

## 抗CD22 CAR-T联合抗CD19 CAR-T治疗复发难治性急性B淋巴细胞白血病严重细胞因子释放综合征两例报告并文献复习

高丽丽 黄亮 王娜 王高翔 周晓曦 李童娟 洪振亚 孟力 周剑峰

华中科技大学同济医学院附属同济医院, 武汉 430030

通信作者: 周剑峰, Email: jfzhou@tjh.tjmu.edu.cn

基金项目: 国际自然科学基金(81700126); 湖北省技术创新专项重点项目(2018ACA140)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.09.016

### Anti-CD22 CAR-T combined with anti-CD19 CAR-T cells in the treatment of relapsed or refractory acute B lymphocytic leukemia with severe cytokine release syndrome: two cases report and literature review

Gao Lili, Huang Liang, Wang Na, Wang Gaoxiang, Zhou Xiaoxi, Li Tongjuan, Hong Zhenya, Meng Li, Zhou Jianfeng

Department of Hematology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology & Immunotherapy Research Center for Hematologic Diseases, Wuhan 430030, China

Corresponding author: Zhou Jianfeng, Email: jfzhou@tjh.tjmu.edu.cn

近年来,嵌合抗原受体修饰的T细胞(CAR-T细胞)免疫治疗在血液系统恶性肿瘤治疗中取得了重大突破,尤其是抗CD19 CAR-T细胞在复发难治性B细胞系血液系统恶性肿瘤治疗中取得了巨大成功。在急性淋巴细胞白血病(ALL)的临床试验中,抗CD19 CAR-T细胞治疗显示出了显著的治疗反应。但仍有部分患者在短期内出现疾病复发,且大部分为CD19阴性的复发,提示可能存在靶点逃逸现象。另外,在CAR-T细胞治疗过程中会产生各种细胞毒性需引起重视,特别是细胞因子释放综合征(CRS),处理不当会严重影响治疗效果。严重CRS(sCRS)可引起重要脏器功能衰竭、弥散性血管内凝血和巨噬细胞活化综合征而危及患者生命。为进一步提高CAR-T细胞疗效,本中心首次采用抗CD22 CAR-T联合抗CD19 CAR-T细胞治疗复发难治B-ALL,总结了抗CD22 CAR-T联合抗CD19 CAR-T细胞治疗复发难治B-ALL过程中2例出现sCRS的病例资料,并进行相关文献复习。

#### 病例资料

例1,女,44岁,因“左腹腔占位”就诊于胃肠外科,查血常规提示白细胞及原始细胞高,完善骨髓细胞学(原始幼稚淋巴细胞占64%)、流式免疫分型(约63.8%细胞为异常幼稚B淋巴细胞)、融合基因(BCR-ABL1阳性)及基因突变(WT1定量77.51%)等检查,明确诊断为:Ph<sup>+</sup>B-ALL伴WT1阳性。予VDCLP方案(长春地辛+柔红霉素+环磷酰胺+门冬酰胺酶+地塞米松)+达沙替尼化疗后达完全缓解(CR),予

Hyper-CVAD A方案(环磷酰胺+长春地辛+吡柔比星+地塞米松)化疗巩固。4个月后出现复发(原始幼稚淋巴细胞13%),予Hyper-CVAD B方案(大剂量甲氨蝶呤+阿糖胞苷)化疗,后行异基因造血干细胞移植,获得分子学缓解。移植后7个月出现第二次复发(原始幼稚淋巴细胞61%,WT1 58.64%, ABL1 激酶P-Loop区发生E255K突变,BCR-ABL1/ABL1:43.879%),改帕纳替尼治疗后获得形态学缓解。患者为行CAR-T细胞治疗来我院,查骨髓细胞学提示原始幼稚细胞占37%,流式免疫分型:约10.6%细胞(占全部有核细胞)考虑为恶性B系幼稚细胞可能性大(表达CD19及CD22)。BCR-ABL1 激酶区突变高通量测序:检测到BCR-ABL1融合基因激酶区存在错义突变:①c.944C>T, p.tHR315Ile(p.T315I);②c.763G>A, p.Glu255Lys(p.E255K);③c.749G>A, p.Gly250Glu(p.G250E)。ALL突变检测:检测到PAX5基因第6号外显子存在错义突变, c.674G>A, p.Arg225Gln(p.R225Q)。FISH:计数200个CD3阳性细胞,其中165个细胞表达1绿1红的XY信号,35个细胞表达2绿的XX信号。染色体核型:46,XY,N/45,XX,-7,t(9;22)(q34;q11),-11,+16,-20,+mar[1]/45,XX,t(1;2)(p35;p22),t(3;20)(q25;q23),-7,t(9;22)(q34;q11),del(10)(q22),-15,add(16)(q24),+21[8]。经FC方案(氟达拉滨+环磷酰胺)预处理后回输抗CD22 CAR-T细胞4×10<sup>6</sup>/kg及抗CD19 CAR-T细胞4×10<sup>6</sup>/kg,回输后第1天患者出现发热,予以退热、抗感染治疗,患者IL-6、CRP、铁蛋白等炎症因子水平逐渐升高,回输CAR-T细胞后第4天IL-6上升至基线水平的44倍,患

