



黄河, 主任医师, 博士生导师。现任浙江大学医学院党委书记、副院长, 浙江大学血液病研究所所长, 浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心主任。任中华医学会血液学分会造血干细胞应用学组副组长, 中华骨髓库专家委员会副主任委员, 亚太国际骨髓移植组织国际学术委员会常务委员等学术职务。主要研究方向为造血干细胞移植的临床和基础研究、干细胞基础及应用研究、免疫治疗临床基础及应用研究。先后于2003年及2015年2次荣获国家科技进步奖二等奖。近10年在国内外学术期刊发表论文200余篇, 其中在*Blood*、*Leukemia*等SCI杂志发表论文139篇(作为通讯作者论文为99篇)。近5年在国际大型会议担任主席、特邀报告和口头报告共58次。任国际造血干细胞移植领域权威杂志*Bone Marrow Transplantation*和*Biology of Blood and Marrow Transplantation*编委。

<http://www.cmm.zju.edu.cn/index.php?a=scholar&catid=4&uid=334&web=chinese>

嵌合抗原受体T细胞在B细胞淋巴瘤中的应用进展

倪芳 胡永仙 黄河*

(浙江大学医学院附属第一医院骨髓移植中心, 浙江大学血液病研究所, 杭州 310058)

摘要 嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫疗法是近年来发展最为迅速的肿瘤免疫细胞疗法。CAR-T细胞能够克服肿瘤局部免疫抑制微环境, 具有对肿瘤细胞的杀伤不受主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)限制等优势, 在难治复发的B细胞白血病和淋巴瘤患者中取得了令人振奋的效果, 尤其是靶向CD19的CAR-T细胞。如何进一步提高疗效、减少其治疗相关的不良反应成为日后研究的重点。该文将从CD19 CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤的疗效以及已报道的并发症和其他类型的CAR-T细胞在淋巴瘤中的应用作一综述。

关键词 嵌合抗原受体; T细胞; B细胞淋巴瘤; 细胞因子释放综合征

Application Progress of Chimeric Antigen Receptor T Cells in B Cell Lymphoma

Ni Fang, Hu Yongxian, Huang He*

(Bone Marrow Transplantation Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Institute of Hematology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract Chimeric antigen receptor T-cell therapy is the immunotherapy technology developed rapidly in recent years. CAR-T cells, especially CAR-T cells that target CD19, can overcome the local immunosuppressive microenvironment of tumor site, moreover, it is independent of major histocompatibility complex. These advantages make it achieve exciting results in refractory and relapse patients with B-cell leukemia and lymphoma. How to further improve efficacy, to reduce the related adverse reactions of the therapy could become the focus of future

国家自然科学基金(批准号: 81500157、81770201、81730008)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0571-87236706, E-mail: huanghe@zju.edu.cn

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.81500157, 81770201, 81730008)

*Corresponding author. Tel: +86-571-87236706, E-mail: huanghe@zju.edu.cn

网络出版时间: 2019-01-16 13:59:38

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190116.1359.008.html>

research. This review focus on the CD19 CAR-T cell therapy for B-cell lymphoma and its reported complications and other types of CAR-T cells in lymphoma.

Keywords chimeric antigen receptor (CAR); T cell; B cell lymphoma; cytokine release syndrome

肿瘤免疫治疗无疑是肿瘤治疗史上的重大突破,于2013年被*Science*杂志评为十大科技突破之首,尤其是嵌合抗原受体T细胞(chimeric antigen receptor T-cell)疗法在B细胞系血液系统恶性肿瘤中取得了长足进步,给难治复发的白血病(leukemia)及淋巴瘤(lymphoma)患者治疗带来了希望。CAR-T细胞对肿瘤细胞的杀伤不依赖于主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC),可以克服肿瘤细胞下调MHC的表达来逃避宿主免疫系统的攻击,因此CAR-T细胞疗法比传统T细胞疗法有更明显的优势^[1-4]。目前,以靶向CD19 CAR-T细胞治疗难治复发急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL)疗效最为显著。*New England Journal of Medicine*杂志报道,CD19 CAR-T治疗难治复发ALL的完全缓解率为90%^[5]。笔者团队采用CD19 CAR-T治疗23例难治复发ALL患者,其中可评估疗效的患者共22例,20例获得完全缓解,完全缓解率(complete remission rate, CRR)为90.9%,已达国际先进水平^[6]。随着CAR-T细胞疗法治疗难治复发ALL的成功案例被不断报道,近期的临床数据表明,这一免疫疗法也可能使其他类型的血液系统恶性肿瘤

患者获益,特别是霍奇金淋巴瘤(Hodgkin lymphoma)和非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL)^[7]。2017年10月18日,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准Yescarta——一款针对CD19的CAR-T细胞,用于治疗成人弥漫大B细胞淋巴瘤(diffuse large-B-cell lymphoma, DLBCL)、高度恶性淋巴瘤、原发性纵隔B细胞淋巴瘤(primary mediastinal B-cell lymphoma, PMBCL)患者^[8],其疗效将在下文中展开。本文就CD19 CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤的疗效以及已报道的并发症和其他类型的CAR-T细胞对B细胞淋巴瘤的疗效作一综述。

