

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.006

· 基础研究 ·

靶向CD117的CAR-T细胞对急性髓系白血病细胞Kasumi-1的体外杀伤效应

韩盼盼¹, 陈绪靖², 陈汉祎², 王淑燕¹, 詹思建², 莫胜水³, 陈丽丽³, 冯娅茹³, 林伟¹, 王建勋¹(1. 北京中医药大学生命科学学院, 北京 102488; 2. 深圳细胞谷生物医药有限公司, 广东 深圳 518118; 3. 广东君厚生物医药有限公司, 广东 中山 528400)

[摘要] **目的:** 制备低亲和力的CD117 CAR-T细胞, 探讨其对急性髓系白血病(AML)细胞Kasumi-1的体外杀伤效应。**方法:** 调取CD117低亲和力抗体巴佐利单抗(barzolvolimab)和Fab-79D VH和VL序列, 设计VH-(G4S)₃-VL结构的单链抗体, 分别构建带4-1BB共刺激分子的经典二代CAR分子, 经基因合成后分别亚克隆至pMFG逆转录病毒载体, 获得CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR质粒。将两种CAR质粒分别包装制备逆转录病毒, 检测其滴度合格后转导活化后的T细胞, 构建CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞, 采用流式细胞术检测两种CAR-T细胞的阳性率。将未转导T细胞与两种CAR-T细胞分别与CD117⁺Kasumi-1细胞共培养, 通过流式细胞术检测Kasumi-1细胞凋亡率, 以评估两种CAR-T细胞的抗肿瘤活性。**结果:** 成功构建CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞, 其阳性率分别为(59.4 ± 2.6)%、(62.5 ± 1.2)%。未转导T细胞、CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞体外培养均能稳定增殖, 且三者的增殖能力均无显著差异(均P > 0.05)。体外杀伤Kasumi-1细胞结果显示, 不同效靶比条件下, CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞较未转导T细胞展现出显著增强的杀伤能力(P < 0.05或P < 0.01), 但两种CAR-T细胞的杀伤效率无显著差异(P > 0.05)。**结论:** 成功构建低亲和力的CD117-79 CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞, 体外实验证实其可有效杀伤CD117⁺Kasumi-1细胞, 为AML的靶向治疗提供了实验依据。

[关键词] CD117抗原; 嵌合抗原受体; T淋巴细胞; 单链抗体; 免疫治疗

[中图分类号] R733.71; R730.51 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2026) 01-0045-06

Research on the *in vitro* cytotoxic effects of CAR-T cells targeting CD117 on acute myeloid leukemia Kasumi-1 cells

HAN Panpan¹, CHEN Xujing², CHEN Hanyi², WANG Shuyan¹, ZHAN Sijian², MO Shengshui³, CHEN Lili³, FENG Yaru³, LIN Wei¹, WANG Jianxun¹(1. School of Life Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China; 2. Shenzhen Cell Valley Biopharmaceuticals Co., LTD, Shenzhen 518118, Guangdong, China; 3. Guangdong Junhou Bio-pharmaceuticals Co., LTD, Zhongshan 528400, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To generate low-affinity CD117-targeting CAR-T cells and investigate their *in vitro* cytotoxic effects on acute myeloid leukemia (AML) Kasumi-1 cells. **Methods:** Low-affinity CD117-targeting monoclonal antibody (barzolvolimab) and Fab-79D VH and VL sequences were retrieved for the design of single-chain variable fragments (scFvs) with a VH-(G4S)₃-VL configuration. These scFvs were then integrated individually into canonical second-generation chimeric antigen receptor (CAR) constructs harboring the 4-1BB costimulatory domain. Subsequent to gene synthesis, the resultant CAR sequences were subcloned into the pMFG retroviral vectors, yielding the CD117-79D CAR and CD117-0159 CAR plasmids, respectively. The two CAR plasmids were subjected to separate retroviral packaging and production procedures. After validation of viral titers, the recombinant retroviruses were transduced into activated T cells to generate CD117-79D CAR-T and CD117-0159 CAR-T cell products. The CAR-positive fractions of the two CAR-T cell populations were quantified utilizing flow cytometry. Untransduced T cells and the two engineered CAR-T cells were co-cultured independently with CD117⁺ Kasumi-1 cells. Thereafter, the apoptotic rates of Kasumi-1 cells were detected *via* flow cytometry for the comparative evaluation of the anti-tumor activity of the two CAR-T cell products. **Results:** CD117-79D CAR-T and CD117-0159 CAR-T cells were successfully constructed, with positive rates of (59.4 ± 2.6)% and (62.5 ± 1.2)% ,

