DOI:10.16016/j.1000-5404.201907013

嵌合抗原受体 T 细胞治疗血液肿瘤的发展与应用



张 曦,黄瑞昊 400037 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第二附属医院血液病医学中心,全军血液病中心,创伤、烧伤与复合伤研究国家重点实验室

[摘要] **目的** 嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cell,CAR-T 细胞)疗法对复发难治(relapse or recurrent,R/R)B 细胞急性淋巴白血病的显著效果为 R/R 恶性血液肿瘤的治疗带来了希望。世界各大医院都以进一步提升 CAR-T 疗效和扩大其受益范围为目的,开展了针对 CAR-T 细胞结构、配套疗法及毒副作用管理措施的临床实验。目前,在嵌合抗原受体(CAR)结构设计优化、临床使用有效性及安全性提升和促进 CAR-T 细胞转归续存等方面都有长足进展,CAR-T 细胞疗法临床运用的流程渐渐清晰,针对并发症的有效应对手段也逐渐丰富。但是在对某些疾病(如急性髓系白血病)的探索中,也不乏结果不尽如人意的临床研究,这为 CAR-T 疗法的进一步发展提出了挑战。面对这些挑战,需从制备到临床运用的各个角度出发,分析成败的原因,不断改进优化,才能最终把握成败。本文就近年来 CAR-T 细胞疗法在血液恶性肿瘤治疗中的发展动向及走向与临床亟需解决的问题一一梳理,并做出展望。

[关键词] 嵌合抗原受体;血液肿瘤;白血病;淋巴瘤;多发性骨髓瘤;炎症因子

[中图法分类号] R331.144; R392-33; R733 [文献标志码] A

Clinical application of CAR-T cells in treatment of hematologic malignancies

ZHANG Xi, HUANG Ruihao State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Medical Center of Hematology, PLA Center for Hematology, Second Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400037, China

[**Abstract**] The stunning benefits of chimeric antigen receptor T (CAR-T) cell therapy in treatment of relapsed and/or refractory (R/R) B cell acute lymphoblastic leukemia have brought hope to the patients with R/R hematologic malignancies. With the aims of achieving more effective and more accessible CAR-T cell therapy, large-scale hospitals all over the world have launched clinical trails by adjusting the CAR structure, complementary treatment and management of side-effects. Great progresses had been made in the CAR structure optimization, efficiency and safety of clinical application, and transformation and survival of CAR-T cells. The process of clinical application of CAR-T cell therapy is gradually clear, and the effective measures for complications are gradually enriched. However, there still are some disappointing outcomes from clinical trails aimed at acute myeloblastic leukemia (AML), which are the challenges badly in need of solutions. In order to finally grasp the success or failure, we must analyze the causes in multiple aspects, from preparation to clinical application, and continuously improve and optimize. In this paper, we sorted out the development trend of CAR-T cell therapy and problems needing be urgently solved in the treatment of hematological

[基金项目] 重庆市社会事业与民生保障科技创新专项(CSTC2016shms-ztzx10003);校临床重大领域技术创新项目(CX2019LC111);院级临床重大创新特色技术项目军民融合专项(2018JSLC0020)

[通信作者] 张 曦,博士,主任医师、教授,博士生导师,长江学者特聘教授;担任中华医学会血液学分会常务委员、重庆市医学会血液病专委会主任委员、中国医师协会血液科医师分会常务委员、中国抗癌协会血液肿瘤专委会常务委员;中国肿瘤青年科学家奖获得者,重庆市首席医学专家,首批重庆市医学领军人才,全军创新工程学科拔尖人才,重庆市科技创新领军人才,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室固定 PI;获中华医学科技一等奖 1 项,重庆市科技进步一等奖 2 项,省部级科技成果二等奖 4 项;获国家发明专利 16 项。主持国家、省部级课题 30 项;为《JHO》《Stem cells》《Hematology》等杂志编委和审稿专家;发表 SCI 论文 52 篇,最高 IF24.008;主编/副主编专著 3 部。E-mail:zhangxxi@163.com

malignancies in recent years, and made the prospect for the future.

