

白血病免疫治疗靶点研究进展

唐瑀彤, 朱小瑛, 游 泳*

华中科技大学同济医学院协和医院血液科, 湖北 武汉

收稿日期: 2021年12月15日; 录用日期: 2021年12月29日; 发布日期: 2022年1月17日

摘 要

白血病是一类造血干/祖细胞的恶性克隆性疾病, 其治疗方法主要有化学治疗、造血干细胞移植、免疫治疗和分子靶向治疗等。近年来, 白血病的免疫治疗取得了重大突破, 成为研究热点, 尤其是嵌合抗原受体修饰T细胞(chimeric antigen receptor T cells, CAR-T)作为新型治疗模式备受关注。CAR-T细胞的治疗基础为白血病细胞上的特异性抗原, 即免疫治疗靶点。笔者对近年来白血病CAR-T细胞治疗靶点的相关研究进行综述。

关键词

嵌合抗原受体T细胞, 白血病, 抗原

Current Research Advance in Immunotherapy of Leukemia

Yutong Tang, Xiaoying Zhu, Yong You*

Department of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei

Received: Dec. 15th, 2021; accepted: Dec. 29th, 2021; published: Jan. 17th, 2022

Abstract

Leukemia is defined as malignant neoplasm of blood-forming tissues, which characterized as abnormal proliferation of leukocytes. The main treatment includes chemotherapy, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, immunotherapy and cellular therapy. Recently, immunotherapy, is an emerging novel therapy and has achieved dramatic success in clinical practice, especially for chimeric antigen receptor (CAR) T-cell. The basic of CAR-T therapy is tumor specific antigen, this

*通讯作者。

review summarizes related potential tumor antigens in leukemia for CAR-T therapy.

Keywords

Chimeric Antigen Receptor T Cell, Leukemia, Antigen

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

CAR-T 细胞疗法是目前白血病中最前沿的细胞免疫治疗, 相对传统免疫治疗而言, CAR-T 细胞对白血病细胞具有更强的杀伤性和靶向性。而对白血病细胞特定靶点的识别是 CAR-T 细胞治疗的基础, 因此寻找理想的免疫治疗靶点是当前白血病免疫治疗领域的研究热点。

2. 髓系白血病

2.1. 路易斯抗原 Y (Lewis Y Antigen)

路易斯抗原 Y 是结合于糖蛋白和糖脂末端与 Lewis 血型抗原相关的一种寡糖, 属于非蛋白抗原。有学者检测了多种急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)细胞系以及 AML 患者骨髓标本中 Lewis Y 的表达情况, 发现多种 AML 细胞表达 Lewis Y。随后他们构建了 Lewis Y CAR-T 细胞, 并证实了其对 Lewis Y 阳性 AML 细胞的特异性杀伤效应[1]。Ritchie 等[2]实施了 Lewis Y CAR-T 细胞治疗 4 例高危 AML 患者的临床试验, 尽管抗白血病作用甚微, 但 Lewis Y CAR-T 细胞在体内存在时间长达 10 个月, 并可迁移到肿瘤部位发挥一定程度的免疫效应, 证明 Lewis Y 作为 AML 治疗靶点具有可行性。

2.2. CD33

CD33 分子是能结合唾液酸的跨膜受体, 属于髓系分化抗原, 在炎症反应和免疫应答中调控白细胞功能。90% 的 AML 细胞表面高表达 CD33 分子, AML 白血病干细胞(leukemia stem cell, LSC)亦有表达[3], 因而 CD33 分子有望成为 AML 的理想治疗靶点。有学者采用 EB 病毒特异性细胞毒性 T 细胞(EBV-CTL)构建了 CD33 CAR-T 细胞, 并在体外实验和小鼠模型中证实了其对 AML 细胞的杀伤作用[4]。一例难治性 AML 患者进行了 CD33 CAR-T 细胞输注临床试验, 白血病细胞在输注 2 周后显著下降, 但同时也出现了较大毒副作用。遗憾的是尽管 CAR-T 细胞在患者体内持续存在, 但后期却复发死亡[5]。鉴于此, CD33 CAR-T 细胞的安全性和杀伤效应亟需进一步证实。最近 Minagawa 等[6]构建了含有可诱导 Caspase9 自杀基因的 CD33 CAR-T 细胞, 可被小分子二聚体药物 AP20187 诱导清除, 有望控制 CAR-T 细胞治疗的毒副作用。

2.3. CD123

Jordan 等[7]检测了 18 例 AML 患者的骨髓标本, 发现 16 例患者的 LSC 高表达 CD123 分子, 而正常造血干细胞(hematopoietic stem cell, HSC)几乎不表达, 提示 CD123 可能是 LSC 的表面标志。Mardiros 等[8]首次报道了 CD123 CAR-T 细胞对 AML 细胞的特异性杀伤作用, 并且未见正常 HSC 杀伤效应。目前已有学者开展了 CD123 CAR-T 细胞一期临床试验以证实其临床应用的安全性和有效性(NCT02159495, NCT02623582)。

