

供者 CD19 CAR-T 细胞治疗 急性 B 淋巴细胞白血病移植后 复发九例临床观察

马润芝 何祎 杨栋林 魏嘉璘 庞爱明 姜尔烈 王建祥 韩明哲 张荣莉 冯四洲
中国医学科学院血液病医院(中国医学科学院血液学研究所),实验血液学国家重点
实验室,国家血液系统疾病临床医学研究中心,天津 300020
通信作者:张荣莉,Email:zhangrongli@ihcams.ac.cn

【摘要】 目的 观察供者抗 CD19 嵌合抗原受体 T 细胞(CAR-T)(HI19 α -4-1BB- ζ CAR-T)治疗急性 B 淋巴细胞白血病(B-ALL)异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后复发患者的疗效及安全性。方法 对 2017 年 7 月至 2020 年 5 月期间 9 例 allo-HSCT 后复发 B-ALL 患者应用供者抗 CD19 CAR-T 细胞治疗,FCA 方案(氟达拉滨+环磷酰胺+阿糖胞苷)预处理后回输供者 CD3⁺T 淋巴细胞,其中 CAR-T 细胞中位数 1.79(0.86~3.53) $\times 10^6$ /kg,观察疗效和不良反应。结果 ①输注 CAR-T 细胞后 28~42 d,9 例患者均获得 MRD 阴性的完全缓解。②所有患者发生细胞因子释放综合征(CRS),其中 3 级 2 例、2 级 4 例、1 级 3 例;4 例患者出现免疫效应细胞相关的神经毒性(ICANS),2 级 1 例、1 级 3 例;1 例患者发生急性 IV 度移植物抗宿主病(GVHD),上述不良反应经治疗均控制。③4 例患者再次复发,中位复发时间为 CAR-T 细胞治疗后 8.6(4.6~19.3)个月,2 例化疗后病情进展死亡,1 例接受二次移植 14 个月后复发死亡,1 例接受 CD22 CAR-T 细胞治疗后完全缓解,现 6 例患者无病存活,植入分析为完全供者嵌合体,中位无白血病生存(LFS)期 18.1 个月,预期 1 年、2 年 LFS 率分别为 63.5%、50.8%。④中位随访 25.1(6.9~36.7)个月,预期 2 年、2.5 年总生存(OS)率分别为 87.5%、52.5%。结论 供者抗 CD19 CAR-T 细胞治疗 allo-HSCT 后复发的 B-ALL 的缓解率高,不良反应可耐受,半数患者可无病生存 2 年以上,长期疗效有待进一步观察。中国临床试验注册中心:ChiCTR1900025419

【关键词】 嵌合抗原受体; 异基因造血干细胞移植; 急性淋巴细胞白血病; CD19; 复发
基金项目:十三五国家科技重大专项(2017ZX10202102);天津市自然科学基金(18JCZDJC34400)
DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.05.006

Allogeneic donor-derived CD19 CAR-T therapy of relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

Ma Runzhi, He Yi, Yang Donglin, Wei Jialin, Pang Aiming, Jiang Erlie, Wang Jianxiang, Han Mingzhe, Zhang Rongli, Feng Sizhou

State Key Laboratory of Experimental Hematology, National Clinical Research Center for Blood Diseases, Institute of Hematology & Blood Diseases Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China

Corresponding author: Zhang Rongli, Email: zhangrongli@ihcams.ac.cn

【Abstract】 Objective To investigate the long term efficacy and side effects of a donor-derived CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T-cell (HI19 α -4-1BB- ζ CAR-T) therapy in the treatment of patients with relapsed B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). **Methods** A total of 9 subjects with relapsed B-ALL post allo-HSCT received donor-derived CD19 CAR-T therapy from July 2017 to May 2020. All subjects were infused with donor CD3-positive T cells after lymphodepletion chemotherapy, and a median dose of CAR-T cells was 1.79 (range, 0.86-3.53) $\times 10^6$ /kg. **Results** ①All subjects achieved complete remission and MRD-negative at 28-42 d post CAR-T cells infusion. ②Cytokine releasing syndrome (CRS) occurred in all subjects and was grade 3 in 2, grade 2 in 4, grade 1 in 3 cases respectively. Four subjects developed immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS), which was grade 2 in 1, grade 1 in 3. One subject developed

grade IV acute graft-versus-host disease (GVHD), and side effects were all controllable. ③ Four subjects relapsed at a median period of 8.6(4.6–19.3) months, 2 subjects died of disease progression after receiving chemotherapy and another one also died of disease progression 14 months after a second transplant, only 1 subject achieved complete remission after CD22 CAR-T cell therapy. Until last follow-up date, 6 subjects were leukemia-free and achieved complete donor chimerism. The estimated 1-year and 2-year leukemia-free survival (LFS) rate was 63.5% and 50.8%, with a median LFS of 18.1 months. ④ After a median follow-up of 25.1 (range, 6.9–36.7) months, the estimated 2-year and 2.5-year OS rate were 87.5% and 52.5%, respectively. **Conclusion** The donor-derived CD19 CAR-T cell therapy obtain a high remission rate in relapsed B-ALL patients post allo-HSCT with tolerable side effects, half subjects survived more than 2 years without disease recurrence, though long-term efficacy requires further observation. Chinese Clinical Trial Registry: ChiCTR1900025419