[基金项目] 王建勋高层次人才科研启动经费(90011451310032)

[作者简介] 韩盼盼, 硕士生

[通信作者] 王建勋(扫码获取作者通信方式)



respectively. Untransduced T cells, CD117-79D CAR-T cells, and CD117-0159 CAR-T cells all exhibited stable proliferation in *in vitro* cultivation, and no statistically significant difference was observed in their proliferative abilities (all $P > 0.05$). Results of the *in vitro* cytotoxicity assay against Kasumi-1 cells demonstrated that, in varying effector-to-target ratios, both CD117-79D CAR-T and CD117-0159 CAR-T cells exerted significantly enhanced cytotoxicity compared with untransduced T cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). However, no statistically significant difference was detected in the killing efficiency between the two CAR-T cell products ($P > 0.05$). **Conclusion:** CD117-79D CAR-T and CD117-0159 CAR-T cells with low-affinity were successfully generated. *In vitro* experiments verified that these CAR-T cells could effectively eliminate CD117⁺ Kasumi-1 cells, thereby providing experimental evidence for the targeted therapy of AML.

[Key words] CD117 antigen; chimeric antigen receptor (CAR); T lymphocyte; single-chain variable fragment (scFv); immunotherapy
 [Chin J Cancer Biother, 2026, 33(1): 45-50. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2026.01.006]

急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)是一种造血干细胞和祖细胞(hematopoietic stem and progenitor cell, HSPC)异常增殖引发的恶性血液肿瘤,以骨髓正常造血功能受损为主要特征^[1-2],预后普遍较差(60岁以上患者治愈率仅5%~15%)^[3-4]。细胞免疫治疗的兴起为血液肿瘤带来新希望,其中CAR-T细胞疗法成效突出,已有多款靶向CD19、BCMA的产品上市,但针对AML的理想治疗靶点仍十分有限。CD117作为关键穿膜酪氨酸激酶受体^[5-7],在约80%的AML患者的髓细胞中过表达^[8],是极具潜力的治疗靶点,已有靶向CD117的布利奎利单抗(briquilimab)进入临床研究阶段(NCT04429191),且其I期临床结果显示积极的疗效。但CD117也表达于正常HSPC中,有潜在的脱靶风险^[9-10]。基于此,推测采用低亲和力单链抗体(scFv)构建CAR-T细胞,有望在维持其抗肿瘤活性的同时,有效降低CAR-T细胞对正常血细胞的杀伤毒性^[11]。因此,本研究采用靶向CD117的低亲和力结合结构域D4、D5^[12]的巴佐利单抗(barzolvolimab)和Fab-79D抗体^[13-14]来源的scFv构建新型低亲和力CD117 CAR-T细胞,并通过体外功能实验初步评估其对AML细胞的抗肿瘤活性,探索低亲和力CD117 CAR-T细胞治疗AML的可行性,为后续系统性评价CD117 CAR-T细胞治疗AML的安全性与有效性奠定实验基础。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

逆转录病毒包装细胞 Phoenix-ECO、PG13 细胞和白血病细胞 Kasumi-1 均购自美国 ATCC。

RPMI 1640 培养基、DMEM 培养基、AIM-V 培养基、胎牛血清(FBS)、PBS 缓冲液、胰酶、青链霉素均购自美国 Gibco 公司, FuGene HD 转染试剂购自美国 Promega 公司, 淋巴细胞分离液购自北京友谊中联生物科技有限公司, 白细胞介素 2(IL-2)、OKT-3 抗体购自北京义翘神州科技股份有限公司, DH5 α 化学感受态细胞、T4 DNA 连接酶、*Xho* I 酶、*Not* I 酶、质粒提取试剂盒均购自北京兰博利德科技有限公司, 胶回收试剂盒购自上海优宁维公司, 偶联物(G4S-APC)等抗体均购自美国 BD 公司。

