免疫治疗重要靶点：CD19

CD19是B细胞的生物标志物。据不完全统计，全世界已有300多个已完成和正在进行的CAR-T临床试验，其中约150个针对CD19，占总数的50%。CD19显然是目前CAR-T免疫治疗最重要的分子生物标志物。

CD19是B细胞的生物标志物。据不完全统计，全世界已有300多个已完成和正在进行的CAR-T临床试验，其中约150个针对CD19，占总数的50%。CD19显然是目前CAR-T免疫治疗最重要的分子生物标志物。

CD19的结构

人CD19属于免疫球蛋白（Ig）超家族，是一种95kd跨膜糖蛋白。它由位于人16号染色体16p11.2短臂上的cd19基因编码。该基因含有15个外显子和编码CD19分子的代码，含有556个氨基酸。在小鼠和人之间表现出广泛的保守性。小鼠同源基因位于小鼠。

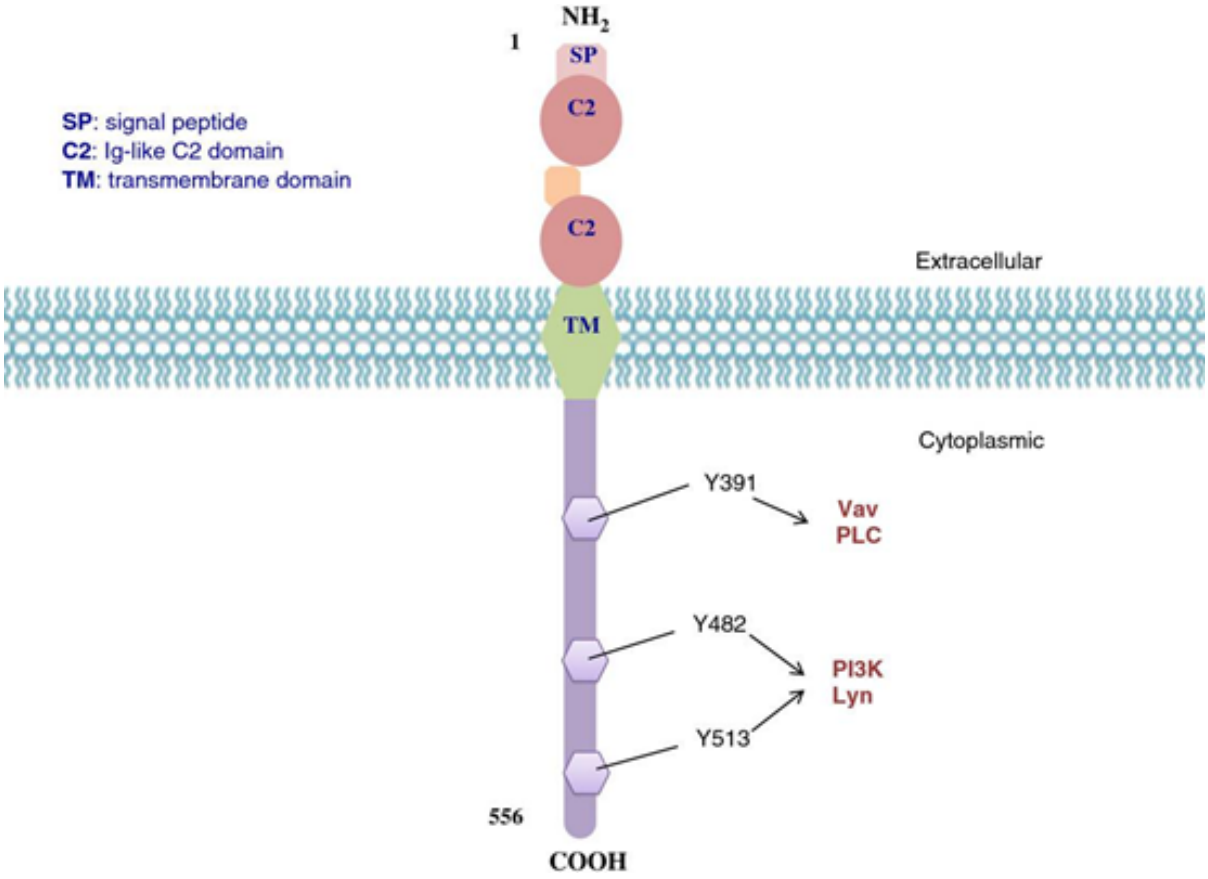

图1．CD19分子结构。（图片来自Exp Hematol Oncol. 2012; 1: 36）CD19: abiomarker for B cell development, lymphoma diagnosis and therapy