【Key words】 CAR-T cell; B cell acute lymphoblastic leukemia; Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; CD19; Relapse

Fund program: National Science and Technology Major Project During the 13th Five-Year Plan Period (2017ZX10202102); National Science Foundation of Tianjin City(18JCZDJC34400)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2021.05.006

20%~40%的急性淋巴细胞白血病(ALL)患者异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)后复发,复发后患者的预后极差,中位总生存(OS)期约为5.5个月^[1]。靶向CD19嵌合抗原受体T细胞(CAR-T细胞)治疗复发难治ALL患者完全缓解率达83%,中位OS期12.9个月^[2],若桥接移植可延长生存获益^[3]。CD19 CAR-T细胞(HI19 α -4-1BB- ζ CART, CNCT19)免疫治疗在难治复发B-ALL患者疗效显著^[4]。然而,CD19 CAR-T细胞治疗allo-HSCT后复发的ALL患者报道不多,如何延长供者CAR-T细胞的体内存留时间、细胞因子释放综合征(CRS)和急性移植物抗宿主病(aGVHD)等并发症的处理,以及如何治疗CAR-T细胞治疗后再复发,仍是目前亟待解决的问题。我们采用新采集供者细胞构建CD19 CAR-T细胞,用于治疗B-ALL患者移植后复发并取得了一定疗效,现报道如下。

病例与方法

1. 病例资料:回顾性分析2017年7月至2020年5月在我院采用供者CD19 CAR-T细胞治疗的allo-HSCT后复发B-ALL患者资料。9例复发患者的白血病细胞流式细胞术(FCM)检测均表达CD19。移植后复发的定义:①血液学复发:外周血中出现幼稚细胞或骨髓幼稚细胞(blast)比例超过5%。②分子生物学复发微小残留病(MRD)阳性:骨髓blasts \leq 5%、幼稚淋巴细胞可被多色FCM检测到(>0.01%)或实时定量PCR(qPCR)检测特异性基因(如BCR-ABL融合基因)阳性。③骨髓外复发(EMR):单部位活检证实独立髓外复发或PET-CT证实的多部位骨髓外复发。所有患者均入

组临床试验XH-CAR-T-003(中国临床试验注册中心:ChiCTR1900025419),且本研究获得中国医学科学院血液病医院伦理委员会批准。

2. allo-HSCT方案:预处理方案:①全身照射(TBI)+环磷酰胺(Cy)+氟达拉滨(Flu)+阿糖胞苷(Ara-C):TBI 3.3 Gy/d, -9~-7 d; Cy 40 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, -6~-5 d; Flu 30 mg \cdot m⁻² \cdot d⁻¹, -4~-2 d; Ara-C 2 g \cdot m⁻² \cdot d⁻¹, -4~-2 d。②白消安(Bu)+Cy+依托泊苷(Vp16): Bu 3.2 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, -9~-7 d; Cy 40 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹, -6~-5 d; Vp16 30 mg/kg, -7 d。本组中8例采用方案①、例8采用方案②。亲缘单倍型移植联合兔抗人胸腺细胞球蛋白(rATG) 2.5 mg \cdot kg⁻¹ \cdot d⁻¹ \times (3~4)d。预处理后回输供者外周血动员的造血干细胞,单个核细胞中位输注量为10.5(7.0~28.5) \times 10⁸/kg, CD34⁺细胞的中位输注量为2.5(1.4~4.4) \times 10⁶/kg。同胞全相合移植采用环孢素A(CsA)+短疗程甲氨蝶呤(MTX)预防移植物抗宿主病(GVHD),亲缘单倍型移植采用霉酚酸酯(MMF)+CsA或他克莫司+短疗程MTX预防GVHD。

3. 供者CAR-T细胞的制备:新采集9例移植后复发患者的供者外周血100~200 ml并立即分离T淋巴细胞,由天津合源生物科技有限公司制备CD19 CAR-T细胞。本研究采用的CAR单链可变区(scFv)来源于HI19 α 。具体为Anti-CD19 scFv与人4-1BB/CD3- ζ 共刺激结构域共同组成CAR片段,构建慢病毒载体(pCDH-HI19 α -4-1BB/CD3 ζ -CAR)、转染供者T细胞并进行体外扩增。制备的供者CD19 CAR-T细胞复检确认无细菌、真菌、支原体、衣原体和内毒素污染后,冻存于-80℃备用。