1 CD19 CAR-T细胞对B细胞淋巴瘤的疗效

CD19特异性表达于正常和肿瘤性B淋巴细胞和滤泡性树突状细胞表面^[9],而不表达于多能造血干细胞^[10]和其他正常细胞表面,故CD19分子是诊断和鉴别B淋巴细胞的可靠生物学标志。CAR-T细胞特异性杀伤肿瘤细胞的机制为利用细胞外的单链可变片段(single chain variable fragment, scFv)特异性识别肿瘤细胞表面的靶抗原,胞内段为T细胞活化的分子(如CD3 ζ 、CD28或4-1BB),为CAR-T细胞识别

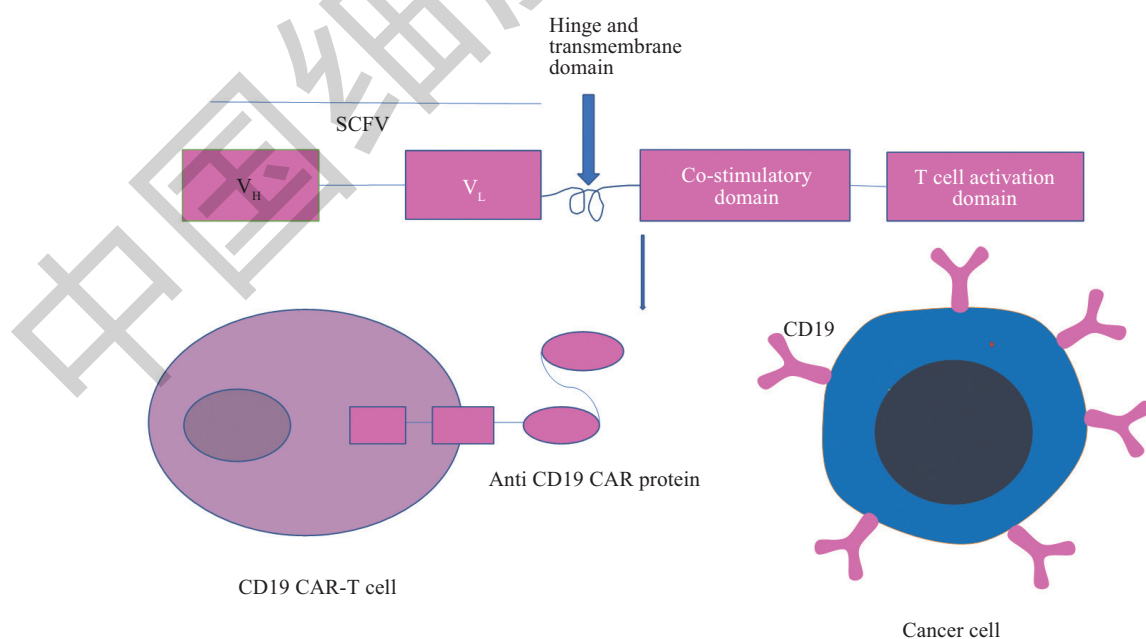


图1 CD19 CAR-T细胞杀伤B细胞淋巴瘤模式图

Fig.1 The pattern of CD19 CAR T cell killing B cell lymphoma

靶抗原后提供活化功能(图1)。

目前CAR-T的发展已经历了四代^[2,11-13]。由于第一代CAR-T细胞缺乏共刺激分子,因而在体内的持续时间较短^[14],已被第二代和第三代CAR-T细胞取代用于临床研究^[15-16]。笔者将近年来国内外开展的CD19 CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤报道的主要临床试验数据作一总结。2010年,国立癌症研究机构(National Cancer Institute, NCI)的Kochenderfer等^[17]首次报道,利用CD19 CAR-T细胞治疗多次复发的进展期滤泡细胞淋巴瘤,患者在接受氟达拉滨加环磷酰胺(fludarabine cyclophosphamide, FC)方案化疗后获得了长达持续32周的部分缓解。随后, Kochenderfer等在2012年^[18]、2013年^[19]、2015年^[20]连续报道了利用CD19 CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤的案例,可评估疗效的共计19例,客观反应率(objective response rate, ORR)分别为100%、100%、89%(表1)。其中,

在2015年的文献报道中,7例化疗难治的DLBCL患者4例达到了完全缓解,最长的可持续22个月。2016年, Wang等^[21]团队发表文章阐述了该中心开展的两个临床试验(NHL1和NHL2), NHL1输注的CAR-T细胞为第一代CAR-T,该细胞缺乏共刺激结构域; NHL2输注的CAR-T是以CD28为共刺激结构域的第二代CAR-T, NHL1和NHL2共入组16例患者,其中11例为弥漫大B细胞淋巴瘤(DLBCL)患者,5例为套细胞淋巴瘤(mantle-cell lymphoma, MCL)患者, NHL1和NHL2均取得了令人满意的效果,尤其NHL2中8例患者客观反应率(ORR)和完全缓解率(CRR)为100%。同年, Turtle等^[22]和Brudno等^[23]也发表了CD19 CAR-T细胞治疗弥漫大B细胞淋巴瘤和套细胞淋巴瘤等侵袭性B细胞淋巴瘤的疗效。2017年, Locke等^[24]首次报道了CD19 CAR-T细胞治疗非霍奇金淋巴瘤的多中心研究(ZUMA-1),7例弥漫大B细胞淋巴瘤患者输