1.2 CD117-79D CAR 和 CD117-0159 CAR 分子构建

分别获取 barzolvolimab(CDX-0159)和 Fab-79D 的序列^[13-14]后, 调取二者的重链可变区(VH)序列和轻链可变区(VL)序列(表 1), 在 VH 和 VL 序列中插入柔性连接肽(Gly4Ser)₃, 组装成结构为 VH-linker-VL 的 scFv[VH-(G4S)₃-VL]。随后, 将信号肽序列、MYC 标签序列、scFv、CD8 α 铰链区和穿膜区、胞内区 4-1BB 与胞内区 CD3 ζ 依次串联, 在对其密码子进行优化后在起始密码子 ATG 上游添加 Kozak 序列(GCCACC), 并在序列两端分别加入 *Xho* I 和 *Not* I 酶切位点序列。此后, 由北京擎科生物科技有限公司进行基因合成, 分别构建 CD117-79D CAR 和 CD117-0159 CAR 分子(图 1)。

表 1 Barzolvolimab(CDX-0159)和 Fab-79D(KIT)VL 和 VH 序列

Barzolvolimab VH 序列	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYINWVRQAPGKGLEWIARIYPGSGNTYYN EKFKGRATLTADKSTSTAYMQLSSLRSED TAVYFCARGVYVYFDYWGQGT TTVTVSS
Barzolvolimab VL 序列	DIVMTQSPSSLSASVGRVTITCKASQNVRTNVAWYQQKPGKAPKALIYSASYRYSYSGVPDRFT GSGSGTDFLTITSLQPEDFADYFCQQYNSYPRTFGGGTKVEIK
Fab-79D(KIT)VH 序列	SEVQLVESGGGLVQP GGSRLSCAASGFNISVYMMHWVRQAPGKGLEWVASIYPYSGYTY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCARYVYHALDYWGQGLT TTVTVSS
Fab-79D(KIT)VL 序列	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCRASQRGLRNVAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASSLYSGVPSRF SGRSRGTDFLTITSLQPEDFATYYCQQWAVHSLITFGQGTKVEIKRTVAA

1.3 pMFG-MYC-CD117-CAR质粒载体构建

CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR序列合成后,分别将CAR序列与逆转录病毒载体由Xho I/Not I双酶切,以凝胶电泳的方式回收酶切后的目的片段与载体并纯化,16 °C条件下将纯化后的目的片段与载体用T4连接酶连接1 h。随后取DH5 α 感受态细胞进行质粒转化,挑单克隆接种于含氨苄青霉素的LB培养基中,37 °C摇床培养12~16 h。提取质粒DNA,酶切鉴定正确后进行测序,测序正确的质粒载体分别被命名为pMFG-MYC-CD117-79D CAR、pMFG-MYC-CD117-0159 CAR。

1.4 逆转录病毒包装及滴度检测

分别使用CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR质粒通过转染Phoenix-ECO细胞进行逆转录病毒载体的包装。随后,分别对其物理滴度和生物滴度进行检测。

物理滴度检测:将标准品CD117-CAR质粒进行梯度稀释,作为标准曲线样本。将收集到的不同天数的逆转录病毒载体进行RNA提取实验、RNA逆转录为cDNA实验,随后进行qPCR实验,分析绘制标准曲线,并依据待测病毒载体的CT值,计算出相应的病毒载体所含有的拷贝数。

生物滴度检测:将收集到的不同天数的逆转录病毒载体(H1~H4)进行混合后并过滤,设置不同梯度病毒载体转导PG13细胞,后通过流式细胞术检测不同梯度病毒载体的转导效率,从而计算出相应的病毒载体滴度。计算公式:病毒滴度(TU/mL)=被感染时细胞数 \times 阳性细胞百分比/加入病毒体积。计算时,选取阳性率为10%~30%时的病毒用量做感染复数(multiplicity of infection, MOI)线性计算。

