

CAR-T 细胞治疗既往感染乙型肝炎病毒的急性 B 淋巴细胞白血病二例报告并文献复习

韩露¹ 周健² 朱兴虎² 符粤文² 李林霖¹ 高全立¹ 宋永平²

¹郑州大学附属肿瘤医院、河南省肿瘤医院免疫治疗 GMP 实验室 450008; ²郑州大学附属肿瘤医院、河南省肿瘤医院血液科 450008

通信作者: 宋永平, Email: songyongping001@126.com

基金项目: 河南省医学科技攻关计划(2018020484、SBGJ2018085、201701030)

临床试验注册: Clinical Trials, NCT02924753

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.03.012

Chimeric antigen receptors T cells for treatment of B-cell acute lymphoblastic leukemia previously infected with hepatitis B virus: two cases report and literatures review

Han Lu¹, Zhou Jian², Zhu Xinghu², Fu Yuewen², Li Linlin¹, Gao Quanli¹, Song Yongping²

¹Department of Immunology, Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University and Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China; ²Department of Hematology, Affiliated Cancer Hospital of Zhengzhou University and Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, China

Corresponding author: Song Yongping, Email: songyongping001@126.com

嵌合抗原受体(CAR) T 细胞治疗急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)疗效显著^[1-6]。因担心 HBV 的再活化和暴发性肝炎的发生,对于既往感染 HBV 的 B-ALL 患者, CAR-T 细胞疗法的安全性及有效性仍未被探索。为了评估 CAR-T 细胞治疗既往感染 HBV B-ALL 患者的安全性及有效性,我们分析了 2018 年 7 月至 2018 年 12 月在我院接受 CAR-T 细胞治疗的两例既往感染 HBV ALL 患者的诊疗情况,现报告如下。本研究经我院伦理委员会批准[(2016)伦审第 ct080 号],同时经患者本人或监护人知情同意。

病例资料

例 1,女,35 岁。因“高热、乏力 1 周”于 2018 年 1 月就诊。血常规明显异常,骨髓细胞形态学:原始细胞占 52.8%。流式细胞术免疫分型示异常幼稚细胞占 41.6%,表达 CD34、CD38、HLA-DR、CD99、CD123、cTdT,弱表达 CD79a、CD19、CD33、CD13、CD25,不表达 CD10、CD22、CD15、CD3、CD4、CD56、CD8、CD36、CD16、CD11c、CD2、CD5、cIgM、CD7、CD14、CD11b、CD117、CD64、CD20、cMPO、cCD3、sIgM、cCD22,符合急性未明系列白血病表型。融合基因筛查示:BCR-ABL 阳性。染色体核型示:46,XX, ?6,t(9;22)(q34;q11)[10]。BCR 基因重排发现免疫球蛋白多个区域出现单克隆基因重排。白血病相关基因突变检测显示 RUNX1 突变,综合上述检查诊断为 Ph⁺ ALL。给予伊马替尼+VP 方案(长春地辛+泼尼松)化疗达完全缓解(CR),流式细胞术检测微小残留病(MRD)阴性,BCR-ABL190 融合基因水平 6.81%。后使用达沙替尼联合不同

