

急性 B 淋巴细胞白血病 CD19 CAR-T 细胞治疗后 阳性复发的机制和挽救性治疗策略

卢聪 徐佳 梅恒

华中科技大学同济医学院附属协和医院血液科,湖北省肿瘤疾病细胞治疗临床医学研究中心,武汉 430022

通信作者:梅恒,Email:hmei@hust.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(82330005)

DOI:10.3760/cma.j.cn121090-20240701-00242

【摘要】 尽管嵌合抗原受体 T(CAR-T)细胞疗法改变了复发/难治急性 B 淋巴细胞白血病(R/R B-ALL)的治疗格局,仍然有 50% 患者在治疗后 1 年内复发,且 60% 左右为阳性复发。导致 CAR-T 细胞治疗复发的机制主要与肿瘤异质性、CAR-T 细胞自身功能障碍和体内扩增及持续性不佳以及抑制性免疫微环境相关。这篇综述旨在探讨改善 CAR-T 治疗后复发或进展患者结局的挽救性策略,包括同一靶点二次 CAR-T 细胞治疗或者更换靶点回输,联合免疫检查点抑制剂,新型靶向药物包括新型单克隆抗体、抗体药物偶联物以及双特异性抗体等应用,使用小分子化合物逆转 CAR-T 耐药等,阐述了可能的相关机制并列出了相关的临床资料。经过对患者 CAR-T 治疗失败后的复杂情况探讨,我们认为,这些药物在用于复发时的挽救性治疗、CAR-T 治疗后维持治疗或在 CAR-T 细胞回输前或者回输时联合治疗时,在一定程度上可减少阳性复发或克服耐药,但改善患者的长期生存仍然面临巨大挑战。

The mechanisms and salvage treatment strategies underlying positive relapse following CD19 CAR-T cell therapy in B-acute lymphoblastic leukemia

Lu Cong, Xu Jia, Mei Heng

Institute of Hematology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Hubei Clinical Medical Center of Cell Therapy for Neoplastic Disease, Wuhan 430022, China

Corresponding author: Mei Heng, Email: hmei@hust.edu.cn

【Abstract】 Approximately 50% of patients suffering from relapsed/refractory B-acute lymphoblastic leukemia (R/R B-ALL), experience relapse within one year, with around 60% of these relapses being antigen-positive, despite the transformative impact of chimeric antigen receptor(CAR) T cell therapy. The mechanisms underlying relapse are primarily associated with tumor heterogeneity, CAR-T cell dysfunction, suboptimal in vivo expansion and persistence, and an inhibitory immune microenvironment. This review aims to investigate salvage strategies designed to enhance outcomes for patients undergoing relapse or disease progression following the CAR-T cell therapy. These strategies include a second CAR-T cell infusion that targets either the same antigen or an alternative target, the administration of immune checkpoint inhibitors, and the utilization of novel targeted therapies including monoclonal antibodies, antibody-conjugated drugs and small molecule compounds aimed at mitigating CD19-positive relapse or overcoming CAR-T cell resistance. Nevertheless, achieving improved long-term survival for these patients continues to be challenging.

抗 CD19 嵌合抗原受体 T(chimeric antigen receptor T, CAR-T)细胞治疗显著提升复发/难治急性 B 淋巴细胞白血病(R/R B-Acute lymphoblastic leukemia, B-ALL)的疗效,但治疗后短期复发严重影响患者的长期生存。目前关于 CAR-T 治疗后复发主要可分为三种类型:CD19 阳性(CD19pos)复发、CD19 阴性(CD19neg)复发以及谱系转换^[1]。研究表明,B-ALL 患者接受 CD19 CAR-T 治疗后复发中 CD19pos 比例高达 59% ~ 92%^[2-5]。尽管目前 CAR-T 桥接基因造血干

细胞移植是减少复发的有力手段,但临床中存在 CAR-T 前移植史、移植相关严重并发症及多线治疗导致的严重免疫缺陷等问题,使得部分患者无法从桥接移植中获益。因此阐明阳性复发机制和寻找有效的复发后治疗策略是目前亟待解决的问题。

在本综述中,我们总结了目前 CAR-T 细胞治疗后阳性复发的可能机制和复发后可供选用的治疗方案。影响 CD19 CAR-T 患者复发风险的因素包括肿瘤负荷、缓解程

度、CAR 结构和 CAR-T 细胞在体内的扩增和持续性等。CAR-T 细胞二次输注、使用包括双特异性抗体在内的小分子药物和其他挽救性策略仍然可以给这部分患者带来希望。

一、阳性复发的机制探讨

(一) 患者回输前疾病情况

CD19pos 和 CD19neg 复发的决定因素尚不明确。在一项研究中,对 163 例接受 CD19 CAR-T 治疗后复发的患者进行了回输前相关因素的分析^[6],有 83 例(50.9%)为 CD19 pos。多变量 Cox 回归模型中,≥2 次既往缓解是唯一与 CD19 pos 复发风险增加的独立相关变量。然而 4-1BB CAR 结构,既往 Blinatumomab 治疗无应答和 CAR-T 治疗前高肿瘤负荷(>5% 原始细胞)与 CD19neg 复发风险增加相关。Dourthe 等^[7]设计了前瞻性队列研究,共纳入了 51 例接受 Tisagenlecleucel 输注的儿童和年轻人 R/R B-ALL 患者。数据显示,清淋前低肿瘤负荷($P=0.03$)和过早恢复的 B 细胞缺乏(B-Cell aplasia, BCA)($P=0.004$)与 CD19pos 复发风险增加相关。所有患者在第 28 天均同时发生 BCA,至 BCA 恢复的中位时间为 7.7 个月。单变量分析 BCA 恢复唯一预测因素是清淋前低肿瘤负荷。

