



冯晓明, 中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所)研究员, 博士生导师, 协和学者特聘教授。曾获国家自然科学基金优秀青年基金, 天津市杰出青年基金, 天津市131人才第一层人选。主要从事T细胞的基础和转化研究。在国际上首次发现Foxp1和Lkb1等分子开关对效应/调节T细胞的重要控制作用; 与临床学者合作研究了多个CAR-T新策略。在*JCO*、*Nat Immunol*、*Blood*等期刊上发表论文30余篇。曾获美国Wistar研究所Ching Jer Chern Memorial Award、天津市教岗先锋等荣誉。

CAR-T细胞治疗血液肿瘤的临床进展

赵丽平¹ 潘静² 冯晓明^{1*}

(¹中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所), 实验血液学国家重点实验室, 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 细胞生态海河实验室, 天津 300020; ²北京博仁医院血液科, 博仁临床转化中心, 北京 100070)

摘要 嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell, CAR-T)是一种新型治疗型T细胞, 通过基因工程在T细胞表面表达可识别特定肿瘤抗原的嵌合受体, 能特异性杀伤肿瘤细胞。CAR-T在多种血液肿瘤的治疗中具有良好的应用前景, 受到了广泛的关注, 但越来越多的临床应用显示CAR-T治疗产生了一系列不良反应, 不同程度影响患者预后。该文总结了CAR的结构设计演变, CAR-T在急性淋巴细胞白血病、急性髓系白血病、淋巴瘤和多发性骨髓瘤中的应用及相关不良反应, 并就如何提高CAR-T的疗效和安全性展开讨论。

关键词 CAR-T; 血液肿瘤; 不良反应

Clinical Progress of CAR-T Cell Therapy for Hematologic Malignancies

ZHAO Liping¹, PAN Jing², FENG Xiaoming^{1*}

(¹State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases,

Haihe Laboratory of Cell Ecosystem, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital,

Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China;

²Boren Clinical Translational Center, Department of Hematology, Beijing Boren Hospital, Beijing 100070, China)

Abstract As a new type of cellular therapy, CAR-T (chimeric antigen receptor T cell), which is engineered to express a chimeric receptor to recognize the tumor antigen, can specifically eliminate tumor cells. CAR-T has attracted much attention due to its promising value in the treatment of a variety of hematological malignancies. However, more and more clinical studies have shown that CAR-T can cause a series of adverse events, affecting the prognoses of patients. This review aims to summarize the evolution of CAR construct design, the applications of

收稿日期: 2021-11-05

接受日期: 2021-12-06

天津市杰出青年科学基金(批准号: 17JCQJC45800)和国家重点研发计划(批准号: 2019YFA0110200)资助的课题

*通讯作者。Tel: 17360714329, E-mail: zhaolipinglucky@163.com

Received: November 5, 2021 Accepted: December 6, 2021

This work was supported by the Tianjin Science Funds for Distinguished Young Scholars (Grant No.17JCQJC45800) and the National Key Research and Development Program (Grant No.2019YFA0110200)

*Corresponding author. Tel: +86-17360714329, E-mail: zhaolipinglucky@163.com

CAR-T in acute lymphoblastic leukemia, acute myeloid leukemia, lymphoma and multiple myeloma and the related adverse events, and provide the discussion on how to improve the efficacy and safety of CAR-T therapy.

Keywords chimeric antigen receptor T cell; hematological malignancies; adverse events

嵌合抗原受体T细胞是指通过基因工程技术修饰后表达能够特异性识别肿瘤细胞抗原分子的嵌合抗原受体(chimeric antigen receptor, CAR),从而获得对肿瘤细胞的抗原特异性杀伤能力的T细胞。CAR-T在血液肿瘤的治疗中取得了可观的成果,是一种具有良好前景的免疫治疗方式。目前,CAR-T的多个产品正在全球的多个中心开展临床试验。2017年,两个CD19 CAR-T产品axicabtagene ciloleucel (axis-cel)和tisagenlecleucel已经被美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准用于治疗复发或难治性大B细胞淋巴瘤,目前已经上市的CAR-T产品如表1所示。CAR-T疗法以其显著的疗效受到了基础和临床工作者的广泛关注,但是随着相关研究和应用越来越多,该疗法也逐渐暴露出一些问题如:脱靶效应(on-target/off-tumor)、细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)、神经系统毒性、治疗后复发等。本文主要对CAR-T治疗各种血液肿瘤的靶点选择、疗效以及安全性等的临床进展进行综述。

1 CAR结构

CAR的基本结构包括3个组成部分:1个细胞外抗原识别结构域、1个跨膜结构域和1个细胞质信号结构域。细胞外抗原结合结构域通常是1个来自肿瘤抗原反应性抗体的单链可变片段(single-chain variable fragment, scFv)。scFv由抗体重链可变区和轻链可变区组成,scFv为CAR-T细胞提供了靶向抗

原特异性。与天然T细胞受体相比,CAR的scFv对抗原的识别不需要在MHC分子中进行抗原加工和肽表位提呈,这极大地扩大了单个设计的CAR载体对不同患者的适用性。然而,在为CAR-T选择靶点时,为防止脱靶效应,选择表达于肿瘤细胞而非正常组织的抗原是非常重要的。

