞,通过正反馈调节导致细胞因子风暴和过度炎症反应,造成更多的细胞因子活化,如IL-1、IL-6、IL-8、IL-10、MCP-1释放。其中IL-6是CRS主要的炎症介质,引发全身炎症反应,出现发热、乏力

等。如果过度的炎症反应没有得到干预,会进一步诱发毛细血管渗漏、补体系统激活、凝血级联反应及随后出现弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC),导致器官受损和脑肿胀,危及生命。CRS 的治疗包括解热、镇痛、吸氧、血管活性药物等对症治疗,以及时使用 IL-6R 抑制剂托珠单抗(tocilizumab)和糖皮质激素减弱免疫反应。但上述药物是否可以用于预防 CRS,以及其对 CAR-T 细胞疗效的影响尚存在争议。因此,我们需要更多的临床研究来评估 CAR-T 治疗在自身免疫性疾病患者中的长期安全性。

在这种情况下,使用 Treg 细胞作为 CAR-T 细胞的生产原料可能更安全,因为 Tregs 没有细胞毒性,并且可以通过表达抑制因子 CTLA4、分泌 IL-10 和 TGF- $\beta$  可以抑制过度的免疫反应。在自身免疫性疾病中,Tregs 的数量和功能发生改变,导致免疫耐受缺陷、免疫失调、炎症和自身免疫细胞的出现<sup>[29]</sup>。因此,通过引入功能正常的 Tregs 进入自身免疫环境,可以重新建立免疫耐受,缓解疾病<sup>[30]</sup>。然而,非特异性 Tregs 也存在一些问题,可能导致非特异性免疫耐受,影响其免疫应答,并增加患者患癌的风险<sup>[31,32]</sup>。此外,在某些免疫环境中,非特异性 Tregs 可能转化为促炎症的 Th17 细胞。因此,开发具有特异性的 CAR-Tregs,有望降低系统性免疫抑制的风险,提高 CAR-Tregs 的准确性及其效率,并降低脱靶效应。CAR-Tregs 的主要优势包括不受人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)限制,通过共受体信号提高特异性,并且具有靶向灵活性<sup>[7,33]</sup>。研究发现,在小鼠模型中,CAR-Tregs 可以在靶抗原位点聚集,并诱导旁观者抑制效应,这意味着虽然 Treg 细胞被特定抗原激活,但在激活后,它可以抑制针对其他抗原的效应 T 细胞的活性。这种现象有望实现在不表达靶抗原的细胞附近重建免疫耐受,降低受累器官的免疫损伤<sup>[34]</sup>。

### CAR-Treg 治疗自身免疫性疾病进展

**活动性炎症性肠病** 活动性炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn Disease, CD),是一类慢性非特异性肠道炎症性疾病。IBD 的发病机制与黏膜免疫系统对肠道微生物群反应失调有关<sup>[35]</sup>。Treg 细胞通过抑制免疫细胞的活性,调节免疫反应的强度和持续时间,从而维持免疫平衡。增加 Treg 细胞的数量或增强其功能可以减

轻炎症和改善疾病症状。Colombel 发起的一项临床 I / II a 期非对照实验(CATS1 研究)从 20 名受试者体内分离 Treg,体外激活并扩增后给患者回输,8 名患者在治疗后的 8 周内症状明显改善,其中有 2 名患者症状接近缓解<sup>[36]</sup>。威兹曼科学研究所 Eshhar 使用 2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)诱导的小鼠结肠炎模型也证实了 CAR-Tregs 对结肠炎的治疗作用<sup>[37]</sup>。此外,针对不同抗原(如癌胚抗原 CEA)的 CAR-Tregs 也能有效抑制结肠炎<sup>[38]</sup>。哈佛医学院 Kuchroo V 使用第二代 CAR 转导的 Tregs 用于治疗 CD,该 CAR 含有靶向 IL-23R 的 CD28 共刺激结构域<sup>[39]</sup>,在小鼠体内这些 CAR-Tregs 能够抑制 T 细胞的增殖,并在体内定位到靶器官,减低肠道炎症。

