

CD19 嵌合抗原受体 T 细胞靶向 B 细胞 肿瘤细胞株过程中糖皮质激素 对其扩增影响的体外研究

邓昊彬 刘美静 江嫣雨 袁婷 张蕊 邓琦

天津医科大学一中心临床学院,天津市第一中心医院血液科,南开大学医学院 300192

通信作者:邓琦,Email:kachydeng@126.com

【摘要】 目的 评估糖皮质激素对 CD19 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T 细胞)靶向杀瘤过程中增殖的影响。方法 健康志愿者的外周血单个核细胞(PBMC)作为 T 细胞来源,经 CD3 磁珠分选及 CD19 CAR 慢病毒转染制备 CD19 CAR-T 细胞;采用流式细胞术(FCM)测定 CD19 CAR-T 细胞转染率及其在培养体系中所占比例;采用 CFDA SE 细胞增殖示踪荧光探针试剂标记 CD19 CAR-T 细胞后测定其荧光强度;LDH 细胞毒性检测方法检测不同浓度的糖皮质激素对 B 细胞肿瘤细胞株杀伤活性的影响。结果 ①CD19 CAR-T 细胞 CD19 CAR 转染率为 $(51.34 \pm 5.28)\%$ 。②24 h 后不同剂量甲泼尼龙对 Nalm6、Pfeiffer 及 U2932 细胞的杀伤活性高于地塞米松,48 h 后低浓度(4 mg/ml)甲泼尼龙对 Nalm6、Pfeiffer、U2932 细胞杀伤活性高于低浓度(0.75 mg/ml)地塞米松,而高浓度(12 mg/ml)甲泼尼龙杀伤活性低于高浓度(2.25 mg/ml)地塞米松。但各个时间不同剂量甲泼尼龙组对 EHEB 细胞的杀伤活性均低于对应时间、剂量的地塞米松。③CD19 CAR-T 细胞在不同浓度糖皮质激素作用下的比例及平均荧光强度比较,地塞米松对 CD-19 CAR-T 细胞的增殖抑制作用强于甲泼尼龙,两种糖皮质激素的高浓度组较低浓度组对 CD19 CAR-T 细胞的增殖抑制作用更明显。④CD19 CAR-T 细胞与不同肿瘤细胞共培养体系中,其比例及平均荧光强度比较,地塞米松对 CD19 CAR-T 细胞的增殖抑制作用强于甲泼尼龙,两种糖皮质激素的高浓度组较低浓度组对 CD19 CAR-T 细胞的增殖抑制更明显。结论 CD19 CAR-T 细胞靶向不同肿瘤细胞株过程中地塞米松对 CD19 CAR-T 细胞的扩增和增殖抑制作用大于甲泼尼龙,高剂量组该抑制作用更加明显。

【关键词】 糖皮质激素; 嵌合抗原受体 T 细胞; 增殖

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.09.006

Effects of glucocorticoids on the proliferation of CD19 CAR-T cells targeting B-cell tumor cell lines

Deng Haobin, Liu Meijing, Jiang Yanyu, Yuan Ting, Zhang Rui, Deng Qi

The First Central Clinical College of Tianjin Medical University, Department of Hematology, Tianjin First Central Hospital, School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Deng Qi, Email:kachydeng@126.com

【Abstract】 **Objective** To evaluate the effects of glucocorticoids (dexamethasone and methylprednisolone) on the proliferation of CD19 Chimeric antigen receptor (CAR) modified T cells in vitro. **Methods** Peripheral blood mononuclear cells from healthy volunteers were collected as T cells. CD19 CAR-T cells were prepared by CD3 magnetic beads sorting and CD19 CAR lentivirus transfection. The transfection rates and the proportion of CD19 CAR-T cells in the culture system were analyzed using a flow cytometer. The mean fluorescence intensity (MFI) of CD19 CAR-T cells was measured after staining with Carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester cell proliferation tracer fluorescent probe, Lactate dehydrogenase (LDH) cytotoxicity assay was used to detect the effects of different concentrations of glucocorticoid on the killing activity of B-cell tumor cell lines. **Results** In this study, the CD19 CAR transfection rate of CD19 CAR-T cells was $(51.34 \pm 5.28)\%$. The killing activities of different doses of methylprednisolone on Nalm6, Pfeiffer, and U2932 tumor cells were higher than that of dexamethasone at 24 h. The killing activities of 4 mg/mL methylprednisolone on Nalm6, Pfeiffer, and U2932 were higher than that of 0.75 mg/ml group, while the killing activity of 12 mg/ml methylprednisolone was lower than

