

• 继续教育 •

嵌合抗原受体 T 细胞治疗心肌病理性纤维化研究进展

付方方¹ 陈欣² 邢璐宇¹

[摘要] 嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)T 细胞疗法是二十一世纪的突破性疗法,主要用于治疗包括淋巴瘤和白血病在内的不同恶性肿瘤。过度的心肌纤维化是各种形式的心脏病和心力衰竭进展的一个重要因素。然而,针对纤维化的临床干预和治疗仍然有限。虽然目前没有直接治疗心肌纤维化的疗法,但最近的一项研究已经展示了一种潜在的新策略,即采用 CAR-T 细胞进行工程改造从而特异性地消融活化的成纤维细胞以显著改善心肌纤维化并改善心脏功能。本文综述了目前 CAR-T 细胞治疗心肌纤维化的现状及 CAR-T 细胞疗法技术优化和应用的前景。

[关键词] 免疫治疗;嵌合抗原受体 T 细胞;心肌纤维化

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2023.09.014

[中图分类号] R542.2 **[文献标志码]** A

Research progress of chimeric antigen receptor T-cells in the treatment of myocardial pathological fibrosis

FU Fangfang¹ CHEN Xin² XING Luyu¹

(¹Clinical Medical College of Tianjin Medical University, Tianjin, 300070, China; ²Department of Cardiology, Tianjin First Central Hospital)

Corresponding author: CHEN Xin, E-mail: chenxin966@126.com

Abstract Chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy stands as a breakthrough therapy in the 21st century, which is mainly used to treat different malignant tumors including lymphoma and leukemia. Excessive myocardial fibrosis is an important factor in the progression of all forms of heart disease and heart failure. However, clinical interventions and treatments for fibrosis remain limited. Despite the current absence of a direct therapeutic regimen for myocardial fibrosis, a recent investigation has unveiled a potential novel approach in the realm of engineering CAR-T cells, tailored to specifically ablate activated fibroblasts, thereby yielding a notable amelioration in myocardial fibrosis and cardiac functionality. In this paper, the present status of the treatment of myocardial fibrosis with CAR-T cells and the prospect of optimization and application of CAR-T cell therapy are reviewed.

Key words immunotherapy; chimeric antigen receptor T-cell; myocardial fibrosis

嵌合抗原受体(CAR)-T 细胞疗法具有革命性,是抗癌治疗细胞免疫疗法中发展最快、应用最广泛的一个分支。这项最新技术迅速改变了血液恶性肿瘤的格局,并且已经占据目前正在开发或市场上的应用细胞疗法的一半以上^[1]。最初 CAR-T 细胞疗法基于从循环中分离的 T 淋巴细胞,然后对其进行工程改造以表达 CAR,使修饰的 T 淋巴细胞以非主要组织相容性复合物(MHC)限制性的方式直接识别和响应癌细胞,在体外增殖后,这些细胞被重新注入患者体内以驱动抗肿瘤免疫反应^[2-3]。活化的心脏成纤维细胞在心脏损伤反应中起重要作用;然而,过度的纤维化可能导致心肌僵

硬和心力衰竭的发展^[4]。类似于目前在肿瘤学临床环境中使用的 CAR-T 细胞疗法,研究人员最近报道了使用 CAR-T 细胞特异性地消除激活的成纤维细胞从而显著减少心脏纤维化并改善心功能的研究^[5-6]。本文综述了目前关于 CAR-T 细胞治疗心肌纤维化的研究进展,展示了目前面临的挑战,期待使更多的患者受益。

1 体内生成 CAR-T 细胞治疗心脏纤维化的研究基础

心肌纤维化是指心肌间质胶原网络中的各种数量和质量变化,这些变化是对心脏缺血损伤、全身性疾病、药物或影响循环系统或心脏本身的任何其他有害刺激的反应。在生理条件下,成纤维细胞将细胞外前胶原链分泌到间质中,并组装成纤维,并通过赖氨酰氧化酶交联。几种类型细胞直接通

¹天津医科大学一中心临床学院(天津,300070)

