

• 综述 •

嵌合抗原受体 T 细胞免疫疗法在复发 难治非霍奇金淋巴瘤中的应用*

孟静姝¹ 徐洋² 张利玲¹

[关键词] 嵌合抗原受体;复发难治淋巴瘤;免疫治疗

doi:10.13201/j.issn.1004-2806.2019.03.017

[中图分类号] R733.4 [文献标志码] A

Application of chimeric antigen receptor T cell immunotherapy in relapsed/refractory non-Hodgkin lymphoma

Summary Lymphoma has drawn much attention as one of the most common malignant tumors in China over the past years. With the development of treatment methods including chemotherapy, radiotherapy, hematopoietic stem cell transplantation, molecular targeted drugs and immune agents in the clinical practice, the survival of lymphoma patients has been significantly improved. However, still almost 30% to 40% patients died finally with relapsed/refractory lymphoma. As one of the adoptive cell treatments, Chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) immunotherapy developed rapidly in the past two decades. The remarkable therapeutic efficacy of CAR-T in B-cell line leukemia as well as certain lymphoma subtypes provides potential for treating relapsed/refractory lymphoma. In this review, we will discuss the progress, adverse events, management strategy, limitation and clinical application prospects of CAR-T immunotherapy.

Key words chimeric antigen receptor; relapsed/refractory lymphoma; immunotherapy

目前我国恶性淋巴瘤的发病率逐年上升^[1]。虽然随着新的化疗方案、放疗技术、抗 CD20 单抗克隆抗体以及一些免疫调节药物的应用,淋巴瘤患者的生存得到了显著提高,但仍有相当一部分患者终因耐药,治疗无效病情进展死亡。嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)免疫疗法与其他免疫治疗方法类似,是利用基因工程技术,通过体外修饰患者自身免疫细胞并进行扩增,最终回输至患者体内,使其能够识别并作用于肿瘤细胞从而发挥杀灭清除肿瘤的作用。目前,已有大量临床试验研究表明, CAR-T 免疫疗法在复发难治淋巴瘤中取得了令人鼓舞的疗效,为复发难治淋巴瘤的治疗提供了新的可能。但在大规模应用于临床治疗前,该疗法同样面临着各种挑战。本文就目前国际上报道的 CAR-T 免疫疗法在复发难治性淋巴瘤中的进展做一综述,并讨论该疗法的不良反应及应对策略、局限性及应用前景。

1 CAR-T 的结构

CAR 是一种经过基因工程技术获得的融合蛋白,其设计模拟了 T 细胞受体(T-cell receptor, TCR)的结构,通过修饰 T 淋巴细胞并进行体外扩增,回输至患者体内,使其能够靶向识别肿瘤细胞

表面的特异性抗原,直接激活 T 细胞并杀伤肿瘤细胞。其优点在于能够特异性识别任何肿瘤细胞表面的特异性抗原,而无需抗原处理和提呈,故有主要组织相容性复合物非限制性的特点。CAR-T 一般由胞外抗原结合区、跨膜区以及胞内信号转导区三部分构成。胞外抗原结合区的抗原识别位点,通常是由来自单克隆抗体的单链抗体(single-chain variable fragment, scFv)构成。胞外抗原结合区直接识别肿瘤相关抗原,并通过链接胞内外的跨膜区进行信号转导。其跨膜区可以由同源或者异源的 CD3、CD4、CD8 或者 CD28 等二聚体膜蛋白组成。胞内信号转导区一般是由免疫受体酪氨酸活化基序 TCR/CD3- ζ 链构成,可联合 1 个或多个共刺激信号区如 CD28、4-1BB、OX40-MyD88、CD244 等构成,向 T 细胞传递活化信号。因为 CAR 的结构域构成差异,其对免疫细胞的激活及所产生效应能力也有所不同^[2-3]。

