doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2026.25.0749

• 综 述 •

CAR-NK疗法在急性髓系白血病中的应用研究进展

苏帅，肖毅

Research Advances in Application of CAR-NK Therapy for Acute Myeloid Leukemia

SU Shuai, XIAO Yi

Department of Hematology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Corresponding Author: XIAO Yi, E-mail: yixiao@tjh.tjmu.edu.cn

Abstract: Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy for B-cell hematologic malignancies has achieved breakthrough success; however, its efficacy for acute myeloid leukemia (AML) is constrained by the lack of highly specific tumor antigens and the expression of shared targets on normal hematopoietic stem/progenitor cells, increasing the risk of on-target myelosuppression and cytokine release syndrome (CRS). By contrast, CAR-NK cell therapy, an emerging strategy that leverages the innate antitumor activity of natural killer cells, is associated with low rates of CRS and graft-versus-host disease. Early clinical studies also indicate its favorable safety profile with preliminary antileukemic activity. This review summarizes recent advances in CAR-NK therapy for AML and discusses future directions and potential avenues for clinical translation.

Key words: Acute myeloid leukemia; Natural killer cell; Immunotherapy; CAR-NK

Funding: National Natural Science Foundation of China (Nos. 81873444, 82070213, 82370196)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘 要：嵌合抗原受体T细胞（CAR-T）免疫疗法在B系血液系统肿瘤中已取得突破性进展，然而在急性髓系白血病（AML）中，因缺乏高度特异的肿瘤抗原，且部分靶点在正常造血干/祖细胞上同样表达，其疗效与可控性受限，因此可能出现显著的骨髓抑制及细胞因子释放综合征（CRS）等不良反应。相较之下，CAR-NK细胞免疫疗法作为一种新兴策略，依托NK细胞的天然抗肿瘤活性，表现出较低的CRS与移植物抗宿主病（GVHD）风险，早期临床研究亦提示其具有良好的安全性与抗肿瘤活性。本文聚焦CAR-NK疗法在AML治疗中的最新进展，并对未来发展趋势与潜在突破方向加以展望。

关键词：急性髓系白血病；自然杀伤细胞；免疫治疗；CAR-NK

中图分类号：R733.71

0 引言

急性髓系白血病（Acute myeloid leukemia, AML）是一类高度异质、侵袭性强的造血系统恶性肿瘤，经传统治疗后仍面临高复发率与耐药性。近年来，免疫治疗在血液肿瘤中取得突破，尤其是嵌合抗原受体T细胞（Chimeric antigen receptor T cell, CAR-T）在B系血液系统肿瘤中疗效显著。然而在AML中，CAR-T疗效受限：其一，缺乏高度特异的肿瘤抗原；其二，多个靶点在正常造血干/祖细胞上亦有表达，导致非肿瘤靶向毒性，可能引发致命性骨髓衰竭。同时，CAR-T治疗常伴随严重的细胞因子释放综合征（Cytokine release syndrome, CRS）和免疫效应细胞相关神经毒性综合征（Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS），限制其在老年AML患者中的应用[1-2]。相较之下，CAR修饰的自然杀伤（Natural killer, NK）细胞疗法作为新兴手段，有望克服上述难题。NK细胞属于先天免疫淋巴细胞，具备良好的安全性，且可在缺乏抗原递呈的情况下识别并清除靶细胞，可用于同种异体“现货化”治疗而不引发移植物抗宿主病（Graft-versus-host disease, GVHD）。基于这些优势，嵌合抗原受体—自然杀伤（Chimeric antigen receptor natural killer, CAR-NK）细胞疗法有望在维持抗白血病活性的同时降低严重毒性风险，为AML患者提供新的治疗策略。

收稿日期：2025-09-24；**修回日期**：2025-11-16

基金项目：国家自然科学基金（81873444，82070213，82370196）

作者单位：430030 武汉，华中科技大学同济医学院附属同济医院血液科

通信作者：肖毅，男，博士，主任医师，主要从事血液病的基础与临床研究，E-mail: yixiao@tjh.tjmu.edu.cn，ORCID: 0000-0001-7274-6774

作者简介：苏帅，男，博士在读，主要从事血液病的基础与临床研究，ORCID: 0009-0000-3280-4036

1　CAR-NK细胞及其与AML的相互作用

CAR-NK细胞是通过基因工程将肿瘤特异性识别结构导入NK细胞而获得的过继性免疫效应细胞，兼具双重打击能力：既依赖CAR介导的特异识别进行精准杀伤，又可凭固有受体应对抗原丢失的白血病克隆。CAR-NK细胞来源多样，主要包括外周血NK细胞、脐带血NK细胞、NK细胞系以及诱导多能干细胞（Induced pluripotent stem cell, iPSC）来源的NK细胞等。外周血NK细胞通常通过健康供者行白细胞单采术获取，并经体外激活与扩增；脐带血NK细胞来源丰富且免疫原性低，已用于开发“现货化”CAR-NK产品[3]。总体而言，外周血与脐血NK细胞作为原代细胞，杀伤活性强但批次间差异较大；NK细胞系与iPSC-NK标准化程度高、便于工程改造，但仍需进一步优化免疫原性与体内持久性。

