

# 抗CD19 CAR-T细胞治疗中枢神经系统白血病两例报告并文献复习

晋梦莹 韩悦 刘跃均 顾斌 陈佳 石森森 徐明珠 蔡成森 唐雅琼 吴德沛

**【摘要】** 目的 探讨CAR-T细胞治疗中枢神经系统白血病(CNSL)的有效性和安全性。方法 报道两例合并CNSL白血病患者抗CD19 CAR-T细胞治疗的过程及结果,并对相关文献进行复习。结果 两例患者骨髓细胞形态学特征分别为伴B淋系表达的急性髓系白血病(AML)-M<sub>2</sub>和急性B淋巴细胞白血病(B-ALL),免疫分型符合AML-M<sub>2</sub>和B-ALL的异常表现,临床和实验室检查符合CNSL诊断标准,诊断明确后予以抗CD19 CAR-T细胞治疗,输注总量均为 $5.0 \times 10^6/\text{kg}$ 。回输后两例患者中枢神经系统症状缓解。例1影像学异常消失,治疗过程中出现细胞因子释放综合征(CRS),药物干预后好转;例2脑脊液微小残留病转阴,未出现明显CRS反应。结论 CAR-T细胞治疗有望缓解CNSL,改善患者预后。

**【关键词】** 白血病; 嵌合型抗原受体T细胞疗法; 中枢神经系统白血病

**Treatment of central nervous system leukemia with CD19- chimeric antigen receptor T- cell immunotherapy: two cases report and literature review** Jin Mengying, Han Yue, Liu Yuejun, Gu Bin, Chen Jia, Shi Sensen, Xu Mingzhu, Cai Chengsen, Tang Yaqiong, Wu Depei. The First Affiliated Hospital of Soochow University, Jiangsu Institute of Hematology, Collaborative Innovation Centre of Hematology, Institute of Hematopoietic Stem Cell Transplantation, Key Laboratory of Thrombosis and Haemostasis of Ministry of Health, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Han Yue, Email: hanyue@suda.edu.cn

**【Abstract】 Objective** To explore the efficacy and safety of chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells in the treatment of central nervous system leukemia (CNSL). **Methods** Two leukemia patients with CNSL were treated with CD19-CAR-T cells. The process and results of the entire treatment is reported and related literature review is conducted. **Results** The patients were diagnosed as acute myeloid leukemia (AML)- M<sub>2</sub> with B lymphoid antigen expression and B cell acute lymphoblastic leukemia(B- ALL) by morphology and immunophenotype assay. The immunophenotype was consistent with the abnormal manifestations of AML- M<sub>2</sub> and B- ALL. Their clinical manifestations and laboratory tests met the diagnostic criteria of CNSL. The diagnosis was clear and the two patients were treated with CD19-CAR-T cell immunotherapy. Central nervous system symptoms were relieved. The imaging abnormalities of patient one has disappeared but cytokines release syndrome (CRS) occurred during the treatment. Cerebrospinal fluid of patient two was negative and no obvious CRS reaction was found. **Conclusions** CAR-T cell immunotherapy is likely to induce the remission of CNSL and improve the prognosis.

**【Key words】** Leukemia; Chimeric antigen receptor T- cell immunotherapy; Central nervous system leukemia

血脑屏障是维持中枢神经系统稳定的重要结构,将中枢神经系统内环境和血液循环隔离,有效阻挡血液中有毒物质对脑的侵袭<sup>[1]</sup>。同时,血脑屏障也限制了靶向中枢神经系统的化疗药物的进入,

极大地限制了中枢性恶性血液肿瘤的治疗<sup>[2]</sup>。白血病细胞通过血脑屏障浸润中枢神经系统,血脑屏障阻隔化疗药物进入中枢神经系统,使中枢神经系统内白血病细胞逃过化疗药物的杀伤,并最终发展成为中枢神经系统白血病(CNSL)<sup>[3]</sup>。CAR-T细胞治疗是一种新型的细胞免疫治疗方法,通过T细胞基因改造实现肿瘤特异性杀伤,在B细胞系血液肿瘤中被广泛应用。有学者发现,CAR-T细胞能够穿透血脑屏障进入中枢神经系统,对脑脊液内白血病细