2 CAR-T 在复发难治性非霍奇金淋巴瘤中的相关研究进展

现如今研究比较成熟的是针对 B 细胞淋巴瘤表面 CD19 抗原的 CAR-T 免疫疗法,目前已历经四代发展。CD19 因具有在 B 细胞肿瘤表面高表达、是人类 B 细胞发育所必须以及不表达于 B 细胞系之外的细胞等特点,使其成为治疗 B 细胞肿瘤的一个理想靶点。最初使用一代 CAR-T 治疗肿瘤的结果不尽如人意。第一代 CAR 仅将单克隆抗体的

* 基金项目:国家自然科学基金(No:81672940)

¹ 华中科技大学同济医学院附属协和医院肿瘤医院中心(武汉, 430022)

² 华中科技大学同济医学院附属协和医院肝胆外科
通信作者:张利玲, E-mail: lily-1228@hotmail.com

scFv 和胞内信号转导 TCR/CD3- ζ 链结构域融合形成嵌合受体,其细胞毒性、增殖能力以及存活时间有限,不能发挥持续的抗肿瘤效用,这可能与仅仅依赖细胞因子 IL-2 得以活化增殖有关。

目前临床研究中使用的大部分为第二代 CAR-T,即在 TCR/CD3- ζ 的基础上增加共刺激分子,提高 T 细胞的细胞毒性、增殖能力以及延长 T 细胞在体内的存活时间^[4]。随着 CD28 共刺激分子的加入,美国国立癌症研究所(NCI)的 Kochenderfer 等^[5]于 2010 年报道了首例接受 CD19-CAR-T 治疗后获得缓解的非霍奇金淋巴瘤患者,该滤泡性淋巴瘤患者在接受治疗后部分缓解并持续缓解 32 周,拉开了 CD19-CAR-T 在复发难治性淋巴瘤中应用的序幕。随后,Kochenderfer 等^[6-7]继续研究证实了 CD19-CAR-T 在治疗复发难治性非霍奇金淋巴瘤患者中的安全有效性。随后,美国 KITE 制药公司开始联合 NCI 在美国进行 I/II 期多中心临床试验 ZUMA-1。该研究共入组 111 例曾至少接受过 2 种或 2 种以上化疗的非霍奇金淋巴瘤患者,最终有 101 例患者在使用低剂量环磷酰胺联合氟达拉滨(Flu/Cy)化疗预处理方案后,接受单次剂量 200 万/Kg CD19-CAR-T(axi-xel,KTE-C19)输注。结果显示,总缓解率(ORR)高达 82%,完全缓解(CR)率达 54%;中位随访时间 15.6 个月,42%的患者依然维持缓解,40%的患者持续 CR;18 个月的总生存率为 52%^[8]。该产品目前已通过美国 FDA 批准,用于罹患复发难治性弥漫大 B 细胞淋巴瘤,原发纵膈 B 细胞淋巴瘤及转化性滤泡性淋巴瘤等高度恶性淋巴瘤患者的治疗。这也是全球首个获批适用于淋巴瘤的 CAR-T 疗法,是淋巴瘤治疗领域里程碑式的突破。

此外,加入了 4-1BB 共刺激分子的二代 CD19-CAR-T 临床试验也在进行中。Schuster 等^[9]报道了结合 4-1BB 共刺激域的 CD19-CAR-T(CTL019)治疗的 28 例复发难治性非霍奇金淋巴瘤患者的研究结果。该研究显示,所有接受 CTL019 输注的患者 ORR 为 64%,43%的弥漫大 B 细胞淋巴瘤患者(DLBCL)达 CR,71%的滤泡性淋巴瘤(FL)达 CR;中位随访时间 28.6 个月,86%的 DLBCL 患者及 89%的 FL 患者在获得缓解后可维持疗效。基于此,诺华制药公司联合宾夕法尼亚大学展开的全球多中心 II 期临床研究 JULIET 也同样在进行中。该研究针对先前接受过 2 种及以上化疗方案,但疾病仍然出现进展,或是无法采用自体干细胞移植手段治疗的成人复发难治性 DLBCL 患者。全球共入组 144 例患者,99 例患者最终接受 CAR-T 治疗,其中 73%患者使用 Flu/Cy 预处理方案,19%进行苯达莫司汀预处理,一次性输注 CTL019。根据 Schuster 在美国血液年会上公布的数据,接受治疗