(二) CAR-T 细胞功能及体内扩增存续能力

1. 患者自身来源的 T 细胞质量不佳:T 细胞质量是 CAR-T 细胞持久性的决定因素之一,既往多线化疗及放疗可无差别地对免疫细胞进行攻击进而影响其功能。化疗药物和放疗可导致 T 细胞凋亡、抑制 T 细胞亚群增殖和分化,从而降低 T 细胞质量,如含有氯法拉滨或阿霉素的化疗可造成淋巴细胞减少^[8]。研究表明,富集早期谱系细胞的 T 细胞群体扩增更好,而在儿童 ALL 和非霍奇金淋巴瘤(NHL)患者化疗期间对 CAR-T 细胞扩增和记忆表型的研究发现,环磷酸胺和阿糖胞苷会耗尽早期谱系细胞,从而导致 CAR-T 细胞治疗不佳^[8]。

2. CAR-T 细胞亚群:多项研究表明 CAR-T 细胞亚群的比例对 CAR-T 长期存续及患者预后具有重要影响。复发患者中的 CAR-T 细胞缺乏中央记忆(CD45RO⁺、CD62L⁺、CD95⁺)或干细胞样记忆 T 细胞(CD45RA⁺、CD62L⁺、CD95⁺)^[9]。Bai 等^[10]通过单细胞测序的方法分析了费城儿童医院 R/R B-ALL 的 1/2 期 CD19 CAR-T 细胞临床试验中的 12 例儿童和年轻人患者,发现 CD19pos 复发与 Th2 功能缺陷、CAR-T 细胞维持早期记忆状态的能力不足有关,长期完全缓解(CR)患者中编码 Th2 功能的所有主要基因,包括 IL-13、IL-5、IL-4 和上游调节因子 GATA3 均上调。

最近一项对大 B 细胞淋巴瘤(LBCL)患者细胞输注产品研究发现,Tisa-cel 的疗效与产品中的 CD8⁺中央记忆样细胞的显著扩增有关,Tisa-cel 以及 Axi-cel 两种 CAR-T 产品中的 CAR-Treg 细胞可以抑制 CAR-T 细胞的活性,从而促进复发^[11]。研究者对 11 例 CD19 CAR-T 治疗后的 B-ALL 患儿进行了详细的 CAR-T 细胞表型分析发现,一些长期存在的 CAR-T 细胞具有双阴性 αβT 细胞群,不表达 CD8-α 或 CD4 共受体。这些细胞在晚期 CAR-T 细胞中占主导地位,并表

现出活化、增殖和效应状态,与早期 CAR-T 细胞群相比具有更高的活化标志物表达,并表达与细胞记忆相关的基因^[12]。在另一项最新研究 58 例接受 Axi-cel 治疗 R/R 弥漫大 B 细胞淋巴瘤(DLBCL)的患者,CR 与部分缓解/未缓解(PR/NR)患者相比,血液中 CAR-T 细胞持久性更长,而 CAR-Tγδ⁺细胞数($OR=8.8$)和 CAR-Th1TM 细胞数($OR=6.2$)为 CR 的独立预测因子^[13]。

3. CAR 结构中刺激分子的影响:共刺激分子包括 CD28、ICOS、CD27、4-1BB、OX40 和 CD40L 等。包含 4-1BB 共刺激域的 CAR-T 细胞中位持续时间更长,而包含 CD28 共刺激域的 CAR-T 细胞输注后扩增峰值出现时间更早。CAR-T 细胞持久性及快速扩增两者中哪一个对于疗效具有更关键的作用,还有待进一步研究^[14]。研究报道含有 4-1BB 的 CAR-T 细胞通过效应记忆 T 细胞(Tem)表型标志物增加,以及特异的下游分子活化途径延迟 CAR-T 细胞耗竭和凋亡^[15]。而 CD19-28ζ CAR-T 细胞表现出转录因子 NF-κB 的活化增加,而 NF-κB 负责细胞因子基因转录和分泌的诱导^[16]。因此,这些细胞具有高细胞毒性和扩增的特点,但也由于 CAR 单链抗体可变区(scFv)聚集导致的过度的胞内信号域 CD3ζ 磷酸化而出现快速耗竭^[17],同时由于其高细胞毒性和扩增能力,导致了严重细胞因子释放综合征(CRS),这部分患者可能需要类固醇治疗,而后者又限制了 CAR-T 细胞的持久性。而含有 4-1BB 共刺激域 CAR-T 细胞表现出更好的持久性,耗竭和凋亡相较含 CD28 共刺激域 CAR-T 细胞有所改善^[18]。

4. 免疫原性:人类免疫系统对于鼠源 CAR 的 scFv 具有天然的免疫排斥作用,这也是鼠源 CAR-T 治疗后复发的机制之一。临床研究中使用的抗 CD19 单链抗体可变区大多来源于小鼠,由于其高抗原性,这可能导致患者的 CAR-T 细胞衰竭,从而导致阳性复发^[19]。人源化 scFv 可减少 CAR-T 细胞的抗原性来增强其体内持久性以提高其功效^[20]。

(三) 免疫抑制微环境

CAR-T 治疗期间由于程序性细胞死亡蛋白 1(PD-1)等抑制性分子表达增加会使得 CAR-T 细胞寿命缩短。这些抑制性分子受体正是在效应 T 细胞发挥作用产生细胞毒性反应中诱导的^[21]。处于疲惫状态的 T 细胞高表达抑制性受体,还包括 T 细胞免疫球蛋白和黏蛋白结构域包含蛋白 3(TIM-3)、淋巴细胞活化基因 3(LAG-3)、CD160、B 和 T 淋巴细胞衰减因子(BTLA)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4(CTLA-4)和 T 细胞免疫受体 Ig 和 ITIM 结构域(TIGIT)等。免疫应答的协同抑制因子,与表达在 T 细胞表面的上述配体结合,可调节 T 细胞的活性,激活效应 T 细胞的凋亡,抑制调节性 T 细胞(Treg)的凋亡,从而促进自身耐受^[22],使得 T 细胞增殖、细胞因子分泌减少,持久性变差。

