

以CD19为靶点的CAR-T细胞治疗大B细胞淋巴瘤的疗效和毒性的相关性研究

董佳敏

科技服务技术支持部

以CD19为靶点的CAR-T细胞治疗大B细胞淋巴瘤的疗效和毒性的相关性研究

Characteristics of anti-CD19 CAR T cell infusion products associated with efficacy and toxicity in patients with large B cell lymphomas

◆ 发表时间:	2020年10月
◆ 发表期刊:	Nature Medicine
◆ 影响因子:	36.13
◆ 主要单位:	德克萨斯大学MD安德森癌症中心
◆ 疾病名称:	大B细胞淋巴瘤 (LBCL)



目录/content

- 一、研究背景
- 二、研究思路
- 三、研究结果
- 四、亮点与待完善内容

一、研究背景

◆ 大B细胞淋巴瘤 (LBCL) :

是一种由B细胞病变而来的肿瘤，是血液性肿瘤。死亡率极高，每年很多人因为得了这种淋巴瘤导致死亡。

◆ CAR-T细胞疗法:

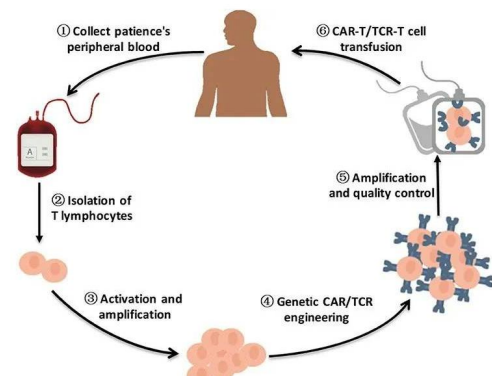
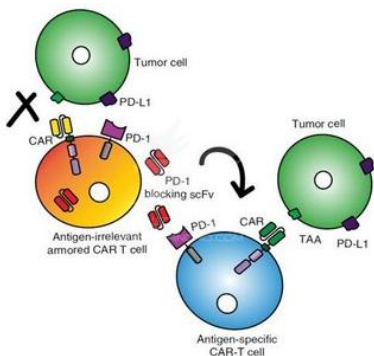
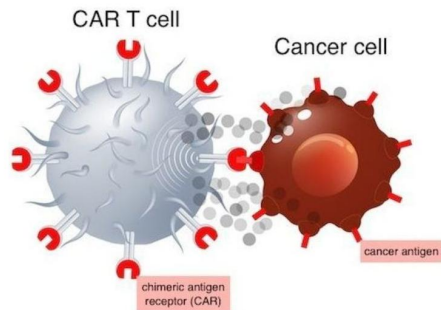
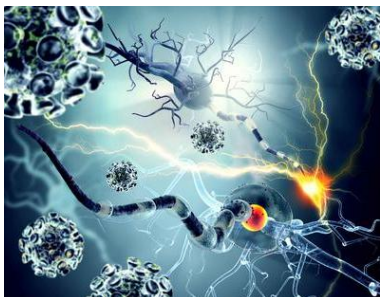
是嵌合抗原受体T细胞免疫疗法，作为癌症治疗的最前沿技术，CAR-T细胞疗法一直都备受大家的关注，而自2017年年底以来，FDA已经批准了3款CAR-T细胞疗法用于血液肿瘤的治疗。和传统的癌症治疗方式相比，CAR-T细胞最大的优势之一就是高缓解率和长期生存率。即使是晚期复发的癌症患者中，经过治疗之后，依旧有接近50%的患者在随访中被发现可以获得长期的生存。

◆ CAR-T细胞:

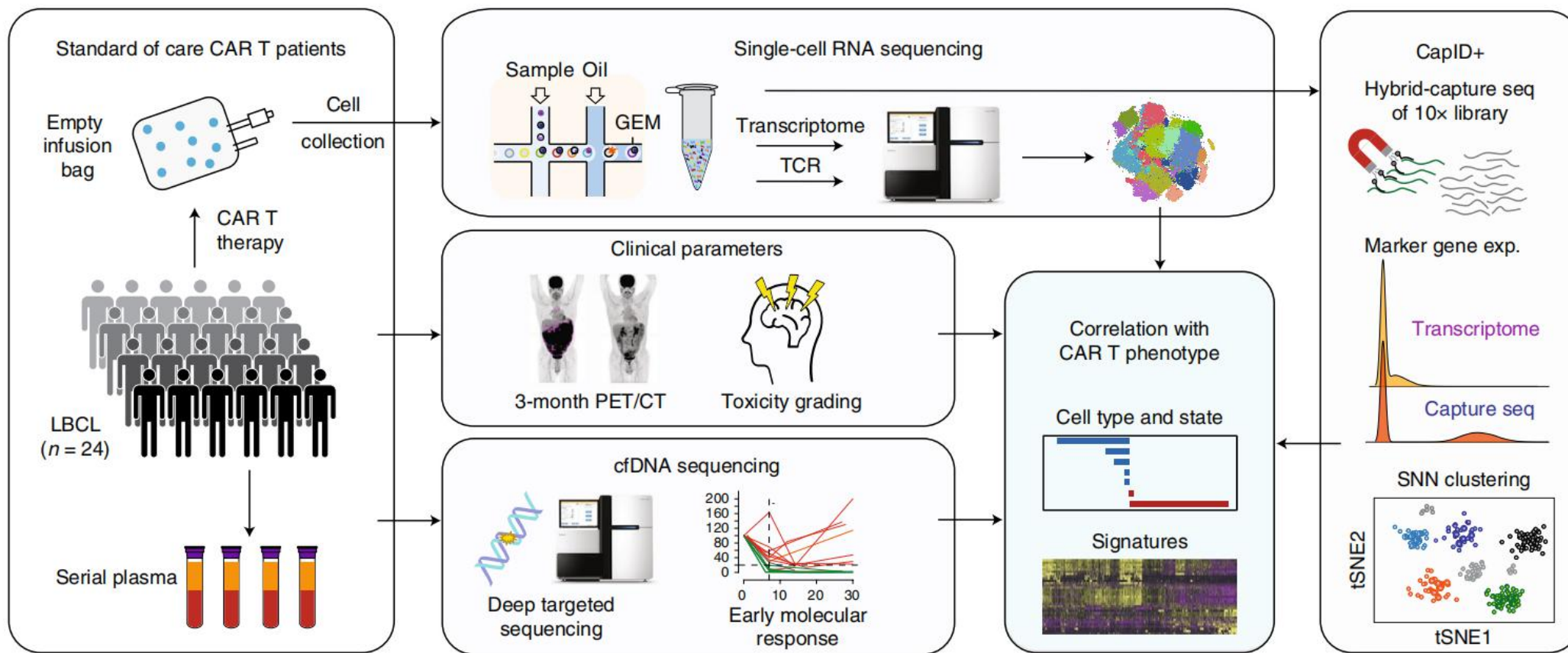
是通过基因工程技术，将T细胞激活，并装上定位导航装置CAR（肿瘤嵌合抗原受体），将T细胞这个普通“战士”改造成“超级战士”。他利用其“定位导航装置”CAR，专门识别体内肿瘤细胞，并通过免疫作用释放大量的多种效应因子，它们能高效地杀灭肿瘤细胞，从而达到治疗恶性肿瘤的目的。

◆ CAR-T细胞治疗研究现状:

据报道，以CD19为靶点的CAR-T细胞治疗对复发性、难治性大B细胞淋巴瘤（LBCL）如B细胞非霍奇金淋巴瘤（NHL）、急性淋巴细胞白血病（ALL）和慢性淋巴细胞白血病（CLL）有显著的治疗作用。虽然抗CD19 CAR-T细胞治疗的早期结果令人欣喜，但是只有不到一半的患者出现了长期的缓解。此外CAR-T细胞治疗中常见的副作用——**细胞因子释放综合征（CRS）**和**免疫效应细胞相关神经毒性综合征（ICANS）**也对一些病人产生着严重影响。CAR-T细胞治疗在不同患者中出现的差异原因尚未明确。