AML患者的骨髓微环境中富集多种免疫抑制细胞及其分泌的抑制性细胞因子，而白血病细胞可表达PD-L1、HLA-E等分子，使体内T/NK细胞长期处于功能受限甚至耗竭状态[4]。免疫抑制微环境、患者高龄及多合并症、靶抗原表达高度异质以及体内T细胞数量和功能受损等因素，共同构成了细胞免疫治疗在AML中应用的主要障碍。CAR-NK可采用健康供者来源并预先制备为“现货化”制剂，在很大程度上不依赖于患者自身免疫细胞的数量和质量，有利于在疾病快速进展时及时实施细胞治疗。NK细胞对HLA-I低表达或缺失的靶细胞高度敏感，CAR-NK细胞通过CAR识别CD33、CD123等髓系相关抗原的同时，仍保留固有激活受体对配体的识别能力，在AML抗原高度异质、部分克隆下调靶抗原或发生抗原逃逸的情况下，有望提高对白血病克隆的覆盖度，降低复发风险。综上所述，CAR-NK细胞的安全性、“现货化”特征以及固有抗肿瘤活性，为其在免疫抑制的AML骨髓微环境中发挥持续抗白血病效应提供了生物学基础。

2　CAR-NK治疗AML的主要靶点研究

在AML的CAR-NK治疗中，选择合适的肿瘤相关抗原（Tumor-associated antigen, TAA）作为靶点是成功的关键。当前临床探索较多的AML靶点包括CD33、CD123、CLL-1、NKG2D配体和CD70，以及一些新兴候选靶点如TIM3、FLT3、CD38、CD7等。表1总结了不同靶点CAR-NK治疗AML的临床试验。

2.1　CD33

CD33（Siglec-3）是AML最经典的靶点之一，它是一种髓系表面抗原，属于免疫球蛋白超家族，在约85%初诊AML患者的白血病细胞上高表达。临床上，靶向CD33单抗偶联药物（如Gemtuzumab Ozogamicin）已被用于AML治疗。然而，CD33亦在正常髓系祖细胞和单核/巨噬细胞上低表达，因而针对CD33的CAR-T曾出现严重的骨髓抑制毒性[8]。相比之下，基于CAR-NK细胞持久性较弱与早期临床观察，对正常造血的杀伤较为温和。2018年Tang等开展了全球首例CAR-NK细胞临床试验（NCT02944162），将NK-92细胞经慢病毒转导表达抗CD33 CAR并回输至复发难治AML（Relapsed/refractory AML, R/R AML）患者，以评估安全性，输注总体可行且未见严重不良反应，但部分患者未见明显缓解，提示NK-92来源CAR-NK细胞在体内增殖和持续杀伤有限[5]。近年来，国内团队构建了优化的抗CD33 CAR并将其转导至脐带血来源NK细胞，开展了一项Ⅰ期临床试验（NCT05008575），结果显示在10例R/R AML患者中，单次或多次输注CAR-NK细胞后28天有6例（60%）达到微小残留病（Minimal residual disease, MRD）阴性的完全缓解（Complete remission, CR），且除1例出现一过性2级CRS外，无3级以上CRS及任何级别的ICANS发生。出现3~4级骨髓抑制的患者均在1个月内自行恢复，无患者发生GVHD，表明CAR-NK细胞在确保安全性的同时展现了一定的抗白血病活性。虽然多数缓解在1个月内出现，但持续时间有限，除1例桥接移植的患者在随访第258天时仍保持CR，其余缓解患者均于2~4个月后复发，中位无进展生存期仅71.5天。这提示CAR-NK细胞治疗清除白血病细胞后，后续仍需要巩固治疗（如移植或再次细胞治疗）[6]。另一个重要进展是MD Anderson癌症中心开发的“现货化”CD33 CAR-NK产品，采用健康供者的外周血NK细胞或脐带血NK，经基因修饰表达抗CD33-CAR及膜结合型IL-15（membrane-bound IL-15, mbIL-15），从而增强体内持久性，目前一项Ⅰ/Ⅱ期试验正在评估这种CAR-NK细胞在R/R AML中的安全性和有效性（NCT07026942）。

总体而言，CD33作为AML靶点具有广谱优势，多数AML细胞高表达，适于快速降低白血病负荷，但也存在明显挑战：一方面为非肿瘤靶向毒性，即对正常髓系祖细胞的作用会引起骨髓抑制，但通常是可逆的。目前有研究设计了更复杂的“逻辑门控”CAR-NK电路：同时表达识别CD33和FLT3的激活性CAR，以及识别正常造血干细胞标志物，如内皮

