DOI:10.16016/j.2097-0927.202310049

达沙替尼对靶向 CD123 的 CAR-T 治疗 AML 及不良反应的控制作用 1 例报告及文献复习

李春敏[1,2],李 玉[1],袁忠涛[1],刘 林[1],罗 乐[1],李小平[1],王三斌[1],黎诗琦[1] 650100 昆明,中国人民解放军联勤保障部队第九二〇医院血液科[1];650500 昆明,昆明医科大学研究生院[2]

[摘要] **目的** 初步探索靶向 CD123 的嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cells,CAR-T)治疗复发急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)的效果及达沙替尼对靶向 CD123 的 CAR-T 治疗 AML 引起的不良反应的效果。**方法** 收集第九二〇医院血液科 2019 年 9 月收治的 1 例复发 AML 患者资料,患者既往多线化疗后复发,入组接受靶向 CD123 的 CAR-T 治疗。观察患者治疗后的血象变化,出现粒细胞缺乏时使用达沙替尼(40 mg 口服,每 8 小时 1 次),粒细胞缺乏缓解即停用达沙替尼。观察患者治疗期间血象变化、CAR-T 扩增及疾病控制情况。随访时间超过 1 年。**结果** 患者骨髓流式检测微小残留病在 CAR-T 回输第 30 天转阴,输注 CAR-T 细胞后患者无病生存 1 年。患者回输靶向 CD123 CAR-T 细胞后观察到 CAR-T 细胞显著扩增的同时出现粒细胞缺乏及细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome,CRS),在使用达沙替尼后 CAR-T 细胞扩增受抑制并伴随血象恢复,CRS 症状缓解,停止使用达沙替尼后 CAR-T 细胞再次扩增且血象再次下降。**结论** 靶向 CD123 的 CAR-T 细胞对复发 AML 有一定疗效,初步显示达沙替尼对 CAR-T 细胞的扩增和功能具有关闭作用,并可缓解靶向 CD123 的 CAR-T 治疗引起的骨髓抑制,避免严重 CRS 发生。

[关键词] 嵌合抗原受体 T 细胞;急性髓系白血病;CD123 抗原;达沙替尼;细胞因子释放综合征
[中图法分类号] R730.53; R733.7; R979.12 [文献标志码] A

Control effect of Dasatinib on the treatment of acute myeloid leukemia and adverse events of CD123 targeting CAR-T: a case report and literature review

LI Chunmin[1,2], LI Yu[1], YUAN Zhongtao[1], LIU Lin[1], LUO Le[1], LI Xiaoping[1], WANG Sanbin[1], LI Shiqi[1]
[1]Department of Hematology, No. 920 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force, Kunming, Yunnan Province, 650100; [2]Graduate School of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan Province, 650500, China

[**Abstract**] **Objective** To preliminarily explore the efficacy of chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) targeting CD123 in the treatment of acute myeloid leukemia (AML) and the role of dasatinib in the treatment of CD123 targeting CAR-T induced side effects. **Methods** Clinical data of 1 patient with relapsed AML admitted to No. 920 Hospital of PLA Joint Logistic Support Force in September, 2019 were collected. The patient relapsed after previous multi-line chemotherapy and was treated with CD123 targeting CAR-T therapy. The routine blood changes of the patient after treatment were observed. Dasatinib was used when agranulocytosis occurred, 40 mg orally 3 times per day, and was stopped when agranulocytosis was relieved. Changes in blood cells, CAR-T amplification, and disease control were observed. The patient was followed up for over 1 year. **Results** Flow cytometry for bone marrow showed that minimal residual disease negative result was observed in 30 d after infusion. The patient remained disease-free for over 1 year. After CD123

[基金项目] 云南省重大科技专项-生物医药专项(202102AA100011)
[通信作者] 黎诗琦,E-mail:Lystch@outlook.com

2097-0927/Copyright © 2024, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

CAR-T cells infusion, significant expansion of CAR-T cells was observed, accompanied by granulocyte deficiency and cytokine release syndrome (CRS). After using dasatinib, inhibition of CAR-T cell expansion was observed, accompanied by blood cell recovery, and CRS symptoms were alleviated. After stop of dasatinib, CAR-T cells expanded again and blood cells decreased again. **Conclusion** CAR-T cells targeting CD123 have certain efficacy in the treatment for relapsed AML. Dashatinib has a blocking effect on the amplification and function of CAR-T, which can alleviate bone marrow suppression caused by CD123 targeting CAR-T and avoid severe CRS.