[**Key words**] chimeric antigen receptor; hematologic neoplasms; leukemia; lymphoma; multiple myeloma; inflammatory cytokines

Supported by the Science and Technology Innovation Special Project of Social Undertakings and People's Livelihood Security of Chongqing (CSTC2016shms-ztzx10003), the Clinical Project of Major Technology Innovation of Army Medical University (CX2019LC111), and the Military and Civilian Integration Project of Clinical Major Innovative Technology From Second Affiliated Hospital of Army Medical University (2018JSLC0020). Corresponding author: ZHANG Xi, E-mail: zhangxxi@163.com

嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T cell,CAR-T细胞)疗法是由美国食品药品监督管理局批准的基因疗法,其原理是通过基因编辑技术将靶向结合肿瘤细胞表位的嵌合抗原受体基因导入正常T细胞后,将符合标准的T细胞回输至患者体内。CAR-T细胞在患者体内二次扩增后,通过嵌合抗原识别肿瘤细胞,利用T细胞为主的细胞免疫反应清除肿瘤细胞。经过20余年发展,CAR-T细胞疗法由基础走向临床,在肿瘤的免疫治疗,尤其是血液肿瘤治疗中大放异彩,显著提高了复发难治(relapse or refractory,R/R)B细胞血液肿瘤患者的缓解率与长期生存。截至目前,全球已有868项CAR-T相关的临床研究在Clinical Trail上注册,中国有308项。另一方面,较高的复发率和繁琐欠规范的制备过程限制了CAR-T的疗效和推广,各单位报道的临床疗效也参差不齐。总之,CAR-T治疗血液肿瘤的现状是希望与挑战并存,治疗过程中的方方面面都是决定成败的关键。现从影响CAR-T细胞疗法临床效果的各方面评价其在血液肿瘤临床治疗中的作用及发展。

1 CAR-T的发展历程

CAR-T疗法的特色在于利用了嵌合抗原受体对肿瘤相关抗原的特异性识别,可在规避免疫耐受的同时发挥T细胞强大的杀伤能力。CAR-T细胞疗法由以色列科学家GROSS和ESHHAR等[1]于1989年首创,历经近30年共发展了四代。第一代CAR-T细胞仅采用第一刺激信号CD3的免疫受体酪氨酸激活基序(immunoreceptor tyrosine-based activation motif,ITAM)作为胞内刺激信号,细胞在回输患者体内后无法有效活化、增殖,仅有一过性效应。第二代CAR-T细胞的受体胞内域添加了CD28或4-1BB共刺激信号,显著增强了CAR-T细胞的增殖、细胞因子分泌、体内续存及肿瘤杀伤能力,也是目前临床广泛使用的CAR-T细胞。然而,不同共刺激因子导致CAR-T细胞不同的增殖特性,例如含CD28的CAR-T细胞抗肿瘤效应反应更快,主要分化出效应记忆CAR-T细胞。含4-1BB的CAR-T体内增殖过程耗时更长但能产生更多的CAR-T细胞,同时诱导中心记忆CAR-T细胞的生成,理论上延长了CAR-T细胞续存时间[2-3]。但不论是哪一种共刺激因子,单一的高强度刺激都可能导致僵直信号产生,最终使CAR-T细胞耗竭。这也是CAR-T疗法效果不能维持的关键原因之一。故第三代CAR-T细胞联合了多种胞内域共刺激因子,如CD28与4-1BB,或CD28与OX40。临床前研究表明其增殖能力和抗肿瘤免疫因子分泌能力等特征在治疗非霍奇金淋巴瘤时较二代产品都有显著提升[4],但临床研究表明三代CAR-T细胞较二代首次反应率并没有显著提高[5],重复的细胞通路刺激不仅会导致更严重的毒副作用,还可能加速CAR-T细胞的耗竭,故并不利于长期缓解的保持。权衡利弊,目前市场上通用的CAR-T结构仍多为第二代,但是进一步的小样本临床研究表明第三代CAR-T细胞在瘤负荷较低或残留病阳性时可有效延长CAR-T细胞续存时间[4]。最近的研究表明胞内信号通路互补的ICOS与4-1BB共刺激因子联用的第三代CAR-T细胞相较第二代能够提高患者体内CAR-T细胞续存时间[6]。可见,随着对各种共刺激因子间及其与肿瘤负荷的关系及抗原亲和力的深入研究,第三代CAR-T细胞的潜力可得到进一步开发。为了进一步诱发患者受抑制的免疫系统再次活化,第四代CAR-T细胞在导入CAR序列的同时加入具有免疫激活作用的分泌型细胞因子基因序列(如分泌型PD-L1、IL-15序列),借此克服肿瘤微环境对CAR-T细胞的抑制。当CAR-T细胞被活化后就成为活的"细胞因子工厂",对患者体内的免疫微环境及其自身行正向调节作用从而扩大治疗效果。第四代CAR-T细胞疗法临床前研究结果喜人,被认为是CAR-T疗法攻破实体肿瘤的一大法宝,但确切疗效与安全性还有待临床研究的报告。