²天津市第一中心医院心内科

通信作者:陈欣, E-mail: chenxin966@126.com

过产生基质蛋白(成纤维细胞)或间接通过分泌成纤维递质(巨噬细胞、肥大细胞、淋巴细胞、心肌细胞和血管细胞)参与心脏的纤维化重塑。在病理条件下,基质环境的改变、生长因子和细胞因子的诱导和释放以及机械应力的增加动态调节成纤维细胞向肌成纤维细胞的转变分化。较高的胶原交联导致心肌拉伸强度增加。对基质金属蛋白酶(MMPs)降解的抵抗增加了交联胶原,这有利于基质扩张^[7]。

目前 CAR-T 细胞的工作原理是首先设计一种编码 CAR 受体的修饰 mRNA,该受体针对成纤维细胞激活蛋白(FAP)蛋白(FAPCAR),FAPCAR 由组织损伤激活的心脏成纤维细胞表达。CAR-T 细胞的体外生产包括用病毒载体转导,并将编码工程 CAR 蛋白的核酸片段整合到靶细胞基因组中。然后通过体内输注含有修饰 mRNA 的脂质纳米颗粒(LNP)导致 LNP 的内吞,导致降解,其中 LNP 可以针对特定靶细胞(如 T 细胞)的抗体包裹,从而释放无法基因组整合且半衰期有限的 mRNA 进入 T 细胞细胞质,因此通过 LNP-mRNA 使用体内工程 CAR-T 细胞并针对 FAP 导致消除心肌成纤维细胞,减少心肌纤维化并改善心脏几何形状和功能^[5]。这种疗法是一种新的、有效的治疗方式,适用于包括白血病和淋巴瘤在内的复发或难治性血液系统恶性肿瘤患者^[8]。成纤维细胞在激活和静止状态下表达不同的细胞表面标记,因此可以被基因工程 T 细胞特定的靶向^[9]。在心力衰竭患者中,考虑用基因工程 T 细胞靶向激活的成纤维细胞是有吸引力的。

早期的动物研究在探讨射频消融对心脏重构的影响时,发现骨膜素是与激活的心脏成纤维细胞表型相关性最高的标记,心肌梗死后,消融表达骨膜素的心肌成纤维细胞可减少心肌纤维化^[10]。为提供一种将上述发现转化为人类的机制,证明重定向 T 细胞免疫治疗的有效性并特异性靶向病理性心肌纤维化,Aghajanian 等^[11]利用转录组学将健康与肥大的心脏进行比较,发现与健康的心脏相比,FAP 在衰竭的扩张型心肌病(DCM)和肥厚型心肌病(HCM)患者心脏的左心室组织中高度表达。FAP CAR-T 细胞被证明能够有效地靶向并减少 FAP⁺癌症相关的成纤维细胞。继续上述的研究,研究人员通过持续输注血管紧张素 II 和苯肾上腺素从而产生心脏纤维化和心力衰竭的小鼠模型,发现 FAP CAR-T 细胞能有效恢复心功能和显著降低纤维化。FAP 作为靶抗原还有一个优势是能够使用成像探针在体内可视化表达^[12]。Toms 等^[13]、Ning 等^[14]利用这些发现证实,这些强大的成像工具也可用于人类的心脏纤维化进行成像,并代表了一种筛查工具,可用在 FAP CAR-T 干预之

前对心力衰竭患者进行临床评估,并用于监测疗效。成纤维细胞作为正常伤口愈合过程的一部分,持续的抗纤维化 CAR-T 细胞可能会构成风险,因此 Rurik 等^[5]利用核苷修饰的信使核糖核酸技术开发了一种短暂性抗纤维化药物,通过加入修饰的核苷、合成封端和添加长的 PolyA 尾巴来稳定,并通过密码子优化来增强,然后将修饰的 mRNA 包装在注射后能够在体内产生 CAR-T 细胞的 CD5 靶向的 LNPs 中,最后被运送到大多数 T 细胞,改善心功能,减少纤维化。