跨膜结构域也被证明影响了CAR-T细胞的功能。第一代CAR只有1个细胞内信号域,最常见的细胞内信号域是CD3 ζ 链,它为CAR-T细胞的激活提供信号。但第一代CAR在体内持续时间短,增殖能力差,分泌细胞因子能力较差。为了改善CAR的分泌功能、增殖能力和持久性,通过添加1个或多个共刺激域分别开发了第二代和第三代CAR,以为CAR-T细胞激活提供信号。第四代和第五代CAR则试图通过分泌IL-12或IL-18等免疫刺激分子、减少TGF- β 等免疫抑制因子的生成、解除调节性T细胞(Treg)的抑制效应、安全开关设计等,达到克服肿瘤微环境障碍和减少脱靶效应的效果^[1-3]。这些进展可能会改善血液系统恶性肿瘤的疗效,也可能使CAR-T疗法被用于实体肿瘤的治疗中。

临床试验中最常用的共刺激域是CD28和CD137(又称4-1BB)。在两种FDA批准的CAR-T产品中,axis-cel使用CD28作为共刺激域,而tisagenlecleucel使用CD137^[4]。其他在临床前和早期临床试验中具有显著治疗潜力的共刺激域包括OX40、CD27和ICOS^[5]。

表1 已上市的CAR-T产品

Table 1 CAR-T products already on the market

药物 Drug	靶点 Target	获批时间 Approval date	适应症 Indication
Kymriah	CD19	August 2017	B-cell acute lymphoblastic leukemia, diffuse large B cell lymphoma
Yescarta	CD19	October 2017	Large B cell lymphoma
Tecartus	CD19	July 2020	Mantle cell lymphoma
Liso-cel	CD19	February 2021	Diffuse large B cell lymphoma
Abecma	BCMA	March 2021	Multiple myeloma
Axicabtagene ciloleucel	CD19	June 2021	Large B cell lymphoma

2 CAR-T细胞治疗血液肿瘤的临床进展

2.1 急性B淋巴细胞白血病

急性B淋巴细胞白血病(B-cell acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)是常见的血液系统肿瘤。经常规化疗或造血干细胞移植治疗后,部分患者表现为难治或复发B-ALL[refractory/relapsed (r/r) B-ALL],预后不良。CAR-T作为一种具有良好前景的肿瘤免疫治疗方法,在r/r B-ALL的治疗中起到了尤为明显的作用。CD19被认为是治疗B-ALL的最佳靶点,CD19 CAR-T的产品最早通过了FDA的批准,诸多研究表明其具有良好的有效性和可控的安全性^[6-8]。

在SHANNON等^[7]的研究中,共有30名r/r B-ALL患者接受了CD19 CAR-T治疗,其中27例(90%)患者完全缓解,包括2例blatumumab难治性患者和15例干细胞移植患者。患者6个月无病生存率(event-free survival, EFS)和总生存率(overall survival, OS)分别达到了67%和78%,且CAR-T细胞表现出良好的持久性。此研究表明,相比于常规疗法,CD19靶向CAR-T治疗B-ALL在有效性上具有明显优势。

多中心全球II期临床试验评估了CD19 CAR-T的产品(tisagenlecleucel和axicabtagene ciloleucel)在r/r B-ALL患者中的安全性和有效性,显示了令人印象深刻的结果。在ELIANA试验中,将CD19 CAR-T注入患r/r B-ALL的儿童和青年体内,患者整体反应率(overall response rate, ORR)和完全缓解率(complete remission rate, CRR)分别为80%和60%^[4,9]。尽管CD19 CAR-T细胞治疗在年轻的B-ALL患者中诱导了非常高的CRR,但长期随访数据显示,30%~50%的患者最终会复发,复发主要发生在注射后12个月内,10%~20%的患者对CAR-T治疗无效。也有其他研究表明,经过CD19 CAR-T治疗后,有很大比例(43%~55%)的完全缓解(complete remission, CR)患者在1年内复发^[7,10-11]。治疗后复发可能与抗原缺失或突变以及CAR-T在体内的持续时间短有关。

我们的研究表明,TP53突变的r/r B-ALL儿童在接受CD19 CAR-T和巩固方案治疗后出现了很高的复发率^[12]。CD19丢失在TP53突变的复发患者中很常见。因此,治疗前检查TP53状态可能有预后价值,对于伴有TP53突变的患者,可考虑其他治疗方法来巩固或替代CAR-T治疗。治疗后复发是一个迫

在眉睫的问题,大多数复发患者的白血病细胞表达CD22、CD20、CD10等,其中CD22在正常细胞中鲜少表达,也是B-ALL的一个良好靶点。

在我们之前的研究中,34例CD19 CAR-T治疗失败的B-ALL儿童和成人患者接受了CD22 CAR-T细胞治疗^[13]。30例患者中有24例(80%)可在输注CD22 CAR-T后实现CR。对11例CR患者立即桥接移植,其中8例在移植后4.6~13.3个月保持缓解,一年无病生存率为71.6%,在大多数患者中观察到低级别的CRS和神经毒性,且这些不良反应具有自限性。这表明CD22 CAR-T在诱导r/r B-ALL患者的缓解方面非常有效。

目前,CD19 CAR-T和CD22 CAR-T联合治疗受到关注,化疗后复发与移植后复发的B-ALL患者在接受CD19 CAR-T和CD22 CAR-T的序贯和联合治疗后均获得了更长的EFS和OS^[14-15]。同时靶向CD19和CD22的CAR-T细胞技术在治疗成人r/r B-ALL、降低免疫逃逸上展示出一定效果^[16]。