表 1 CAR-NK在AML中的临床研究

Table 1 Clinical studies on CAR-NK therapy for AML

Target	Location	Clinical trials (status)	Phase	Disease	Patients (*n*)	Clinical outcomes	Adverse events
CD33	China (Jiangsu)	NCT02944162 (unknown)	Ⅰ/Ⅱ	R/R AML	3[5]	One CRs Two NRs	Three grade 1 CRSs
CD33	China (Chongqing)	NCT05008575 (unknown)	Ⅰ	R/R AML	10[6]	60% CR with MRD negativity	One grade 2 CRSs with bone marrow suppression
CD33	USA (Ohio)	NCT07026942 (not yet recruiting)	Ⅰ/Ⅱ	R/R AML	42 (estimated)	-	-
CD33/FLT3	USA and Australia	NCT06325748 (recruiting)	Ⅰ	R/R AML	21 (estimated)	-	-
CD33/CLL1	China (Jiangsu)	NCT05215015 (Unknown)	Ⅰ	R/R AML	18 (estimated)	-	-
CD33/CLL1	China (Tianjin)	NCT05987696 (not yet recruiting)	Ⅰ	R/R AML	102 (estimated)	-	-
CD33/CLL1	China (Zhejiang)	NCT06367673 (recruiting)	Ⅰ	R/R AML	24 (estimated)	-	-
CD123	China (Beijing)	NCT05574608 (unknown)	Ⅰ	R/R AML	12 (estimated)	-	-
CD123	China (Shanxi)	NCT06006403 (recruiting)	Ⅰ/Ⅱ	R/R AML and BPDCN	36 (estimated)	-	-
CD123	China (Beijing)	NCT06201247 (recruiting)	Ⅰ	R/R AML	12 (estimated)		
CD123	China (Hubei)	NCT06690827 (recruiting)	Ⅰ/Ⅱ	R/R AML and BPDCN	30 (estimated)	-	-
CLL1	China (Shanghai)	NCT06307054 (recruiting)	Ⅰ	R/R AML	24 (estimated)	-	-
CLL1	China (Zhejiang)	NCT06027853 (recruiting)	Ⅰ	R/R AML	24 (estimated)	-	-
NKG2D ligands	The USA	NCT04623944 (active, not recruiting)	Ⅰ	R/R AML and MDS	6[7]	Four CRs/CRis	No CRS or ICANS with bone marrow suppression
NKG2D ligands	China (Hebei)	NCT05247957 (terminated)	Not applicable	R/R AML	Not available	-	-
NKG2D ligands	China (Zhejiang)	NCT05734898 (unknown)	Not applicable	R/R AML	30 (estimated)	-	-
CD70	China (Zhejiang)	NCT06696846 (not yet recruiting)	Ⅰ	R/R AML and T cell lymphoma	25 (estimated)	-	-
CD70	The USA (Texas)	NCT05092451 (recruiting)	Ⅰ/Ⅱ	R/R hematological malignancies	80 (estimated)	-	-

Notes: R/R: relapsed/refractory; AML: acute myeloid leukemia; BPDCN: blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm; MDS: myelodysplastic syndromes; CR: complete remission; NR: no response; MRD: minimal residual disease; CRi: CR with incomplete hematologic recovery; CRS: cytokine release syndrome; ICANS: immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome. -: indicates no public available data.

黏蛋白的抑制性CAR，从而在AML细胞上触发杀伤信号，而在正常造血细胞上触发抑制信号，最大限度减少对正常造血细胞的损伤。前临床结果显示，这种“逻辑门控”基因电路的CAR-NK细胞在小鼠中能高效清除白血病细胞（>90%杀伤），并保护约42%的正常造血干细胞存活[9]，相关Ⅰ期临床试验（NCT06325748）处于招募阶段。另一方面，部分患者在治疗压力下可能出现CD33阴性的白血病克隆，导致复发。因此在缓解后应尽早进行造血干细胞移植以重建造血，并开发多靶点联合CAR-NK治疗策略。例如，将CD33与另一白血病相关抗原（如CLL-1或FLT3）同时作为靶点，以防止肿瘤因抗原逃逸而复发。最新研究已探索了CD33和CLL-1双靶点CAR-NK细胞治疗AML的可行性，并在早期

试验中进行验证（NCT05215015、NCT05987696、NCT06367673）。综上，抗CD33 CAR-NK疗法在AML中已取得初步疗效，并以安全性见长，但需通过多靶点和基因工程优化来克服抗原逃逸和造血抑制方面的局限。

2.2　CD123

CD123为白细胞介素-3受体α链，在AML细胞，尤其是白血病干细胞（Leukemia stem cell, LSC）中高表达。研究显示，几乎所有AML患者的LSC及多数白血病细胞均表达CD123，而正常造血干细胞仅低水平表达[10]。更有研究发现，LSC上CD123高表达往往预示对化疗耐药和预后不良[11]。目前针对CD123的CAR-T在全球有多项Ⅰ期临床试验进行中（如NCT04230265、NCT03766126等），但尚无产品获批。主要顾虑在于安全性：CD123在正常骨髓造血和内皮细胞上有一定表达，CAR-T大量增殖后可能攻击正常造血及血管内皮，导致严重毒性[12]。意大利学者Quintarelli等报道了以健康供者外周血NK细胞制造的CAR-CD123 NK细胞，并系统比较了其与CAR-CD123 T细胞的安全性差异。在体外和小鼠AML模型中，CAR-CD123 NK表现出显著的抗白血病活性，清除AML细胞效果与CAR-T相当，但在人源化造血小鼠模型中，给予CAR-CD123 T细胞的小鼠在5天内全部死亡，伴随严重的骨髓细胞毒性，$CD34^{+}CD38^{-}$造血干细胞数量锐减；相反，接受等剂量CAR-CD123 NK细胞的小鼠均存活至实验终点，骨髓中人源造血细胞计数未见明显下降。此外，在人源内皮组织模型中，CAR-CD123 T细胞造成显著的内皮损伤，而CAR-CD123 NK几乎未见内皮毒性[13]。这一系列对比清晰地表明，CAR-NK细胞在靶向CD123时具有更好的安全性。与此同时，CAR-NK细胞仍保持了对$CD123^{+}$白血病细胞的强大杀伤功能。目前，中国也有针对R/R AML的CAR-CD123 NK细胞疗法临床研究登记（如NCT05574608、NCT06006403、NCT062012-47、NCT06690827），正处于招募阶段。另外，有研究通过调节CAR的scFv亲和力来优化抗CD123 CAR-NK细胞的效应作用，降低CAR对抗原的亲和力可以避免对低密度表达CD123的正常细胞产生过度毒性，同时仍能有效识别高密度表达的AML细胞[14]。Christodoulou等研究证实，表达IL-15的CD123 CAR-NK细胞在体内具有更持久的存活和更强的增殖活性，抗白血病效果显著增强[15]。这提示通过在CAR-NK细胞中引入细胞因子自分泌元件（如mbIL-15）可进一步提升其对AML的持续免疫监视能力。