二、研究思路--材料方法



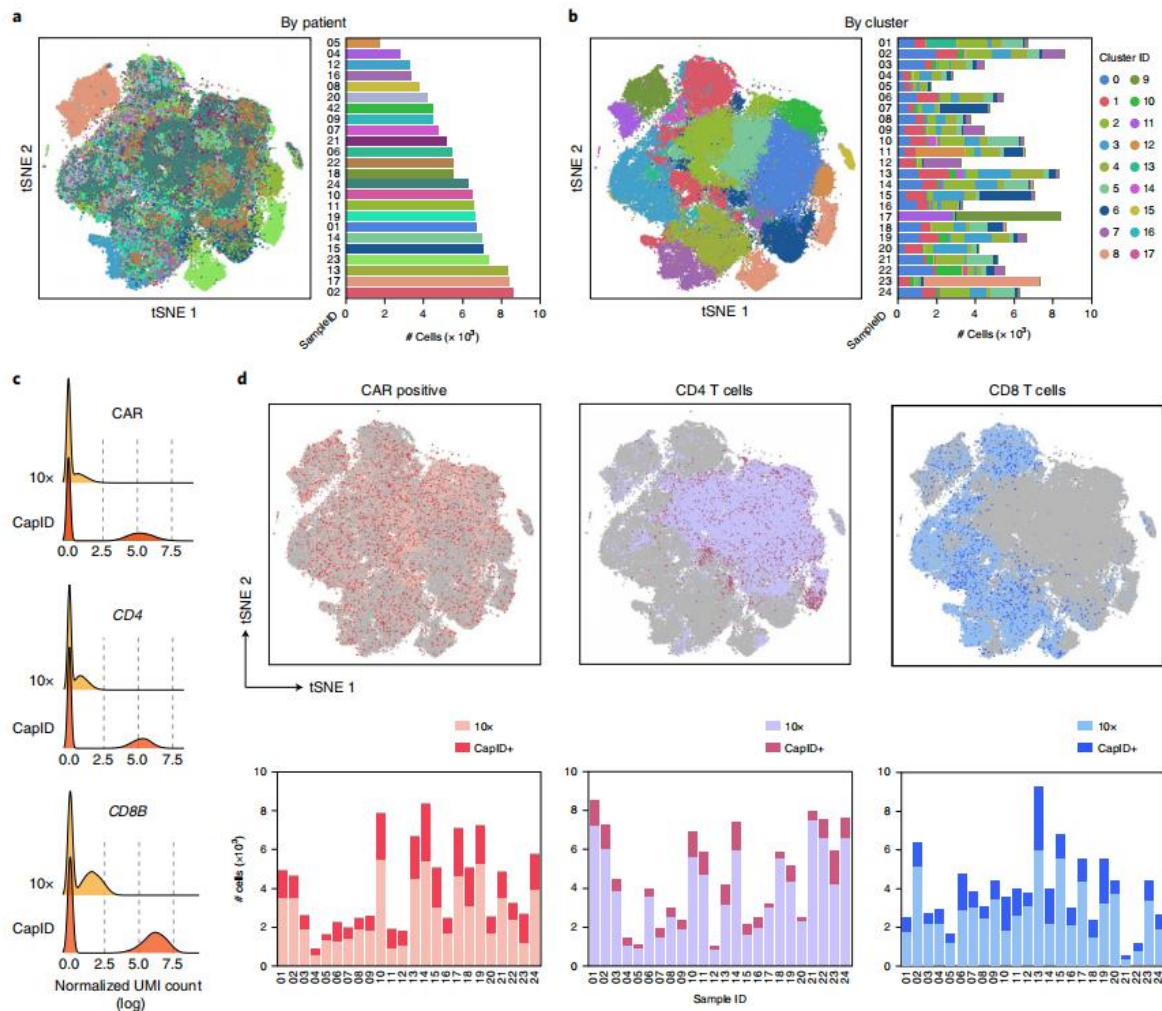
- ◆ 样本选择：24例LBCL患者输注自体的CAR-T细胞；CAR-T细胞注射7天、14天和30天后患者血浆样本。
- ◆ 研究方法：10x Genomics 5' scRNA-seq+TCR；CapID+标记基因的杂交捕获测序；cfDNA检测