表1 CD19 CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤已发表的主要临床试验数据

Table 1 Published principal clinic trials data of CD19 CAR-T cell therapy for B cell lymphoma

| 年份 Year | 研究团队 Study | 肿瘤抗原 Antigen | 淋巴瘤亚型(n) Lymphoma subtypes (n) | 共刺激结构域 Co-stimulatory domain | 疗效 Curative effect |
|------------|------------------------------|-----------------|---|---|--|
| 2010 | Kochenderfer ^[17] | CD19 | FL (1) | CD28 | ORR 1/1 (100%) CRR 0/1 (0) |
| 2012 | Kochenderfer ^[18] | CD19 | FL (3), SMZL (1) | CD28 | ORR 4/4(100%) CRR 0/4 (0) |
| 2013 | Kochenderfer ^[19] | CD19 | DLBCL (2), MCL (4) | CD28 | ORR 6/6 (100%) CRR 0/6 (0) |
| 2015 | Kochenderfer ^[20] | CD19 | DLBCL (7), ndolent lymphomas (2) | CD28 | ORR 8/9 (89%) CRR 5/9 (56%) |
| 2016 | Wang ^[21] | CD19 | DLBCL (11), MCL (5) | Two clinic trials (NHL1 and NHL2) NHL1 using a first-generation CAR, NHL2 using a second-generation CAR with CD28 co-stimulatory domain | NHL1 ORR 7/8 (87.5%) CRR 5/8 (62.5%) NHL2 ORR 8/8 (100%) CRR 8/8 (100%) |
| 2016 | Turtle ^[22] | CD19 | Aggressive B-cell NHL (11), TFL (10), FL (5), MCL (4) | 4-1BB | ORR 19/30 (63%) CRR 10/30 (33%) |
| 2016 | Brudno ^[23] | CD19 | DLBCL (4), MCL (5) | CD28 | ORR 8/9 (89%) CRR 1/9 (11%) |
| 2017 | Locke ^[24] | CD19 | DLBCL (7) | CD28 | ORR 5/7 (71%) CRR 4/7 (57%) |
| 2017 | Kochenderfer ^[25] | CD19 | DLBCL (19), FL (2), MCL (1) | CD28 | ORR 16/22 (73%) CRR 12/22 (55%) |
| 2017 | Schuster ^[26] | CD19 | DLBCL (14), FL (14) | 4-1BB | ORR 18/28 (64%) CRR 16/28 (57%) |

FL: 滤泡性淋巴瘤; SMZL: 脾边缘区淋巴瘤; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤; MCL: 套细胞淋巴瘤; TFL: 转化滤泡性淋巴瘤; ORR: 客观反应率; CRR: 完全缓解率。

FL: follicular lymphoma; SMZL: splenic marginal-zone lymphoma; DLBCL: diffuse large-B-cell lymphoma; MCL: mantle-cell lymphoma; TFL: transformed follicular lymphoma; ORR: objective response rate; CRR: complete remission rate.

注KTE-C19, 有4例达到了完全缓解, 其中3例长达12个月之久。此外, NCI的Kochenderfer等^[25]团队再次报道了利用其中心的CD19 CAR-T治疗22例进展期淋巴瘤患者, 在接受FC方案的预处理化疗后, 客观反应率为73%, 完全缓解率为55%。同年, *New England Journal of Medicine*期刊发表了28例弥漫大B细胞淋巴瘤和滤泡性淋巴瘤患者接受Novartis的CTL-019治疗的文章, 其中14例DLBCL患者中6例获得完全缓解, 14例FL患者中10例获得完全缓解^[26]。在随后的II期多中心研究中^[27], 101位难治侵袭性非霍奇金淋巴瘤患者接受KTE-C19输注, 其客观反应率为82%, 完全缓解率为54%, 中位随访15.4个月中仍有40%患者达到完全缓解。另两个全球知名的多中心研究当属宾夕法尼亚大学(UPenn)的JULIET(NCT02445248)和纪念斯隆凯特琳癌症中心(MSKCC)的TRANSCENDNHL 001(NCT02631044), 前者的总体反应率为53%, 完全缓解率为40%; 后者分别为74%和52%^[13], 其成果已分别在第22届欧洲血液学会议和第59届美国血液学年会等世界知名学术会议中被报道^[13]。

虽然CD19 CAR-T治疗B细胞淋巴瘤取得了令人瞩目的疗效, 然而仍有一部分患者无法从中获益, 现笔者将B细胞淋巴瘤对CD19 CAR-T细胞治疗可能耐药的机制总结如下所述。(1)与白血病细胞不同, 淋巴瘤类似于实体肿瘤, CD19 CAR-T细胞与肿瘤靶细胞紧密接触存在物理屏障, 使得效应T细胞很难渗透入肿瘤实质, 这可能与肿瘤组织中血管内皮细胞缺乏相应的受体(如ICAM-1、VCAM-1和P/E选择素)或者T细胞缺乏相应的配体(如整合素LFA-