2.3　CLL-1

CLL-1（C型凝集素样分子1）是近年来备受关注的AML靶点。CLL-1在约85%的AML患者白血病细胞上表达，且在LSC上稳定高表达。重要的是，研究发现正常造血干细胞几乎不表达CLL-1[16]。因此，CLL-1被认为是治疗AML、清除LSC而避免长期造血损伤的理想候选。针对CLL-1的CAR-T细胞已经在成人和儿童AML患者中开展早期试验，并报道了较好的耐受性和初步疗效[17-18]。对于CAR-NK细胞治疗领域，已有多项前临床研究聚焦CLL-1。2024年美国血液学会年会上公布的一项研究显示，经过结构优化的CLL-1 CAR-NK整合了细胞因子自分泌模块，能够在AML模型中安全有效地发挥作用。研究构建了分别分泌IL-15或IL-2的CLL-1 CAR-NK，结果发现两者均显著延长AML荷瘤小鼠的生存期，其中又以IL-2支持的CAR-NK疗效更佳。同时，在体内未见对人源造血干细胞的损伤，证明CLL-1靶向具有良好的安全性[19]。目前，多项针对CLL-1的临床试验正在开展（NCT06307054、NCT06027853），旨在同时清除成熟白血病细胞和LSC。CLL-1作为高选择性抗原，有望解决过去靶向治疗中“既杀敌又伤己”的困境。其挑战主要在于需要进一步验证临床有效性，尤其需要评估对LSC的清除深度与复发防治能力。CLL-1无疑是CAR-NK时代AML靶点谱中的最具前景的一个。

2.4　NKG2D配体

NKG2D是一种NK细胞上的主要激活受体，其识别的配体包括MICA、MICB和ULBP1-6等应激诱导分子。正常细胞一般不表达这些配体，而恶性转化或DNA损伤可诱导AML细胞表面高表达，从而成为NK细胞攻击的标志[20]。利用NKG2D受体的胞外段作为CAR识别结构，使改造后的NK细胞能够通过CAR识别并结合所有NKG2D配体，这实际上赋予CAR-NK细胞同时针对多个抗原的能力，对于抗原异质性突出的AML非常有利。同时，由于正常细胞不应激而不表达这些配体，因此不良反应风险较小。Nkarta公司开发的NKX101正是这样的NKG2D CAR-NK产品，使用健康供者外周血NK细胞，经基因改造表达NKG2D-CAR和mbIL-15以及OX40共刺激域，以增强细胞存活与效应功能。NKX101于2020年启动Ⅰ期临床试验（NCT04623944）用于R/R AML和MDS。2023年中期报告显示，在接受NKX101扩展剂量（每周3次，共3周，每次1.5×10^{9}细胞）治疗的6例R/R AML患者中，有4例达到

CR/CRi，占比67%。其中3例还达到了MRD阴性。安全性方面，NKX101未出现剂量限制毒性和治疗相关死亡。大多数3~4级不良事件为血液学毒性，主要是由于淋巴清除化疗所致骨髓抑制[7]，表明NKG2D CAR-NK能够在AML中诱导显著缓解，同时保持良好的安全性。国内也有采用NKG2D CAR-NK的探索。如一项中国Ⅰ期临床试验（NCT05247957）设计评估NKG2D CAR修饰的异体脐带血NK细胞治疗R/R AML，但该研究后续状态显示已终止，并尚未披露相关结果。还有一项Ⅰ期临床试验正在招募中（NCT05734898）。NKG2D配体策略的优势在于广谱打击AML异常细胞，但也有局限，部分AML细胞可能通过下调NKG2D配体或释放可溶性配体来逃逸，另外，NKG2D配体在某些炎性反应环境下可能在健康细胞上诱导表达，产生非靶效应。尽管如此，NKX101的临床推进已进入多次给药和联合疗法的探索阶段，有望成为AML尤其是多抗原阴性的高风险AML患者的有效治疗方案。

2.5 CD70

CD70是肿瘤坏死因子家族配体，正常情况下仅短暂表达于活化的T/B淋巴细胞和树突状细胞，而在绝大多数静息正常细胞中不表达。研究发现，约30%~50%的AML中白血病细胞高表达CD70，尤其在LSC亚群中更为集中[21]。并且，CD70-CD27信号轴被认为在AML中促进LSC的自我更新和疾病进展[22]。针对CD70的CAR-T疗法在临床前模型已显示出较高活性[23]并有Ⅰ期试验开展（如NCT05334352、NCT04662294）。在CAR-NK疗法方面，2023年有研究报道利用iPSC来源的NK细胞，经过CRISPR/Cas9编辑去除自身抑制性受体并引入抗CD70 CAR，所得CAR-NK细胞对$CD70^{+}$AML细胞杀伤作用显著，且体内持久性良好[24]。这表明CD70靶向CAR-NK疗法在AML中具有可行性。目前，CD70 CAR-NK治疗AML的临床试验（NCT06696846、NCT05092451）已经注册，正向临床过渡。当然，需要注意CAR-NK细胞靶向CD70可能带来的潜在问题，例如CD70在活化T细胞上的表达可能导致CAR-NK细胞对正常免疫细胞的暂时性影响，但由于NK本身寿命短，这种影响应是可逆的。有学者设计了“分泌双抗”或“复合靶标”策略，比如CAR-T分泌双特异抗体同时打击CD70和CD33，以防止白血病细胞通过单一抗原阴性逃逸[24]，类似理念也可应用于CAR-NK疗法。总的来说，CD70兼具“肿瘤高表达/正常低表达”与“LSC覆盖”的特征，具有较高生物学选择性。CAR-NK平台凭借起效快、毒性低等特点，有望在CD70靶向场景中实现疗效与安全性的平衡。