的化疗方案巩固化疗,流式细胞术检测 MRD 时阴时阳,BCR-ABL190 融合基因始终无法转阴。2018 年 10 月患者疾病复发,给予达沙替尼联合 VMCP(长春新碱+米托蒽醌+环磷酰胺+泼尼松)诱导未缓解,ABL 区激酶耐药基因分析发现 T315I 突变,口服泊那替尼治疗,仍然不能缓解。复查骨髓细胞形态学,原始和幼稚淋巴细胞占 50.4%,流式细胞术免疫学分析示异常幼稚 B 淋巴细胞占 43.8%,表达 CD19、CD34、CD38^{dim}、CD22^{dim}、CD81^{dim}。BCR-ABL190 融合基因水平 58.16%。拟行抗 CD19 CAR-T 细胞治疗,患者有慢性乙型肝炎病史, CAR-T 细胞治疗前,乙肝表面抗体(HBsAb)、乙肝 e 抗体(HBeAb)和乙肝核心抗体(HBcAb)阳性,HBV-DNA 低于检测下限(<30 IU/ml),ALT 14 U/L,总胆红素 8.1 μmol/L。CD19 CAR-T 细胞制备期间,给予 FC(氟达拉滨+环磷酰胺)方案预处理,预处理结束 48 h 回输 CAR-T 细胞 1.5×10⁶/kg(深圳普瑞金生物医药科技有限公司提供病毒载体,本院免疫治疗科 GMP 实验室制备细胞)。CAR-T 细胞回输后预防应用阿德福韦酯胶囊抗乙肝病毒药物。细胞治疗后出现 1~2 级细胞因子释放综合征(CRS),对症处理后,恢复正常。1 个月后评估疗效达 CR。CAR-T 细胞治疗 5 个月后进行异基因造血干细胞移植,移植前一直处于 CR 状态。CRS 期间及后续的随访观察中未发现 HBV 激活和肝功能异常(图 1A)。

例 2,女,27 岁。以“面黄、乏力、齿龈出血、咳嗽、咳痰 1 个月”于 2016 年 5 月于外院就诊,初诊血常规:WBC 22.6×10⁹/L, HGB 44 g/L, PLT 53×10⁹/L,骨髓细胞形态学检查提示原始幼稚淋巴细胞占 86%,诊断为 B-ALL,给予 VDCLP(长

春新碱+柔红霉素+环磷酰胺+左旋门冬酰胺酶+泼尼松)方案诱导治疗达CR,后给予多个化疗方案强化巩固、维持治疗,并常规行腰椎穿刺鞘内注射治疗8次。2018年2月疾病复发,再次使用VCDLP方案诱导达CR,后应用多个方案巩固化疗。2018年8月第3次复发后转入我院,骨髓原始幼稚淋巴细胞达70%,流式细胞术细胞免疫分型示异常幼稚B淋巴细胞占92.47%,表达CD19、CD10^{dim}、CD38、CD22。既往有慢性乙型肝炎病史,HBsAb、HBeAb和HBcAb阳性,HBV-DNA 低于检测下限(<30 IU/ml),ALT 10 U/L,总胆红素9.0 μmol/L。我院采用抗CD19 CAR-T细胞治疗,给予FC方案预处理,回输CAR-T细胞0.75×10⁶/kg(细胞制备同例1)。CAR-T细胞回输后患者因个人原因未曾预防应用抗乙型肝炎病毒药物。细胞回输后第3天患者开始反复发热,C反应蛋白(CRP)、白细胞介素6(IL-6)、γ干扰素(IFN-γ)等细胞因子水平持续上升,给予广谱抗感染治疗和对症处理。回输第6天,IL-6峰值达6 938.1 pg/ml,升高至正常上限1 018倍,给予托珠单抗(5 mg/kg)输注及其他对症支持处理,体温逐渐下降。回输后第8天癫痫发作,头颅CT未见异常,口服丙戊酸钠缓释片治疗。回输后第14天,细胞因子指标恢复正常。回输后第20天,细胞形态学显示骨髓中原始幼稚淋巴细胞达48%,骨髓流式细胞免疫学分析显示:CD19⁺CD10^{dim}CD20⁻CD34⁻CD38⁻CD22⁺CD81⁺CD33⁺/CD13⁻CD45⁻异常幼稚B淋巴细胞占82.33%。患者放弃治疗,1个月后死亡。患者发生CRS期间未检测到HBV激活和ALT升高。CAR-T细胞治疗后第6天AST和直接胆红素升高,最高分别达24 IU/L和6.7 μmol/L,第18天均恢复正常(图1B)。

