



新融合蛋白CD19scFv/CD80抗白血病作用研究

陈礼平¹, 饶青¹, 陈森², 邢海燕¹, 王敏^{1*}, 王建祥^{1*}

1. 中国医学科学院&北京协和医学院血液病医院(血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 天津 300020;

2. 天津市儿童医院, 天津 300134

* 联系人, E-mail: wangjxm@ihcams.ac.cn; wangjx@ihcams.ac.cn

收稿日期: 2017-10-01; 接受日期: 2017-10-15; 网络发表日期: 2017-12-14

国家重点研发计划(批准号: 2017YFC0909800)和中国医学科学院医学与健康科技创新工程(批准号: 2016-I2M-1-007)资助

摘要 B系急性淋巴细胞白血病(B-ALL)是一种十分常见的血液系统恶性肿瘤, 尽管目前化疗效果显著, 但仍有部分儿童和成人B-ALL患者疗效较差、预后不佳. 研究表明, ALL细胞表面免疫共刺激分子CD80 (B7.1)表达降低或不表达, 导致白血病细胞不能有效地被细胞毒T细胞(CTL)识别杀伤. 然而, 几乎所有的B-ALL细胞均表达CD19表面抗原. 因此, 本研究利用前期构建的CD19单链抗体(scFv)/CD80融合基因及表达的融合蛋白, 通过融合蛋白中抗CD19scFv, 将CD80结合到B-ALL白血病细胞表面, 靶向激活CTL细胞, 起到杀伤白血病细胞的作用. 在体外共培养实验中, 该融合蛋白结合B-ALL细胞系Nalm-6细胞后, 可诱导淋巴细胞增殖, 分泌细胞因子并产生较显著的特异性细胞毒作用. 以Nalm-6细胞在免疫缺陷小鼠(*Mus musculus*)中建立白血病动物模型, CD19scFv/CD80融合蛋白联合输注淋巴细胞可显著延长小鼠的生存时间. 本研究表明, 该融合蛋白可使逃避免疫监视的B-ALL细胞有效地转化成抗原提呈细胞, 进而激活特异性免疫反应, 具有潜在的临床应用价值.

关键词 CD19, CD80, 单链抗体, 融合蛋白

肿瘤特异性T细胞介导的免疫反应是机体清除肿瘤细胞的主要手段^[1,2], 肿瘤细胞通过下调参与T细胞识别及抗原反应分子的表达、降低免疫原性等途径逃逸机体的免疫监视. 在正常的免疫反应中, 抗原特异性T细胞需要至少两个信号的刺激才能进行增殖并对抗原产生免疫应答. 第一个信号是抗原特异性的, 由T细胞受体及结合特异性抗原的MHC- I 或 II 类分子介导, 第二个信号是由抗原提呈细胞或其他细胞表面的共刺激分子(如B7分子)与T细胞表面分子(如CD28)反应介导的. 第二个信号缺失将导致T细胞产生“免疫无能”, 从而阻止了肿瘤特异性细胞毒T细胞(cytotoxic

lymphocyte, CTL)的克隆性扩增^[3-5].

研究发现, 肿瘤细胞表面共刺激分子CD80表达降低, 可能是肿瘤细胞逃逸免疫监视, 因而不能引起机体免疫应答及激活肿瘤特异性T细胞的机制. 已有多种基于共刺激分子相互作用而增强细胞免疫的免疫治疗策略, 肿瘤细胞转染CD80分子可以提高肿瘤细胞的免疫原性, 引起T细胞介导的免疫反应, 使机体清除CD80⁺肿瘤细胞^[6-8].