然而,CD22 CAR-T细胞疗法及联合治疗的长期疗效和适用价值仍有待进一步研究。

2.2 急性T淋巴细胞白血病

CAR-T疗法可以明显改善r/r B-ALL患者的预后。但是,由于许多可选的靶抗原在正常和恶性T细胞之间共同表达,靶向T细胞抗原的CAR-T将清除患者内源性T细胞,可能导致严重的T细胞免疫缺陷。因此,为急性T淋巴细胞白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia, T-ALL)设计CAR-T治疗方案仍是一个挑战^[17]。尽管如此,研究者也在积极寻找能够应用于此类病人的特异性靶点。一些临床前研究发现,靶向CD5、CD7的CAR-T在体外和临床前小鼠模型实验中具有抗肿瘤作用^[18-20]。

CD5是恶性T细胞的特征性表面标记物之一,存在于80%的T-ALL细胞中。正常细胞对CD5的表达仅限于免疫系统的组成部分:胸腺细胞、外周T细胞和B淋巴细胞亚群(B-1 cells)^[21-22]。有研究发现CD5 CAR-T细胞在体外可有效识别并消除恶性肿瘤T细胞系和原代T-ALL母细胞,并能显著抑制T-ALL的异种移植小鼠模型的疾病进展^[20]。CD7在95%的T-ALL中表达,同时也在90%~96%正常T细胞、90%~98%正常自然杀伤(natural killer, NK)细胞中表达^[23-24]。一些临床前研究认为,CD7或许可以作为治疗T-ALL的靶点^[25]。我们首次以人为对象

进行单中心、I期临床实验, 纳入了20例r/r T-ALL患者, 我们观察到供者CD7 CAR-T细胞在患者体内有效扩张, 患者CRR高达90%。中位随访时间为6.3个月, 18例CR患者中有15例(83%)仍处于缓解状态, 虽然在有些病人中可观察到移植物抗宿主反应(graft versus host reaction, GVHR)或感染发生, 但整体上可控^[26]。另有临床研究也发现用通用型CD7 CAR-T治疗T-ALL后, CAR-T细胞出现有效扩张且具有一定持久性, 并成功诱导了抗肿瘤作用^[27-28]。

2.3 急性髓系白血病

与ALL相比, 急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)具有更大的异质性, 且迄今为止发现的潜在靶抗原多同时表达于对机体必不可少的正常髓系细胞、造血干细胞和祖细胞(hematopoietic stem cell and progenitor cell, HSPC), 这阻碍了CAR-T疗法在AML领域的推广。随着CAR-T应用越来越广, 许多研究者也在试图寻找AML的理想靶点。

CD33和CD123在诸多研究中被验证为有效的AML免疫治疗靶点^[29-31]。WILLIER等^[31]使用全RNA测序和流式细胞术分析了36例AML儿童骨髓样本中的白血病母细胞, 发现在成人AML中广泛表达的CD123仅在少数样本中发现。靶向CD33和CD123也会导致正常HSPC的损伤, 可能需要后续的异源造血干细胞移植来重建正常的造血功能^[32-33], 且与AML细胞相比, AML干细胞上的CD33表达较低, 这可能阻碍它们的有效应用。另有许多靶点也因为在AML细胞上不均匀表达或在AML干细胞上低表达而存在局限性^[32,34-36]。TAMBARO等^[37]评估了CD33 CAR-T对AML患者的治疗作用, 发现患者反应不佳, 表明了这种疗法需要进一步优化。因此, 我们仍需寻找更理想的靶点。

CD70在AML母细胞和干细胞中高表达, 而与CD33和CD123相比, 在正常造血干细胞上几乎检测不到该因子^[38-39], 这表明CD70 CAR-T可以在不影响造血功能的情况下为AML患者提供治疗, SAUER等^[40]的研究也刚好证实了这一点。但CD70在部分AML患者中的表达百分率和表达水平较低, 这也限制了CAR-T应用效果。JETANI等^[41]的研究发现, siglece-6在AML细胞系包括AML干细胞亚群中普遍表达, 但在正常HSPC中检测不到。在临床前模型中, siglece-6 CAR-T具有特异的抗白血病反应性, 包括

在免疫缺陷小鼠的异种移植AML模型中诱导完全缓解。C型凝集素样分子1(C-type lectin-like molecule 1, CLL1)在AML干细胞、母细胞和单核细胞上高表达, 而在正常造血干细胞上不表达, 可能是一个有良好前景的靶点, 但CLL1在AML患者中表达的阳性百分比通常较CD33低, 提示在某些病人中可能有抗原逃逸导致治疗失败的可能性。ZHANG等^[42]的临床研究表明, CLL1 CAR-T治疗AML患者有效且具有良好的安全性, 但是由于报道病例数较少, 尚有待于完整的临床试验对其进一步评估。

另外, CD117 CAR-T也在临床前研究中表现出特异性抗AML细胞性, CD117也可能是治疗AML的潜在靶点^[43]。

2.4 非霍奇金淋巴瘤

非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)是一种对化疗敏感的疾病, 尤其是弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B cell lymphoma, DLBCL)患者, 可以使用基于蒽环类药物的R-CHOP方案治愈, 但是在复发或难治的情况下, 患者的预后很差。CAR-T疗法彻底改变了这一局面。

绝大部分淋巴瘤起源于B细胞, 故CD19和其他B细胞抗原如CD20和CD22是其常见的表面抗原。临床研究已经证实CD19 CAR-T可以使B细胞淋巴瘤患者产生高CRR^[7]。

