

BCMA CAR-T 细胞治疗的耐药机制及优化策略研究*

李运佳 刘卓刚 综述 胡荣 审校

摘要 嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen receptor T cells, CAR-T) 疗法在血液系统肿瘤治疗中已展示出卓越成效。BCMA 抗原在骨髓瘤细胞表面普遍表达,是合适高效的 CAR-T 治疗靶抗原。尤其是对于复发/难治性多发性骨髓瘤患者,BCMA CAR-T 细胞治疗缓解率高,多数患者在输注 1 年后仍可在体内检测到 CAR-T 细胞。但是耐药与疾病复发仍是目前临床管理中面对的关键问题。本文将从多发性骨髓瘤细胞免疫逃逸、CAR-T 产品因素、既往治疗方案及肿瘤免疫微环境的抑制等几个方面来探讨 BCMA CAR-T 细胞疗法的应答响应因素及耐药诱导机制,并提出可能的优化策略,以期对未来探索提供参考意义。

关键词 多发性骨髓瘤 嵌合抗原受体 T 细胞 耐药性 免疫逃逸 骨髓微环境

doi:10.12354/j.issn.1000-8179.2023.20230950

Drug resistance mechanism and optimization strategy of BCMA CAR-T cell therapy

Yunjia Li, Zhuogang Liu, Rong Hu

Correspondence to: Rong Hu; E-mail: hur@sj-hospital.org

First Department of Hematology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110000, China

This work was supported by 2019 Scientific Research Funding Project of Liaoning Provincial Department of Education (No. JC2019011)

Abstract Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) therapy has produced remarkable results in the treatment of hematological tumors. The BCMA antigen is widely expressed on the surface of multiple myeloma cells and is a suitable, efficient target for CAR-T therapy. BCMA CAR-T cell therapy has a high response rate for relapsed or refractory patients in particular, and CAR-T cells are still detectable in most patients 1 year after infusion. However, drug resistance and disease recurrence remain key problems in clinical management. In this paper, we discuss the response factors and resistance induction mechanism of BCMA CAR-T cell therapy from several perspectives, such as the immune escape of multiple myeloma cells, CAR-T product factors, previous treatment regimens, and tumor immune microenvironment inhibition. We also propose possible optimization strategies in order to provide reference for future exploration.

Keywords: multiple myeloma, chimeric antigen receptor T cells (CAR-T), drug resistance, immune escape, bone marrow microenvironment

近年来,多发性骨髓瘤治疗药物的蓬勃发展显著提高了患者的生存率与生存质量。但复发/难治性患者的预后仍不理想,尤其对于接受过免疫抑制剂、蛋白酶体抑制剂及 CD38 单抗后进展的三重难治患者来说,亟需寻找新的高质量治疗方案^[1]。嵌合抗原受体 T 细胞(chimeric antigen receptor T cells, CAR-T)技术作为新兴的血液肿瘤治疗方法,在急性淋巴细胞白血病与 B 细胞非霍奇金淋巴瘤领域已展现出卓越的疗效^[2-3]。

针对多发性骨髓瘤细胞,研究者们开发出以 BCMA 为靶点的 CAR-T 细胞疗法。BCMA 是肿瘤坏死因子受体超家族成员,主要在成熟的 B 细胞及浆细胞上表达,在 B 细胞发育过程中发挥作用,其两个配体分别是 B 细胞活化因子和增殖诱导配体 APRIL。因此,几乎所有骨髓瘤细胞表面均表达 BCMA,这令

其成为合适的 CAR-T 治疗靶抗原^[4]。2021 年 3 月,美国食品药品监督管理局(FDA)批准 ide-cel(bb2121)用于治疗既往接受过 4 种及以上治疗方案后的复发/难治性多发性骨髓瘤患者。在关键的 II 期 KarMMa 研究中,140 例入组的复发/难治性患者中有 128 例接受了 ide-cel(bb2121)产品输注,其总体缓解率为 73%、完全缓解率为 33%、中位无病生存期为 8.8 个月,即展现出了显著的抗肿瘤活性。一项研究提示,在 36% 的患者中,输注 12 个月后仍可检测到 CAR-T 细胞^[5]。