CD19为I型跨膜蛋白，具有单个跨膜结构域、胞内C末端和胞外N末端。胞外段含有两个C2型Ig样结构域。胞内结构域高度保守，由242个氨基酸组成，在C末端附近有9个酪氨酸残基。多项研究表明，CD19的生物学功能依赖于三个细胞质酪氨酸残基：Y391，Y482和Y513。

CD19的表达

1983年，Lee M. Nadler及其同事通过使用B4单克隆抗体首次将CD19鉴定为人B淋巴细胞的B4抗原。CD19在正常和肿瘤性B细胞以及滤泡树突细胞中特异性表达。在B细胞生成期间，CD19最先发生在免疫球蛋白基因重排时。在此过程中，Pax5是CD19正常表达所必需的。CD19在B细胞成熟并最终分化为浆细胞的整个过程都表达。成熟B细胞中的CD19表达比未成熟B细胞高3倍，B1细胞中的表达略高于B2（常规B）细胞。而在造血干细胞、浆细胞、T 细胞及其 他组织中则没有表达。CD19是B细胞最可靠的表面生物标志物之一。

CD19的表达在大多数B细胞肿瘤中高度保守，在大多数急性淋巴细胞白血病（ALL），慢性淋巴细胞白血病（CLL）和B细胞淋巴瘤中表达。

CD19的生理功能

CD19在B细胞活化以及信号传到中起协同受体作用，调节B细胞活化及增殖，参与B细胞的信号传导功能，并介导T细胞对靶细胞杀伤。

CD19通过调节B细胞受体（B cell receptor, BCR）依赖性和非依赖方式调节B细胞发育、增值与分化。CD19与CD21、四跨膜蛋白CD81（TAPA-1）以及CD225共同形成信号转导复合物（图2）。CD19复合物通过调节内源性和受体诱导的信号来降低BCR介导的B细胞激活阈值。