CD19 CAR-T作为NHL治疗领域的新起之秀, 治疗后患者仍具有一定复发率。若能在治疗前发现那些可能由于早期复发而导致CAR-T治疗失败的患者, 权衡毒性和疗效, 无疑将改善这些患者的预后。VERCELLINO等^[44]的研究发现结外浸润数 ≥ 2 、代谢瘤总体积(total metabolic tumor volume, TMTV)大、乳酸脱氢酶高等与高风险复发有关。CD19 CAR-T治疗后复发的主要原因就是CD19分子的丢失, 研究者也在试图以此为切入点寻找解决办法。BAIRD等^[45]报道了3例CD19 CAR-T治疗失败后又接受CD22 CAR-T治疗的患者均达到CR, 且在最后一次随访时仍持续(平均7个月), 患者出现毒性反应程度轻且具有可控性。TONG等^[46]的研究显示, 复发或难治性NHL患者接受CD19、CD20双靶点CAR-T治疗后, 总有效率为79%, CRR为71%, 12个月无进展生存率为64%。CAR-T治疗后复发的另一重要原因就是PD-1的上调诱发T细胞功能障碍和衰竭导致治疗失败。研究表明, 抗PD-1抗体能够提

高 CAR-T 疗法的成功率^[47]。联合 CAR-T 和免疫检查点抑制剂的新型疗法正在开发中。

2017 年被 FDA 批准上市两种 CD19 CAR-T 药物 axis-cel 和 tisagenlecleucel 分别采用了不同的共刺激域 CD28 和 CD137, 也赋予相应 CAR-T 不同的功能特征。其中 CD28 促进 T 细胞分化为具有效应记忆表型的细胞, 含有 CD28 信号域的 CAR-T 细胞具有强大的增殖和分泌细胞因子的能力, 而 4-1BB 可诱导渐进性反应, 含有 4-1BB 信号域的 CAR-T 细胞在体内的持久性更好^[48-49]。有研究比较了两种分别应用 CD28 和 CD137 共刺激域的 CAR-T 细胞在难治或复发 B-NHL 治疗的单中心 I/IIa 期临床试验中的疗效和不良事件, 结果显示: 两种 CAR-T 细胞具有相似的抗肿瘤活性, 然而, 与 CD28 共刺激相比, CD137 CAR-T 细胞由于其缓慢而稳定的生物学行为而具有更好的安全性^[49]。尽管纳入病例数量少, 该研究对于我们选择不同共刺激域的 CAR-T 仍具有一定提示作用。

在 CAMERON 等^[50]的研究中, 接受环磷酰胺淋巴瘤清除预处理的患者体内 CAR-T 细胞扩张的持久性增强, 且应答率 (CR 为 50%, ORR 为 72%) 高于不接受环磷酰胺预处理的患者 (CR 为 8%, ORR 为 50%)。这提示我们正确的化疗药物预处理能增强 CAR-T 的疗效。

2.5 多发性骨髓瘤

多发性骨髓瘤 (multiple myeloma, MM) 难以通过目前的医疗手段得到治愈。CAR-T 已经在复发和难治性 MM (refractory/relapsed multiple myeloma, RRMM) 的临床治疗中显示出良好前景。在骨髓瘤 CAR-T 治疗的诸多不同靶点中, B 细胞成熟抗原 (B cell maturation antigen, BCMA) 是迄今为止最有效的靶点。FDA 于 2021 年 3 月批准了首个用于 RRMM 的 BCMA CAR-T 细胞疗法。BCMA 广泛表达于 MM 细

胞, 但在 CD34⁺造血细胞上不表达^[51]。

BRUDNO 等^[52]的研究共纳入 26 例 MM 患者, 在最高的 BCMA CAR-T 细胞剂量下, 可评估的 11 例患者中有 9 例获得了客观的抗骨髓瘤反应; 通过骨髓流式细胞术检测发现, 10 例患者中有 8 例达到了最小残留疾病 (minimal residual disease, MRD) 阴性状态; 毒性反应持续时间有限且可控。LCAR-B38M 是一种针对两个不同的 BCMA 表位的 CAR-T 细胞疗法, 它的 I 期临床研究也取得了可喜的结果^[53]。

通常, 从 MM 患者中分离的恶性浆细胞缺乏 CD19 表达, 然而, 最近的报道表明, 难治性 MM 患者血浆细胞可能表达 CD19。在 GARFALL 等^[54]的研究中, 2 例 MM 患者接受 CD19 CAR-T 治疗后无进展生存期明显延长, 提示 CD19 也可以是治疗 MM 的潜在靶点, 但研究仍需增加病例数以及延长随访时间观察长期疗效才能得到进一步验证。另外, 以 kappa 轻链、CD138、CD38 等为靶点的 CAR-T 研究也已经进入 I 期临床试验阶段^[55-57], 各种血液肿瘤目前的主要靶点如表 2 所示。

以单个抗原为靶点的 CAR-T 疗法可能由于抗原丢失或突变导致免疫逃逸。研究者开始考虑设计同时靶向多个抗原的 CAR-T 可能是减少免疫逃逸的可行方法。FENG 等^[58]发现在体外实验中, 与单独靶向两个抗原中任何一个相比, 以 BCMA 和 CD38 为双靶点的 CAR-T 疗法能更高效地刺激 T 细胞增殖且具有更强的细胞毒性, 更重要的是, 可在 MM 模型小鼠中实现完全的肿瘤清除, 且在研究过程中模型小鼠中没有观察到 MM 复发。双靶点 CAR-T 研究可能为更多 RRMM 患者带来福音。

另外, 关于 BCMA-CD3 双特异性 T 细胞衔接器的临床前研究也展示出了可喜的结果^[59], 其与 BCMA CAR-T 疗法在体内、体外具有相同的抗肿瘤活性, 但前者在体内能更快地发挥抗肿瘤作用。