**多发性硬化** 多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种自身免疫性脱髓鞘和神经退行性疾病,遗传和环境因素在其发生中起关键作用。在 MS 中,自身反应性 T 细胞识别神经细胞髓鞘的抗原表位,导致神经传导功能受损。与健康对照组相比,MS 患者的 Tregs 分泌更多的 IFN- $\gamma$  并且减少 IL-10,这表明 Tregs 的抑制活性在疾病进展过程中被破坏<sup>[40]</sup>。转录因子 FoxP3 的缺失可能导致 Treg 细胞获得促炎特性,从而加重疾病进展或显著提高免疫反应<sup>[41,42]</sup>。转染 T 细胞使其表达 FoxP3 可诱导调节活性,以解决外周血原代 Treg 细胞数量低和内源性 Treg 细胞中 FoxP3 表达缺失的问题<sup>[43]</sup>。安特卫普大学 Willekens 在 MS 小鼠模型中,通过基因改造 CD4 + T 细胞<sup>[44]</sup>,使其共表达靶向髓鞘少突胶质细胞糖蛋白(myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG)的 CAR 和 FOXP3。由此产生的 MOG-CAR Treg 细胞成功进入小鼠大脑,减少了脑组织中的促炎细胞因子 mRNA 的水平,与对照组相比,使用 MOG-CAR Treg 细胞治疗的小鼠病情恢复。

**1 型糖尿病** T1D 患者的 Treg 细胞的免疫抑制功能降低<sup>[45]</sup>,这为利用 CAR-Tregs 治疗 T1D 提供了思路。谷氨酸脱羧酶(GAD)是一种存在于胰岛、中枢神经系统及睾丸的重要自身抗原。大约 70% 的 T1D 患者在诊断时存在抗 GAD 的抗体。Shahnawaz Imam 等<sup>[46]</sup>设计了一种靶向  $\beta$  细胞的 GAD65 表位的 CAR-Tregs,输注后 24 h,这些 CAR-Tregs 定位于人源化 T1D 小鼠模型的胰岛,与对照组相比,CAR-Tregs 治疗组的胰腺和脾脏中的 Tregs 数量显著增加,同时小鼠的血糖水平也较低。此外,同种异体胰岛移植是一种有前途的 T1D 治疗方法,然而,宿主免疫系统介导的排斥反应限制了胰岛移植的广

泛应用。Pierini 等<sup>[47]</sup>构建了 FITC CAR-Tregs, 可以延长同种异体胰岛移植体在体内的存活时间。这些发现进一步表明 CAR-Tregs 具有治疗 T1D 的潜力。

**白癜风** 白癜风 (Vitiligo) 是一种进行性皮肤病, 色素脱失的皮肤病, 病变皮肤的活检显示黑素细胞缺失并发现 Tregs 缺乏和功能降低<sup>[48,49]</sup>。神经节苷脂 D3 (GD3) 膜抗原在黑素细胞中过表达, 使其成为 CAR-Tregs 靶向黑素细胞的理想靶点。Mukhatayev 等<sup>[50]</sup>研究发现, 接受靶向 GD3 的 CAR-Tregs 治疗的小鼠表现出更高水平的 IL-10, 黑素细胞的破坏受到抑制, 色素脱失延迟。该研究结果支持使用 CAR-Tregs 治疗白癜风, 以控制白癜风的色素脱色并促进免疫耐受。

**类风湿关节炎** 通过开发特异性 CAR-Tregs 诱导受累关节滑膜产生免疫耐受也是一种很有前景的 RA 治疗策略。Wright 等<sup>[51]</sup>利用卵清蛋白 (ovalbumin, OVA) 特异性 Tregs 来抑制 OVA 诱导的关节炎, 包括 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 转导的原代 Treg 细胞和 TCR-FoxP3 转导的 CD4 + T 细胞诱导的 Treg 细胞, 两种改造的 Tregs 都通过旁观者抑制降低不同抗原特异性 T 细胞的增殖功能。TCR-Tregs 和 TCR-FoxP3 诱导的 Tregs 都定位到了受损组织中, 减少了炎症性 Th17 细胞的数量, 并显著减少了关节炎骨破坏。瓜氨酸蛋白 (CV) 是一种特异性抗原, 仅存在于 RA 患者炎症滑膜组织的细胞外基质中。Raffin 等<sup>[50]</sup>构建了针对 CV 的抗原特异性 CAR-Tregs, 结果尚待公布。