1、VLA-4、CD43等分子)有关^[28](表2)。此外, CD40与CD40配体相互作用诱导白细胞对内皮细胞的E-选择素依赖性粘附从而介导T细胞的迁移^[29]。已有文章报道, 通过表达重组CD40配体(CD40 Ligand, CD40L)的CAR T细胞可以增强其对CD19⁺淋巴瘤细胞的杀伤能力以及延长荷瘤小鼠的生存时间^[30]。(2)发挥免疫抑制功能的肿瘤微环境。该微环境中具有一系列免疫抑制性细胞[如调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)、M2 macrophages、髓系来源的抑制性细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSC)]和免疫抑制性分子[如白介素-10(interleukin-10, IL-10)和转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)], 这些抑制性细胞和因子的存在限制了CAR-T细胞的有效发挥杀伤功能^[31-32]。(3)CD19抗原表达缺失或下调。B系急性淋巴细胞白血病患者接受CD19 CAR-T细胞输注后出现CD19抗原缺失从而导致CD19阴性复发已在多篇文章中报道^[5,33-34]。Wang等^[35]也对相关机制进行了阐述。在利用嵌合抗原受体T细胞治疗B细胞淋巴瘤中, 由于选择性压力的存在, CD19抗原阴性变异体很可能在未来的临床试验中遇见。(4)可供选择的B细胞分化信号通路。Evans等^[36]报道了伴有Richter转化的复发性难治性慢性淋巴细胞性白血病的患者用针对CD19嵌合抗原受体修饰的T细胞治疗后出现克隆相关浆细胞性淋巴瘤复发。前浆细胞或B淋巴细胞分化的大多数常规标志物的缺失显示了这种成熟淋巴瘤通过沿着与正常细胞组份相似的途径分化来逃避谱系特异性靶向杀伤的能力。(5)异常的细胞存活信号转导途径。大多数B细胞淋巴瘤表面表达B细胞受体(B

表2 CD19 CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤的可能抵抗机制

Table 2 The possible mechanisms of B cell lymphoma resistance to CD19 CAR-T cell killing

| 抵抗机制 Mechanisms of resistance | 效应分子 Effector molecule | 参考文献 References |
|---|--|--------------------|
| Physical barriers of CD19 CAR-T cell infiltration | ICAM-1, VCAM-1, P/E selectins or LFA-1, VLA-4, CD43 | [28] |
| The hostile tumor microenvironment | TGF- β , IL-10, Tregs, MDSCs, M2 macrophages | [31-32] |
| Loss or down-regulation of CD19 expression on tumor cells | CD19-negative variants | [5,33-35] |
| Alternative B-cell differentiation signaling pathways | | [36] |
| Aberrant cell survival signal transduction pathways | PI3K/AKT/mTOR signaling, BTK signaling, LYN/SYK signaling, JAK2/STAT signaling | [32,37] |
| Altered expression levels of anti-apoptotic proteins | Bcl-2 family of apoptosis regulating proteins | [40] |

ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VCAM-1: 血管细胞黏附分子-1; LFA-1: 淋巴细胞功能相关抗原-1; VLA-4: 迟现抗原-4; MDSC: 髓系来源的抑制性细胞; TGF- β : 转化生长因子- β 。

ICAM-1: intercellular cell adhesion molecule-1; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-1; LFA-1: lymphocyte function associated antigen-1; VLA-4: very late appearing antigen-4; MDSC: myeloid-derived suppressor cells; TGF- β : transforming growth factor- β 。

cell receptor, BCR), 也有很多证据表明, 功能性BCR信号转导对其存活和增殖是必不可少的。已有文献报道, B细胞非霍奇金淋巴瘤中(NHL)存在多种异常BCR激活的信号转导通路, 包括PI3K/AKT/mTOR信号、BTK信号、LYN/SYK信号、JAK2/STAT信号、PKC β 信号和AAK信号。在各种NHL亚型中发现, 一种或多种这些信号传导分子的组成性激活导致存在持续活跃的存活途径, 从而介导其抗凋亡^[32,37]。Ruella等^[38-39]已在2016年和2017年发表文章证明, 不论是体外还是体内试验, 依鲁替尼(ibrutinib, BTK抑制剂)可以增强CD19 CAR-T细胞对套细胞淋巴瘤的杀伤功能。(6)改变B细胞淋巴瘤-2(B-cell lymphoma 2, Bcl-2)家族凋亡调控蛋白的表达。B系肿瘤细胞通过上调Bcl-2家族抗凋亡蛋白表达抑制内源性凋亡通路, 而嵌合抗原受体T细胞通过外源性凋亡通路发挥对B系淋巴瘤的杀伤功能。Karlsson等^[40]证明了Bcl-2蛋白小分子抑制剂ABT-737与CAR-T细胞连用可以增强CAR-T对淋巴瘤细胞的杀伤。

2 嵌合抗原受体T细胞治疗B细胞淋巴瘤的常见并发症

2.1 细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)

到目前为止, 嵌合抗原受体T细胞输注后最常见的不良反应为细胞因子释放综合征(cytokine release syndrome, CRS)。Giavridis等^[41]团队在*Nature Medicine*杂志中报道CRS的严重程度不是由CAR-T细胞衍生的细胞因子介导, 而是由受体巨噬细胞衍生的IL-6、IL-1和一氧化氮(NO)介导。此外, Norelli等^[42]团队发现, 人单核细胞是CRS期间IL-1和IL-6的主要来源, 通过去除单核细胞或使用妥珠单抗阻断IL-6受体来预防此综合征。更有意义的是, IL-1受体阻滞剂anakinra能够同时消除CRS和神经毒性。常见CRS的临床表现有: 发热、低血压、缺氧、心动过速、肾功能不全、血清肝酶水平升高、出凝血水平异常^[13]。笔者团队发表了一篇个案报道: 一位弥漫大B细胞淋巴瘤患者在接受CD19 CAR-T细胞输注后出现胸腔CRS, 表现为胸水中细胞因子水平异常增高而血清的细胞因子水平在正常范围^[43]。总之, CRS是一把双刃剑, 具有潜在致死性风险, 因此临床医生的早期干预、合理的对症支持治疗显得极其重要。IL-6受体拮抗剂——托珠单抗(tocilizumab)