2.4. CD38

CD38 分子是细胞膜表面糖蛋白，能催化环腺苷二磷酸核糖的合成与降解，在多种细胞表面表达，Keyhani 等[9]研究了 CD38 在 304 例 AML 患者和 138 例急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)患者中的表达情况，发现 41%的 AML 患者和 56.6%的 ALL 患者表达 CD38，但在个别 FAB 亚型中存在差异。他们还发现 CD38 表达水平和预后相关，CD38 高表达患者往往预后较好。随后 Yoshida 等[10]证实了 CD38 CAR-T 细胞对 CD38 阳性 AML 细胞的特异性杀伤作用，全反式维甲酸可诱导 CD38 表达并增强 CAR-T 细胞的杀伤作用。

2.5. CD44

CD44 分子是一种高度糖基化的跨膜糖蛋白，存在多种变异体，其变异体 V6 在多种 AML 细胞中表达[11]。在健康人中，CD44V6 仅表达于单核细胞，HSC 以及淋巴细胞表达极微，但在 AML 患者中，CD44V6 却是白血病细胞生长必需分子。CD44V6 CAR-T 细胞在体内外实验中均对 AML 细胞有特异性杀伤作用，而对 HSC 几乎无作用，但能杀伤单核细胞，临床级别自杀基因的引入则有望减轻单核细胞减少等不良反应[12]。

2.6. CD70

CD70 分子是一种肿瘤坏死因子家族的跨膜蛋白，其受体为 CD27 分子，正常生理情况下主要表达于活化的 T 细胞和淋巴细胞。CD70 与 CD27 的相互作用可促进细胞的活化，与相较于 CC33 与 CD123，CD70 最大的优势在于只表达于 AML 和 LSC 而非 HSC [13]。Kaufmann 等发现在白血病急性期与缓解期的 CD70 与 CD27 的表达有很大差别，在急性期，CD70 与 CD27 的表达量可升高至 38 倍和 25 倍，体外研究证实 CD70 抗体可明显阻断白血病细胞的增殖[14]。Tim Sauer 最新报道 CD70 CAR-T 在小鼠模型中可特异性杀伤 AML 细胞而不影响正常的 CD34 + HSC [15]。

2.7. NKG2D 配体

NKG2D 为 NK 细胞活化受体，其配体具有多样性，包括 MHC I 类分子相关蛋白等，在正常组织细胞中表达甚微，但在白血病细胞中却有不同水平的表达，NK 细胞能以 NKG2D 依赖的方式杀伤表达其配体的白血病细胞[16]。Niki forow 等[17]实施了 NKG2D CAR-T 细胞的一期临床试验，初步证实了 NKG2D CAR-T 细胞对 AML 的抗肿瘤作用以及临床应用的安全性。

2.8. 叶酸受体 β (Folate Receptor β , FOLR β)

叶酸受体是单链多肽糖蛋白，其亚型 β 表达于髓单核细胞系，在中性粒细胞分化成熟或单核细胞及巨噬细胞激活时表达升高，多种髓系白血病中均高表达。中性粒细胞表面 FOLR β 由于翻译后修饰作用不能结合叶酸，而白血病细胞 FOLR β 可结合叶酸[18]。有研究发现全反式维甲酸可上调白血病细胞表面 FOLR β [19]。Lynn 等[20]初步证实了 FOLR β CAR-T 细胞对 FOLR β 阳性白血病细胞的杀伤作用，而对 HSC 无作用。全反式维甲酸可上调 FOLR β 表达水平并增强 FOLR β CAR-T 细胞的抗肿瘤效应。其团队还利用高亲和力 FOLR β 单链可变片段构建了 CAR-T 细胞，其抗白血病效应显著提高($p < 0.01$) [21]。

2.9. FMS 样酪氨酸激酶 3 (Fibroblast-Macrophage Stimulating Factor Receptor Fms-Like Tyrosine Kinase 3, FLT-3)

FLT-3 是 III 型受体酪氨酸激酶家族成员，表达于 90%以上 AML 细胞和部分 HSC，淋巴细胞不表达。FLT3 CAR-T 细胞在体内外实验中均能杀伤 FLT3 阳性 AML 细胞，而对小鼠体内 HSC 的移植重建和分

化能力无影响[22]。此外 20%~30%的 AML 患者会发生 FLT3 基因内部串联重复序列突变(FLT3-ITD)，致使酪氨酸激酶持续激活并促进白血病转化，提示 FLT3-ITD 也有可能成为 AML 免疫治疗靶点[23]。

2.10. C 型凝集素样分子 1 (C-Type Lectin-Like Molecule-1, CLL1)

CLL1 是髓系细胞抗原，为一种 II 型跨膜糖蛋白，表达于 90%以上 AML 细胞，主要表达于 AMLCD34 + CD38-干细胞而在正常 HSC 不表达[24]。目前认为，Eduardo 等[25]构建了 CLL1 CAR-T 细胞并在体内外实验中均能特异性杀伤 AML 细胞，而对 HSC 无作用。Zhang Hui 等报道了 CLL1 CAR-T 应用于治疗儿童复发/难治 AML 的临床研究报道，在治疗后 1 个月内均到达 CR，不良反应均得到有效控制与缓解，耐受性良好[26]。