二、挽救性治疗策略

目前的挽救性策略主要包括二次 CAR-T 治疗、免疫检查点抑制剂(IC1)、新型靶向治疗药物等以及小分子化疗药物联合治疗等。

(一) 二次 CAR-T 治疗

在一项 88 例 B-ALL 患者接受 Tisa-cel (鼠源 CD19 CAR-T) 治疗的研究中, 84.6% 的患者体内产生了针对 CAR 的抗体。对产生抗 CAR 抗体的患者进行二次 CAR-T 细胞回输时, CAR-T 细胞的扩增通常较微弱, 且持续时间不长。即使添加了 IL-2 来尝试改善 CAR-T 细胞扩增问题, 疗效仍不尽如人意。鼠源 CD19 CAR-T 细胞疗法的二次回输完全缓解率仅为 25%^[23]。因此, 对于临床免疫源性处置的建议是更换为没有交叉免疫源性的 CAR 载体, 比如鼠源换人源化, 人源化换全人源等。

1. CD19 CAR-T 细胞二次输注: Gauthier 等^[24]为探索输注 CD19 CAR-T 细胞 (鼠源 FMC63) 治疗失败的患者再次输注的疗效以及影响因素, 共纳入 44 例患者进行分析, 大多数患者二次 CAR-T 剂量高于初次 CAR-T, 且回输前进行了再次淋巴细胞清除。研究结果显示总体有效率 39%, 21% 的 B-ALL 患者达 CR, 中位随访 28 个月, 中位反应时间为 4 个月。Holland 等^[25]回顾性分析了儿童和年轻人 B-ALL 患者再次回输相同的鼠源 CD19 CAR-T 产品的应答性和毒性反应, 同时评估了两次 CAR-T 回输之间的 CAR-T 细胞扩增和白血病抗原表达情况。18 例患者在初次 CAR-T 治疗后因持续肿瘤抗原阳性 (7 例) 或复发 (11 例) 进行了二次回输。18 例患者中, 7 例 (38.9%) 获得 CR/PR, 其中 5 例达到微小残留病 (MRD) 阴性 CR, 1 例 MRD 阳性 CR, 1 例 PR, 应答者包括 4 例初次 CAR-T 治疗耐药患者。研究显示二次 CAR-T 回输后 CRS 并不剧烈, 且外周血 CAR-T 扩增峰值二次回输低于初次回输 ($P=0.03$)。6 例 (33.3%) 患者在接受二次 CAR-T 治疗后出现肿瘤抗原的丢失或下调, 导致患者未能获得 CR。此研究也表明虽然部分患者对初次 CAR-T 应答不佳或发生复发, 但他们仍可从二次 CAR-T 治疗中获益。强化清淋方案可能是增强二次 CAR-T 治疗应答的策略之一。

2. 更换靶点治疗: 虽然 CD19 CAR-T 在 B-ALL 中的缓解率较高, 但为克服复发耐药问题, 仍然值得探索新的靶点。CD22 在成人和儿童 B-ALL 中的表达率约为 90%^[26]。Fry 等^[27]报告了一项 I 期临床试验的结果, 该试验纳入 21 例儿童和成人, 其中包括 17 例既往接受过 CD19 CAR-T 治疗, 患者均接受 CD22 CAR-T 新型细胞治疗, 接受 $\geq 1 \times 10^6/\text{kg}$ CD22 CAR-T 细胞治疗的 15 例患者中, 73% (11/15) 达到 CR, 其中包括达到缓解的 6 例 CD19pos 和 5 例 CD19dim/neg 的 B-ALL 患者。Li 等^[28]收集 5 例接受靶向 CD19 CAR-T 治疗后复发的患者, 分别培养 CD19 和 CD22 CAR-T 细胞, 以大致 1:1 混合。再次回输 CAR-T 后, 全部 5 例患者均达到 MRD 阴性 CR。中位随访时间 26.3 个月, 6、12 个月总生存 (OS) 率均为 100%。而在上述临床研究中, 更换靶点后的缓解率达 72.9%, 显著高于同一靶点^[25]。此外, Pan 等^[29]采用序贯输注 CD19 和 CD22 CAR-T 的策略来阻止肿瘤免疫逃逸, 并延长 CAR-T 细胞的持久性。

(二) ICI

长期抗原暴露会导致 CAR-T 细胞耗竭状态, 并伴随抑

制性的肿瘤免疫微环境 (TME)^[30]。研究发现, 在对 CAR-T 细胞无反应的患者中, 肿瘤细胞和 TME 中其他细胞的抑制性检查点蛋白表达 (如 PD-L1、LAG3) 的基线水平更高。因此, 通过使用免疫检查点抑制剂, 可以阻止免疫检查点蛋白与其配体结合发挥抑制作用, 提高 CAR-T 细胞的增殖能力, 增强 CAR-T 细胞的细胞毒性, 延长 CAR-T 细胞在体内的存活时间从而再次激活 CAR-T 细胞, 提高治疗效果^[31]。