2 CAR-T 细胞治疗心肌纤维化的靶点

2.1 FAP

FAP 是一种 II 型跨膜丝氨酸蛋白酶,已经被证明在胚胎发育过程中活跃的组织重塑部位如伤口修复、组织纤维化和各种肿瘤中表达,但在小鼠或大多数正常成人组织中表达很低,因此被命名为“FAP”^[15]。Tallquist 等^[16]分析了来自 RNAseq 数据库的基因表达数据,发现了几个成纤维细胞特异性基因在心肌中上调,与对照、非衰竭心脏相比,FAP 显示出最大的折叠变化和上调。Hoffmann 等^[17]已经观察到 FAP 在急性心肌梗死损伤后的人心脏中表达。Aghajanian 等^[11]扩展了上述发现,表明 FAP 是由心脏成纤维细胞在衰竭的 DCM 和 HCM 患者心脏中强健表达而在正常人心脏一般是低表达。在 Angii/PE 小鼠高血压心脏损伤和纤维化的模型上证实,FAP 在对照心脏中检测不到,在身体其他部位几乎没有表达,表明 FAP 作为内源性心脏成纤维细胞免疫治疗靶点的可行性。接着在 Angii/PE 启动的第 1 周和第 2 周时间点过继转移 FAP CAR-T 细胞,发现接受 FAP CAR-T 细胞治疗的受损小鼠的心肌纤维化显著减少并且心功能得到了部分恢复。由此可见,FAP 是一个潜在的心脏成纤维细胞的候选基因,用 CAR-T 细胞靶向心肌成纤维细胞是有希望的治疗心肌纤维化的策略。

2.2 骨膜素

骨膜素是一种 90 kDa 的肽,由位于瓣膜、心房和心室之间的纤维屏障以及心肌本身的常驻心脏成纤维细胞和肌成纤维细胞分泌。心脏中的骨膜素合成和分泌通常与非心肌细胞相关,这种肽被归类为基质细胞蛋白。因此,骨膜素现在被表征为心脏细胞外基质(ECM)的非结构性成员,其在心肌梗死后表达升高,并且是活化的心脏肌成纤维细胞的可靠标志物^[18]。Trinh 等^[19]发现在各种心脏病小鼠模型中,骨膜素强烈上调。Xiang 等^[20]最近采用了一种策略,使用骨膜素靶向心脏中的活化肌成纤维细胞,以驱动小鼠模型中 β -连环蛋白的敲除,并表明这种干预有效减少了心脏中的间质纤维化,同时保持了心脏功能,对体内活化肌成纤维细胞数

量没有影响。

3 CAR-T 细胞治疗心肌纤维化所面临的挑战

3.1 心脏特异性靶点的缺乏

CAR-T 细胞治疗心肌纤维化成功的障碍之一难以找到理想的靶点。研究发现的活化成纤维细胞的特异性靶点少且特异性不强,比如 FAP 不仅在心肌表达,也在皮肤伤口表达^[21]。因此选择在目标群体中唯一或主要表达的抗原至关重要。Rurik 等^[5]注意到,目前存在活化的成纤维细胞不表达 FAP,导致血管周围纤维化持续超过治疗持续时间并可能加剧病理性心脏重塑。因此对血管周围纤维化生物学的进一步研究可能会发现其他治疗靶点。同时可以从目前已知的用于血液系统恶性肿瘤的 CAR-T 细胞疗法中获得经验,比如通过对 CAR 结构进行设计和改造,可以提高 CAR-T 细胞的活性,为 CAR-T 技术优化提供参考。

3.2 CAR-T 细胞进入损伤局部浸润数量较少

CAR-T 在血液系统肿瘤中已经获得了很好的临床疗效,但对于实体器官损伤如心脏损伤等疾病,T 细胞等免疫细胞在损伤部位浸润数量少会明显限制治疗效果^[22]。因此进一步探究 CAR-T 细胞与活化成纤维细胞直接作用的规律,明确 CAR-T 细胞在心脏纤维化局部的作用规律,将有利于提高心脏纤维化局部 CAR-T 细胞浸润数目和功能,也能为 CAR-T 应用于其他疾病提供借鉴。

3.3 细胞因子释放综合征

CAR-T 细胞治疗最常见的不良反应是细胞因子释放综合征(CRS),这是一种全身反应性炎症,甚至可以产生类似于感染性休克的效果^[23-24]。CRS 被认为是由于 CAR-T 细胞靶向杀伤预期细胞从而引发的炎症反应,另一个因素可能是慢性心力衰竭患者通常处于高炎症状态^[25]。最近的数据表明,先天性免疫反应,特别是巨噬细胞是 CAR-T 细胞治疗后 CRS 的机械性贡献者^[26]。Aghajania 等^[11]观察到 CAR-T 细胞治疗后巨噬细胞向心脏的渗透显著增加,一些促炎细胞因子水平略有上升。因此,CAR-T 应用于心脏需要考虑受试者的整体免疫状况以及先天免疫细胞和获得性免疫细胞的表型反应,以优化潜在疗效并限制不良反应。