B系急性淋巴细胞白血病(acute B-cell lymphoblastic leukemia, B-ALL)及淋巴瘤是B淋巴细胞异常克隆性增殖所致的恶性疾病, 尽管目前化疗效果显著, 但

引用格式: 陈礼平, 饶青, 陈森, 等. 新融合蛋白CD19scFv/CD80抗白血病作用研究. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 1397-1403

Chen L P, Rao Q, Chen S, et al. Study on the anti-leukemia effect of a novel recombinant protein CD19scFv/CD80 (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2017, 47: 1397-1403, doi: 10.1360/N052017-00265

仍有15%的儿童B-ALL和60%的成人B-ALL患者因对化疗药物耐药而难治、复发^[9,10], 预后不佳. 研究表明, B-ALL白血病细胞表面CD80表达降低, 甚至缺如^[11], 导致白血病细胞不能有效地被CTL识别杀伤, 而几乎所有的B-ALL细胞均表达CD19表面抗原. 本研究应用实验室前期构建并表达的融合蛋白CD19scFv/CD80 (图1), 利用CD19scFv^[12]与B-ALL细胞的结合, 将CD80表达于B-ALL细胞, 通过体内外实验, 研究该融合蛋白激活CTL、杀伤白血病细胞的作用, 为B-ALL白血病的免疫治疗提供实验基础.

1 材料与方法

1.1 细胞培养

人B-ALL细胞系Nalm-6细胞和乳腺癌细胞系MCF-7细胞, 培养于含10%胎牛血清(Gibco, 美国)的RPMI 1640培养液中, 在37℃, 5% CO₂培养箱中培养, 取对数生长期细胞进行实验.

1.2 外周血淋巴细胞培养

取正常健康供者外周血, 分离单个核细胞, 用含10%胎牛血清RPMI 1640培养液于37℃, 5% CO₂孵育15 h, 去除贴壁细胞层, 取悬浮生长的淋巴细胞(PBLs, 80%以上为CD3⁺ T淋巴细胞), 调整细胞浓度至 $1 \times 10^6/\text{mL}$.

1.3 淋巴细胞增殖实验

收集对数生长期的Nalm-6细胞, 经30Gy照射后以 $4 \times 10^4/\text{孔}$ 接种于96孔板, 分别加入不同浓度的CD19scFv/CD80融合蛋白及PBS (对照), 置37℃, 5% CO₂孵育2 h. 每孔加入 2×10^5 上述1.2方法制备的PBLs细胞, 培养基中加入重组人IL-250 U/mL, 置37℃, 5% CO₂培养箱培养. 共培养72 h后, 加入MTT (5 mg/mL, Sigma, 美国) 10 μL , 37℃, 4 h, 弃上清, 加入100 μL DMSO, 震荡混匀后用酶标仪读取546 nm波长处的吸光值(A).

$\text{PBLs增殖}\% = (\text{融合蛋白处理组A平均值} - \text{对照组A平均值}) / \text{对照组A平均值} \times 100\%$

1.4 细胞因子IFN- γ 水平测定

将制备好的人PBLs以 $2 \times 10^5/\text{孔}$ 加入预先经

30Gy照射并经CD19scFv (3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、融合蛋白CD19scFv/CD80 (0, 0.75, 1.5, 3, 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)处理的Nalm-6细胞中, 置37℃, 5% CO₂培养箱中共培养96 h, 分别离心收集上清, 作为待测标本. 按照ELISA试剂盒(R&D, 美国)的操作说明, 于酶标仪450 nm (检测波长)和570 nm (校正波长)波长测量吸光值(A_{450} 和 A_{570}), 绘出标准曲线, 通过样品的吸光值查出培养上清中IFN- γ 的浓度.

1.5 CD19scFv/CD80融合蛋白介导的细胞毒作用

将新制备的人PBLs ($1.2 \times 10^6/\text{孔}$)与30Gy照射过的Nalm-6细胞($2.4 \times 10^5/\text{孔}$)共培养于RPMI 1640培养液(含重组人rIL-2, 30 U/mL), 加入CD19scFv/CD80 (6 $\mu\text{g}/\text{mL}$)融合蛋白, 作为效应细胞; 细胞共培养体系中加入CD19scFv蛋白(3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)或PBS设为对照组; 对数生长期的Nalm-6细胞和MCF-7细胞为靶细胞.