已在多个临床试验中用于减轻CAR-T输注后CRS相关毒性并取得良好疗效。此外, 糖皮质激素也被用于治疗严重威胁生命的CRS, 因其影响CAR-T细胞的扩增和体内维持, 推荐作为治疗CRS的二线治疗药物。*Leukemia*期刊在2017年发表了依鲁替尼与CD19 CAR-T细胞联用的体外研究显示, 依鲁替尼可以减轻来自CD19 CAR-T细胞和肿瘤细胞的炎症细胞因子, 如IL-6、IFN γ 、TNF α 、IL-2^[38]。近年来, 科学家们希望找到能预测CRS严重程度的某些生物学指标, 从而准确预测哪些患者在发病前可能发生严重CRS, 提高对CRS生物学的理解, 并可能指导未来的细胞因子导向治疗^[44]。

2.2 神经系统毒性

CAR-T输注后另一常见不良反应为神经系统毒性, 其病因尚不清楚。CAR-T治疗后常见神经系统毒性表现为: 谵妄、失语、震颤、步态不稳定、癫痫发作、面神经麻痹、全身性肌阵挛^[13,20,45]。虽然神经系统毒性经常出现在CRS的背景下, 但由CD19特异性CAR-T细胞引起的神经系统并发症也可与其CRS症状无关。费城儿童医院(CHOP)39名儿童B-ALL患者接受CAR-T细胞输注, 46%的患者出现 ≥ 3 级CRS, 33%的患者报告有脑病, 并且最常见的脑病出现在CRS的晚期以及发热已经消退之后, 提前使用托珠单抗并不能避免脑病的发生, 迟发性脑病的出现可能存在除CRS以外的病理机制^[46]。

2.3 其他常见并发症

嵌合抗原受体T细胞治疗后其他常见并发症包括B细胞发育不良、肿瘤溶解综合征、感染、毛细血管渗漏综合征等。CD19是一种细胞外糖蛋白, 其表达于正常B细胞和恶性B细胞克隆, 用CD19特异性CAR-T细胞成功治疗导致的正常B细胞发育不全可以通过使用静脉内免疫球蛋白输注来替代。Ramos等^[47]在CAR-T细胞靶向人免疫球蛋白的 κ 轻链的试验中, 靶向消除了正常 κ 轻链表达的B细胞, 保留了 λ 链表达的正常B细胞, 希望最小程度损伤体液免疫应答。肿瘤溶解综合征常与细胞因子释放综合征同时发生, 尤其对于输注时肿瘤负荷较高的患者, 其双重打击甚至是致命性的。此外, 本中心胡永仙等^[48]报道了1例DLBCL患者在接受CD19 CAR-T输注后, 第38天出现末端回肠穿孔的病例。解放军总医院的韩为东教授团队^[45]认为, 细胞输注后延迟出现的毒性与肿瘤负荷和肿瘤聚集点直接相关, 主

要为肿瘤溶解综合征、CRS、消化道大量出血和结外病灶周围的侵袭性肺炎。延迟出现的并发症给患者的长期生存带来了挑战,临床医生应对胃肠道累及淋巴瘤患者输注CAR-T细胞治疗应提高警惕,在CAR-T细胞输注前降低肿瘤负荷。

3 靶向CD19以外其他类型CAR-T细胞在B细胞淋巴瘤中的应用

在B细胞淋巴瘤中,除CD19以外,CD20、CD22、CD30、免疫球蛋白κ轻链等都是潜在靶点^[14,45,47,49-51],尤其是抗CD20的单克隆抗体药物利妥昔单抗的成功应用已充分证明了其有效性和安全性。2010年,Jensen等^[14]报道2例弥漫大B细胞淋巴瘤患者在接受自体造血干细胞移植后输注第一代抗CD20嵌合抗原受体,客观反应率和完全缓解率均为100%。2012年,Till等^[49]在*Blood*杂志中发表,2例难治复发的套细胞淋巴瘤患者和1例滤泡性淋巴瘤患者在接受第三代抗CD20嵌合抗原受体T细胞治疗后,前者分别获得了长达12个月和24个月的完全缓解,后者获得了完全的部分缓解。随后,中国学者发表了用第二代CD20 CAR-T治疗难治进展期的DLBCL患者,在6例可评估疗效的患者中,客观缓解率和完全缓解率分别为83%和17%^[45](表3),其中1位诊断为高危和预后差的患者在接受CAR-T细胞输注后获得了长达14个月的持续完全缓解,相关的毒性反应已在前文中阐述。2016年,一项II期研究结果显示,DLBCL和惰性非霍奇金淋巴瘤患者共11例在接受CD20 CAR-T

输注后,总体反应率达到了82%,55%的患者获得了完全缓解^[50]。同年,除CD20以外,Ramos等^[47]团队应用κ轻链嵌合抗原受体T细胞治疗7例非霍奇金淋巴瘤患者,客观反应率和完全缓解率分别为43%和29%。值得注意的是,难治复发B细胞淋巴瘤患者接受CAR-T细胞输注后复发率较高,近年来科学家和临床医生们采用双靶点嵌合抗原受体T细胞如(CD19/CD22或CD19/CD20 CAR-T)来减少肿瘤细胞的免疫逃逸,虽然在淋巴瘤中的相关临床治疗结果还未有文章报道。此外,Schneider等^[52]报道了在白血病小鼠模型中,CD19/CD20双特异性CAR-T细胞对白血病细胞的杀伤比单特异性CAR-T细胞更有效且毒性更低^[52]。