that of 2.25 mg/ml dexamethasone at 48 h. However, the killing activities of different doses of methylprednisolone on EHEB tumor cells were lower than those of different doses of dexamethasone at 24 and 48 h. The average MFI and proportion of CD19 CAR-T cells under different concentrations of glucocorticoid the proliferation inhibition of CD19 CAR-T cells by dexamethasone was higher than that of methylprednisolone. The proliferation inhibition of CD19 CAR-T cells of the two glucocorticoids in high concentration groups were more obvious than that in low concentration groups. When CD19 CAR-T cells were co-cultured with different tumor cells, the proportion and average MFI of CD19 CAR-T cells showed that the proliferation inhibition of dexamethasone was higher than that of methylprednisolone. The proliferation inhibition of CD19 CAR-T cells of the two glucocorticoids in high concentration groups was more obvious than that in low concentration groups. **Conclusion** Dexamethasone inhibits the cell proliferation of CD19 CAR-T cells more than methylprednisolone during the targeting of different tumor cell lines. The inhibition effect of dexamethasone on the proliferation and amplification of CD19 CAR-T cells was greater than that of methylprednisolone during the targeting of CD19 CAR-T cells to different tumor cell lines. Moreover, the inhibition effect of the high dose group was more obvious.

【Key words】 Glucocorticoid; Chimeric antigen receptor engineered T cell; Proliferation

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.09.006

嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T 细胞) 治疗在复发/难治血液系统和部分实体肿瘤的治疗上取得了重大突破^[1], 患者可达到持久的完全缓解^[2]。但是, CAR-T 细胞治疗通常会出现细胞因子释放综合征 (CRS)、CAR-T 细胞相关脑病综合征、肿瘤溶解综合征等不良反应, 严重时危及生命^[3-4]。针对 CAR-T 细胞治疗相关的毒副作用, 糖皮质激素是重要的治疗选择之一^[3]。但糖皮质激素的使用是否会影响 CAR-T 细胞的增殖, 从而影响 CAR-T 细胞的临床疗效尚无研究确证。本研究我们对此进行了相关基础研究。

材料与方 法

1. 细胞及主要试剂: 急性 B 淋巴细胞白血病细胞株 Nalm6、弥漫大 B 细胞淋巴瘤细胞株 Pfeiffer 及 U2932、慢性 B 淋巴细胞白血病细胞株 EHEB 均购自美国模式培养物集存库 (ATCC); CD3 磁珠分选试剂盒购自德国美天旎生物技术有限公司; CD19 CAR 慢病毒及 CD19 CAR 流式检测抗体由上海吉倍公司提供; LDH 毒性试剂盒、CFDA SE 细胞增殖示踪荧光探针检测试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司。

2. CD19 CAR-T 细胞制备及慢病毒转染: 采集 6 例健康志愿者外周血共 30 ml, 淋巴细胞分离液提取单个核细胞, CD3 磁珠分选富集 CD3⁺ T 细胞。获得的细胞用含有 IL-2、谷氨酰胺的 T 细胞专用培养基培养, 培养第 4 天转染 CD19 CAR 慢病毒, 上述细胞培养第 12 天收获 CD19 CAR-T 细胞, 流式细胞术 (FCM) 检测 CD19 CAR 的转染效率。

3. 不同浓度的糖皮质激素对不同肿瘤细胞株

体外杀伤活性的影响: 以 Nalm6、Pfeiffer、U2932、EHEB 细胞为靶细胞 (细胞密度均为 $1 \times 10^6/\text{ml}$), 加入不同浓度的糖皮质激素 (0.75 mg/ml 地塞米松、2.25 mg/ml 地塞米松、4 mg/ml 甲泼尼龙、12 mg/ml 甲泼尼龙) 后, 置于含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基, 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 培养箱中培养。按 LDH 细胞毒性检测试剂盒说明书进行操作, 采用酶标仪检测 490 nm 处吸光度 (A) 值, 计算其杀伤率。每组设 3 个复孔, 实验重复 3 次。