表 2 各种血液肿瘤的主要靶点

Table 2 Major targets of various hematological malignancies

疾病 Disease	靶点 Targets
B-cell acute lymphoblastic leukemia	CD19, CD22, CD20
T-cell acute lymphoblastic leukemia	CD5, CD7
Acute myeloid leukemia	CD33, CD123, CLL1, CD70, CD117, Siglec-6
Non-Hodgkin lymphoma	CD19, CD22, CD20, CD7
Multiple myeloma	BCMA, CD19, CD138, CD38, kappa light chain

3 CAR-T治疗相关并发症及应对策略

由于免疫激活作用,患者在接受CAR-T治疗时常伴随出现多种毒性。两种最主要的急性毒性是CRS和神经毒性,后者也称为免疫效应细胞相关神经毒性综合征(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome, ICANS)。其他不良反应还包括血细胞减少、噬血细胞淋巴组织细胞增多症/巨噬细胞活化综合征、过敏反应和肿瘤溶解综合征等。

3.1 细胞因子释放综合征

CRS是由CAR-T细胞和其他免疫细胞释放大量的炎性细胞因子继发的全身炎症反应。这些炎性细胞因子最初不是由CAR-T而是由宿主免疫细胞释放的。减少和清除巨噬细胞和单核细胞、抑制GM-CSF信号可以降低CRS的严重程度^[60]。CRS可能发生在接受CAR-T疗法后的几个小时到14天的任何时间。CRS表现为疲劳、肌痛、关节痛、发热,可迅速进展为低血压、心动过速、呼吸急促和缺氧、心律失常、毛细血管渗漏、凝血功能障碍、呼吸衰竭、休克和器官功能障碍。在严重的病例中,已经报告了由CRS造成的死亡,这突出了早期识别和管理CRS的重要性^[61-63]。

IL-6被认为在CRS的发展中起到关键作用。托珠单抗(Tocilizumab)是一种经FDA批准用于治疗CRS的IL-6R拮抗剂,目前常规用于治疗2~4级CRS。单剂量托珠单抗治疗后,大多数CRS病例症状将迅速缓解。IL-1也是一个关键的细胞因子。临床前研究表明,与单独使用IL-6拮抗剂相比,单独使用IL-1R抑制剂或两者联合使用均能提高患者OS^[64]。JATIANI等^[65]报告了2例发生CRS的患者,与接受托珠单抗单药治疗的患者相比,接受IL-1R抑制剂和托珠单抗联合治疗的患者体内炎性细胞因子降低,症状更能得到有效缓解。

长期以来,人们一直担心糖皮质激素的淋巴毒性作用会影响CAR-T治疗的效力。随着对该领域的研究的深入,糖皮质激素在CAR-T治疗引起的CRS中的应用引起争议。STRATI等^[66]的研究发现,糖皮质激素使用不会影响无进展生存期,但当考虑糖皮质激素的累积剂量和持续时间时发现,增加使用剂量会缩短PFS;激素的使用可以显著降低OS。但是在有些研究中糖皮质激素组和对照组的ORR的差异没有统计学意义^[67-68]。对此,仍需纳入更大样本量的前瞻性随机临床研究进一步验证。以大剂量长期

使用糖皮质激素作为CRS的治疗手段也应谨慎。

JAK是炎症信号通路中的关键分子,已经成为许多炎症疾病的药理学靶点,卢可替尼(Ruxolitinib)是一种口服JAK1/2抑制剂。在我们的研究中,4例发生类固醇难治性CRS的患者在接受卢可替尼干预后,血清炎性细胞因子显著降低,症状迅速缓解;我们仍能检测到CAR-T在体内的扩张,未发现与卢可替尼相关的明显不良事件。然而,我们还在体外发现,卢可替尼对CAR-T中TNF- α 和IFN- γ 等效应分子的分泌有一定抑制作用,表明长期大量使用卢可替尼可能会影响CAR-T抗肿瘤效果^[69]。因此,虽然我们认为卢可替尼在治疗重度CRS时有效且具有良好的耐受性,但是仅推荐其在激素耐药的CRS患者中使用。

3.2 神经毒性

神经毒性通常表现为注意力和意识障碍,可发展为意识抑制、昏迷、癫痫和致命性脑水肿。其病理生理学机制尚不清楚。由于托珠单抗的血液屏障渗透性差,在此方面的疗效有限,仅用于ICANS伴随CRS出现时。对于单独出现的ICANS,类固醇是主要的治疗药物^[70]。对于出现脑水肿的患者,还可给予甘露醇或高渗盐水和过度通气等对症治疗。

在给予托珠单抗后CRS和ICANS仍继续进展时,可以考虑司妥昔单抗(Siltuximab)。司妥昔单抗是一种通过结合IL-6从而清除循环中IL-6的单克隆抗体,对ICANS展示出了一定疗效^[63]。

3.3 血细胞减少

CAR-T疗法的第三大毒性就是细胞减少,表现为贫血、由血小板降低导致的易出血以及由白细胞减少导致的感染症状。CD19作为B细胞抗原,以其为靶点的CAR-T疗法由于耗尽了患者体内正常B细胞,导致B细胞再生障碍和低球蛋白血症成为接受治疗后出现的较为常见的不良反应;CD7 CAR-T能够靶向患者自身的正常T细胞和NK细胞表面的CD7,导致淋巴细胞减少,虽然CD7阴性细胞代偿性增加且具有一定保护作用,患者的T细胞免疫功能是否能完全恢复正常仍有待于进一步研究^[26]。另外,既往治疗或CAR-T输注前预处理导致的粒细胞或淋巴细胞减少、既往治疗相关的免疫抑制、用来对抗CRS或ICANS的类固醇的应用等都会增加患者感染的风险^[71-72]。