者反复高热、心率明显增快,予以托珠单抗(8 mg/kg)治疗,患者IL-6进一步上升至基线水平的1 232倍,仍反复高热、铁蛋白进行性升高,遂予以激素及血浆置换治疗,后患者体温逐渐得到控制,IL-6、CRP、铁蛋白水平逐渐下降。后患者规律复诊,目前已随访1年4个月,为持续分子学缓解状态(BCR-ABL1融合基因定量为0;液体活检ABL1 p.T315I cfDNA拷贝数为0),存在B细胞发育不良,予以规律输注免疫球蛋白治疗。

例2,女,61岁。因“发热1个月余”就诊,骨髓象示幼稚细胞9%,未行诊治,3周后复查骨髓细胞学提示原始幼稚淋巴细胞占69%,流式免疫分型提示约1.28%细胞(占全部有核细胞)表达CD20<sup>br</sup>、CD19、CD10<sup>br</sup>、CD38、CD200<sup>dim</sup>、CD11c、BCL2、Ki67、TdT、CD22,其余阴性,考虑为异常幼稚B淋巴细胞可能性大,染色体核型为46,XX[10],确诊为B-ALL。予VP(长春地辛+醋酸泼尼松)、CAM(CTX+阿糖胞苷+6-巯嘌呤)方案化疗后达完全缓解。后予大剂量甲氨蝶呤+培门冬酶方案治疗2个疗程,复查骨髓象示原始幼稚细胞68.5%;流式示约8%细胞考虑为异常幼稚B淋巴细胞可能性大(表达CD19及CD22)。予以抗CD22 CAR-T联合抗CD19 CAR-T细胞治疗,CAR-T细胞制备期间予VP方案化疗,行FC方案预处理,回输抗CD22 CAR-T细胞 $3 \times 10^6$ /kg、抗CD19 CAR-T细胞 $4 \times 10^6$ /kg。回输细胞后第1天患者出现高热、全身乏力,予以抗感染、退热、补液等治疗,后患者反复出现高热、全身乏力、低氧血症,予以吸氧、利尿、退热、补液等治疗。回输后第4天患者出现一过性神志模糊,回输后第5天出现心力衰竭,予以连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH)序贯血浆置换治疗。患者IL-6(回输后第6天达峰值,为基线水平的675倍)、铁蛋白(回输后第7天达峰值,为基线水平的21倍)等炎症指标进行性升高,CRP升高不明显,予以退热、补液、升压、CVVH、血浆置换、激素、护胃、抗感染、输血支持等治疗,后IL-6及铁蛋白逐渐下降,未再发热。截止目前已随访1年3个月,持续完全缓解状态,存在B细胞发育不良,予以规律输注免疫球蛋白治疗。