2.6 TIM3

TIM3（T细胞免疫球蛋白和黏蛋白3）是T细胞上的耗竭标志物，研究发现AML的LSC亦高表达TIM3，而正常造血干细胞不表达TIM3[25]。因此TIM3近年来被视为AML免疫治疗的潜在靶点。一些抗TIM3单抗（如Sabatolimab）已在髓系疾病的临床试验中显示出一定活性[26]。在CAR策略方面，TIM3常被考虑用于与其他靶点的组合，以扩大对白血病异质性的覆盖。例如，有临床试验（NCT06125652）构建了同时靶向CD123和TIM3的双特异CAR-T细胞，希望一方面针对大部分白血病细胞（CD123），另一方面清除LSC（TIM3），减少AML细胞因抗原阴性而逃逸免疫清除的几率。目前关于TIM3 CAR-NK的报道主要停留在临床前研究阶段，结果显示，在iPSC与NK-92平台上构建的抗TIM3 CAR-NK能选择性清除TIM3高表达的LSC，在体外与小鼠模型中抑制白血病负荷、对正常造血干/祖细胞影响较小，具备“现货化”转化可行性[27-28]。TIM3靶点的挑战在于其并非AML独有，激活的T细胞和其他免疫细胞也表达TIM3，因此直接靶向TIM3可能有一定免疫调节方面的风险。

2.7 其他潜在靶点

除上述主要靶点外，还有一些分子正在探索用于CAR-NK治疗AML。FLT3为受体酪氨酸激酶，约30%的AML存在ITD或TKD突变并高表达，且在部分LSC中富集，但正常造血干细胞亦有表达，单靶存在骨髓抑制风险。因此，FLT3更常作为组合或逻辑门控电路中的一环，以在扩大覆盖面的同时降低对正常造血的攻击。早期临床探索已显示出可控的安全性与初步缓解信号，提示FLT3在逻辑门控多靶CAR-NK框架下具有应用前景[9]。CD38为经典的多发性骨髓瘤靶点，在部分AML亚群中亦有表达，被视为CAR-NK的候选，但CD38同时存在于正常浆细胞、NK细胞和红细胞祖细胞上，CAR-NK细胞容易发生自杀性效应，在扩增的NK细胞中CRISPR敲低CD38并导入亲和力优化的CD38 CAR，显著减少效应细胞自我杀伤、增强对原代白血病细胞的杀伤，支持CD38 CAR-NK作为AML治疗策略的转化潜力[29]。CD7是T细胞和NK细胞表面分子，虽非典型AML抗原，但在某些髓系白血病伴T细胞抗原表达的亚型中可作为靶点。但因为NK细胞表面同样表达CD7，导致在CAR导入过程中发生

NK细胞之间或自身互相杀伤，难以扩增出足够数量的CAR-NK细胞。为解决这一问题，一些研究利用CRISPR敲除NK细胞自身CD7表达后，再引入抗CD7 CAR来杀伤CD7$^+$白血病细胞，目前CD7相关工作主要针对T细胞肿瘤[30]。总体而言，AML的抗原谱复杂，新靶点的发掘有赖于对白血病干细胞和亚克隆分子特征更深入的解析。

综上所述，结合现有CAR-NK治疗AML的相关研究，可以将靶点分为若干类别，其在肿瘤负荷控制、白血病干/祖细胞清除以及安全性方面有不同的功能定位。CD33和CD123是一类广谱但伴随造血毒性风险的靶点，在大多数白血病细胞以及部分白血病干细胞上高表达，适于快速降低白血病负荷，但在CAR-T平台上曾因严重骨髓抑制而受限。已有对比研究和早期临床试验证实，在相同靶点下，CAR-NK细胞对正常造血和内皮的损伤明显减轻，提示CAR-NK有望为此类靶点提供更宽的安全窗口。CLL-1和CD70则兼具对白血病干/祖细胞的表达及对正常造血干细胞的相对保留，被视为更适合用于深度清除白血病克隆、降低复发风险的选择，尤其在实现MRD阴性和长期缓解方面具有优势。NKG2D配体策略通过识别应激诱导分子，实现对多克隆的靶向作用，有利于克服AML显著的抗原异质性和克隆演化，但其疗效在一定程度上依赖于配体表达水平及骨髓微环境。TIM3、FLT3、CD38、CD7等新兴靶点目前多处于早期探索阶段，更适合作为多靶或逻辑门控电路的组成部分，用于在扩大靶向肿瘤覆盖的同时控制非肿瘤毒性。总体来看，CAR-NK平台凭借其安全性和“现货化”特征，有望在CD33/CD123等高风险靶点上降低毒性，同时结合CLL-1、CD70及NKG2D配体等靶点构建分层、分阶段的靶点选择策略，从而提升CAR-NK在AML中的临床转化潜力。