此外,根据T细胞的来源可分为自体、供者、干细胞诱导型CAR-T细胞,现在较常用的是自体T细胞,但采集成功与否往往取决于患者的基础情况。采用HLA相合或部分相合的供者T细胞为制备原料的供者CAR-T技术也逐渐成熟。由于成本及时间的限制,诱导并加以编辑而获得免疫豁免的T细胞及其干性前体细胞为原料的通用CAR-T(U-CART)将有可能成为CAR-T下一个里程碑式的突破点。

目前CAR-T产品的质检由各国的食品药品监督管理局按照《人基因治疗研究和制剂质量控制技术指

导原则》作为基本指导。其制备过程可分为细胞采集、分选纯化、扩增、CAR 基因序列导入、培养和回输。不同制备 CAR-T 细胞的公司或医院在分选、扩增与靶基因导入过程中的人工及技术的差异性是导致其疗效和毒性反应不一的原因之一。因此,如何进一步提高临床疗效、降低毒副作用、建立高效的质检流程是需要解决的问题。

2 提升 CAR-T 细胞疗法临床效果的策略

2.1 如何选择 CAR-T 细胞治疗的患者

适合 CAR-T 细胞治疗的对象主要是复发难治恶性血液肿瘤且对应肿瘤相关抗原呈阳性的患者。这些患者大多经历数次化疗,甚至是移植后复发的患者。CAR-T 对不良预后基因突变(TP53 等),在髓外白血病和中枢侵犯白血病均表现 91.6%(76/83)的总缓解率,1 年总生存率为 76.5%,无病生存率为 62.6%[7]。即便如此,仍然处于临床研究中的 CAR-T 细胞疗法,对患者的筛选比较保守,不适年龄、有脏器功能不全及感染等并发症患者在筛选初期就会被排除。我中心的前期研究证明 CAR-T 疗效确切,副作用可控,但是建立全面合理的患者筛选标准依旧需要进一步的临床研究结果。笔者认为,当高危患者疾病达到复发难治状态时,应尽早进入 CAR-T 流程,争取最大受益并降低治疗风险。

2.2 如何选择合适的 CAR-T 细胞类型

2.2.1 如何选用 CAR-T 来源 目前作为 CAR-T 细胞生产的原料大多是从患者身上采集的。但对于难治的患者,高瘤负荷导致正常 T 细胞增殖抑制,可能采集不到足量的 T 细胞。为解决这一问题,供者 T 细胞来源的 CAR-T 细胞已经进入基础和临床研究,在有合适供者的情况下,可选用 HLA 配型相合供者的健康 T 细胞制作 CAR-T 细胞。本中心完成了国际首例“供者 CAR-T 细胞桥接移植”以及“治疗移植后复发 B-ALL”的临床研究并取得成功[8]。针对患者疾病进展快,长时间制备会错过治疗窗口的情况,我中心最新应用 FasT-CART 技术仅通过 24 h 制备即可达到输注剂量,除此之外 FasT-CART 具有少量高效性,在 CAR-T 细胞数量较低(10^5 个/kg)的情况下可达到所需的增殖及杀伤效果,利用这一技术大大缩短了时间,满足患者治疗需求。今年 6 月我们在欧洲血液病会议(EHA2019)上首次分享了相关临床数据。当患者自身满足不了采集条件,且无合适供者时,通用 CAR-T 是最后的选择,其优势是能在体外储存,第一时间应用于救治中,最大的限制性问题是患者体内的 NK 细胞会对 U-CART 细胞识别杀伤,无法长期在患者体内存活。目前敲除 MHC 分子是避免患者免疫系统攻击的主要方法,效果还有待临床验证。