4. CAR-T 细胞治疗方案:多数患者在 CD19 CAR-T 细胞治疗前接受 FCA 方案 (Flu 30 mg·m⁻²·d⁻¹, -4 ~ -2 d; Cy 300 ~ 350 mg·m⁻²·d⁻¹, -4, -2 d; Ara-C 100 mg·m⁻²·d⁻¹, -4 ~ -1 d) 清淋巴细胞预处理;例8采用FC(Flu 30 mg·m⁻²·d⁻¹, -4 ~ -1 d; Cy 500 mg·m⁻²·d⁻¹, -4 ~ -3 d);例9系肿瘤负荷高的年轻患者,FA 方案(Flu 30 mg·m⁻²·d⁻¹, -4 ~ -2 d; Ara-C 250 mg·m⁻²·d⁻¹, -4 ~ -2 d) 预处理后 2 ~ 3 d 回输供者来源 CAR-T 细胞, Anti-CD19/4-1BB CAR-T 细胞中位数为 1.79 (0.86 ~ 3.73) × 10⁶/kg, 回输后不进行 GVHD 预防, FCM 检测 CAR-T 细胞的扩增和存留。

5. 不良反应和疗效评估:不良反应主要包括 CRS, CRS 分级参照 Lee 等^[5]的分级标准进行评价, 免疫效应细胞相关的神经毒性(ICANS)及其他不良反应参照 NCI-CTCAE v5.0 (<https://ctep.cancer.gov/>) 进行评估, 观察周期为 24 个月。GVHD 分级采用美国西雅图标准, 糖皮质激素作为 GVHD 一线治疗方案。患者回输 CAR-T 细胞后 28 ~ 42 d 进行骨髓检查确定缓解状态, 之后每 1 ~ 3 个月评估: 骨髓细胞形态学、FCM 检测异常免疫表型残留细胞、qPCR 检测融合基因、短串联重复序列多态性 (STR) 检测供者植入状态。完全供者嵌合体定义为 STR 检测供者细胞比例 ≥ 97%。例6因发生 EMR, 回输后每 2 个月接受 PET-CT 评估复发灶变化。疗效评估参考 NCCN 指南, 完全缓解定义为形态学缓解(骨髓 blasts < 5%) 且 MRD 阴性。复发包括血液学复发或 MRD 转阳性。

6. 随访和统计学处理:所有患者在 CAR-T 细胞

回输后开始进行随访, OS 期定义为 CAR-T 细胞输注当日或死亡或随访终点, 无白血病生存 (LFS) 期为治疗后达完全缓解 (CR) 或形态学完全缓解而血细胞计数未完全恢复 (CRi) 至复发、死亡或随访终点, 随访终点为 2020 年 11 月 20 日。采用 Kaplan-Meier 绘制生存曲线, 使用 SPSS 25.0 软件进行统计学描述。

结 果

一、病例资料

本研究共入组 9 例移植后复发的 B-ALL 患者, 其中男 3 例, 女 6 例, 中位年龄 44 (16 ~ 60) 岁, 其中同胞全相合 (MSD) 移植 6 例、亲缘单倍型 (Haplo) 移植 3 例。移植前预后危险度评估高危患者 7 例, 复发情况: 3 例为血液学复发, 5 例患者骨髓 MRD 阳性, 1 例患者骨髓 MRD 阳性伴 EMR。复发后至 CAR-T 细胞治疗的中位时间为 204 (6 ~ 940) d。CAR-T 细胞治疗之前接受化疗 1 例、供者淋巴细胞输注 (DLI) 1 例、DLI 联合化疗 2 例、DLI 联合酪氨酸激酶抑制剂 (TKI) 2 例, DLI 回输供者 CD3⁺ 细胞的中位数为 5.05 (3.77 ~ 7.65) × 10⁷/kg。CAR-T 细胞回输前 6 例患者的骨髓原始细胞比例为 0.01% ~ 5%、3 例达 5% ~ 50%。CD19 CAR 中位转染效率为 49.2% (25.0% ~ 70.6%), 输注供者 CD19 CAR-T 细胞的中位数为 1.79 (0.86 ~ 3.53) × 10⁶/kg。具体资料见表 1 ~ 2。

二、不良反应

所有患者发生 III ~ IV 级血液学不良反应, 8 例发生肝功能异常 (转氨酶升高), 1 例发生肾功能异

表 1 供者 CD19 CAR-T 细胞治疗 9 例移植后复发 B-ALL 患者异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 基线资料