应用CytoTox 96[®]非放射性细胞毒性法(Promega, 美国)检测融合蛋白对Nalm-6细胞的杀伤活性, 按说明书操作. 首先优化靶细胞数目为 4×10^4 , 再按不同的效靶比例(50:1, 25:1, 12.5:1, 6.25:1, 3.2:1和1.6:1)在U底96孔板设置下列对照组和实验组(3复孔): 培养基背景对照、体积校正对照、靶细胞自发释放、靶细胞最大释放、效应细胞自发释放和实验组. 置37℃, 5% CO₂孵育4 h. 提前45 min在靶细胞最大释放和体积校正孔加10 μL ($10 \times$)细胞裂解液, 218 $\times g$ 离心4 min. 转移50 μL 上清至另一96孔新酶标板进行乳酸脱氢酶活性测定, 酶标仪490 nm测定吸光值(A_{490}). 计算各组平均吸光值(A_{490}), 按下列公式计算细胞CTL裂解靶细胞的百分率: $\text{裂解靶细胞}\% = (\text{实验组}A_{492} - \text{靶细胞自然释放}A_{492} - \text{效应细胞自然释放}A_{492}) / (\text{靶细胞最大释放}A_{492} - \text{靶细胞自然释放}A_{492})$

1.6 融合蛋白对白血病小鼠的治疗作用

从中国医学科学院实验动物研究所购得20只4周龄NOD/SCID小鼠(*Mus musculus*), 动物实验过程通过了中国医学科学院血液病医院(血液学研究所)动物管理委员会批准. SPF条件下培养2周后接受150cGy铯源(Cs137)照射, 随机分为A, B, C和D组, 每组5只, 均于照射后5 h尾静脉注射PBS配置的下列细胞悬液200 μL . A组: 3×10^4 Nalm-6细胞; B组: 3×10^4 Nalm-6细胞与 1×10^7 PBLs混和细胞; C组: 3×10^4 Nalm-6细胞、 1×10^7 PBLs与

7.5 μg CD19scFv混和后随即注射,第12和第36 h再补充注射7.5 μg CD19scFv; D组: 3×10^4 Nalm-6细胞、 1×10^7 PBLs与15 μg CD19scFv/CD80融合蛋白混和后随即注射,第12和第36 h再补充注射15 μg CD19scFv/CD80融合蛋白.密切观察实验动物的体重变化,症状出现及生存期,绘制曲线.解剖死亡小鼠,肝脾称重、测量大小,制备骨髓、肝、脾细胞悬液后甩片进行瑞氏染色观察细胞形态,并对骨髓、肝、脾、心、肺和肾脏行病理检查.

1.7 统计学处理

所有实验均重复3次, Student *t*-test用于均数比较, Kplane-Meier法用于NOD/SCID小鼠生存期中位数分析及生存曲线绘制, Mantel-Cox log-rank法用于比较NOD/SCID小鼠各实验组生存期的统计学差异. $P < 0.05$ 表示差异性有统计学意义; $P < 0.01$ 表示有显著性差异.

2 结果

2.1 CD19scFv/CD80融合蛋白增强T细胞的增殖

MTT增殖实验显示, CD19表达阳性的Nalm-6细胞经铯源照射后,与不同浓度的CD19scFv/CD80融合蛋白(图1)孵育,与富含T淋巴细胞的PBLs ($\text{CD}3^+$ PBLs $> 80\%$)相互作用后,可明显刺激T细胞增殖,且与融合蛋白浓度呈剂量依赖关系(图2),表明CD19 $^+$ 的白血病细胞经CD19scFv/CD80修饰后起到了激活T细胞的递呈作用.

2.2 CD19scFv/CD80融合蛋白增强淋巴细胞分泌IFN- γ

采用ELISA法检测CD19scFv, CD19scFv/CD80融

合蛋白处理的Nalm-6细胞与淋巴细胞共培养上清中IFN- γ 含量,结果显示CD19scFv组培养上清平均IFN- γ 水平与PBS对照组没有差异,而CD19scFv/CD80融合蛋白可显著刺激T细胞分泌IFN- γ ,且呈剂量依赖关系(图3).

2.3 CD19scFv/CD80融合蛋白增强淋巴细胞特异性细胞毒作用

应用LDH释放实验检测CD19scFv/CD80融合蛋白是否可以介导细胞毒T细胞对CD19阳性白血病细胞的杀伤,结果表明,用CD19scFv/CD80融合蛋白刺激不同供者外周血淋巴细胞,均可显著增强其特异性抗肿瘤细胞毒作用(图4),杀伤作用随着效靶比的增加而增强.两位供者的PBLs经刺激活化后在效靶比50:1时对Nalm-6细胞的特异性杀伤比例分别为53.31%和75.42%,而对MCF-7细胞均无特异性杀伤作用.

