

嵌合抗原受体修饰的 CAR-T/NK 细胞 在多发骨髓瘤治疗中的应用

王蕾^{1,2}, 欧剑锋², 白海^{2*}

¹兰州大学第二临床医学院血液科, 甘肃兰州 730050;

²兰州军区兰州总医院血液科, 全军血液病中心, 甘肃兰州 730050;

摘要 嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR)是一种合成跨膜蛋白,通过抗肿瘤细胞上的特异性或相关性抗原来重新定向被修饰的细胞。CAR修饰的T/NK细胞,特别是CAR-T细胞是近年来迅速发展的肿瘤过继免疫治疗新手段,它赋予T/NK细胞靶向杀伤活性,并可克服肿瘤局部免疫抑制微环境和打破宿主免疫耐受状态。CAR将识别肿瘤相关抗原的单链抗体和T/NK细胞的活化基序相结合,通过基因转导赋予T/NK细胞肿瘤靶向性、更强的杀伤活性和持久的生命力。本文就CAR发展、CAR-T和CAR-NK细胞的比较、MM细胞的表面标记和CAR在MM中的应用及CAR-T/NK细胞的前景进行综述。

关键词 多发骨髓瘤;嵌合抗原受体;过继免疫治疗

中图分类号 R733.3

文献标识码 A

doi:10.7534/j.issn.1009-2137.2015.02.053

Application of Chimeric Antigen Receptor-Modified CAR-T/NK Cells to Treatment of Multiple Myeloma—Review

WANG Lei^{1,2}, OU Jian-Feng², BAI Hai^{2*}

¹Department of Hematology, The second Clinical Medical College, Lanzhou University, Lanzhou 730050, Gansu Province, China;

²Department of Hematology, Center of Hematologic Diseases of Chinese PLA; Lanzhou Military Command General Hospital, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

* Corresponding Author: BAI Hai, Senior Physician, Tutor of Master Postgraduate. E-mail: baihai98@tom.com

Abstract Chimeric antigen receptor (CAR) is a synthesized transmembrane protein, which redirects the modified cells through specific or associated antigen on tumor cells. CAR-modified T/NK cells, especially CAR-T cells, are a new tool of rapidly developing of adoptive immunotherapy of tumor in recent years, they give T/NK cells the targeting cytotoxic activity and can overcome the tumor immunosuppressive microenvironment and break the state of the host immune tolerance. CAR combines the single-chain antibody to tumor-associated antigen with T/NK cells' activated motifs, giving T/NK cells' tumor targeting activity, so enhancing their cytotoxic activity and lasting the vitality by gene transduction. In this article the CAR development, comparison of CAR-T and CAR-NK cells, surface markers on MM cells and use of CAR in MM, and CAR perspectives are summarized.

Key words multiple myeloma; chimeric antigen receptor; adoptive immunotherapy

J Exp Hematol 2015; (2):568-572

多发骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种以异常浆细胞增生导致的单克隆免疫球蛋白聚集为特征的恶性肿瘤,可引起多种临床症状,如疼痛、溶骨性病变、高钙血症、肾功能损害、血细胞减少症、症状性浆细胞产生等。近年来,随着我国人口老龄化及诊断水平的进步,该病发病率有不断上升的趋势,而目前常用的化疗及干细胞移植均无法实现治愈,且受制于患者年龄、脏器功能等多方面因素^[1]。目前嵌合抗原受体修饰的T/NK细胞(chimeric antigen receptor-modified T/NK cells, CAR-T/NK)被认为是类同于异基因造血干细胞移植的一种很有潜力的治疗手段,而且不会发生同种异体移植物抗宿主

病^[2]。无论是初次诊断的MM、复发难治性MM,还是已行造血干细胞移植的患者,均可应用CAR进行治疗^[3]。将嵌合抗原受体修饰的T/NK细胞作为免疫治疗应用于临床是一项非常成功的转化研究。

