

## CAR-T在造血干细胞移植中的作用

孙葳 黄晓军

北京大学人民医院、北京大学血液病研究所;造血干细胞移植治疗血液病北京市重点实验室;北大-清华生命科学联合中心 100044

通信作者:黄晓军,Email:huangxiaojun@bjmu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金创新团队(81621001);广州市产学研协同创新重大专项(201704020214)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.04.017

### The role of CAR-T in hematopoietic stem cell transplantation

Sun Wei, Huang Xiaojun

Peking University, People's Hospital, Peking University Institute of Hematology; Beijing Key Laboratory of Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Hematological Diseases; Peking University-Tsinghua University Joint Center for Life Sciences, Beijing 100044, China

Corresponding author: Huang Xiaojun, Email: huangxiaojun@bjmu.edu.cn

自1968年第1例异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)实施以来<sup>[1]</sup>,HSCT目前仍是许多恶性血液系统肿瘤疾病的唯一治愈手段<sup>[2]</sup>。作为早期细胞免疫治疗的成功范例,越来越多的学者意识到,细胞免疫治疗在抗击恶性肿瘤方面具有至关重要的作用。近年来发展迅速的CAR-T细胞免疫治疗,更是受到医学界的关注,CAR-T相关的临床试验在全世界范围内大规模开展。

HSCT的治愈作用不仅依赖于预处理化疗的细胞毒作用,还在于其对受者体内免疫环境的“重置”,即供者细胞发挥的移植物抗白血病效应(GVL)<sup>[3]</sup>。然而,仍有一些障碍制约着HSCT的应用,包括移植供者的选择受到了HLA的限制、成功移植需要采集足够的细胞以及部分高危及复发难治患者的预后仍不理想<sup>[4]</sup>。在CAR-T时代,移植的作用也悄然发生了变化,CAR-T与移植相结合可成为改善移植疗效的有效手段<sup>[5]</sup>。在移植前,CAR-T可以用于清扫形态学完全缓解(CR)患者的残留病灶,也可以用于降低难治患者的肿瘤负荷;在移植后,CAR-T可作为巩固或维持治疗,降低高危患者移植后复发的风险;即使不幸在移植后复发或进展,CAR-T也是挽救治疗措施中较为有效的手段之一。

1. 移植前CAR-T的应用:CAR-T细胞免疫治疗对于难治、复发急性B淋巴细胞白血病(B-ALL)疗效显著,那么CAR-T是否可以桥接移植,用于降低难治患者的肿瘤负荷? Davila等<sup>[6]</sup>应用自体CD19-28z CAR-T对16例难治复发性B-ALL患者进行治疗,总体CR率为88%,随后7例CR患者行allo-HSCT且没有再复发。Lee等<sup>[7]</sup>对21例难治复发性B-ALL或非霍奇金淋巴瘤患者进行CD19 CAR-T细胞治疗,9.7个月后总生存(OS)率为51.6%,经过CAR-T治疗后微小残留病灶(MRD)阴性的12例B-ALL患者4.8个月无病生存

(DFS)率为78.8%,这12例患者中有10例随后进行了HSCT,均维持DFS。Pan等<sup>[8]</sup>对42例难治复发和9例MRD阳性的B-ALL进行CD19 CAR-T细胞治疗,90%的难治复发病例获得CR或完全缓解而血细胞计数未完全恢复(CRi),100%的MRD阳性患者获得CR,随后27例获得CR或CRi的患者桥接至allo-HSCT,23例患者MRD持续阴性,中位随访时间为206 d,50%没有进行移植的CR或CRi的患者出现复发。童春容<sup>[9]</sup>对64例难治复发的B-ALL进行CD19 CAR-T细胞治疗,47例(73.4%)达到CR,随后32例获得CR的患者桥接移植,28例患者维持MRD阴性,该疗效与第1次CR期接受移植者相同。因此,不难看出CAR-T治疗难治、复发B-ALL后桥接至移植可以进一步降低复发率。