2.4 CD19scFv/CD80融合蛋白对白血病小鼠的治疗作用

Nalm-6细胞移植后的NOD/SCID小鼠最后均发生白血病,发病率100%,表现为后肢瘫痪,细胞涂片、流式、病理均显示死亡小鼠多脏器白血病细胞浸润.与A, B, C 3个对照组相比, D组CD19scFv/CD80显著延长了NOD/SCID白血病小鼠的生存时间(图5).对照组NOD/SCID小鼠生存期均小于45天, A, B, C组小鼠的中位生存期分别为40, 43和36天,而D组的中位生存期为59天.对照组之间生存期无显著统计学差异($P > 0.05$). D组的生存期相比对照组延长了65%,具有显著的统计学差异($P < 0.05$).

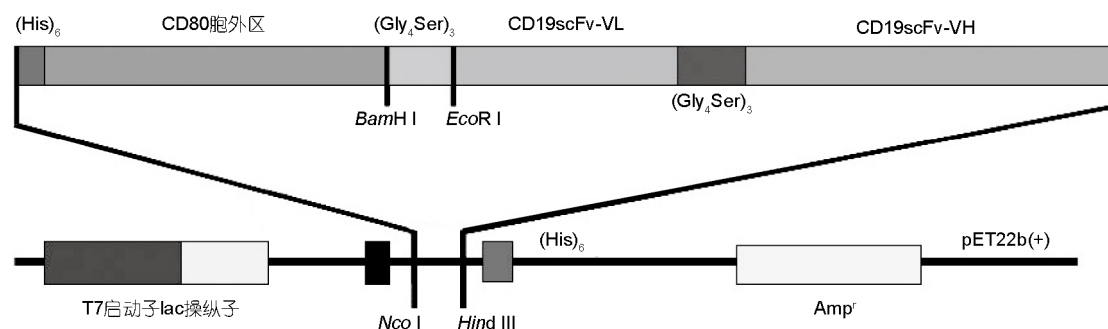


图1 CD19scFv/CD80融合蛋白结构示意图

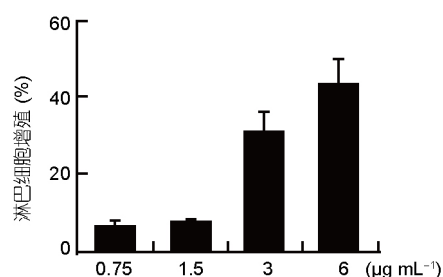


图2 CD19scFv/CD80融合蛋白刺激淋巴细胞增殖

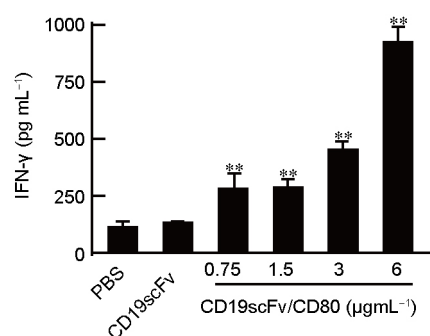


图3 融合蛋白协同刺激T细胞分泌IFN-γ
**: $P < 0.01$

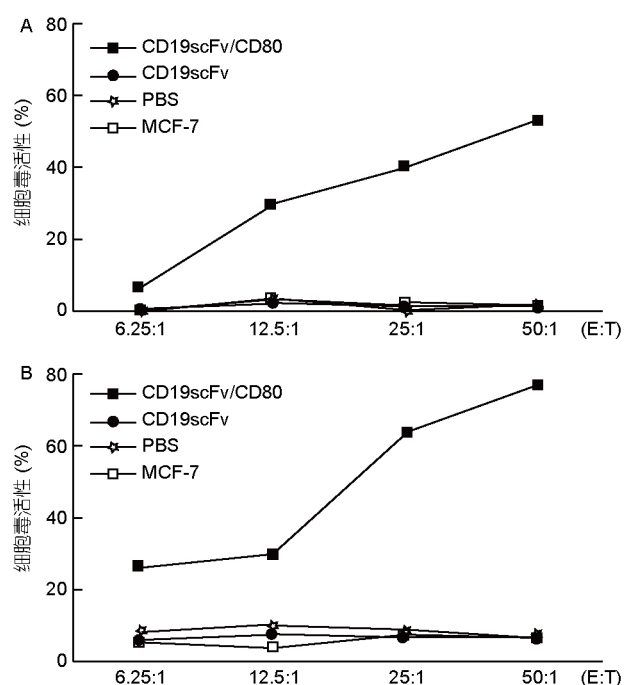


图4 CD19scFv/CD80融合蛋白刺激淋巴细胞增强特异性细胞毒作用

A和B分别为供者1和供者2外周血淋巴细胞经CD19scFv/CD80协同刺激后,在不同效靶比对Nalm-6细胞的杀伤作用

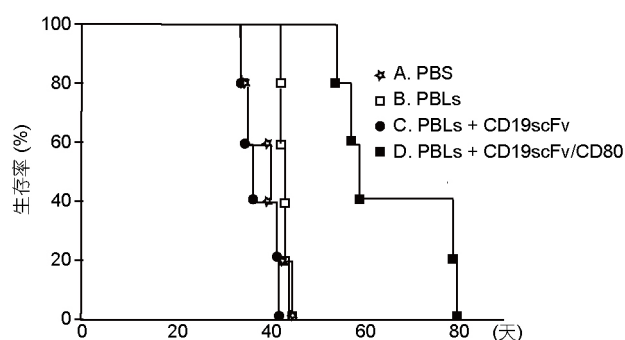