多发骨髓瘤的治疗现状

多发骨髓瘤约占血液系统恶性肿瘤的10%。随着

* 通讯作者:白海,主任医师,硕士生导师。E-mail: baihai98@tom.com

2014-03-31 收稿; 2014-05-05 接受

我国人口老龄化,MM 骨髓瘤将成为影响人民健康的严重疾病。为了规范 MM 的治疗,我国制定了《多发性骨髓瘤诊治指南》,并于 2011 年进行了修订。近年来随着《多发性骨髓瘤诊治指南》的广泛推广,免疫调节类药物沙利度胺及其衍生物(雷利度胺、泊马度胺)、蛋白酶体抑制剂(如硼替佐米)、大剂量马法兰的使用,特别是自体造血干细胞移植比例的增加以及临床试验的出现,MM 患者的缓解率及生存率较前大为改善。目前,多发性骨髓瘤患者的中位生存期已超过 7 年^[4]。但是,疗效的有限性以及移植相关的高死亡率限制了自体造血干细胞移植的应用^[3]。目前的治疗方案只能达到缓解,大多患者最终还是复发或者死亡^[5-6]。因此迫切需要寻找更加安全、有效、靶向性强且副作用轻的治疗方法。CAR 的发展,为临床带来了新的治疗希望,特别是对于已出现耐药的患者,作为过继免疫治疗的 CAR 有很好的治疗效果。

CAR 的发展

CAR 是基因修饰的能和肿瘤表面抗原特异性结合的受体^[7]。主要由两部分构成,抗原识别部分(即胞外部分)和细胞激活部分(即胞内区域)^[8-9]。胞外区域能和抗原特异性结合,胞内区域在胞外区域和抗原结合后能启动细胞活化所必需的信号^[10]。CAR 的特异性主要在于抗体的 Fab 区域,通常将其设计成单链可变片段^[2]。而 CAR 的信号域却来自 T 细胞自身的 CD3 ζ 区域,此信号域可和共刺激蛋白融合在一起而形成共刺激信号域,从而促进 T 细胞增殖、释放细胞因子、抗细胞凋亡等。CAR 将抗体对肿瘤抗原的高亲和性和 T 细胞的杀伤机制结合,通过基因转染 T 淋巴细胞,使其能特异性的杀伤肿瘤细胞^[11]。

第 1 代 CAR 由 scFv 单链抗体和 ITAM(免疫受体酪氨酸活化基序组成)。Ma 等^[12]通过实验证明了其可行性,但 ITAM 发出的激活信号只能引起 T 细胞短暂的分裂和较低水平的细胞因子分泌,不能提供长时间的多克隆扩增和持续的体内抗肿瘤效应。依照 T 淋巴细胞活化的双信号模型,第 2 代 CAR 在第一代的基础上,引入了一个共刺激分子信(如 CD28、CD27、CD134、CD137、CD244 等),已有研究证明第二代 CAR 可提高 T 细胞的细胞毒性、增殖活性、存活时间,增加抗原诱导的细胞因子释放,上调抗细胞凋亡蛋白。这些作用增强了 T 细胞对目标肿瘤细胞的杀伤作用^[13-14];第 3 代 CAR 是将

两个共刺激基序(如 4-1BB/CD28、CD28/OX-40)和 CD3 ζ 结合,进一步提高 T 细胞的信号转导功能^[15]。CAR 的发展将促进肿瘤的免疫治疗走向个体化^[10]。

CAR-T 和 CAR-NK 细胞的比较

NK 细胞是定义为表型为 CD3⁻CD56⁺ 的淋巴细胞,属于固有免疫应答细胞,其杀伤活性不受细胞 MHC 限制,能快速溶解靶细胞^[16]。与 CD8⁺ 的毒性 T 淋巴细胞不同,NK 细胞的抗肿瘤毒性不需要事先致敏,并且还可以消除 MHC-I 阴性的细胞^[17]。NK 细胞是一个非常安全的效应细胞,因为他们可以避免细胞因子风暴^[18]、肿瘤溶解综合症^[19]。NK 细胞作为肿瘤免疫治疗,目的是使用不同方法(如使用异体 NK 细胞或者细胞系、基因修饰 NK 细胞或者细胞系)来克服 NK 细胞麻痹,特别是采用嵌合抗原受体修饰的 NK 细胞,可有效的提高 NK 细胞的抗肿瘤效应^[20]。在 NK 细胞的多个细胞系(如 YT、NKL、HANK-1 等)中,NK-92 细胞在过继免疫治疗方面有广阔的前景,因为它几乎缺失所有的抑制性杀伤细胞免疫球蛋白受体(KIRs),同时高表达一系列的激活性受体,且含有丰富的穿孔素和颗粒酶,因此它对肿瘤细胞不但具有很强的杀伤效应而且杀瘤谱广,同时它也是唯一经美国 FDA 批准进行临床研究的 NK 细胞系^[16,20]。已有体内、体外实验证明了 CAR-NK 在抗 MM 中的显著效果^[16,21]。

