

## 同一供者异基因 CD19-CAR-T 细胞输注序贯造血干细胞移植治疗 B 细胞急性淋巴细胞白血病二例报告并文献复习

李楠楠<sup>1</sup> 刘丽辉<sup>1</sup> 杨君芳<sup>2</sup> 范立军<sup>1</sup> 高新霞<sup>1</sup> 尹东旭<sup>1</sup> 陆佩华<sup>2</sup> 张建平<sup>1</sup>

<sup>1</sup>河北燕达陆道培医院移植科,廊坊 065201; <sup>2</sup>河北燕达陆道培医院血液科,廊坊 065201

通信作者:张建平,Email:zhangjianping16@sina.cn

临床试验注册: Clinical trial: NCT03050190、NCT03125577

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.11.012

### allo-CD19-CAR-T cells therapy followed with same-donor allo-HSCT to treat relapsed B-ALL: two cases report and literatures review

Li Nannan<sup>1</sup>, Liu Lihui<sup>1</sup>, Yang Junfang<sup>2</sup>, Fan Lijun<sup>1</sup>, Gao Xinxia<sup>1</sup>, Yin Dongxu<sup>1</sup>, Lu Peihua<sup>2</sup>, Zhang Jianping<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of BMT, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang 065201, China; <sup>2</sup>Department of Hematology, Hebei Yanda Lu Daopei Hospital, Langfang 065201, China

Corresponding author: Zhang Jianping, Email: zhangjianping16@sina.cn

嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法 (CAR-T) 治疗复发/耐药的 B 细胞急性淋巴细胞白血病 (B-ALL) 有效率达 70% ~ 90%<sup>[1-4]</sup>。但部分白血病患者因为肿瘤负荷高、淋巴细胞低等原因,不能采集到足够的自体 T 淋巴细胞而失去 CAR-T 治疗的机会。另一方面,同种异基因 T 细胞容易获得、无肿瘤细胞污染,初步研究发现在异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 后,应用供者来源的 CAR-T 细胞治疗,疗效好、移植植物抗宿主病 (GVHD) 发生率低<sup>[5-7]</sup>。但在移植前应用 allo-CAR-T 的经验尚缺乏。我们应用同一供者异基因 CAR-T 细胞 (CD19-CAR-T) 细胞输注序贯造血干细胞移植治疗 2 例 B-ALL 患者,报告如下。

#### 病例资料

例 1, 女, 3 岁, 于 2011 年 9 月因“面色苍白、下肢痛、发热”就诊。查骨髓原始幼稚淋巴细胞 0.780, 细胞表型: CD34 (+)、CD10 (-)、CD19 (+)、CD38 (+)。染色体核型: 56, XX, 1X, dup (1) (q23q32), +4, +6, +9, +14, +19, +21, +mar1, +mar2, +mar3 [20], 诊断 B-ALL, 接受 VDCP 化疗后获得完全缓解 (CR), 之后巩固、维持治疗 3 年, 一直处于完全缓解状态。维持治疗结束后, 2015 年 1 月流式细胞术检测骨髓微小残留病 (MRD) 为 0.02%。之后接受 3 个疗程的再诱导治疗无效来我院。入院后查骨髓原始幼稚淋巴细胞 0.650; 染色体核型: 46, XX, dup (1) (q21q32) [5]/46, XX [15]; KRAS 基因突变 (+); 未检出融合基因。患者一般状态差, 合并肺感染、胃肠道出血。培养患者自体 CAR-T 细胞未获成功, 采集患者母亲 (HLA 配型 5/10 相合) 淋巴细胞, 培养 allo-CAR-T