1.5 人原代外周血单个核细胞(PBMC)分离

抽取3位健康志愿者外周血各20 mL,采用Ficoll密度梯度离心法分离PBMC。将PBMC重悬于AIM-V完全培养基,同时加入终浓度为100 ng/mL OKT-3抗体和100 U/mL IL-2,将细胞置入37 °C、5% CO₂细胞培养箱中培养。此后,每隔48 h用含100 U/mL IL-2的AIM-V完全培养基传代。

1.6 CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞制备

收集培养48 h后的T细胞,分别用CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR逆转录病毒转导T细胞,构建CD117-79D CAR-T细胞和CD117-0159 CAR-T细胞。在转导48 h后,分别收集一定量的CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞及未转导T细胞,用APC标记的抗G4S Linker抗体对三者进行标记,通过流式细胞术检测G4S阳性细胞占比(G4S阳性细

胞占比=G4S-APC阳性细胞数/总活细胞数 \times 100%),即为CAR-T细胞阳性率。

1.7 流式细胞术检测CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞对Kasumi-1细胞的杀伤能力

选用高表达CD117的Kasumi-1细胞作为靶细胞,未转导T、CD117-79D CAR-T、CD117-0159 CAR-T细胞作为效应细胞,设置2:1、1:1、1:2、1:4、1:8五个效靶比,将含有效应细胞与靶细胞的孔作为实验孔,只含有靶细胞的孔设置为阴性对照孔,每组设置3个复孔。分别将相应数量的效应细胞与 2×10^4 个靶细胞共培养12 h后,以 $300 \times g$ 离心5 min收集细胞,使用含10% FBS的PBS缓冲液清洗1次,加入CD117抗体4 °C处理1 h,离心去上清液,加入Annexin V-FITC缓冲液重悬细胞,作用45 min后终止染色。通过流式细胞仪检测靶细胞凋亡情况,将其中同时表达CD117(靶细胞特异性标志物)和FITC(凋亡特异性标志物)的双阳性细胞群定义为凋亡细胞,按照公式“细胞凋亡率(%)=(最大释放孔细胞数-实验孔细胞数)/最大释放孔细胞数 \times 100%”计算细胞凋亡率。

1.8 统计学处理

使用FlowJo 10进行流式结果分析,采用GraphPad Prism 8软件处理数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验(如杀伤实验进行多重非配对 t 检验),多组间比较采用单因素方差分析(如杀伤实验进行多重非配对 t 检验)。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR分子

成功构建了两种靶向CD117的CAR分子:CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR。两者均为经典的二代CAR分子结构,包含:信号肽、MYC标签、CD117 scFv、CD8 α 铰链区和穿膜区、4-1BB共刺激分子和CD3 ζ 信号转导分子(图1)。

2.2 成功制备高滴度CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR逆转录病毒

使用qPCR法和流式法分别对CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR逆转录病毒滴度进行检测。物理滴度计算标准曲线见图2A,检测结果(图2B)显示,CD117-79D CAR与CD117-0159 CAR逆转录病毒滴度均达到 10^7 拷贝/mL,且最高值都超过 6×10^7 拷贝/mL,表明成功制备了高滴度的病毒载体。生物活性滴度检测结果(图2C)显示,CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR逆转录病毒滴度均达到 4×10^5 TU/mL,

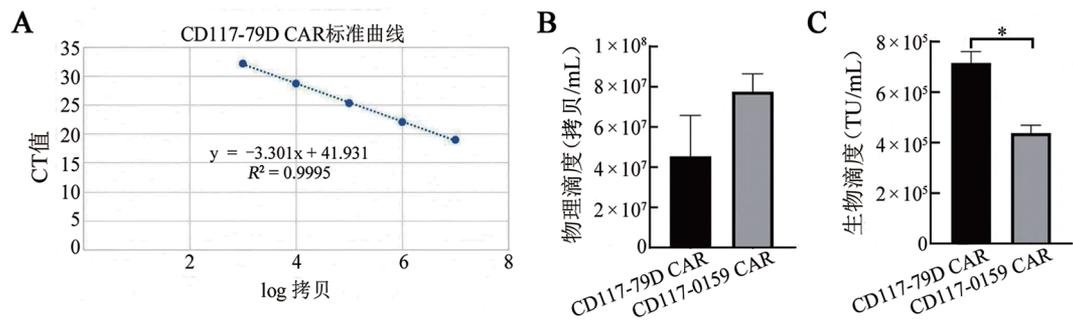
且CD117-79D CAR逆转录病毒载体的生物滴度显著高于CD117-0159 CAR逆转录病毒($P < 0.05$)。