Li 等^[32]的研究纳入费城儿童医院接受过靶向 CD19 CAR-T 细胞治疗 (鼠源 CTL019 或人源化 CTL119) 并在治疗后早期表现出无应答或者部分应答的 14 例 B-ALL 患者, 在 CAR-T 细胞输入后 14 d 内和 CRS 症状消退后开始给予 PD-1 抑制剂帕博利珠单抗治疗, 最多每 3 周重复给药 1 次。研究发现, 其中 6 例出现早期 BCA 患者中有 5 例恢复。4 例患者为 CAR-T 治疗后无反应或复发后伴随大体积髓外病灶, 在接受 PD-1 抑制剂治疗后 2 例分别达到 PR 和 CR。部分患者在开始使用帕博利珠单抗后数日内检测到显著的 CAR-T 细胞增殖, 并且与影像学疾病缓解呈时间相关性。T 细胞耗竭或活化诱导的 CAR-T 细胞死亡导致 CAR-T 细胞持久性减弱, 而 ICI 应用于复发性 B-ALL 患者, 可增强 CAR-T 细胞杀肿瘤效应和持久性。Maude 等^[33]为研究 PD-1 抑制剂对 CAR-T 细胞扩增、功能和持久性的改善作用, 对 4 例接受鼠源 CTL019 或人源化抗 CD19 CAR-T 细胞治疗且在 14 d 到 2 个月内无缓解或者出现进展的 R/R B-ALL 患儿, 进行 1~3 次帕博利珠单抗治疗。结果显示帕博利珠单抗延长了 4 例患儿循环 CAR-T 细胞的检出时间, 客观缓解率为 50% (2/4)。其中 1 例于 CAR-T 输注后 28 d 出现髓外复发的患者在 3 个月 PET-CT 复查提示肿瘤负荷显著减小, 所有患者均耐受性良好。由此证明帕博利珠单抗安全性较好, 同时可逆转 CAR-T 细胞耐药性, 重启 CAR-T 扩增的存续。

(三) 新型靶向治疗药物

1. 单克隆抗体: 单克隆抗体可提升 CAR-T 细胞疗效, 但其在 CAR-T 治疗复发后的使用尚在探索中。在一项针对 R/R B-ALL 的研究中, 在 CAR-T 细胞治疗中加入利妥昔单抗显著改善了长期结局, 28 d 内 80% 患者达到了 MRD 阴性 CR, 而仅接受 CAR-T 细胞治疗的对照组 CR 率为 60%, 联合治疗组的 2 年 OS 率也更高 (90% 对 26.7%)^[34]。坦昔妥单抗 (Tafa) 和朗妥昔单抗 (Lonca) 分别为靶向 CD19 的单克隆抗体和 ADC 药物, 一项为评估这些靶向疗法在治疗 CD19 CAR-T 治疗后复发 LBCL 患者疗效的研究共纳入 53 例患者, 36 例评估了疾病复发时 CD19 表达, CD19pos 占 61% (22 例); 40 例 (75%) 患者接受坦昔妥单抗 ± 来那度胺治疗, 13 例 (25%) 接受朗妥昔单抗治疗, 两组的总缓解率和 CR 率分别为 23%、36% 和 7%、18%^[35], 提示这些靶向疗法在 CAR-T 治疗后疾病复发患者中的疗效仍然有限。

2. 抗体偶联药物 (ADC):

(1) CD22 ADC: CD22 抗体 (inotuzumab ozogamicin) 是由靶向 CD22 人源化单抗和细胞毒性药物卡奇霉素组成的 ADC。药物与肿瘤细胞表面 CD22 抗原结合后迅速内化, 卡

奇霉素在溶酶体中被释放出来,导致细胞DNA双链断裂和细胞凋亡,从而起到杀伤肿瘤细胞的作用^[36]。安丽红等^[37]的回顾性研究共纳入了2020年3月至2022年9月接受两剂CD22 ADC治疗并评估了疗效的21例R/R B-ALL患者,其中18例患者既往接受过CD19 CAR-T或者CD19/CD22双靶CAR-T治疗,21例患者中有14例(66.7%)获得CR,显示良好的缓解率。

(2)CD19 ADC:一项剂量递增、扩展临床试验评估了朗妥昔单抗治疗成人R/R B-ALL的安全性和耐受性^[38],共纳入35例R/R B-ALL患者,其中有2例接受过CAR-T治疗,所有患者均接受至少1次每3周1次15~150 mg/kg的朗妥昔单抗,由于研究提前终止,尚未对疗效规范评估,只在低中高三个剂量组中各评估了1例患者,均达到CR,且3例患者中有两例治疗前接受过贝林妥欧单抗的治疗,疗效分别为PR和NR,但接受一定周期朗妥昔单抗治疗后可达CR。遗憾的是未对CAR-T治疗复发的患者进行疗效评估。

3. 双特异性抗体:双特异性T细胞衔接器(BiTE),通过靶向肿瘤细胞和T细胞上的抗原,介导免疫突触形成,诱导T细胞活化和增殖,已被用于探索CAR-T治疗B细胞恶性肿瘤复发的后续治疗。CD19 BiTE在CD19pos复发中可能具有潜在疗效。贝林妥欧单抗是第一个用于临床的双特异性抗体药,批准用于治疗R/R的B-ALL。Qi等^[39]探讨了贝林妥欧单抗作为挽救治疗在CD19 CAR-T细胞治疗失败R/R B-ALL患者中的疗效及安全性,共收集了5例患者,CD19均为部分或高表达(32%~99%),在使用1~2周期静脉输注贝林妥欧单抗后评估,有4例患者达到了CR。

三、小分子化合物参与的维持治疗或联合治疗策略

小分子化合物可通过各种机制逆转耗竭的CAR-T细胞,增强其抗肿瘤活性,大多被直接用于CAR-T回输后的维持治疗^[40]。CD19 CAR-T二次回输作为临床可及性较好的挽救性治疗手段,也可同时联合小分子化合物。