成功。在 allo-CAR-T 细胞输注前 5 ~ 3 d, 给予环磷酰胺 400 mg·m<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>+氟达拉滨 30 mg·m<sup>-2</sup>·d<sup>-1</sup>预处理, 0 d、+3 d、+7 d 分别输注 allo-CAR-T 细胞 0.54×10<sup>6</sup>/kg、0.5×10<sup>6</sup>/kg、0.9×10<sup>6</sup>/kg。+1 d 出现发热 (38.5 °C), 背部、颈部散在斑丘疹伴瘙痒。根据以前的经验<sup>[8]</sup>, 给予抗 TNF-α 抗体 (依那西普) 12.5 mg 及退热处理。之后几天予广谱抗生素和抗真菌治疗, 体温波动于 37.0 °C ~ 38.6 °C。生化检查无明显异常, IgA 和 IgM 下降。+27 d 复查骨髓原始幼稚淋巴细胞 0.020, 流式细胞术检测 MRD 0.42%。+50 d 血细胞恢复正常, 复查骨髓原始幼稚淋巴细胞 0.270, 流式细胞术检测 MRD 6.71%, allo-CAR-T 细胞消失。采集自体淋巴细胞 (基因检查确认) 进行二次 CAR-T 治疗, 采集的淋巴细胞数为 0.97×10<sup>9</sup>/kg, CD3<sup>+</sup> T 细胞占 45%。+51 d 给予环磷酰胺 400 mg/m<sup>2</sup> 和氟达拉滨 30 mg/m<sup>2</sup>, +56 d 再次输注自体 CAR-T 细胞 0.16×10<sup>6</sup>/kg, +64 d 检出 CAR-T 细胞扩增, 患者因反复发热接受依那西普治疗。+66 d 患者体温恢复正常。+77 d 复查骨髓为完全缓解 (CR)、流式细胞术 MRD 阴性, 染色体核型为 46, XX。因为未找到其他合适供者, 供者特异性抗体 (DSA) 阴性。在自体 CAR-T 细胞治疗后 2 个月行同一供者单倍型造血干细胞移植, 移植后 13 d 粒细胞植入, 17 d 血小板植入。随访至移植后 57 个月, 未发生急性 GVHD 和慢性 GVHD, 多次复查骨髓均为 CR, 完全供者嵌合。

例 2, 男, 5 岁, 于 2016 年 3 月因发热入院, 查骨髓原始幼稚淋巴细胞 0.510, 细胞表型为 CD10 (+)、CD19 (+)、CD79a (+)、CD20 部分 (+), 伴 E2A-PBX1 融合基因阳性。诊断 B-ALL, 给予 VDLD 方案化疗获得 CR, E2A-PBX1 融合基因

仍阳性,之后予巩固治疗3个疗程达CR,流式细胞术MRD阴性,E2A-PBX1融合基因转为阴性。在经过2个疗程巩固治疗后形态学仍为CR,但E2A-PBX1融合基因转为阳性。2017年2月,骨髓原始幼稚淋巴细胞0.350,细胞表型:CD10(+)、CD19(+)、CD79a(+)、CD22(+)、CD38(+)、HLA-DR(+)、CD11b(+),CD34部分(+)、CD20部分(+);染色体核型:46,XY,add(7)(p22),add(9)(q34),der(19)t(1;19)(q21;p13)[2]/46,XY,add(1)(p36),add(3)(q21)[1]/46,XY,dic(4;10)(q31;q22),del(12)(q24),del(19)(p13)[1]/46,XY[3]。予FLAG等方案化疗多个疗程,骨髓原始幼稚细胞0.110~0.920,多次腰穿查脑脊液未见异常,期间2次培养自体CAR-T细胞均未获成功。2017年7月6日复查骨髓原始幼稚淋巴细胞0.960,采集患者胞兄(HLA 10/10相合)淋巴细胞培养allo-CAR-T细胞获得成功。在allo-CAR-T细胞输注前5~3 d行环磷酰胺 $200\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ +氟达拉滨 $30\text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ 预处理,在2017年7月12日输注allo-CAR-T  $3\times 10^5/\text{kg}$ 。+4 d患者出现发热( $38.0\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 39.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ),+6 d出现头痛、抽搐、一过性意识不清,予甘露醇和糖皮质激素,15 min后抽搐好转,仍嗜睡,查外周血多种细胞因子明显增高(白细胞介素2、白细胞介素6、白细胞介素8、肿瘤坏死因子)并检出allo-CAR-T,考虑细胞因子释放综合征(CRS),予托珠单抗联合抗生素治疗,发热、头痛、嗜睡逐渐好转,头颅MRI、脑脊液检查均未见异常。+14 d复查骨髓形态学为CR、流式细胞术MRD阴性,E2A-PBX1融合基因阴性。流式细胞术检测CAR-T细胞占CD3<sup>+</sup>细胞比例,输注CAR-T细胞后6 d达到峰值64.2%后逐渐下降,输注后9、15、22、35、49 d分别为58.34%、2.25%、19.60%、1.66%、0.10%。

因未找到其他合适供者,未检出DSA,CAR-T治疗后2个月行同一供者allo-HSCT,移植后16 d粒细胞、血小板植入,出现I度皮肤GVHD,免疫抑制剂加量后好转。移植后1个月复查骨髓CR,E2A-PBX1融合基因阴性,嵌合率为完全供者嵌合。移植后2个月复查骨髓CR,流式细胞术MRD阴性,E2A-PBX1融合基因0.02%,免疫抑制剂减量。2周后复查骨髓CR、流式细胞术MRD阴性,E2A-PBX1融合基因0.11%,输注冻存供者CAR-T细胞 $4.1\times 10^5/\text{kg}$ ,CAR-T细胞输注后21 d复查骨髓CR,流式细胞术MRD阴性,E2A-PBX1融合基因阴性。移植后5个月出现额部包块,PET检查提示髓外复发,复查骨髓未见异常,予局部放疗。移植后8个月复查骨髓CR,E2A-PBX1融合基因0.35%,再次输注供者CAR-T细胞 $4.1\times 10^5/\text{kg}$ 。移植后9个月复查腹腔淋巴结肿大,活检病理显示髓外复发,复查骨髓为CR,E2A-PBX1融合基因0.02%,予局部放疗。移植后1年骨髓复发,予吉西他滨加依托泊苷化疗后未获缓解,移植后14个月死于B-ALL复发和肺感染。