2.3 成功制备高阳性率的CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞

流式细胞术检测结果(图3)显示,CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞阳性率分别为(59.4 ± 2.6)%、(62.5 ± 1.2)%。结果表明,成功构建了高阳性率CD117-79D CAR-T细胞和CD117-0159 CAR-T细胞。



图1 CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR分子结构图



A:CD117-79D CAR逆转录病毒滴度标准曲线;B、C:CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR逆转录病毒载体的物理(B)与生物(C)滴度。* $P < 0.05$ 。

图2 CD117-79D CAR和CD117-0159 CAR逆转录病毒滴度分析

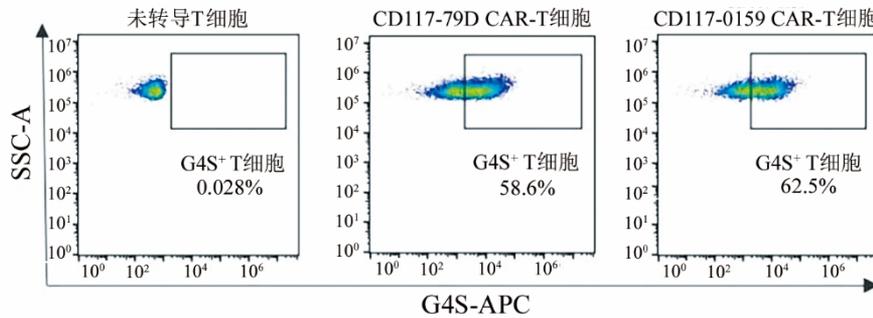


图3 流式细胞术检测CAR-T细胞阳性率

2.4 CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞杀伤活性评估

流式细胞术检测结果(图4)显示,在2:1、1:1、1:2、1:4、1:8效靶比条件下,CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞对靶细胞Kasumi-1细胞杀伤能力均显著高于未转导T细胞($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而两组CAR-T细胞对靶细胞的杀伤效率无显著差异(均 $P > 0.05$)。结果表明,所构建的CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞在体外对靶细胞具有特异性、高效的杀伤活性,具备良好的抗肿瘤潜能。

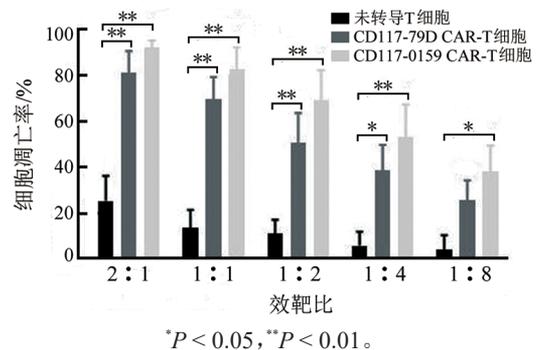


图4 CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞对靶细胞的杀伤活性评估

3 讨论

CAR-T细胞疗法作为最具应用前景的过继免疫疗法,其在B细胞恶性肿瘤治疗中成果斐然,已有多款靶向CD19的CAR-T细胞产品获美国食品药品监督管理局(FDA)批准上市^[15-18]。然而,该疗法在AML治疗中仍未达理想效果^[19-22]。关键瓶颈在于AML细胞与正常造血祖细胞(hematopoietic progenitor cell, HPC)、分化髓系细胞高度共享表面抗原,导致多数潜在靶点均伴随脱靶毒性风险,易引发髓系再生障碍及造血重建受损^[23],这一问题已成为CAR-T细胞疗法应用于AML治疗的主要障碍^[24-29]。