2. 移植后复发CAR-T的应用:移植后复发是allo-HSCT后死亡的主要原因<sup>[10]</sup>。在HSCT后,通常来自移植供者的供者淋巴细胞输注(DLI)进行治疗<sup>[11]</sup>。黄晓军教授团队报道了移植后复发应用DLI,CR率可达64%<sup>[12]</sup>。然而,DLI治疗在一些患者中不能有效根除白血病细胞或引起严重的移植物抗宿主病(GVHD)<sup>[13]</sup>,因此DLI缓解后再次复发或DLI治疗无效患者的管理目前仍是需要解决的问题。黄晓军教授团队利用CAR-T技术在治疗allo-HSCT后复发且DLI无效的B-ALL患者中取得了良好的疗效,5例(83.3%)患者获得CR<sup>[14]</sup>。因此,提示CAR-T治疗与DLI疗法在杀伤白血病细胞的机制并不相同,研究B-ALL allo-HSCT治疗后疾病进展或复发的新型治疗方法正逐渐被国内外学者所重视。Maude等<sup>[15]</sup>报道了在allo-HSCT后复发接受自体CD19 CAR-T细胞治疗的18例患者中,15例(83.3%)获得CR,输注CAR-T细胞后未观察到GVHD。6个月DFS和OS率分别为67%和68%。Turtle等<sup>[16]</sup>对11例移植后复发的B-ALL患

者进行了自体CD19 CAR-T细胞免疫治疗,10例(90.9%)获得CR。Gardner等<sup>[17]</sup>观察28例移植后复发后接受自体CD19 CAR-T细胞治疗的B-ALL患者,其中MRD阴性组CR率高达93%。这些数据均提示移植后复发应用CAR-T细胞治疗具有良好的疗效。但移植后复发应用CAR-T细胞治疗再复发率仍然很高<sup>[18]</sup>,因此如何预防CAR-T治疗后复发也是未来重要的研究方向。

3. CAR-T在移植后微小残留病变(MRD)阳性的应用:目前研究表明移植后MRD阳性提示后续复发风险增加。Anguille等<sup>[19]</sup>观察到移植后100 d内ALL患者MRD阳性状态预示着随后复发的风险增加6倍。Zhao等<sup>[20]</sup>报道了Ph阳性ALL移植后MRD阳性患者的累积复发率为54%,显著高于MRD阴性患者。Mo等<sup>[21-22]</sup>利用DLI或干扰素对ALL患者行allo-HSCT后MRD阳性进行干预,75%的患者DLI干预后MRD转阴,2年累积复发率为30.7%,2年DFS和OS率分别为58.9%和69.3%;75.7%的患者在干扰素治疗1个月后MRD转阴,2年累积复发率为11.5%,2年DFS和OS率为82.4%和87.4%。黄晓军团队最近的一项研究对移植后MRD阳性且对供者淋巴细胞输注无效的6例B-ALL进行了CD19 CAR-T细胞治疗,5例(83.33%)达到MRD阴性缓解,3例目前仍处于DFS,无一例患者发生急性GVHD,无一例患者死于细胞因子释放综合征(CRS)。提示作为一种新型细胞治疗免疫方法,CAR-T治疗在用于移植后MRD阳性且DLI输注无效的患者中是安全有效的,但CAR-T疗法长期疗效如何,仍然需要更多临床试验验证,其是否能进入一线治疗,依然值得期待。

4. CAR-T细胞来源的影响:目前CAR-T治疗主要采用患者淋巴细胞来源的自体CAR-T。自体CAR-T虽然安全性好、无GVHD风险,但制备时间通常需要14~21 d,存在制备过程中出现疾病进展、容易受到白血病细胞污染导致治疗后复发等缺点<sup>[23]</sup>。在JULIET临床试验中,Tisagenlecleucel用于治疗复发、难治性弥漫大B细胞淋巴瘤和滤泡型淋巴瘤,13%的患者由于疾病进展无法接受CAR-T治疗<sup>[24]</sup>。同样使用该CAR-T产品的另一项针对儿童和青年人B-ALL的临床试验中,7.6%的患者在回输CAR-T细胞之前疾病进展死亡<sup>[25]</sup>。同时在制备CAR-T细胞过程中,白血病细胞也被转导CAR结构,导致其可以屏蔽自身CD19抗原,正常CAR-T细胞无法发挥作用,导致治疗后复发。而供者来源的CAR-T,研究者们主要关注在安全性方面。异体CAR-T应用在移植后复发,植入排斥可能并不是主要问题,更多的关注点会聚焦在是否会发生严重GVHD。黄晓军教授团队也观察到异体CAR-T在移植后的应用并不引起严重GVHD<sup>[14]</sup>。Brudno等<sup>[26]</sup>对在allo-HSCT后复发的B细胞恶性肿瘤(ALL、慢性淋巴细胞白血病、淋巴瘤等)患者进行单次输注CAR-T细胞治疗,CAR-T治疗所需要的T细胞均来自每例患者的移植供者。20例接受治疗的患者中有8例获得缓解,其中包括6例CR和2例部分缓解(PR)。B-ALL的缓解率最高,5例患者中有4例获得MRD阴性CR。治疗期间无急性GVHD发生,