1. 来那度胺:来那度胺(Lenalidomide, LEN)属于免疫调节剂,其主要从下列机制调控CAR-T细胞活性和功能,包括促进T细胞与肿瘤细胞间的免疫突触形成、降低免疫检查点分子对T细胞的免疫抑制作用、促进共刺激阈的酪氨酸磷酸化激活T细胞、促进T细胞分泌IL-21增加记忆T细胞亚群等。临床前研究发现,来那度胺可促进CAR-T细胞增殖,减少CAR-T细胞耗竭,同时还可通过刺激细胞毒性CD8⁺T细胞扩增来增强其抗肿瘤活性^[41]。王一等^[42]收集了本院38例经CAR-T治疗后达到CR的B-ALL患者,18例(47.4%)于治疗3~6个月后采用了以来那度胺为基础的维持治疗方案,分析显示CAR-T治疗后接受维持治疗是OS和无白血病生存(LFS)的保护因素,可以使患者获得更好的长期生存。苏燕等^[43]报道了1例老年难治B-ALL患者,CD19 CAR-T细胞回输体内后达3个月仍未被检出,后经来那度胺联合间断IL-2治疗,4个月后CAR拷贝数再次上升,该例患者至随访45个月时仍然维持持续缓解状态。

2. 达沙替尼:酪氨酸蛋白激酶抑制剂达沙替尼能有效抑

制T细胞活化,最近的研究表明,达沙替尼能够通过对抗TCR信号通路,干扰淋巴细胞特异性蛋白酪氨酸激酶的合成抑制CD3 ζ 和T细胞受体相关蛋白激酶70kDa(ZAP70) ζ 链的磷酸化,限制活化T细胞核因子(NFAT)的诱导功能,从而减少CAR信号下行。在实验中,接受达沙替尼处理的CAR-T细胞表现出更好的增殖、较低水平的抑制性受体表达和功能恢复,更好地控制肿瘤生长。在临床CAR-T细胞生产环境中使用达沙替尼可以缓解有害CAR信号传导,重新激活耗竭的CAR-T细胞^[44]。米瑞华等^[45]报道1例确诊5年的R/R Ph⁺B-ALL的53岁女性患者,CD19 CAR-T治疗达CR后半年后再次出现MRD和分子学复发后使用贝林妥欧联合达沙替尼治疗,治疗第15天复查骨髓情况提示再次转为阴性,之后院外口服达沙替尼,随访6个月以上仍持续缓解中。

3. 地西他滨:地西他滨作为甲基转移酶抑制剂,可修改耗竭相关DNA甲基化程序来改善CAR-T细胞功能。研究发现,向B-ALL患者体内输注4-1BB CD19 CAR-T细胞,在4周后获得了耗竭相关的DNA甲基化特征,而敲除CAR-T细胞的DNMT3A基因,能够防止T细胞耗竭,并增强抗肿瘤活性^[46]。Wang等^[47]的研究显示,CAR-T制备期加入地西他滨可有效改善CAR-T细胞耗竭、增强CAR-T细胞增殖能力及抗肿瘤活性。转录组测序结果显示,与单独应用CAR-T细胞相比,在联合治疗方案中,记忆和增殖相关基因的表达上调,T细胞抑制因子、死亡和活性/耗竭相关基因的表达下调增强。Ma等^[48]开展了一项针对CD19/CD22 CAR-T细胞治疗后患者开展维持治疗的研究,纳入48例接受过CD19/CD22 CAR-T细胞治疗达到CR的R/R B-ALL患者,其中16例采取地西他滨作为维持治疗,32例未进行维持治疗(对照组)。研究结果显示,地西他滨组和对照组的3年OS率分别为90.9%对66.1%;LFS率分别为81.3%对61.3%,表明CAR-T细胞治疗后接受地西他滨可改善R/R B-ALL患者预后。

4. 布鲁顿酪氨酸激酶抑制剂(BTKi):BTKi可以明显改善T细胞的功能缺陷并且增强自身T细胞在体外扩增的能力,并且使与CAR-T细胞增殖能力呈负相关的T细胞上抑制受体PD-1和CD160以及免疫抑制分子CD200的表达降低^[49]。Im等^[50]进行的一项研究表明CD19 CAR-T细胞与表达CD19 B-ALL细胞之间相互作用导致所有白血病细胞CD19聚集和内化,从而导致CD19表面密度降低;且单细胞测序证明了CD19^{low}细胞通过生发中心反应和生发中心激活的转录程序持续降低CD19表达;而使用BTKi伊布替尼预处理白血病细胞,可以抑制转录程序的启动,提高CD19 CAR-T细胞对肿瘤细胞的有效识别和杀伤。

5. 其他小分子化合物:选择性核输出抑制剂(SINE)、组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)、磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)抑制剂以及Bcl-2抑制剂等小分子化合物均在体外试验中被证实可增强CAR-T抗肿瘤效应。Wang等^[51]研究发现CD19阳性肿瘤细胞可被Eltanexor和塞利尼索杀伤,且其对SINE的敏感性与ALL细胞系中XPO1的表达水平相关,

依次使用 SINE 和 CAR-T 细胞可能会从整体上提高 CAR-T 细胞的抗肿瘤功效。Torres-Collado 等^[52]发现,当人类 NHL 细胞系逐渐对 CD19 CAR-T 细胞治疗产生耐药时,HDACi 逆转了对 CD19 CAR-T 细胞治疗的耐药性。Zheng 等^[53]研究发现,在 CAR-T 细胞体外扩增过程中,PI3K 抑制剂可促进记忆细胞形成,增强 CAR-T 抗肿瘤效应。Yang 等^[54]研究证实,当肿瘤细胞被 Venetoclax 预致敏时,CD19 CAR-T 细胞的杀伤效率显著提高。这些药物在 B-ALL 中与 CAR-T 联合治疗的作用仍待进一步研究和探索。

四、总结

总之,靶向 CD19 的 CAR-T 免疫疗法对 R/R B-ALL 患者具有很高的缓解率,但 1 年内的复发率仍有 50% 左右。这些患者的预后通常较差,而目前对于 CAR-T 治疗失败的患者也尚无标准治疗方案,因此迫切需要挽救性药物单药或联合 CAR-T 来治疗这些复发的患者。CAR-T 细胞治疗失败后,确定适当的治疗方案需要考虑患者的一般情况、治疗期的长短、药物的可及性等多个因素。而对于这些药物在复发时的挽救性治疗,或在 CAR-T 治疗后维持期治疗,或者与 CAR-T 回输时进行联合治疗,对 CAR-T 细胞的扩增能力和持久性的潜在影响,对阳性复发率的降低和对患者长期生存的改善程度,仍然是值得进一步探索的话题。