CD117作为III型受体酪氨酸激酶,不仅在肥大细胞分化、HSPC稳态维持中发挥关键调控作用,更在AML、胃肠道间质瘤等多种肿瘤细胞增殖与存活中扮演核心角色^[12,23,30-31]。靶向CD117靶点的CAR-T细胞能够对AML细胞进行精准杀伤,同时通过体内持续性扩增形成长效免疫保护^[32]。但不容忽视的是,CD117在正常HSPC/HPC表面亦呈广泛表达,如何在提升CAR-T细胞靶向肿瘤特异性的同时,降低其对正常造血组织的损伤,仍是亟待攻克的关键科学问题。已有研究^[33]证实,CD117胞外段D4、D5结构域与其配体的结合亲和力显著低于其他区域,这为低亲和力CAR-T细胞的设计提供了重要理论依据:靶向该低亲和力区域的CAR-T细胞,有望通过亲和力调控实现“肿瘤细胞优先识别”,从而有效规避或显著减轻对正常造血细胞的脱靶毒性。

通过文献检索及专利调研获得两款亲和力较低的抗体,即barzolvolimab和Fab-79D,两者均高特异性结合在CD117的膜远端结构域D4、D5区域。基于此,本研究使用两个抗体来源的scFv分别构建了含4-1BB共刺激分子的具有经典二代CAR结构的CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞,并对两者的体外抗肿瘤活性进行评估。体外杀伤实验结果显示,CD117-79D CAR-T和CD117-0159 CAR-T细胞的杀伤效率均显著高于未转导T细胞。虽然CD117-79D CAR-T细胞与CD117-0159 CAR-T细胞的杀伤效率无显著性差异($P > 0.05$),但在各靶比条件下CD117-79D CAR-T细胞均具有更强的杀伤活性。后续将进一步研究两种CAR-T细胞对正常血细胞的毒性作用。

本研究初步证明了低亲和力CD117 CAR-T细胞治疗AML的可行性^[9],后续还需更多的研究探究CD117 CAR-T细胞的有效性和安全性。在有效性方面,本研究将在动物肿瘤模型进一步评估这两种低亲和力抗体的抗肿瘤活性。在此基础上,后续研究

拟采取以下改进策略:(1)联合用药,已有研究^[32]发现,CAR-T细胞与酪氨酸激酶抑制剂依鲁替尼联用可抑制CD117下游信号通路,增强CAR-T细胞对白血病干细胞的杀伤;(2)优化治疗方案,先通过抑制剂降低肿瘤负荷,再输注CAR-T细胞清除残留病灶,并设计同时靶向CD117与CD33、CD123等AML相关抗原的CAR-T细胞,减少抗原逃逸;(3)安全性方面,将系统评估两种CD117 CAR-T细胞对正常HSPC/HPC等的毒性作用^[34]。

综上所述,本研究成功构建了基于barzolvolimab及Fab-79D scFv改造的两种低亲和力CAR-T细胞,即CD117-79D CAR-T细胞与CD117-0159 CAR-T细胞。体外实验结果表明,两种CAR-T细胞均对AML细胞展现出良好的抗肿瘤活性,初步证实了低亲和力CD117 CAR-T细胞在治疗AML及其他血液肿瘤中的应用潜力。然而,本研究尚存诸多有待完善之处:一是尚未对CD117 CAR-T细胞治疗AML的安全性展开系统评估,该细胞是否如理论预期般对正常HSPC/HPC无毒性作用,目前仍未可知;二是其在动物模型中的体内抗肿瘤活性亦有待进一步验证。基于此,后续研究将在完成体外安全性评估的基础上,深入开展CD117 CAR-T细胞的动物体内抗肿瘤功能研究,以期为该疗法的临床转化提供坚实的实验依据。

[参考文献]