2.2.2 杀伤靶点的选择 理论上,因患者疾病具有个体异质性,故 CAR-T 靶点的选择取决于患者肿瘤细胞的表位表达量。目前,对于 B 细胞来源的血液肿瘤(急性淋巴细胞白血病、恶性淋巴瘤、多发性骨髓瘤等)靶点比较清晰,诸如 CD19、CD22、B 细胞成熟抗原(B-cell maturation antigen,BCMA)等均得到普遍认可。目前的进展在于通过双靶点来避免阴性复发并增强免疫反应。但对其他来源的恶性肿瘤来说,想找到合适的靶点却不容易,例如急性髓系白血病,其肿瘤相关表位表达于正常造血干细胞上,打击相关抗原会导致严重的骨髓抑制,患者的严重毒副作用足以致命,限制了其在临床上的应用;但 Lewis-Y 类的非广谱打击位点受众小,小样本临床研究中,5 位患者在达到不同程度缓解后都死于复发[9],故新的有效靶点开发仍然需要进一步探索。对于多发性骨髓瘤的患者,B 细胞成熟抗原的发现对疗效的提升有巨大促进作用,但是只有成熟的骨髓瘤细胞才表达 B 细胞成熟抗原,故如何维持其疗效仍需要进一步的探究。对于 T 或 NK 细胞恶性肿瘤,如何在有效杀伤肿瘤细胞的同时避免 CAR-T 细胞的“自相残杀”并保留健康 T 细胞也是靶点选择的一大难题。目前常用的手段有敲除 CAR-T 细胞上的相关抗原,笔者所在中心正在准备相关临床试验的开展。

2.2.3 如何决定 CAR-T 的类型 主要取决于患者肿瘤的类型及其异质性,常规的二、三代 CAR-T 细胞可满足常规 R/R B 细胞急性淋巴白血病及 R/R B 细胞淋巴瘤患者需求。但对于高危患者及表型相对复杂的患者,需要根据患者情况选择双靶点 CAR-T 或配合其他靶向药物可有效降低复发率。对肿瘤微环境抑制强的患者来说,导入分泌型 IL-7 或 IL-15 序列的四代 CAR-T 细胞可能是具有更高反应率的最佳选择。

综上,对于 CAR-T 细胞适于哪些患者,选用什么样的 CAR-T 细胞,个体化的“定制”等问题已经提上日程,需要我们通过规范的多中心、大样本临床研究给出合适的分层答案。

2.3 预处理方案的选择

多数患者在 CAR-T 细胞回输前使用 3 d 氟达拉滨(F)联合环磷酰胺(C)预处理化疗,其目的有三:①降低瘤负荷,部分解除患者的肿瘤微环境并降低瘤负荷以减轻回输后副反应;②杀伤对 CAR-T 植入与增殖不利的患者淋巴细胞;③形成促 CAR-T 增殖的微环境,目前主要以血浆 IL-7 上调为指标。这一指标与长期缓解相关[10]。对于复发难治患者,预处理有一定风险,能否承受化疗将成为患者的第一道关卡,同时预处理强度与回输后严重感染的发生率呈正相关,所以在预处理的选用与方式上还需要进一步的临床探索。在

临床实践中,有些患者对于 FC 方案的反应并不理想,导致 CAR-T 植入不良或是严重的副反应。据报道,以 FC 联合放疗、局部放疗或靶向单克隆抗体的预处理方法在临床的小范围研究及个案中取得了相对更高的反应率与更弱的副作用。除此之外,利用淋巴细胞凋亡因子的预处理模型已经在临床前研究中。不过并不是所有的 CAR-T 细胞回输前都需要预处理,移植后微小残留病(minimal residual disease, MRD)阳性患者就不一定需要,否则会导致移植物抗白血病(graft versus leukemia, GVL)效应的消失及对造血重建的损害。笔者认为,预处理的目的主要在于为 CAR-T 的植入清除障碍,调整患者体内免疫环境,故应根据患者的基础情况及疾病特点制定比较敏感的个体化方案。