## 展 望

近 10 年, CAR-T 细胞治疗血液肿瘤取得了显著疗效, 许多研究者尝试使用 CAR 技术治疗自身免疫疾病, 已经初步显示了其应用潜力, 但其在自身免疫疾病治疗中面临着更复杂的挑战。一方面 CAR-T 细胞治疗仍面临高成本、耗时的生产过程、制造失败的固有风险、免疫相关不良事件、复发/难治性风险等挑战<sup>[52]</sup>。多项研究分别从提高 T 细胞富集效率, 维持 CAR-T 细胞在体内长期存续, 增加 CAR-T 细胞的记忆表型, 减少 CAR-T 耗竭表型, 提高 CAR 与抗原或抗体的特异性结合, 促进 CAR-T 对内源性免疫功能的活化, 降低 CAR-T 细胞的免疫原性等角度解决问题<sup>[53]</sup>。另一方面在开发基于 CAR 细胞治疗自身免疫性疾病时, 还必须考虑到这类疾病的特殊之处。不同于血液肿瘤相对容易靶向的特征分子 (如 CD19, CD20, BCMA 等), 在绝大多数自身免疫

性疾病中, 自身抗体介导的特异性抗原靶点是未知的。在一些情况下, 自身抗原表位暴露, 或者交叉反应等产生自身抗体, 靶向这类抗体结合的抗原表位是不妥当的; 另外许多自身免疫性疾病之间自身抗体谱存在重叠。这使得识别那些可以被 CAR 靶向的自身抗原结构变得更加困难<sup>[54]</sup>。此外, 不同于肿瘤患者体内功能正常的 T 细胞, 自身免疫疾病患者的 T 细胞常伴有功能异常。这些功能异常的 T 细胞用于制备 CAR-T 也可能对疗效产生影响, 可以通过基因编辑技术提高 CAR-T 的疗效。如 Treg 细胞功能缺陷, 可以通过诱导其表达 foxp3 以恢复免疫抑制功能。目前, CAAR-T 细胞和 CAR-T 细胞多用于由自身免疫性 B 细胞产生的抗体介导的自身免疫性疾病, 其应用范围相对较窄。CAR-Tregs 可以更好地解决自身免疫性疾病的自身耐受的丧失。Treg 细胞介导的旁观者抑制和感染耐受是治疗抗原多样复杂疾病的有用工具<sup>[34]</sup>。Treg 细胞可以在环境中被激活并执行免疫调节功能。此外, 与其他 CAR-T 产品相比, CAR-Tregs 在脱靶毒性和对免疫能力的影响方面可能具有更高的安全性。然而, 体外扩增和长期体内存续, 以及鉴定特异性抗原等困难, 大大减缓了 Tregs 在临床领域的引入。

在开展多中心临床试验之前, 需要更多的基础研究和临床前研究来评估基于 CAR 的治疗方法, 并且需要进一步优化以不断提高治疗的安全性和有效性, 以便在自身免疫性疾病中广泛使用 CAR-T、CAAR-T、CAR-Treg 细胞治疗。

## 参 考 文 献

- 1 Baghdadi H, Abdel-Aziz N, Ahmed NS, et al. Ameliorating role exerted by al-hijamah in autoimmune diseases: effect on serum autoantibodies and inflammatory mediators [J]. Int J Health Sci (Qassim), 2015, 9(2): 207-232.
- 2 Luan R, Deng B. T-cell engineering strategies for tumors with low antigen density, and T-cell survival in the immunosuppressive tumor microenvironment of relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma [J]. Hematol Oncol Discov, 2023, 2(1): 9-29.
- 3 Parikh RH, Lonial S. Chimeric antigen receptor T-cell therapy in multiple myeloma: A comprehensive review of current data and implications for clinical practice [J]. CA Cancer J Clin, 2023, 73(3): 275-285.
- 4 Rubin SJS, Bloom MS, Robinson WH. B cell checkpoints in autoimmune rheumatic diseases [J]. Nat Rev Rheumatol, 2019, 15(5): 303-315.
- 5 Ghobadinezhad F, Ebrahimi N, Mozaffari F, et al. The emerging role of regulatory cell-based therapy in autoimmune disease [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1075813.
- 6 Scott EN, Gocher AM, Workman CJ, et al. Regulatory T cells: barriers



