

单纯输注抗 BCMA 与抗 BCMA 输注联合抗 CD19 嵌合抗原受体 T 细胞治疗复发/难治性多发性骨髓瘤免疫重建的对比

葛娇 赵婷婷 万重阳 夏洁云 郭思邑 于明潇 陈娟 王莹 徐开林 李振宇

徐州医科大学附属医院血液科 221002

通信作者:李振宇,Email:lizhenyumd@163.com

【摘要】 目的 观察比较单纯输注抗 B 细胞成熟抗原(BCMA)嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T 细胞)与输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞治疗复发/难治性多发性骨髓瘤(RRMM)患者免疫重建的差异。方法 以 2017 年 6 月至 2020 年 12 月在我院行 CAR-T 细胞治疗的 61 例 RRMM 患者为研究对象,其中单纯接受抗 BCMA 靶点者 26 例,接受抗 BCMA 联合抗 CD19 靶点者 35 例。流式细胞术分别测定 CAR-T 治疗前后不同时间点的 T 细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)、B 细胞(CD19⁺)及 NK 细胞(CD16⁺CD56⁺),免疫比浊法检测免疫球蛋白 IgG、IgA 及 IgM 水平。对比两组淋巴细胞亚群及免疫球蛋白的重建规律。结果 CAR-T 细胞输注后,CD8⁺ T 淋巴细胞恢复最快,BCMA 组与 BCMA+CD19 组分别在输注后 3 个月和输注后 1 个月时恢复至输注前水平[BCMA:695(357, 1264)个/μl 对 424(280, 646)个/μl;BCMA+CD19:546(279, 1672)个/μl 对 314(214, 466)个/μl]。两组 NK 细胞均在输注后 3 个月时恢复至正常水平[分别为 171(120, 244)个/μl、153(101, 218)个/μl(正常参考范围 150~1100 个/μl)],但 BCMA 组不能维持在稳定水平。两组 CD4⁺ T 淋巴细胞恢复缓慢,输注后 12 个月内仍处于持续低水平,多数患者未观察到恢复。CD4⁺/CD8⁺ 比值倒置持续 1 年以上。两组 CD19⁺ B 细胞均在输注后 3 个月恢复至输注前水平[BCMA:62(10, 72)个/μl 对 57(24, 78)个/μl;BCMA+CD19:40(4, 94)个/μl 对 29(14, 46)个/μl]。BCMA 组 IgG 在输注后 12 个月恢复至输注前水平[7.82(6.03, 9.64)g/L 对 6.92(4.62, 12.76)g/L],BCMA+CD19 组未恢复。IgA 先后在输注后 9 个月和 12 个月恢复至输注前水平[BCMA:0.46(0.07, 0.51)g/L 对 0.22(0.12, 4.01)g/L;BCMA+CD19:0.46(0.22, 0.98)g/L 对 0.27(0.10, 0.53)g/L]。两组 IgM 在输注后 6 个月恢复至输注前水平[BCMA:0.43(0.06, 0.60)g/L 对 0.20(0.13, 0.37)g/L;BCMA+CD19:0.53(0.10, 0.80)g/L 对 0.16(0.11, 0.28)g/L]。两组患者淋巴细胞亚群重建及免疫球蛋白恢复在各时间点的差异均无统计学意义。结论 在接受 CAR-T 细胞治疗的 RRMM 患者中,可基本不考虑单纯抗 BCMA CAR-T 与抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 治疗之间免疫重建的差异而选择合适的靶抗原。中国临床试验注册中心:ChiCTR-OIC-17011271、ChiCTR-OIC-17011272

【关键词】 嵌合抗原受体 T 细胞; 多发性骨髓瘤; 免疫重建

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.09.004

Comparison of single infusion of anti-BCMA versus combined infusion of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells for immune reconstruction in relapsed/refractory multiple myeloma

Ge Jiao, Zhao Tingting, Wan Chongyang, Xia Jiayun, Guo Siyi, Yu Mingxiao, Chen Juan, Wang Ying, Xu Kailin, Li Zhenyu

Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, China

Corresponding author: Li Zhenyu, Email: lizhenyumd@163.com

【Abstract】 Objective We observed and compared the differences in immune reconstruction between single-infusion anti-B-cell maturation antigen (BCMA), chimeric antigen receptor T cells (CAR-T), and combined infusion of anti-CD19 CAR-T cells in the treatment of recurrent/refractory multiple myeloma (RRMM). **Methods** Sixty-one patients with RRMM who underwent CAR-T cell therapy in our hospital from June 2017 to December 2020 were selected. Among them, 26 patients received anti-BCMA target, and 35 patients received anti-BCMA combined with anti-CD19 target. Using flow cytometry, we

determined T cell subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺), B cells (CD19⁺), and NK cells (CD16⁺ CD56⁺) at different time points before and after CAR-T treatment, and detected immunoglobulin IgG, IgA and IgM levels by immunoturbidimetry. We compared the reconstruction rules of lymphocyte subsets and immunoglobulins in the two groups. **Results** CD8⁺ T lymphocytes recovered most rapidly after the infusion of CAR-T cells, returning to pre-infusion levels at 3 months and 1 month after infusion, respectively [BCMA: 695 (357, 1264)/ μ l vs 424 (280, 646)/ μ l; BCMA+CD19: 546 (279, 1672)/ μ l vs 314 (214, 466)/ μ l]. NK cells returned to normal levels at 3 months after infusion in both groups [BCMA: 171 (120, 244)/ μ l, BCMA+CD19: 153 (101, 218)/ μ l (Normal reference range 150 - 1100 / μ l)]; however, the NK cells were not maintained at stable levels in the BCMA CAR-T cells group. The recovery of CD4⁺ T lymphocytes in both groups was slow and remained persistently low within 12 months after infusion, and no recovery was observed in most patients. The reversal of the ratio of CD4⁺/CD8⁺ lasted for more than a year. The levels of CD19⁺ B cells in both groups returned to baseline 3 months after infusion [BCMA: 62 (10, 72)/ μ l vs 57 (24, 78)/ μ l; BCMA+CD19: 40 (4, 94)/ μ l vs 29 (14, 46)/ μ l]. IgG returned to the pre-infusion level 12 months after infusion in the group with anti-BCMA cells alone, but not in the group with combined infusion of CD19 CAR T cells [7.82 (6.03, 9.64) g/L vs 6.92 (4.62, 12.76) g/L]. IgA returned to pre-infusion levels at 9 and 12 months after infusion, respectively [BCMA: 0.46 (0.07, 0.51) g/L vs 0.22 (0.12, 0.40) g/L; BCMA+CD19: 0.46 (0.22, 0.98) g/L vs 0.27 (0.10, 0.53) g/L]. IgM in both groups returned to pre-infusion levels 6 months after infusion [BCMA: 0.43 (0.06, 0.60) g/L vs 0.20 (0.13, 0.37) g/L; BCMA+CD19: 0.53 (0.10, 0.80) g/L vs 0.16 (0.11, 0.28) g/L]. There was no significant difference in the indexes of lymphocyte subpopulation reconstruction and immunoglobulin recovery between the two groups at each time point. **Conclusion** This study showed that in patients with RRMM treated with CAR-T cells, the appropriate target antigen can be selected without considering the difference of immune reconstruction between anti-BCMA CAR-T and combined anti-CD19 CAR-T therapy.