4 展望

对于最赋予治愈血液肿瘤希望的嵌合抗原受体T细胞治疗,目前全世界都进入了白热化研究阶段。如何促进CAR-T的疗效、降低CAR-T带来的不良反应是大家关注的问题,越来越多的创新技术与想法渐渐整合到了CAR-T治疗当中。例如,Sadelain团队^[53]利用CRISPR/Cas9基因编辑技术将CD19 CAR引入T细胞受体α链恒定区(T-cell receptor α constant, TRAC)基因座,这种修饰不仅导致外周血T细胞中的CAR表达均匀,而且增强T细胞效能,通过阻断刺激CAR的信号通路来减少效应T细胞的分化与耗竭。另一种改进CAR-T细胞治疗的方法是限定CD4⁺/CD8⁺ CAR-T比率为1:1的CD19 CAR-T细胞

表3 除CD19外其他CAR-T细胞治疗B细胞淋巴瘤已发表的主要临床试验数据

Table 3 Published principal clinic trials data of CAR- T cells targeting antigens other than CD19 for B cell lymphoma

| 年份 Year | 研究团队 Study | 肿瘤抗原 Antigen | 淋巴瘤亚型(n) Lymphoma subtypes (n) | 共刺激结构域 Co-stimulatory domain | 疗效 Curative effect |
|------------|------------------------|-----------------|--|---------------------------------|------------------------------------|
| 2010 | Jensen ^[14] | CD20 | DLBCL (2) | None | ORR: 2/2 (100%) CRR: 2/2 (100%) |
| 2012 | Till ^[49] | CD20 | MCL (2), FL (1) | CD28, 4-1BB | ORR: 3/3 (100%) CRR: 2/3 (67%) |
| 2014 | Wang ^[45] | CD20 | DLBCL (6) | 4-1BB | ORR: 5/6 (83%) CRR: 1/6 (17%) |
| 2016 | Zhang ^[50] | CD20 | DLBCL (8), FL (1), MCL (1), PCMZL (1) | 4-1BB | ORR: 9/11 (82%) CRR: 6/11 (55%) |
| 2016 | Ramos ^[47] | Klight chain | DLBCL (2), TFL (2), LPL (2), MCL (1) | CD28 | ORR: 3/7 (43%) CRR: 2/7 (29%) |

FL: 滤泡性淋巴瘤; PCMZL: 原发性皮肤边缘区淋巴瘤; DLBCL: 弥漫大B细胞淋巴瘤; MCL: 套细胞淋巴瘤; TFL: 转化滤泡性淋巴瘤; LPL: 淋巴浆细胞性淋巴瘤; ORR: 客观反应率; CRR: 完全缓解率。

FL: follicular lymphoma; PCMZL: primary cutaneous marginal-zone lymphoma; DLBCL: diffuse large-B-cell lymphoma; MCL: mantle-cell lymphoma; TFL: transformed follicular lymphoma; LPL: lymphoplasmacytic lymphoma; ORR: objective response rate; CRR: complete remission rate.

的免疫疗法, 该策略尚未与临床试验中使用含有不同部分CD4⁺和CD8⁺ T细胞的未分选细胞产物直接进行比较^[22]。除了已报道依鲁替尼可以增强CAR-T细胞对淋巴瘤的疗效^[39], 2017年, *Blood*杂志发表了PD-1抑制剂可以使CD19 CAR-T中PD-1和Eomes抑制性分子表达减少, 促进CD19 CAR-T细胞扩增, 逆转原先CAR-T细胞对淋巴瘤细胞不应答的免疫抑制状态^[54]。CAR-T细胞与PD-1/PD-L1抑制剂联用治疗淋巴瘤已在多篇文章中被报道^[55-56]。此外, 淋巴瘤小鼠体内试验证明来那度胺联合CD19 CAR-T细胞或CD20 CAR-T可以增强其杀伤肿瘤细胞疗效, 目前这种联用的生化机制还在进一步研究^[57]。此外, 除了CAR-T细胞与药物联用来增强CAR-T细胞的杀伤功能, 筛选输注特定表型的T淋巴细胞亚群从而延长CAR-T在体内的维持时间, 减少效应T细胞的分化对CAR-T的疗效也至关重要。总之, CAR-T技术蕴藏着无穷大的潜力, 其临床应用前景巨大, 可以预见在未来的道路上, CAR-T技术一定是机遇与挑战并存。随着CAR-T技术临床与基础研究的不断深入, CAR-T细胞必将在肿瘤生物细胞免疫治疗中发挥越来越重要的作用。

参考文献 (References)