尽管多发性骨髓瘤的 CAR-T 细胞疗法表现出高度的治疗潜力,但仍与 CD19 CAR-T 治疗急性淋巴细胞白血病及弥漫性大 B 细胞淋巴瘤不同,多发性骨髓瘤患者应用 BCMA CAR-T 后的生存曲线未展现出稳定的平台期^[6-7]。虽然相当比例的患者在接受输注较长时间后仍可在体内检测到 CAR-T 细胞,但这并不

作者单位:中国医科大学附属盛京医院第一血液内科(沈阳市110000)

*本文课题受辽宁省教育厅 2019 年度科学研究经费项目(编号:JC2019011)资助

通信作者:胡荣 hur@sj-hospital.org

能阻止疾病的复发,提示抗原丢失不是唯一的肿瘤复发原因^[5]。因此,需广泛探索潜在耐药机制,以提高治疗应答率,有效改善患者生存期。本文将从多发性骨髓瘤细胞免疫逃逸、治疗相关因素及肿瘤免疫微环境的抑制 3 个方面来探讨 BCMA CAR-T 细胞疗法的响应因素及耐药机制,以期为相关问题解决提供参考。

1 肿瘤细胞的免疫逃逸

多发性骨髓瘤患者治疗前的基线 BCMA 表达水平会影响 CAR-T 细胞治疗的反应深度与预后生存^[8,9]。部分病例先天即具有 BCMA 杂合缺失。低水平的靶点表达会令 CAR-T 细胞难以接收到扩增信号,使未活化 T 细胞数量在输注进机体后难以维系,迅速消失。CAR-T 细胞与 RNA 疫苗的联合使用,或可改善上述刺激不足的问题。但也有研究认为 BCMA 的密度异质性与 CAR-T 细胞治疗后临床结局不相关。这种研究结果的差异可能来源于不同实验中用于量化基线 BCMA 水平的实验方法不同^[10-11]。

此外,CAR-T 细胞的胞吞作用会令靶抗原由肿瘤细胞转移到 T 细胞上,从而引起抗原损失。这源于将 BCMA CAR-T 细胞与 KMS-12-BM 骨髓瘤细胞共孵育后,观察到骨髓瘤细胞表面 BCMA 抗原可逆性降低,T 细胞的 BCMA 抗原水平升高。有研究推测这种现象是由于 T 细胞的胞吞作用引起靶抗原转移^[12]。

接受 BCMA CAR-T 细胞输注后,无论是否有应答,约 50% 的患者会发生骨髓瘤细胞上的 BCMA 表达水平进行性下降^[11],导致 CAR-T 治疗耐药。其机制可解释为治疗压力下的克隆选择:随着时间延长,CAR-T 细胞治疗使高表达 BCMA 的骨髓瘤细胞被消灭,但低表达 BCMA 的肿瘤细胞被选择生存下来。部分研究展示了在 CAR-T 治疗进展的患者中,骨髓瘤细胞上的 BCMA 表达水平降低^[8,13]。目前,已确认了一种治疗后基因组改变方式:经历初始 CAR-T 细胞输注后,1 个 BCMA 双等位基因缺失克隆被选择生存。该获得性克隆表现为 1 个等位基因的缺失及另一个等位基因的早期终止密码子突变成^[14]。因此,在使用 CAR-T 后,若治疗者考虑尝试另一种靶向 BCMA 的免疫疗法,那么此时检测 BCMA 表达水平是必要的。使用高亲和 BCMA 的 CAR-T 细胞或许可减少克隆耐药的发生。目前,靶向 CD19、CD38、整合素 β 等相关替代抗原的研究正在逐步开展^[15]。通过应用两种 CAR-T 细胞组合的混合产品已被证明具有高反应活性。靶向 CD19 和 BCMA CAR-T 细胞的混合组合产品在复发/难治性多发性骨髓瘤患者中相较于单独的 CAR-T 产品具有更加优异的预后数据^[16]。由于使用混合产品需警惕竞争抑制的出现,以避免其中一种产品拥有过多的生长优势,使另一种产品失去

了扩增的机会。还有一种方法是设计双靶向 CAR-T 细胞,即单个细胞上拥有两种不同的 CAR 结构域,由于二阶免疫识别的建立,可以更好地兼顾抗原表达异质性,延缓克隆耐药的发生。目前,已设计形成包括 BCMA+CD19、BCMA+CD38、BCMA+SLAMF7 及 BCMA+TACI 等多种双靶向 CAR-T 产品^[17-19]。未来需要更多的临床实验数据参与进多靶向 CAR-T 设计中,以规避多抗原靶向带来的生物毒性及谋求最优临床结局。