【Key words】 Chimeric antigen receptor T cells; Multiple myeloma; Immune reconstruction
DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.09.004

多发性骨髓瘤(MM)是一种高度异质性疾病,其发病机制尚未完全阐明。在过去十年中,蛋白酶抑制剂、免疫调节剂及造血干细胞移植等方法的应用使得MM的治疗效果得到了提高,患者生存期延长^[1-2],但复发难治仍使相当一部分患者难以获益^[3]。嵌合抗原受体T细胞(CAR-T细胞)疗法作为一种特殊的肿瘤细胞免疫治疗方式,在复发难治B细胞肿瘤患者中显示出令人欣喜的临床疗效^[4-6]。然而CAR-T治疗后的不良反应也不容忽视,例如细胞因子释放综合征(CRS)^[7-8]和对正常B细胞的杀伤作用。先前已有研究报道了CAR-T细胞治疗后B细胞再生障碍和低免疫球蛋白血症^[9-10],但关于免疫系统恢复规律尚鲜有文献报道。本研究我们回顾性分析徐州医科大学附属医院血液科61例复发难治性MM(RRMM)患者资料,比较单纯输注抗B细胞成熟抗原(BCMA)CAR-T细胞与联合输注抗CD19 CAR-T细胞治疗后免疫重建的差异。

病例与方法

1. 病例资料:回顾性分析2017年6月至2020年12月于徐州医科大学附属医院血液科接受CAR-T治疗并且临床相关资料完整的RRMM患者共

61例。其中单纯输注抗BCMA CAR-T细胞26例,男17例、女9例,中位年龄为56(52~63)岁,按M蛋白亚型分为IgG型5例、IgA型8例、轻链型11例、IgD型2例;输注抗BCMA联合抗CD19 CAR-T细胞组35例,男21例、女14例,中位年龄为59(45~66)岁,按M蛋白亚型分为IgG型18例、IgA型7例、轻链型6例、不分泌型2例、IgD型2例。纳入标准:①符合《中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020年修订)》^[11]中RRMM标准;②18~69岁;③Karnofsky功能状态评分 \geq 50分;④预期寿命超过12周且无活动性感染、严重心肝肾功能损害、慢性消耗性疾病及其他影响生存的疾病;⑤入组前100 d内无自体造血干细胞移植史;⑥充分了解本研究且签署知情同意书,依从性较好,CAR-T细胞输注后继续住院观察,出院后定期门诊或住院复诊(总观察时间 \geq 60 d)。所有患者均入组CAR-T细胞临床试验(中国临床试验注册中心:ChiCTR-OIC-17011271、ChiCTR-OIC-17011272),本研究获得徐州医科大学附属医院临床试验伦理委员会批准(批件号:XY-FY2017-KL014-01、XYFY2017-KL013-01)。

2. 标本采集、淋巴细胞亚群及免疫球蛋白检测
方法:分别在输注前第5天、输注当天、输注后1、3、

6、9 和 12 个月采集患者外周血。通过流式细胞仪检测包括 CD3、CD4、CD8、CD19、CD16/CD56 在内的淋巴细胞标志物。进行免疫表型分析时,为减少收集后的选择性损失,标本不经进一步分离即进行染色。用抗 CD45-BV421、抗 CD3-FITC、CD4-APC、CD8-Per-CP、CD19-PE-Cy7、CD16-PE 和 CD56-PE 的单克隆抗体进行染色。T 细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺)、NK 细胞(CD16⁺/CD56⁺)和 B 细胞(CD19⁺)通过单一平台检测。合适的同型对照包括 PE、APC 和 Per-CP 偶联的 IgG1/2a/2b。结合血常规检查所示外周血中淋巴细胞绝对数,分别计算其绝对数。采用免疫比浊法检测血清 IgG、IgA 和 IgM 水平。

3. CAR-T 输注前预处理方案:全部 61 例患者在 CAR-T 细胞输注前均采取 FC(氟达拉滨+环磷酰胺)方案进行预处理:氟达拉滨 30 mg·m⁻²·d⁻¹, -5 ~ -3 d;环磷酰胺 750 mg/m², -5 d。

4. CAR-T 的制备及输注:于 -14 d 采用 COMTEC 型血细胞单采仪[费森尤斯卡比(中国)投资有限公司]单采患者外周血淋巴细胞,进行抗 BCMA 和抗 CD19 CAR-T 细胞制备。抗 CD19 CAR-T 细胞由抗 CD19 抗体 scFv、CD8 铰链区、4-1BB 共刺激分