2.4 CAR-T 细胞的输注剂量

在 CAR-T 细胞应用之初,一般采用爬坡式的回输方式以避免细胞因子风暴(cytokine release syndrome, CRS)导致的危及生命的炎症反应。经过临床探索,$CD19^+$CAR-T 回输细胞总数量级被控制在 $10^6 \sim 10^7$,既能保障疗效,而且严重 CRS 的发生也较少。临床研究发现,总量相同分次输注与一次性输注对首次反应率与缓发毒副作用并没有统计学差异。但是,如果相同靶点的 CAR-T 细胞第一次输注总量不足,可能会导致肿瘤对 CAR-T 产生耐受性,影响疗效。所以输注时一定要根据患者情况调整输注的剂量,原则是足量但不过量。我们的建议是,若剂量较大或患者瘤负荷较大可分几天输注,防止肿瘤溶解及急性的毒副作用反应。而对于具有较强扩增能力的新型 CAR-T 细胞,如 FasT-CART,因为其体内扩增能力较强输注数量应当适当降低至 10^5 级,以免出现过重的迟发反应。

2.5 重大并发症的处置

2.5.1 细胞因子风暴 研究表明,靶向 CD19 的 CAR-T 治疗后,71%的患者会出现 CRS 反应,以发热症状为主;12%患者会出现低血压、低氧血症、器官毒性等重度 CRS 症状(CRS>2)[11]。对美国 FDA 批准上市两个靶向 CD19 的 CAR-T 产品回顾性研究表明,Tisagenlecleucel 及 Axicabtageneciloleucel 非复发死亡中,重度 CRS 致死占比分别为 23%(28/61)和 53%(19/34),值得注意的是以感染为主要致死原因的占比为 56% (34/61)和 44% (15/34)[12]。这两种并发症起病相似,合并发生时炎症反应更严重,故笔者认为预先给予患者感染预防是相对主动的做法。CRS 的临床诊断目前并不困难,但支持治疗事关 CAR-T 细胞治疗的成败。回输后 7~14 d 为 CAR-T 体内增殖阶段,由于免疫相关细胞因子升高容易发生 CRS,临床解决这类问题的关键还在于早期诊断和发现。目前样本量较大的 B-ALL 病例分析显示,在回输后 28 d,IFNγ、IL-6、TNFα、MIP1 等细胞因子已被证明有潜力作为预测儿童 CRS 的指示因子。介导 CRS 发生的重要细胞因子为由单核细胞系统受刺激后生成的 IL-6,妥珠单抗(IL-6 拮抗剂)是被美国 FDA 批准的治疗 CRS 的一线药物,且目前研究并未发现其对 CAR-T 的疗效有不良影响,大多 CRS 患者对妥珠单抗治疗敏感[13]。如果妥珠单抗治疗无效或者反复,需要激素治疗。各中心报道认为激素(甲强龙、地塞米松等)不会对首次反应率造成影响,但是否影响长期缓解仍需要大样本、长时间随访数据。此外,研究表明,除 IL-6 外,GM-CSF 也是介导 CRS 的中上游细胞因子,在人源小鼠的模型中,其阻断剂还有促进 CAR-T 细胞抗肿瘤效力的作用[14]。随着相关基础研究的不断深入,新型药物不断出现,治疗方案可根据患者情况进行调整。

2.5.2 中枢神经毒性 中枢神经毒性(neurotoxicity, NT)的发生率约为 40%,发生机制至今不明确,19%的患者表现为精神状态改变、思维迟钝、谵妄、表达性失语症、头痛等一过性症状(NT<3);但有 21%的患者出现严重的中枢神经毒性(NT>2)[11],多表现为癫痫,而以脑水肿最为严重。美国上市的两个产品以中枢系统为主要致死原因的占比为 46% (28/61)与 56% (19/34)(不排除由其他原因导致的中枢系统病变)[12]。目前已知中枢神经毒性多与 CRS 伴发,与 CAR-T 细胞增殖高峰呈正相关,推测与高浓度的细胞因子进入血脑屏障破坏大脑内环境相关。CAR-T 细胞基础研究表明其的确具有改变血脑屏障通透性并进入脑脊液的能力。对于神经毒性毒副作用,目前单纯的细胞因子检测不能准确预测其发生。斯坦福大学研究表明可以通过脑电图的异动来提前干预以预防严重 NT 发生,但是脑电图仍然不是可以广泛推广的检测手段。进一步简化检查流程,有的放矢地监测高危患者情况是最终的目标。中枢神经毒性在治疗方面目前没有特别的手段,多以大量激素配合常规治疗为主。值得注意的是,临床密切检测 IL-6、IL-15、MCP-1 和 IL-10 及内皮细胞活化标志物并结合患者精神状态变化可预测到早期的神经毒性,在此时使用少量激素或者妥珠单抗,可以在一定程度上降低严重中枢副作用(NT>3)的发生率[15]。在小鼠模型中,对于对妥珠单抗不敏感的 NT 小鼠,在阻断同样来自单核细胞分泌的 IL-1 后,却有效阻止 NT 的进展,但这一结论尚未在临床试验中得到印证[16]。