例号	性别	年龄 (岁)	诊断	危险度和遗传学异常	移植供者类型	复发类型/骨髓肿瘤负荷	移植后复发治疗	复发至 CAR-T 间隔 (d)
1	女	22	B-ALL-CR ₂	高危, TEL/AML1	MSD	MRD 阳性/2%	化疗+DLI	204
2	女	44	Ph ⁺ ALL-CR ₁	高危, BCR-ABL	单倍型	MRD 阳性, BCR-ABL P190(+)/0.05%	DLI+伊马替尼	355
3	男	60	Ph ⁺ ALL-CR ₂	高危, BCR-ABL	MSD	血液学复发/67%	DLI+达沙替尼	834
4	男	47	B-ALL-CR ₁	高危	MSD	血液学复发/73%	化疗+DLI	940
5	女	50	B-ALL-CR ₁	高危, IGH 重排, TCR γ 重排	MSD	血液学复发/39.5%	无	29
6	女	46	B-ALL-CR ₁	标危, FLT3/ITD	MSD	MRD 阳性, EMR/0.05%	DLI	227
7	女	26	B-ALL-CR ₁	标危, 无	MSD	血液学复发/26%	化疗	66
8	女	40	B-ALL-CR ₁	高危, DNMT3A, WHSC1, NOTCH1	单倍型	MRD 阳性/0.01%	无	53
9	男	16	B-ALL-CR ₁	高危, 亚二倍体、复杂核型	单倍型	血液学复发/15%	无	6

注: CAR-T 细胞: 嵌合抗原受体 T 细胞; ALL: 急性淋巴细胞白血病; CR₁: 第一次完全缓解; CR₂: 第二次完全缓解; MSD: 同胞相合供者; MRD: 微小残留病, MRD 阳性定义为流式细胞术检测异常白血病细胞 > 0.01% 或 Ph⁺ALL 患者 BCL/ABL 融合基因转阳; EMR: 骨髓外复发, 包括 PET-CT 显示的锁骨上、颈部淋巴结 (SUV_{max} = 6.1), 以及心包 (SUV_{max} = 9.5) 和腹膜 (SUV_{max} = 11.7); DLI: 供者淋巴细胞输注

常(血肌酐升高),4例患者有凝血功能异常,经对症支持治疗均恢复正常。

本研究组9例患者均发生CRS,其中3级2例、2级4例、1级3例,CRS在回输1周内出现,中位持续时间6(3~10)d。所有患者回输CAR-T细胞后出现发热、疲乏,中位持续5(3~10)d。5例患者(例1、3、4、7、8)出现间歇性低血压,3级2例、1级3例,静脉应用去甲肾上腺素和托珠单抗(8 mg/kg)后恢复正常。例8回输后21 d出现迟发型CRS,表现为浆膜腔积液(腹水)、肝功能异常(转氨酶升高、胆红素升高)、凝血功能异常,伴CAR-T细胞比例和血清IL-6、IL-2R上升,予地塞米松、保肝、补充血浆和纤维蛋白原等处理后缓解。例6输注CAR-T细胞后出现严重CRS(3级),+6 d出现呼吸困难、低氧血症、腹痛、低体温伴多浆膜腔积液,血清IL-2R > 7500 U/ml、IL-6 > 1000 ng/L,予托珠单抗单次8 mg/kg

无效,+8 d出现肠梗阻及心包、胸腔积液,予胸腔积液穿刺引流、甲泼尼龙(1.5 mg·kg⁻¹·d⁻¹×3 d)等处理,症状逐渐缓解,+18 d出现神经毒性,应用地塞米松2 d后逆转。

4例患者出现ICANS,1级3例、2级1例,对症支持或应用地塞米松后神经症状缓解。仅例9发生IV度急性GVHD,累及肠道、肝脏和皮肤,给予糖皮质激素并联合环孢素A、巴利昔单抗治疗后好转,其他患者无新发GVHD(表3)。

三、疗效评估和生存情况

所有患者回输CAR-T细胞28~42 d后均达到骨髓MRD阴性和完全供者嵌合,CR率100.0%(9/9),且FCM检测外周血CD19⁺B淋巴细胞维持在极低水平或低于检测阈值。例6 CAR-T治疗前PET-CT显示锁骨上、颈部淋巴结(SUV_{max} = 6.1)、心包(SUV_{max} = 9.5)和腹膜(SUV_{max} = 11.7)均存在

表2 供者CD19 CAR-T细胞治疗9例移植后复发B-ALL患者疗效

例号	CAR-T输注量(×10 ⁶ /kg)	CAR-T治疗前状态	CAR-T治疗前骨髓肿瘤负荷(%)	输注1个月疗效	CAR-T后是否复发	预后		
						LFS时间(月)	OS时间(月)	转归
1	1.80	MRD阳性	2.51	CR,STR 99.32%	是	18.1	25.1	死亡
2	1.30	MRD阳性	0.15	CR,STR 99.45%	否	35.7	36.7	无病生存
3	1.25	血液学复发	17.50	CR,STR 98.77%	否	34.6	35.6	无病生存
4	1.79	MRD阳性	0.07	CR,STR 99.97%	是	7.4	25.6	死亡 ^a
5	2.50	血液学复发	39.50	CR,STR 99.92%	否	28.6	29.1	无病生存
6	3.53	MRD阳性、EMR	0.05	CR,STR 99.35%	是	7.7	14.8	死亡
7	2.46	MRD阳性	0.69	CR,STR 99.94%	否	23.3	24.2	无病生存
8	1.42	MRD阳性	6.24	CR,STR 99.98%	是	3.7	15.7	复发后再缓解 ^b
9 ^c	0.86	血液学复发	15.00	CR,STR 99.80%	否	6.3	6.9	无病生存