3　CAR-NK疗法在AML中面临的挑战和优化策略

3.1　体内持续性、扩增及归巢受限

NK细胞的天然寿命较短，活化状态下在外周循环中仅存活1~2周左右，这是为了避免过度免疫反应的生理特性。然而，在CAR-NK疗法中，这一特性可导致疗效持续性不足。与CAR-T细胞可以在患者体内增殖数月至几年不同，CAR-NK细胞常常在输注后数天到两周内迅速衰减。这直接限制了其持续清除白血病细胞的能力，也解释了部分CAR-NK治疗AML的患者在获得初始缓解后很快复发[6]。此外，CAR-NK细胞由外周输注后能否到达骨髓巢，同样直接影响疗效。研究表明，NK细胞在发育和体外扩增过程中，CXCR4等骨髓归巢相关趋化受体的表达下降，导致对CXCL12等趋化因子梯度的应答能力减弱[31-32]。动物模型及体内示踪研究亦提示，静脉输注后NK细胞主要聚集于肺、肝和脾等器官，而骨髓中的检出水平相对较低[32]。同时，AML通过重塑CXCL12/CXCR4信号轴增强白血病克隆在骨髓微环境内的滞留和存活[33]，进一步限制了CAR-NK细胞的归巢效率。如何改善CAR-NK细胞在体内的存留和功能，是当前研究热点之一。

一方面，基因工程改造被用于赋予CAR-NK细胞自我维持能力。在CAR-NK细胞中共表达促生存细胞因子如IL-15，使NK细胞在无外源支持下也能增殖存活。研究报道在CD19 CAR-NK细胞中引入了mbIL-15基因，结果观察到CAR-NK细胞在部分患者体内可持留达一年之久[3]。另一方面，多次给药和剂量优化能在一定程度上弥补NK细胞的短寿命问题。由于CAR-NK疗法安全性高，可灵活采取周期性多次输注方案。临床经验表明，高剂量重复给药显著提高了缓解率：比如NKX101试验中，3次给药方案的疗效优于2次方案，剂量1.5×10^{9}优于低剂量[7]。另外，异体NK细胞会被受者免疫系统识别清除，为此可通过基因编辑降低CAR-NK细胞的免疫原性。敲除HLA-I类分子或过表达HLA-E、CD47等使CAR-NK细胞逃避免疫监视。Liu等报道了一种将CAR、shRNA（下调HLA-ABC）和HLA-E融合蛋白一同导入NK细胞的方法，构建出免疫原性降低的“隐匿型”CAR-NK细胞，在小鼠异种移植模型中表现出显著延长的体内持续性并伴随更强的抗肿瘤活性[34]。最后，针对CAR-NK归巢效率受限的问题，已有研究尝试通过增强CXCR4信号，提升其对CXCL12的体外趋化能力，并在体内模型验证此种NK细胞可以提升其在骨髓中的累积增加[32-33]。

3.2　靶向特异性与抗原逃逸

AML缺乏独有抗原，大多数靶点在正常造血细胞也有表达。一方面，选择相对特异的抗原（如CLL-1、CD70）可能覆盖不了全部白血病细胞；另一方面，选择广泛表达的抗原（如CD33、CD123）又不可避免地损伤正常造血。如何平衡这一矛盾是重大挑战。此外，肿瘤细胞具备抗原逃逸能力，即通过下调或脱落靶抗原来躲避免疫杀伤。

针对靶向特异性问题，双/多靶点及逻辑门控CAR成为AML领域的重要策略。以CD33/CLL-1为代表的双靶方案CAR-T疗法在体外和异种移植模型

中显示出对AML原始细胞及白血病干/祖细胞的协同清除能力，而对$CD34^+$造血干细胞的影响相对有限[35]，而相关针对CAR-NK疗法的临床试验正在开展。通过引入逻辑计算元件，CAR-NK细胞可同时监测多个抗原信号，从而实现选择性更强的杀伤。如上文所述，SENTI-202利用“OR+NOT”逻辑，让CAR-NK细胞在检测到AML抗原（CD33或FLT3）的任意一个即可激活，但同时检测到正常细胞标志则抑制杀伤，这样有效避免了对正常造血/内皮细胞的攻击，而又不降低对白血病细胞的杀伤作用[9]。针对抗原逃逸，多靶点联合治疗是直接而有效的方法。总之，多重靶向和智能识别将是CAR-NK细胞克服特异性挑战的主攻方向。

3.3 骨髓免疫抑制及白血病细胞免疫抵抗

AML的骨髓微环境高度免疫抑制，限制了细胞治疗持久疗效。白血病细胞会通过多种机制削弱NK细胞功能：一是表达免疫检查点分子，如PD-L1、HLA-E等，与NK细胞的抑制受体（PD-1、NKG2A）结合，使NK细胞处于抑制/耗竭状态；二是分泌TGF-β、IL-10等抑制性细胞因子，重塑髓内环境而不利于NK细胞存活；三是招募髓源性抑制细胞（MDSCs）和调节性T细胞等，间接抑制NK活性。此外，AML经过化疗等治疗后，通常残留对NK细胞活性不敏感的亚群，比如上调抗凋亡分子、降低应激配体等，使NK功能受抑制[36]。除外源性微环境因素外，AML细胞本身亦可通过多种方式形成对CAR-NK细胞的免疫抵抗：一方面，上调BCL-2、MCL-1等抗凋亡分子、增强DNA损伤修复和存活信号，不易发生凋亡[37]；另一方面，下调NKG2D配体、TRAIL受体或Fas等死亡受体，或重新上调HLA-I及与抑制性受体结合的配体，从而削弱CAR-NK的激活信号、强化抑制信号，限制了CAR-NK疗法的应用[38]。