2.6 如何安排 CAR-T 疗法的后续治疗

CAR-T 疗法达到完全缓解后的治疗手段存在争议。主流观点是,当获得完全缓解的患者体内可以检测到具有活性的 CAR-T 细胞长时间存在,不一定需要进一步的主动干预。道培医院的非随机对照研究则表明,患者以 CAR-T 疗法作为桥接移植的手段会比单纯

的 CAR-T 疗法使患者受益,无病生存期更长,移植后患者一年无病生存率为 87.4%,相较没有接受移植组(7.5%)明显提高。在凯瑟琳斯隆癌症中心接受 CD19 CAR-T 治疗达到完全缓解后的急性淋巴白血病患者中位无病生存时间为 12.5 个月,最早复发时间为 6.3 个月[17]。第二代 CAR-T 治疗复发的主要机制是由于单一靶点打击的限制,肿瘤的异质性导致的阴性复发是其中一大类。当缺失相应 CAR 结合靶点的肿瘤细胞成为拥有"豁免"能力的优势细胞,在患者体内迅速增殖,最终导致复发。阴性复发主要的解决方法还是需要以多靶点联合打击为主。例如目前成功运用于临床的 CD20 单抗、CD19 CAR-T 联用及不同靶点 CAR-T 的剂量递减贯续输注可以从一定程度上解决这一问题。我们认为,如果患者诊断之初同时存在多个预后不良基因或打击位点在 3 个月内转阳,应该在 CAR-T 细胞达到最好效果后桥接异基因造血干细胞移植以提高无病生存,以避免复发。对于移植后 MRD 复发的患者,如果供者 CAR-T 细胞长时间在体内存在,植入良好,可以暂时不考虑进行二次移植,除非 MRD 反复阳性。

3 CAR-T 细胞失效的机制和逆转策略探讨

血液肿瘤细胞有多种逃逸单靶点打击的机制,首先通过降低自身受打击表位的表达量,主要方式有下调其 mRNA 水平并将靶点内吞为囊泡等。在降低自己位点表达的同时,肿瘤细胞也会通过胞啃作用将打击位点转移至 CAR-T 细胞上,诱导 CAR-T 细胞"自相残杀"。此外,之前"潜伏"的不表达 CAR-T 打击受体的靶点肿瘤干细胞,会在 CAR-T 细胞耗竭后"卷土重来"。这些机制的临床表现多为前期反应良好但短时间内复发,值得注意的是当 CAR-T 细胞耗竭后,肿瘤细胞的受打击表位会上调至原水平。对于这种阳性复发的患者,目前的基础研究提示:联合多靶点及不同共刺激因子的运用可提高 CAR-T 细胞的识别能力,降低肿瘤改变抗原表达量的逃逸能力,以提高疗效[18]。