子及 CD3ζT 细胞活化序列组成;抗 BCMA CAR-T 细胞应用慢病毒转染技术,由抗 BCMA 抗体 scFv、4-1BB 共刺激分子及 CD3ζT 细胞活化序列构成。患者 CAR-T 细胞回输剂量均为 1×10⁶/kg。

5. 统计学处理:本研究数据均采用 SPSS 24.0 进行统计学处理。计量资料以中位数(第一四分位数,第三四分位数)描述,组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

一、淋巴细胞亚群恢复情况(表 1)

单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞后,T 细胞重建规律:CD3⁺、CD8⁺ T 细胞计数在输注当天均显著低于输注前水平,CD3⁺ T 细胞计数输注后 3 个月恢复至输注前水平,CD8⁺ T 细胞计数在输注后 3 个月恢复至输注前水平并达正常水平;CD4⁺ T 细胞计数在输注当天及输注后 3 个月内显著低于输注前水平,输注后恢复缓慢,12 个月内未达输注前水平;CD4⁺/CD8⁺ 比值在输注当天短暂升高,在输注后显著下降,比值倒置持续了至少 1 年。B 细胞重建规律:在

表 1 单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组与输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞组治疗前后不同时间点淋巴细胞亚群计数及比值变化[M(P25, P75)]

时间	CD3 ⁺ T 细胞计数 (个/μl)	CD4 ⁺ T 细胞计数 (个/μl)	CD8 ⁺ T 细胞计数 (个/μl)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比值	CD19 ⁺ B 细胞计数 (个/μl)	NK 细胞计数 (个/μl)
单纯输注抗 BCMA						
输注前	728(552, 1119)	313(228, 442)	424(280, 646)	0.67(0.48, 0.94)	57(24, 78)	221(147, 300)
输注当天	89(14, 203) ^a	50(7, 93) ^a	32(4, 76) ^a	1.56(0.82, 2.43) ^a	1.8(0, 3) ^a	11(2, 24) ^a
输注后 1 个月	680(413, 1079)	189(117, 313) ^a	294(238, 680)	0.51(0.28, 0.78)	0(0, 1) ^a	72(45, 156) ^a
输注后 3 个月	979(533, 1788)	177(125, 298) ^a	695(357, 1264)	0.26(0.20, 0.42) ^a	62(10, 72) ^b	171(120, 244) ^b
输注后 6 个月	1050(806, 1268)	260(220, 347)	672(510, 949) ^b	0.39(0.26, 0.59) ^a	146(13, 214) ^b	144(90, 225)
输注后 9 个月	966(522, 1403)	208(174, 326)	460(310, 986)	0.43(0.37, 0.61)	163(100, 405) ^b	90(63, 308)
输注后 12 个月	1107(867, 1325)	304(230, 404)	635(421, 847)	0.42(0.30, 0.61)	182(131, 339) ^b	124(112, 242)
输注抗 BCMA 联合抗 CD19						
输注前	676(485, 972)	294(216, 465)	314(214, 466)	0.98(0.64, 1.69)	29(14, 46)	213(111, 324)
输注当天	90(77, 180) ^a	57(41, 82) ^a	30(19, 63) ^a	1.78(0.88, 3.20)	2(0, 4) ^a	12(5, 29) ^a
输注后 1 个月	793(528, 1975)	217(113, 388)	546(279, 1672) ^a	0.28(0.17, 0.61) ^a	0(0, 0) ^a	101(44, 182) ^a
输注后 3 个月	1078(771, 1491)	240(180, 358)	770(420, 1021) ^a	0.35(0.29, 0.56) ^a	40(4, 94) ^b	153(101, 218)
输注后 6 个月	1085(645, 1258)	230(185, 307)	661(378, 872) ^a	0.37(0.26, 0.58) ^a	111(58, 171) ^b	189(110, 268)
输注后 9 个月	952(610, 1097)	298(165, 402)	518(264, 775)	0.58(0.43, 0.84)	159(97, 260) ^a	166(120, 183)
输注后 12 个月	967(594, 1363)	265(163, 275)	675(243, 990)	0.36(0.27, 0.79)	163(97, 194) ^a	164(92, 182)
正常参考范围	955 ~ 2860	550 ~ 1440	320 ~ 1250	0.9 ~ 3.6	90 ~ 560	150 ~ 1100

