

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.16.034

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220325.1130.002.html\(2022-03-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20220325.1130.002.html(2022-03-28))

## CD47 在急性髓细胞白血病中的研究进展\*

王超雨 综述, 刘俊, 刘耀<sup>△</sup> 审校

(重庆大学附属肿瘤医院血液肿瘤中心/肿瘤转移与个体化诊治转化研究重庆市重点实验室 400030)

**[摘要]** CD47 是一种在多种细胞上表达的多功能表面蛋白。作为膜受体参与许多正常和病理生理过程。CD47 在急性髓细胞白血病细胞表面高表达, 其与巨噬细胞上的信号调节蛋白  $\alpha$  结合, 介导“不要吃我”信号, 抑制巨噬细胞的吞噬功能。通过 CD47 抑制剂阻断 CD47/信号调节蛋白  $\alpha$  信号通路的方法已成为肿瘤免疫治疗中的研究热点。本文就 CD47 诱导的免疫逃逸, 靶向 CD47 的单克隆抗体在急性髓细胞白血病治疗中的研究进展进行综述。

**[关键词]** 急性髓细胞白血病; 白细胞分化抗原 47; 免疫逃逸; 综述

**[中图分类号]** R733.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)16-2870-04

## Research advances of CD47 in acute myeloid leukemia\*

WANG Chaoyu, LIU Jun, LIU Yao<sup>△</sup>

(Hematology Oncology Center, Chongqing University Affiliated Tumor Hospital, Chongqing Municipal Key Laboratory of Translational Research for Tumor Metastasis and Individualized Treatment, Chongqing 400030, China)

**[Abstract]** CD47 is a multifunctional surface protein expressed in a wide range of cells. It acts as a membrane receptor involved in many normal and pathophysiological processes. CD47 is highly expressed on the surface of acute myeloid leukemia cells, binds to signal regulatory protein  $\alpha$  (SIRP $\alpha$ ) on macrophages, mediates “don’t eat me” signal, and inhibits the phagocytic function of phagocytes. The method blocking the CD47/signal-regulatory protein  $\alpha$  signaling pathway with CD47 inhibitors has become a hot topic in tumor immunotherapy. This article reviews the research advances of CD47 induced immune escape, monoclonal antibodies targeting CD47 in the treatment of acute myeloid leukemia.

**[Key words]** acute myeloid leukemia; leukocyte differentiation antigen 47; immune escape; review

急性髓细胞白血病(AML)是急性白血病中最常见的类型, 占全部急性白血病(AL)的 70% 左右<sup>[1]</sup>。在过去的 60 年里, 由于疾病分类的进步、风险策略的确定及新药和干细胞移植的出现, AML 的预后得到了改善<sup>[2-4]</sup>。21 世纪以来, 随着细胞遗传学和分子生物学的发展, 人们对该病的认识不断深入。尽管如此, AML 患者 5 年总体生存率仍不足 30%<sup>[3-4]</sup>。目前为止, AML 仍是严重威胁国民健康的重要疾病。AML 发病的具体机制至今尚不完全清楚。多数人认为 AML 发病可能与遗传学改变导致造血细胞分化受阻相关, 或者与造血细胞内基因突变激活某种信号通路导致造血细胞恶性增殖相关<sup>[5]</sup>。近年来, 随着免疫学的飞速发展, 研究者们逐渐认识到免疫逃逸在 AML 的发生发展过程中同样起到非常重要的作用<sup>[6]</sup>。为了使正常组织或细胞免受不必要的损伤, 免

疫系统中会产生很多免疫检查点分子[如细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)、程序性细胞死亡蛋白-1(PD-1)、信号调节蛋白  $\alpha$ (SIRP $\alpha$ )], 这些免疫检查点分子均属于免疫抑制性信号分子, 通过抑制免疫系统的功能促进肿瘤的发生发展<sup>[7-8]</sup>。而 AML 肿瘤细胞利用自身免疫系统的这一特性, 通过高表达免疫检查点分子, 逃避免疫系统的识别和杀伤, 产生免疫逃逸<sup>[8]</sup>。白细胞分化抗原 47(CD47)是 SIRP $\alpha$  的配体, CD47/SIRP $\alpha$  信号通路是介导 AML 细胞免疫逃逸的重要通路。本文简要综述固有免疫检查点分子 CD47 及其在 AML 中的研究进展。