2.11. 粒 - 巨噬细胞集落刺激因子受体(GM-CSF Receptor, GMR/CD116)

幼年型粒单核细胞白血病患者(JMML)的粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)信号通路发生基因突变后表现为对 GM-CSF 刺激高度敏感，而 HSC 则不敏感，提示 GM-CSF 有可能作为 JMML 的治疗靶点。有学者证实了 GMR CAR-T 细胞能抑制 JMML 病人 CD34 阳性细胞增殖，而对正常 CD34 阳性细胞无抑制作用[27]。

2.12. T 细胞免疫球蛋白 3 (T Cell Immunoglobulin-3, TIM3/CD366)

TIM3 是一种 T 细胞表面抑制性分子，可介导 T 细胞耗竭，同时也表达与各种髓系细胞中，在 AML 中，TIM3 高表达于 AML LSCs 而在 HSC 中不表达，可抑制 IFN- γ ，TNF- α 等细胞因子的产生，AML 的疾病进展有关[28]。He 等通过开发一种最新序列肿瘤选择性抗体和抗原检索(STAR)系统，构建了靶向 CD13 和 TIM3 的双特异性 CAR-T，在体内外实验中可有效的特异杀伤 AML 肿瘤细胞，而对 HSC 的毒性大大降低($p < 0.01$)，限制了对正常靶器官的损害[29]。

3. 淋巴细胞白血病

3.1. CD19

CD19 分子参与组成 B 细胞共受体，在识别结合抗原时增强 B 细胞活化信号的转导。CD19 仅表达于 B 细胞，在髓系、红系、巨核系中不表达[30]。近年来，以 CD19 为靶点的白血病免疫治疗取得了巨大进展，多个研究团队相继证实了 CD19 CAR-T 细胞的抗白血病效应[31] [32] [33]。CD19 CAR-T 在治疗 B 淋巴瘤反应良好，大量临床试验也初步证实了 CD19 CAR-T 细胞的抗白血病效应和临床安全性[34]。

3.2. CD20

CD20 分子广泛表达于 B 细胞，参与细胞周期调节以及 B 细胞的激活、增殖与分化。在多种 B 细胞血液肿瘤中可见表达[35]。CD20 的表达与白血病预后相关，儿童及成人前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病中，表达 CD20 的患者预后往往较差[36] [37]。靶向 CD20 的多种单克隆抗体在临床试验中已显示出理想治疗效果[38]。Keisuke 等[39]发现 CD20 CAR-T 细胞对 CD20 单抗难治性淋巴瘤和慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphoblastic leukemia, CLL)细胞具有杀伤性，即使 CD20 表达水平极低。

3.3. CD22

CD22 分子是免疫球蛋白样凝集素家族的重要成员，广泛表达于正常 B 细胞及 B 系肿瘤细胞。继 CD22 免疫毒素的抗白血病效应被证实后[40]，Waleed 等[41]构建了 CD22 CAR-T 细胞，并能靶向杀伤急性 B 淋巴细胞白血病细胞(B-acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)，此外他们还发现表位特异性是 CAR-T 细胞

杀伤效应的主要影响因素。在一项一期临床试验中, CD22 CAR-T 细胞治疗使 70%以上前体 B 细胞急性淋巴细胞白血病患者获得完全缓解, 其中包括 CD19 CAR-T 细胞治疗后复发患者[42]。

3.4. CD23

CD23 在白血病 B 细胞上高表达, 而正常 B 细胞表达水平极低, 是淋巴细胞白血病的理想治疗靶点。CD23 CAR-T 细胞对 CLL 细胞的杀伤性与 CD19 CAR-T 细胞相似, 但对正常 B 细胞的毒性却显著低于 CD19 CAR-T 细胞($p < 0.05$) [43]。

3.5. CD5

CD5 分子是恶性 T 淋巴细胞表面标志, 在 80%急性 T 淋巴细胞白血病(T-acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)和 T 细胞淋巴瘤中均表达, 但除外免疫细胞, HSC 和非造血细胞均不表达, 因而其可能作为 T 细胞恶性肿瘤的免疫治疗靶点。T 细胞也表达 CD5, 但有趣的是 Mamonkin 等[44]发现在转染携带 CD5 CAR 病毒后 T 细胞 CD5 表达量会下降, 因而 CD5 CAR-T 细胞仅表现出微弱的互相杀伤现象, 在体外能成功扩增并特异性杀伤急性白血病细胞。还有学者利用 CD5 阴性 NK 细胞构建了 CD5 CAR-NK 细胞, 也对 T-ALL 有强的杀伤作用[45]。目前已有 CD5 CAR-T 治疗 T 细胞淋巴瘤开展。