的 81 例美国 DLBCL 患者中,最佳 ORR 为 53%,CR 率为 40%;3 个月随访 ORR 为 38%,CR 率为 32%;6 个月随访 ORR 为 37%,CR 率为 30%,首次应答后 6 个月的无复发概率为 74%,6 个月总生存(OS)率为 65%。

同时,Turtle 等^[10]报道了由 Juno 公司联合 FHCRC(Fred Hutchinson Cancer Research Center)研究的另一种结合 4-1BB 刺激信号区的 CD19-CAR-T 产品,即 JCAR017 用于治疗复发难治性非霍奇金淋巴瘤患者的前期临床研究。不同于其他 CAR-T,JCAR017 采用固定比例(1 : 1)的 CD4/CD8 T 细胞组合。该研究入组 32 例非霍奇金淋巴瘤患者,采用以环磷酰胺为基础的伴或不伴氟达拉滨化疗的预处理方案,结果显示联合了氟达拉滨预处理的患者较单纯进行环磷酰胺预处理的患者缓解率要高(ORR 72% : 50%;CR 率 50% : 8%)。基于此,Juno 公司联合多家癌症中心进行的 I 期临床研究(Transcend NHL 001)全部采用环磷酰胺联合氟达拉滨化疗预处理,一次性输注 CAR-T 5 000 万或 1 亿/Kg。根据 Abrammsso 在美国临床肿瘤协会(ASCO)上公布的研究结果数据显示,在所有接受治疗的 DLBCL 患者中,最佳 ORR 为 76%,CR 率为 52%;3 个月 ORR 为 51%,CR 率为 39%。对其中 ECOG 0~1 分的 DLBCL 患者进行核心分析,发现缓解率与输注剂量存在相关性,5 000 万/Kg 剂量 ORR 为 58%,CR 率为 42%;1 亿/Kg 剂量 ORR 为 78%,CR 率为 56%。目前,JCAR017 的多中心临床试验正在进行中。

研究发现,CD28 作为共刺激分子时,T 细胞杀伤作用强,但维持的时间很短;4-1BB 作为共刺激分子时,维持时间长,但 T 细胞杀伤作用很弱,因此三代 CAR-T 应运而生,采用 2 个及以上共刺激信号区域,以期待提高 T 细胞的增殖及杀伤作用。但是目前为止并没有报道证明三代 CAR-T 较二代有更好的临床治疗效果^[11]。有关三代和二代 CD19-CAR-T 在非霍奇金淋巴瘤中疗效对比的临床研究正在进行中^[12]。

第四代 CAR-T 除包含了多个共刺激域之外,还包括了具备自杀机制或细胞因子等功能的结构。例如整合了凋亡蛋白酶 9 基因,在肿瘤细胞被消灭或 T 细胞活化过强时诱导细胞凋亡^[13-14]。Pule 等(2005)也有报道整合 IL-12 基因在 CAR-T 细胞活化后释放细胞因子,招募先天性免疫细胞如巨噬细胞及自然杀伤细胞(NK 细胞)增强免疫应答。

3 CAR-T 在临床应用中的不良反应及应对策略

3.1 细胞因子释放综合征

CAR-T 输注后最常见的严重副反应为细胞因子释放综合征(cytokine-release syndrome, CRS),常发生于输注后数小时至 14 天内^[15]。关于 CRS