二、研究思路--技术路线



三、研究结果

◆ 结果1：由scRNA-seq和CapID+确定CAR T细胞输注产品的基因表达特征



CAR T细胞输注产品的单细胞分析

研究方法：

- scRNA-seq和CapID+标记基因的杂交捕获测序

共24例LBCL患者CAR T细胞（137,326个细胞）

16例弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)

6例转化性滤泡性淋巴瘤(TfL)

2例原发性纵隔B细胞淋巴瘤(PMBCL)

- tSNE聚类分析

主要结果：

- 构建了24例LBCL患者CAR T细胞图谱，共17个Cluster。

● CapID+标记基因CAR杂交捕获技术填充了转录组信息并提高了检测转录本灵敏度。

● CAR基因在CD4、CD8中呈现散布性表达，说明CAR T细胞可能发挥潜在治疗作用。

◆ 结果2：与临床反应相关的细胞的特征



- CR患者和PR / PD患者的输液产品之间的细胞类型和功能状态的差异分析
- CD8 T 细胞和CD4 T 细胞差异表达分析
- 单细胞基因集变异分析(ScGSVA)

主要结果:

- 在3个月的随访中通过正电子发射断层扫描/计算机断层扫描获得9位完全缓解的患者（CR）与1位具有部分缓解(PR)或13位进行性疾病(PD)的患者相比，CR患者输注产品中的记忆CD8 T细胞显著富集。PR / PD患者输注产品中的耗能的CD8和CD4 T细胞显著富集。
- CR患者和PR/PD患者CD8 T细胞的差异表达基因（DEG）鉴定出4类细胞亚群，C1簇中的细胞表达与PR/PD相关的基因水平最高，与CR相关的基因水平最低。这些差异表达基因大多与CD8 T细胞的激活和衰竭有关。CD4 T细胞的DEG分析和聚类也表现出类似结果，不同的是增殖相关基因和周期细胞在CR患者的高频细胞聚类中表达较高。
- CD8T细胞功能障碍信号的表达这一特征在C1簇中最高，CD8干细胞记忆信号在C4簇中最高。由此强调了与临床疗效相关的CAR-T细胞输注产物细胞的重要转录特征。

三、研究结果

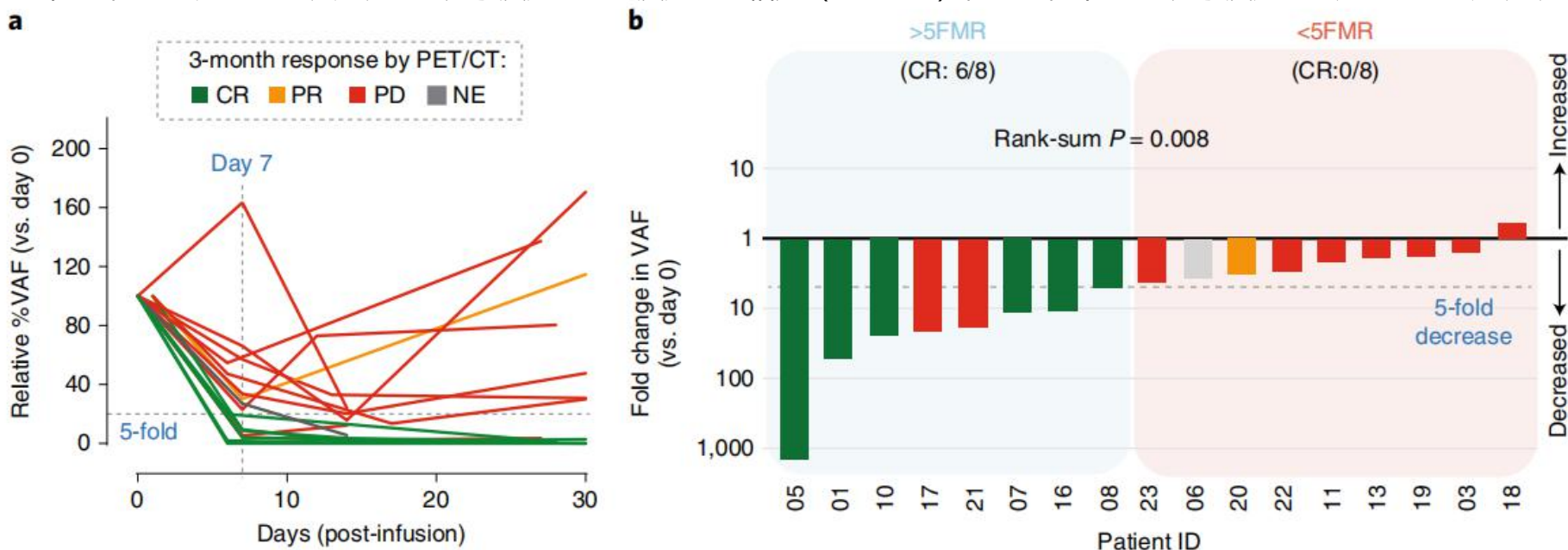
◆ 结果3: cfDNA测序确定早期分子反应(EMR)