图5 不同治疗组小鼠生存曲线图

3 讨论

已有多种基于共刺激分子相互作用而增强细胞免疫的免疫治疗策略,肿瘤细胞转染CD80 (B7)分子可诱导有效的抗肿瘤免疫反应^[13-17]。然而,基因转染的方法在应用于临床时受到诸多限制。体外转染B7分子制成的肿瘤疫苗,需要首先采集患者的原代肿瘤细胞,经过培养、转染、及灭活后等操作再次回输至患者体内;而采用基因治疗的方法直接体内注射相关表达载体,无法保证相关基因仅限于肿瘤细胞表达,且基因的表达水平无法精确控制,涉及的安全问题也因个体差异无法完全预测,因而将上述方法应用于临床仍有许多问题需要解决^[7,18]。因此,通过抗体介导共刺激分子,靶向结合于肿瘤细胞表面,可能是一个有效的替代方案^[19-21]。

本课题组前期工作构建了用于免疫治疗B细胞肿瘤的CD19scFv/CD80表达载体,并在原核表达系统中表达融合蛋白。应用ELISA、流式细胞术等方法,证实了该融合蛋白可有效地与B细胞肿瘤特异性抗原CD19结合,使CD80修饰于B肿瘤细胞表面。本研究首先通过体外细胞共培养方法,从3个方面对CD19scFv/CD80融合蛋白的功能进行了分析:融合蛋白与CD19⁺ Nalm-6白血病细胞结合后,以剂量依赖的方式刺激淋巴细胞的增殖、分泌细胞因子并产生显著的特异性抗白血病细胞毒作用。

为了进一步评价CD19scFv/CD80融合蛋白的体内疗效,在NOD/SCID免疫缺陷鼠中成功建立了B-ALL白血病模型,发病率100%,CD19scFv/CD80融合蛋白联合输注人淋巴细胞可显著延长小鼠的生存期。研究结果提示,该融合蛋白可使逃避免疫监视的B肿瘤细胞有效地转化成肿瘤抗原提呈细胞,进而激活特异性