- Turtle CJ, Riddell SR, Maloney DG. CD19-Targeted chimeric antigen receptor-modified T-cell immunotherapy for B-cell malignancies. *Clin Pharmacol Ther* 2016; 100(3): 252-8.
- Kochenderfer JN, Rosenberg SA. Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors. *Nat Rev Clin Oncol* 2013; 10(5): 267-76.
- Sadelain M. CAR therapy: the CD19 paradigm. *J Clin Invest* 2015; 125(9): 3392-400.
- Gill S, June CH. Going viral: chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematological malignancies. *Immunol Rev* 2015; 263(1): 68-89.
- Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett DM, Bunin NJ, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(16): 1507-17.
- Wei G, Hu Y, Pu C, Yu J, Luo Y, Shi J, *et al.* CD19 targeted CAR-T therapy versus chemotherapy in re-induction treatment of refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia: results of a case-controlled study. *Ann Hematol* 2018; 97(5): 781-9.
- Manson G, Houot R. Next-generation immunotherapies for lymphoma: one foot in the future. *Ann Oncol* 2018; 29(3): 588-601.
- Ghobadi A. Chimeric antigen receptor T cell therapy for non-Hodgkin lymphoma. *Curr Res Transl Med* 2018; 66(2): 43-9.
- Wang K, Wei G, Liu D. CD19: a biomarker for B cell development, lymphoma diagnosis and therapy. *Exp Hematol Oncol* 2012; 1(1): 36.
- Maher J. Clinical immunotherapy of B-cell malignancy using CD19-targeted CAR T-cells. *Curr Gene Ther* 2014; 14(1): 35-43.
- Ozawa K. Novel therapy for malignant lymphoma: adoptive immuno-gene therapy using chimeric antigen receptor (CAR)-expressing T lymphocytes. *Nihon Rinsho* 2014; 72(3): 547-52.
- Batlevi CL, Matsuki E, Brentjens RJ, Younes A. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies. *Nat Rev Clin Oncol* 2016; 13(1): 25-40.
- Brudno JN, Kochenderfer JN. Chimeric antigen receptor T-cell therapies for lymphoma. *Nat Rev Clin Oncol* 2018; 15(1): 31-46.
- Jensen MC, Popplewell L, Cooper LJ, DiGiusto D, Kalos M, Ostberg JR, *et al.* Antitransgene rejection responses contribute to attenuated persistence of adoptively transferred CD20/CD19-specific chimeric antigen receptor redirected T cells in humans. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16(9): 1245-56.
- Lichtman EI, Dotti G. Chimeric antigen receptor T-cells for B-cell malignancies. *Transl Res* 2017; 187: 59-82.
- Jain MD, Davila ML. Concise review: emerging principles from the clinical application of chimeric antigen receptor T cell therapies for B cell malignancies. *Stem Cells* 2018; 36(1): 36-44.
- Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, Dudley ME, Stetler-Stevenson M, Feldman SA, *et al.* Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood* 2010; 116(20): 4099-102.
- Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, Wilson WH, Spaner DE, Maric I, *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. *Blood* 2012; 119(12): 2709-20.
- Kochenderfer JN, Dudley ME, Carpenter RO, Kassim SH, Rose JJ, Telford WG, *et al.* Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2013; 122(25): 4129-39.
- Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, Somerville RP, Carpenter RO, Stetler-Stevenson M, *et al.* Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol* 2015; 33(6): 540-9.
- Wang X, Popplewell LL, Wagner JR, Naranjo A, Blanchard MS, Mott MR, *et al.* Phase 1 studies of central memory-derived CD19 CAR T-cell therapy following autologous HSCT in patients with B-cell NHL. *Blood* 2016; 127(24): 2980-90.
- Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, Hudecek M, Pender B, Robinson E, *et al.* Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8⁺ and CD4⁺ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. *Sci Transl Med* 2016; 8(355): 355ra116.
- Brudno JN, Somerville RPT, Shi V, Rose JJ, Halverson DC, Fowler DH, *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 Clin Oncol* 2016; 34(10): 1112-21.
- Locke FL, Neelapu SS, Bartlett NL, Siddiqi T, Chavez JC, Hosing CM, *et al.* Phase 1 results of ZUMA-1: a multicenter