注:BCMA:B 细胞成熟抗原;CAR-T 细胞:嵌合抗原受体 T 细胞。与输注前相比,^a*P* < 0.05;与输注后 1 个月相比,^b*P* < 0.05;与输注后 1 ~ 6 个月相比,^c*P* < 0.05

输注当天及输注后 1 个月显著低于输注前水平, 输注后 3 个月恢复至输注前水平。NK 细胞重建规律: 在输注当天及输注后 1 个月显著低于输注前水平, 在输注后 3 个月恢复至正常水平, 在 12 个月内未恢复至输注前水平。

输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞后, T 细胞重建规律: CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞计数在输注当天均显著低于输注前水平, CD3⁺ T 细胞计数输注后 1 个月恢复至输注前水平。CD4⁺ T 细胞计数输注后恢复缓慢, 12 个月内未达输注前水平。CD8⁺ T 细胞计数在输注后 1 个月显著高于输注前水平。CD4⁺/CD8⁺ 比值在输注当天短暂升高, 在输注后 6 个月内显著低于输注前水平, 比值倒置持续了至少 1 年。B 细胞重建规律: 在输注当天及输注后 1 个月显著低于输注前水平, 输注后 3 个月恢复至输注前水平, 在输注 9 个月后明显高于输注前水平。NK 细胞重建规律: 在输注当天及输注后 1 个月显著低于输注前水平, 在输注后 3 个月恢复至正常水平, 但在 12 个月内未恢复至输注前水平。

比较两组各时间点淋巴细胞亚群计数及 CD4⁺/CD8⁺ 比值差异均无统计学意义 (P 值均 > 0.05)。联合输注抗 CD19 CAR-T 细胞组 CD8⁺ T 淋巴细胞恢复正常水平所需的时间较单输抗 BCMA CAR-T 细胞组稍长。虽两组 NK 细胞均在输注后 3 个月时恢

复正常水平, 但单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组不能维持在稳定水平。

二、免疫球蛋白恢复情况(表 2)

单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞后, IgG 在输注后 3 个月时水平最低, 3~6 个月显著低于输注前水平, 在输注后 12 个月恢复至输注前水平。IgA 在输注后 1~3 个月显著低于输注前水平, 在输注后 9 个月恢复至输注前水平。IgM 在输注后 1 个月显著低于输注前水平, 输注后 6 个月恢复至输注前水平, 输注后 12 个月恢复至正常水平。

输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞后, IgG 在输注后 3 个月时水平最低, 3~6 个月显著低于输注前水平, 后恢复较慢, 在观察期内未达输注前水平。IgA 在输注后 1~3 个月显著低于输注前水平, 在输注后 12 个月恢复至输注前水平。IgM 在输注后低于输注前水平, 但差异无统计学意义, 在输注后 9 个月显著高于输注前水平, 输注后 12 个月达正常水平。

比较单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组与输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞组免疫球蛋白水平差异。CAR-T 细胞输注后, 所有患者均出现免疫球蛋白浓度下降和低免疫球蛋白血症, 对比两组各时间点免疫球蛋白水平差异均无统计学意义 (P 值均 > 0.05)。输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T

表 2 单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组与输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞组治疗前后不同时间点免疫球蛋白变化 [g/L, $M(P25, P75)$]