慢性GVHD的发生率仅为10%。Amiri等<sup>[27]</sup>利用睡美人(Sleeping Beauty)转座子系统表达的CD19 CAR-T对19例allo-HSCT后复发的B细胞恶性肿瘤患者进行CD19 CAR-T细胞治疗,急性GVHD发生率为10%,慢性GVHD发生率为6%,CR率为63%。目前的临床试验数据表明,供者来源CAR-T疗法似乎并没有出现加重GVHD的证据。Hu等<sup>[28]</sup>对供者来源和自体来源的CAR-T治疗HSCT复发后的临床疗效进行了比较:3例接受供者来源的CAR-T治疗的患者CR率为66.7%,11例接受受者来源CAR-T治疗的患者CR率100%;供者来源的CAR-T和受者来源CAR-T的6个月DFS率分别为100.0%和54.4%,但差异无统计学意义( $P=0.145$ )。供者来源CAR-T治疗患者中,1例(33.3%)发生2度CRS,2例(66.7%)发生3度CRS,受者来源CAR-T治疗患者中,7例(63.6%)没有发生或仅发生1度CRS,分别有3例(27.3%)和1例(9.1%)发生2度和3度CRS。在GVHD方面,1例(33%)供者来源CAR-T治疗患者和2例(18.2%)受者来源CAR-T治疗患者发生急性GVHD。那为何临床研究中,鲜有CAR-T相关的重度GVHD发生呢?MSKCC的研究提示,供者T细胞存在异体反应性和非异体反应性两个亚群,在输注后,异体反应性的T细胞会发生过渡活化,其效应功能和增殖能力反而下降,最终发生功能性耗竭,降低了GVHD的风险;而非异体反应性T细胞则是正常活化,发挥移植抗肿瘤(GVT)作用。但上述现象只在共刺激分子为CD28时出现。如果应用没有共刺激域的一代CAR-T,或以4-1BB为共刺激分子,则会增加GVHD的风险<sup>[29]</sup>。根据目前临床前研究的数据看来,CAR-T治疗后GVHD并不是最主要的问题,但仍需要更多的临床试验进一步证实人体研究中CAR-T相关的GVHD。

5. CAR-T治疗是否可以取代移植:移植在多个机制层面上具有杀伤白血病细胞的作用,涉及化疗、重建造血及重建免疫。预处理本身可以杀伤肿瘤细胞,多种免疫细胞(T细胞、NK细胞等)在移植不同时期均可发挥抗白血病作用<sup>[30-31]</sup>。Godder等<sup>[32]</sup>对153例接受allo-HSCT后的急性白血病患者进行了长达8年的随访,研究显示 $\gamma\delta$ T细胞数量增多的患者DFS和OS率分别为54.4%和70.8%,显著高于 $\gamma\delta$ T细胞正常或减少的患者(DFS和OS率分别为19.1%和19.6%), $\gamma\delta$ T细胞正常或减少是预后不良的独立危险因素,提示 $\gamma\delta$ T细胞在抗白血病过程中起到重要作用。NK细胞同样具有抗白血病效应,但与T细胞不同,NK细胞不介导GVHD。此外,它们的功能不需要人白细胞抗原(HLA)相配。因此,供者NK细胞同种异体反应性具有诱导GVL的效应而不产生GVHD,杀伤性Ig样受体(KIR)在调节NK效应功能方面起重要作用<sup>[33]</sup>。虽然CAR-T有可能在将来代替移植,成为治疗恶性血液系统疾病的主要手段,然而从机制上讲,CAR-T治疗抗白血病细胞的作用单一,最主要的优势是缓解率高。一项发表在2018年初的《新英格兰医学杂志》的研究显示,自体CD19 CAR-T治疗复发性B-ALL,83%的患者获得CR,中位DFS时间为6.1个月,中位OS时间为12.9个