### 讨论及文献复习

近年来,CAR-T细胞治疗为复发难治性B细胞系血液系统恶性肿瘤患者带来了希望。抗CD19 CAR-T治疗在复发难治性B-ALL治疗中取得了巨大成功,完全缓解率高达70%~90%<sup>[1-3]</sup>。但CAR-T细胞治疗后的复发仍然是一个挑战,主要包括两种复发模式:CD19阳性复发和CD19阴性复发<sup>[4]</sup>,CD19阳性复发可能能够通过优化CAR设计、提高细胞制备技术或增加T细胞亚群比率以延长CAR-T细胞在体内的生存时间,从而减少该类模式的复发。然而,CD19阴性复发却并不能通过提高CAR-T细胞的体内持久性而得以解决。单靶点治疗可以导致逃逸变异,组合或串联CAR可能能够避免因逃逸变异所致的疾病复发。美国国立卫生研究院的研究小组已经研发出了抗CD22 CAR-T细胞用于治疗CD19阴性复发<sup>[5-6]</sup>。本中心首次采用抗CD22 CAR-T联合抗

CD19 CAR-T细胞治疗复发难治性急性B淋巴细胞白血病,目前已经入组100余例患者,完全缓解率高达90%以上,CRS多为1~2级,sCRS较少见。

CAR-T细胞毒性主要包括CRS、神经毒性和B细胞发育不良,不同患者出现的CRS轻重不一,可以表现为轻度自限性的发热、肌肉酸痛,也可出现血管渗漏、低血压、低氧血症、肾功能不全、血细胞减少和凝血功能障碍等而危及生命<sup>[7]</sup>。Lee等<sup>[8]</sup>结合临床特征及实验室检查结果,提出了sCRS的诊断标准。本文中两例患者输注CAR-T细胞后体温 $\geq 38^\circ\text{C}$ 至少持续3d,IL-6水平增至250倍以上,且存在低血压、低氧血症等毒性症状,符合sCRS的诊断标准。例2出现神经毒性,予激素治疗后好转;2例患者多次复查骨髓流式均提示B细胞发育不良,免疫球蛋白降低,予以规律补充免疫球蛋白治疗。

sCRS是影响患者预后的重要因素,处理不当将导致患者死亡。早期识别及有效控制sCRS对提高CAR-T细胞治疗的疗效至关重要。Maude等<sup>[3]</sup>报道指出,严重的CRS一般发生的中位数时间为CAR-T细胞输注后第1天,与不严重CRS相比,sCRS患者的IL-6、CRP、铁蛋白、IFN- $\gamma$ 和可溶性IL-2受体的峰值水平都更高。更高的疾病负荷基线水平(输注前骨髓中原始细胞的百分比)与更严重的CRS明显相关( $P=0.002$ )。具有严重CRS的患者也具有较高水平的CD8<sup>+</sup> CAR-T细胞( $P=0.012$ )和CD3<sup>+</sup> CAR-T细胞( $P=0.026$ )。本文中两例患者疾病负荷基线水平均较高,输注前骨髓中原始细胞百分比分别为37%和59%;例1铁蛋白峰值为8 277  $\mu\text{g/L}$ ,IL-6峰值为 $> 5 000$  ng/L,例2铁蛋白峰值为 $> 50 000$   $\mu\text{g/L}$ ,IL-6峰值为3 376 ng/L。反复高热、较高的疾病负荷及快速升高的IL-6和铁蛋白均提示患者可能会发生sCRS,严密监测生命体征及炎症指标(IL-6、CRP、铁蛋白)、早期予以托珠单抗、及时使用激素和血浆置换对控制sCRS的进一步进展、改善预后起重要作用。

在回输CAR-T细胞后,密切监测血液动力学至关重要。建议每2h进行1次生命体征监测,每日复查IL-6、铁蛋白、CRP、血常规及血生化等指标。患者出现发热后应予以抽取血培养、退热(首选对乙酰氨基酚)、补液、抗感染等处理。低血压必须早期识别并积极管理,补液无反应者应加用血管升压药物,首选去甲肾上腺素。托珠单抗可有效减轻或消除CAR-T细胞输注后的CRS相关毒性<sup>[3,9-10]</sup>。当超过特定的血液动力学和器官功能阈值时可予以托珠单抗治疗,一般为4~8 mg/kg。但托珠单抗不能透过血脑屏障,出现神经毒性的患者使用托珠单抗可能会进一步加重神经毒性<sup>[11]</sup>。对于托珠单抗不能改善的CRS或神经毒性,可加用糖皮质激素治疗,通常选用地塞米松。CRS脏器毒性可表现为肺水肿、心脏射血分数下降和肝肾不全等;CVVH可以清除多余水分、中小分子炎症介质,稳定内环境,为已受损器官的恢复创造条件;血浆置换可以清除体内各种炎症介质、毒素及铁蛋白等大、中、小分子,调节细胞及体液免疫,恢复损伤网状内皮细胞的吞噬功能;合理使用CVVH及血浆置换可以