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.08.008

作者单位: 215006 苏州大学附属第一医院、江苏省血液研究所; 卫生部血栓与止血重点实验室, 血液学协同创新中心

通信作者: 韩悦, Email: hanyue@suda.edu.cn

胞造成有效杀伤<sup>[4]</sup>。我们总结 2 例 CAR-T 细胞治疗复发急性白血病合并 CNSL 患者的临床资料,并进行文献复习。

### 病例资料

例 1,女,14 岁。主因“头晕、乏力半个月”入院。入院初诊血常规:WBC  $20.1 \times 10^9/L$ ,HGB 70 g/L,PLT  $40 \times 10^9/L$ 。骨髓象:原始细胞占 0.668;白血病免疫分型见 69.3% 的幼稚细胞群体,CD13、CD33、CD117、HLA-DR、CD11b、CD34、CD15、CD56、CD38、CD4 阳性,CD19 阴性;染色体核型分析示 t(8;21);C-kit 突变阳性,诊断为急性髓系白血病(AML)-M<sub>2</sub>。予 IA(去甲氧柔红霉素+阿糖胞苷)方案化疗达完全缓解(CR)。3 个月后复发,予 MA(米托蒽醌+阿糖胞苷)方案 2 个疗程、CAG(阿克拉霉素+阿糖胞苷+G-CSF)方案 1 个疗程、CLAG(克拉屈滨+阿糖胞苷+G-CSF)方案 1 个疗程,多方案联合化疗不缓解。复查骨髓象:原始幼稚细胞占 0.580;免疫分型见 88.9% 的幼稚细胞群体,CD34、CD13、CD33、CD117、CD15 阳性,CD19 弱阳性,其余阴性,为混合表达(CD19<sup>+</sup>细胞 43.3%)。患者出现头痛,查头颅 MRI:左颞部脑膜病变,伴左颞叶受压水肿,考虑白血病脑膜侵犯(图 1)。患者肿瘤细胞免疫分型示 CD19 表达,考虑行抗 CD19 CAR-T 细胞治疗。CAR-T 细胞制备期间,予地西他滨×5 d、依托泊苷(Vp16)×3 d、阿糖胞苷×3 d 降低肿瘤负荷。当日予 FC(氟达拉滨+环磷酰胺)方案预处理,结束后静脉回输 CAR-T 细胞,回输细胞总量为  $5.0 \times 10^6/kg$ (上海优卡迪生物医药科技有限公司制备),治疗过程中 CAR-T 细胞拷贝数见图 2。回输第 3 天起患者出现反复发热,予广谱抗感染治疗,C 反应蛋白(CRP)、IL-6 水平持续上升,加用 IL-6 受体拮抗剂托珠单抗(5.0 mg/kg)输注控制细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)。回输后第 5 天,IL-6 水平升高至正常上限 351 倍,反复高热伴有神经系统症状:神志淡漠、反应迟钝。诊断 CRS 3 级,予地塞米松 10 mg 每日 2 次干预后神经系统症状消失。复查头颅 MRI 示颅内未见显著异常,CNSL 消失(图 1)。回输后第 7 天,复查骨髓象示有核细胞增生极度低下,原始幼稚细胞占 0.140,免疫分型见 13% 的幼稚细胞,为髓系表达(CD19<sup>+</sup>细胞 0%)。回输后第 30 天,外周血白细胞分类提示原始+幼稚细胞占 0.69,头皮出现新生肿块,确诊本病复发。回输后 1 个月余患者死亡。