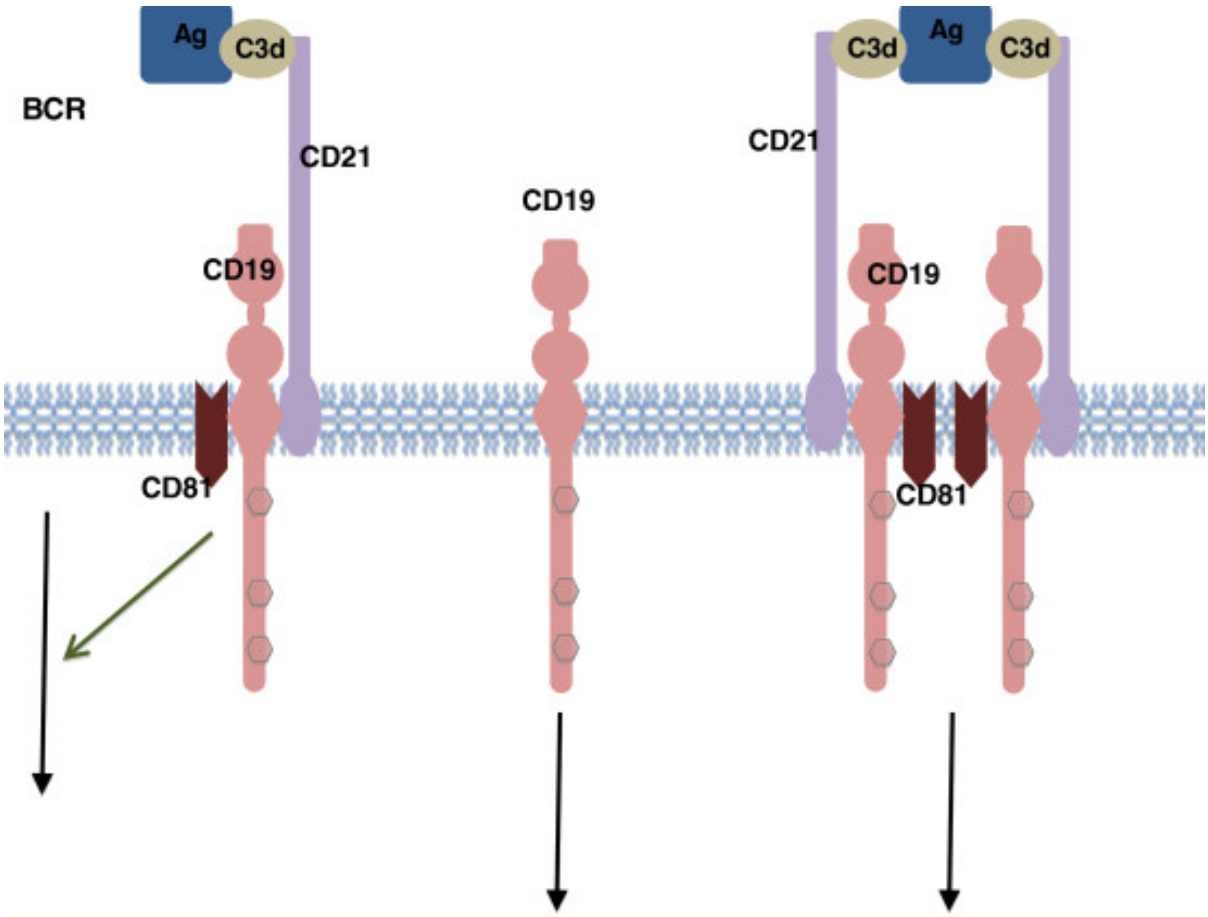

图2.CD19相关信号复合物。抗原-C3d复合物可以以BCR非依赖性或BCR依赖性方式与CD19/21复合物结合。（图片来自Exp Hematol Oncol. 2012; 1: 36）

CD19与BCR和其他表面分子结合，可以直接和间接地募集和结合各种下游蛋白激酶。与CD19复合物相互作用的蛋白激酶包括属于Src家族（Lyn，Fyn），Ras家族，Abl，Btk，衔接分子（Vav，Grb2）和PI3K的蛋白激酶等。Src家族蛋白在细胞表面脂筏的聚集增强BCR信号。在BCR激活后，CD19还通过募集和激活PI3K和下游Akt激酶来增强BCR诱导的B细胞扩增信号传导。

CD19被认为在B细胞活化中起双重作用。第一，它起衔接蛋白的作用，将细胞质内的信号蛋白募集到膜上。第二，当与BCR结合时作为CD19 / CD21复合物的信号亚基，补体通过BCR-CD19 / CD21结合增强B细胞活化。

CD19与疾病

自身免疫和免疫缺陷

CD19的突变与严重的免疫缺陷综合征相关，其特征是抗体产生减少。研究表明，CD19缺陷型人和小鼠对跨膜信号的反应性较弱，而T细胞依赖性体液反应较弱，导致体液免疫反应整体受损。有一种假设认为CD19可能在体内调节MHC II类表达和信号传导中起重要作用。因此，CD19可作为各种自身免疫性疾病（包括类风湿性关节炎和多发性硬化症）的潜在免疫治疗靶点。

癌症

CD19在大多数急性淋巴细胞白血病（ALL），慢性淋巴细胞白血病（CLL）和B细胞淋巴瘤中表达。事实上，80％的ALL、88％的B细胞淋巴瘤和100％的B细胞白血病表达正常至高水平的CD19。相反，其他B细胞恶性肿瘤CD19水平降低。

CD19已经作为淋巴瘤和白血病的潜在治疗靶点。各种靶向CD19的双特异性抗体、ADC、Fc工程化抗体和CAR-T细胞等免疫治疗方法在临床试验中取得了令人鼓舞的结果。