为应对免疫抑制微环境及白血病细胞内在免疫抵抗，其一，可考虑联合免疫调节药物。例如，应用抗NKG2A单抗（如Monalizumab）阻断AML细胞表达的HLA-E与NK细胞抑制受体的相互作用，从而解除对NK细胞的抑制作用；或使用PD-1/PD-L1抗体缓解NK细胞的功能抑制。早期临床设计已将CAR-NK联合免疫检查点抑制剂纳入评估，以验证协同增效与安全性窗口[39]。其二，在细胞层面通过基因工程增强抗抑制能力。通过基因编辑敲除NK细胞表面的抑制受体或信号，如敲除CISH（NK细胞内的负调控因子）已被证明可提高NK对白血病的持续杀伤[40]。

4 总结

总体而言，CAR-NK疗法正在由概念快速迈向临床实践，为AML患者提供新的治疗选项。凭借先天免疫优势与工程化特异识别，CAR-NK疗法在复发难治人群中已显示出可观的初步疗效与更优的安全性。尽管持久性不足与抗原异质性仍构成主要瓶颈，但包括逻辑门控、多靶联合及细胞因子工程在内的创新策略正持续优化其疗效。随着技术迭代与证据积累，CAR-NK疗法有望在AML免疫治疗场景中占据重要地位，进一步延长无病生存并提升治愈可能。

利益冲突声明：

所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献：

[1] Gill S, Tasian SK, Ruella M, *et al*. Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. Blood, 2014, 123(15): 2343-2354.

[2] Wei W, Yang D, Chen X, *et al*. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for T-ALL and AML[J]. Front Oncol, 2022, 12: 967754.

[3] Liu E, Marin D, Banerjee P, *et al*. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors[J]. N Engl J Med, 2020, 382(6): 545-553.

[4] Saadh MJ, Torabi Fard N, Hussein A, *et al*. Mesenchymal stem cells in the bone marrow microenvironment: a double-edged sword for AML[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2025, 151(6): 193.

[5] Tang X, Yang L, Li Z, *et al*. First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells: safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia[J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(6): 1083-1089.

[6] Huang R, Wang X, Yan H, *et al*. Safety and efficacy of CD33-targeted CAR-NK cell therapy for relapsed/refractory AML: preclinical evaluation and phase Ⅰ trial[J]. Exp Hematol Oncol, 2025, 14(1): 1.

[7] Sauter CS, Borthakur G, Mountjoy L, *et al*. A Phase 1 Study of NKX101, a Chimeric Antigen Receptor Natural Killer (CAR-NK) Cell Therapy, with Fludarabine and Cytarabine in Patients with Acute Myeloid Leukemia[J]. Blood, 2023, 142(Supplement 1): 2097.

[8] Huang R, Li X, He Y, *et al*. Recent advances in CAR-T cell engineering[J]. J Hematol Oncol, 2020, 13(1): 86.

[9] Garrison B, Deng H, Yucel G, *et al*. Senti-202, a Selective, Off-the-Shelf, Preclinical CAR-NK Cell Therapy with CD33 and/or FLT3 Activating CAR, Healthy Cell Protection from Endomucin (EMCN) Inhibitory CAR and Calibrated Release IL-15 for Hematologic Malignancies Including AML[J]. Blood, 2022, 140 (Supplement 1): 4531-4532.

[10] Perriello VM, Gionfriddo I, Rossi R, *et al*. CD123 Is Consistently Expressed on NPM1-Mutated AML Cells[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(3): 496.

[11] Testa U, Riccioni R, Militi S, *et al*. Elevated expression of IL-3Ralpha in acute myelogenous leukemia is associated with enhanced blast proliferation, increased cellularity, and poor prognosis[J]. Blood, 2002, 100(8): 2980-2988.