4. 不同浓度的糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞增殖的影响: CD19 CAR-T 细胞与不同浓度的糖皮质激素 (0.75 mg/ml 地塞米松、2.25 mg/ml 地塞米松、4 mg/ml 甲泼尼龙、12 mg/ml 甲泼尼龙) 作用 24、48 h 分别采用 FCM 检测培养体系中 CD19 CAR-T 的比例; CFDA SE 细胞增殖示踪荧光探针试剂染色后测定细胞的荧光强度, 荧光强度增加表明对细胞增殖有抑制作用。实验复设 3 组, 重复 3 次取均值。

5. CD19 CAR-T 细胞杀伤不同肿瘤细胞株过程中不同浓度的糖皮质激素对其增殖的影响: 将 $1 \times 10^6/\text{ml}$ 的 CD19 CAR-T 细胞与 Nalm6、Pfeiffer、U2932、EHEB 细胞 (细胞密度均为 $1 \times 10^6/\text{ml}$) 按 1:1 混合培养。培养体系加入不同浓度的糖皮质激素 (0.75 mg/ml 地塞米松、2.25 mg/ml 地塞米松、4 mg/ml 甲泼尼龙、12 mg/ml 甲泼尼龙)。在体系中加入 CAR 试剂、白细胞分化抗原 CD19 检测试剂及 CD3 检测试剂, FCM 检测培养后的 CD19 CAR-T 细胞比例。CFDA SE 细胞增殖示踪荧光探针试剂染色后测定荧光强度。实验复设 3 组, 重复 3 次取均值。

6. 统计学处理: 实验数据使用 GraphPad Prism 5.0 和 SPSS 17.0 进行统计学处理。两组间比较采用

独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CD19 CAR-T 细胞的转染效率: 按 CART-EST-19 检测试剂盒说明书进行操作, 流式细胞术检测 6 例健康志愿者 T 细胞来源 CD19 CAR 的转染率为 $(51.34 \pm 5.28)\%$ 。

2. 不同浓度的糖皮质激素对肿瘤细胞株的杀伤活性比较: 不同浓度的糖皮质激素组间 (0.75 mg/ml 地塞米松和 4 mg/ml 甲泼尼龙组比较、2.25 mg/ml 地塞米松和 12 mg/ml 甲泼尼龙组比较), 培养 24 h 后, Nalm6、Pfeiffer、U2932 细胞株中甲泼尼龙杀伤活性均明显高于地塞米松。培养 48 h 后, 低剂量甲泼尼龙 (4 mg/ml) 对 Nalm6、Pfeiffer、U2932 细胞株的杀伤活性高于低浓度地塞米松 (0.75 mg/ml), 而高浓度甲泼尼龙 (12 mg/ml) 对 Nalm6、Pfeiffer、U2932 细胞株的杀伤活性低于高浓度地塞米松 (2.25 mg/ml)。与 Nalm6、Pfeiffer、U2932 细胞株不同, 在 EHEB 细胞株中共培养 24、48 h 后, 两个浓度的甲泼尼龙组对肿瘤细胞株的杀伤活性均低于对应浓度的地塞米松组, 差异有统计学意义 (表 1)。

3. 糖皮质激素作用下 CD19 CAR-T 细胞的扩增或增殖比较: CD19 CAR-T 细胞在不同浓度的两种糖皮质激素 (剂量同上) 作用 24、48 h 后, 共培养体系中 CD19 CAR-T 细胞比例与阴性对照组 (CD19 CAR-T 细胞) 相比明显降低, 提示在糖皮质激素作用下 CD19 CAR-T 细胞扩增被抑制。不同糖皮质激素组间比较, 地塞米松较甲泼尼龙对 CD19 CAR-T 细胞扩增的抑制明显。0.75 mg/ml 地塞米松组中的 CD19 CAR-T 细胞扩增比例低于 4 mg/ml 甲泼尼龙

组, 2.25 mg/ml 地塞米松组低于 12 mg/ml 甲泼尼龙组。且无论地塞米松还是甲泼尼龙, 高浓度组 CD19 CAR-T 细胞比例较低浓度组更低, 提示高浓度糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞扩增的抑制作用更明显 (表 2)。