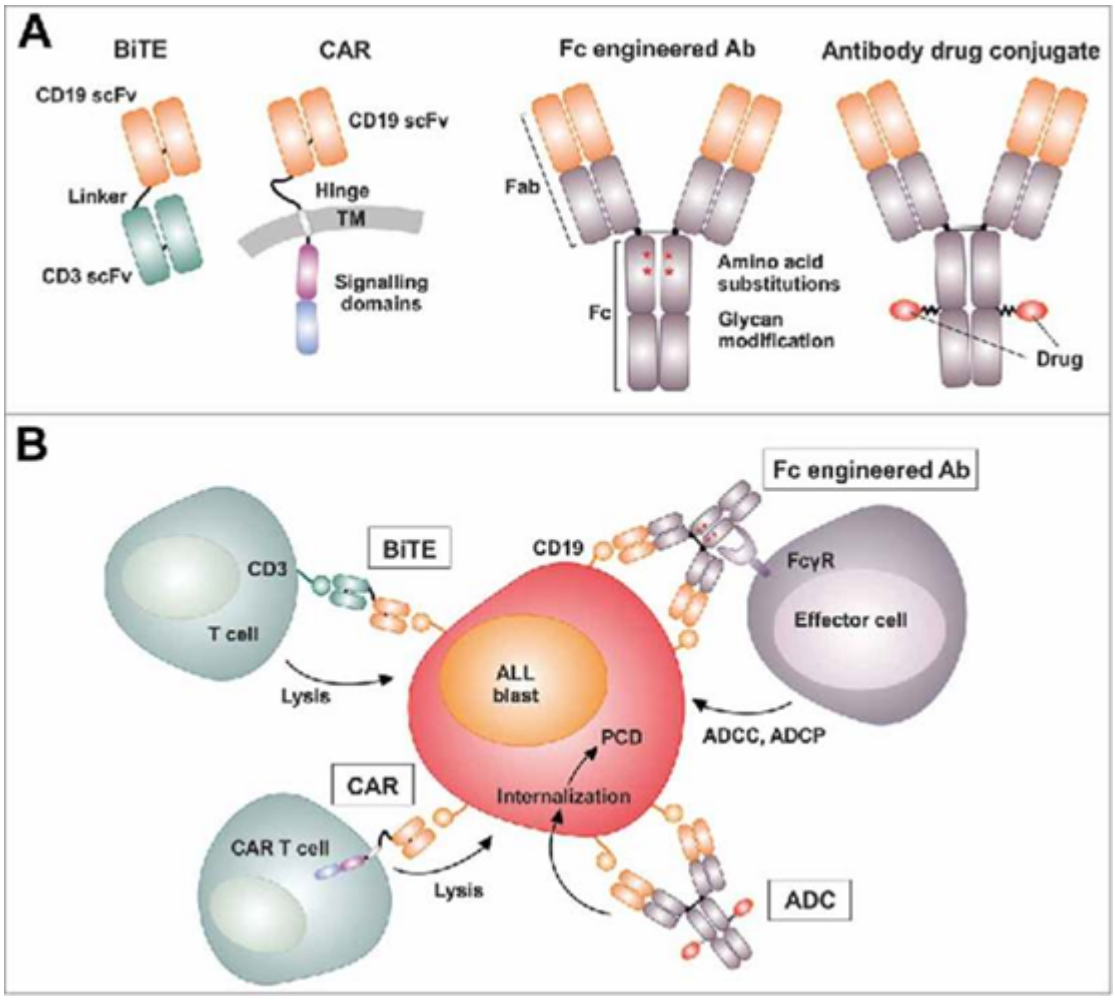

图3. CD19抗体构建的设计和CD19靶向策略。（图片来自Oncoimmunology. 2018; 7(8): e1448331.）

Blincyto (Blinatumomab)——Amgen

FDA于2018年3月已批准将Blincyto用于微小残留病（MRD）阳性前体B细胞急性淋巴细胞白血病（pre-B ALL）成人及儿童患者的治疗。Blincyto是全球获批的首个也是唯一一个CD19-CD3双特异性T细胞衔接（BiTE）免疫疗法，能够通过将肿瘤细胞上的CD19蛋白呈递给T细胞特异表达的CD3蛋白，进而激活免疫系统识别并杀灭肿瘤细胞。