T 细胞在 20 多年前就可携带外源基因安全的进入人体内^[22]。T 细胞很容易获得,在体外可被有效地诱导,并能大量增殖。T 细胞的这种特点可高度允许逆转录病毒引入外源基因进入 T 细胞^[23]。采用现代基因转导技术,可赋予 T 细胞新的特性,经过修饰的 T 细胞可在其表面稳定的表达抗原结合域,在识别靶抗原的同时,无 MHC 限制性^[24-25]。Kalos 等^[24]人在用抗 CD19 修饰的第二代 CAR-T 细胞进行治疗进展性 CLL 时发现,CAR-T 细胞在体内扩增速度快甚至可达 1 000 倍以上,持续时间超过 6 个月。不但消除了肿瘤细胞,一部分细胞还以记忆性 CAR-T 在体内持续存在。在临床上,CAR T 细胞可诱导细胞因子风暴^[18,26],而 NK 细胞因缺乏克隆扩增则成为相对安全的效应细胞,但这又限制了它的有效性^[21]。CAR-NK 可用于同种异基因移植,可增强移植抗肿瘤作用,而不引起移植物抗宿主病^[27]。但 CAR-NK 的转导技术和持久的增值能力不如 CAR-T 细胞^[20,28]。在临床和科研工作中,

CAR-T 的应用经验较 CAR-NK 更加成熟,所取得成果更加显著。

MM 细胞的表面标记和 CAR 在 MM 中的应用现状

目前,抗 CD19 抗原修饰的 CAR 在治疗 B 细胞恶性肿瘤的临床试验中已取得了令人欣喜的结果^[13-29]。已有体外实验证明抗 CD19 修饰的 CAR-T 细胞成功治愈了小鼠的白血病和淋巴瘤^[30-31]。但是 CD19 在 MM 细胞上是很少表达的^[32],因此在使用 CAR 治疗 MM 还需要寻找其他相关性靶抗原。对于多发性骨髓瘤,寻找合适的、独特的表面抗原标记是一项具有挑战性的任务。

合适的抗原

要实现 CAR T/NK 细胞对 MM 的有效治疗,选择合适的抗原尤为重要,该抗原必须满足以下几点^[2]: 抗原必须表达在细胞表面。此抗原不能表达在重要的器官或者细胞(如造血干细胞)。若健康组织不同程度的表达肿瘤靶抗原,健康组织同样也会受到攻击,发生自身免疫不良事件。为了避免抗原逃逸而造成脱靶效应,所有的肿瘤细胞必须表达此抗原,或者此抗原为维持肿瘤发生必不可少的表型。

免疫球蛋白轻链

免疫球蛋白轻链是一个很有前景的靶目标,因为 B 细胞恶性肿瘤是轻链限制性的,即患者的肿瘤细胞要么分泌 Kappa 轻链,要么分泌 Lambda 轻链。该轻链以单体形式出现。这样抗轻链修饰的 CAR 只会消除表达某种轻链的肿瘤蛋白,而有望留下正常未表达靶目标的 B 细胞,这样可能会减少免疫抑制等的发生。目前,美国贝勒医学院正在进行用抗 Kappa 轻链的第 2 代 CAR 治疗包括 MM 在内的 B 细胞肿瘤的临床试验^[3]。但是这种方法有一个潜在的缺点,几乎所有的 MM 都分泌免疫球蛋白,却只有少数表达细胞膜表面免疫球蛋白,况且在疾病的发展阶段,肿瘤细胞通常会下调免疫球蛋白的产生^[33-34],使 CAR 的靶向性和治疗性减弱。

CD138

CD138 (也称作 syndecan-4) 是一种细胞膜硫酸肝素蛋白多糖,主要表达在肿瘤和非肿瘤性浆细胞,以及上皮细胞^[35-36]。CD138 主要通过 I 型胶原蛋白介导 MM 在 MM 患者中几乎均可测到 CD138 的表达,而且 CD138 的表达越高,患者的疾病负担也就越