PARK等^[73]发现, B-ALL患者接受CD19 CAR-T

治疗后,出现的26例感染的主要病原体是细菌(17例),病毒感染共5例;而在KAMBHAMPATI等^[74]的研究中,引起BCNA CAR-T治疗后MM患者出现感染的主要病原体是病毒,但是两者的一致结果是感染主要累及呼吸系统。

免疫球蛋白替代治疗常作为B细胞再生障碍和低球蛋白血症的替代治疗。有趣的是,有研究显示CAR-T细胞治疗后持续的细胞减少症已经通过自体输血或转基因干细胞支持得到解决^[75]。

4 总结与展望

尽管CAR-T在治疗多种血液肿瘤上取得了早期的临床成功,但该领域研究仍处于起步阶段。CAR-T疗法的复发率相当高并且存在不同程度毒性,这都要求我们进一步改进这项技术。克服靶向肿瘤抗原逃逸从而降低复发率、尽可能降低毒性副反应应该是我们持续努力的方向。对此,新的策略包括新的CAR-T结构构建、免疫抑制微环境的调节、新靶点选择、通用CAR-T技术、联合治疗等。研究者们还在进一步探索以期为患者带来福音。

参考文献 (References)

- [1] CHMIELEWSKI M, KOPECKY C, HOMBACH A A, et al. IL-12 release by engineered T cells expressing chimeric antigen receptors can effectively muster an antigen-independent macrophage response on tumor cells that have shut down tumor antigen expression [J]. *Cancer Res*, 2011, 71(17): 5697-706.
- [2] HU B, REN J, LUO Y, et al. Augmentation of antitumor immunity by human and mouse CAR T Cells secreting IL-18 [J]. *Cell Rep*, 2017, 20(13): 3025-33.
- [3] TANG N, CHENG C, ZHANG X, et al. TGF-beta inhibition via CRISPR promotes the long-term efficacy of CAR T cells against solid tumors [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(4): e133977.
- [4] MAUDE S L, LAETSCH T W, BUECHNER J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 439-48.
- [5] VAN DER STEGEN S J, HAMIEH M, SADELAIN M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2015, 14(7): 499-509.
- [6] DAI H, WANG Y, LU X, et al. Chimeric antigen receptors modified T-cells for cancer therapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016, 108(7): djv439.
- [7] MAUDE S L, FREY N, SHAW P A, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(16): 1507-17.
- [8] YING Z, HUANG X F, XIANG X, et al. A safe and potent anti-CD19 CAR T cell therapy [J]. *Nat Med*, 2019, 25(6): 947-53.
- [9] PARK J H, RIVIERE I, GONEN M, et al. Long-term follow-up of CD19 CAR therapy in acute lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5): 449-59.
- [10] KENDERIAN S S, PORTER D L, GILL S. Chimeric antigen receptor T cells and hematopoietic cell transplantation: How not to put the CART before the horse [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(2): 235-46.
- [11] LEE D W, KOCHENDERFER J N, STETLER-STEVENSON M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial [J]. *The Lancet*, 2015, 385(9967): 517-28.
- [12] PAN J, TAN Y, DENG B, et al. Frequent occurrence of CD19-negative relapse after CD19 CAR T and consolidation therapy in 14 TP53-mutated r/r B-ALL children [J]. *Leukemia*, 2020, 34(12): 3382-7.
- [13] PAN J, NIU Q, DENG B, et al. CD22 CAR T-cell therapy in refractory or relapsed B acute lymphoblastic leukemia [J]. *Leukemia*, 2019, 33(12): 2854-66.
- [14] LIU S, DENG B, YIN Z, et al. Combination of CD19 and CD22 CAR-T cell therapy in relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia after allogeneic transplantation [J]. *Am J Hematol*, 2021, 96(6): 671-9.
- [15] TAN Y, CAI H, LI C, et al. A novel full-human CD22-CAR T cell therapy with potent activity against CD22(low) B-ALL [J]. *Blood Cancer J*, 2021, 11(4): 71.
- [16] DAI H, WU Z, JIA H, et al. Bispecific CAR-T cells targeting both CD19 and CD22 for therapy of adults with relapsed or refractory B cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 30.
- [17] ALCANTARA M, TESIO M, JUNE C H, et al. CAR T-cells for T-cell malignancies: challenges in distinguishing between therapeutic, normal, and neoplastic T-cells [J]. *Leukemia*, 2018, 32(11): 2307-15.
- [18] CHEN K H, WADA M, PINZ K G, et al. Preclinical targeting of aggressive T-cell malignancies using anti-CD5 chimeric antigen receptor [J]. *Leukemia*, 2017, 31(10): 2151-60.
- [19] GOMES-SILVA D, SRINIVASAN M, SHARMA S, et al. CD7-edited T cells expressing a CD7-specific CAR for the therapy of T-cell malignancies [J]. *Blood*, 2017, 130(3): 285-96.
- [20] MAMONKIN M, ROUCE R H, TASHIRO H, et al. A T-cell-directed chimeric antigen receptor for the selective treatment of T-cell malignancies [J]. *Blood*, 2015, 126(8): 983-92.
- [21] BERLAND R, WORTIS H H. Origins and functions of B-1 cells with notes on the role of CD5 [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 253-300.
- [22] JONES N H, CLABBY M L, DIALYNAS D P, et al. Isolation of complementary DNA clones encoding the human lymphocyte glycoprotein T1/Leu-1 [J]. *Nature*, 1986, 323(6086): 346-9.
- [23] RABINOWICH H, PRICOP L, HERBERMAN R B, et al. Expression and function of CD7 molecule on human natural killer cells [J]. *J Immunol*, 1994, 152(2): 517-26.
- [24] REINHOLD U, ABKEN H, KUKEL S, et al. CD7- T cells represent a subset of normal human blood lymphocytes [J]. *J Immunol*, 1993, 150(5): 2081-9.
- [25] COOPER M L, CHOI J, STASER K, et al. An "off-the-shelf" fratricide-resistant CAR-T for the treatment of T cell hematologic malignancies [J]. *Leukemia*, 2018, 32(9): 1970-83.
- [26] PAN J, TAN Y, WANG G, et al. Donor-derived CD7 chimeric