### 1 CD47/SIRP $\alpha$ 信号通路

CD47 也称为整合素相关蛋白(IAP), 其分子量约为  $50 \times 10^3$ , 是广泛表达于细胞膜表面的五次跨膜受体, 属于免疫球蛋白超家族(IgSF)成员之一<sup>[9-13]</sup>。与

\* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81670100); 重庆市科技计划项目(cstc2019jcsx-msxm0401)。 作者简介: 王超雨(1988—), 主治医师, 博士, 主要从事血液系统恶性肿瘤与造血干细胞移植的基础与临床研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: liuyao77@cqu.edu.cn。

CD47 相关的配体有很多,目前研究最多的是 SIRP $\alpha$ 。SIRP $\alpha$  也称为 CD172a 或者 p84,表达于成纤维细胞、内皮细胞、神经元细胞及髓系细胞(如巨噬细胞、树突状细胞、单核细胞等)上,亦属于 IgSF 成员之一<sup>[9-11]</sup>。CD47 与 SIRP $\alpha$  特异性结合后,SIRP $\alpha$  胞内端酪氨酸残基上的免疫受体酪氨酸相关抑制性基序(ITIMs)区被酪氨酸激酶 LYN 和 FYN 磷酸化,磷酸化的 ITIMs 招募和激活蛋白质酪氨酸磷酸酶,进而激活 Src 同源区 2 蛋白酪氨酸磷酸酶 1(SHP-1)和 SHP-2,磷酸酶 Src 同源区 2(SH2)与 SIRP $\alpha$  自身磷酸化的 ITIMs 相互作用,导致多种磷酸化蛋白底物去磷酸化,最终阻断依赖酪氨酸磷酸化的信号传递通路<sup>[10-11]</sup>。总而言之,CD47/SIRP $\alpha$  结合后向吞噬细胞(如巨噬细胞)传递负性信号,亦称为“不要吃我”信号,最终使包括 AML 在内的肿瘤细胞免受吞噬细胞(如巨噬细胞)的吞噬,出现“免疫逃逸”。近年来,抑制 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路已经成为血液系统恶性肿瘤基础和临床研究中的热点,尤其是在 AML 和非霍奇金淋巴瘤(NHL)中<sup>[14-17]</sup>。

## 2 CD47 在 AML 中的表达及与预后的关系

众所周知,AML 患者复发的根源是因为白血病干细胞(ILSC)的持续存在,MAJETI 等<sup>[18]</sup> 研究发现与正常干细胞亚群相比,急性髓系白血病患者 LSC 细胞亚群上显著高表达 CD47,高表达 CD47 的患者与化疗耐药、易复发、不良预后等密切相关。体外实验发现,CD47 单克隆抗体可以明显增强巨噬细胞对急性髓系白血病患者 LSC 细胞的靶向吞噬效应。体内实验发现,CD47 单克隆抗体治疗可以清除小鼠体内的急性髓系白血病细胞并明显延长小鼠的生存期。这也是首次报道 CD47 在 LSC 上显著高表达,CD47/SIRP $\alpha$  特异性结合后向巨噬细胞传递“别吃我”信号,最终使 AML 细胞免受巨噬细胞的吞噬,出现免疫逃逸。临床研究发现,与健康人相比,AML 患者显著高表达 CD47 分子,CD47 高表达患者与对诱导化疗反应差及不良预后显著相关<sup>[11-14]</sup>。作者前期研究同样发现,与健康人相比,AML 患者显著高表达 CD47 分子,21 例患者 CD47 表达均高于对照组,其中 81% (17/21) 的患者 CD47 表达量高于对照组 2 倍<sup>[19]</sup>。CD47 高表达患者预后差,且与易复发显著相关。

## 3 CD47 单抗在 AML 治疗中的血液学毒性

随着研究的深入,研究者们逐渐认识到靶向阻断 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路的 CD47 单抗在发挥抗肿瘤效应的同时,也带来了一系列安全性问题,最引人关注的就是贫血,原因是红细胞表面同样表达 CD47 分子,CD47 单抗靶向阻断 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路后激活巨噬细胞对红细胞的吞噬<sup>[19]</sup>。后续研究中,研究者们试图通过选择体外红细胞凝集反应活性低的抗体来解决这个问题,但在真实世界研究中,贫血和药代动力学下沉效应仍没有解决<sup>[16-17]</sup>。一项 I 期临床试验初