- study of KTE-C19 anti-CD19 CAR T cell therapy in refractory aggressive lymphoma. *Mol Ther* 2017; 25(1): 285-95.
- 25 Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu TY, Shi V, Bot A, Rossi J, *et al.* Lymphoma remissions caused by anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells are associated with high serum interleukin-15 levels. *J Clin Oncol* 2017; 35(16): 1803-13.
- 26 Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, Nasta SD, Mato AR, Anak O, *et al.* Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 2017; 377(26): 2545-54.
- 27 Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos DB, Jacobson CA, *et al.* Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2017; 377(26): 2531-44.
- 28 Agace WW. Tissue-tropic effector T cells: generation and targeting opportunities. *Nat Rev Immunol* 2006; 6(9): 682-92.
- 29 Urban D, Thanabalasingam U, Stibenz D, Kaufmann J, Meyborg H, Fleck E, *et al.* CD40/CD40L interaction induces E-selectin dependent leukocyte adhesion to human endothelial cells and inhibits endothelial cell migration. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404(1): 448-52.
- 30 Curran KJ, Seinstra BA, Nikhamin Y, Yeh R, Usachenko Y, van Leeuwen DG, *et al.* Enhancing antitumor efficacy of chimeric antigen receptor T cells through constitutive CD40L expression. *Mol Ther* 2015; 23(4): 769-78.
- 31 Enblad G, Karlsson H, Loskog AS. CAR T-cell therapy: the role of physical barriers and immunosuppression in lymphoma. *Hum Gene Ther* 2015; 26(8): 498-505.
- 32 Onea AS, Jazirehi AR. CD19 chimeric antigen receptor (CD19 CAR)-redirected adoptive T-cell immunotherapy for the treatment of relapsed or refractory B-cell Non-Hodgkin's Lymphomas. *Am J Cancer Res* 2016; 6(2): 403-24.
- 33 Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, *et al.* Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2013; 368(16): 1509-18.
- 34 Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, Cui YK, Delbrook C, Feldman SA, *et al.* T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2015; 385(9967): 517-28.
- 35 Wang J, Hu Y, Huang H. Acute lymphoblastic leukemia relapse after CD19-targeted chimeric antigen receptor T cell therapy. *J Leukoc Biol* 2017; 102(6): 1347-56.
- 36 Evans AG, Rothberg PG, Burack WR, Huntington SF, Porter DL, Friedberg JW, *et al.* Evolution to plasmablastic lymphoma evades CD19-directed chimeric antigen receptor T cells. *Br J Haematol* 2015; 171(2): 205-09.
- 37 Arita A, McFarland DC, Myklebust JH, Parekh S, Petersen B, Gabrilove J, *et al.* Signaling pathways in lymphoma: pathogenesis and therapeutic targets. *Future Oncol* 2013; 9(10): 1549-71.
- 38 Ruella M, Kenderian SS, Shestova O, Klichinsky M, Melenhorst JJ, Wasik MA, *et al.* Kinase inhibitor ibrutinib to prevent cytokine-release syndrome after anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells for B-cell neoplasms. *Leukemia* 2017; 31(1): 246-8.
- 39 Ruella M, Kenderian SS, Shestova O, Fraietta JA, Qayyum S, Zhang Q, *et al.* The addition of the BTK inhibitor ibrutinib to anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells (CART19) improves responses against mantle cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2016; 22(11): 2684-96.
- 40 Karlsson H, Lindqvist AC, Fransson M, Paul-Wetterberg G, Nilsson B, Essand M, *et al.* Combining CAR T cells and the Bcl-2 family apoptosis inhibitor ABT-737 for treating B-cell malignancy. *Cancer Gene Ther* 2013; 20(7): 386-93.
- 41 Giavridis T, van der Stegen SJC, Eyquem J, Hamieh M, Piersigilli A, Sadelain M. CAR T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade. *Nat Med* 2018; 24(6): 731-38.
- 42 Norelli M, Camisa B, Barbiera G, Falcone L, Purevdorj A, Genua M, *et al.* Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokine-release syndrome and neurotoxicity due to CAR T cells. *Nat Med* 2018; 24(6): 739-48.
- 43 Ding L, Hu Y, Zhao K, Wei G, Wu W, Wu Z, *et al.* Pleural cavity cytokine release syndrome in CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cell therapy: A case report. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(7): e9992.
- 44 Teachey DT, Lacey SF, Shaw PA, Melenhorst JJ, Maude SL, Frey N, *et al.* Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discov* 2016; 6(6): 664-79.
- 45 Wang Y, Zhang WY, Han QW, Liu Y, Dai HR, Guo YL, *et al.* Effective response and delayed toxicities of refractory advanced diffuse large B-cell lymphoma treated by CD20-directed chimeric antigen receptor-modified T cells. *Clin Immunol* 2014; 155(2): 160-75.
- 46 Fitzgerald JC, Weiss SL, Maude SL, Barrett DM, Lacey SF, Melenhorst JJ, *et al.* Cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Crit Care Med* 2017; 45(2): e124-e31.
- 47 Ramos CA, Savoldo B, Torrano V, Ballard B, Zhang H, Dakhova O, *et al.* Clinical responses with T lymphocytes targeting malignancy-associated kappa light chains. *J Clin Invest* 2016; 126(7): 2588-96.
- 48 Hu Y, Wang J, Pu C, Zhao K, Cui Q, Wei G, *et al.* Delayed terminal ileal perforation in a relapsed/refractory B-cell lymphoma patient with rapid remission following chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Cancer Res Treat* 2018; 50(4): 1462-6.
- 49 Till BG, Jensen MC, Wang JJ, Qian XJ, Gopal AK, Maloney DG, *et al.* CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. *Blood* 2012; 119(17): 3940-50.
- 50 Zhang WY, Wang Y, Guo YL, Dai HR, Yang QM, Zhang YJ, *et al.* Treatment of CD20-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in patients with relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma: an early phase IIa trial report. *Signal Transduct Target Ther* 2016; 1: 16002.
- 51 Wang CM, Wu ZQ, Wang Y, Guo YL, Dai HR, Wang XH, *et al.* Autologous T cells expressing CD30 chimeric antigen receptors for relapsed or refractory hodgkin lymphoma: an open-label phase I trial. *Clin Cancer Res* 2017; 23(5): 1156-66.
- 52 Schneider D, Xiong Y, Wu D, Nille V, Schmitz S, Haso W, *et al.* A tandem CD19/CD20 CAR lentiviral vector drives on-target and off-target antigen modulation in leukemia cell lines. *J*

- Immunother Cancer 2017; 5: 42.
- 53 Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, van der Stegen SJ, Hamieh M, Cunanan KM, *et al.* Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection. *Nature* 2017; 543(7643): 113-7.
- 54 Chong EA, Melenhorst JJ, Lacey SF, Ambrose DE, Gonzalez V, Levine BL, *et al.* PD-1 blockade modulates chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells: refueling the CAR. *Blood* 2017; 129(8): 1039-41.
- 55 Goodman A, Patel SP, Kurzrock R. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in B-cell lymphomas. *Nat Rev Clin Oncol* 2017; 14(4): 203-20.
- 56 Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science* 2018; 359(6382): 1350-5.
- 57 Otahal P, Prukova D, Kral V, Fabry M, Vockova P, Lateckova L, *et al.* Lenalidomide enhances antitumor functions of chimeric antigen receptor modified T cells. *Oncoimmunology* 2016; 5(4): e1115940.

中国细胞生物学学报