

# 嵌合抗原受体 T 细胞疗法在类风湿关节炎中的研究进展

王志<sup>1</sup>, 李欣<sup>2</sup>

1.首都医科大学潞河临床医学院, 北京 101199; 2.首都医科大学附属北京潞河医院内分泌代谢与免疫性疾病中心, 北京 101199

**[摘要]** 类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种由多因素导致的以对称性多关节炎为主要特点的慢性自身免疫性疾病, 致残率高, 严重影响患者的生活质量。目前, 虽然糖皮质激素、可改善病情的抗风湿药物能够通过改善患者体内的炎症环境而发挥治疗作用, 但因药物不良反应、药物耐受等因素的存在, 寻找新的治疗方法仍是现阶段的研究热点之一。随着基因工程技术的发展, 嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR)-T 细胞疗法在自身免疫性疾病的诊治中展现出一定的应用前景。本文对 CAR-T 细胞的结构和功能、CAR-T 细胞疗法在 RA 中的研究进展、应用局限性及对策进行综述。

**[关键词]** 嵌合抗原受体; 类风湿关节炎; 调节性 T 细胞

**[中图分类号]** R593.22 **[文献标识码]** A **[DOI]** 10.3969/j.issn.1673-9701.2024.19.025

类风湿关节炎 (rheumatoid arthritis, RA) 是一种以累及对称性多关节为主要特点的慢性自身免疫性疾病, 其病理学基础是滑膜炎的发生与血管翳的形成, 最终可造成进行性软骨/骨破坏, 严重影响患者的生活质量<sup>[1]</sup>。免疫紊乱是 RA 发病的关键机制之一, T 细胞和 B 细胞等免疫细胞的数量和比例失调与 RA 的发病具有相关性<sup>[2]</sup>。现阶段, 临床上用于控制 RA 疾病进展的常用药物主要包括改善病情的抗风湿药物和糖皮质激素等。虽然药物可改善 RA 患者的疾病进展, 但部分患者易产生药物依赖, 长期使用亦会导致诸多不良反应<sup>[3]</sup>。因此, 寻找更具靶向性的治疗方案成为 RA 的研究重点之一。

嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR)-T 细胞疗法近年来作为一种个性化、精准化的治疗手段, 逐渐从临床试验走向临床治疗。该疗法以具有靶向识别功能的 CAR 结构为基础, 通过基因工程技术将从患者体内提取的 T 细胞转变为 CAR-T 细胞, 使其参与病变位点的精准消除。目前, CAR-T 细胞疗法已应用于肿瘤疾病、心脏疾病、自身免疫性疾病等领域的治疗中, 并取得一定的治疗效果。本文介绍 CAR-T 细胞疗法在 RA 治疗中的研究进展, 为寻找 RA 的靶向治疗方案提供新的思路。

## 1 CAR-T 细胞的结构与功能

T 细胞是人体内关键的免疫细胞之一, 经由依赖主要组织相容性复合体的第一信号和共刺激信号激

活, 并在不同因子的作用下分化发挥各自的免疫学效应<sup>[4]</sup>。为更精确地识别体内病变位点并予以高效应答, 可人为引入 CAR 结构并设计有针对性的 CAR-T 细胞。CAR 是一种混合抗原受体, 由胞内信号结构域、跨膜结构域和胞外靶向识别结构域组成。将 CAR 结构与患者体内提取出的 T 细胞结合后, 可使普通 T 细胞摆脱依赖主要组织相容性复合体的识别方式, 从而参与消灭具有特定靶位的病变位点<sup>[5]</sup>。

近年来, CAR 结构的胞内结构域被逐步改造以优化 CAR-T 细胞的功能。由于第一代 CAR-T 细胞缺少共刺激信号, 不足以诱导 T 细胞在生物体内的活化, 故第二代和第三代 CAR-T 细胞在 CD3 $\zeta$  结构的基础上引入一个或多个共刺激结构分子, 从而提高 CAR-T 细胞的杀伤效率<sup>[6]</sup>。第四代 CAR 结构引入白细胞介素 (interleukin, IL)-7、IL-12、IL-15 等细胞因子, 进一步激活 CAR-T 细胞<sup>[7]</sup>。目前, CAR-T 细胞疗法在血液恶性肿瘤、非小细胞肺癌、消化系统肿瘤、中枢神经系统肿瘤等疾病的治疗中应用效果良好。此外, CAR-T 细胞在治疗心脏疾病、艾滋病、病毒性肝炎和自身免疫性疾病等领域也有潜在的应用价值<sup>[8]</sup>。RA 作为一种存在多种靶向位点的自身免疫性疾病, 可成为 CAR-T 细胞疗法应用的重要目标疾病之一。