研究方法:

- 利用肿瘤患者血浆中的细胞游离DNA (cfDNA) 测序来检测输注CAR-T细胞后7天、14天和30天的体细胞突变情况, 测定变异等位基因片段(VAF)的相对变化从而确定早期分子反应(EMR)。

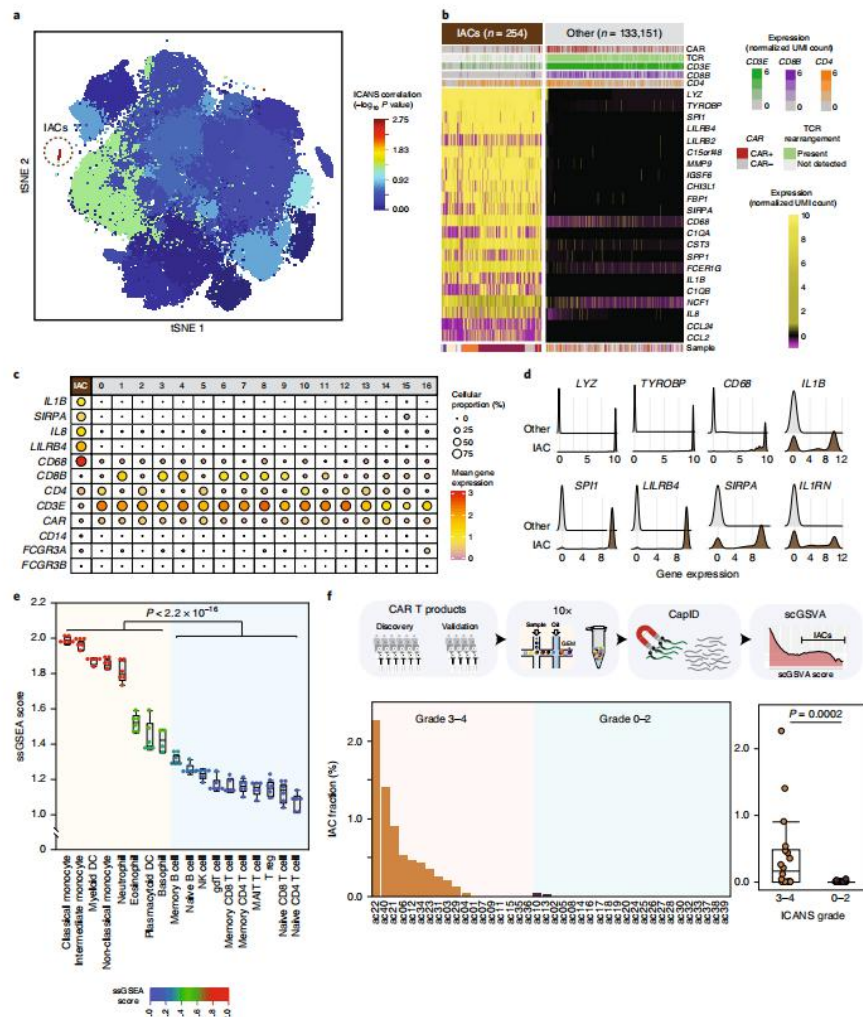
研究结果:

- 注射后第7天, 通过游离DNA测序测量的分子反应与临床反应显著相关 ($P = 0.008$), 因此, 第7天的分子反应可能是CAR T细胞功效的早期预测指标。



三、研究结果

◆ 结果4：单细胞转录组中罕见细胞亚群（IAC）与高级神经毒性综合征（ICANS）相关



研究方法:

- 评估发生高级别CRS的患者(n=4)和没有发生高级别CRS的患者(n=20)之间的差异
- 评估了ICANSgr3-4患者(n=12)和ICANSgr0-2患者(n=12)之间的差异
- 与高级神经毒性综合征（ICANS）相关细胞亚群表达差异分析

研究结果:

- 虽然高级别CRS的患者数量很少，但我们观察到与耗尽的CD8T细胞呈负相关，与耗尽的CD4T细胞呈正相关
- ICANSgr3-4患者输液产品中CAR⁺细胞的频率明显降低
- 罕见细胞亚群ICANS相关细胞IAC(n=254)，在发展成ICANSgr3-4的患者的输液产品中明显过度表达。稀有细胞群与高级ICANS相关（ $P=0.0002$ ）。结果表明，CAR T细胞输注产品的细胞和分子特征异质性有助于评估在LBCL中进行axi-cel治疗后功效和毒性的变化。

三、研究结果总结

◆ 研究材料:

- 24例LBCL患者输注自体的CAR-T细胞; CAR-T细胞注射7天、14天和30天后患者血浆样本

◆ 研究方法:

- 10x Genomics 5' scRNA-seq+TCR; CapID+标记基因的杂交捕获测序; 肿瘤循环DNA (ct DNA) 检测

◆ 研究内容:

- (1) 由scRNA-seq和CapID+确定CAR T细胞输注产品的基因表达特征;
- (2) PET/CT确定的CAR T细胞输注产品的分子表型与应答相关转录机制研究;
- (3) cfDNA测序确定早期分子反应(EMR);
- (4) 单细胞转录组中罕见细胞亚群 (IAC) 与高级神经毒性综合征 (ICANS) 相关研究。

◆ 研究结果:

- (1) 构建了24例LBCL患者CAR T细胞图谱, 共17个Cluster;
- (2) CR患者输注产品中的记忆CD8 T细胞显著富集。PR / PD患者输注产品中的耗尽的CD8和CD4 T细胞显著富集。发现完全缓解患者的记忆性CD8 T细胞的频率比部分缓解和进行性疾病患者高出3倍;
- (3) 注射后第7天, 通过游离DNA测序测量的分子反应与临床反应显著相关 ($P = 0.008$), 而CD8 T细胞衰竭的信号与较差的分子反应相关 ($q = 2.8 \times 10^{-149}$);
- (4) 罕见细胞亚群ICANS相关细胞 (IAC) ($n=254$), 在发展成ICANS_{gr3-4}的患者的输液产品中明显过度表达。

四、亮点与不足

◆ 文章亮点

- 填补了人们对抗CD19 CAR T细胞治疗中出现的疗效和毒性反应差异的理解上的空白，为B细胞恶性肿瘤的免疫治疗的临床结果提出了机制上的见解和可行的解决方案
- scRNA-seq结合CapID+标记基因的杂交捕获测序技术进行单细胞转录组分析，填充了转录组信息并提高了检测转录本的灵敏度
- 输注癌症患者CAR T细胞前单细胞转录组测序机制的预测和输注CAR T细胞后ct DNA的检测与临床反应相结合，可以帮助CAR-T细胞疗法更好地帮助患者进行治疗

◆ 文章不足

- 文章进行了TCR测序，但是没有更深入的进行讨论
- 没有将输注癌症患者CAR T细胞前和输注癌症患者CAR T细胞后患者血液中的T细胞进行转录组测序，因此不能利用测序数据在单细胞水平上研究治疗前后细胞亚群差异及对应转录机制差异

Thank You!



官方网站



官方微信