3.6. CD7

CD7 分子是表达于 T 细胞和 NK 细胞以及它们祖细胞上的跨膜糖蛋白, 作为共刺激分子有辅助 T 细胞活化的作用, 在多数 T 淋巴细胞白血病和淋巴瘤中高表达。有研究发现 CD7 CAR-T 细胞由于正常 T 淋巴细胞表面表达 CD7 会诱导严重的互相杀伤现象, 因而显著抑制 CAR-T 细胞的增殖和细胞活力($p < 0.01$)。但采用 CRISPR/Cas9 技术敲除 CD7 基因或利用 CD7 蛋白表达阻滞剂抑制 CD7 表达后构建的 CAR-T 细胞能够扩增, 且细胞杀伤功能未受影响, 其对 T 淋巴细胞白血病细胞的杀伤效应在体内外实验中均被证实[46] [47]。

3.7. CD3

CD3 分子是 T 细胞的表面标志, 广泛表达于 T 细胞恶性肿瘤, 有学者利用 NK92 细胞系构建了 CD3 CAR-NK92 细胞, 证实了其对 CD3 阳性白血病细胞及淋巴瘤细胞的杀伤作用, 并在小鼠模型中表现出抗肿瘤效应。虽然 CD3 CAR-NK92 细胞会杀伤正常 T 细胞, 但可以应用于某些 T 细胞肿瘤患者的过渡治疗, 有可能使这些患者达到造血干细胞移植的条件[48]。

3.8. 受体酪氨酸激酶样孤儿受体 1 (The Receptor Tyrosine Kinase-Like Orphan Receptor 1, ROR1)

ROR1 分子属于受体酪氨酸激酶家族成员, 在包括急慢性淋巴细胞白血病的多种 B 细胞恶性肿瘤中表达, 正常 B 细胞不表达。Hudecek 等[49]证实了 ROR1 CAR-T 细胞能特异性杀伤 ROR1 阳性肿瘤细胞, 而对正常 B 细胞无作用。此外, 他们还发现 CAR 的胞外间隔序列长度以及单链可变片段的亲和力会影响 CAR-T 细胞的杀伤能力[50]。由于 ROR1 在人类和猕猴中具有高度的同源性, Berger 等[51]利用猕猴模型初步证实了 ROR1 CAR-T 细胞在灵长类动物中的安全性。

3.9. 趋化因子受体 4 (C-C Chemokine Receptor 4, CCR4)

趋化因子受体 4 是 G 蛋白偶联受体家族成员之一, 在多种 T 细胞血液肿瘤尤其是成人 T 细胞白血病中过表达, 继 CCR4 单克隆抗体的抗白血病作用被证实后, 有研究者构建了 CCR4 CAR-T 细胞, 其对成人 T 细胞白血病细胞等多种 CCR4 阳性肿瘤细胞表现出杀伤作用[52]。

3.10. 胸腺基质淋巴生成素受体(Thymic Stromal Lymphopoietin Receptor, TSLPR)

TSLPR 分子由 CRLF2 基因编码, 与相应配体结合后参与淋巴细胞增殖调控, 某些 B-ALL 患者由于 CRLF2 基因突变致使 TSLPR 过表达, 并导致复发的高风险, 因而 TSLPR 有可能作为这部分患者的理想治疗靶点。Qin 等[53]证实了 TSLPR CAR-T 细胞对 TSLPR 过表达白血病细胞的杀伤作用, 并发现其在小鼠模型中的抗肿瘤作用与 CAR-T 细胞的结构有关。

3.11. 免疫球蛋白 IgM Fc 段受体(Immunoglobulin M Fc Receptor, FcμR)

FcμR 也被称为 Fas 凋亡抑制分子 3, 表达于造血和淋巴组织, 在 CLL 中高表达, Faitschuk 等[54]发现与正常 B 细胞相比, CLL 细胞 FcμR 的表达水平显著升高($p < 0.01$), FcμR CAR-T 细胞能特异性杀伤 CLL 细胞, 而对正常 B 细胞几乎无作用, 提示 FcμR 有可能作为 CLL 的免疫治疗靶点。

3.12. CD4

CD4 分子在多数 T 细胞淋巴瘤和 T-ALL 中均表达, Pinz 等[55]利用 CD8 阳性 T 细胞构建了 CD4 CAR-T 细胞, 并证实了其对 T 细胞血液肿瘤中 CD4 阳性 T 细胞的特异性杀伤作用。尽管 CD4 CAR-T 细胞会杀伤正常 CD4 阳性 T 淋巴细胞, 但有可能应用于微小残留病变的清除, 并与后续造血干细胞移植联合治疗。

3.13. κ 轻链(K Light Chains)