## 2 基于 CAR-T 结构的新方案与 RA

传统 CAR-T 细胞历经四代更迭, 其功能不断

基金项目: 首都医科大学学生科研创新项目 (XSKY2023385)

通信作者: 李欣, 电子信箱: 543679618@qq.com

优化。目前,基于 CAR-T 传统结构的新方案如 CAR-调节性 T 细胞疗法、嵌合自身抗体受体(chimeric autoantibody receptor, CAAR)-T 细胞疗法,在对 CAR 结构进行改良后也具有应用于 RA 治疗的可能性。

### 2.1 CAR-调节性 T 细胞疗法与 RA

免疫系统具有区分自身和外来抗原的能力。当免疫系统无法耐受自身抗原时,可攻击机体内表达这些抗原的体内组织,发生自身免疫性疾病。调节性 T 细胞是一种表达叉头框 P3 基因的 T 淋巴细胞。调节性 T 细胞通过 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD8<sup>+</sup>T 细胞、自然杀伤细胞和抗原呈递细胞等介导的免疫激活,参与免疫耐受的控制并调节免疫平衡<sup>[9]</sup>。研究显示,RA 患者在疾病早期外周血中的调节性 T 细胞数量下降<sup>[10]</sup>;而滑液中的调节性 T 细胞数量虽上升,但其功能受损<sup>[11-12]</sup>。由此可见,调节性 T 细胞的数量下降及功能失调均有导致 RA 发生的可能,调节性 T 细胞治疗有助于 RA 患者的疾病控制。研究证实胶原蛋白诱导的调节性 T 细胞在治疗自身免疫性关节炎模型鼠中有效<sup>[13]</sup>;Li 等<sup>[14]</sup>研究显示,将诱导的人调节性 T 细胞注射到胶原蛋白诱导的关节炎大鼠中,增加内源性调节性 T 细胞的数量,减少 B 细胞数量,降低辅助性 T 细胞 1/辅助性 T 细胞 2 比值及 IL-5 和 IL-6 的分泌水平可有效缓解关节炎症状。

CAR-调节性 T 细胞疗法引入 CAR 结构,进一步提高调节性 T 细胞的效率。既往研究表明,CAR 工程化的调节性 T 细胞可定位于表达人白细胞抗原-A2 的移植物,并表现出抗原依赖性的体内抑制,这种作用独立于 T 细胞受体的表达<sup>[15]</sup>。

### 2.2 CAAR-T 细胞疗法与 RA

B 细胞可通过抗原呈递细胞、分泌细胞因子与产生抗体等多种机制影响 RA 的发病和病情进展<sup>[16]</sup>。利妥昔单抗是一种针对 CD20 抗原的单克隆抗体,可导致外周血中 CD20<sup>+</sup>B 细胞快速、几乎完全耗竭,从而改善 B 细胞介导的免疫反应<sup>[17]</sup>;但应用利妥昔单抗的治疗方案存在诱导感染、恶性肿瘤等不良事件的风险<sup>[18]</sup>。

CAAR-T 细胞由 CAR-T 细胞修饰而来,以可被 B 细胞识别的自身抗原作为细胞外结构域,并与跨膜结构域和共刺激结构域相连<sup>[19]</sup>。当 RA 患者的自身反应性 B 细胞识别该同源自身抗原后,可导致 B 细胞及自身抗体的特异性裂解,从而改善 RA 患者的临床症状。已有研究显示,表达天胞疮自身抗原 Dsg3 的 CAAR-T 细胞具有特异性杀伤抗 Dsg3 靶细胞的作用,且不具备脱靶毒性<sup>[20]</sup>。

## 3 CAR-T 细胞疗法与 RA 相关靶向表位

在 RA 发病过程中,关节滑膜成分和体内产生的内源性物质可作为自身抗原诱导特异性免疫应答,导致机体发生免疫损伤。RA 患者早期可产生多种自身抗体参与免疫反应,其多用于疾病的早期诊断。瓜氨酸肽等表位与骨质侵蚀和 RA 疾病活动度的相关性具有应用于 CAR-T 细胞靶向表位的潜力<sup>[21]</sup>。