重^[37-38]。CD138 可调节许多不同生长因子和细胞因子的活性,控制肿瘤细胞的生长、存活、粘附以及成骨细胞的分化^[39]。靶向 CD138 抗原的免疫治疗策略可能代表了多发性骨髓瘤新的治疗选择^[40]。目前,中国人民解放军总医院正在使用抗 CD138 蛋白修饰的第二代 CAR 进行 I/II 临床试验。但此方法有一个非常明确的潜在风险,由于 CD138 也表达于上皮细胞,所以也会攻击上皮细胞而产生毒性。虽然 CD138 的表达是浆细胞和 MM 细胞的特点,但在 MM 患者中,可常常观察到 CD138 表达下降,其临床机制尚未完全清楚^[41]。已有研究证明,在 CD138 表达阴性或者低表达的 MM 的克隆体系中,伴随着较高的细胞集落形成^[42-43]。这些细胞集落的形成是否与临床并发症有关还不清楚,但它们的存在,提供了肿瘤细胞逃避抗 CD138 蛋白修饰的 CAR 攻击的一种可能机制。

B 细胞成熟抗原

B 细胞成熟抗原 (B-cell maturation antigen, BCMA) 研究表明,BCMA 普遍表达于成熟 B 细胞和浆细胞表面,能促进两者的存活^[2],在治疗多发性骨髓瘤上是一个有前景的靶目标。BCMA 是肿瘤坏死因子超家族成员,BCMA 可结合 B 细胞活化因子和增殖诱导配体^[44]。Carpenter 等^[45]学者已证实,抗 BCMA 修饰的第 2 代 CAR 治疗 MM 的有效性,并通过流式细胞仪、定量 PCR、免疫组织化学等方面,发现 BCMA 呈现出一个非常有限的 RNA 表达模式。除浆细胞外,BCMA 蛋白在正常组织上未检出,在 CD34⁺ 的造血细胞上也未检出。但是大多健康组织中均有浆细胞存在,这就表明,抗 BCMA 修饰的 CAR 既存在良好的治疗效果,同时也伴随着毒性作用。

CS1 蛋白

Hsi 等^[46]人通过高通量筛选的方法,证明细胞表面糖蛋白 CS1 在 MM 细胞表面选择性高表达,在初发的 MM 细胞和正常浆细胞表面高表达,同时在 NK 细胞和 T 细胞亚群上低表达,在浆细胞、健康组织及造血干细胞上不表达。此抗原可成为免疫治疗的一个靶位点。使用 CS1 定向的单克隆抗体治疗 MM,其可阻止骨髓瘤细胞粘附在骨髓基质细胞上,诱导 NK 细胞介导的 ADCC 作用,促进 NK 细胞的激活,证明了 CS1 可作为治疗 MM 的潜在靶点^[47-48],并且不会引起正常细胞(包括 T 和 NK 等免疫细胞)的严重受损^[49]。Chu 等^[21]人用抗 CS1 蛋白修饰的 CAR-NK 细胞在体外证明了其有效性,

并通过向小鼠模型输注 CAR-NK ,延长了小鼠的生存时间。CS1 促进多发性骨髓瘤细胞的粘附、肿瘤细胞生长,并通过 c-maf-mediated 与骨髓间充质干细胞的相互作用而致瘤^[50]。同样,使用 CS1 作为靶抗原也存在着一些未知的潜在风险^[3]。

也有学者采用其他抗原作为治疗 MM 的靶抗原(如选用 CD70^[51]、CD74^[52]、CD38^[53]等)。截至目前,还是没有发现一个特异性的用于治疗 MM 的靶抗原,因为表达在 MM 细胞上的大多数蛋白也表达在健康组织或者细胞上。虽然 CAR 在临床取得了令人鼓舞的成果,但也不能忽视传统的治疗方法。研究证明,将免疫治疗和传统治疗方法(如放疗、化疗)结合,会产生协同的抗肿瘤效应,增加总生存率^[54]。