步结果,其以靶向 CD47 的 IgG4 抗体(Hu5F9-G4)单药治疗包括 AML 等血液系统恶性肿瘤在内的多种恶性肿瘤。该研究发现 Hu5F9-G4 耐受性良好,起始剂量从每周 1 mg/kg 一直爬坡至 45 mg/kg,但是研究中仍发现 57% 的患者出现不同程度的贫血,36% 的患者出现红细胞凝集<sup>[15]</sup>。作者前期通过优化抗体,使用全人源化抗 CD47 单克隆抗体(ABI188)靶向阻断 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路后,发现可以重新激活巨噬细胞吞噬功能,促进巨噬细胞对 AML 细胞的吞噬清除。体内实验发现,CD47 抗体显著延长小鼠的生存期<sup>[19]</sup>。但是该研究中,NOG 小鼠仍出现不同程度的贫血。BRIERLEY 等<sup>[20]</sup> 发起的一项 I 期临床(NCT02678338)试验旨在研究 CD47 单抗(Hu5F9-G4)在复发/原发难治 AML 中的安全性。19 例 AML 患者在用药后均出现血红蛋白降低,平均下降 10g/L(范围:4~16 g/L),需要输血支持治疗。PURO 等<sup>[21]</sup> 研发了新一代人源化抗 CD47 抗体 AO-176,研究发现与正常组织细胞相比,AO-176 优先与 AML 细胞结合。值得关注的是与 AML 细胞相比,AO-176 与红细胞的结合微乎其微,即使在高达 200 mg/mL 的高浓度下,在体外也不能凝集高达 1 mg/mL 的红细胞。这些特性不仅可以减少抗原沉着,还可以将其其他已报道的红细胞结合抗 CD47 抗体治疗后观察到的临床不良反应降至最低。动物实验发现,AO-176 耐受性良好,没有不良反应。AO-176 在 AML 异种移植模型中表现出剂量依赖性的抗肿瘤活性。因此,未来有望通过改良抗体使 CD47 单抗血液学毒性降到最低,争取早日应用于临床。

## 4 AML 细胞 CD47 高表达的机制研究初探

CD47 在 AML 细胞表面高表达已经得到共识。然而,在 AML 中,调控 CD47 异常表达的分子机制未有报道,积极探索调控 CD47 异常表达的分子机制有望为 AML 的治疗提供新的策略。缺氧诱导因子 1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )是在缺氧状态下过度表达的一种转录因子,参与肿瘤细胞增殖、凋亡以及肿瘤血管的新生,从而在肿瘤细胞的浸润、远处转移等生物学行为中发挥重要作用<sup>[22-23]</sup>。随着对白血病肿瘤微环境研究的深入,研究者们逐渐发现在白血病肿瘤微环境中 HIF-1 表达显著升高,提示白血病肿瘤微环境仍然存在缺氧灶<sup>[24-25]</sup>。陈萍等<sup>[24]</sup> 研究发现,HIF-1 $\alpha$  在 AML 患者中高表达,尤其在初诊骨髓外浸润的 AML 患者中显著高表达,且高表达者 1 年内复发率明显升高,认为 HIF-1 $\alpha$  可以作为髓外复发和不良预后的一个参考指标。陈丽等<sup>[25]</sup> 研究发现,低氧环境可抑制人白血病细胞系 K562 细胞的增殖,同时可以显著上调 HIF-1 $\alpha$  mRNA 的水平,但未导致细胞发生诱导分化。作者前期研究发现 CD47 与 HIF-1 $\alpha$  存在显著相关性,缺氧可显著上调人 AML 细胞 CD47 蛋白的表达,初步探讨 HIF-1 $\alpha$  调控 CD47 的可能机制,后续进一步完善

机制研究,期望发现新的 AML 发病分子机制<sup>[26]</sup>。

## 5 CD47 在 AML 治疗中的应用

目前针对 CD47 靶点的免疫治疗主要包括抗 CD47 抗体、抗 SIRP $\alpha$  抗体、融合蛋白类及包含 CD47 靶点在内的双克隆抗体。MAJETI 等<sup>[18]</sup> 研究发现 CD47 在包含 AML 在内的多种血液系统肿瘤中异常高表达,介导 AML 细胞免疫逃逸。自此之后,靶向阻断 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路的抑制剂应运而生,其中主要包括抗 CD47 单克隆抗体 Hu5F9, AK117, CC-90002; 包含 SIRP $\alpha$  和 IgG1Fc 结构区域的融合蛋白 TTI-621、TTI-622、AO-176 和 ALX148; CD47 和 CD19 双特异性抗体以及其他包含纳米抗体在内的新型药物。临床前研究发现靶向阻断 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路抗 AML 细胞增殖的机制主要包括以下两方面:一是抑制 CD47/SIRP $\alpha$  介导的“别吃我”信号,重新激活巨噬细胞吞噬功能;二是单克隆抗体 Fc 端介导的抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(ADCC)和补体依赖的细胞毒作用(CDC)<sup>[6,12,14,19,21]</sup>。