### 3.1 针对瓜氨酸肽表位的研究

抗瓜氨酸蛋白抗体(anti-citrullinated protein antibody, ACPA)是一种在超过 60%的 RA 患者体内检测到的抗体,与 RA 有较高的特异性和临床相关性<sup>[22]</sup>。ACPA 通过激活补体和免疫细胞、促进分泌细胞因子、诱导滑膜成纤维细胞迁移等机制参与 RA 病情进程<sup>[23]</sup>。Zhang 等<sup>[24]</sup>选择 4 种来源于瓜氨酸自身抗原的瓜氨酸肽表位,将抗异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)与 CAR-T 细胞结合,使抗 FITC CAR-T 细胞结合经 FITC 标记的瓜氨酸肽表位,初步实现对各自体活性 B 细胞的裂解除除,证实瓜氨酸肽表位在 CAR-T 细胞疗法中的应用潜力。

### 3.2 更多潜在新靶向表位的应用可能性

除 ACPA 阳性的 RA 患者外,也有部分 RA 患者以 ACPA 阴性的血清学特点起病。为实现 CAR-T 细胞的靶向定位作用,仍需关注这两类 RA 患者在其他抗体方面的血清学差异。肽基精氨酸脱亚胺酶(peptidylarginine deiminase enzymes, PAD)通过瓜氨酸化作用触发自身免疫反应,可导致 RA 发生<sup>[25]</sup>。抗 PAD 抗体可成为弥补 RA 血清学缺口的抗体之一,其中 PAD4 与 RA 发生的相关性较强。一项 Meta 分析研究表明,RA 患者中抗 PAD4 抗体的敏感度为 38%,特异性为 96%,可成为健康组与 RA 疾病组区分的标志<sup>[26]</sup>。在 ACPA 阴性的 RA 患者中也观察到抗 PAD4 抗体的存在<sup>[27]</sup>。研究表明 PAD4 选择性抑制剂可减轻胶原诱导关节炎小鼠关节的严重程度,提示抗 PAD 抗体阳性的 RA 患者可受益于 PAD4 抑制剂<sup>[28-29]</sup>。PAD 位点可成为 CAR-T 细胞疗法在 RA 领域发挥作用的潜在位点之一。

除 PAD 外,II 型胶原(collagen II, CII)、热休克蛋白和人软骨糖蛋白等位点也有应用于 CAR-T 细胞疗法的可能性<sup>[30]</sup>。在已诱导自身免疫性关节炎的 DR1 小鼠中,使用 DR1-CII CAR-T 细胞治疗,CII 特异性的自身免疫性 CD4<sup>+</sup>T 细胞反应显著降低,自身抗体产生被抑制,且自身免疫性关节炎的发生率和严重性降低<sup>[31]</sup>。

## 4 CAR-T 细胞疗法在 RA 中的局限性及对策

### 4.1 细胞因子释放综合征和神经毒性

细胞因子释放综合征 (cytokine release syndrome, CRS) 是 CAR-T 细胞疗法的常见并发症之一,其发病机制与 IL-1 和 IL-6 相关<sup>[32]</sup>。CRS 在临床上常表现为持续高热、心动过速、低血压、呼吸窘迫和缺氧<sup>[33]</sup>。依据美国移植和细胞治疗学会的 CRS 分级指南,可根据临床症状和体征对患者的 CRS 严重程度进行评估和分级<sup>[34]</sup>。根据患者的分级情况,可使用升压药、辅助通气、皮质类固醇和 IL-1 受体拮抗剂等方案进行支持治疗<sup>[35]</sup>。除 CRS 外,进行 CAR-T 细胞疗法的 RA 患者有发生免疫效应细胞相关神经毒性综合征 (immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS) 的可能性。CRS 的早期临床表现包括注意力下降、语言和书写障碍、意识模糊、嗜睡和震颤等,严重者可发生致命性脑水肿<sup>[36-37]</sup>。与 CRS 类似,对发生 ICANS 的患者应依据指南进行分级,并根据病情的严重程度给予相应处理。此外,也有预防性使用 IL-1 与 IL-6 受体拮抗剂的观点<sup>[38]</sup>。

### 4.2 增加感染风险

RA 患者在接受 CAR-T 细胞治疗前已处于基础炎症状态,更易受到感染等并发症的影响。CAR-T 细胞疗法可导致内源性 B 细胞衰竭,且在输注 CAR-T 细胞前进行的淋巴细胞去除化疗导致血细胞减少,并可能损害黏膜屏障,故应考虑到 CAR-T 细胞疗法后感染发生的情况。研究显示多数感染发生在 CAR-T 细胞输注后的早期,且较高的 CAR-T 细胞剂量与感染风险增加相关<sup>[39]</sup>。预防性使用抗生素和静脉注射免疫球蛋白补充剂可预防感染,被认为是有效的治疗方法。