尽管 CAR-T 细胞在 B 细胞血液肿瘤的治疗上取得了显著疗效, 但 CAR-T 细胞也存在多种毒副作用, 例如脱靶效应, 正常 B 细胞由于表达 CD19、CD20 等分子而受到 CAR-T 细胞的攻击, 导致体液免疫受损增加感染概率。由于 B 细胞血液肿瘤存在免疫球蛋白轻链限制, 即只表达 κ 链或 λ 链中的一种, 因而靶向肿瘤细胞轻链的 CAR-T 细胞不会攻击表达另一种轻链的正常 B 细胞。有学者证实了靶向 κ 轻链的 CAR-T 细胞(κ -CAR)对 B 系肿瘤细胞的杀伤性, 随后他们开展了 κ -CAR 细胞的临床试验, 初步证实了 κ -CAR 细胞的安全性和有效性[56] [57]。

4. 小结与展望

理想的 CAR-T 细胞治疗靶点是在白血病细胞或 LSC 上高表达, 而在正常组织细胞中不表达, 并且是白血病细胞维持其功能所必需的分子, 从而有效避免肿瘤逃逸。但目前大部分免疫治疗靶点不具备肿瘤特异性, 在正常组织细胞中都有不同水平的表达, 这往往会导致脱靶效应, 产生较大毒副作用。因此如何提高这些靶点的临床应用安全性以及寻找新的治疗靶点仍是目前白血病免疫治疗的研究重点。在提高 CAR-T 治疗的有效性和安全性方面, 研究者也在不断尝试新的联合方案, 如基因编辑技术改造结构, 通用型 CAR-T 的开发, 与其他抗肿瘤药物的联合应用, 改善实体瘤中的肿瘤微环境, 相信不久的将来, 通过更多针对不同靶点的 CAR-T 的基础研究与临床实验的开展, 会有更多特异性更强的治疗靶点被发现, 给白血病治愈带来希望。

参考文献

- [1] Peinert, S., Prince, H.M., Guru, P.M., *et al.* (2010) Gene-Modified T Cells as Immunotherapy for Multiple Myeloma and Acute Myeloid Leukemia Expressing the Lewis Y Antigen. *Gene Therapy*, **17**, 678-686. <https://doi.org/10.1038/gt.2010.21>
- [2] Ritchie, D.S., Neeson, P.J., Khot, A., *et al.* (2013) Persistence and Efficacy of Second-Generation CAR T Cell against the LeY Antigen in Acute Myeloid Leukemia. *Molecular Therapy*, **21**, 2122-2129. <https://doi.org/10.1038/mt.2013.154>
- [3] Mcmillan, S.J. and Crocker, P.R. (2008) CD33-Related Sialic-Acid-Binding Immunoglobulin-Like Lectins in Health