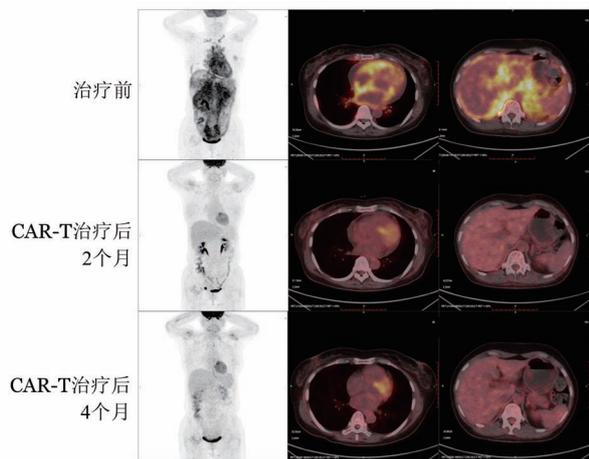
注:CAR-T细胞:嵌合抗原受体T细胞;B-ALL:急性B淋巴细胞白血病;LFS:无白血病生存;OS:总生存;CR:完全缓解;STR:短串联重复序列多态性。^a例4 CAR-T治疗复发后行二次移植14个月后白血病再次复发并进展死亡;^b例8 CD19 CAR-T治疗复发后行CD22 CAR-T细胞治疗后再缓解、无病生存;^c例9回输后6 d发生移植物抗宿主病,累及肠道、肝脏和皮肤

表3 供者CD19 CAR-T细胞治疗9例移植后复发B-ALL患者的不良反应

例号	CRS			GVHD	ICANS	不良反应及分级						
	分级	托珠单抗	持续时间(d)			发热	疲乏	低血压	低氧血症	心功能不全	ALT或AST升高	凝血功能异常 ^c
1	2	是	3	无	1级	3	1	3	0	0	2	0
2	1	否	10	无	无	1	1	0	0	0	1	0
3	2	是	8	无	1级	2	2	3	2	2 ^b	1	3
4	2	是	4	无	无	2	1	1	0	0	1	0
5	1	否	5	无	无	2	1	0	0	0	0	0
6	3	是	7	无	2级	2	2	0	1	3 ^b	1	3
7	2	是	6	无	无	2	1	1	0	0	2	0
8	1	是	5	无	1级	3	1	1	0	0	0	0
9	3 ^a	否	10	无	无	1	2	0	0	0	4	2
9	1	否	7	IV度	无	2	1	0	0	0	4	2

注:CAR-T细胞:嵌合抗原受体T细胞;B-ALL:急性B淋巴细胞白血病;CRS:细胞因子释放综合征;GVHD:移植物抗宿主病;ICANS:免疫效应细胞相关神经毒性;ALT:谷丙转氨酶;AST:谷草转氨酶。^a例8于CAR-T细胞输注后3 d、21 d发生2次CRS过程;^b例3、例6心功能不全以心包积液为主要表现;^c凝血功能异常包括活化的部分凝血酶原时间(APTT)延长、凝血酶时间(TT)延长和纤维蛋白原降低

EMR灶, CAR-T治疗后2个月 PET-CT显示EMR灶基本消失(图1)。



CAR-T细胞: 嵌合抗原受体T细胞

图1 PET-CT示患者(例6)CD19 CAR-T细胞治疗后骨髓外复发灶缓解

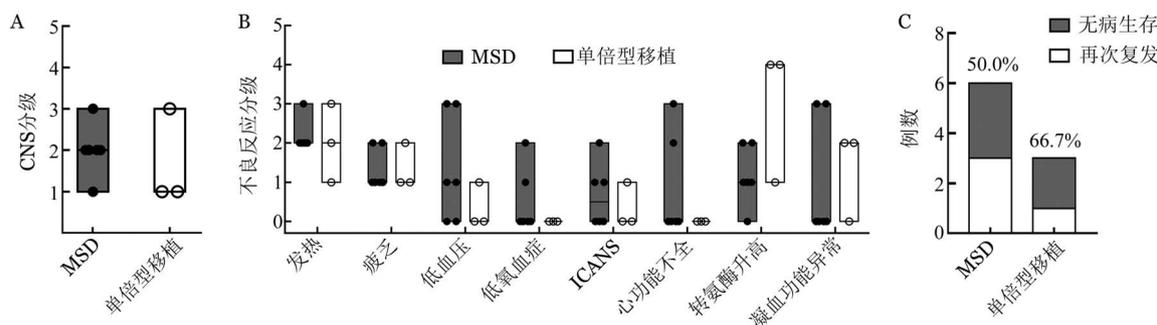
中位随访25.1(6.9~36.7)个月, 4例患者(例1、4、6、8)分别在CAR-T细胞输注后19.3、8.4、8.8和4.6个月出现再次复发且为CD19阴性, 中位复发时间8.6个月。再次复发后, 2例患者(例1、6)接受化