SAR3419 —— Immunogen

SAR3419是目前正在进行2期研究的抗CD19 抗体药物偶联物（ADC），由CD19-结合抗体及一种强效细胞

杀伤剂DM4组成。在与细胞表面上的CD19结合后，SAR3419将DM4递送到细胞中，导致干扰肿瘤细胞微管组装、抑制肿瘤细胞生长。

MEDI-551——AstraZeneca

MEDI-551是Fc段糖基化修饰的人源化抗CD19单克隆抗体，以高亲和力靶向结合CD19蛋白，该蛋白表达于广泛的B细胞上，包括名为浆母细胞（plasmablast）的特定B细胞。目前，MEDI-551正处于一个全球临床试验，调查用于NMO和NMOSD的潜在治疗。此外，MEDI-551治疗弥漫性大B细胞淋巴瘤已处于II期临床。

MOR208——MorphoSys

MOR208是针对CD19的Fc工程化单克隆抗体，正在进行单组2期临床试验L-MIND。

Sponsor	Program	Class	MOA	Phase	Indications
Amgen	Blinatumomab	Bispecific scFv-CD19×CD3 (BiTE)	T-cell recruitment	2	ALL, DLBCL
Sanofi-Aventis	SAR3419	Antibody-drug conjugate	Delivery of toxic payload	2	DLBCL, ALL
Medimmune (AstraZeneca)	MEDI-551	Glyco-engineered antibody	Enhanced ADCC	2	DLBCL, CLL, MS
Montefiore Medical Center	Combotox	scFv immunotoxins (CD19, CD22)	Delivery of toxic payload	1	ALL
NCI	DT2219ARL	Bispecific immunotoxin- CD19/CD22	Delivery of toxic payload	1	B-cell malignancies
Morphosys/Xencor	MOR-208/Xmab5574	Fc engineered antibody	Enhanced ADCC	1	CLL
Xencor/Amgen	XmAb-5871	Fc engineered antibody	B-cell inhibition via CD32B	1	RA, SLE
Bristol-Myers Squibb	MDX-1342	Glyco-engineered antibody	Enhanced ADCC	1 (on hold)	CLL, RA
NCI	CD19-CAR	Chimeric antigen receptor (CAR)	Engineered T-cells (CD28)	1	NHL, CLL
University of Pennsylvania	CART19	Chimeric antigen receptor (CAR)	Engineered T-cells (4-1BB)	1	CLL
Seattle Genetics	SGN-19A	Antibody-drug conjugate	Delivery of toxic payload	Preclinical	
Affimed	AFM11	Tetravalent bispecific antibody-CD19×CD3	T-cell recruitment	Preclinical	
Glenmark	GBR401	Naked antibody	ADCC	Preclinical	
Macrogenics	CD19×CD3 DART	Bispecific scFv- CD19×CD3 (DART)	T-cell recruitment	Preclinical	

Notes: *MAbs*, Landes Bioscience, 2012. Copyright and all rights reserved. Material from this publication has been used with the permission of Landes Bioscience. Hammer O. CD19 as an attractive target for antibody-based therapy. *MAbs*. 2012;4(5):571–577.[31] Copyright © 2012, Landes Bioscience.
Abbreviations: CD, cluster of differentiation; BiTE, bispecific T-cell engager; ALL, acute lymphoblastic leukemia; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma; ADCC, antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity; CLL, chronic lymphocytic leukemia; MS, multiple sclerosis; NCI, National Cancer Institute; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus; CAR, chimeric antigen receptors; NHL, non-Hodgkin lymphoma; DART, dual-affinity re-targeting; MOA, mode of action.