抗B细胞肿瘤免疫反应。

目前急、慢性淋巴细胞白血病以及B细胞淋巴瘤的临床治疗,除了化疗、干细胞移植及生物治疗等传统手段以外,细胞免疫治疗成为一种新的治疗策略,而新近报道的嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell immunotherapy, CAR-T)技术经过近30年的发展获得了举世瞩目的成就,几乎成为一种可治愈急、慢性淋巴细胞白血病、弥漫大B细胞淋巴瘤等肿瘤的新方法^[22-27]。本课题组也开展了一系列针对白血病细胞特异靶点的CAR-T研究^[28],其中针对CD19表面抗原,用于难治复发急性淋巴细胞白血病和淋巴瘤治疗的CD19 CAR-T已注册临床试验(NCT 02975687, NCT 03029338),开展了临床试验。然而CAR-T技术在临床应用中出现了细胞因子释放综合征、靶向/脱靶效应及神经毒性等不良反应。此外, CAR-T作为一种个性化治疗方法,技术流程复杂,需要对每例患者进

行特定的技术操作,包括采集患者T细胞、病毒载体修饰、CAR-T细胞体外培养扩增及回输。本项目设计、表达的CD19scFv/CD80融合蛋白,通过其抗体片段与B-ALL白血病细胞特异结合,将CD80分子表达于B-ALL细胞表面,激活自身CTL细胞,达到特异性杀伤B-ALL白血病细胞的作用,可发展为一种通用型疗法,用于B细胞肿瘤的治疗。

4 结论

本研究设计、表达的CD19scFv/CD80融合蛋白可特异性结合B细胞肿瘤表面CD19抗原,刺激淋巴细胞增殖,促进细胞因子的分泌,产生特异性细胞毒作用。在NOD/SCID小鼠白血病动物模型中,CD19scFv/CD80融合蛋白联合输注淋巴细胞可显著延长小鼠的生存期。

参考文献

- Greenberg P D. Adoptive T cell therapy of tumors: mechanisms operative in the recognition and elimination of tumor cells. *Adv Immunol*, 1991, 49: 281–355
- Restifo N P, Dudley M E, Rosenberg S A. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12: 269–281
- Baxter A G, Hodgkin P D. Activation rules: the two-signal theories of immune activation. *Nat Rev*, 2002, 2: 439–446
- Carreno B M, Collins M. The B7 family of ligands and its receptors: new pathways for costimulation and inhibition of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 29–53
- Sharpe A H, Freeman G J. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2: 116–126
- Trionzi P L, Allen K O, Carlisle R R, et al. Phase I study of the intratumoral administration of recombinant canarypox viruses expressing B7.1 and interleukin 12 in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*, 2005, 11: 4168–4175
- Kaufman H L, Cohen S, Cheung K, et al. Local delivery of vaccinia virus expressing multiple costimulatory molecules for the treatment of established tumors. *Hum Gene Ther*, 2006, 17: 239–244
- Hodge J W, Greiner J W, Tsang K Y, et al. Costimulatory molecules as adjuvants for immunotherapy. *Front Biosci*, 2006, 11: 788–803
- Bhojwani D, Pui C H. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet Oncol*, 2013, 14: e205–e217
- Faderl S, O'Brien S, Pui C H, et al. Adult acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 2010, 116: 1165–1176
- Salomon B, Lenschow D J, Rhee L, et al. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4⁺CD25⁺ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity*, 2000, 12: 431–440
- 陈森, 饶青, 王建祥, 等. 抗人CD19单链抗体基因的构建、表达及功能测定. *生物工程学报*, 2005, 21: 686–691
- Foell J, Hewes B. T cell costimulatory and inhibitory receptors as therapeutic targets for inducing anti-tumor immunity. *Curr Cancer Drug Targets*, 2007, 7: 55–70
- Zang X, Allison J P. The B7 family and cancer therapy: costimulation and coinhibition. *Clin Cancer Res*, 2007, 13: 5271–5279
- Ingram W, Chan L, Guven H, et al. Human CD80/IL2 lentivirus-transduced acute myeloid leukaemia (AML) cells promote natural killer (NK) cell activation and cytolytic activity: implications for a phase I clinical study. *Br J Haematol*, 2009, 145: 749–760
- Antonia S J, Seigne J, Diaz J, et al. Phase I trial of a B7-1 (CD80) gene modified autologous tumor cell vaccine in combination with systemic interleukin-2 in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol*, 2002, 167: 1995–2000
- Fishman M, Hunter T B, Soliman H, et al. Phase II trial of B7-1 (CD-86) transduced, cultured autologous tumor cell vaccine plus subcutaneous