- of immune infiltration into the tumor microenvironment [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 702726.
- 7 Adabi N, Pordel S, Rzaee MA, et al. Application of CAR-T cell technology in autoimmune diseases and human immunodeficiency virus infection treatment [J]. *J Gene Med*, 2023, 25(5): e3484.
- 8 Mazzi MT, Hajdu KL, Ribeiro PR, et al. CAR-T cells leave the comfort zone: current and future applications beyond cancer [J]. *Immunother Adv*, 2021, 1(1): lta006.
- 9 Riet T, Chmielewski M. Regulatory CAR-T cells in autoimmune diseases: progress and current challenges [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 934343.
- 10 Arjomandnejad M, Kopec AL, Keeler AM. CAR-T Regulatory (CAR-Treg) cells: engineering and applications [J]. *Biomedicines*, 2022, 10(2): 287.
- 11 Kahmini FR, Shahgaldi S. Harnessing the inherent power of chimeric antigen receptor (CAR)-expressing regulatory T cells (CAR-Tregs) to treat autoimmune-related disorders [J]. *Mol Biol Rep*, 2022, 49(5): 4069-4078.
- 12 Mougiakakos D, Krönke G, Völkl S, et al. CD19-Targeted CAR T cells in refractory systemic lupus erythematosus [J]. *New Engl J Med*, 2021, 385(6): 567-569.
- 13 Mackensen A, Müller F, Mougiakakos D, et al. Anti-CD19 CAR T cell therapy for refractory systemic lupus erythematosus [J]. *Nat Med*, 2022, 28(10): 2124-2132.
- 14 游云凡, 秦川, 田代实, 等. 水通道蛋白 4 抗体阳性视神经脊髓炎谱系疾病的发病机制 [J]. *中华神经科杂志*, 2023, (2): 227-232.
- 15 Ma X, Kermode AG, Hu X, et al. NMOSD acute attack: understanding treatment and innovative treatment prospect [J]. *J Neuroimmunol*, 2020, 348: 577387.
- 16 Qin C, Tian DS, Zhou LQ, et al. Anti-BCMA CAR T-cell therapy CT103A in relapsed or refractory AQP4-IgG seropositive neuromyelitis optica spectrum disorders: phase 1 trial interim results [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 5.
- 17 中华医学会神经病学分会神经免疫学组. 重症肌无力自身抗体实验室诊断专家共识 2022 [J]. *中华神经科杂志*. 2023, (3): 251-256.
- 18 Lee DSW, Rojas OL, Gommerman JL. B cell depletion therapies in autoimmune disease: advances and mechanistic insights [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(3): 179-199.
- 19 Granit V, Benatar M, Kurtoglu M, et al. Safety and clinical activity of autologous RNA chimeric antigen receptor T-cell therapy in myasthenia gravis (MG-001): a prospective, multicentre, open-label, non-randomised phase 1b/2a study [J]. *Lancet Neurol*, 2023, 22(7): 578-590.
- 20 Ellebrecht CT, Bhoj VG, Nace A, et al. Reengineering chimeric antigen receptor T cells for targeted therapy of autoimmune disease [J]. *Science (New York, NY)*, 2016, 353(6295): 179-184.
- 21 Stewart CJ, Ahami NJ, O'Brien JL, et al. Temporal development of the gut microbiome in early childhood from the TEDDY study [J]. *Nature*, 2018, 562(7728): 583-588.
- 22 Wallukat G, Schimke I. Lethal immunoglobulins: autoantibodies and sudden cardiac death [J]. *Autoimmun Rev*, 2019, 18(7): 749-750.
- 23 Zhang L, Sosinowski T, Cox AR, et al. Chimeric antigen receptor (CAR) T cells targeting a pathogenic MHC class II:peptide complex modulate the progression of autoimmune diabetes [J]. *J Autoimmun*, 2019, 96: 50-58.
- 24 Kobayashi S, Thelin MA, Parrish HL, et al. A biomimetic five-module chimeric antigen receptor ((5M)CAR) designed to target and eliminate antigen-specific T cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2020, 117(46): 28950-28959.
- 25 Xie B, Li Z, Zhou J, et al. Current status and perspectives of Dual-Targeting chimeric antigen receptor T-Cell therapy for the treatment of hematological malignancies [J]. *Cancers*, 2022, 14(13): 3230.
- 26 Zheng Y, Nandakumar KS, Cheng H K. Optimization of CAR-T Cell-Based therapies using small-molecule-based safety switches [J]. *J Med Chem*, 2021, 64(14): 9577-9591.
- 27 Zhang B, Wang Y, Yuan Y, et al. In vitro elimination of autoreactive B cells from rheumatoid arthritis patients by universal chimeric antigen receptor T cells [J]. *Ann Rheum Dis*, 2021, 80(2): 176-184.
- 28 Morris EC, Neelapu SS, Giavridis T, et al. Cytokine release syndrome and associated neurotoxicity in cancer immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2022, 22(2): 85-96.
- 29 Freuchet A, Salama A, Bézie S, et al. IL-34 deficiency impairs FOXP3(+) Treg function in a model of autoimmune colitis and decreases immune tolerance homeostasis [J]. *Clin Transl Med*, 2022, 12(8): e988.
- 30 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases [J]. *J Immunol (Baltimore, Md: 1950)*, 1995, 155(3): 1151-1164.
- 31 Zhang R, Miao J, Zhu P. Regulatory T cell heterogeneity and therapy in autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2021, 20(5): 102715.
- 32 Raffin C, Vo LT, Bluestone JA. T(reg) cell-based therapies: challenges and perspectives [J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(3): 158-172.
- 33 Sun Y, Yuan Y, Zhang B, et al. CARs: a new approach for the treatment of autoimmune diseases [J]. *Sci China Life Sci*, 2023, 66(4): 711-728.
- 34 Müzes G, Sipos F. CAR-based therapy for autoimmune diseases: a novel powerful option [J]. *Cells*, 2023, 12(11): 1534.
- 35 Wu WH, Zegarra-Ruiz DF, Diehl GE. Intestinal microbes in autoimmune and inflammatory disease [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 597966.
- 36 Desreumaux P, Foussat A, Allez M, et al. Safety and efficacy of antigen-specific regulatory T-cell therapy for patients with refractory Crohn's disease [J]. *Gastroenterology*, 2012, 143(5): 1207-1217.
- 37 Elinav E, Waks T, Eshhar Z. Redirection of regulatory T cells with predetermined specificity for the treatment of experimental colitis in mice [J]. *Gastroenterology*, 2008, 134(7): 2014-2024.