时间	IgG	IgA	IgM
单纯输注抗 BCMA			
输注前	6.92(4.62, 12.76)	0.22(0.12, 4.01)	0.20(0.13, 0.37)
输注后 1 个月	4.58(3.20, 11.10)	0.07(0.07, 0.55) ^a	0.10(0.07, 0.13) ^a
输注后 3 个月	3.59(1.83, 7.43) ^a	0.07(0.07, 0.09) ^a	0.10(0.05, 0.32)
输注后 6 个月	4.33(0.98, 6.28) ^a	0.14(0.07, 0.37)	0.43(0.06, 0.60) ^b
输注后 9 个月	5.57(2.66, 6.94)	0.46(0.07, 0.51)	0.44(0.18, 0.67) ^b
输注后 12 个月	7.82(6.03, 9.64)	0.72(0.53, 1.14) ^d	0.97(0.39, 1.19) ^c
输注抗 BCMA 联合抗 CD19			
输注前	8.54(6.20, 37.40)	0.27(0.10, 0.53)	0.16(0.11, 0.28)
输注后 1 个月	6.70(3.92, 16.80)	0.07(0.07, 0.22) ^a	0.12(0.06, 0.16)
输注后 3 个月	4.36(3.70, 9.20) ^a	0.07(0.07, 0.20) ^a	0.12(0.05, 0.33)
输注后 6 个月	5.35(2.47, 8.12) ^a	0.10(0.07, 0.37)	0.53(0.10, 0.80) ^c
输注后 9 个月	5.53(4.70, 7.53)	0.23(0.14, 1.18)	0.47(0.33, 1.03) ^a
输注后 12 个月	6.20(4.51, 9.80)	0.46(0.22, 0.98) ^c	0.54(0.27, 0.83) ^c
正常参考范围	8.00 ~ 17.00	1.00 ~ 4.90	0.50 ~ 3.20

注: BCMA: B 细胞成熟抗原; CAR-T 细胞: 嵌合抗原受体 T 细胞。与输注前相比, ^a $P < 0.05$; 与输注后 1 个月相比, ^b $P < 0.05$; 与输注后 1~3 个月相比, ^c $P < 0.05$; 与输注后 1~6 个月相比, ^d $P < 0.05$

细胞组 IgG、IgA 恢复至输注前水平所需的时间均较单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组稍长。虽差异无统计学意义,但在输注后 12 个月时,单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组各类免疫球蛋白水平中位数均比输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞组高。

讨 论

“B 细胞再生障碍”是 CAR-T 细胞疗法的一个主要毒性。BCMA 在正常和恶性浆细胞中均高表达,在其他细胞谱系中几乎不存在^[12-13],也因此健康浆细胞可能受到 CAR-T 细胞的影响而引起继发性低免疫球蛋白血症。同样,抗 CD19 CAR-T 细胞疗法可通过耗竭 CD19⁺B 祖细胞而导致 B 细胞再生障碍^[14]。在一项单中心 1-2a 期研究中^[15],所有输注抗 CD19 CAR-T 细胞且对治疗有反应的患者均发生了 B 细胞再生障碍,持续至 6 个月的概率为 83% (95% CI 69% ~ 91%)。相比之下,关于比较单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞与输注抗 BCMA 联合抗 CD19 CAR-T 细胞治疗后免疫重建的详细报道很少。

淋巴细胞清除化疗后,患者淋巴细胞亚群的绝对计数显著下降,可能与 FC 方案进行的淋巴细胞清除化疗引起的淋巴细胞计数降低有关。CD8⁺T 淋巴细胞恢复最快,两组分别在输注后 3 个月和 1 个月时恢复至输注前水平,两组 NK 细胞均在输注后 3 个月时恢复至正常水平,但单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组不能维持在稳定水平,两组 CD4⁺T 淋巴细胞恢复缓慢,多数患者在输注后 12 个月内未观察到恢复。这可能与中老年患者胸腺的自然退化以及预处理时大剂量化疗导致胸腺功能受损有关,由于 CD8⁺T 淋巴细胞生成和成熟不完全依赖胸腺而输注后较快恢复,但 CD4⁺T 淋巴细胞的生成主要依赖于胸腺功能而恢复缓慢^[16],这也部分解释了输注后患者在较长时期内 CD4⁺/CD8⁺ 比值下降及倒置的原因。CD4⁺/CD8⁺ 比值降低表明免疫受到抑制,是监测免疫恢复的重要标志^[17-18]。输注 CAR-T 细胞后,CD4⁺/CD8⁺ 比值倒置持续了 1 年以上,这表明在 CAR-T 细胞输注后机体免疫功能失调持续了很长一段时间。与预处理前相比,CD19⁺B 淋巴细胞计数在输注后进一步降低并持续处于耗竭状态,是由淋巴细胞清除化疗引起淋巴细胞计数降低和 CAR-T 细胞的靶向杀伤作用导致。不同的淋巴细胞亚群有不同的功能,只有达到相互平衡与相互制约的状态,才能更好地发挥抗感染和抗肿瘤的作用。本研