### 讨论及文献复习

靶向CD19的自体CAR-T治疗难治/复发B-ALL取得了很好的临床疗效<sup>[1-4]</sup>,但是增生明显减低、肿瘤负荷高的患

者,很难采集够足够的自体T细胞,导致CAR-T培养失败。而异基因T细胞容易获得且无肿瘤细胞污染,但需要考虑安全性、有效性和GVHD情况。难治/复发的B-ALL患者,在CAR-T治疗获得CR后,一般需要桥接allo-HSCT以获得长期生存<sup>[9]</sup>。本组2例患者是同一供者allo-CAR-T输注桥接allo-HSCT的首次报告。

allo-CAR-T治疗最首要的顾虑是安全性问题,尤其是严重的GVHD、CRS、神经毒性等。以往研究显示,在allo-HSCT后输注供者来源CAR-T细胞,GVHD的发生率很低<sup>[5-7,9-10]</sup>。Anwer等<sup>[6]</sup>的荟萃分析纳入7项研究中72例移植后输注供者来源allo-CAR-T的患者(急性淋巴细胞白血病50例、慢性淋巴细胞白血病9例、非霍奇金淋巴瘤13例),只有5例(6.9%)发生GVHD。本组2例患者也未观察到严重的急性GVHD表现。可能与CAR-T治疗前应用预处理和应用TNF- $\alpha$ 抗体有关,另外,患者本身的免疫状态较差,可能也有一定关系。

CRS是CAR-T治疗一种常见的免疫介导反应,是由输入的T细胞激活引起大量细胞因子释放,招募和激活其他免疫细胞引起。第二代CD19-CAR-T细胞治疗B-ALL后CRS的发生率为30%~100%,3~4级CRS发生率为10%~30%,CRS一般发生于CAR-T细胞输注后1~14 d,可持续1~10 d<sup>[3,9,11-12]</sup>。CRS的危险因素包括肿瘤负荷、输注时的活动性感染、CAR-T细胞的输注量、CAR-T细胞的类型和预处理方案等<sup>[3-4,13]</sup>。本组2例患者allo-CAR-T细胞输注后CRS反应均较轻且可控,提示allo-CAR-T后的CRS可接受,但例数较少,需要进一步观察。

另外,CAR-T治疗后神经系统毒性反应的发生率为12%~55%,首次出现神经系统症状的中位发生时间为CAR-T输注后6(1~34)d,症状持续时间一般为2~9 d,临床表现包括思维混乱、头痛、震颤、幻觉、异常运动甚至抽搐、视乳头水肿、昏迷等<sup>[1,3-4]</sup>。本组2例患者中有1例出现头痛、抽搐、一过性意识不清,考虑与CAR-T细胞的神经毒性有关。

另外,输注CAR-T细胞前予化疗预处理可提高CAR-T细胞的植入率。目前最常用的预处理方案是氟达拉滨联合环磷酰胺,可减少肿瘤负荷并抑制宿主T淋巴细胞<sup>[3,13-14]</sup>。本组2例患者输注CAR-T治疗前也采用了氟达拉滨联合环磷酰胺预处理方案,均耐受良好。

文献报告,自体CAR-T细胞输注后可持续存活1个月至数年。有研究显示,在移植后输注同一供者allo-CAR-T细胞患者的存活时间短于自体CAR-T细胞输注<sup>[15]</sup>,但也有获得长期生存的报告<sup>[4,6-7]</sup>。Hu等<sup>[10]</sup>报告allo-CAR-T扩增低于自体CAR-T细胞,不同于自体CAR-T细胞只靠CAR起作用,allo-CAR-T通过CAR和T细胞受体(TCR)起作用,但两个系统可能存在相互作用而影响CAR-T细胞的扩增<sup>[10,16]</sup>。然而,对未予强烈预处理和移植的患者,allo-CAR-T是否能跨越HLA屏障,能否在宿主体内扩增和持续存在尚不清楚。本组2例患者在氟达拉滨联合环磷酰胺预处理后输注