共培养体系中 CD19 CAR-T 细胞平均荧光强度明显高于阴性对照组, 提示糖皮质激素对 CAR-T 细胞增殖具有抑制作用。不同糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞均有增殖抑制作用, 0.75、2.25 mg/ml 地塞米松组 CD19 CAR-T 细胞平均荧光强度分别高于 4、12 mg/ml 甲泼尼龙组, 差异有统计学意义。且无论地塞米松还是甲泼尼龙, 高浓度组 CD19 CAR-T 细胞平均荧光强度均高于低浓度组, 提示高浓度糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞的增殖抑制作用更明显, 差异有统计学意义 (表 2)。

表 2 糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞比例与荧光强度的影响 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	细胞比例	平均荧光强度
24 h		
阴性对照	14.81±1.45	14 568±18
0.75 mg/ml 地塞米松	9.40±0.82 ^a	20 892±21 ^a
4 mg/ml 甲泼尼龙	11.97±0.47 ^{ab}	18 892±837 ^{ab}
2.25 mg/ml 地塞米松	2.03±0.26 ^{ab}	22 508±68 ^{ab}
12 mg/ml 甲泼尼龙	4.95±0.54 ^{acd}	20 841±534 ^{acd}
48 h		
阴性对照	19.56±0.61	13 539±10
0.75 mg/ml 地塞米松	9.29±0.53 ^a	20 645±5 ^a
4 mg/ml 甲泼尼龙	11.52±0.36 ^{ab}	18 978±470 ^{ab}
2.25 mg/ml 地塞米松	1.61±0.31 ^{ab}	23 724±27 ^{ab}
12 mg/ml 甲泼尼龙	3.57±0.45 ^{acd}	22 390±445 ^{acd}

注: CAR-T 细胞: 嵌合抗原受体 T 细胞; 与阴性对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 0.75 mg/ml 地塞米松比较, ^b $P < 0.05$; 与 4 mg/ml 甲泼尼龙比较, ^c $P < 0.05$; 与 2.25 mg/ml 地塞米松比较, ^d $P < 0.05$ 。实验设 3 个复管, 实验重复 3 次

表 1 不同浓度糖皮质激素对肿瘤细胞株的杀伤活性 ($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	Nalm6 细胞	Pfeiffer 细胞	U2932 细胞	EHEB 细胞
24 h				
0.75 mg/ml 地塞米松	8.22±0.63	17.15±0.65	16.80±2.05	13.95±0.66
4 mg/ml 甲泼尼龙	41.49±1.80 ^a	37.86±0.69 ^a	35.51±1.00 ^a	4.76±1.45 ^a
2.25 mg/ml 地塞米松	4.43±1.54	5.77±1.08	5.10±1.01	10.12±2.19
12 mg/ml 甲泼尼龙	25.24±1.48 ^b	23.17±0.82 ^b	21.15±0.83 ^b	2.18±2.71 ^b
48 h				
0.75 mg/ml 地塞米松	35.19±2.42	27.73±1.85	24.70±1.82	71.84±1.55
4 mg/ml 甲泼尼龙	69.68±3.43 ^a	65.14±3.74 ^a	57.48±4.60 ^a	48.72±2.84 ^a
2.25 mg/ml 地塞米松	21.43±2.19	13.92±2.62	13.22±1.12	92.63±1.32
12 mg/ml 甲泼尼龙	12.42±2.45 ^b	3.24±2.39 ^b	3.90±1.29 ^b	30.43±1.58 ^b

注: 与 0.75 mg/ml 地塞米松比较, ^a $P < 0.05$; 与 2.25 mg/ml 地塞米松比较, ^b $P < 0.05$ 。每组设 3 个复管, 实验重复 3 次