疗后白血病进展死亡, 例4化疗后再次CR行亲缘单倍型移植, 二次移植后14个月后白血病进展死亡, 仅例8接受CD22 CAR-T细胞治疗后无病生存。随访结束时9例患者中6例患者无病生存, 植入分析均是完全供者嵌合体。中位无白血病生存(LFS)期18.1(3.7~35.7)个月, 预期1年、2年LFS率分别为63.5%、50.8%。除例9随访不足12个月, 其他8例B-ALL移植后复发患者CAR-T治疗后1年OS率100.0%, 4例患者无病生存2年以上, 其中2例LFS期超过35个月, 预期CAR-T细胞治疗后2年OS率为87.5%、2.5年OS率为52.5%。

6例移植后复发患者接受MSD来源CAR-T, 治疗后中位OS、LFS时间分别为25.4、20.7个月, 3例再次复发; 3例采用Haplo来源CAR-T治疗的患者中, 例2、例9无病生存35.7月、6.3月, 1例(例7)再次复发(图2)。

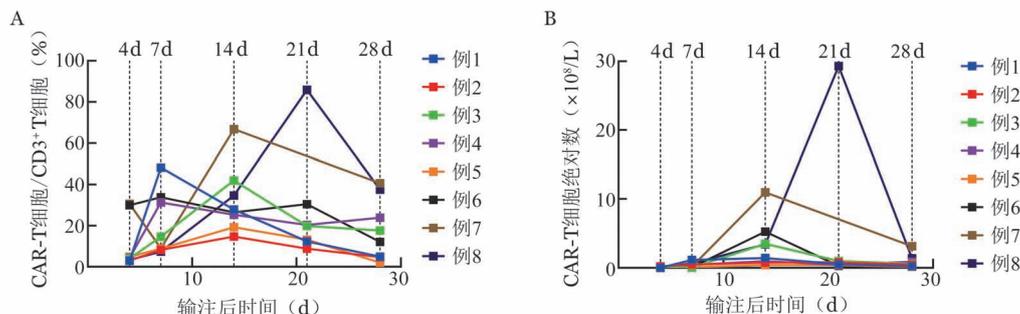
四、供者CD19 CAR-T体内扩增和存留时相

CAR-T细胞回输后患者外周血CAR-T细胞占CD3⁺T细胞的比例(CAR-T/CD3⁺T%)于回输后7~21 d达到峰值, CAR-T细胞数目达峰的中位时间为14 d。所有患者外周血CAR-T/CD3⁺T%峰值的中位数为42%(14.7%~85.9%)(图3)。



CAR-T细胞: 嵌合抗原受体T细胞; B-ALL: 急性B淋巴细胞白血病; CRS: 细胞因子释放综合征; ICANS: 免疫效应细胞相关的神经毒性; MSD: 同胞全相合移植

图2 不同供者来源CAR-T细胞治疗B-ALL移植后复发患者的不良反应(A、B)和疗效(C)



CAR-T细胞: 嵌合抗原受体T细胞

图3 供者CD19 CAR-T细胞体内扩增和存留时相

讨 论

由于目前治疗手段有限、缓解率不高,成人 ALL 患者接受 allo-HSCT 后复发的治疗仍是难题。复发患者可接受化疗、DLI 或者二次移植。DLI 可增强移植物抗白血病(GVL)效应,DLI 治疗复发 ALL 患者的中位 OS 期仅为 9.8 个月^[1],且易诱发 GVHD 等并发症^[6]。二次移植后的患者 1 年和 3 年 OS 率仅有 23%、11%^[7]。

CAR-T 细胞靶向特异性抗原杀灭体内肿瘤细胞,作为新型免疫疗法在复发难治性 B-ALL 取得了较其他方案更高的缓解率^[2,8-9],供者 CAR-T 细胞则具有识别特异性抗原及同种异体抗原双重信号的优势。Kochenderfer 等^[10]首次报道 CAR-T 细胞用于治疗 allo-HSCT 后复发,后 Chen 等^[11-12]、Brudno 等^[13]的研究也均显示 CD19 CAR-T 细胞对移植后复发 ALL 患者缓解率高、aGVHD 发生率低。Chen 等^[12]的研究显示,85.7% (30/35) 移植后复发 ALL 患者接受 CD19 CAR-T 细胞输注后获得 CR,随访 18 个月的无复发生存(RFS)率、OS 率分别为 18.3%、30%。近期多个研究报道 CD19 CAR-T 治疗 B-ALL 移植后复发的缓解率(70~90%)明显高于传统治疗^[12,14-16]。本研究 CAR-T 细胞治疗 28~42 d 后评估,全部 9 例患者均达到骨髓 MRD 阴性的完全缓解和完全供者嵌合,例 6 的 EMR 也得到控制,中位随访 25.1 个月,6 例患者获得无病生存,2 例患者 LFS 期超过 30 个月,疗效与文献报道近似。