存在的问题和展望

在应用 CAR 治疗时,需要考虑到它潜在的长期毒性,例如在一些接受抗 CD19 修饰的 CAR 治疗的患者中出现了 B 细胞发育不全、低丙球蛋白血症等。自 1989 年 Gross 等^[55]首次提出 CAR 以来,CAR 已从第 1 代发展至含有共刺激分子的第 2、3 代,CAR 的 I / II 期临床试验在白血病、淋巴瘤等恶性肿瘤中取得了令人鼓舞的成果,但是同时也面临着一些问题。目前所选取的许多针对肿瘤组织的抗原,健康组织同样也有表达,在健康组织和恶性肿瘤都表达的情况下,T 细胞是没有办法识别两者,这就限制了 CAR 的应用^[56]。所以还需进一步研究肿瘤细胞的表面标记,发现肿瘤特异性抗原;第 2 代 CAR 特别是第 3 代 CAR,有着持久的细胞因子分泌能力,很有可能造成细胞分泌不良事件。Morgan 等^[18]在用抗 ERBB-2 修饰的 CAR-T 细胞治疗一名结肠癌患者时,就由于发生细胞因子释放综合征而导致了患者死亡。目前,研究者正在通过安装人工基因调控系统、选取不同类型抗原和优化共刺激分子、确定合理的治疗窗和选取更加有利的靶抗原、筛选最佳治疗潜质的 T 细胞亚群来提高 CAR 修饰 T 细胞的有效性和安全性,相信随着研究的不断深入,基于 CAR 的免疫治疗新策略会给肿瘤患者带来新的希望,CAR 有望成为主流的肿瘤治疗方法。

参 考 文 献

- 刘保兰,刘心,周素岑,等. 奥沙利铂诱导人骨髓瘤细胞 RP-M18226 凋亡机制的实验研究. 中国实验血液学杂志,2013; 21(1):99-104.
- Maus MV, June CH. Zoom zoom: racing CARs for multiple myeloma. *Clin Cancer Res*,2013; 19(8): 1917-1919.
- Garfall AL, Fraietta JA, Maus MV. Immunotherapy with Chimeric Antigen Receptors for Multiple Myeloma. *Discov Med*,2014; 17(91): 37-46.
- Anderson KC. The 39th David A. Karnofsky Lecture: bench-to-bedside translation of targeted therapies in multiple myeloma. *J Clin Oncol*,2012; 30(4): 445-452.
- Lonial S, Mitsiades CS, Richardson PG. Treatment options for relapsed and refractory multiple myeloma. *Clin Cancer Res*,2011; 17(6): 1264-1277.
- Rajkumar SV. Treatment of multiple myeloma. *Nat Rev Clin Oncol*,2011; 8(8): 479-491.
- Brown CE, Starr R, Aguilar B, et al. Stem-like tumor-initiating cells isolated from IL13Rα2 expressing gliomas are targeted and killed by IL13-zetakine-redirected T cells. *Clin Cancer Res*,2012; 18(8): 2199-2209.
- Kershaw MH, Teng MWL, Smyth MJ, et al. Supernatural T cells: genetic modification of T cells for cancer therapy. *Nat Rev Immunol*,2005; 5(12): 928-940.
- Eshhar Z, Waks T, Gross G, et al. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Nat Acad Sci USA*,1993; 90(2): 720-724.
- Park TS, Rosenberg SA, Morgan RA. Treating cancer with genetically engineered T cells. *Trends Biotechnol*,2011; 29(11): 550-557.
- Sadelain M, Brentjens R, Riviere I. The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors. *Current Opin Immunol*,2009; 21(2): 215-223.
- Ma Q, Gonzalo-Daganzo RM, Junghans RP. Genetically engineered T cells as adoptive immunotherapy of cancer. *Cancer Chemother Biol Response Modif*,2001; 20: 315-341.
- Savoldo B, Ramos CA, Liu E, et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest*,2011; 121(5): 1822-1826.
- Song DG, Ye Q, Poussin M, et al. CD27 costimulation augments the survival and antitumor activity of redirected human T cells *in vivo*. *Blood*,2012; 119(3): 696-706.
- Zhong XS, Matsushita M, Plotkin J, et al. Chimeric antigen receptors combining 4-1BB and CD28 signaling domains augment PI3kinase/AKT/Bcl-XL activation and CD8+ T Cell-mediated tumor eradication. *Mol Ther*,2010; 18(2): 413-420.
- Qian X, Wang X, Jin H. Cell transfer therapy for cancer: past, present, and future. *J Immunol Res*,2014(online): 525913.
- Narni-Mancinelli E, Vivier E, Kerdiles Y M. The 'T-cell-ness' of NK cells: unexpected similarities between NK cells and T cells. *Int Immunol*,2011; 23(7): 427-431.
- Morgan RA, Yang JC, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther*,2010; 18(4): 843-851.
- Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med*,2011; 365(8): 725-733.
- Cheng M, Chen Y, Xiao W, et al. NK cell-based immunotherapy for malignant diseases. *Cell Mol Immunol*,2013; 10(3): 230-252.
- Chu J, Deng Y, Benson DM, et al. CS1-specific chimeric antigen receptor (CAR)-engineered natural killer cells enhance *in vitro* and *in vivo* antitumor activity against human multiple myeloma. *Leukemia*,2014;28(4):917-927.
- Kerkar SP. "Model T" cells: a time-tested vehicle for gene therapy.