讨论及文献复习

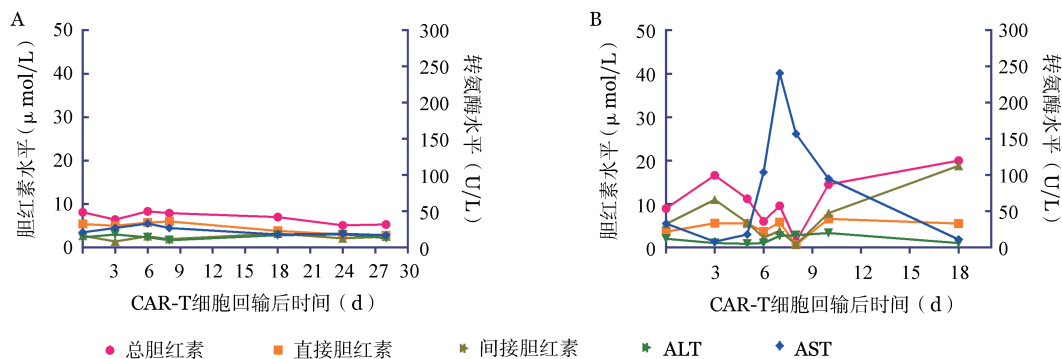
既往临床研究表明,复发难治ALL预后极差,中位生存时间一般不超过6个月^[7]。CAR-T细胞疗法的出现给复发难治的B-ALL患者带来福音。CAR-T细胞治疗是一种新型的细胞免疫治疗方法,是对T细胞进行基因改造,使T淋巴细胞表达特定的CAR,能特异地识别体内肿瘤细胞,通过免疫作用释放大量的多种效应因子,从而高效地杀灭肿瘤细胞,达到治疗恶性肿瘤的目的^[8]。CD19广泛表达于正常B

淋巴细胞及大多数B系恶性肿瘤细胞,包括B-ALL、慢性淋巴细胞白血病以及B细胞非霍奇金淋巴瘤。建立识别CD19的CAR-T细胞可以实现治疗B淋巴细胞肿瘤的目的。以往研究报道在CD19⁺B系恶性肿瘤的治疗中,CD19 CAR-T细胞显示出显著的抗肿瘤活性,在部分B-ALL的研究中,CR率可达90%,且伴随较高的MRD清除率^[9-10]。然而,在CD19 CAR-T细胞治疗血液肿瘤的临床研究中,研究者担心肝炎病毒的再活化,甚至暴发性肝炎的发生,感染过HBV的B-ALL患者通常被排除。因此,对于既往感染过HBV的ALL患者,CAR-T细胞疗法的安全性及有效性尚未被报道。

2019年7月Strati等^[11]首次报道了CD19 CAR-T细胞治疗HBV或者丙肝病毒感染的3例弥漫大B细胞淋巴瘤患者,3例患者CAR-T细胞治疗后均达到了CR,随访截止时,无进展生存期分别为31、8、6个月。1例患者出现了1~2级CRS,2例患者出现了3~4级CRS,其中2例患者出现了3~4级的CAR-T细胞相关脑病综合征(CAR-T cell related encephalopathy syndrome, CRES)。其中,1例患者回输CAR-T细胞13个月后自行停止应用抗乙型肝炎病毒药物,3个月后出现HBV-DNA及ALT的升高,给予抗病毒药物后恢复正常。另外2例患者未观察到病毒的再激活,ALT及胆红素也未见明显增高。

本研究首次报道了CD19 CAR-T细胞治疗2例既往感染HBV的B-ALL患者的有效性及安全性。治疗后1例患者CR,且移植前5个月一直处于CR状态,1例患者未缓解,但流式细胞免疫学显示异常CD19⁺B淋巴细胞被清除,只有CD19^{-dim}异常B淋巴细胞,说明CD19 CAR-T细胞治疗还是有效的。2例患者均未出现病毒的再激活或者暴发性肝炎,肝功能和胆红素也未见明显异常,与Strati等^[11]的报道相一致。值得注意的是,本研究中没有任何患者伴有肝硬化,也没有数据支持在这种情况下使用CAR-T细胞治疗的安全性及有效性,特别是伴有肝功能不全和(或)门脉高压的患者。

本研究中,1例患者出现1~2级CRS,1例患者出现3~4级CRS伴有3~4级CRES。因病例数太少,不能确定感染HBV与CRS或CRES之间的关联。虽然发生CRS或CRES的原因尚未完全明确,但两者似乎都是细胞因子引起