- (3):170-205.
- 8 Akiki Z, Hallit S, Layoun N, et al. Validation of the St George's respiratory questionnaire and risks factors affecting the quality of life of Lebanese COPD and asthma patients[J]. J Asthma, 2019, 56(11): 1212-1221.
- 9 Kolcaba KY. A taxonomic structure for the concept comfort[J]. Image J Nurs Sch, 1991, 23(4): 237-240.
- 10 Wang J, Cui Z, Liu S, et al. Early use of noninvasive techniques for clearing respiratory secretions during noninvasive positive-pressure ventilation in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease and hypercapnic encephalopathy: A prospective cohort study[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(12): e6371.
- 11 中华医学会呼吸病学分会呼吸危重症医学学组, 中国医师协会呼吸医师分会危重症医学工作委员会. 成人经鼻高流量湿化氧疗临床规范应用专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2019, 42(2): 83-91.
- 12 Nishimura M. High-Flow Nasal Cannula Oxygen Therapy Devices [J]. Respir Care, 2019, 64(6): 735-742.
- 13 陈照家, 孙玉景, 吴建华, 等. 经鼻高流量湿化氧疗和无创正压通气在慢性阻塞性肺疾病急性加重期Ⅱ型呼吸衰竭合并呼吸肌疲劳患者中的疗效比较[J]. 实用临床医药杂志, 2021, 25(21): 74-78.
- 14 胡莉娟, 朱蕾. 无创正压通气治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重-首选的呼吸支持治疗[J]. 广东医学, 2020, 41(7): 674-676.
- 15 刘如安, 赵凯. 经鼻高流量湿化氧疗与无创正压通气治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期合并Ⅱ型呼吸衰竭的疗效比较[J]. 中国医药, 2020, 15(12): 1853-1856.
- 16 Nishimura M. High-Flow Nasal Cannula Oxygen Therapy in Adults: Physiological Benefits, Indication, Clinical Benefits, and Adverse Effects[J]. Respir Care, 2016, 61(4): 529-541.
- 17 李书锐. 高敏 C 反应蛋白与白介素-6 水平变化在慢性阻塞性肺疾病急性加重早期诊断中的价值[J]. 内科急危重症杂志, 2019, 25(5): 401-403.
- 18 Storgaard LH, Hockey HU, Laursen BS, et al. Long-term effects of oxygen-enriched high-flow nasal cannula treatment in COPD patients with chronic hypoxemic respiratory failure [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2018, 13: 1195-1205.
- 19 解立新. 经鼻高流量湿化氧疗治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重--临床与研究的证据[J]. 广东医学, 2020, 41(7): 666-667.
- 20 Ricard JD, Roca O, Lemiale V, et al. Use of nasal high flow oxygen during acute respiratory failure [J]. Intensive Care Med, 2020, 46(12): 2238-2247.