2 CAR-T 产品因素引起的应答异质性

2.1 CAR-T 细胞结构

临床应用的 CAR-T 细胞多为第二代产品,相较于第一代,由于添加了 CD28、4-1BB 或 OX40 等共刺激信号,CAR-T 细胞功能得到强化。选择不同的共刺激信号类型会引起 CAR-T 细胞的活性差异。CD28 共刺激结构域与 CAR-T 细胞加快扩增及细胞毒能力有关,而 4-1BB 共刺激结构域能延长持久性,并增强记忆表型 CD45RO+CCR7+T 细胞分化^[20-21]。目前,大多数 BCMA CAR-T 细胞产品使用 4-1BB 作为共刺激域。通过引进同时包含两个共刺激结合域的第三代 CAR-T 有助于协同增加抗肿瘤作用并延长有效治疗时间。

CAR-T 的异体结构域可诱导抗 CAR 抗体出现,导致 CAR-T 细胞计数减少和活性丧失^[22]。为了解决免疫排异,可尝试去除非人源性结构域或类似 5 代通用型 CAR-T 思路,去除 TCR 及 HLA-1 等基因,以减少自身抗体致 CAR-T 丢失。

2.2 T 细胞基线状态

制造 CAR-T 细胞首先需对患者体内 T 细胞进行单采。由于多发性骨髓瘤患者体内的免疫细胞存在着数量与功能的缺陷,且遗传学变异、先前治疗药物暴露及其他基础疾病等因素的存在都会造成不同单采产品中 T 细胞亚群差异,这导致了疗效异质性。产品中拥有更多的幼稚及早期记忆 T 细胞、更高的 CD4/CD8 比率会引起优异的治疗应答及峰值扩增^[11,23]。BCMA CAR-T 细胞治疗耐药患者来源的 T 细胞则以终末期衰老阶段居多。若已初步判别患者自身来源的 T 细胞质量不佳,考虑同种异体 BCMA CAR-T 产品以提供优质细胞来源或可行,相关产品 ALLO-715 已在初期临床试验中展现出可观的治疗活性与安全性。另外,基于 PI3K 抑制剂的联合应用可以富集初始 T 细胞,提高产品活性^[24]。在体外扩增期加入白介素 7、白介素 15 等细胞因子也有利于增加幼稚及早期记忆 T 细胞占比^[25-26]。CD4 T 细胞负责与专职抗原呈递细胞相互作用并分泌多种细胞因子在抗肿瘤免疫中发挥辅助作用,CD8 T 细胞则负责直接杀伤肿瘤细胞。CD4/CD8 比率天平的失衡将很大影响肿瘤杀伤效

率^[27]。通过适当调配 CAR-T 产品中的 CD4/CD8 占比的确可以增强抗肿瘤效应^[28]。

3 既往治疗方案影响

无论是先期药物化疗方案,还是 CAR-T 扩增生成期间的桥接治疗都会对 CAR-T 细胞输注后的反应深度及持久度造成影响。研究结果表明,与既往接受了多线治疗的患者相比,来源于疾病早期阶段患者血样中的早期记忆 T 细胞、CD4/CD8 比率要更高^[29],这就意味着单采 T 细胞质量更好。清淋方案选择也会影响后续疗效。作为过继 T 细胞治疗的组成部分,清淋预处理谋求以最小的毒性达到最大的效果。数项实体瘤临床试验及荟萃分析表明,高剂量清淋与不良事件增加显著相关,却与更高的客观反应率无关^[30-31]。在多发骨髓瘤中,大样本试验设计及指南制定将有助于准确的风险-收益分析。使用达雷妥尤单抗作为桥接治疗的患者在接受 CAR-T 细胞输注后与未接受患者相比响应率更优异(部分缓解:91% vs. 75%)^[10],同时达雷妥尤单抗能塑造更为宽松的免疫微环境,减少环境抵抗。如果患者行 CAR-T 治疗,前期治疗方案应尽可能少干扰后期 CAR-T 扩增与功能维系,若能增强机体对 CAR-T 细胞的敏感性则更为理想。