[**Key words**] chimeric antigen receptor T cells; acute myeloid leukemia; CD123 antigen; dashatinib; cytokine release syndrome

Supported by the Major Science and Technology Project of Yunnan Province-Biomedicine Project (202102AA100011). Corresponding author: LI Shiqi, E-mail: Lystch@outlook.com

嵌合抗原受体T细胞疗法(chimeric antigen receptor T cells,CAR-T)在B细胞白血病及浆细胞恶性肿瘤治疗上取得了显著进展,但对于急性髓系白血病(acute myeloid leukemia,AML)的治疗仍存在许多挑战。CD123是常用的AML靶点之一[1-2],但因为CD123也在部分造血前体细胞及血管内皮细胞上表达,靶向CD123的CAR-T细胞有一定的脱靶风险,治疗后会引起骨髓抑制、血管内皮损伤等风险,而CAR-T治疗后最常见的毒性反应——细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome,CRS)也需要及时干预和控制,如何缓解脱靶效应和CRS,并同时获得满意的治疗效果,是一个值得探索的重要问题。本研究报告1例复发AML患者接受靶向CD123的CAR-T治疗后,通过间断使用达沙替尼缓解骨髓抑制、内皮损伤及CRS反应,并进行相关文献复习。

1 资料与方法

1.1 一般资料

患者,56岁,女性,2015年11月在第九二〇医院确诊为急性髓系白血病M5(复杂染色体核型,高危组),初始予HIA方案(高三尖杉酯碱、去甲氧柔红霉素、阿糖胞苷)诱导缓解失败,后予以FLAG方案(氟达拉滨、阿糖胞苷、G-CSF)诱导缓解仍然失败。予CAG方案(阿糖胞苷、阿克拉霉素、G-CSF)治疗后患者获得部分缓解(partial remission,PR),随后接受DA方案(地西他宾、阿糖胞苷)治疗后获得完全缓解(complete remission,CR)。获得CR后患者因不具备造血干细胞移植条件,接受巩固化疗后保持门诊随访。2018年6月患者骨髓穿刺提示疾病复发,接受DHCAG方案(地西他滨、高三尖杉酯碱、阿糖胞苷、阿克拉霉素、G-CSF)挽救化疗后出院。2019年9月患者再次入院,骨髓流式细胞学检测结果显示98.84%白血病残留细胞表达CD123,征询患者意见并签署知情同意书后入组靶向CD123的CAR-T临床研究,采集外周血单个核细胞制备自体CAR-T细胞。本研究经第九二〇医院伦理委员会审批通过[伦审2019-103(科)-02],并在国际注册平台:https://clinicaltrials.gov/进行临床试验注册(国际注册号:NCT04265963)。

1.2 治疗经过

CAR-T细胞制备完成后,2019年10月22日患者接受FC方案预处理,具体用药:氟达拉滨:30 mg/m^2×3 d,环磷酰胺:300 mg/m^2×3 d。预处理结束后患者无特殊不适,2 d后输注靶向CD123 CAR-T细胞液,输注量2×10^6/kg。输注过程顺利,无不适症状。细胞回输后每日监测患者生命体征包括体温、血压、呼吸、脉搏、指脉氧,定期复查血常规、凝血常规、血生化,检测患者外周血细胞因子及CAR-T细胞拷贝数,择期复查骨髓形态学及骨髓流式细胞学情况。

1.3 随访及疗效评估

患者治疗结束出院后通过门诊方式进行随访,建议患者分别在CAR-T细胞输注后第1、3、6、12个月门诊随访,完成血常规、肝功能、肾功能评估,骨髓穿刺评估骨髓形态学及骨髓流式细胞学情况。疗效评估参照国内诊疗指南中的专家共识[3],CAR-T细胞治疗副反应CRS参照LEE等[4]修改的分级标准进行分级。