4. 糖皮质激素作用下肿瘤细胞与 CD19 CAR-T 细胞共培养中 CD19 CAR-T 细胞的扩增或增殖情况: CD19 CAR-T 细胞与 Nalm6、Pfeiffer、U2932、EHEB 细胞共培养体系中,加入不同浓度/种类糖皮质激素培养 24、48 h。与阴性对照组相比(CD19 CAR-T 细胞+肿瘤细胞),糖皮质激素共培养体系中 CD19 CAR-T 细胞比例均降低,提示 CD19 CAR-T 细胞与肿瘤细胞共培养体系中,不同浓度糖皮质激素抑制了 CD19 CAR-T 细胞的扩增。0.75 mg/ml 地塞米松组中的 CD19 CAR-T 细胞比例低于 4 mg/ml 甲泼尼龙组、2.25 mg/ml 地塞米松组 CD19 CAR-T 细胞比例低于 12 mg/ml 甲泼尼龙组,差异有统计学意义。不同糖皮质激素的组内比较,无论地塞米松或甲泼尼龙,高浓度组 CD19 CAR-T 细胞比例均低于低浓度组(表 3)。

与阴性对照组相比,糖皮质激素共培养体系中 CD19 CAR-T 细胞平均荧光强度均增高,提示不同浓度糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞的增殖具有抑制作用。0.75、2.25 mg/ml 地塞米松组 CD19 CAR-T 细胞平均荧光强度分别高于 4、12 mg/ml 甲泼尼龙组。无论地塞米松或甲泼尼龙,高浓度组 CD19 CAR-T 细胞平均荧光强度均高于低浓度组(表 3)。

讨 论

CD19 CAR-T 细胞疗法迄今已经较为成熟, CAR-T 细胞治疗后的毒副作用可从轻微的症状到伴有器官功能衰竭。CRS 轻者可能表现为轻度且呈自限性,包括发烧、肌肉痛、关节痛、食欲减退和疲劳;CRS 严重者有可能危及生命,包括持续显

著升高的体温、低血压、缺氧、凝血障碍以及脏器功能障碍^[5]。IL-6 受体抑制剂和糖皮质激素已经成为治疗高级别 CRS 的首选药物,可成功减轻严重 CRS 导致的副作用,并降低 CAR-T 细胞治疗副作用相关的死亡率^[6]。免疫效应细胞相关神经毒性综合征(ICANS)最早表现是震颤、书写困难、表达能力轻度困难、定向障碍、注意力不集中、轻度嗜睡、头痛及表达性失语^[7-8],严重者发展为失语、肌阵挛、意识水平低下、癫痫、脑水肿^[9-10]。大多数病例通过支持治疗和糖皮质激素的早期干预可缓解^[11]。虽然 IL-6 受体抑制剂也可以在早期干预逆转 ICANS,但 IL-6 受体抑制剂不能通过血脑屏障^[12],因此 ICANS 严重时糖皮质激素是首选治疗方法^[13]。当患者存在神经毒性时,应接受地塞米松或甲泼尼龙治疗,直至症状改善^[11,14]。虽然严重不良反应相关症状得到控制,细胞因子水平迅速下降,临床症状迅速缓解,但同时也抑制了其 CAR-T 细胞的扩增和持久性,可能影响临床结局^[15]。在应用糖皮质激素时,可能会抑制 CAR-T 细胞的体内扩增^[16]。

最近一项针对复发/难治急性 B 淋巴细胞白血病 CD19 CAR-T 细胞治疗的临床研究显示,针对治疗副作用采用了糖皮质激素治疗,甚至是高浓度糖皮质激素,并不影响 CAR-T 细胞的疗效以及其增殖、体内持续时间^[17]。而其结果与之前的文献报道不同,其原因可能在于该研究中均为短疗程使用高浓度糖皮质激素,平均应用 4 d,91.3% 患者应用 ≤7 d。但 CAR-T 细胞体内扩增和毒性的影响因素包括患者特异性因素和治疗相关因素^[14],例如疾病负担、化疗方案强度以及 CAR-T 细胞的输注剂