### 4.3 移植物抗宿主反应

CAR-T 细胞疗法的关键在于 CAR-T 结构的构建,从 RA 患者体内提取免疫细胞后,需通过载体转导构建 CAR-T 结构,扩增并回输至患者体内。当待转导的免疫细胞数量不理想或增殖能力不佳时,可使用健康者的免疫细胞制作 CAR-T 细胞,从而实现健康者与 RA 患者间的同种异体移植<sup>[40]</sup>。然而由于供体特异性抗人类白细胞抗原抗体的存在,使用异体 CAR-T 细胞时有发生移植物抗宿主反应的风险。对此有研究提出应对移植物抗宿主反应的方案,如使用病毒特异性记忆 T 细胞,使用包括自然杀伤细胞和  $\gamma\delta$ T 细胞等非  $\alpha\beta$ T 细胞构建 CAR-T 结构,及使用基因编辑技术对细胞进行修饰,从而获得目标 CAR-T 结构等<sup>[41]</sup>。

## 5 小结与展望

CAR-T 细胞疗法是一种新兴的 T 细胞疗法,具有精准性、靶向性、个体化的优势,在 RA 领域 CAR-T 细胞疗法显示出一定的治疗潜力,发展前景良好。但由于 RA 疾病本身的复杂性,目前 CAR-T 细胞疗法尚未应用于 RA 的临床治疗。FITC CAR-T 系统的构建与初步实验结果给 RA 的免疫治疗带来新希望。未来,为应用 CAR-T 细胞疗法进行 RA 等自身免疫性疾病的治疗,仍需寻找更多有潜力的 RA 靶向位点以发挥该疗法的个体化优势。同时,也应关注 CAR-T 细胞疗法应用于 RA 临床治疗时的局限性,并积极寻找相应的解决方案。

**利益冲突:** 所有作者均声明不存在利益冲突。

### [参考文献]

- [1] FILALI S, NOACK M, GÉLOËN A, et al. Effects of pro-inflammatory cytokines and cell interactions on cell area and cytoskeleton of rheumatoid arthritis synoviocytes and immune cells[J]. *Eur J Cell Biol*, 2023, 102(2): 151303.
- [2] JANG S, KWON E J, LEE J J. Rheumatoid arthritis: Pathogenic roles of diverse immune cells[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(2): 905.
- [3] LIN Y J, ANZAGHE M, SCHÜLKE S. Update on the pathomechanism, diagnosis, and treatment options for rheumatoid arthritis[J]. *Cells*, 2020, 9(4): 880.
- [4] 张宇煊, 谢仕廷, 王鸿鑫, 等. T 细胞活化技术的研究进展[J]. *佛山科学技术学院学报(自然科学版)*, 2022, 40(5): 56-67.
- [5] DE MARCO R C, MONZO H J, OJALA P M. CAR T cell therapy: A versatile living drug[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6300.
- [6] GLOBERSON LEVIN A, RIVIÈRE I, ESHHAR Z, et al. CAR T cells: Building on the CD19 paradigm[J]. *Eur J Immunol*, 2021, 51(9): 2151-2163.
- [7] HUANG R, LI X, HE Y, et al. Recent advances in CAR-T cell engineering[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 86.
- [8] 杪香, 高鹏翼, 郑浩呈, 等. CAR-T 细胞疗法新兴治疗的前沿进展[J]. *中国医药导刊*, 2022, 24(10): 974-982.
- [9] RIET T, CHMIELEWSKI M. Regulatory CAR-T cells in autoimmune diseases: Progress and current challenges[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 934343.
- [10] MORITA T, SHIMA Y, WING J B, et al. The proportion of regulatory T cells in patients with rheumatoid arthritis: A

- Meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9): e0162306.
- [11] FLORES-BORJA F, JURY E C, MAURI C, et al. Defects in CTLA-4 are associated with abnormal regulatory T cell function in rheumatoid arthritis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(49): 19396–19401.
- [12] E X Q, MENG H X, CAO Y, et al. Distribution of regulatory T cells and interaction with dendritic cells in the synovium of rheumatoid arthritis[J]. *Scand J Rheumatol*, 2012, 41(6): 413–420.
- [13] ASNAGLI H, MARTIRE D, BELMONTE N, et al. Type 1 regulatory T cells specific for collagen type II as an efficient cell-based therapy in arthritis[J]. *Arthritis Res Ther*, 2014, 16(3): R115.
- [14] LI S, WANG H, WU H, et al. Therapeutic effect of exogenous regulatory T cells on collagen-induced arthritis and rheumatoid arthritis[J]. *Cell Transplant*, 2020, 29: 963689720954134.
- [15] MULLER Y D, FERREIRA L M R, RONIN E, et al. Precision engineering of an anti-HLA-A2 chimeric antigen receptor in regulatory T cells for transplant immune tolerance[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 686439.
- [16] WU F, GAO J, KANG J, et al. B cells in rheumatoid arthritis: Pathogenic mechanisms and treatment prospects[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 750753.
- [17] RAMWADHDOEBE T H, VAN BAARSEN L G M, BOUMANS M J H, et al. Effect of rituximab treatment on T and B cell subsets in lymph node biopsies of patients with rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2019, 58(6): 1075–1085.
- [18] CHISARI C G, SGARLATA E, ARENA S, et al. Rituximab for the treatment of multiple sclerosis: A review[J]. *J Neurol*, 2022, 269(1): 159–183.
- [19] CHEN Y, SUN J, LIU H, et al. Immunotherapy deriving from CAR-T cell treatment in autoimmune diseases[J]. *J Immunol Res*, 2019, 2019: 5727516.
- [20] ELLEBRECHT C T, BHOJ V G, NACE A, et al. Reengineering chimeric antigen receptor T cells for targeted therapy of autoimmune disease[J]. *Science*, 2016, 353(6295): 179–184.
- [21] 张小斌, 沈粉秧. 不同亚型自身抗体对类风湿关节炎患者骨质的影响[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(21): 3246–3248.
- [22] SUNG W Y, TSAI W C. Rethink about the role of rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibody in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatol Immunol Res*, 2021, 2(1): 19–25.
- [23] WU C Y, YANG H Y, LAI J H. Anti-citrullinated protein antibodies in patients with rheumatoid arthritis: Biological effects and mechanisms of immunopathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 4015.
- [24] 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.
- [25] ALGHAMDI M, AL GHAMDI K A, KHAN R H, et al. An interplay of structure and intrinsic disorder in the functionality of peptidylarginine deiminases, a family of key autoimmunity-related enzymes[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(23): 4635–4662.
- [26] REN J, SUN L, ZHAO J. Meta-analysis: Diagnostic accuracy of antibody against peptidylarginine deiminase 4 by ELISA for rheumatoid arthritis[J]. *Clin Rheumatol*, 2017, 36(11): 2431–2438.
- [27] MARTINEZ-PRAT L, LUCIA D, IBARRA C, et al. Antibodies targeting protein-arginine deiminase 4 (PAD4) demonstrate diagnostic value in rheumatoid arthritis[J]. *Ann Rheum Dis*, 2019, 78(3): 434–436.
- [28] WILLIS V C, BANDA N K, CORDOVA K N, et al. Protein arginine deiminase 4 inhibition is sufficient for the amelioration of collagen-induced arthritis[J]. *Clin Exp Immunol*, 2017, 188(2): 263–274.
- [29] TJIN C C, WISSNER R F, JAMALI H, et al. Synthesis and biological evaluation of an indazole-based selective protein arginine deiminase 4 (PAD4) inhibitor[J]. *ACS Med Chem Lett*, 2018, 9(10): 1013–1018.
- [30] SADEQI NEZHAD M, SEIFALIAN A, BAGHERI N, et al. Chimeric antigen receptor based therapy as a potential approach in autoimmune diseases: How close are we to the treatment?[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 603237.
- [31] WHITTINGTON K B, PRISLOVSKY A, BEATY J, et al. CD8<sup>+</sup> T cells expressing an HLA-DR1 chimeric antigen receptor target autoimmune CD4<sup>+</sup> T cells in an antigen-specific manner and inhibit the development of autoimmune arthritis[J]. *J Immunol*, 2022, 208(1): 16–26.
- [32] 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.
- [33] CURRAN K J, MARGOSSIAN S P, KERNAN N A, et al. Toxicity and response after CD19-specific CAR T-cell therapy in pediatric/young adult relapsed/refractory B-ALL[J]. *Blood*, 2019, 134(26): 2361–2368.

(下转第 119 页)