A: 例1; B: 例2
图1 2例既往感染乙型肝炎病毒的急性B淋巴细胞白血病患者CAR-T细胞输注后转氨酶及胆红素的变化

的,其中IL-6是关键分子之一^[12]。本文讨论的2例患者IL-6均明显升高,一方面可能是CRS/CRES期间IL-6分泌增高,另一方面可能与病毒感染有关。以往也有研究报道慢性HBV感染的患者IL-6水平一般高于健康对照组^[13]。但阐明慢性HBV感染对CRS和CRES风险的影响需要进一步的研究。CD19 CAR-T细胞治疗后,患者通常B细胞缺乏,但本研究病例较少,还不能确定B细胞发育不全持续时间是否会延长,另外目前还没有关于抗CD19 CAR-T细胞治疗后T细胞免疫重建的数据。

本研究中两例患者既往感染过HBV,CD19 CAR-T细胞治疗后未引起肝炎病毒的再激活或暴发性肝炎,CD19⁺肿瘤细胞也被完全清除。因此,对于既往感染过HBV的B-ALL患者,血液中如果未检测到HBV的复制,可以考虑进行CAR-T细胞治疗,但同时需要预防应用抗HBV药物。由于本文样本数较少,需要更多的临床研究以明确其疗效及安全性。

参考文献

- [1] 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 [J]. *Sci Transl Med*, 2011, 3(95):95ra73. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002842.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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 [J]. *Blood*, 2012, 119(12):2709-2720. DOI: 10.1182/blood-2011-10-384388.
- [5] Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368(16):1509-1518. DOI: 10.1056/NEJMoa1215134.
- [6] Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(8):725-733. DOI: 10.1056/NEJMoa1103849.
- [7] Saltman D, Barlev A, Seshagiri D, et al. Management and treatment of relapsed or refractory Ph(-) B-precursor ALL: a web-based, double-blind survey of EU clinicians [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15:771. DOI: 10.1186/s12885-015-1745-4.
- [8] 贾鹤晋, 韩为东. 抗CD19嵌合抗原受体修饰的T细胞在血液系统恶性肿瘤中的应用 [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37(2):164-168. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.02.018.
- [9] Park JH, Brentjens RJ. Adoptive immunotherapy for B-cell malignancies with autologous chimeric antigen receptor modified tumor targeted T cells [J]. *Discov Med*, 2010, 9(47):277-288.
- [10] 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.
- [11] Strati P, Nastoupil LJ, Fayad LE, et al. Safety of CAR T-cell therapy in patients with B-cell lymphoma and chronic hepatitis B or C virus infection [J]. *Blood*, 2019, 133(26):2800-2802. DOI: 10.1182/blood.2019000888.
- [12] Neelapu SS, 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. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.148.
- [13] Estevez J, Chen VL, Podlaha O, et al. Differential Serum Cytokine Profiles in Patients with Chronic Hepatitis B, C, and Hepatocellular Carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):11867. DOI: 10.1038/s41598-017-11975-7.

(收稿日期:2019-08-22)

(本文编辑:王叶青)

·读者·作者·编者·

作者投稿须知

1. 按本刊要求写作:登录《中华血液学杂志》网站(<http://www.hematoline.com>),参见首页作者中心栏中的“投稿须知”及“写作指导”栏目。

2. 作者注册:请打开本刊网站首页点击“在线投稿”即进入中华医学会网站(<http://cmaes.medline.org.cn>)。在网站首页注册并申请为杂志作者(用户名和密码为您在中华医学会统一的登录信息,请牢记!忘记密码可通过电子信箱索取)。

3. 投稿:注册成功后进入“业务中心”。点击【远程稿件管理系统】,相应的功能即显示在下方。点击“作者投稿”,按要求填写内容,摘要在字数允许范围内尽可能详细,并上传原稿(点击“暂存”稿件进入【我的草稿】模块)。选择《中华血液学杂志》,并点击“投稿”。

4. 邮寄纸稿及介绍信:请在投稿平台上下载论文投送介绍信及授权书,签字盖章后连同原稿打印件(注明稿件编号)一并寄至本刊编辑部。

本刊编辑部