- and Disease. *Carbohydrate Research*, **343**, 2050-2056. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2008.01.009>
- [4] Dutour, A., Marin, V., Pizzitola, I., *et al.* (2012) *In Vitro* and *In Vivo* Antitumor Effect of Anti-CD33 Chimeric Receptor-Expressing EBV-CTL against CD33 Acute Myeloid Leukemia. *Advances in Hematology*, **2012**, Article ID: 683065. <https://doi.org/10.1155/2012/683065>
- [5] Wang, Q., Wang, Y., Lv, H., *et al.* (2015) Treatment of CD33-Directed Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells in One Patient with Relapsed and Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Molecular Therapy*, **23**, 184-191. <https://doi.org/10.1038/mt.2014.164>
- [6] Minagawa, K., Jamil, M.O., Al-Obaidi, M., *et al.* (2016) *In Vitro* Pre-Clinical Validation of Suicide Gene Modified Anti-CD33 Redirected Chimeric Antigen Receptor T-Cells for Acute Myeloid Leukemia. *PLoS ONE*, **11**, e166891. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0166891>
- [7] Jordan, C.T., Upchurch, D., Szilvassy, S.J., *et al.* (2000) The Interleukin-3 Receptor Alpha Chain Is a Unique Marker for Human Acute Myelogenous Leukemia Stem Cells. *Leukemia*, **14**, 1777-1784. <https://doi.org/10.1038/sj.leu.2401903>
- [8] Mardiros, A., Dos, S.C., McDonald, T., *et al.* (2013) T Cells Expressing CD123-Specific Chimeric Antigen Receptors Exhibit Specific Cytolytic Effector Functions and Antitumor Effects against human Acute Myeloid Leukemia. *Blood*, **122**, 3138-3148. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-12-474056>
- [9] Keyhani, A., Huh, Y.O., Jendiroba, D., *et al.* (2000) Increased CD38 Expression Is Associated with Favorable Prognosis in Adult Acute Leukemia. *Leukemia Research*, **24**, 153-159. [https://doi.org/10.1016/S0145-2126\(99\)00147-2](https://doi.org/10.1016/S0145-2126(99)00147-2)
- [10] Yoshida, T., Mihara, K., Takei, Y., *et al.* (2016) All-Trans Retinoic Acid Enhances Cytotoxic Effect of T Cells with an Anti-CD38 Chimeric Antigen Receptor in Acute Myeloid Leukemia. *Clinical & Translational Immunology*, **5**, e116. <https://doi.org/10.1038/cti.2016.73>
- [11] Legras, S., Gunthert, U., Stauder, R., *et al.* (1998) A Strong Expression of CD44-6v Correlates with Shorter Survival of Patients with Acute Myeloid Leukemia. *Blood*, **91**, 3401-3413. <https://doi.org/10.1182/blood.V91.9.3401>
- [12] Casucci, M., Nicolis Di Robilant, B., Falcone, L., *et al.* (2013) CD44v6-Targeted T Cells Mediate Potent Antitumor Effects against Acute Myeloid Leukemia and Multiple Myeloma. *Blood*, **122**, 3461-3472. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-04-493361>
- [13] Wang, H., Kaur, G., Sankin, A.I., Chen, F., Guan, F. and Zang, X. (2019) Immune Checkpoint Blockade and CAR-T Cell Therapy in Hematologic Malignancies. *Journal of Hematology & Oncology*, **12**, 59. <https://doi.org/10.1186/s13045-019-0746-1>
- [14] Kaufmann, Y., Amariglio, N., Rosenthal, E., Hirsch, Y.J., Many, A. and Rechavi, G. (2005) Proliferation Response of Leukemic Cells to CD70 Ligation Oscillates with Recurrent Remission and Relapse in a Low-Grade Lymphoma. *The Journal of Immunology*, **175**, 6940-6947. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.175.10.6940>
- [15] Sauer, T., Parikh, K., Sharma, S., Omer, B., Sedloev, D., Chen, Q., Angenendt, L., Schliemann, C., Schmitt, M., Müller-Tidow, C., Gottschalk, S. and Rooney, C.M. (2021) CD70-Specific CAR T Cells Have Potent Activity against Acute Myeloid Leukemia without HSC Toxicity. *Blood*, **138**, 318-330. <https://doi.org/10.1182/blood.2020008221>
- [16] Salih, H.R., Antropius, H., Gieseke, F., *et al.* (2003) Functional Expression and Release of Ligands for the Activating Immunoreceptor NKG2D in Leukemia. *Blood*, **102**, 1389-1396. <https://doi.org/10.1182/blood-2003-01-0019>
- [17] Murad, J. (2016) Safety Data from a First-in-Human Phase 1 Trial of NKG2D Chimeric Antigen Receptor-T Cells in AML/MDS and Multiple Myeloma.
- [18] Pan, X.Q., Zheng, X., Shi, G., *et al.* (2002) Strategy for the Treatment of Acute Myelogenous Leukemia Based on Folate Receptor Beta-Targeted Liposomal Doxorubicin Combined with Receptor Induction Using All-Trans Retinoic Acid. *Blood*, **100**, 594-602. <https://doi.org/10.1182/blood.V100.2.594>
- [19] Wang, H., Zheng, X., Behm, F.G., *et al.* (2000) Differentiation-Independent Retinoid Induction of Folate Receptor Type Beta, a Potential Tumor Target in Myeloid Leukemia. *Blood*, **96**, 3529-3536. <https://doi.org/10.1182/blood.V96.10.3529>
- [20] Lynn, R.C., Poussin, M., Kalota, A., *et al.* (2015) Targeting of Folate Receptor Beta on Acute Myeloid Leukemia Blasts with Chimeric Antigen Receptor-Expressing T Cells. *Blood*, **125**, 3466-3476. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-612721>
- [21] Lynn, R.C., Feng, Y., Schutsky, K., *et al.* (2016) High-Affinity FRbeta-Specific CAR T Cells Eradicate AML and Normal Myeloid Lineage without HSC Toxicity. *Leukemia*, **30**, 1355-1364. <https://doi.org/10.1038/leu.2016.35>
- [22] Chen, L., Mao, H., Zhang, J., *et al.* (2017) Targeting FLT3 by Chimeric Antigen Receptor T Cells for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Leukemia*, **31**, 1830-1834. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.147>
- [23] Kiyoi, H., Ohno, R., Ueda, R., *et al.* (2002) Mechanism of Constitutive Activation of FLT3 with Internal Tandem Duplication in the Juxtamembrane Domain. *Oncogene*, **21**, 2555-2563. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205332>