- [1] 徐涛,颜慕霞,徐令,等. 环状RNA circOMA1对儿童急性髓系白血病细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2022, 37(11): 831-836. DOI: 10.3760/cma.j.cn101070-20210618-00702.
- [2] 张晓冬,林晓媛. 急性髓系白血病患者外周血调节性T细胞、辅助性T细胞17及其相关细胞因子的表达及意义[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(4): 339-342, 352. DOI: 10.7683/xyxyxb.2023.04.008.
- [3] SSENIONGA N, STILLER C, NAKATA K, et al. Worldwide trends in population-based survival for children, adolescents, and young adults diagnosed with leukaemia, by subtype, during 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual data from 258 cancer registries in 61 countries [J]. Lancet Child Adolesc Health, 2022, 6(6): 409-431. DOI: 10.1016/S2352-4642(22)00095-5.
- [4] STUBBINS R J, FRANCIS A, KUCHENBAUER F, et al. Management of acute myeloid leukemia: a review for general practitioners in oncology[J]. Curr Oncol, 2022, 29(9): 6245-6259. DOI: 10.3390/curroncol29090491.
- [5] LEBEL E, NACHMIAS B, PICK M, et al. Understanding the bioactivity and prognostic implication of commonly used surface antigens in multiple myeloma[J]. J Clin Med, 2022, 11(7): 1809. DOI: 10.3390/jcm11071809.
- [6] VALENT P, AKIN C, HARTMANN K, et al. Mast cells as a unique hematopoietic lineage and cell system: from paul ehrlich's visions to precision medicine concepts[J]. Theranostics, 2020, 10(23): 10743-10768. DOI: 10.7150/thno.46719.