自体 CAR-T 细胞治疗难治复发 B-ALL,若肿瘤细胞负荷低^[2]、输注细胞剂量较高^[8]或清淋巴细胞预处理强度较高^[17],缓解率较高,且自体 CAR-T 细胞输注前骨髓 Blasts < 5% 且无 EMR 患者的 OS 期更长^[2]。采用供者 CD19 CAR-T 治疗移植复发患者,目前未观察到肿瘤负荷、CAR-T 输注量显著影响 CR 率^[12,14],虽然 Chen 等^[12]发现治疗前骨髓 blasts ≤ 10% 的患者复发率较低(25%对 78.6%, $P = 0.006$),但总体上再次复发率仍然较高,许多研究者报道随访 1 年复发率为 40%~60%^[12,14-16]。本研究中均采用新采集供者细胞制备 CAR-T 细胞,且 CD19 CAR 均以 4-1BB 为共刺激信号,CR 率达 100.0%,有 4 例患者复发,中位复发时间为 8.8 个月,CAR-T 治疗前复发状态均为骨髓 MRD 阳性,其中 1 例伴 EMR(例 6),虽 CAR-T 细胞治疗后数月内影像学检查无明显的髓外病情进展,但出现骨髓复发。因此,我们推测伴 EMR 是 CAR-T 细胞治疗后

再复发的危险因素,但仅为个案现象,仍需要在更大样本研究中证实。

CAR-T 细胞治疗后的长期疗效受限于再次复发,本研究中 4 例复发患者均是 CD19 阴性复发,且未采取抗 GVHD 预防,可能原因是 CAR-T 细胞在体内的存留时间短、CAR-T 细胞耗竭继发肿瘤免疫逃逸。3 例患者在化疗或二次移植后白血病进展。例 4 在 CAR-T 细胞治疗前经化疗联合 DLI,疗效不理想,CAR-T 后再次复发我们采用化疗诱导缓解后行二次移植,移植后缓解状态持续 14 个月,由于白血病恶性程度高,最终进展死亡。仅例 8 行 CD22 CAR-T 细胞治疗后无病生存,CD22 CAR-T 可能是患者 CD19 CAR-T 细胞治疗再次复发后获得缓解的手段。为减少 CAR-T 后复发,可考虑联合细胞程序性死亡因子 PD-1 抑制剂^[18]或 DLI 维持治疗^[19],也有学者尝试应用 CD22-CD19 双靶点 CAR-T 细胞等方法^[20-22]。

CAR-T 回输后患者的不良反应表现为轻到中度的 CRS 和(或)神经症状。例 6 不良反应较严重,出现 3 级 CRS 及多浆膜腔积液,可能是因其存在多发 EMR 灶而肿瘤负荷较高。严重 CRS 发生率低可能原因是 60% 患者 CAR-T 输注前肿瘤负荷均 < 5%。另有 1 例患者(例 9)出现 aGVHD。由于 CAR-T 免疫治疗细胞输注量低,aGVHD 发生率低于 DLI^[23],但 GVHD 的发生也可能与治疗前肿瘤负荷较高相关,Liu 等^[15]采用人源化 CD19 CAR-T 细胞治疗 15 例移植后复发患者,骨髓原始细胞中位数 43.73%,10 例患者发生 aGVHD(I~II 度 6 例、III~IV 度 4 例)。本组患者 CAR-T 细胞回输量 $(0.86 \sim 3.53) \times 10^6/\text{kg}$,且多数为 MSD 移植,单倍型移植患者仅 3 例,因此 aGVHD 发生率较低。

本研究尚存在一定局限性。其一,病例数少,且患者治疗前缓解深度不同;第二,移植方式不同,MSD 移植比例为 66.7%;第三,未通过脑脊液相关指标变化进一步了解发生 CRIS 患者的情况。

本研究显示,供者 CD19 CAR-T 细胞治疗是 B-ALL 患者接受 allo-HSCT 后复发的可选治疗手段,疗效和安全性得到初步肯定,但对伴 EMR 患者疗效不佳、再复发风险高,由于样本量少,研究结果仍需大样本临床试验进一步验证。

参 考 文 献

- [1] Spyridonidis A, Labopin M, Schmid C, et al. Outcomes and prognostic factors of adults with acute lymphoblastic leukemia