- [24] Marofi, F., Rahman, H.S., Al-Obaidi, Z.M.J., Jalil, A.T., Abdelbasset, W.K., Suksatan, W., Dorofeev, A.E., Shomali, N., Chartrand, M.S., Pathak, Y., Hassanzadeh, A., Baradaran, B., Ahmadi, M., Saeedi, H., Tahmasebi, S. and Jarahian, M. (2021) Novel CAR T Therapy Is a Ray of Hope in the Treatment of Seriously Ill AML Patients. *Stem Cell Research & Therapy*, **12**, 465. <https://doi.org/10.1186/s13287-021-02420-8>
- [25] Laborda, E., Mazagova, M., Shao, S., et al. (2017) Development of A Chimeric Antigen Receptor Targeting C-Type Lectin-Like Molecule-1 for Human Acute Myeloid Leukemia. *International Journal of Molecular Sciences*, **18**, 2259. <https://doi.org/10.3390/ijms18112259>
- [26] Zhang, H., Wang, P., Li, Z., He, Y., Gan, W. and Jiang, H. (2021) Anti-CLL1 Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy in Children with Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia. *Clinical Cancer Research*, **27**, 3549-3555. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4543>
- [27] Nakazawa, Y., Matsuda, K., Kurata, T., et al. (2016) Anti-Proliferative Effects of T Cells Expressing a Ligand-Based Chimeric Antigen Receptor against CD116 on CD34+ Cells of Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *Journal of Hematology & Oncology*, **9**, 27. <https://doi.org/10.1186/s13045-016-0256-3>
- [28] Lee, W.S., Ye, Z., Cheung, A.M.S., Goh, Y.P.S., Oh, H.L.J., Rajarethinam, R., Ye, S.P., Soh, M.K., Chan, E.H.L., Tan, L.K., Tan, S.Y., Chuah, C., Chng, W.J., Connolly, J.E. and Wang, C.I. (2021) Effective Killing of Acute Myeloid Leukemia by TIM-3 Targeted Chimeric Antigen Receptor T Cells. *Molecular Cancer Therapeutics*, **20**, 1702-1712. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-20-0155>
- [29] He, X., Feng, Z., Ma, J., Ling, S., Cao, Y., Gurung, B., Wu, Y., Katona, B.W., O'Dwyer, K.P., Siegel, D.L., June, C.H. and Hua, X. (2020) Bispecific and Split CAR T Cells Targeting CD13 and TIM3 Eradicate Acute Myeloid Leukemia. *Blood*, **135**, 713-723. <https://doi.org/10.1182/blood.2019002779>
- [30] Uckun, F.M., Jaszcz, W., Ambrus, J.L., et al. (1988) Detailed Studies on Expression and Function of CD19 Surface Determinant by Using B43 Monoclonal Antibody and the Clinical Potential of Anti-CD19 Immunotoxins. *Blood*, **71**, 13-29. <https://doi.org/10.1182/blood.V71.1.13.13>
- [31] Brentjens, R.J., Latouche, J., Santos, E., et al. (2003) Eradication of Systemic B-Cell Tumors by Genetically Targeted Human T Lymphocytes Co-Stimulated by CD80 and Interleukin-15. *Nature Medicine*, **9**, 279-286. <https://doi.org/10.1038/nm827>
- [32] Cooper, L.J.N., Topp, M.S., Serrano, L.M., et al. (2003) T-Cell Clones Can Be Rendered Specific for CD19: Toward the Selective Augmentation of the Graft-versus-B-Lineage Leukemia Effect. *Blood*, **101**, 1637-1644. <https://doi.org/10.1182/blood-2002-07-1989>
- [33] Kochenderfer, J.N., Feldman, S.A., Zhao, Y., et al. (2009) Construction and Preclinical Evaluation of an anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor. *Journal of Immunotherapy (Hagerstown, Md.: 1997)*, **32**, 689-702. <https://doi.org/10.1097/CJI.0b013e3181ac6138>
- [34] Maude, S.L., Teachey, D.T., Porter, D.L., et al. (2015) CD19-Targeted Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*, **125**, 4017-4023. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-12-580068>
- [35] Huh, Y.O., Keating, M.J., Saffer, H.L., et al. (2001) Higher Levels of Surface CD20 Expression on Circulating Lymphocytes Compared with Bone Marrow and Lymph Nodes in B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia. *American Journal of Clinical Pathology*, **116**, 437-443. <https://doi.org/10.1309/438N-E0FH-A5PR-XCAC>
- [36] Borowitz, M.J., Shuster, J., Carroll, A.J., et al. (1997) Prognostic Significance of Fluorescence Intensity of Surface Marker Expression in Childhood B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. A Pediatric Oncology Group Study. *Blood*, **89**, 3960-3966. <https://doi.org/10.1182/blood.V89.11.3960>
- [37] Thomas, D.A., O'Brien, S., Jorgensen, J.L., et al. (2009) Prognostic Significance of CD20 Expression in Adults with *De Novo* Precursor B-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*, **113**, 6330-6337. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-151860>
- [38] Butler, L.A., Tam, C.S. and Seymour, J.F. (2017) Dancing Partners at the Ball: Rational Selection of Next Generation Anti-CD20 Antibodies for Combination Therapy of Chronic Lymphocytic Leukemia in the Novel Agents Era. *Blood Reviews*, **31**, 318-327. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2017.05.002>
- [39] Watanabe, K., Terakura, S., Martens, A.C., et al. (2015) Target Antigen Density Governs the Efficacy of Anti-CD20-CD28-CD3 Zeta Chimeric Antigen Receptor-Modified Effector CD8+ T Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, **194**, 911-920. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1402346>
- [40] Mussai, F., Campana, D., Bhojwani, D., et al. (2010) Cytotoxicity of the Anti-CD22 Immunotoxin HA22 (CAT-8015) against Paediatric Acute Lymphoblastic Leukaemia. *British Journal of Haematology*, **150**, 352-358. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08251.x>
- [41] Haso, W., Lee, D.W., Shah, N.N., et al. (2013) Anti-CD22-Chimeric Antigen Receptors Targeting B-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood*, **121**, 1165-1174. <https://doi.org/10.1182/blood-2012-06-438002>
- [42] Fry, T.J., Shah, N.N., Orentas, R.J., et al. (2017) CD22-Targeted CAR T Cells Induce Remission in B-ALL That Is