参考文献

- [1] Aparicio-Pérez C, Carmona M, Benabdellah K, et al. Failure of ALL recognition by CAR T cells: a review of CD 19-negative relapses after anti-CD 19 CAR-T treatment in B-ALL[J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1165870. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1165870.
- [2] Martino M, Alati C, Canale FA, et al. A Review of Clinical Outcomes of CAR T-Cell Therapies for B-Acute Lymphoblastic Leukemia[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4):2150. DOI: 10.3390/ijms22042150.
- [3] Liu Y, An L, Huang R, et al. Strategies to enhance CAR-T persistence[J]. *Biomark Res*, 2022, 10(1):86. DOI: 10.1186/s40364-022-00434-9.
- [4] Jacoby E, Bielorai B, Hutt D, et al. Parameters of long-term response with CD28-based CD19 chimaeric antigen receptor-modified T cells in children and young adults with B-acute lymphoblastic leukaemia[J]. *Br J Haematol*, 2022, 197(4):475-481. DOI: 10.1111/bjh.18105.
- [5] Schultz LM, Baggott C, Prabhu S, et al. Disease Burden Affects Outcomes in Pediatric and Young Adult B-Cell Lymphoblastic Leukemia After Commercial Tisagenlecleucel: A Pediatric Real-World Chimeric Antigen Receptor Consortium Report[J]. *J Clin Oncol*, 2022, 40(9):945-955. DOI: 10.1200/JCO.20.03585.
- [6] Lambie AJ, Myers RM, Taraseviciute A, et al. Preinfusion factors impacting relapse immunophenotype following CD19 CAR T cells[J]. *Blood Adv*, 2023, 7(4):575-585. DOI: 10.1182/bloodadvances.2022007423.
- [7] Dourthe ME, Rabian F, Yakouben K, et al. Determinants of CD19-positive vs CD19-negative relapse after tisagenlecleucel for B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. *Leukemia*, 2021, 35(12):3383-3393. DOI: 10.1038/s41375-021-01281-7.
- [8] Pietrobon V, Todd LA, Goswami A, et al. Improving CAR T-Cell Persistence [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 10828. DOI: 10.3390/ijms221910828.
- [9] Sommermeyer D, Hudecek M, Kosasih PL, et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and CD4+ subsets confer superior antitumor reactivity in vivo [J]. *Leukemia*, 2016, 30(2):492-500. DOI: 10.1038/leu.2015.247.
- [10] Bai Z, Woodhouse S, Zhao Z, et al. Single-cell antigen-specific landscape of CAR T infusion product identifies determinants of CD19-positive relapse in patients with ALL[J]. *Sci Adv*, 2022, 8(23):eabj2820. DOI: 10.1126/sciadv.abj2820.
- [11] Haradhvala NJ, Leick MB, Maurer K, et al. Distinct cellular dynamics associated with response to CAR-T therapy for refractory B cell lymphoma [J]. *Nat Med*, 2022, 28(9): 1848-1859. DOI: 10.1038/s41591-022-01959-0.
- [12] Anderson ND, Birch J, Accogli T, et al. Transcriptional signatures associated with persisting CD19 CAR-T cells in children with leukemia [J]. *Nat Med*, 2023, 29(7): 1700-1709. DOI: 10.1038/s41591-023-02415-3.
- [13] Martín-Martín L, Gutiérrez-Herrero S, Herrero-García M, et al. Impact of the kinetics of circulating anti-CD19 CAR-T cells and their populations on the outcome of DLBCL patients[J]. *Blood Cancer J*, 2024, 14(1):83. DOI: 10.1038/s41408-024-01065-z.
- [14] Salter AI, Ivey RG, Kennedy JJ, et al. Phosphoproteomic analysis of chimeric antigen receptor signaling reveals kinetic and quantitative differences that affect cell function[J]. *Sci Signal*, 2018, 11(544):eaat6753. DOI: 10.1126/scisignal.aat6753.
- [15] Dai Q, Han P, Qi X, et al. 4-1BB Signaling Boosts the Anti-Tumor Activity of CD28-Incorporated 2 (nd) Generation Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:539654. DOI: 10.3389/fimmu.2020.539654.
- [16] Fraser JD, Irving BA, Crabtree GR, et al. Regulation of interleukin-2 gene enhancer activity by the T cell accessory molecule CD28 [J]. *Science*, 1991, 251(4991): 313-316. DOI: 10.1126/science.1846244.
- [17] Dholaria BR, Bachmeier CA, Locke F. Mechanisms and Management of Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy-Related Toxicities [J]. *BioDrugs*, 2019, 33(1): 45-60. DOI: 10.1007/s40259-018-0324-z.
- [18] 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(1): 47-62. DOI: 10.1038/nrclinonc.2017.148.
- [19] Nicholson IC, Lenton KA, Little DJ, et al. Construction and characterisation of a functional CD19 specific single chain Fv fragment for immunotherapy of B lineage leukaemia and lymphoma [J]. *Mol Immunol*, 1997, 34(16-17): 1157-1165. DOI: 10.1016/s0161-5890(97)00144-2.
- [20] 都孟仪, 张寅婧, 廖丹颖, 等. 人源化与鼠源 CD19 CAR-T 细胞