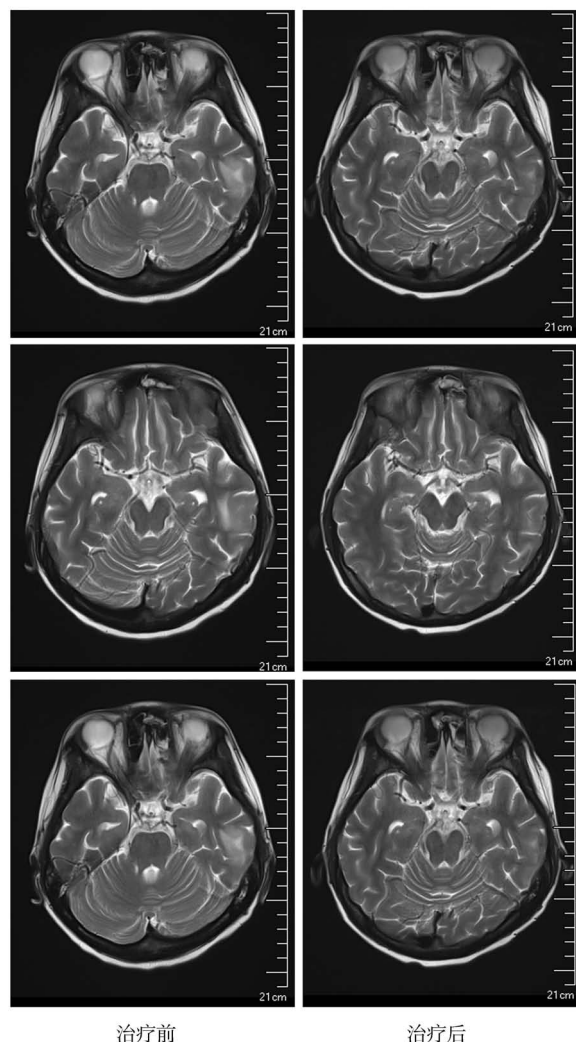


图 1 例 1 CAR-T 细胞治疗前后头颅 MRI 变化

例 2,男,46 岁。因“反复发热”入院。骨髓象:原始幼稚细胞占 0.765。免疫分型见 72.8% 的幼稚细胞群体,CD34、CD10、CD20、CD19 阳性,其余阴性,为 B 淋系表达。染色体核型分析:未见明显异常。基因突变检查示 KRAS、C-kit、PAX5 突变阳性。诊断为急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL),予 CIOP(环磷酰胺+伊达比星+长春地辛+地塞米松)方案化疗达 CR,继续予大剂量甲氨蝶呤(HD-MTX)、IVP(伊达比星+长春地辛+地塞米松)方案巩固化疗后,行女供父(6/10,B+供B+)造血干细胞移植。移植后第 50 天,复查骨髓象:本病缓解中;微小残留病(MRD) $9.5 \times 10^{-4}$ ;短串联重复序列检测供者细胞嵌合率 98.5%,C-kit(+);脑脊液常规、生化检测未见异常,脑脊液 MRD 25.6%,予三联鞘内注射,复查脑脊液 MRD 92.6%,患者合并头痛、恶心症状,考虑 B-ALL 中枢神经系统复发,选择行 CAR-T 细胞治疗。2 周后予 FC 方案预处理,结束后开始回

输 CAR-T 细胞,共  $5.0 \times 10^6/\text{kg}$  (上海优卡迪生物医药科技有限公司制备),治疗过程中 CAR-T 细胞拷贝数见图 2。患者 CAR-T 细胞回输后,无明显发热反应,生命体征平稳,监测细胞因子 IL-6 水平最高  $49.6 \text{ pg/ml}$ ,考虑 CRS 0 级。回输后第 14 天,患者血常规指标开始回升,监测细胞因子持续正常。回输后第 22 天,复查脑脊液 MRD 3.85%。末次复查脑脊液 MRD  $0 \times 10^{-3}$ 。

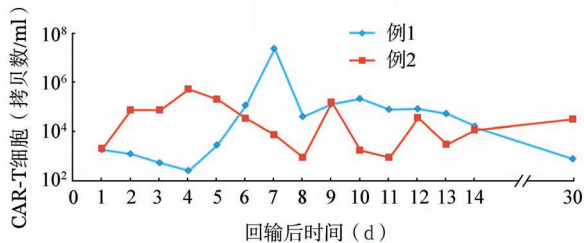


图 2 两例患者治疗过程 CAR-T 细胞拷贝数

### 讨论及文献复习

CNSL 的发生限制了患者远期生存,成为复发难治的主要根源之一。并发 CNSL 的患者不仅预后较差,随之而来的中枢神经系统症状严重影响患者生存质量。高白细胞血症是中枢神经系统复发的高危因素<sup>[5]</sup>,其他可能的相关因素有 t(9;22)、t(4;11)、t(1;19)染色体异常及初诊时中枢神经系统累及、IL-15 高表达等<sup>[6-7]</sup>。

鞘内注射联合全身化疗及放射治疗,并在 CR 后行 allo-HSCT 是目前临床有效可行的治疗方案<sup>[8-9]</sup>。对 CNSL 患者进行积极的三联鞘内注射诱导化疗及全身治疗能改善中枢神经系统症状,但患者长期生存没有明显改善<sup>[10]</sup>。全身和中枢神经系统同步复发患者,传统化疗 CR 率为 16%~22%,持续缓解者罕见<sup>[11]</sup>。对于此类患者目前多采用 allo-HSCT,但有学者认为移植前中枢神经系统累及是 CNSL 复发的高危因素<sup>[12]</sup>。放疗可以减轻神经系统症状,全脊柱综合放疗对 CNSL 合并骨髓阴性患者有更好的治疗效果,但是所有患者中位生存期仅 3.8 个月<sup>[13]</sup>。放疗与鞘内注射治疗组患者长期生存差异无统计学意义,HD-MTX 治疗 10 年无病生存 (DFS) 率提高了 6.2%,病死率下降了 14%<sup>[14]</sup>。以上的治疗措施都具有一定的治疗作用,但因长期不良反应而疗效不佳,故寻找新的治疗方案具有重要的临床价值。