4 肿瘤免疫微环境的免疫抑制

多发骨髓瘤细胞的微环境包括基质细胞、免疫抑制细胞、相关细胞分泌产物等成分。已有研究报道在 BCMA CAR-T 细胞治疗无应答的患者中可见调节性 T 细胞的扩增、PD-1 的上调及 IL-10 表达水平的升高。与复发进展的患者相比,对 bb21217(一种 BCMA CAR-T 产品)持续敏感的患者其体内 CAR-T 细胞表达的 PD-1 和 LAG-3 水平较低^[8,13]。长期持续的慢性抗原暴露使 T 细胞“疲惫”,从而上调抑制性受体适应生存。与 PD-1 抑制剂的联合治疗可恢复 BCMA CAR-T 细胞治疗进展患者的 CAR-T 细胞衰竭^[13]。CAR-T 作为基因编辑产物,面对肿瘤微环境的抵抗,同样可以引入相关基因修饰解决困境,如共转导免疫刺激因子或敲除抑制性免疫检查点基因。抑或设计双靶点 CAR-T 产品,靶向肿瘤细胞的同时,杀伤免疫抑制细胞。如 BCMA/CD38 双靶向 CAR-T 细胞即可同时消除调节性 B 细胞^[32]、BCMA/SLAMF7 双靶向 CAR-T 细胞可解除骨髓瘤细胞与骨髓基质细胞之间的抑制。

5 结语与展望

本文从肿瘤细胞免疫逃逸、CAR-T 产品因素、既往治疗方案及肿瘤免疫微环境的抑制等几个方面探讨了多发性骨髓瘤患者应用 BCMA CAR-T 细胞技术的应答影响因素及可能诱导耐药的机制。更好地了解治疗后反应的决定因素与获得性耐药机制有助于寻求能够提高 CAR-T 细胞治疗有效性的新策略。未来需要

更多大样本的研究数据与全面的试验设计纳入到 CAR-T 研究中来,以期多发骨髓瘤的治疗带来新的方法。

本文无影响其科学性与可信度的经济利益冲突。

参考文献

- [1] Kastiris E, Terpos E, Dimopoulos MA. How I treat relapsed multiple myeloma[J]. *Blood*, 2022, 139(19):2904-2917.
- [2] Ghorashian S, Jacoby E, De Moerloose B, et al. Tisagenlecleucel therapy for relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukaemia in infants and children younger than 3 years of age at screening: an international, multicentre, retrospective cohort study[J]. *Lancet Haematol*, 2022, 9(10):e766-e775.
- [3] Locke FL, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene ciloleucel as second-line therapy for large B-cell lymphoma[J]. *N Engl J Med*, 2022, 386(7):640-654.
- [4] John L, Poos AM, Brobeil A, et al. Resolving the spatial architecture of myeloma and its microenvironment at the single-cell level[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1):5011.
- [5] Munshi NC, Anderson LD Jr, Shah N, et al. Idecabtagene vicleucel in relapsed and refractory multiple myeloma[J]. *N Engl J Med*, 2021, 384(8):705-716.
- [6] Gagelmann N, Ayuk F, Atanackovic D, et al. B cell maturation antigen-specific chimeric antigen receptor T cells for relapsed or refractory multiple myeloma: a meta-analysis[J]. *Eur J Haematol*, 2020, 104(4):318-327.
- [7] Shah N, Chari A, Scott E, et al. B-cell maturation antigen (BCMA) in multiple myeloma: rationale for targeting and current therapeutic approaches[J]. *Leukemia*, 2020, 34(4):985-1005.
- [8] Brudno JN, Maric I, Hartman SD, et al. T cells genetically modified to express an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of poor-prognosis relapsed multiple myeloma[J]. *J Clin Oncol*, 2018, 36(22):2267-2280.
- [9] Salem DA, Maric I, Yuan CM, et al. Quantification of B-cell maturation antigen, a target for novel chimeric antigen receptor T-cell therapy in Myeloma[J]. *Leuk Res*, 2018, 71:106-111.
- [10] Raje N, Berdeja J, Lin Y, et al. Anti-BCMA CAR-T cell therapy bb2121 in relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *N Engl J Med*, 2019, 380(18):1726-1737.
- [11] Cohen AD, Garfall AL, Stadtmauer EA, et al. B cell maturation antigen-specific CAR T cells are clinically active in multiple myeloma[J]. *J Clin Invest*, 2019, 129(6):2210-2221.
- [12] 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.
- [13] Ali SA, Shi V, Maric I, et al. T cells expressing an anti-B-cell maturation antigen chimeric antigen receptor cause remissions of multiple myeloma[J]. *Blood*, 2016, 128(13):1688-1700.
- [14] Samur MK, Fulciniti M, Aktas Samur A, et al. Biallelic loss of BCMA as a resistance mechanism to CAR T cell therapy in a patient with multiple myeloma[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1):868.
- [15] Garfall AL, Stadtmauer EA, Hwang WT, et al. Anti-CD19 CAR-T cells with high-dose melphalan and autologous stem cell transplantation for refractory multiple myeloma[J]. *JCI Insight*, 2019, 4(4):e127684.