- 疗法治疗复发/难治急性 B 淋巴细胞白血病的长期随访[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(10): 793-799. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.10.001.
- Du MY, Zhang YQ, Liao DY, et al. Long-term follow-up of humanized and murine CD19 CAR-T-cell therapy for B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Chin J Hematol, 2023, 44(10): 793-799. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-2727.2023.10.001.
- [21] Cai J, Wang D, Zhang G, et al. The Role Of PD-1/PD-L1 Axis In Treg Development And Function: Implications For Cancer Immunotherapy[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12:8437-8445. DOI: 10.2147/OTT.S221340.
- [22] Terawaki S, Chikuma S, Shibayama S, et al. IFN- α directly promotes programmed cell death-1 transcription and limits the duration of T cell-mediated immunity[J]. J Immunol, 2011, 186(5): 2772-2779. DOI: 10.4049/jimmunol.1003208.
- [23] Wagner DL, Fritsche E, Pulsipher MA, et al. Immunogenicity of CAR T cells in cancer therapy[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2021, 18(6):379-393. DOI: 10.1038/s41571-021-00476-2.
- [24] Gauthier J, Bezerra ED, Hirayama AV, et al. Factors associated with outcomes after a second CD19-targeted CAR T-cell infusion for refractory B-cell malignancies[J]. Blood, 2021, 137(3): 323-335. DOI: 10.1182/blood.2020006770.
- [25] Holland EM, Molina JC, Dede K, et al. Efficacy of second CAR-T (CART2) infusion limited by poor CART expansion and antigen modulation [J]. J Immunother Cancer, 2022, 10(5): e004483. DOI: 10.1136/jitc-2021-004483.
- [26] Raponi S, De Propriis MS, Intoppa S, et al. Flow cytometric study of potential target antigens (CD19, CD20, CD22, CD33) for antibody-based immunotherapy in acute lymphoblastic leukemia: analysis of 552 cases [J]. Leuk Lymphoma, 2011, 52(6): 1098-1107. DOI: 10.3109/10428194.2011.559668.
- [27] Fry TJ, Shah NN, Orentas RJ, et al. CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy [J]. Nat Med, 2018, 24(1):20-28. DOI: 10.1038/nm.4441.
- [28] Li W, Ding L, Shi W, et al. Safety and efficacy of co-administration of CD19 and CD22 CAR-T cells in children with B-ALL relapse after CD19 CAR-T therapy[J]. J Transl Med, 2023, 21(1): 213. DOI: 10.1186/s12967-023-04019-4.
- [29] Pan J, Zuo S, Deng B, et al. Sequential CD19-22 CAR T therapy induces sustained remission in children with r/r B-ALL [J]. Blood, 2020, 135(5):387-391. DOI:10.1182/blood.2019003293.
- [30] Schmitz F, Wolf D, Holderried T. The Role of Immune Checkpoints after Cellular Therapy [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(10): 3650. DOI: 10.3390/ijms21103650.
- [31] Pérez-Moreno MA, Ciudad-Gutiérrez P, Jaramillo-Ruiz D, et al. Combined or Sequential Treatment with Immune Checkpoint Inhibitors and Car-T Cell Therapies for the Management of Haematological Malignancies: A Systematic Review [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(19):14780. DOI: 10.3390/ijms241914780.
- [32] Li AM, Hucks GE, Dinofia AM, et al. Checkpoint Inhibitors Augment CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell Therapy in Relapsed B-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia [J]. Blood, 2018, 132 (Supplement 1): 556. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-112572>.
- [33] Maude SL, Hucks GE, Seif AE, et al. The effect of pembrolizumab in combination with CD19-targeted chimeric antigen receptor (CAR) T cells in relapsed acute lymphoblastic leukemia (ALL) [J]. J Clin Oncol, 2017, 35(15_suppl): 103-103. DOI: https://doi.org/10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.103.
- [34] Li Y, Cui Q, Liu S, et al. Rituximab potentially improves clinical outcomes of CAR-T therapy for r/r B-ALL via sensitizing leukemia cells to CAR-T-mediated cytotoxicity and reducing CAR-T exhaustion [J]. Cell Oncol (Dordr), 2024, 47(5):1649-1661. DOI: 10.1007/s13402-024-00945-7.
- [35] Iqbal M, Jagadeesh D, Chavez J, et al. Efficacy of CD19 directed therapies in patients with relapsed or refractory large b-cell lymphoma relapsing after CD19 directed chimeric antigen receptor T-cell therapy [J]. Bone Marrow Transplant, 2024, 59(2): 211-216. DOI: 10.1038/s41409-023-02148-4.
- [36] Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, et al. Inotuzumab ozogamicin versus standard of care in relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia: Final report and long-term survival follow-up from the randomized, phase 3 INO-VATE study [J]. Cancer, 2019, 125(14):2474-2487. DOI: 10.1002/cncr.32116.
- [37] 安丽红, 赵德峰, 侯瑞峰, 等. 剂量调整后的奥加伊妥单抗两剂疗法治疗复发/难治急性 B 淋巴细胞白血病的疗效分析 [J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(11):911-916. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.11.005.
- An LH, Zhao DF, Hou RF, et al. Treatment response of a two-dose regimen of dose-adjusted inotuzumab ozogamicin in relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Chin J Hematol, 2023, 44(11): 911-916. DOI: 10.3760/cma. j. issn.0253-2727.2023.11.005.
- [38] Jain N, Stock W, Zeidan A, et al. Loncastuximab tesirine, an anti-CD19 antibody-drug conjugate, in relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. Blood Adv, 2020, 4(3):449-457. DOI: 10.1182/bloodadvances.2019000767.
- [39] Qi Y, Liu H, Li X, et al. Blinatumomab as salvage therapy in patients with relapsed/refractory B-ALL who have failed/progressed after anti-CD19-CAR T therapy [J]. Ann Med, 2023, 55(1):2230888. DOI: 10.1080/07853890.2023.2230888.
- [40] 张寅婧, 梅恒, 胡豫. 嵌合抗原受体 T 细胞联合治疗策略在淋巴瘤中的研究探索 [J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(10): 873-876. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.10.014.
- Zhang YQ, Mei H, Hu Y. Exploration of CAR-T cell combination therapy strategies in lymphoma [J]. Chin J Hematol, 2022, 43(10): 873-876. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 0253-2727.2022.10.014.
- [41] Otáhal P, Průková D, Král V, et al. Lenalidomide enhances antitumor functions of chimeric antigen receptor modified T cells [J]. Oncoimmunology, 2016, 5(4): e1115940. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1115940.