没有明确定义,是一类免疫激活相关不良事件的统称。当识别肿瘤细胞表面特异性抗原后,CAR-T被激活并大量释放IFN- γ 、IL-6、IL-10等炎症细胞因子,并进一步促进CAR-T的增殖活化及抗肿瘤效应。然而,过量细胞因子的释放会引起严重的CRS。虽然目前无直接证据表明CAR-T的抗肿瘤效能与CRS的严重程度相关,但在临床试验中接受输注的患者或多或少会出现CRS^[16]。研究显示肿瘤负荷与CRS严重程度相关,分次输注CAR-T细胞较单次大量输注所引起的CRS反应轻^[17-18]。其临床表现包括发热、寒战、乏力、恶心、心动过速、低血压、呼吸困难等。NCI的Neelapu等推荐使用Lee等^[15]关于CRS的分级标准,并联合常见不良反应术语标准(CTCAE v4.03)进行器官毒性分级^[19]。目前该标准已经被广泛应用于各大临床试验中用来评价CAR-T治疗的安全性^[20]。上述关于CD19-CAR-T的各临床CRS发生率为32%~93%,3/4级CRS发生率为2%~23%^[21-22]。实时定量监测血清中细胞因子含量有助于评估CRS的严重程度并及时做出治疗对策。血清CRP水平与IL-6呈正相关,为CRS发生、发展的重要检测指标^[10,16,23]。严重的CRS(3/4级)有可能危及生命,因此优化治疗方案尤为必要。Tocilizumab作为IL-6受体阻滞剂,可以立即缓解患者症状^[17,24-25]。因此,tocilizumab已被列为治疗严重CRS的一线治疗药物^[15,24]。关于皮质醇类抗炎药物的应用存在争议,有研究认为激素类药物的使用将会对CAR-T的扩增及体内抗肿瘤效应产生影响。NCI推荐3/4级CRS患者使用皮质醇类药物,在使用tocilizumab无法控制的持续2级CRS时可考虑给予皮质醇类药物。同时,支持治疗如液体复苏、解热镇痛、抗感染等也应被积极的应用^[19]。

3.2 神经系统毒性

神经系统毒性(CAR-T-cell-related encephalopathy syndrome,CRES)可与CRS同时发生,也可发生于CRS之后。临床表现为谵妄、失语、短暂性脑功能障碍、脑水肿等。CRES的发生率比CRS相对低,在上述临床数据中,其发生率为20%~65%,其中3/4级为7%~28%。典型的CRES通常持续2~4d,也可持续数小时至数周。CRES通常可逆,很少致死。关于CRES的发生机制并不明确,可能与细胞因子及T细胞进入中枢神经系统产生免疫损伤相关^[17,21,23,26]。Neelapu等^[19]认为CTCAE v4.03的分级标准不能够充分评估CAR-T所特有的急性神经功能缺陷的相关症状,提出使用CARTOX-10分测评法进行分级。推荐使用抗IL-6药物治疗伴有CRS的所有CRES患者,认为皮质醇类药物是2级及以上CRES不伴有CRS患者的首选治疗;并应根据病情选用适当的抗癫痫

药物。

3.3 脱靶效应

当肿瘤细胞和正常组织表达同一抗原时,CAR-T无法区分从而导致正常组织受到攻击,即为脱靶效应。在非霍奇金淋巴瘤治疗中,CD19也同样表达在正常B细胞表面,在输注CD19-CAR-T后,正常的B细胞被攻击,产生靶点毒性导致继发性的B细胞缺乏或成熟障碍,伴随持续的低免疫球蛋白血症。静脉输注免疫球蛋白的替代治疗可以用来避免抗体分泌障碍引起的感染^[5-6]。

4 CAR-T在复发难治性淋巴瘤中的展望

本文着重回顾了CD19-CAR-T在复发难治性非霍奇金淋巴瘤中的研究进展。目前,FDA已经批准Kite公司的产品用于治疗复发难治性非霍奇金淋巴瘤。但我国目前尚无相关产品获批。据统计,我国是目前注册开展CAR-T治疗研究最多的国家^[27]。虽然CAR-T的相关临床研究结果令人欣慰,但距大规模应用于临床治疗还有一定距离,目前仍处于起步阶段。CAR-T的制备工艺复杂,且不同研究厂家制备过程中的载体类型、培养条件、CAR的设计等均存在差异,如何大批量且高效的完成CAR-T的标准化制备还有待解决。因此,需要更多的临床试验来比对各公司生产的CAR-T临床治疗效果的优劣。CAR-T与传统的免疫治疗相比具有靶向性更强、作用范围更广、效果更持久、可操纵性强等优势,但其在临床应用中出现的副反应的预防及治疗需要更多科学研究的探索。我们有信心期待CAR-T治疗更安全、更有效的应用于临床,为复发难治性非霍奇金淋巴瘤患者带来福音。