3.4 T 细胞活性维持时间长

肌成纤维细胞及其迅速增加 ECM 产生的能力在形成纤维瘢痕以愈合梗死损伤区域并防止室壁破裂方面至关重要^[27]。因此,如果随后发生心肌梗死损伤事件,使用持续性 FAP CAR-T 细胞用于控制慢性纤维化的心力衰竭患者将面临更大的心室壁破裂风险。然而,如果 FAP CAR-T 细胞被消除,慢性心力衰竭的进行性纤维化可能会恢复^[28]。Aghajania 等^[11]提出,可以使用开关基因来提高选择性。

3.5 CAR-T 细胞归巢

CAR-T 细胞直接与心肌活化的成纤维细胞靶向结合是 CAR-T 细胞疗法成功的关键。趋化因子及其受体在免疫细胞和非先天免疫细胞(如上皮细胞)上表达,对免疫细胞迁移和浸润有重要贡献^[29-30]。趋化作用在淋巴细胞迁移过程中起重要作用,因此可将活化的心肌成纤维细胞高表达的 CXCR 受体整合于 CAR-T 作为靶点。例如,人类肝细胞癌(HCC)肿瘤组织和细胞系以高水平表达 CXCR2 配体以调节肿瘤相关巨噬细胞(TAM),而 T 细胞本质上缺乏 CXCR2。因此,在制造过程中引入了编码 CXCR2 的序列,以改善 CAR-T 细胞对 HCC 组织的归巢。与没有运输趋化因子受体的细胞相比,这种方法产生了有利的结果^[31]。可以通过深入研究心脏损伤等肿瘤以外的其他疾病的发生和发展规律,进一步优化抗原靶点选择方案,结合趋化因子,提高 CAR-T 细胞归巢到心脏损伤部位,并提高心脏纤维化修复效果。

4 总结与展望

通过 CAR-T 细胞进行的癌症免疫治疗已显示出对血液恶性肿瘤的令人振奋的临床疗效。类似目前在肿瘤学临床环境中使用的 CAR-T 细胞疗法,特异性地消融激活的成纤维细胞(肌成纤维细胞),减少小鼠心脏损伤模型中的纤维负担。目前没有直接针对纤维化的治疗方法,因此 CAR-T 细胞作为一种抗纤维化策略具有治疗潜力。通过深入研究 CAR-T 细胞与心肌成纤维细胞的相互作用规律,进一步优化靶点选择,同时提高心脏纤维化 CAR-T 细胞浸润数目,设计分子开关控制 CAR-T 在体内发挥作用的时间,降低 CRS,以优化治疗效果。目前对于 CAR-T 细胞治疗心肌纤维化的研究少,需要未来更多的研究来评估 CAR-T 细胞治疗心肌纤维化的效果。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Yu JX, Upadhaya S, Tataka R, et al. Cancer cell therapies: the clinical trial landscape[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(9): 583-584.
- [2] Roselli E, Faramand R, Davila ML. Insight into next-generation CAR therapeutics: designing CAR T cells to improve clinical outcomes[J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(2): e142030.
- [3] Lin H, Cheng J, Mu W, et al. Advances in Universal CAR-T Cell Therapy[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 744823.
- [4] Maruyama K, Imanaka-Yoshida K. The Pathogenesis of Cardiac Fibrosis: A Review of Recent Progress[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(5): 2617.
- [5] Rurik JG, Tombácz I, Yadegari A, et al. CAR T cells produced in vivo to treat cardiac injury[J]. *Science*, 2022, 375(6576): 91-96.