在一项 I 期临床试验(NCT02663518)中<sup>[27]</sup>,用于评估 TTI-621 在复发/难治血液系统恶性肿瘤中的安全性和有效性,共 164 例患者接受 TTI-621 治疗,其中 AML 患者 20 例。按照 3+3 模式进行剂量递增,TTI-621 剂量分别为 0.05、0.10、0.30、1.00、3.00、10.00 mg/kg,每周 1 次静脉输注,连续 3 周。根据剂量限制毒性(DLT)调整用药量。所有患者总的缓解率(ORR)为 13%,其中 AML 患者 ORR 仅为 5%,大于 3 级的治疗相关毒性发生率为 37%,其中 3 级贫血发生率为 9%。目前在 TTI-621 基础上进行结构优化的 TTI-622 抗体治疗 AML 的 I 期临床试验(NCT03530683)正在进行中。CC-90002 抗体可以识别 CD47 上的独特构象表位,而不促进红细胞的凝集,显著降低血液学毒性。临床前研究发现,CC-90002 可显著降低 AML 细胞生长,促进巨噬细胞吞噬消除<sup>[28]</sup>。目前相关临床试验(NCT02641002)正在进行中。除此之外,MA 等<sup>[29]</sup> 制备了一种新型的抗 CD47 纳米抗体 HuNb1,在体外可以有效增强巨噬细胞功能,具有较强的有效性和安全性。

## 6 结 语

免疫治疗在肿瘤个体化治疗中越来越受到重视,CD47 在诱导 AML 免疫逃逸中发挥重要作用。由于红细胞表面同样表达 CD47 分子,CD47 单抗靶向阻断 CD47/SIRP $\alpha$  信号通路发挥抗 AML 效应的同时也使巨噬细胞对红细胞的吞噬增加,出现不同程度的贫血。未来有望通过改良抗体使 CD47 单抗血液学毒性降到最低。未来仍需要进行大量机制研究和临床试验以探索针对 CD47 靶向治疗的安全性和有效性。CD47 作为新的固有免疫免疫检查点,近些年与此相关的研究也越来越多,也为 AML 治疗提供了新的思路。

## 参考文献

- [1] DEWOLF S, TALLMAN M S. How I treat relapsed or refractory AML[J]. *Blood*, 2020, 136(9):1023-1032.
- [2] CRADDOCK C. Acute myeloid leukaemia therapeutic innovation and clinical trials: past, present and future[J]. *Br J Haematol*, 2020, 191(4):568-572.
- [3] ESTEY E, HASSERJIAN RP, DOHNER H. Distinguishing AML from MDS: a fixed blast percentage may no longer be optimal[J]. *Blood*, 2022, 139(3):323-332.
- [4] YU S, HUANG F, WANG Y, et al. Haploidentical transplantation might have superior graft-versus-leukemia effect than HLA-matched sibling transplantation for high-risk acute myeloid leukemia in first complete remission: a prospective multicentre cohort study[J]. *Leukemia*, 2020, 34(5):1433-1443.
- [5] VETRIE D, HELGASON G V, COPLAND M. The leukaemia stem cell: similarities, differences and clinical prospects in CML and AML[J]. *Nat Rev Cancer*, 2020, 20(3):158-173.
- [6] VAGO L, GOJO I. Immune escape and immunotherapy of acute myeloid leukemia[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(4):1552-1564.
- [7] 陈慧君, 张珊, 罗启东, 等. 免疫逃逸在急性髓系白血病中的研究进展[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(4):1429-1432.
- [8] BRAHMER J R, LACCHETTI C, SCHNEIDER B J, et al. Management of Immune-Related adverse events in patients treated with immune checkpoint inhibitor therapy: American society of clinical oncology clinical practice guideline[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(17):1714.
- [9] XIA Y, RAO L, YAO H, et al. Engineering macrophages for cancer immunotherapy and drug delivery[J]. *Adv Mater*, 2020, 32(40):e2002054.
- [10] LOGTENBERG M, SCHEEREN F, SCHUMACHER T N. The CD47-SIRP $\alpha$  immune checkpoint[J]. *Immunity*, 2020, 52(5):742-752.
- [11] FENG M, JIANG W, KIM B, et al. Phagocytosis checkpoints as new targets for cancer immunotherapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2019, 19(10):568-586.
- [12] JINNOUCHI F, YAMAUCHI T, YURINO A, et al. A human SIRPA knock-in xenograft