- Fronti Immunol ,2012; 4: 304–304.
- 23 Kershaw MH ,Westwood JA ,Darcy PK. Gene-engineered T cells for cancer therapy. *Nature Rev Cancer* ,2013; 13(8) : 525–541.
 - 24 Kalos M ,Levine BL ,Porter DL ,et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* ,2011; 3(95) : 95ra73–95ra73.
 - 25 Ito F ,Chang AE. Cancer immunotherapy: current status and future directions. *Surg Oncol Clin N Am* ,2013; 22(4) : 765–783.
 - 26 Grupp SA ,Kalos M ,Barrett D ,et al. Chimeric antigen receptor-Modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* ,2013; 368(16) : 1509–1518.
 - 27 Olson JA ,Leveson-Gower DB ,Gill S ,et al. NK cells mediate reduction of GVHD by inhibiting activated, alloreactive T cells while retaining GVT effects. *Blood* ,2010; 115(21) : 4293–4301.
 - 28 Koepsell SA ,Miller JS ,McKenna Jr DH. Natural killer cells: a review of manufacturing and clinical utility. *Transfusion* ,2013; 53(2) : 404–410.
 - 29 Kochenderfer JN ,Dudley ME ,Feldman SA ,et al. B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood* ,2012; 119(12) : 2709–2720.
 - 30 Cheadle EJ ,Hawkins RE ,Batha H ,et al. Natural expression of the CD19 antigen impacts the long-term engraftment but not antitumor activity of CD19-specific engineered T cells. *J Immunol* ,2010; 184(4) : 1885–1896.
 - 31 Kochenderfer JN ,Yu Z ,Fraseri D ,et al. Adoptive transfer of syngeneic T cells transduced with a chimeric antigen receptor that recognizes murine CD19 can eradicate lymphoma and normal B cells. *Blood* ,2010; 116(19) : 3875–3886.
 - 32 Gupta R ,Bhaskar A ,Kumar L ,et al. Flow cytometric immunophenotyping and minimal residual disease analysis in multiple myeloma. *Am J Clin Pathol* ,2009; 132(5) : 728–732.
 - 33 Leung-Hagesteijn C ,Erdmann N ,Cheung G ,et al. Xbp1s-negative tumor B cells and pre-plasmablasts mediate therapeutic proteasome inhibitor resistance in multiple myeloma. *Cancer Cell* ,2013; 24(3) : 289–304.
 - 34 Ocqueteau M ,San Miguel JF ,González M ,et al. Do myelomatous plasma cells really express surface immunoglobulins?. *Haematologica* ,1996; 81(5) : 460–463.
 - 35 Bernfield M ,Kokenyesi R ,Kato M ,et al. Biology of the syndecans: a family of transmembrane heparan sulfate proteoglycans. *Ann Rev Cell Biol* ,1992; 8(1) : 365–393.
 - 36 O'Connell FP ,Pinkus JL ,Pinkus GS. CD138 (syndecan-1) , a plasma cell marker immunohistochemical profile in hematopoietic and nonhematopoietic neoplasms. *Am J Clin Pathol* ,2004; 121(2) : 254–263.
 - 37 Dhodapkar MV ,Kelly T ,Theus A ,et al. Elevated levels of shed syndecan-1 correlate with tumour mass and decreased matrix metalloproteinase-9 activity in the serum of patients with multiple myeloma. *Br J Haematol* ,1997; 99(2) : 368–371.
 - 38 Ridley RC ,Xiao H ,Hata H ,et al. Expression of syndecan regulates human myeloma plasma cell adhesion to type I collagen. *Blood* ,1993; 81(3) : 767–774.
 - 39 Dhodapkar MV ,Abe E ,Theus A ,et al. Syndecan-1 is a multifunctional regulator of myeloma pathobiology: control of tumor cell survival , growth , and bone cell differentiation. *Blood* ,1998; 91(8) : 2679–2688.