快速降低血液中炎症介质及铁蛋白的浓度,减轻 CRS 及神经毒性,降低 CRS 相关的死亡率,提高 CAR-T 细胞治疗疗效。本文中例 1 使用托珠单抗后 IL-6 仍急剧升高至检测上限(> 5 000 ng/L),铁蛋白也迅速升高,予以激素及血浆置换治疗。例 2 因存在神经毒性,未使用托珠单抗治疗;铁蛋白急剧升高至检测上限(> 50 000 μg/L),考虑可能存在巨噬细胞活化综合征,予以激素+CVVH+血浆置换治疗。

综上所述,抗 CD22 CAR-T 联合抗 CD19 CAR-T 细胞治疗复发难治性急性 B 淋巴细胞白血病安全且疗效显著,治疗相关 sCRS 可控,早期识别及有效管理 sCRS 能够降低死亡率,提高 CAR-T 细胞治疗总体疗效。

参考文献

[1] 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.

[2] 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.

[3] 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.

[4] Maude SL, Teachey DT, Porter DL, et al. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2015, 125(26):4017-4023. DOI: 10.1182/blood-2014-12-580068.

[5] Haso W, Lee DW, Shah NN, et al. Anti-CD22-chimeric antigen

receptors targeting B- cell precursor acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood*, 2013, 121 (7):1165-1174. DOI: 10.1182/blood-2012-06-438002.

[6] Mackall CL, Merchant MS, Fry TJ. Immune-based therapies for childhood cancer [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2014, 11 (12):693-703. DOI: 10.1038/nrclinonc.2014.177.

[7] 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.

[8] 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-2014-05-552729. Erratum in: *Blood*, 2015, 126 (8): 1048. Dosage error in article text: *Blood*, 2016, 128 (11): 1533.

[9] 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.

[10] 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.

[11] Nishimoto N, Terao K, Mima T, et al. Mechanisms and pathologic significances in increase in serum interleukin-6 (IL-6) and soluble IL-6 receptor after administration of an anti-IL-6 receptor antibody, tocilizumab, in patients with rheumatoid arthritis and Castleman disease [J]. *Blood*, 2008, 112 (10):3959- 3964. DOI: 10.1182/blood-2008-05-155846.

(收稿日期:2019-02-09)

(本文编辑:刘爽)

中华医学会血液学分会第十届委员会委员名单

主任委员 王建祥

前任主任委员 黄晓军

候任主任委员 吴德沛

副主任委员 胡豫 邵宗鸿 周道斌 刘启发

常务委员(按姓氏笔画为序) 马军 方美云 王建祥 王景文 任汉云 刘启发 吴德沛  
 宋永平 张曦 张连生 李军民 杨林花 邵宗鸿 陈协群 周剑峰 周道斌  
 侯明 侯健 胡豫 胡建达 黄河 黄晓军

委员兼秘书长 肖志坚

委员(按姓氏笔画为序) 马军 方美云 牛挺 王欣 王建祥 王健民 王景文  
 付蓉 白海 卢英豪 任汉云 江明 纪春岩 刘竞 刘利 刘林  
 刘霆 刘开彦 刘启发 刘卓刚 孙自敏 孙爱宁 朱尊民 吴广胜 吴德沛  
 宋永平 张梅 张曦 张连生 张晓辉 李娟 李艳 李薇 李骥  
 李文倩 李军民 苏雁华 杨仁池 杨同华 杨林花 沈建平 肖志坚 邵宗鸿  
 陈虎 陈协群 周剑峰 周道斌 金洁 罗建民 姚红霞 郑波 侯明  
 侯健 胡豫 胡建达 赵永强 赵维莅 赵谢兰 徐开林 梁爱斌 黄河  
 黄晓军 黄瑞滨 韩艳秋 彭志刚 曾庆曙 谭 获