不论是阴性复发还是阳性复发,其实质都是 CAR-T 疗法单一靶点杀伤无法完全清除肿瘤细胞。所以解决方法主要有三点:①将白血病细胞的靶点尽可能多地纳入 CAR-T 细胞的攻击范围,同时确保 CAR-T 细胞的数量及活性。基础研发方面,拓宽可用靶点及有效共刺激域并从机制方面给出最佳组合方案。在临床方面,大力推进针对表型复杂、多预后不良基因等难点问题展开 CAR-T 疗法联合用药及缓解后维持治疗的临床应用探究。②尽快恢复患者自身的免疫抗肿瘤能力。肿瘤细胞的最终清除不是单纯依靠增加一两个靶点就可以彻底解决的,尤其是分裂不活跃且肿瘤相关抗原表达量低或者与正常组织没有明显区别的肿瘤细胞,笔者认为在 CAR-T 疗法无法有效清除这类肿瘤细胞时,及时桥接造血干细胞移植是更好的选择。③改造肿瘤微环境,其对 CAR-T 细胞作用的负调影响也需要重视和解决,特别是在淋巴瘤治疗中,肿瘤微环境会使 CAR-T 细胞难以深入肿瘤组织,并快速诱导其耗竭而失去作用。进一步强化 CAR-T 疗法前的预处理手段以减轻瘤负荷并部分解除肿瘤微环境,找到在治疗过程中能有效监测 CAR-T 细胞活性的指征,联合免疫激活剂以避免 CAR-T 细胞的过早耗竭等方向的临床研究已经在世界各地开展起来,但仍需要一段时间才能形成一套行之有效的办法。

4 CAR-T 细胞疗法走向临床的挑战

CAR-T 细胞疗法在临床效果上的突破让人们看到治愈复发难治恶性血液肿瘤的希望。但 CAR-T 在有效性、安全性、经济性及时效性方面还需要进一步完善;在 CAR-T 结构不断完善、个性化细胞制备、降低副作用、延长缓解时间的同时,临床的配套治疗方案及监测手段也需要进一步完善。对于恶性血液肿瘤,尤其是多发性骨髓瘤、淋巴瘤等实体瘤,临床支持治疗也占有十分重要的地位,可以有效提高患者受益,但是目前有效的处理手段仍相对较少,进一步探索支持治疗及缓解后维持治疗中的药物与 CAR-T 的相互作用会是进一步提高 CAR-T 疗效的方法。此外,目前 CAR-T 疗法成本昂贵,已在美国上市的两种针对复发难治弥漫大 B 细胞淋巴瘤的平均花费为 37.3 万美元[19]。据美国报道,当患者出现严重并发症(CRS>3)时平均需要 2.8 万美元,当发生严重神经毒性时花费可达 10 万美元以上。进一步优化支持治疗,找到 CRS 及 NT 发生过程中的关键指示因子,尽早干预以降低患者经济及身体负担,对于 CAR-T 疗法的临床转化非常重要。同时,多药联合被预测为恶性肿瘤的最佳解决方案,探索合理应用单抗、疫苗和酶类抑制剂联合 CAR-T 疗法,进一步提高疗效并降低其毒副作用是将来的方向。最新的研究表明:达沙替尼可暂时使 CAR-T 细胞进入静息状态,利用这种方法推迟 CAR-T 细胞的扩增期可有效降低剧烈炎症反应且不影响 CAR-T 细胞的肿瘤杀伤能力[20]。可见 CAR-T 细胞所面临的问题在一定程度上可通过药物相互作用预防发生。临床医师和研发企业共同协作,进一步提高 CAR-T 生产线的生产效率,降低生产成本,也是 CAR-T 最终走向临床造福广大病患不可忽视的一步。由于其居高不下的复发率,如何延长一次输注的效果持续时间,在保证 CAR-T 疗效的同时联合多种手段预防阴性复发的发生,仍需要更多的基础与临床研究。

我们相信,通过做好技术改进、技术细节、技术保障等几方面工作,把控细节,CAR-T 在血液肿瘤治疗中的前景将更加光明。

参考文献:

[1] GROSS G, WAKS T, ESHHAR Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1989, 86(24): 10024-10028. DOI:10.1073/pnas.86.24.10024.

[2] KAWALEKAR O U, O'CONNOR R S, FRAIETTA J A, *et al*. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells[J]. Immunity, 2016, 44(2): 380-390. DOI:10.1016/j.immuni.2016.01.021.

[3] LONG A H, HASO W M, SHERN J F, *et al*. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors[J]. Nat Med, 2015, 21(6): 581-590. DOI:10.1038/nm.3838.

[4] RAMOS C A, ROUCE R, ROBERTSON C S, *et al*. *In vivo* fate and activity of second-versus third-generation CD19-specific CAR-T cells in B cell non-Hodgkin's lymphomas[J]. Mol Ther, 2018, 26(12): 2727-2737. DOI:10.1016/j.ymthe.2018.09.009.