2 结果

2.1 骨髓抑制

患者在CAR-T细胞回输后即出现血象下降。检测患者外周血CAR-T细胞拷贝数显示,患者体内的CAR-T细胞在回输后第14天出现明显扩增,并伴有粒细胞缺乏以及血红蛋白和血小板的迅速下降,提示CAR-T细胞开始起效。为避免骨髓抑制加重,在回输后第14天开始给予患者达沙替尼40 mg口服,1次/8 h,患者外周血CAR-T拷贝数在使用达沙替尼4 d后开始下降,而患者的粒细胞逐渐恢复并同时出现血小

板及血红蛋白的提升。达沙替尼用药 8 d 后,患者外周血 CAR-T 细胞拷贝数降至较低水平且血象恢复可,停用达沙替尼,患者再次出现粒细胞缺乏并伴血小板及血红蛋白下降,而 CAR-T 细胞也再次出现体内扩增,停用达沙替尼 4 d 后再次给予患者达沙替尼口服,观察到粒细胞、血红蛋白及血小板的恢复,但峰值小于上一个恢复的高峰(图 1A、B)。患者粒细胞缺乏期间积极予以重组人集落细胞刺激因子(G-CSF)皮下注射促进造血,同时预防感染治疗。

2.2 细胞因子释放综合征(CRS)

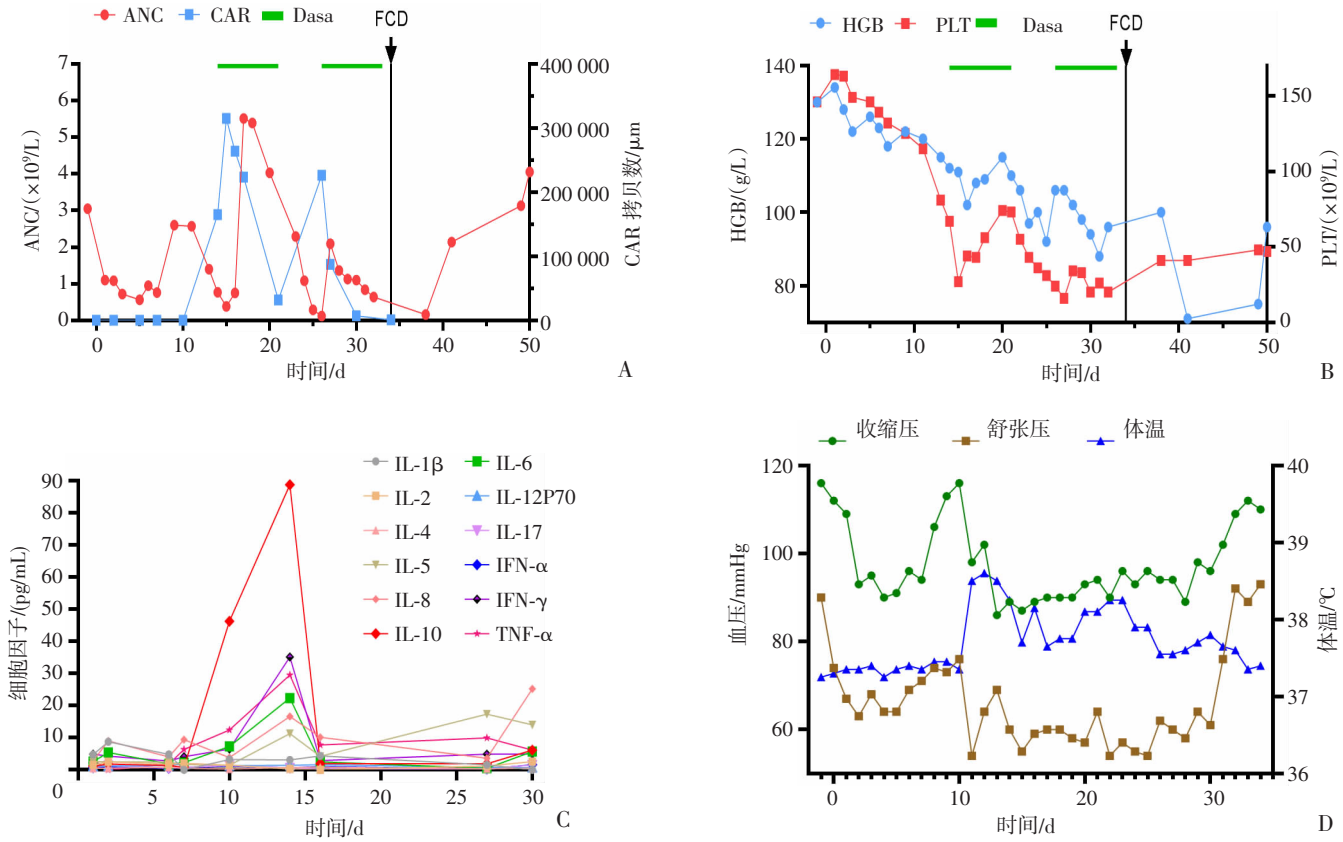
CAR-T 细胞回输后第 11 天,患者开始出现低热,体温 37.7 ℃,回输后第 13 天,患者出现高热,热峰 39.3 ℃,伴随低血压,患者血清中细胞因子水平在第 10 天后开始上升,主要是 IL-10、IL-6、IFN-γ、TNF-α(图 1C),与患者体内 CAR-T 细胞水平升高相一致,评估患者 CRS 为 2 级。患者外周血 12 项细胞因子第 14 天达高峰,使用达沙替尼后细胞因子水平迅速下降,同时观察到患者体温逐渐降至正常范围,血压逐渐升高,考虑 CRS 症状较前好转,但停用达沙替尼后患者体温再次升高,予以第二疗程达沙替尼口服治疗,患者体温再次波动于正常范围,血压维持在正常范围,评估达沙替尼治疗 CRS 有效(图 1D)。