allo-CAR-T后在患者外周血中检出 allo-CAR-T, 提示 allo-CAR-T可跨越HLA屏障。

CAR-T治疗后,部分患者可能获得长期生存,但对难治/复发B-ALL患者,大部分仍会出现白血病复发<sup>[9,17]</sup>。为获得长期生存,可桥接allo-HSCT。allo-CAR-T输注后桥接同一供者allo-HSCT尚未见报道。理论上,输注allo-CAR-T,可能致敏。实际上,部分患者体内可能存在DSA,当存在高滴度的DSA时,可影响造血干细胞的植入<sup>[18]</sup>。本组2例患者均未检出DSA,因为找不到合适供者,最后均行同一供者allo-HSCT。移植后造血重建顺利,GVHD很轻。初步提示在allo-CAR-T治疗后桥接同一供者allo-HSCT治疗B-ALL是可行的,值得进一步研究。

### 参考文献

- [1] Oluwole OO, Davila ML. At the bedside: clinical review of chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for B cell malignancies [J]. *J Leukoc Biol*, 2016, 100 (6): 1265-1272. DOI: 10.1189/jlb.SBT1115-524R.
- [2] Frey NV. Chimeric antigen receptor T cells for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Am J Hematol*, 2019, 94 (S1): S24-S27. DOI: 10.1002/ajh.25442.
- [3] Yakoub-Agha I, Chabannon C, Bader P, et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE) [J]. *Haematologica*, 2020, 105 (2): 297-316. DOI: 10.3324/haematol.2019.229781.
- [4] Majzner RG, Mackall CL. Clinical lessons learned from the first leg of the CAR T cell journey [J]. *Nat Med*, 2019, 25 (9): 1341-1355. DOI: 10.1038/s41591-019-0564-6.
- [5] Qasim W. Allogeneic CAR T cell therapies for leukemia [J]. *Am J Hematol*, 2019, 94 (S1): S50-S54. DOI: 10.1002/ajh.25399.
- [6] Anwer F, Shaikat AA, Zahid U, et al. Donor origin CAR T cells: graft versus malignancy effect without GVHD, a systematic review [J]. *Immunotherapy*, 2017, 9 (2): 123-130. DOI: 10.2217/imt-2016-0127.
- [7] Magnani CF, Biondi A, Biagi E. Donor-derived CD19-targeted T cells in allogeneic transplants [J]. *Curr Opin Hematol*, 2015, 22 (6): 497-502. DOI: 10.1097/MOH.000000000000178.
- [8] Lungji Chang, Lujia Dong, Yuchen Liu, et al. Safety and efficacy evaluation of 4SCAR19 chimeric antigen receptor-modified T cells targeting B cell acute lymphoblastic leukemia - three-year follow-up of a multicenter phase I/II study [J]. *Blood*, 2016, 128 (22): 587. DOI: 10.1182/blood.V128.22.587.587.
- [9] Frey NV. Chimeric antigen receptor T cells for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Am J Hematol*, 2019, 94 (S1): S24-S27. DOI: 10.1002/ajh.25442.
- [10] Hu Y, Wang J, Wei G, et al. A retrospective comparison of allogeneic and autologous chimeric antigen receptor T cell therapy targeting CD19 in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2019, 54 (8): 1208-1217. DOI: 10.1038/s41409-018-0403-2.
- [11] Lee DW, Santomasso BD, Locke FL, et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2019, 25 (4): 625-638. DOI: 10.1016/j.bbmt.2018.12.758.
- [12] Porter D, Frey N, Wood PA, et al. Grading of cytokine release syndrome associated with the CAR T cell therapy tisagenlecleucel [J]. *J Hematol Oncol*, 2018, 11 (1): 35. DOI: 10.1186/s13045-018-0571-y.
- [13] Hay KA, Hanafi LA, Li D, et al. Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy [J]. *Blood*, 2017, 130 (21): 2295-2306. DOI: 10.1182/blood-2017-06-793141.
- [14] Lee DW, Kochenderfer JN, 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]. *Lancet*, 2015, 385 (9967): 517-528. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.
- [15] Kochenderfer JN, Dudley ME, Carpenter RO, et al. Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2013, 122 (25): 4129-4139. DOI: 10.1182/blood-2013-08-519413.
- [16] Yang Y, Kohler ME, Chien CD, et al. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance [J]. *Sci Transl Med*, 2017, 9 (417): eaag1209. DOI: 10.1126/scitranslmed.aag1209.
- [17] Park JH, Rivière 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): 449-459. DOI: 10.1056/NEJMoa1709919.
- [18] Ciurea SO, Cao K, Fernandez-Vina M, et al. The European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) consensus guidelines for the detection and treatment of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) in haploidentical hematopoietic cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2018, 53 (5): 521-534. DOI: 10.1038/s41409-017-0062-8.

(收稿日期:2020-05-27)

(本文编辑:徐茂强)