- antigen receptor T cells for T-cell acute lymphoblastic leukemia: first-in-Human, phase I trial [J]. *J Clin Oncol*, 2021, doi: 10.1200/JCO.21.00389.
- [27] LI S, WANG X, YUAN Z, et al. Eradication of T-ALL cells by CD7-targeted universal CAR-T cells and initial test of Ruxolitinib-based CRS management [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(5): 1242-6.
- [28] XIE L, MA L, LIU S, et al. Chimeric antigen receptor T cells targeting CD7 in a child with high-risk T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 96: 107731.
- [29] EHNINGER A, KRAMER M, RÖLLIG C, et al. Distribution and levels of cell surface expression of CD33 and CD123 in acute myeloid leukemia [J]. *Blood Cancer J*, 2014, 4(6): e218.
- [30] WALTER R B, APPELBAUM F R, ESTEY E H, et al. Acute myeloid leukemia stem cells and CD33-targeted immunotherapy [J]. *Blood*, 2012, 119(26): 6198-208.
- [31] WILLIER S, ROTHÄMEL P, HASTREITER M, et al. CLEC12A and CD33 coexpression as a preferential target for pediatric AML combinatorial immunotherapy [J]. *Blood*, 2021, 137(8): 1037-49.
- [32] HAUBNER S, PERNA F, KÖHNKE T, et al. Coexpression profile of leukemic stem cell markers for combinatorial targeted therapy in AML [J]. *Leukemia*, 2019, 33(1): 64-74.
- [33] KIM M Y, YU K R, KENDERIAN S S, et al. Genetic inactivation of CD33 in hematopoietic stem cells to enable CAR T Cell immunotherapy for acute myeloid leukemia [J]. *Cell*, 2018, 173(6): 1439-53, e19.
- [34] GOMES-SILVA D, ATILLA E, ATILLA P A, et al. CD7 CAR T cells for the therapy of acute myeloid leukemia [J]. *Mol Ther*, 2019, 27(1): 272-80.
- [35] LYNN R C, FENG Y, SCHUTSKY K, et al. High-affinity FR β -specific CAR T cells eradicate AML and normal myeloid lineage without HSC toxicity [J]. *Leukemia*, 2016, 30(6): 1355-64.
- [36] TASHIRO H, SAUER T, SHUM T, et al. Treatment of acute myeloid leukemia with T Cells expressing chimeric antigen receptors directed to C-type lectin-like molecule 1 [J]. *Mol Ther*, 2017, 25(9): 2202-13.
- [37] TAMBARO F P, SINGH H, JONES E, et al. Autologous CD33-CAR-T cells for treatment of relapsed/refractory acute myelogenous leukemia [J]. *Leukemia*, 2021, 35(11): 3282-6.
- [38] PERNA F, BERMAN S H, SONI R K, et al. Integrating proteomics and transcriptomics for systematic combinatorial chimeric antigen receptor therapy of AML [J]. *Cancer Cell*, 2017, 32(4): 506-19, e5.
- [39] RIETHER C, SCHÜRCH C M, BÜHRER E D, et al. CD70/CD27 signaling promotes blast stemness and is a viable therapeutic target in acute myeloid leukemia [J]. *J Exp Med*, 2017, 214(2): 359-80.
- [40] 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): 318-30.
- [41] JETANI H, NAVARRO-BAILÓN A, MAUCHER M, et al. Siglec-6 is a novel target for CAR T-cell therapy in acute myeloid leukemia (AML) [J]. *Blood*, 2021, 138(19): 1830-42.
- [42] ZHANG H, WANG P, LI Z, et al. Anti-CLL1 chimeric antigen receptor T-cell therapy in children with relapsed/refractory acute myeloid leukemia [J]. *Clin Cancer Res*, 2021, 27(13): 3549-55.
- [43] MYBURGH R, KIEFER J D, RUSSKAMP N F, et al. Anti-human CD117 CAR T-cells efficiently eliminate healthy and malignant CD117-expressing hematopoietic cells [J]. *Leukemia*, 2020, 34(10): 2688-703.
- [44] VERCELLINO L, DI BLASI R, KANOUN S, et al. Predictive factors of early progression after CAR T-cell therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Blood Adv*, 2020, 4(22): 5607-15.
- [45] BAIRD J H, FRANK M J, CRAIG J, et al. CD22-directed CAR T-cell therapy induces complete remissions in CD19-directed CAR-refractory large B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2021, 137(17): 2321-5.
- [46] TONG C, ZHANG Y, LIU Y, et al. Optimized tandem CD19/CD20 CAR-engineered T cells in refractory/relapsed B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2020, 136(14): 1632-44.
- [47] CHONG E A, MELENHORST J J, LACEY S F, et al. PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells: refueling the CAR [J]. *Blood*, 2017, 129(8): 1039-41.
- [48] KAWALEKAR O U, O'CONNOR R S, FRAIETTA J A, et al. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells [J]. *Immunity*, 2016, 44(2): 380-90.
- [49] YING Z, HE T, WANG X, et al. Parallel comparison of 4-1BB or CD28 co-stimulated CD19-targeted CAR-T cells for B cell non-Hodgkin's lymphoma [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2019, 15: 60-8.
- [50] TURTLE C J, HANAFI L A, BERGER C, et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8⁺ and CD4⁺ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(355): 355ra116.
- [51] CARPENTER R O, EVBUOMWAN M O, PITTALUGA S, et al. B-cell maturation antigen is a promising target for adoptive T-cell therapy of multiple myeloma [J]. *Clin Cancer Res*, 2013, 19(8): 2048-60.
- [52] BRUDNO J N, MARIC I, HARTMAN S D, et al. T cells genetically modified to express an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of poor-prognosis relapsed multiple myeloma [J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(22): 2267-80.
- [53] ZHAO W H, LIU J, WANG B Y, et al. A phase 1, open-label study of LCAR-B38M, a chimeric antigen receptor T cell therapy directed against B cell maturation antigen, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11(1): 141.
- [54] GARFALL A L, STADTMAUER E A, HWANG W T, et al. Anti-CD19 CAR T cells with high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation for refractory multiple myeloma [J]. *JCI Insight*, 2019, 4(4): e127684.
- [55] DRENT E, POELS R, MULDER M J, et al. Feasibility of controlling CD38-CAR T cell activity with a Tet-on inducible CAR design [J]. *PLoS One*, 2018, 13(5): e0197349.
- [56] GUO B, CHEN M, HAN Q, et al. CD138-directed adoptive immunotherapy of chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells for multiple myeloma [J]. *J Cell Immunother*, 2016, 2(1): 28-35.
- [57] RAMOS C A, SAVOLDO B, TORRANO V, et al. Clinical responses with T lymphocytes targeting malignancy-associated κ light chains [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(7): 2588-96.
- [58] FENG Y, LIU X, LI X, et al. Novel BCMA-OR-CD38 tandem-