- interleukin-2 for treatment of stage IV renal cell carcinoma. *J Immunother*, 2008, 31: 72–80
- 18 Raez L E, Cassileth P A, Schlesselman J J, et al. Allogeneic vaccination with a B7.1 HLA-A gene-modified adenocarcinoma cell line in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*, 2004, 22: 2800–2807
- 19 Sturmhoefel K, Lee K, Gray G S, et al. Potent activity of soluble B7-IgG fusion proteins in therapy of established tumors and as vaccine adjuvant. *Cancer Res*, 1999, 59: 4964–4972
- 20 Notter M, Willinger T, Erben U, et al. Targeting of a B7-1 (CD80) immunoglobulin G fusion protein to acute myeloid leukemia blasts increases their costimulatory activity for autologous remission T cells. *Blood*, 2001, 97: 3138–3145
- 21 Singh N P, Miller R W, Yolcu E S, et al. Primary tumor cells resected from cancer patients and decorated with a novel form of CD80 Protein serve as effective antigen-presenting cells for the induction of autologous T cell immune responses *ex vivo*. *Hum Gene Ther*, 2006, 17: 334–346
- 22 Milone M C, Fish J D, Carpenito C, et al. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy *in vivo*. *Mol Ther*, 2009, 17: 1453–1464
- 23 Kochenderfer J N, Feldman S A, Zhao Y, et al. Construction and preclinical evaluation of an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Immunother*, 2009, 32: 689–702
- 24 Kochenderfer J N, Wilson W H, Janik J E, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood*, 2010, 116: 4099–4102
- 25 Kochenderfer J N, Dudley M E, Feldman S A, 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: 2709–2720
- 26 Maude S L, Frey N, Shaw P A, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med*, 2014, 371: 1507–1517
- 27 Johnson L A, June C H. Driving gene-engineered T cell immunotherapy of cancer. *Cell Res*, 2017, 27: 38–58
- 28 An N, Tao Z, Li S, et al. Construction of a new anti-CD19 chimeric antigen receptor and the anti-leukemia function study of the transduced T cells. *Oncotarget*, 2016, 7: 10638–10649

Study on the anti-leukemia effect of a novel recombinant protein CD19scFv/CD80

CHEN LiPing¹, RAO Qing¹, CHEN Sen², XING HaiYan¹, WANG Min¹ & WANG JianXiang¹

1 State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China;

2 Tianjin Children's Hospital, Tianjin 300134, China

B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is a very common hematological malignancy. Despite the curative effect of chemotherapy observed in children and adults with B-ALL, still some patients fail to respond to chemotherapy and suffer from poor prognosis. Studies have shown that the costimulatory molecule CD80 (B7.1) is expressed at low levels on ALL cells, which avoids leukemia cells being recognized and killed by cytotoxic T cells (CTLs). However, almost all B-ALL cells express CD19 antigen. Therefore, in this study, the previously constructed recombinant CD19scFv/CD80 protein, consisting of the extracellular domain of human CD80 (B7.1) and a single-chain variable fragment antibody to human CD19 antigen (CD19scFv), was used as a bridge to decorate B-ALL cells with the costimulatory molecule CD80 through the binding of CD19scFv to CD19 antigen. Using this strategy, CTLs could be activated by B-ALL cells pretreated with CD19scFv/CD80 fusion protein, and thus, they could exert their killing effect on leukemia cells. In the *in vitro* study, it was observed B-ALL Nalm-6 cells cocultured with the recombinant CD19scFv/CD80 fusion protein were capable of inducing donor T-cell-specific expansion, cytokine production, and cytolytic activity. In a leukemic xenograft NOD/SCID mouse model, intravenous injection of CD19scFv/CD80 fusion protein was able to significantly prolong the survival time of mice with leukemia. In conclusion, the novel CD19scFv/CD80 fusion protein could effectively modify B-ALL cells, which evade the immune surveillance, into antigen-presenting cells, which could thus activate specific immune responses, thereby implying a potential clinical value.

CD19, CD80, single-chain variable fragment antibody, fusion protein

doi: [10.1360/N052017-00265](https://doi.org/10.1360/N052017-00265)