究中我们发现,对比单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组与输注抗 BCMA 联合 CD19 CAR-T 细胞组在治疗前后各时间点淋巴细胞亚群计数及 CD4⁺/CD8⁺ 比值差异均无统计学意义,说明两组在淋巴细胞亚群数量重建方面在同一水平。

本研究中,两组患者在输注 CAR-T 细胞后均发生持续性低免疫球蛋白血症。感染是降低骨髓瘤患者生命质量、影响疾病预后的重要因素^[19-20]。CAR-T 细胞输注后有两个主要的感染因素。一个是淋巴细胞清除化疗时抑制骨髓造血使得中性粒细胞缺乏,另一个是 CAR-T 细胞输注后引起的 T 细胞亚群异常、B 细胞再生障碍及体液免疫受损有关。通常,骨髓抑制的恢复很快。然而,免疫功能的重建需要很长时间。

IgG 是人免疫球蛋白的主要成分,也是初级免疫应答中最持久、最重要的抗体,在体液免疫中起着最重要的作用,是机体抗感染的“主力军”。本研究显示两组 IgG 在输注后 6 个月内持续下降,12 个月时单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组恢复输注前水平,考虑这可能与本研究中 IgG 型患者肿瘤负荷重有关,M 蛋白的分泌抑制正常多克隆免疫球蛋白的合成,CAR-T 细胞输注后,随着缓解程度的加深和 M 蛋白的代谢,在 6 个月后随着 IgG 水平的恢复,其体液免疫功能逐渐恢复。因此我们建议在输注 CAR-T 细胞后早期阶段反复感染又合并低免疫球蛋白的患者,应定期输注人免疫球蛋白。IgA 中分泌型 IgA 是参与黏膜局部免疫的主要抗体类别,通过阻止病原微生物黏附到细胞表面在局部发挥抗感染作用,是机体抗感染的“边防军”,IgA 低下易患呼吸道、胃肠道感染,本研究中,两组 IgA 先后在输注后 9 个月和 12 个月恢复输注前水平。IgM 在机体早期免疫防护中占重要地位,主要存在于血管中,对防止血流感染具有重要意义,同时也是黏膜免疫的重要防线^[21],本研究中两组 IgM 在输注后 6 个月恢复输注前水平。

免疫球蛋白与各淋巴细胞亚群构成机体免疫防御机制的主要部分,其在抗肿瘤、免疫监视及抗感染中扮演重要角色。但数量重建只是免疫重建的一部分,而淋巴细胞功能的重建更为重要。本研究我们比较了单纯输注抗 BCMA CAR-T 细胞组与输注抗 BCMA 联合 CD19 CAR-T 细胞组在各时间点免疫重建指标差异均无统计学意义,这就意味着可在不考虑免疫重建的基础上选择合适的靶抗原,