- [6] Liu M, López de Juan Abad B, Cheng K. Cardiac fibrosis; Myofibroblast-mediated pathological regulation and drug delivery strategies[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2021, 173:504-519.
- [7] López B, Ravassa S, Moreno MU, et al. Diffuse myocardial fibrosis; mechanisms, diagnosis and therapeutic approaches[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2021, 18(7):479-498.
- [8] Han D, Xu Z, Zhuang Y, et al. Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Hematological Malignancies[J]. *J Cancer*, 2021, 12(2):326-334.
- [9] Kirk T, Ahmed A, Rognoni E. Fibroblast Memory in Development, Homeostasis and Disease [J]. *Cells*, 2021, 10(11):2840.
- [10] Dixon I, Landry NM, Rattan SG. Periostin Reexpression in Heart Disease Contributes to Cardiac Interstitial Remodeling by Supporting the Cardiac Myofibroblast Phenotype[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2019, 1132:35-41.
- [11] Aghajanian H, Kimura T, Rurik JG, et al. Targeting cardiac fibrosis with engineered T cells[J]. *Nature*, 2019, 573(7774):430-433.
- [12] Jokar N, Amini A, Ravanbod M, et al. State-of-the-art modalities in cardio-oncology; insight from a nuclear medicine approach[J]. *Nucl Med Rev Cent East Eur*, 2021, 24(2):82-92.
- [13] Toms J, Kogler J, Maschauer S, et al. Targeting Fibroblast Activation Protein; Radiosynthesis and Pre-clinical Evaluation of an 18F-Labeled FAP Inhibitor [J]. *J Nucl Med*, 2020, 61(12):1806-1813.
- [14] Wu M, Ning J, Li J, et al. Feasibility of In Vivo Imaging of Fibroblast Activation Protein in Human Arterial Walls[J]. *J Nucl Med*, 2022, 63(6):948-951.
- [15] Fitzgerald AA, Weiner LM. The role of fibroblast activation protein in health and malignancy[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2020, 39(3):783-803.
- [16] Tallquist MD, Molkentin JD. Redefining the identity of cardiac fibroblasts[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2017, 14(8):484-491.
- [17] Hoffmann DB, Fraccarollo D, Galuppo P, et al. Genetic ablation of fibroblast activation protein alpha attenuates left ventricular dilation after myocardial infarction[J]. *PLoS One*, 2021, 16(3):e0248196.
- [18] Picchio V, Bordin A, Floris E, et al. The dynamic facets of the cardiac stroma; from classical markers to omics and translational perspectives[J]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(2):1172-1187.
- [19] Trinh K, Julovi SM, Rogers NM. The Role of Matrix Proteins in Cardiac Pathology[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3):1338.
- [20] Xiang FL, Fang M, Yutzey KE. Loss of β -catenin in resident cardiac fibroblasts attenuates fibrosis induced by pressure overload in mice[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1):712.
- [21] Griffin MF, desJardins-Park HE, Mascharak S, et al. Understanding the impact of fibroblast heterogeneity on skin fibrosis[J]. *Dis Model Mech*, 2020, 13(6):dmm044164.
- [22] Gao TA, Chen YY. T cells to fix a broken heart[J]. *Science*, 2022, 375(6576):23-24.
- [23] Schubert ML, Schmitt M, Wang L, et al. Side-effect management of chimeric antigen receptor(CAR) T-cell therapy[J]. *Ann Oncol*, 2021, 32(1):34-48.
- [24] Fischer JW, Bhattarai N. CAR-T Cell Therapy: Mechanism, Management, and Mitigation of Inflammatory Toxicities[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:693016.
- [25] Adamo L, Rocha-Resende C, Prabhu SD, et al. Reappraising the role of inflammation in heart failure[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(5):269-285.
- [26] Giavridis T, van der Stegen S, 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.
- [27] Derrick CJ, Noël ES. The ECM as a driver of heart development and repair[J]. *Development*, 2021, 148(5):dev191320.
- [28] Hortells L, Johansen A, Yutzey KE. Cardiac Fibroblasts and the Extracellular Matrix in Regenerative and Nonregenerative Hearts [J]. *J Cardiovasc Dev Dis*, 2019, 6(3):29.
- [29] Chen B, Frangogiannis NG. Chemokines in Myocardial Infarction[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2021, 14(1):35-52.
- [30] Gencer S, Evans BR, van der Vorst E, et al. Inflammatory Chemokines in Atherosclerosis[J]. *Cells*, 2021, 10(2):226.
- [31] Liu G, Rui W, Zheng H, et al. CXCR2-modified CAR-T cells have enhanced trafficking ability that improves treatment of hepatocellular carcinoma[J]. *Eur J Immunol*, 2020, 50(5):712-724.

(收稿日期:2022-09-26)