- Naive or Resistant to CD19-Targeted CAR Immunotherapy. *Nature Medicine*, **24**, 20-28. <https://doi.org/10.1038/nm.4441>
- [43] Giordano Attianese, G.M.P., Marin, V., Hoyos, V., *et al.* (2011) *In Vitro* and *in Vivo* Model of a Novel Immunotherapy Approach for Chronic Lymphocytic Leukemia by Anti-CD23 Chimeric Antigen Receptor. *Blood*, **117**, 4736-4745. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-311845>
- [44] Mamonkin, M., Rouce, R.H., Tashiro, H., *et al.* (2015) A T-Cell-Directed Chimeric Antigen Receptor for the Selective Treatment of T-Cell Malignancies. *Blood*, **126**, 983-992. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-02-629527>
- [45] Chen, K.H., Wada, M., Pinz, K.G., *et al.* (2017) Preclinical Targeting of Aggressive T-Cell Malignancies Using Anti-CD5 Chimeric Antigen Receptor. *Leukemia*, **31**, 2151-2160. <https://doi.org/10.1038/leu.2017.8>
- [46] Gomes-Silva, D., Srinivasan, M., Sharma, S., *et al.* (2017) CD7-Edited T Cells Expressing a CD7-Specific CAR for the Therapy of T-Cell Malignancies. *Blood*, **130**, 285-296. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-01-761320>
- [47] Png, Y.T., Vinanica, N., Kamiya, T., *et al.* (2017) Blockade of CD7 Expression in T Cells for Effective Chimeric Antigen Receptor Targeting of T-Cell Malignancies. *Blood Advances*, **1**, 2348-2360. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017009928>
- [48] Chen, K.H., Wada, M., Firor, A.E., *et al.* (2016) Novel Anti-CD3 Chimeric Antigen Receptor Targeting of Aggressive T Cell Malignancies. *Oncotarget*, **7**, 56219-56232. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11019>
- [49] Hudecek, M., Schmitt, T.M., Baskar, S., *et al.* (2010) The B-Cell Tumor-Associated Antigen ROR1 Can Be Targeted with T Cells Modified to Express a ROR1-Specific Chimeric Antigen Receptor. *Blood*, **116**, 4532-4541. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-05-283309>
- [50] Hudecek, M., Lupo-Stanghellini, M., Kosasih, P.L., *et al.* (2013) Receptor Affinity and Extracellular Domain Modifications Affect Tumor Recognition by ROR1-Specific Chimeric Antigen Receptor T Cells. *Clinical Cancer Research*, **19**, 3153-3164. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0330>
- [51] Berger, C., Sommermeyer, D., Hudecek, M., *et al.* (2015) Safety of Targeting ROR1 in Primates with Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells. *Cancer Immunology Research*, **3**, 206-216. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0163>
- [52] Perera, L.P., Zhang, M., Nakagawa, M., *et al.* (2017) Chimeric Antigen Receptor Modified T Cells That Target Chemokine Receptor CCR4 as a Therapeutic Modality for T-Cell Malignancies. *American Journal of Hematology*, **92**, 892-901. <https://doi.org/10.1002/ajh.24794>
- [53] Qin, H., Cho, M., Haso, W., *et al.* (2015) Eradication of B-ALL Using Chimeric Antigen Receptor-Expressing T Cells Targeting the TSLPR Oncoprotein. *Blood*, **126**, 629-639. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-11-612903>
- [54] Faitschuk, E., Hombach, A.A., Frenzel, L.P., *et al.* (2016) Chimeric Antigen Receptor T Cells Targeting Fc mu Receptor Selectively Eliminate CLL Cells While Sparing Healthy B Cells. *Blood*, **128**, 1711-1722. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-692046>
- [55] Pinz, K., Liu, H., Golightly, M., *et al.* (2016) Preclinical Targeting of Human T-Cell Malignancies Using CD4-Specific Chimeric Antigen Receptor (CAR)-Engineered T Cells. *Leukemia*, **30**, 701-707. <https://doi.org/10.1038/leu.2015.311>
- [56] Vera, J., Savoldo, B., Vigouroux, S., *et al.* (2006) T Lymphocytes Redirected against the Kappa Light Chain of Human Immunoglobulin Efficiently Kill Mature B Lymphocyte-Derived Malignant Cells. *Blood*, **108**, 3890-3897. <https://doi.org/10.1182/blood-2006-04-017061>
- [57] Ramos, C.A., Savoldo, B., Torrano, V., *et al.* (2016) Clinical Responses with T Lymphocytes Targeting Malignancy-Associated Kappa Light Chains. *The Journal of Clinical Investigation*, **126**, 2588-2596. <https://doi.org/10.1172/JCI86000>