(2023-03-13 收稿 2023-07-18 修回)

(上接第 369 页)

- 38 Blat D, Zigmund E, Alteber Z, et al. Suppression of murine colitis and its associated cancer by carcinoembryonic antigen-specific regulatory T cells [J]. Mol Ther, 2014, 22(5): 1018-1028.
- 39 Pawlak M, Detomaso D, Schnell A, et al. Induction of a colitogenic phenotype in Th1-like cells depends on interleukin-23 receptor signaling [J]. Immunity, 2022, 55(9): 1663-1679.
- 40 Fransson M, Burman J, Lindqvist C, et al. T regulatory cells lacking CD25 are increased in MS during relapse [J]. Autoimmunity, 2010, 43(8): 590-597.
- 41 Dominguez-Villar M, Baecher-Allan CM, Hafler DA. Identification of T helper type 1-like Foxp3 + regulatory T cells in human autoimmune disease [J]. Nat Med, 2011, 17(6): 673-675.
- 42 Sumida T, Lincoln MR, Ukeje CM, et al. Activated  $\beta$ -catenin in Foxp3(+) regulatory T cells links inflammatory environments to autoimmunity [J]. Nat Immunol, 2018, 19(12): 1391-1402.
- 43 Li Z, Li D, Tsun A, et al. FOXP3 + regulatory T cells and their functional regulation [J]. Cell Mol Immunol, 2015, 12(5): 558-565.
- 44 Derdelinckx J, Reynders T, Wens I, et al. Cells to the rescue: emerging cell-based treatment approaches for NMO and MOGAD [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(15): 7925.
- 45 Li Y, Lu Y, Lin SH, et al. Insulin signaling establishes a developmental trajectory of adipose regulatory T cells [J]. Nat Immunol, 2021, 22(9): 1175-1185.
- 46 Yeh WI, Seay HR, Newby B, et al. Avidity and bystander suppressive capacity of human regulatory T cells expressing de novo autoreactive T-Cell receptors in type 1 diabetes [J]. Front Immunol, 2017, 8: 1313.
- 47 Pierini A, Iliopoulou BP, Peiris H, et al. T cells expressing chimeric antigen receptor promote immune tolerance [J]. JCI Insight, 2017, 2(20): e92865.
- 48 Giri PS, Dwivedi M, Laddha NC, et al. Altered expression of nuclear factor of activated T cells, forkhead box P3, and immune-suppressive genes in regulatory T cells of generalized vitiligo patients [J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2020, 33(4): 566-578.
- 49 Hegab DS, Attia MA. Decreased circulating T regulatory cells in egyptian patients with nonsegmental vitiligo: correlation with disease activity [J]. Dermatol Res Pract, 2015, 2015: 145409.
- 50 Mukhatayev VZ, Dellacecca ER, Cosgrove C, et al. Antigen specificity enhances disease control by tregs in vitiligo [J]. Front Immunol, 2020, 11: 581433.
- 51 Wright GP, Notley CA, Xue SA, et al. Adoptive therapy with redirected primary regulatory T cells results in antigen-specific suppression of arthritis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(45): 19078-19083.
- 52 Zhang X, Zhu L, Zhang H, et al. CAR-T Cell therapy in hematological malignancies: current opportunities and challenges [J]. Front Immunol, 2022, 13: 927153.
- 53 Abbasi S, Totmaj MA, Abbasi M, et al. Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells: Novel cell therapy for hematological malignancies [J]. Cancer Med, 2023, 12(7): 7844-7858.
- 54 Aghajanian H, Rurik JG, Epstein JA. CAR-based therapies: opportunities for immuno-medicine beyond cancer [J]. Nat Metab, 2022, 4(2): 163-169.

(2023-08-20 收稿)