- who relapse after allogeneic hematopoietic cell transplantation. An analysis on behalf of the Acute Leukemia Working Party of EBMT [J]. *Leukemia*, 2012, 26(6):1211-1217. DOI: 10.1038/leu.2011.351.
- [2] Park JH, Rivière 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.
- [3] 闫梦, 吴艳珺, 陈峰, 等. CAR-T细胞桥接转基因造血干细胞移植治疗复发/难治急性B淋巴细胞白血病的临床分析[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(9):710-715. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.09.002.
- [4] Gu R, Liu F, Zou D, et al. Efficacy and safety of CD19 CAR T constructed with a new anti-CD19 chimeric antigen receptor in relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1):122. DOI: 10.1186/s13045-020-00953-8.
- [5] 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.
- [6] Roddie C, Peggs KS. Donor lymphocyte infusion following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2011, 11(4):473-487. DOI: 10.1517/14712598.2011.554811.
- [7] Poon LM, Bassett R Jr, Rondon G, et al. Outcomes of second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia [J]. *Bone Marrow Transplant*, 2013, 48(5):666-670. DOI: 10.1038/bmt.2012.195.
- [8] Pan J, Yang JF, Deng BP, et al. High efficacy and safety of low-dose CD19-directed CAR-T cell therapy in 51 refractory or relapsed B acute lymphoblastic leukemia patients [J]. *Leukemia*, 2017, 31(12):2587-2593. DOI: 10.1038/leu.2017.145.
- [9] 何彩霞, 薛磊, 强萍, 等. CD19 CAR-T细胞治疗复发难治Ph+急性B淋巴细胞白血病14例疗效及安全性[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(6):490-494. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.06.010.
- [10] Kochenderfer JN, Dudley ME, Carpenter RO, et al. Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Blood*, 2013, 122(25):4129-4139. DOI: 10.1182/blood-2013-08-519413.
- [11] Chen Y, Cheng Y, Suo P, et al. Donor-derived CD19-targeted T cell infusion induces minimal residual disease-negative remission in relapsed B-cell acute lymphoblastic leukaemia with no response to donor lymphocyte infusions after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Br J Haematol*, 2017, 179(4):598-605. DOI: 10.1111/bjh.14923.
- [12] Chen YH, Zhang X, Cheng YF, et al. Long-term follow-up of CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Cytotherapy*, 2020, 22(12):755-761. DOI: 10.1016/j.jcyt.2020.08.002.
- [13] Brudno JN, Somerville RP, Shi V, et al. Allogeneic T Cells That Express an Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor Induce Remissions of B-Cell Malignancies That Progress After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation Without Causing Graft-Versus-Host Disease [J]. *J Clin Oncol*, 2016, 34(10):1112-1121. DOI: 10.1200/JCO.2015.64.5929.
- [14] Zhang C, Wang XQ, Zhang RL, et al. Donor-derived CD19 CAR-T cell therapy of relapse of CD19-positive B-ALL post allotransplant [J]. *Leukemia*, 2020. DOI: 10.1038/s41375-020-01056-6.
- [15] Liu P, Liu M, Lyu C, et al. Acute Graft-Versus-Host Disease After Humanized Anti-CD19-CAR T Therapy in Relapsed B-ALL Patients After Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplant [J]. *Front Oncol*, 2020, 10:573822. DOI: 10.3389/fonc.2020.573822.
- [16] Hua J, Zhang J, Wu X, et al. Allogeneic Donor-Derived Anti-CD19 CAR T Cell Is a Promising Therapy for Relapsed/Refractory B-ALL After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation [J]. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*, 2020, 20(9):610-616. DOI: 10.1016/j.clml.2020.04.007.
- [17] Curran KJ, Margossian SP, Kernan NA, et al. Toxicity and response after CD19-specific CAR T-cell therapy in pediatric/young adult relapsed/refractory B-ALL [J]. *Blood*, 2019, 134(26):2361-2368. DOI: 10.1182/blood.2019001641.
- [18] Zolov SN, Rietberg SP, Bonifant CL. Programmed cell death protein 1 activation preferentially inhibits CD28-CAR-T cells [J]. *Cytotherapy*, 2018, 20(10):1259-1266. DOI: 10.1016/j.jcyt.2018.07.005.
- [19] 蒋怡丽, 李青, 蒲业迪, 等. 造血干细胞移植后复发急性B淋巴细胞白血病CD19 CAR-T细胞治疗后的维持治疗[J]. *中华血液学杂志*, 2020, 41(6):495-501. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2020.06.011.
- [20] Liu B, Song Y, Liu D. Clinical trials of CAR-T cells in China [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):166. DOI: 10.1186/s13045-017-0535-7.
- [21] Zhao J, Song Y, Liu D. Clinical trials of dual-target CAR T cells, donor-derived CAR T cells, and universal CAR T cells for acute lymphoid leukemia [J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):17. DOI: 10.1186/s13045-019-0705-x.
- [22] 高丽丽, 黄亮, 王娜, 等. 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[J]. *中华血液学杂志*, 2019, 40(9):780-782. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2019.09.016.
- [23] Liu J, Zhong JF, Zhang X, et al. Allogeneic CD19-CAR-T cell infusion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in B cell malignancies [J]. *J Hematol Oncol*, 2017, 10(1):35. DOI: 10.1186/s13045-017-0405-3.

(收稿日期:2020-12-24)

(本文编辑:刘爽)