- [7] BRANELLA G M, SPENCER H T. Natural receptor- and ligand-based chimeric antigen receptors: strategies using natural ligands and receptors for targeted cell killing[J]. *Cells*, 2021, 11(1): 21. DOI: 10.3390/cells11010021.
- [8] SHIMONY S, STAHL M, STONE R M. Acute myeloid leukemia: 2023 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. *Am J Hematol*, 2023, 98(3): 502-526. DOI: 10.1002/ajh.26822.
- [9] MAGNANI C F, MYBURGH R, BRUNN S, et al. Anti-CD117 CAR T cells incorporating a safety switch eradicate human acute myeloid leukemia and hematopoietic stem cells[J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2023, 30: 56-71. DOI: 10.1016/j.omto.2023.07.003.
- [10] THOMAS R, RITCHEY J K, DIPERSIO J F, et al. Targeting CD117 on hematopoietic stem and progenitor cells impairs CAR T cell activity[J]. *Mol Ther*, 2025, 33(9): 4584-4599. DOI: 10.1016/j.ymthe.2025.05.033.
- [11] SHABANEH T B, STEVENS A R, STULL S M, et al. Systemically administered low-affinity HER2 CAR T cells mediate antitumor efficacy without toxicity[J]. *J Immunother Cancer*, 2024, 12(2): e008566. DOI: 10.1136/jitc-2023-008566.
- [12] CZECHOWICZ A, PALCHAUDHURI R, SCHECK A, et al. Selective hematopoietic stem cell ablation using CD117-antibody-drug-conjugates enables safe and effective transplantation with immunity preservation[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 617. DOI: 10.1038/s41467-018-08201-x.
- [13] RESHETNYAK A V, NELSON B, SHI X R, et al. Structural basis for KIT receptor tyrosine kinase inhibition by antibodies targeting the D4 membrane-proximal region[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(44): 17832-17837. DOI: 10.1073/pnas.1317118110.
- [14] ALVARADO D, MAURER M, GEDRICH R, et al. Anti-KIT monoclonal antibody CDX-0159 induces profound and durable mast cell suppression in a healthy volunteer study[J]. *Allergy*, 2022, 77(8): 2393-2403. DOI: 10.1111/all.15262.
- [15] ONG M Z, KIMBERLY S A, LEE W H, et al. FDA-approved CAR T-cell therapy: a decade of progress and challenges[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2024, 25(11): 1377-1393. DOI: 10.2174/0113892010257212231001082741.
- [16] 陈新峰, 刘莎莎, 张毅. CAR-T细胞治疗的临床关键问题和对策[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2025, 32(1): 9-13. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.01.002.
- [17] 李梅芳, 周丽娟, 李玉华. CAR-T细胞精准治疗血液恶性肿瘤发展进程中的四大突破及其存在的问题和解决对策[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2025, 32(2): 127-139. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.02.001
- [18] BOCK T J, COLONNE C K, FIORENZA S, et al. Outcome correlates of approved CD19-targeted CAR T cells for large B cell lymphoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2025, 22(4): 241-261. DOI: 10.1038/s41571-025-00992-5.
- [19] ISIDORI A, CERCHIONE C, DAVER N, et al. Immunotherapy in acute myeloid leukemia: where we stand[J]. *Front Oncol*, 2021, 11: 656218. DOI: 10.3389/fonc.2021.656218.
- [20] HOFMANN S, SCHUBERT M L, WANG L, et al. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy in acute myeloid leukemia (AML)[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(2): 200. DOI: 10.3390/jcm8020200.
- [21] HAUBNER S, PERNA F, KÖHNKE T, et al. Coexpression profile of leukemic stem cell markers for combinatorial targeted therapy in AML[J]. *Leukemia*, 2018, 33(1): 64-74. DOI: 10.1038/s41375-018-0180-3.
- [22] KANTARJIAN H, KADIA T, DINARDO C, et al. Acute myeloid leukemia: current progress and future directions[J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11: 41. DOI: 10.1038/s41408-021-00425-3.
- [23] KIM M Y, YU K R, KENDERIAN S S, et al. Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T cell immunotherapy for acute myeloid leukemia[J]. *Cell*, 2018, 173(6): 1439-1453.e19. DOI: 10.1016/j.cell.2018.05.013.
- [24] DAMIANI D, TIRIBELLI M. Advancing chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute myeloid leukemia: current limitations and emerging strategies[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2024, 17(12): 1629. DOI: 10.3390/ph17121629.
- [25] MAUDE S L, LAETSCH T W, BUECHNER J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 439-448. DOI: 10.1056/nejmoa1709866.
- [26] JACOBSON C A, CHAVEZ J C, SEHGAL A R, et al. Axicabtagene ciloleucel in relapsed or refractory indolent non-Hodgkin lymphoma (ZUMA-5): a single-arm, multicentre, phase 2 trial[J]. *Lancet Oncol*, 2022, 23(1): 91-103. DOI: 10.1016/s1470-2045(21)00591-x.
- [27] NEELAPU S S, DICKINSON M, MUNOZ J, et al. Axicabtagene ciloleucel as first-line therapy in high-risk large B-cell lymphoma: the phase 2 ZUMA-12 trial[J]. *Nat Med*, 2022, 28(4): 735-742. DOI: 10.1038/s41591-022-01731-4.
- [28] SHAH B D, GHOBADI A, OLUWOLE O O, et al. KTE-X19 for relapsed or refractory adult B-cell acute lymphoblastic leukaemia: phase 2 results of the single-arm, open-label, multicentre ZUMA-3 study[J]. *Lancet*, 2021, 398(10299): 491-502. DOI: 10.1016/s0140-6736(21)01222-8.
- [29] COLONNE C K, KIMBLE E L, TURTLE C J. Evolving strategies to overcome barriers in CAR-T cell therapy for acute myeloid leukemia[J]. *Expert Rev Hematol*, 2024, 17(11): 797-818. DOI: 10.1080/17474086.2024.2420614.
- [30] HEO S K, NOH E K, KIM J Y, et al. Targeting c-KIT (CD117) by dasatinib and radotinib promotes acute myeloid leukemia cell death[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15278. DOI: 10.1038/s41598-017-15492-5.
- [31] ARAI Y, CHOI U, CORSINO C I, et al. Myeloid conditioning with c-kit-targeted CAR-T cells enables donor stem cell engraftment[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(5): 1181-1197. DOI: 10.1016/j.ymthe.2018.03.003.
- [32] MYBURGH R, KIEFER J D, RUSSKAMP N F, et al. Anti-human CD117 CAR T-cells efficiently eliminate healthy and malignant CD117-expressing hematopoietic cells[J]. *Leukemia*, 2020, 34(10): 2688-2703. DOI: 10.1038/s41375-020-0818-9.
- [33] LEMMON M A, PINCHASI D, ZHOU M, et al. Kit receptor dimerization is driven by bivalent binding of stem cell factor[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(10): 6311-6317. DOI: 10.1074/jbc.272.10.6311.
- [34] PÉREZ-AMILL L, ARMAND-UGON M, PEÑA S, et al. CD84: a novel target for CAR T-cell therapy for acute myeloid leukemia[J]. *Blood*, 2022, 140(Supplement 1): 7379-7381. DOI: 10.1182/blood-2022-165339.

[收稿日期] 2025-07-06

[修回日期] 2025-12-26

[本文编辑] 党瑞山