- [42] 王一, 高秋英, 王晖, 等. CAR-T 治疗复发/难治急性 B 淋巴细胞白血病的长期生存及影响因素的临床分析[J]. 中华血液学杂志, 2023, 44(10):800-804. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.10.002.
- Wang Y, Gao QY, Wang H, et al. Clinical analysis of long-term survival and influencing factors of chimeric antigen receptor T-cell therapy in relapsed/refractory acute B-cell lymphoblastic leukemia [J]. Chin J Hematol, 2023, 44(10):800-804. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2023.10.002.
- [43] 苏燕, 熊媛媛, 艾昊, 等. 原发难治老年 B-ALL 患者 CD19 CAR-T 联合来那度胺治疗后长期生存 1 例[J]. 临床肿瘤学杂志, 2021, 26(7):667-669. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2021.07.014.
- Su Y, Xiong YY, Ai H, et al. long-term survival in a case of elderly B-ALL patient with primary resistance after treatment with CD19 CAR-T combined with lenalidomide [J]. Chin Clin Oncol, 2021, 26(7):667-669. DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2021.07.014.
- [44] Weber EW, Parker KR, Sotillo E, et al. Transient rest restores functionality in exhausted CAR-T cells through epigenetic remodeling [J]. Science, 2021, 372(6537):eaba1786. DOI: 10.1126/science.aba1786.
- [45] 米瑞华, 王琳, 陈琳, 等. 贝林妥欧单抗联合达沙替尼逆转 Ph 阳性急性淋巴细胞白血病患者抗 CD19 CAR-T 细胞治疗后融合基因转阳 1 例[J]. 中华血液学杂志, 2022, 43(8):695-696. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.08.015.
- Mi RH, Wang L, Chen L, et al. Blinatumomab and dasatinib reverse the positive conversion of fusion gene in Ph + acute lymphoblastic leukemia patient after anti-CD19 CAR-T therapy: a case report [J]. Chin J Hematol, 2022, 43(8):695-696. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2022.08.015.
- [46] Prinzing B, Zebley CC, Petersen CT, et al. Deleting DNMT3A in CAR T cells prevents exhaustion and enhances antitumor activity [J]. Sci Transl Med, 2021, 13(620):eabh0272. DOI: 10.1126/scitranslmed.abh0272.
- [47] Wang Y, Tong C, Dai H, et al. Low-dose decitabine priming endows CAR T cells with enhanced and persistent antitumor potential via epigenetic reprogramming [J]. Nat Commun, 2021, 12(1):409. DOI: 10.1038/s41467-020-20696-x.
- [48] Ma Y, Dai H, Cui Q, et al. Decitabine in combination with fludarabine and cyclophosphamide as a lymphodepletion regimen followed by CD19/CD22 bispecific targeted CAR T-cell therapy significantly improves survival in relapsed/refractory B-ALL patients [J]. Exp Hematol Oncol, 2023, 12(1):36. DOI: 10.1186/s40164-023-00397-z.
- [49] Mhibik M, Wiestner A, Sun C. Harnessing the Effects of BTKi on T Cells for Effective Immunotherapy against CLL [J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1):68. DOI: 10.3390/ijms21010068.
- [50] Im NG, Guillaumet-Adkins A, Wal M, et al. Regulatory Programs of B-cell Activation and Germinal Center Reaction Allow B-ALL Escape from CD19 CAR T-cell Therapy [J]. Cancer Immunol Res, 2022, 10(9):1055-1068. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-21-0626.
- [51] Wang S, Sellner L, Wang L, et al. Combining selective inhibitors of nuclear export (SINEs) with chimeric antigen receptor (CAR) T cells for CD19positive malignancies [J]. Oncol Rep, 2021, 46(2):170 [pii]. DOI: 10.3892/or.2021.8121.
- [52] Torres-Collado AX, Jazirehi AR. Overcoming Resistance of Human Non-Hodgkin's Lymphoma to CD19-CAR CTL Therapy by Celecoxib and Histone Deacetylase Inhibitors [J]. Cancers (Basel), 2018, 10(6):200. DOI: 10.3390/cancers10060200.
- [53] Zheng W, Jones LL, Geiger TL. Modulation of PI3K signaling to improve CAR T cell function [J]. Oncotarget, 2018, 9(88):35807-35808. DOI: 10.18632/oncotarget.26334.
- [54] Yang M, Wang L, Ni M, et al. Pre-sensitization of Malignant B Cells Through Venetoclax Significantly Improves the Cytotoxic Efficacy of CD19.CAR-T Cells [J]. Front Immunol, 2020, 11:608167. DOI: 10.3389/fimmu.2020.608167.

(收稿日期:2024-07-01)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

关于杜绝和抵制第三方机构代写代投稿件的通知

近期中华医学会杂志社学术期刊出版平台在后台监测到部分用户使用虚假的手机号和Email地址注册账号,这些账号的投稿IP地址与作者所在单位所属行政区域严重偏离,涉嫌第三方机构代写代投。此类行为属于严重的学术不端,我们已将排查到的稿件信息通报各编辑部,杂志社新媒体部也将对此类账号做封禁处理,相关稿件一律做退稿处理。

为弘扬科学精神,加强科学道德和学风建设,抵制学术不端行为,端正学风,维护风清气正的良好学术生态环境,请广大读者和作者务必提高认识,规范行为,以免给作者的学术诚信、职业发展和所在单位的声誉带来不良影响。