[5] ENBLAD G, KARLSSON H, GAMMELGÅRD G, *et al*. A phase Ⅰ/Ⅱa trial using CD19-targeted third-generation CAR T cells for lymphoma and leukemia[J]. Clin Cancer Res, 2018, 24(24): 6185-6194. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-0426.

[6] GUEDAN S, POSEY A D Jr, SHAW C, *et al*. Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation[J]. JCI Insight, 2018, 3(1): 96976. DOI:10.1172/jci.insight.96976.

[7] ZHANG X, LU X, YANG J, *et al*. Efficacy and safety of CD19 chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for B-cell acute lymphocytic leukemia (B-cell aLL) in a large cohort including patients with extramedullary disease(EMD), high leukemia burden, BCR-ABL (+) mutation,TP53 mutation, and post-transplant relapse[J]. Blood, 2018,132(Suppl 1):280. DOI:10.1182/blood-2018-99-115642.

[8] LIU J, ZHONG J F, 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.

[9] HOFMANN S, SCHUBERT M L, WANG L, *et al*. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy in acute myeloid leukemia (AML)[J]. J Clin Med, 2019, 8(2): E200. DOI:10.3390/jcm8020200.

[10] HIRAYAMA A V, GAUTHIER J, HAY K A, *et al*. The response to lymphodepletion impacts PFS in patients with aggressive non-Hodgkin lymphoma treated with CD19 CAR T cells[J]. Blood, 2019, 133(17): 1876-1887. DOI:10.1182/blood-2018-11-887067.

[11] HAY K A. Cytokine release syndrome and neurotoxicity after CD19 chimeric antigen receptor-modified (CAR-) T cell therapy[J]. Br J Haematol, 2018, 183(3): 364-374. DOI:10.1111/bjh.15644.

[12] ANAND K, BURNS E, SANO D, *et al*. Comprehensive report of anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells (CAR-T) associated non-relapse mortality (CART-NRM) from FAERS[J]. J Clin Oncol, 2019, 37(15_suppl): 2540. DOI:10.1200/jco.2019.37.15_suppl.2540.

[13] CHEN F, TEACHEY D T, PEQUIGNOT E, *et al*. Measuring IL-6 and sIL-6R in serum from patients treated with tocilizumab and/or siltuximab following CAR T cell therapy[J]. J Immunol Methods, 2016, 434: 1-8. DOI:10.1016/j.jim.2016.03.005.

[14] STERNER R M, SAKEMURA R, COX M J, *et al*. GM-CSF inhibition reduces cytokine release syndrome and neuroinflammation but enhances CAR-T cell function in xenografts[J]. Blood, 2019, 133(7): 697-709. DOI:10.1182/blood-2018-10-881722.

[15] KADAUKE S, MAUDE S, GLADNEY W, *et al*. Early administration of tocilizumab (Toci) for the prevention of grade 4 cytokine release syndrome (CRS) after CD19-directed CAR T-cell therapy (CTL019)[J]. Cytotherapy, 2019, 21(5): e2-e3. DOI:10.1016/j.jcyt.2019.04.009.

[16] NORELLI M, CAMISA B, BARBIERA G, *et al*. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells[J]. Nat Med, 2018, 24(6): 739-748. DOI:10.1038/s41591-018-0036-4.

[17] PARK J H, RIVIÈRE I, GONEN M, *et al*. Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia[J]. New Engl J Med, 2018,378(5):449-459. DOI:10.1056/NEJMoa1709919.

[18] HAMIEH M, DOBRIN A, CABRIOLU A, *et al*. CAR T cell trogocytosis and cooperative killing regulate tumour antigen escape[J]. Nature, 2019, 568(7750): 112-116. DOI:10.1038/s41586-019-1054-1.

[19] LIN J K, MUFFLY L S, SPINNER M A, *et al*. Cost effectiveness of chimeric antigen receptor T-cell therapy in multiply relapsed or refractory adult large B-cell lymphoma[J]. J Clin Oncol, 2019, 37(24): 2105-2119. DOI:10.1200/JCO.18.02079.

[20] 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.

(收稿:2019-07-02;修回:2019-10-15)

(编辑 汪勤俭)