- dual chimeric antigen receptor T cells robustly control multiple myeloma [J]. *Oncoimmunology*, 2021, 10(1): 1959102.
- [59] DILILLO D J, OLSON K, MOHRS K, et al. A BCMAxCD3 bispecific T cell-engaging antibody demonstrates robust antitumor efficacy similar to that of anti-BCMA CAR T cells [J]. *Blood Adv*, 2021, 5(5): 1291-304.
- [60] SACHDEVA M, DUCHATEAU P, DEPIL S, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor inactivation in CAR T-cells prevents monocyte-dependent release of key cytokine release syndrome mediators [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(14): 5430-7.
- [61] FREY N. Cytokine release syndrome: who is at risk and how to treat [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2017, 30(4): 336-40.
- [62] LEE D W, GARDNER R, PORTER D L, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome [J]. *Blood*, 2014, 124(2): 188-95.
- [63] NEELAPU S S, TUMMALA S, KEBRIAEI P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy-assessment and management of toxicities [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(1): 47-62.
- [64] NORELLI M, CAMISA B, BARBIERA G, et al. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells [J]. *Nat Med*, 2018, 24(6): 739-48.
- [65] JATIANI S S, ALEMAN A, MADDURI D, et al. Myeloma CAR-T CRS management with IL-1R antagonist anakinra [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2020, 20(9): 632-6,e1.
- [66] STRATI P, AHMED S, FURQAN F, et al. Prognostic impact of corticosteroids on efficacy of chimeric antigen receptor T-cell therapy in large B-cell lymphoma [J]. *Blood*, 2021, 137(23): 3272-6.
- [67] GHAFOURI S, TIMMERMAN J, LARSON S, et al. Axicabtagene Ciloleucelel CAR T-cell therapy for relapsed/refractory secondary CNS non-Hodgkin lymphoma: comparable outcomes and toxicities, but shorter remissions may warrant alternative consolidative strategies [J]? *Bone Marrow Transplant*, 2021, 56(4): 974-7.
- [68] JACOBSON C A, HUNTER B D, REDD R, et al. Axicabtagene ciloleucelel in the non-trial setting: outcomes and correlates of response, resistance, and toxicity [J]. *J Clin Oncol*, 2020, 38(27): 3095-106.
- [69] PAN J, DENG B, LING Z, et al. Ruxolitinib mitigates steroid-refractory CRS during CAR T therapy [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(2): 1089-99.
- [70] YÁÑEZ L, SÁNCHEZ-ESCAMILLA M, PERALES M A. CAR T cell toxicity: current management and future directions [J]. *Hemasphere*, 2019, 3(2): e186.
- [71] FRIED S, AVIGDOR A, BIELORAI B, et al. Early and late hematologic toxicity following CD19 CAR-T cells [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2019, 54(10): 1643-50.
- [72] WUDHIKARN K, PALOMBA M L, PENNISI M, et al. Infection during the first year in patients treated with CD19 CAR T cells for diffuse large B cell lymphoma [J]. *Blood Cancer J*, 2020, 10(8): 79.
- [73] PARK J H, ROMERO F A, TAUR Y, et al. Cytokine release syndrome grade as a predictive marker for infections in patients with relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia treated with chimeric antigen receptor T cells [J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(4): 533-40.
- [74] KAMBHAMPATI S, SHENG Y, HUANG C Y, et al. Infectious complications in relapsed refractory multiple myeloma patients after BCMA Car t-cell therapy [J]. *Blood Adv*, 2021, doi: 10.1182/bloodadvances.2020004079.
- [75] SCHUBERT M L, DIETRICH S, STILGENBAUER S, et al. Feasibility and safety of CD19 chimeric antigen receptor T cell treatment for B cell lymphoma relapse after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2020, 26(9): 1575-80.