[12] Fiorenza S, Turtle CJ. CAR-T Cell Therapy for Acute Myeloid

Leukemia: Preclinical Rationale, Current Clinical Progress, and Barriers to Success[J]. BioDrugs, 2021, 35(3): 281-302.
[13] Caruso S, De Angelis B, Del Bufalo F, *et al*. Safe and effective off-the-shelf immunotherapy based on CAR. CD123-NK cells for the treatment of acute myeloid leukaemia[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 163.
[14] Rahnama R, Kizerwetter M, Yang H, *et al*. Single-chain variable fragment affinity tuning can optimize anti-AML CAR-NK cell functionality[J]. J Immunother Cancer, 2025, 13(2): e010763.
[15] Christodoulou I, Ho WJ, Marple A, *et al*. Engineering CAR-NK cells to secrete IL-15 sustains their anti-AML functionality but is associated with systemic toxicities[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(12): e003894.
[16] Soleimani Samarkhazan H, Zehtabcheh S, Seraji HR, *et al*. Unveiling the potential of CLL-1: a promising target for AML therapy[J]. Biomark Res, 2025, 13(1): 28.
[17] Zhang H, Bu C, Peng Z, *et al*. Characteristics of anti-CLL1 based CAR-T therapy for children with relapsed or refractory acute myeloid leukemia: the multi-center efficacy and safety interim analysis[J]. Leukemia, 2022, 36(11): 2596-2604.
[18] Jin X, Zhang M, Sun R, *et al*. First-in-human phase I study of CLL-1 CAR-T cells in adults with relapsed/refractory acute myeloid leukemia[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 88.
[19] Sedloev DN, Chen Q, Unglaub JM, *et al*. Structurally Optimized, IL-2-Armored CLL1 CAR-NK Cells Are Highly Potent Effectors Against AML without Hpsc Toxicity[J]. Blood, 2024, 144 (Supplement 1): 3440.
[20] Shi Y, Hao D, Qian H, *et al*. Natural killer cell-based cancer immunotherapy: from basics to clinical trials[J]. Exp Hematol Oncol, 2024, 13(1): 101.
[21] Kumar S, Mahendiran S, Nair RS, *et al*. A mechanistic, functional, and clinical perspective on targeting CD70 in cancer[J]. Cancer Lett, 2024, 611: 217428.
[22] Flieswasser T, Van Den Eynde A, Van Audenaerde J, *et al*. The CD70-CD27 axis in oncology: the new kids on the block[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2022, 41(1): 12.
[23] Sauer T, Parikh K, Sharma S, *et al*. CD70-specific CAR T cells have potent activity against acute myeloid leukemia without HSC toxicity[J]. Blood, 2021, 138(4): 318-330.
[24] Wang L, Wang Y, He X, *et al*. CD70-targeted iPSC-derived CAR-NK cells display potent function against tumors and alloreactive T cells[J]. Cell Rep Med, 2025, 6(1): 101889.
[25] Wolf Y, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM3 comes of age as an inhibitory receptor[J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20(3): 173-185.
[26] Brunner AM, Esteve J, Porkka K, *et al*. Phase Ⅰb study of sabatolimab (MBG453), a novel immunotherapy targeting TIM-3 antibody, in combination with decitabine or azacitidine in high- or very high-risk myelodysplastic syndromes[J]. Am J Hematol, 2024, 99(2): E32-E36.
[27] Klaihmon P, Samart P, Rojanasakul Y, *et al*. Anti-TIM3 chimeric antigen receptor-natural killer cells preferentially target primitive acute myeloid leukemia cells with minimal fratricide and exhaustion[J]. Exp Hematol Oncol, 2024, 13(1): 67.
[28] Klaihmon P, Luanpitpong S, Kang X, *et al*. Anti-TIM3 chimeric antigen receptor-natural killer cells from engineered induced pluripotent stem cells effectively target acute myeloid leukemia cells[J]. Cancer Cell Int, 2023, 23(1): 297.
[29] Gurney M, Stikvoort A, Nolan E, *et al*. CD38 knockout natural killer cells expressing an affinity optimized CD38 chimeric antigen receptor successfully target acute myeloid leukemia with reduced effector cell fratricide[J]. Haematologica, 2022, 107(2): 437-445.
[30] Lin Y, Xiao Z, Hu F, *et al*. Engineered CRO-CD7 CAR-NK cells derived from pluripotent stem cells avoid fratricide and efficiently suppress human T-cell malignancies[J]. J Hematol Oncol, 2025, 18(1): 57.
[31] Ran GH, Lin YQ, Tian L, *et al*. Natural killer cell homing and trafficking in tissues and tumors: from biology to application[J]. Signal Transduct Target Ther, 2022, 7(1): 205.
[32] He X, Wang L, Zeng W, *et al*. Regulatable C-X-C chemokine receptor type 4 in iPSC-derived NK cells improves bone marrow chemotaxis and targeting resident tumor[J]. Trends Biotechnol, 2025, 43(7): 1668-1689.
[33] Ladikou EE, Chevassut T, Pepper CJ, *et al*. Dissecting the role of the CXCL12/CXCR4 axis in acute myeloid leukaemia[J]. Br J Haematol, 2020, 189(5): 815-825.
[34] Liu F, Tarannum M, Zhao Y, *et al*. One-Step Construction of Allogeneic CAR-NK Cells Preventing Rejection and Mediating Enhanced Anti-Tumor Responses[J]. Blood, 2024, 144(Supplement 1): 915.
[35] Wang H, Feng S, Zhu Y, *et al*. The tandem CD33-CLL1 CAR-T as an approach to treat acute myeloid leukemia[J]. Blood Transfus, 2025, 23(4): 338-347.
[36] Xie J, Liu XF, Zhou T, *et al*. Overexpressing natural killer group 2 member A drives natural killer cell exhaustion in relapsed acute myeloid leukemia[J]. Signal Transduct Target Ther, 2025, 10(1): 143.
[37] Carter JL, Hege K, Yang J, *et al*. Targeting multiple signaling pathways: the new approach to acute myeloid leukemia therapy[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 288.
[38] D'silva SZ, Singh M, Pinto AS. NK cell defects: implication in acute myeloid leukemia[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1112059.
[39] Yang K, Zhao Y, Sun G, *et al*. Clinical application and prospect of immune checkpoint inhibitors for CAR-NK cell in tumor immunotherapy[J]. Front Immunol, 2022, 13: 1081546.
[40] Zhu H, Blum RH, Bernareggi D, *et al*. Metabolic Reprograming via Deletion of CISH in Human iPSC-Derived NK Cells Promotes *In Vivo* Persistence and Enhances Anti-tumor Activity[J]. Cell Stem Cell, 2020, 27(2): 224-237. e6.

[**编辑**：邱颖慧；**校对**：黄园玲]

作者贡献：

苏　帅：撰写和修订论文

肖　毅：设计研究，审核论文