- mouse model to study human hematopoietic and cancer stem cells[J]. *Blood*, 2020, 135(19): 1661-1672.
- [13] MORRISSEY M, KERN N, VALE R D. CD47 ligation repositions the inhibitory receptor SIRPA to suppress integrin activation and phagocytosis[J]. *Immunity*, 2020, 53(2): 290-302. e6.
- [14] RUSS A, HUA A B, MONTFORT W R, et al. Blocking “don’t eat me” signal of CD47-SIRP $\alpha$  in hematological malignancies, an in-depth review[J]. *Blood Rev*, 2018, 32(6): 480-489.
- [15] SIKIC I B, LAKHANI N, PATNAIK A, et al. First-in-Human, First-in-Class phase I trial of the Anti-CD47 antibody Hu5F9-G4 in patients with advanced cancers[J]. *J Clin Oncol*, 2019, 37(12): 946.
- [16] TAL M C, TORREZ D L, MYERS L, et al. Up-regulation of CD47 is a host checkpoint response to pathogen recognition [J]. *MBio*, 2020, 11(3): e01220-e01293.
- [17] HASSAN E M, WALKER G C, WANG C, et al. Anti-leukemia effect associated with down-regulated CD47 and up-regulated calreticulin by stimulated macrophages in co-culture[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2021, 70(3): 787-801.
- [18] MAJETI R, CHAO M P, ALIZADEH A A, et al. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells[J]. *Cell*, 2009, 138(2): 286-299.
- [19] WANG C, SUN C, LI M, et al. Novel fully human anti-CD47 antibodies stimulate phagocytosis and promote elimination of AML cells[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(6): 4470-4481.
- [20] BRIERLEY C K, STAVES J, ROBERTS C, et al. The effects of monoclonal anti-CD47 on RBCs, compatibility testing, and transfusion requirements in refractory acute myeloid leukemia[J]. *Transfusion*, 2019, 59(7): 2248-2254.
- [21] PURO R J, BOUHLAKA M N, HIEBSCH R R, et al. Development of AO-176, a Next-Generation humanized Anti-CD47 antibody with novel anticancer properties and negligible red blood cell binding[J]. *Mol Cancer Ther*, 2020, 19(3): 835-846.
- [22] Oh E T, Kim C W, Kim H G, et al. Brutal Mediated Inhibition of c-Myc Increases HIF-1 $\alpha$  Degradation and Causes Cell Death in Colorectal Cancer under Hypoxia [J]. *Theranostics*, 2017, 7(14): 3415-3431.
- [23] FUS L P, PIHOWICZ P, KOPERSKI L, et al. HIF-1 $\alpha$  expression is inversely associated with tumor stage, grade and microvessel density in urothelial bladder carcinoma. 2018, 69(4): 395-404[J]. *Pol J Pathol*, 2018, 69(4): 395-404.
- [24] 陈萍, 姜熙, 黄慧芳, 等. HIF-1 $\alpha$  在原代急性髓系白血病细胞中的表达及其与预后的关系[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 23(1): 19-23.
- [25] 陈丽, 胡宁, 王超, 等. 低氧对人白血病细胞株 K562 细胞增殖及 HIF-1 $\alpha$  表达的影响[J]. *中国实验血液学杂志*, 2018, 26(1): 47-51.
- [26] 王超雨. 新型全人源化 CD47 单抗抗白血病效应及调控 CD47 表达的机制研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2019.
- [27] ANSELL S M, MARIS M B, LESOKHIN A M, et al. Phase I study of the CD47 blocker TTI-621 in patients with relapsed or refractory hematologic malignancies[J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(8): 2190-2199.
- [28] NARLA R K, MODI H, BAUER D, et al. Modulation of CD47-SIRP $\alpha$  innate immune checkpoint axis with Fc-function detuned anti-CD47 therapeutic antibody[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2022, 71(2): 473-489.
- [29] MA L, ZHU M, GAI J, et al. Preclinical development of a novel CD47 nanobody with less toxicity and enhanced anti-cancer therapeutic potential [J]. *J Nanobiotechnology*, 2020, 18(1): 12.