1989 年, Gross 等首次提出构建嵌合型抗原受体 (CAR), CAR-T 细胞即为表达嵌合型抗原受体的 T 细胞,通过基因工程表达特异性抗体,增强抗肿瘤

的能力。2011 年, Porter 等<sup>[15]</sup>采用 CAR-T 细胞治疗儿童复发难治性 ALL, 两例患儿均达 CR, 其中 1 例 CR 持续时间达 1 年。近年来, CAR-T 细胞疗法在治疗难治复发 ALL、难治进展期淋巴瘤、难治复发慢性淋巴细胞白血病取得了突破性进展<sup>[16]</sup>。

近几年来, CAR-T 细胞治疗中枢神经系统肿瘤的有效性和安全性引起了广泛关注。Shannon 等<sup>[17]</sup>分析了 CAR-T 细胞治疗 30 例复发难治的儿童及成人 ALL 患者的疗效,结果显示 90% 的患者在治疗 1 个月后达到 CR, 22 例患者获得 MRD 转阴, 6 个月的 DFS 和总生存 (OS) 率分别为 67% 和 78%。其中 2 例患者 CAR-T 细胞输注时伴有 CNSL, 6 个月后脑脊液检查未再发现白血病细胞且未观察到 CNS 复发。一项针对儿童和成人 ALL 的临床试验中两例患者合并 CNSL, 经 CAR-T 细胞治疗后 CNSL 消失<sup>[18]</sup>。国内有作者报道 1 例难治复发 ALL 合并 CNSL 复发患者, 经氟达拉滨、环磷酰胺化疗后无效, 予以自体 CD19 CAR-T 细胞治疗, 输注后第 1 天患者外周血 BCR-ABL 融合基因转阴, 第 3 天出现头痛、呕吐、肢体麻痹、视力缺陷等中枢神经系统症状, 诊断为 CRS 2 级, 予甲泼尼龙  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。输注第 10 天, 所有中枢神经系统症状体征消失, 骨髓象提示 CR。该患者治疗后脑脊液中能检测到 CD19 CAR-T 细胞<sup>[19]</sup>。2017 年, Abramson 等<sup>[20]</sup>报道了 1 例 CAR-T 细胞治疗中枢神经系统淋巴瘤的个案, 这是首例 CAR-T 细胞在中枢神经系统淋巴瘤中的应用。该患者明确诊断为弥漫性大 B 细胞淋巴瘤伴有右侧额叶累及, 在 CAR-T 细胞治疗后的 1 年内, 颅内病灶完全消失, 2 个月后复发的皮下肿瘤也在 CAR-T 细胞的作用下得到抑制。关于 CNSL 经 CAR-T 细胞治疗后缓解, 国内外共 6 例报道, 治疗后所有患者中枢神经系统症状和体征消失, 且本病达 CR。这为 CNSL 的治疗带来了新的选择。但 6 例患者在 CAR-T 细胞输注后, 均发生不同程度 CRS 反应, 其中 2 例达 CRS 3 级。1 例患者在接受 CAR-T 细胞治疗后仍然因肿瘤复发而死亡。如何提高 CAR-T 细胞治疗有效性和安全性是亟待解决的临床问题。美国加州大学的研究人员开发出了可以严格控制 T 细胞行为的“分子开关”, 这一技术能够精确地使 CAR-T 细胞完成抗肿瘤作用后凋亡, 明显降低炎症反应, 实现细胞免疫疗法的精准治疗<sup>[21]</sup>。CNSL 经 CAR-T 细胞治疗缓解后维持治疗多以经验性治疗为主, 如定期行鞘内注射预防 CNSL 复发和巩固化疗等。不断发现新的靶向抗原构建精准治



疗,同时非靶向药物和造血干细胞移植联合,是目前 CAR-T 细胞治疗的研究方向,仍需更进一步积累经验,进一步提高治疗的有效性和安全性。

本文两例患者均为中枢神经系统复发,肿瘤细胞免疫分型 CD19 表达阳性, CAR-T 细胞治疗后缓解。CAR-T 细胞治疗作为一种新型的治疗手段,其有效性较好,由于本文样本较小,需要更大规模的临床研究以明确疗效。