2.3 微血管损伤

回输 CAR-T 细胞后对患者生命体征进行监测,患者回输细胞后第 1 天即开始出现低血压,伴有轻度的浮肿,考虑内皮细胞因表达 CD123 而被 CAR-T 损伤,导致血管通透性增加。予以补液等对症处理维持收缩压>90 mmHg,维持舒张压>60 mmHg,使用达沙替尼后,第 16 天可观察到患者血压逐步回升(图 1D)。

2.4 疗效评估及预后

CAR-T 回输第 30 天骨髓形态学报告 CR,流式显示骨髓微小残留病(minimal residual disease, MRD)转阴,完成疗效评估后于 CAR-T 回输第 34 天给予患者 FCD 方案(氟达拉滨 30 mg/m^2,环磷酰胺 300 mg/m^2,地塞米松 40 mg)清除 CAR-T 细胞,患者血象逐渐恢复后正常出院。随后患者持续保持门诊随访,随访间隔 3~6 个月,期间未再接受其他治疗,随访过程中骨髓形态学维持 CR。2020 年 12 月 17 日,即患者接受 CAR-T 治疗 1 年 2 个月后,骨髓形态学报 AML 复发,但患者拒绝接受骨髓流式细胞学检查并放弃进一步治疗。



A:达沙替尼治疗后患者外周血 CAR-T 细胞拷贝数及中性粒细胞绝对值(ANC)变化;B:CAR-T 细胞回输后患者血红蛋白(HGB)及血小板(PLT)变化;C:CAR-T 细胞回输后患者外周血细胞因子变化;D:CAR-T 细胞回输后患者血压及体温波动情况

图 1 患者治疗过程监测

3 讨论

AML是成人中最常见的急性白血病,复发/难治的患者治疗选择有限,长期预后不好。AML患者首次复发后的5年总生存率仅为7%~12%,预后极差。异基因造血干细胞移植为高危及复发/难治性AML患者提供了治愈机会,但因为移植并发症、脏器功能、年龄、缺乏供者等多种因素导致很多患者无法进行移植,此外,移植前的未缓解状态及移植后的并发症也使很多移植患者无法获得满意效果[5]。因此,对复发/难治性AML患者迫切需要探索新疗法。CAR-T疗法在治疗血液恶性肿瘤方面取得了显著成就,但由于缺乏靶向髓系白血病细胞的特定抗原、CAR-T细胞对正常造血干细胞杀伤而造成骨髓衰竭等问题使CAR-T治疗AML面临重大挑战。