参考文献

- [1] Chen W,Zheng R,Baade PD,et al. Cancer statistics in China,2015[J]. CA Cancer J Clin,2016,66:115-132.
- [2] Hudecek M,Lupo-Stanghellini MT,Kosasih PL,et al. Receptor affinity and extracellular domain modifications affect tumor recognition by ROR1-specific chimeric antigen receptor T cells[J]. Clin Cancer Res,2013,19:3153-3164.
- [3] Zhao Z,Condomines M,van der Stegen SJC,et al. Structural design of engineered costimulation determines tumor rejection kinetics and persistence of CAR T cells[J]. Cancer Cell,2015,28:415-428.
- [4] Milone MC,Fish JD,Carpenito C,et al. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo[J]. Mol Ther,2009,17:1453-1464.
- [5] Kochenderfer JN,Wilson WH,Janik JE,et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a

- patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19 [J]. *Blood*, 2010, 116: 4099—4102.
- [6] 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: 2709—2720.
- [7] Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, 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]. *J Clin Oncol*, 2015, 33: 540—549.
- [8] Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377: 2531—2544.
- [9] Schuster SJ, Svoboda J, Chong EA, et al. Chimeric antigen receptor T cells in refractory B-cell lymphomas [J]. *N Engl J Med*, 2017, 377: 2545—2554.
- [10] Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, et al. Immunotherapy of non-Hodgkin's lymphoma with a defined ratio of CD8+ and CD4+ CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T cells [J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8: 355ra116.
- [11] Zhong XS, Matsushita M, Plotkin J, et al. Chimeric antigen receptors combining 4-1BB and CD28 signaling domains augment PI3kinase/AKT/Bcl-XL activation and CD8+ T cell-mediated tumor eradication [J]. *Mol Ther*, 2010, 18: 413—420.
- [12] Ruella M, June CH. Chimeric antigen receptor T cells for B cell neoplasms; Choose the right CAR for you [J]. *Curr Hematol Malig Rep*, 2016, 11: 368—384.
- [13] Budde LE, Berger C, Lin Y, et al. Combining a CD20 chimeric antigen receptor and an inducible caspase 9 suicide switch to improve the efficacy and safety of T cell adoptive immunotherapy for lymphoma [J]. *PLoS One*, 2013, 8: e82742.
- [14] Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365: 1673—1683.
- [15] Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome [J]. *Blood*, 2014, 124: 188—195.
- [16] Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, et al. Toxicity and management in CAR T-cell therapy [J]. *Mol Ther Oncolytics*, 2016, 3: 16011.
- [17] Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2013, 368: 1509—1518.
- [18] Brentjens RJ, Riviere I, Park JH, et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias [J]. *Blood*, 2011, 118: 4817—4828.
- [19] Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy—assessment and management of toxicities [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15: 47—62.
- [20] Makita S, Yoshimura K, Tobinai K. Clinical development of anti-CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108: 1109—1118.
- [21] Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia [J]. *N Engl J Med*, 2014, 371: 1507—1517.
- [22] Kochenderfer JN, Somerville RPT, Lu T, et al. Lymphoma remissions caused by anti-CD19 chimeric antigen receptor T cells are associated with high serum interleukin-15 levels [J]. *J Clin Oncol*, 2017, 35: 1803—1813.
- [23] Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial [J]. *Lancet*, 2015, 385: 517—528.
- [24] Davila ML, Sauter C, Brentjens R. CD19-targeted T cells for hematologic malignancies; clinical experience to date [J]. *Cancer J*, 2015, 21: 470—474.
- [25] Maude SL, Barrett D, Teachey DT, et al. Managing cytokine release syndrome associated with novel T cell-engaging therapies [J]. *Cancer J*, 2014, 20: 119—122.
- [26] Hu Y, Sun J, Wu Z, et al. Predominant cerebral cytokine release syndrome in CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cell therapy [J]. *J Hematol Oncol*, 2016, 9: 70.
- [27] June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer [J]. *Science*, 2018, 359: 1361—1365.

(收稿日期: 2018-06-11)