使RRMM患者最大程度获益。本研究因回顾性分析和样本量不足等局限性,如能进一步设计前瞻性随机对照研究可能能够获得更为明确的结论。

参考文献

- [1] Castella M, Fernández de Larrea C, Martín-Antonio B. Immunotherapy: A Novel Era of Promising Treatments for Multiple Myeloma [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19 (11):3613. DOI: 10.3390/ijms19113613.
- [2] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1):7-30. DOI: 10.3322/caac.21332.
- [3] 刘俊茹, 李娟, 黄晓军. 新药时代自体造血干细胞移植在多发骨髓瘤治疗中的问题与展望 [J]. *中华血液学杂志*, 2021, 42 (1): 82-86. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.01.017.
- [4] Chavez JC, Bachmeier C, Kharfan-Dabaja MA. CAR T-cell therapy for B-cell lymphomas: clinical trial results of available products [J]. *Ther Adv Hematol*, 2019, 10:2040620719841581. DOI: 10.1177/2040620719841581.
- [5] Zhou X, Tu S, Wang C, et al. Phase I Trial of Fourth-Generation Anti- CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells Against Relapsed or Refractory B Cell Non-Hodgkin Lymphomas [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 564099. DOI: 10.3389/fimmu.2020.564099.
- [6] 林全德, 闫艳, 宋永平. 多发性骨髓瘤嵌合抗原受体T细胞治疗研究进展 [J]. *白血病·淋巴瘤*, 2020, 29(3):136-140. DOI: 10.3760/cma.j.cn115356-20191220-00265.
- [7] Roex G, Timmers M, Wouters K, et al. Safety and clinical efficacy of BCMA CAR-T-cell therapy in multiple myeloma [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13 (1):164. DOI: 10.1186/s13045-020-01001-1.
- [8] Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome [J]. *Blood*, 2014, 124 (2):188-195. DOI: 10.1182/blood-2014-05-552729.
- [9] Paszkiewicz PJ, Fräßle SP, Srivastava S, et al. Targeted antibody-mediated depletion of murine CD19 CAR T cells permanently reverses B cell aplasia [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(11):4262-4272. DOI: 10.1172/JCI84813.
- [10] 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.
- [11] 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国医师协会多发性骨髓瘤专业委员会. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2020年修订) [J]. *中华内科杂志*, 2020, 59 (5): 341-346. DOI: 10.3760/cma.j.cn112138-20200304-00179.
- [12] Tai YT, Acharya C, An G, et al. APRIL and BCMA promote human multiple myeloma growth and immunosuppression in the bone marrow microenvironment [J]. *Blood*, 2016, 127 (25): 3225-3236. DOI: 10.1182/blood-2016-01-691162.
- [13] Bu DX, Singh R, Choi EE, et al. Pre-clinical validation of B cell maturation antigen (BCMA) as a target for T cell immunotherapy of multiple myeloma [J]. *Oncotarget*, 2018, 9 (40):25764-25780. DOI: 10.18632/oncotarget.25359.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] Laurent J, Speiser DE, Appay V, et al. Impact of 3 different short-term chemotherapy regimens on lymphocyte-depletion and reconstitution in melanoma patients [J]. *J Immunother*, 2010, 33(7):723-734. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181ea7e6e.
- [17] Meyer zu Hörste G, Cordes S, Mausberg AK, et al. FoxP3+ regulatory T cells determine disease severity in rodent models of inflammatory neuropathies [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (10):e108756. DOI: 10.1371/journal.pone.0108756.
- [18] 陈佳琦, 金晶, 姚小敏, 等. 恶性肿瘤患者外周血淋巴细胞亚群分析 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2013, 23(6):1491-1492, 1501.
- [19] Tete SM, Bijl M, Sahota SS, et al. Immune defects in the risk of infection and response to vaccination in monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma [J]. *Front Immunol*, 2014, 5:257. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00257.
- [20] Teh BW, Harrison SJ, Worth LJ, et al. Risks, severity and timing of infections in patients with multiple myeloma: a longitudinal cohort study in the era of immunomodulatory drug therapy [J]. *Br J Haematol*, 2015, 171(1):100-108. DOI: 10.1111/bjh.13532.
- [21] 刘俊茹, 李娟, 商京晶, 等. 多发性骨髓瘤患者自体造血干细胞移植后体液免疫重建及其与感染的关系 [J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34 (4): 317-322. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.04.015.

(收稿日期:2021-08-17)

(本文编辑:刘爽)