表 3 糖皮质激素作用下肿瘤细胞与 CD19 CAR-T 细胞共培养体系中 CD19 CAR-T 细胞比例与荧光强度(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	CD19 CAR-T 细胞比例				CD19 CAR-T 细胞荧光强度			
	Nalm6 细胞	Pfeiffer 细胞	U2932 细胞	EHEB 细胞	Nalm6 细胞	Pfeiffer 细胞	U2932 细胞	EHEB 细胞
24 h								
阴性对照	19.52±1.04	19.46±1.41	19.61±0.95	23.21±0.93	17 948±10	16 371±15	15 565±471	15 925±7
0.75 mg/ml 地塞米松	12.56±1.05 ^a	13.27±1.14 ^a	10.89±1.14 ^a	13.63±0.56 ^a	22 289±14 ^a	24 056±41 ^a	19 605±12 ^a	24 793±149 ^a
4 mg/ml 甲泼尼龙	16.36±0.71 ^{ab}	16.28±0.76 ^{ab}	14.62±0.85 ^{ab}	16.90±0.71 ^{ab}	20 289±14 ^{ab}	20 506±470 ^{ab}	17 939±473 ^{ab}	23 346±469 ^{ab}
2.25 mg/ml 地塞米松	3.50±0.58 ^{ab}	7.54±0.73 ^{ab}	6.62±1.23 ^{ab}	9.89±1.61 ^{ab}	27 557±13 ^{ab}	25 587±18 ^{ab}	25 274±6 ^{ab}	26 554±73 ^{ab}
12 mg/ml 甲泼尼龙	6.35±0.62 ^{acd}	10.56±0.70 ^{acd}	10.32±0.91 ^{acd}	13.43±0.42 ^{acd}	25 546±828 ^{acd}	23 587±826 ^{acd}	22 607±477 ^{acd}	21 020±473 ^{acd}
48 h								
阴性对照	27.54±1.07	27.73±0.56	27.68±0.66	31.78±0.96	15 756±5	14 539±10	14 448±11	14 929±8
0.75 mg/ml 地塞米松	11.70±1.45 ^a	10.05±2.14 ^a	10.50±2.00 ^a	12.10±1.29 ^a	19 925±9 ^a	19 054±5 ^a	21 733±6 ^a	19 111±9 ^a
4 mg/ml 甲泼尼龙	16.00±0.75 ^{ab}	15.06±0.87 ^{ab}	15.12±1.33 ^{ab}	15.57±1.31 ^{ab}	18 592±478 ^{ab}	16 721±470 ^{ab}	20 682±279 ^{ab}	18 111±9 ^{ab}
2.25 mg/ml 地塞米松	2.68±0.51 ^{ab}	3.81±1.27 ^{ab}	2.41±0.57 ^{ab}	8.40±0.58 ^{ab}	20 775±7 ^{ab}	20 119±8 ^{ab}	23 400±6 ^{ab}	19 924±9 ^{ab}
12 mg/ml 甲泼尼龙	6.49±1.06 ^{acd}	8.40±1.50 ^{acd}	6.96±1.67 ^{acd}	11.85±0.85 ^{acd}	19 768±15 ^{acd}	18 452±478 ^{acd}	22 400±6 ^{acd}	18 924±9 ^{acd}

注: CAR-T 细胞: 嵌合抗原受体 T 细胞; 与阴性对照组比较, ^a*P*<0.05; 与 0.75 mg/ml 地塞米松比较, ^b*P*<0.05; 与 4 mg/ml 甲泼尼龙比较, ^c*P*<0.05; 与 2.25 mg/ml 地塞米松比较, ^d*P*<0.05。实验设 3 个复管, 实验重复 3 次

量^[18]。因此,糖皮质激素在 CD19 CAR-T 细胞治疗相关副作用中的应用中,特别是在不同 B 细胞恶性血液病的疗效,还需进一步探索。

在我们的基础实验中,24 h 后不同剂量的甲泼尼龙对 Nalm6、Pfeiffer 及 U2932 细胞的杀伤活性高于地塞米松,48 h 后低浓度甲泼尼龙对 Nalm6、Pfeiffer、U2932 杀伤活性高于低浓度地塞米松,而高浓度甲泼尼龙杀伤活性低于高浓度地塞米松;但 24、48 h 不同剂量的甲泼尼龙组对 EHEB 细胞的杀伤活性分别低于相应剂量的地塞米松。不同浓度的糖皮质激素对 CD19 CAR-T 细胞的扩增抑制作用,地塞米松组均高于甲泼尼龙组;两种糖皮质激素的高浓度组较低浓度对 CD19 CAR-T 细胞的扩增抑制更明显。CD19 CAR-T 细胞在不同浓度的糖皮质激素作用下的平均荧光强度比较,地塞米松组低于甲泼尼龙组,即对 CAR-T 细胞的增殖抑制地塞米松高于甲泼尼龙;两种糖皮质激素的高浓度组较低浓度对 CD19 CAR-T 细胞的增殖抑制更明显。CD19 CAR-T 细胞与不同肿瘤细胞共培养体系中,不同浓度的地塞米松组 CD19 CAR-T 细胞扩增比例低于甲泼尼龙组;两种糖皮质激素的高浓度组较低浓度 CD19 CAR-T 细胞的扩增比例为低。CD19 CAR-T 细胞与不同肿瘤细胞共培养,其平均荧光强度比较,地塞米松组低于甲泼尼龙组,即对 CAR-T 细胞的增殖抑制地塞米松高于甲泼尼龙。