#### 参考文献

- [1] 冯洒然,陈子兴,岑建农,等. 中枢神经系统白血病小鼠白血病细胞对血脑屏障的破坏作用[J]. 中华血液学杂志, 2011, 32(5): 289-293. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2011.05.001.
- [2] 佟红艳. 急性白血病中枢神经系统受累的诊治[J]. 中国实用内科杂志, 2011, 31(12): 921-923.
- [3] Vykhotseva N, McDannold N, Hynynen K. Progress and problems in the application of focused ultrasound for blood-brain barrier disruption[J]. Ultrasonics, 2008, 48(4):279-296. DOI: 10.1016/j.ultras.2008.04.004.
- [4] Maus MV, Grupp SA, Porter DL, et al. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies[J]. Blood, 2014, 123(17):2625-2635. DOI: 10.1182/blood-2013-11-492231.
- [5] Cancela CS, Murao M, Viana MB, et al. Incidence and risk factors for central nervous system relapse in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2012, 34(6):436-441. DOI: 10.5581/1516-8484.20120109.
- [6] ElGendi HM, Abdelmaksoud AA, Eissa DG, et al. Impact of TCF3 rearrangement on CNS relapse in egyptian pediatric acute lymphoblastic leukemia[J]. Pediatr Hematol Oncol, 2014, 31(7):638-646. DOI: 10.3109/08880018.2014.935837.
- [7] Cario G, Izraeli S, Teichert A, et al. High interleukin-15 expression characterizes childhood acute lymphoblastic leukemia with involvement of the CNS[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(30):4813-4820. DOI: 10.1200/JCO.2007.11.8166.
- [8] Pui CH, Sandlund JT, Pei D, et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Total Therapy Study XIIIB at St Jude Children's Research Hospital[J]. Blood, 2004, 104(9):2690-2696.
- [9] Lange BJ, Bostrom BC, Cherlow JM, et al. Double-delayed intensification improves event-free survival for children with intermediate-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Cancer Group[J]. Blood, 2002, 99(3):825-833.
- [10] Matloub Y, Lindemulder S, Gaynon PS, et al. Intrathecal triple therapy decreases central nervous system relapse but fails to improve event-free survival when compared with intrathecal methotrexate: results of the Children's Cancer Group (CCG) 1952 study for standard-risk acute lymphoblastic leukemia, reported by the Children's Oncology Group[J]. Blood, 2006, 108(4):1165-1173. DOI: 10.1182/blood-2005-12-011809.
- [11] Korfel A, Elter T, Thiel E, et al. Phase II study of central nervous system (CNS)-directed chemotherapy including high-dose chemotherapy with autologous stem cell transplantation for CNS relapse of aggressive lymphomas[J]. Haematologica, 2013, 98(3):364-370. DOI: 10.3324/haematol.2012.077917.
- [12] Hamdi A, Mawad R, Bassett R, et al. Central nervous system relapse in adults with acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2014, 20(11):1767-1771. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.07.005.
- [13] Walker GV, Shihadeh F, Kantarjian H, et al. Comprehensive craniospinal radiation for controlling central nervous system leukemia[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2014, 90(5):1119-1125. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2014.08.004.
- [14] Clarke M, Gaynon P, Hann I, et al. CNS-directed therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: Childhood ALL Collaborative Group overview of 43 randomized trials[J]. J Clin Oncol, 2003, 21(9):1798-1809.
- [15] 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.
- [16] 李萍, 梁爱斌. 嵌合抗原受体 T 细胞在血液恶性肿瘤治疗中的临床应用[J]. 内科急危重症杂志, 2016, 22(2): 91-93. DOI: 10.11768/nkjwzzz20160203.
- [17] 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.
- [18] 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 I dose-escalation trial[J]. Lancet, 2015, 385(9967):517-528. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.
- [19] Hu Y, Sun J, Wu Z, et al. Predominant cerebral cytokine release syndrome in CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cell therapy[J]. J Hematol Oncol, 2016, 9(1):70. DOI: 10.1186/s13045-016-0299-5.
- [20] Abramson JS, McGree B, Noyes S, et al. Anti-CD19 CAR T cells in CNS diffuse large-B-cell lymphoma[J]. N Engl J Med, 2017, 377(8):783-784. DOI: 10.1056/NEJMc1704610.
- [21] Wu CY, Roybal KT, Puchner EM, et al. Remote control of therapeutic T cells through a small molecule-gated chimeric antigen receptor[J]. Science, 2015, 350(6258):aab4077. DOI: 10.1126/science.aab4077.

(收稿日期:2018-01-12)

(本文编辑:王叶青)