AML可靶向的抗原相对较少,多项临床前研究表明靶向CD123的CAR-T细胞能够有效发挥抗白血病效应。CD123是白介素3受体的α链(IL-3Rα),75%~89%的AML患者原始细胞及白血病干细胞(leukemia stem cell,LSC)上过表达CD123,故CD123被认为是治疗AML的潜在靶点[1-2]。但由于CD123也表达于正常造血干细胞,以及其他正常白细胞包括中性粒细胞、单核细胞、嗜碱性粒细胞和巨核细胞,靶向CD123 CAR-T细胞杀伤白血病细胞的同时也会杀伤部分造血干细胞以及正常的中性粒细胞和单核细胞等,因此治疗会带来比较大的骨髓抑制风险,本例患者在治疗后即出现了骨髓抑制。

CD123除了在血细胞表达外,在血管内皮细胞上也有表达,而内皮细胞损伤在毛细血管渗漏综合征(capillary leakage syndrome,CLS)的发生发展中起重要作用[6-7],CLS的一般临床表现包括血压降低。本例患者在输注CAR-T细胞后出现了持续的低血压,虽然CRS也会导致低血压,但本例的低血压症状在CRS出现前即发生,考虑是靶向CD123 CAR-T对内皮细胞的损伤引起的低血压,使用达沙替尼后CAR-T细胞扩增被抑制,患者低血压症状改善。

除骨髓抑制及血管内皮损伤等靶向CD123靶点带来的特殊不良反应以外,CAR-T治疗后最常见的不良反应是CRS,常见症状包括发热、低血压、低血氧,少数患者甚至出现多器官功能障碍、死亡[8]。目前对于CRS的临床治疗策略主要是使用IL-6受体拮抗剂托珠单抗以及类固醇类,还包括改变CAR构建设计等[9],也有研究探究基于小分子的CAR-T细胞安全开关,目前正在研究叶酸、来那度胺、雷帕霉素和达沙替尼等小分子,以设计出安全开关[10]。本例显示达沙替尼对于CRS也有较好的治疗效果。

达沙替尼是一种酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor,TKI),在治疗慢性髓系白血病(CML)和费城染色体阳性急性淋巴细胞白血病(ALL)普遍使用,而MESTERMANN等[11]的研究发现,达沙替尼可以通过抑制淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶(LCK)来抑制T细胞活化,从而阻断CAR信号通路,导致CAR-T细胞功能的阻断,但不会影响CAR-T细胞的存活,这种CAR-T细胞的功能性"静息",可以暂停CAR-T细胞的细胞毒作用以及细胞因子的产生和细胞增殖[12-13]。重要的是达沙替尼与LCK之间的相互作用是可逆的,当去除达沙替尼后CAR-T细胞可迅速恢复功能,即使接受达沙替尼治疗长达7 d,在停药后CAR-T细胞仍然能快速恢复活性,可以认为达沙替尼形成一个药物控制"开关",通过使用或暂停达沙替尼来"打开"或"关闭"CAR-T细胞扩增及功能[14-15]。这种作用相较于激素类药物及化疗类药物通过永久性清除CAR-T细胞来控制不良反应,具有明显的优势。

本病例的具体临床实践验证了达沙替尼对CAR-T的可逆性抑制作用,患者使用达沙替尼后观察到CAR-T细胞的功能和扩增都被抑制,而骨髓抑制、血管内皮损伤以及CRS症状也在使用达沙替尼期间改善,停用达沙替尼后CAR-T细胞再次扩增,CRS症状加重,血象也再次下降,显示达沙替尼暂时关闭了CAR-T细胞的功能及活性。目前国内外针对达沙替尼治疗CAR-T后CRS等不良反应的临床研究较少,仅BAUR等[16]报道1例复发弥漫大B淋巴瘤患者在输注CD19 CAR-T后出现3级CRS及神经毒性(immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome,ICANS),使用类固醇激素及托珠单抗后患者症状无明显改善,而使用达沙替尼后患者CRS及ICANS症状被有效控制,并且在治疗后2年多维持缓解状态。本例患者使用达沙替尼后骨髓抑制及CRS症状均有所改善,但本例患者在CRS治疗上并未使用托珠单抗及类固醇类激素,提示达沙替尼单药在治疗靶向CD123的CAR-T所导致的CRS及脱靶效应上的可能性。

本例患者在CAR-T治疗1个月后骨髓MRD检测转为阴性,门诊随访患者无病生存1年余,显示达沙替尼的处理并未影响CAR-T的疗效。本例展示了靶向CD123的CAR-T治疗AML中的特殊临床表现,初步显示达沙替尼控制CAR-T治疗后不良反应的可行性,但仍然需要更多临床研究进行验证。

参考文献:

[1] TESTA U, PELOSI E, CASTELLI G. CD123 as a therapeutic

target in the treatment of hematological malignancies[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(9): 1358. DOI: 10.3390/cancers11091358.