 - 40 Bae J ,Tai YT ,Anderson KC ,et al. Novel epitope evoking CD138 antigen-specific cytotoxic T lymphocytes targeting multiple myeloma and other plasma cell disorders. *Br J Haematol* ,2011; 155(3) : 349–361.
 - 41 Kawano Y ,Fujiwara S ,Wada N ,et al. Multiple myeloma cells expressing low levels of CD138 have an immature phenotype and reduced sensitivity to lenalidomide. *Inter J Oncol* ,2012; 41(3) : 876–884.
 - 42 Chaidos A ,Barnes CP ,Cowan G ,et al. Clinical drug resistance linked to interconvertible phenotypic and functional states of tumor-propagating cells in multiple myeloma. *Blood* ,2013; 121(2) : 318–328.
 - 43 Paiva B ,Paino T ,Sayagues JM ,et al. Detailed characterization of multiple myeloma circulating tumor cells shows unique phenotypic , cytogenetic , functional , and circadian distribution profile. *Blood* ,2013; 122(22) : 3591–3598.
 - 44 Tai YT ,Li XF ,Breitkreutz I ,et al. Role of B-cell-activating factor in adhesion and growth of human multiple myeloma cells in the bone marrow microenvironment. *Cancer Res* ,2006; 66(13) : 6675–6682.
 - 45 Carpenter RO ,Evbuomwan MO ,Pittaluga S ,et al. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma. *Clin Cancer Res* ,2013; 19(8) : 2048–2060.
 - 46 Hsi ED ,Steinle R ,Balasa B ,et al. CS1 , a potential new therapeutic antibody target for the treatment of multiple myeloma. *Clin Cancer Res* ,2008; 14(9) : 2775–2784.
 - 47 Benson D M ,Byrd J C. CS1-directed monoclonal antibody therapy for multiple myeloma. *J Clin Oncol* ,2012; 30(16) : 2013–2015.
 - 48 Van De Donk N ,Kamps S ,Mutis T ,et al. Monoclonal antibody-based therapy as a new treatment strategy in multiple myeloma. *Leukemia* ,2012; 26(2) : 199–213.
 - 49 Bae J ,Song W ,Smith R ,et al. A novel immunogenic CS1-specific peptide inducing antigen-specific cytotoxic T lymphocytes targeting multiple myeloma. *Br J Haematol* ,2012; 157(6) : 687–701.
 - 50 Tai Y T ,Soydan E ,Song W ,et al. CS1 promotes multiple myeloma cell adhesion , clonogenic growth , and tumorigenicity via c-maf-mediated interactions with bone marrow stromal cells. *Blood* ,2009; 113(18) : 4309–4318.
 - 51 Shaffer DR ,Savoldo B ,Yi Z ,et al. T cells redirected against CD70 for the immunotherapy of CD70-positive malignancies. *Blood* ,2011; 117(16) : 4304–4314.
 - 52 Sapra P ,Stein R ,Pickett J ,et al. Anti-CD74 antibody-doxorubicin conjugate ,IMMU-110 , in a human multiple myeloma xenograft and in monkeys. *Clin Cancer Res* ,2005; 11(14) : 5257–5264.
 - 53 Mihara K ,Bhattacharyya J ,Kitanaka A ,et al. T-cell immunotherapy with a chimeric receptor against CD38 is effective in eliminating myeloma cells. *Leukemia* ,2012; 26(2) : 365–367.
 - 54 Robert C ,Thomas L ,Bondarenko I ,et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* ,2011; 364(26) : 2517–2526.
 - 55 Gross G ,Waks T ,Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Nat Acad Sci USA* ,1989; 86(24) : 10024–10028.
 - 56 Hinrichs CS ,Restifo NP. Reassessing target antigens for adoptive T-cell therapy. *Nat Biotechnol* ,2013; 31(11) : 999–1008.