- [16] Yan LZ, Qu S, Shang JJ, et al. Sequential CD19 and BCMA-specific CAR T-cell treatment elicits sustained remission of relapsed and/or refractory myeloma[J]. *Cancer Med*, 2021, 10(2):563-574.
- [17] Chen KH, Wada M, Pinz KG, et al. A compound chimeric antigen receptor strategy for targeting multiple myeloma[J]. *Leukemia*, 2018, 32(2):402-412.
- [18] Schmidts A, Ormhøj M, Choi BD, et al. Rational design of a trimeric APRIL-based CAR-binding domain enables efficient targeting of multiple myeloma[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(21):3248-3260.
- [19] Lee L, Draper B, Chaplin N, et al. An APRIL-based chimeric antigen receptor for dual targeting of BCMA and TACI in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2018, 131(7):746-758.
- [20] Lam N, Trinklein ND, Buelow B, et al. Anti-BCMA chimeric antigen receptors with fully human heavy-chain-only antigen recognition domains[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):283.
- [21] Kawalekar OU, O'Connor RS, Fraietta JA, 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.
- [22] Xu J, Chen LJ, Yang SS, et al. Exploratory trial of a biepitopic CAR T-targeting B cell maturation antigen in relapsed/refractory multiple myeloma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(19):9543-9551.
- [23] Singh N, Perazzelli J, Grupp SA, et al. Early memory phenotypes drive T cell proliferation in patients with pediatric malignancies[J]. *Sci Transl Med*, 2016, 8(320):320ra3.
- [24] Zheng WT, O'Hear CE, Alli R, et al. PI3K orchestration of the *in vivo* persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells[J]. *Leukemia*, 2018, 32(5):1157-1167.
- [25] Sampson JH, Choi BD, Sanchez-Perez L, et al. EGFRvIII mCAR-modified T-cell therapy cures mice with established intracerebral glioma and generates host immunity against tumor-antigen loss[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(4):972-984.
- [26] Shah NN, Fry TJ. Mechanisms of resistance to CAR T cell therapy[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2019, 16(6):372-385.
- [27] Gattinoni L, Speiser DE, Lichterfeld M, et al. T memory stem cells in health and disease[J]. *Nat Med*, 2017, 23(1):18-27.
- [28] 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.
- [29] Garfall AL, Dancy EK, Cohen AD, et al. T-cell phenotypes associated with effective CAR T-cell therapy in postinduction vs relapsed multiple myeloma[J]. *Blood Adv*, 2019, 3(19):2812-2815.
- [30] Owen K, Ghaly R, Shohdy KS, et al. Lymphodepleting chemotherapy practices and effect on safety and efficacy outcomes in patients with solid tumours undergoing T cell receptor-engineered T cell (TCR-T) Therapy: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(4):805-814.
- [31] Nissani A, Lev-Ari S, Meirson T, et al. Comparison of non-myeloablative lymphodepleting preconditioning regimens in patients undergoing adoptive T cell therapy[J]. *J Immunother Cancer*, 2021, 9(5):e001743.
- [32] Mei H, Li CG, Jiang HW, et al. A bispecific CAR-T cell therapy targeting BCMA and CD38 in relapsed or refractory multiple myeloma[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):161.

(2023-08-25 收稿)

(编辑: 孙喜佳 校对: 范娟)

作者简介

李运佳 专业方向为恶性血液病的诊断与治疗。

E-mail: YunjiaLi2016@163.com