[2] MARDIROS A, FORMAN S J, BUDDE L E. T cells expressing CD123 chimeric antigen receptors for treatment of acute myeloid leukemia[J]. Curr Opin Hematol, 2015, 22(6): 484-488. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000190.

[3] 中华医学会血液学分会白血病淋巴瘤学组. 成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2023年版)[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(9): 705-712. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.09.001.
Leukemia and Lymphoma Group of Chinese Society of Hematology of Chinese Medical Association. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of adult acute myeloid leukemia (not APL)(2023)[J]. Chin J Hematol, 2023, 44(9): 705-712. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.09.001.

[4] LEE D W, GARDNER R, PORTER D L, *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.

[5] STUBBINS R J, FRANCIS A, KUCHENBAUER F, *et al*. Management of acute myeloid leukemia: a review for general practitioners in oncology[J]. Curr Oncol, 2022, 29(9): 6245-6259. DOI: 10.3390/curroncol29090491.

[6] SUN Y, WANG S Y, ZHAO L, *et al*. IFN-γ and TNF-α aggravate endothelial damage caused by CD123-targeted CAR T cell[J]. OncoTargets Ther, 2019, 12: 4907-4925. DOI: 10.2147/OTT.S205678.

[7] ZARYCHTA J, KOWALCZYK A, KRAWCZYK M, *et al*. CAR-T cells immunotherapies for the treatment of acute myeloid leukemia-recent advances[J]. Cancers (Basel), 2023, 15(11): 2944. DOI: 10.3390/cancers15112944.

[8] BRUDNO J N, KOCHENDERFER J N. 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.

[9] WU B X, SONG N J, RIESENBERG B P, *et al*. Development of molecular and pharmacological switches for chimeric antigen receptor T cells[J]. Exp Hematol Oncol, 2019, 8: 27. DOI: 10.1186/s40164-019-0151-z.

[10] ZHENG Y J, NANDAKUMAR K S, CHENG K. Optimization of CAR-T cell-based therapies using small-molecule-based safety switches[J]. J Med Chem, 2021, 64(14): 9577-9591. DOI: 10.1021/acs.jmedchem.0c02054.

[11] MESTERMANN K, GIAVRIDIS T, WEBER J, *et al*. The tyrosine kinase inhibitor dasatinib acts as a pharmacologic on/off switch for CAR T cells[J]. Sci Transl Med, 2019, 11(499): eaau5907. DOI: 10.1126/scitranslmed.aau5907.

[12] LECLERCQ G, HAEGEL H, SCHNEIDER A, *et al*. Src/lck inhibitor dasatinib reversibly switches off cytokine release and T cell cytotoxicity following stimulation with T cell bispecific antibodies[J]. J Immunother Cancer, 2021, 9(7): e002582. DOI: 10.1136/jitc-2021-002582.

[13] CAR T cells: hitting the pause button[J]. Cancer Discov, 2019, 9(9): 1149-1150. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-NB2019-086.

[14] WEBER E W, LYNN R C, SOTILLO E, *et al*. Pharmacologic control of CAR-T cell function using dasatinib[J]. Blood Adv, 2019, 3(5): 711-717. DOI: 10.1182/bloodadvances.2018028720.

[15] KILLOCK D. TKI-based on/off switch for CAR T cells[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2019, 16(9): 528. DOI: 10.1038/s41571-019-0258-5.

[16] BAUR K, HEIM D, BEERLAGE A, *et al*. Dasatinib for treatment of CAR T-cell therapy-related complications[J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(12): e005956. DOI: 10.1136/jitc-2022-005956.

(收稿:2023-10-13;修回:2023-12-22)

(编辑 汪勤俭)