图4. CD19免疫疗法研发项目（图片来自Immunotargets Ther. 2014 Apr 9;3:79-89.）

Table 1. Selected antibody therapies targeting CD19

Antibody	Type of antibody	Phase	Subjects	Study treatment	Trial identifier
MOR208 (XmAb5574)	Fc-engineered antibody	Phase IIa	B-NHL	Single agent	NCT01685008
		Phase II	DLBCL	MOR208+lenalidomide	NCT02399085
		Phase II/III	DLBCL	MOR208+bendamustine versus BR	NCT02763319
Inebilizumab (MEDI-551)	Glycoengineered antibody	Phase I/II	B-NHL	Single agent and MEDI-551+R	NCT00983619
		rPhase II	CLL	MEDI-551+bendamustine versus BR	NCT01466153
		rPhase II	DLBCL	MEDI-551-Salvage Cx versus R-Salvage Cx	NCT01453205
MDX-1342	Glycoengineered antibody	Phase I	CLL	Single agent	NCT00593944
Denintuzumab mafodotin (SGN-19A)	ADC conjugated MMAF	Phase I	B-NHL	Single agent	NCT01786135
		rPhase II	DLBCL	SGN-19A+R-ICE versus R-ICE	NCT02592876
		rPhase II	DLBCL	SGN-19A+R-CHOP or CHP versus R-CHOP	NCT02855359
Coltuximab ravtansine (SAR3419)	ADC conjugated DM4	Phase II	DLBCL	SAR3419+R	NCT01470456

ADC, antibody-drug conjugate; B-NHL, B-cell non-Hodgkin's lymphoma; BR, bendamustine plus rituximab; CHOP, cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisolone; CLL, chronic lymphocytic leukemia; Cx, chemotherapy; DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma; ICE, ifosfamide, carboplatin, etoposide; MMAF, monomethyl auristatin F; R, rituximab; rPhase II, randomized phase II.

图5. 针对B细胞非霍奇金淋巴瘤的CD19靶向的抗体疗法。（图片来自J Oncol Pharm Pract. 2018Sep;24(6):453-467.）

CD19人源化小鼠

南模生物自主研发的CD19人源化小鼠，经验证该人源化纯合子小鼠外周血和脾脏的淋巴细胞都可以检测到人源CD19的活跃表达。

验证数据

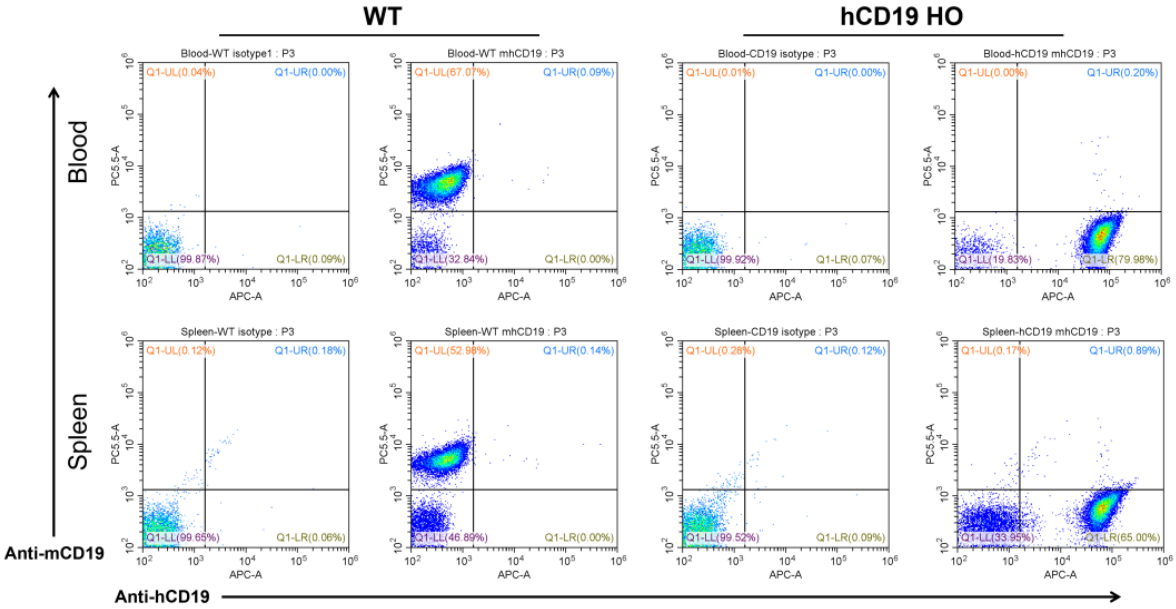

图6. FACS 检测CD19人源化小鼠外周血和脾脏淋巴细胞人源CD19的表达。