月<sup>[18]</sup>。可以看出, CAR-T细胞治疗虽显示出卓越的短期缓解效果,但远期生存及预后不尽人意,对于延长缓解时间方面仍需要更多临床试验进一步证实。因此,短期内 CAR-T治疗代替移植似乎是不可能的。当然, CAR-T细胞治疗的出现对现有 HSCT 的冲击值得我们进一步研究。

### 参考文献

- [1] Gatti RA, Meuwissen HJ, Allen HD, et al. Immunological reconstitution of sex-linked lymphopenic immunological deficiency [J]. *Lancet*, 1968, 2(7583):1366-1369.
- [2] Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *N Engl J Med*, 2006, 354(17):1813-1826. DOI: 10.1056/NEJM-ra052638.
- [3] Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, et al. One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation, and allogeneic marrow transplantation [J]. *Blood*, 1977, 49(4):511-533.
- [4] Pavletic SZ, Kumar S, Mohty M, et al. NCI First International Workshop on the Biology, Prevention, and Treatment of Relapse after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: report from the Committee on the Epidemiology and Natural History of Relapse following Allogeneic Cell Transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2010, 16(7):871-890. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.04.004.
- [5] Cirillo M, Tan P, Sturm M, et al. Cellular immunotherapy for hematologic malignancies: beyond bone marrow transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2018, 24(3):433-442. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.10.035.
- [6] Davila ML, Riviere I, Wang X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Sci Transl Med*, 2014, 6(224):224ra25. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008226.
- [7] 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.
- [8] Pan J, Yang JF, Deng BP, et al. High efficacy and safety of low-dose CD19-directed CAR-T cell therapy in 51 refractory or relapsed B acute lymphoblastic leukemia patients [J]. *Leukemia*, 2017, 31(12):2587-2593. DOI: 10.1038/leu.2017.145.
- [9] 童春容. 第二代 CD19-CAR-T 细胞治疗难治愈急性 B 淋巴细胞白血病的经验及问题 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(1):18-21. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.005.
- [10] Yan CH, Xu LP, Wang FR, et al. Causes of mortality after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation and the comparison with HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2016, 51(3):391-397. DOI: 10.1038/bmt.2015.306.
- [11] Nikiforow S, Alyea EP. Maximizing GVL in allogeneic transplantation: role of donor lymphocyte infusions [J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2014, 2014(1):570-575. DOI: 10.1182/asheducation-2014.1.570.
- [12] Yan CH, Wang JZ, Liu DH, et al. Chemotherapy followed by modified donor lymphocyte infusion as a treatment for relapsed acute leukemia after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation without in vitro T-cell depletion: superior outcomes compared with chemotherapy alone and an analysis of prognostic factors [J]. *Eur J Haematol*, 2013, 91(4):304-314. DOI: 10.1111/ejh.12168.
- [13] Frey NV, Porter DL. Graft-versus-host disease after donor leukocyte infusions: presentation and management [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2008, 21(2):205-222. DOI: 10.1016/j.beha.2008.02.007.
- [14] Chen Y, Cheng Y, Suo P, et al. Donor-derived CD19-targeted T cell infusion induces minimal residual disease-negative remission in relapsed B-cell acute lymphoblastic leukaemia with no response to donor lymphocyte infusions after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Br J Haematol*, 2017, 179(4):598-605. DOI: 10.1111/bjh.14923.
- [15] Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371(16):1507-1517. DOI: 10.1056/NEJMoa1407222.
- [16] Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(6):2123-2138. DOI: 10.1172/JCI85309.
- [17] Gardner RA, Finney O, Annesley C, et al. Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR T cells of defined formulation and dose in children and young adults [J]. *Blood*, 2017, 129(25):3322-3331. DOI: 10.1182/blood-2017-02-769208.
- [18] Park JH, 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):449-459. DOI: 10.1056/NEJMoa1709919.
- [19] Anguille S, Lion E, Willems Y, et al. Interferon- $\alpha$  in acute myeloid leukemia: an old drug revisited [J]. *Leukemia*, 2011, 25(5):739-748. DOI: 10.1038/leu.2010.324.
- [20] Zhao XS, Liu YR, Zhu HH, et al. Monitoring MRD with flow cytometry: an effective method to predict relapse for ALL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Ann Hematol*, 2012, 91(2):183-192. DOI: 10.1007/s00277-011-1285-1.
- [21] Mo XD, Zhang XH, Xu LP, et al. Comparison of outcomes after donor lymphocyte infusion with or without prior chemotherapy for minimal residual disease in acute leukemia/myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Ann Hematol*, 2017, 96(5):829-838. DOI: 10.1007/s00277-017-2960-7.
- [22] Mo XD, Zhang XH, Xu LP, et al. IFN- $\alpha$  is effective for treatment of minimal residual disease in patients with acute leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: results of a registry study [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(8):1303-1310. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.04.023.