综上所述,CD19 CAR-T 细胞靶向不同肿瘤细胞株过程中糖皮质激素对 CD19 CART 细胞的扩增有抑制作用。地塞米松对 CD19 CAR-T 细胞的扩增和增殖抑制作用大于甲泼尼龙,高浓度组该抑制作用更加明显。

参考文献

- [1] Chavez JC, Locke FL. CAR T cell therapy for B-cell lymphomas [J]. Best Pract Res Clin Haematol, 2018, 31 (2):135-146. DOI: 10.1016/j.beha.2018.04.001.
- [2] Park JH, Geyer MB, Brentjens RJ. CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: interpreting clinical outcomes to date [J]. Blood, 2016, 127 (26):3312-3320. DOI: 10.1182/blood-2016-02-629063.
- [3] Brudno JN, Kochenderfer JN. Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management [J]. Blood, 2016, 127(26):3321-3330. DOI: 10.1182/blood-2016-04-703751.
- [4] Erratum: Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. Blood. 2014;124(2):188-195 [J]. Blood, 2016, 128(11):1533. DOI: 10.1182/blood-2016-07-730689.
- [5] Porter DL, Hwang WT, Frey NV, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia [J]. Sci Transl Med, 2015, 7(303):303ra139. DOI: 10.1126/scitranslmed.aac5415.
- [6] Sandler RD, Tattersall RS, Schoemans H, et al. Diagnosis and Management of Secondary HLH/MAS Following HSCT and CAR-T Cell Therapy in Adults; A Review of the Literature and a Survey of Practice Within EBMT Centres on Behalf of the Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) and Transplant Complications Working Party (TCWP) [J]. Front Immunol, 2020, 11:524. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00524.
- [7] 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.
- [8] Hunter BD, Jacobson CA. CAR T-Cell Associated Neurotoxicity: Mechanisms, Clinicopathologic Correlates, and Future Directions [J]. J Natl Cancer Inst, 2019, 111 (7): 646-654. DOI: 10.1093/jnci/djz017.
- [9] Santomasso BD, Park JH, Salloum D, et al. Clinical and Biological Correlates of Neurotoxicity Associated with CAR T-cell Therapy in Patients with B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. Cancer Discov, 2018, 8(8): 958-971. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-1319.
- [10] Gust J, Taraseviciute A, Turtle CJ. Neurotoxicity Associated with CD19-Targeted CAR-T Cell Therapies [J]. CNS Drugs, 2018, 32(12):1091-1101. DOI: 10.1007/s40263-018-0582-9.
- [11] Neill L, Rees J, Roddie C. Neurotoxicity-CAR T-cell therapy: what the neurologist needs to know [J]. Pract Neurol, 2020, 20 (4):285-293. DOI: 10.1136/practneurol-2020-002550.
- [12] Mei H, Jiang H, Wu Y, et al. Neurological toxicities and coagulation disorders in the cytokine release syndrome during CAR-T therapy [J]. Br J Haematol, 2018, 181 (5):689-692. DOI: 10.1111/bjh.14680.
- [13] 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.
- [14] Brudno JN, Kochenderfer JN. Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management [J]. Blood Rev, 2019, 34:45-55. DOI: 10.1016/j.blre.2018.11.002.
- [15] 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.
- [16] 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):5430-5437. DOI: 10.1074/jbc.AC119.007558.
- [17] Liu S, Deng B, Yin Z, et al. Corticosteroids do not influence the efficacy and kinetics of CAR-T cells for B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood Cancer J, 2020, 10 (2):15. DOI: 10.1038/s41408-020-0280-y.
- [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.

(收稿日期:2021-02-06)

(本文编辑:刘爽)