- [23] Graham C, Jozwik A, Pepper A, et al. Allogeneic CAR-T cells: more than ease of access?[J]. *Cells*, 2018, 7(10). DOI: 10.3390/cells7100155.
- [24] Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377 (26): 2545- 2554. DOI: 10.1056/NEJMoa1708566.
- [25] Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5):439-448. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866.
- [26] Brudno JN, Somerville RP, Shi V, et al. Allogeneic T cells that express an Anti- CD19 chimeric antigen receptor induce remissions of B-cell malignancies that progress after allogeneic hematopoietic stem- cell transplantation without causing graft-versus-host disease[J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(10):1112-1121. DOI: 10.1200/JCO.2015.64.5929.
- [27] Amiri P, Shahpiri A, Asadollahi MA, et al. Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for linalool production [J]. *Biotechnol Lett*, 2016, 38 (3):503-508. DOI: 10.1007/s10529-015-2000-4.
- [28] 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*, 2018. DOI: 10.1038/s41409-018-0403-2.
- [29] Ghosh A, Smith M, James SE, et al. Donor CD19 CAR T cells exert potent graft- versus- lymphoma activity with diminished graft-versus-host activity [J]. *Nat Med*, 2017, 23(2):242-249. DOI: 10.1038/nm.4258.
- [30] Gyurkocza B, Sandmaier BM. Conditioning regimens for hematopoietic cell transplantation: one size does not fit all [J]. *Blood*, 2014, 124 (3):344- 353. DOI: 10.1182/blood-2014- 02-514778.
- [31] Roberto A, Castagna L, Zanon V, et al. Role of naive-derived T memory stem cells in T-cell reconstitution following allogeneic transplantation [J]. *Blood*, 2015, 125 (18):2855- 2864. DOI: 10.1182/blood-2014-11-608406.
- [32] Godder KT, Henslee- Downey PJ, Mehta J, et al. Long term disease-free survival in acute leukemia patients recovering with increased gammadelta T cells after partially mismatched related donor bone marrow transplantation [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2007, 39 (12): 751- 757. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705650.
- [33] Shaffer BC, Hsu KC. How important is NK alloreactivity and KIR in allogeneic transplantation? [J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2016, 29 (4): 351- 358. DOI: 10.1016/j.beha.2016.10.010.

(收稿日期:2018-12-13)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

## 本刊对医学名词及术语的一般要求

医学名词应使用全国科学技术名词审定委员会公布的名词。尚未通过审定的学科名词,可选用最新版《医学主题词表(MESH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。对于没有通用译名的名词术语,在文内第一次出现时应注明原词。中西药名以最新版《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写)为准。英文药物名称则采用国际非专利药名。在题名及正文中,药名一般不得使用商品名,确需使用商品名时应先注明其通用名称。冠以外国人名体的征、疾病、试验、综合征等,人名可以用中译文,但人名后不加“氏”(单字名除外,例如福氏杆菌);也可以用外文,但人名后不加“’s”。

文中应尽量少用缩略语。已被公知公认的缩略语可以不加注释直接使用,例如:DNA、RNA、HBsAg、CT、MRI等。不常用的、尚未被公知公认的缩略语以及原词过长在文中多次出现者,若为中文可于文中第一次出现时写出全称,在圆括号内写出缩略语;若为外文可于文中第一次出现时写出中文全称,在圆括号内写出外文全称及其缩略语。不超过4个汉字的名词不宜使用缩略语,以免影响论文的可读性。

本刊编辑部