

中图分类号:R969 文献标识码:A 文章编号:1672-8629(2017)10-0611-04

嵌合抗原受体基因修饰 T 细胞早期临床试验的探讨

高建超 高晨燕* (国家食品药品监督管理总局药品审评中心,北京 100038)

摘要:目的 对影响早期临床试验设计的因素进行探讨,并深入分析早期临床试验的设计原则和方法。方法 从产品特征、临床前研究、安全性风险等方面分析 CAR-T 细胞临床试验的影响因素,并从试验目的、研究对象、试验设计等角度总结 CAR-T 细胞早期临床试验的考虑要点。结果 CAR-T 细胞的产品特征、临床前研究方法和安全性风险与其它药物有显著差异,对早期临床试验有重要影响。结论 在早期临床试验中探索 CAR-T 细胞的有效剂量、不良反应、初步的有效性非常重要,此外,还应在早期临床试验中验证 CAR-T 细胞的临床可及性及工艺稳定性。

关键词:嵌合抗原受体基因修饰 T 细胞;早期临床试验;临床前研究;安全性;试验设计

General Considerations for Early-phase Clinical Trials of Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy

GAO Jian-chao GAO Chen-yan* (Center for Drug Evaluation, CFDA, Beijing 100038, China)

Abstract: **Objective** To discuss the factors that affect the design of early-phase clinical trials and analyze the designing principles and methods of early-phase clinical trials. **Methods** The influencing factors of the clinical trials of CAR-T cells including the product characteristics, preclinical study and safety risk were analyzed, and the important considerations for the early clinical trials were summarized in terms of study objectives, subject and trial design, etc. **Results** The product characteristics, pre-clinical studies and safety risks of CAR-T cells are significantly different from other drugs, all of which have significant influences on early clinical trials. **Conclusion** It is important to explore the effective dose, side effects, and initial effectiveness of CAR-T cells in early clinical trials, and furthermore, the clinical applicability and process stability of CAR-T cells should also be validated in early clinical trials.

Key words: chimeric antigen receptor T cells; early-phase clinical trial; pre-clinical study; safety; trial design

近年来,随着肿瘤免疫研究的迅速发展,嵌合抗原受体基因修饰 T 细胞(CAR-T)免疫治疗在很多恶性肿瘤的治疗中初露锋芒,已经成为继免疫检验点抑制剂之后的又一研究热点。2017 年 7 月 12 日, FDA 肿瘤药物专家咨询委员会(ODAC)召开针对诺华公司 CAR-T 疗法 CTL-019 的评估会议,以 10:0 的投票结果一致建议批准该疗法上市,拉开了 CAR-T 细胞治疗走向市场化应用的序幕。CAR-T 细胞治疗作为一种融合了基因治疗与细胞治疗的新兴疗法,一方面在恶性肿瘤,特别是造血系统肿瘤中显示出巨大的治疗潜力,另一方面,其产品特征、疗效特点和安全性风险也与传统化疗药物有显著区别,因此 CAR-T 细胞的临床研究设计与其他药物也有所不同。2015 年 6 月, FDA 发布了《细胞和基

因治疗产品早期临床试验的设计考虑》^[1], 本文将结合该指南对 CAR-T 细胞早期临床试验中需要考虑的一般因素进行探讨。

1 影响 CAR-T 细胞临床试验设计的因素

1.1 产品特征

CAR-T 细胞是利用基因工程技术,将嵌合抗原受体(CAR)在 T 细胞中表达,从而赋予 T 细胞对特定抗原的识别和自我活化能力的一种新型免疫细胞疗法,目前研究较多的靶抗原包括造血系统肿瘤靶点如 CD19、CD20、CD22,以及实体肿瘤靶点如 GD2、mucin1、HER2 等^[2]。与传统的小分子药物或单抗药物不同, CAR-T 细胞是由活的人体细胞组成,输注后可能会经历增殖、迁移等过程。活性细胞在体内的存续时间较长,再次遇到靶抗原后甚至重新激活。因此,其疗效的持续时间较长,同时也需要更长的时间来观察其对患者安全性产生的影响。此外,由于 CAR-T 细胞在体外培养的同时进行了载体介导的外源性基因表达,与其他的人体细胞移植治

作者简介:高建超,男,主管药师,生物制品技术审评。

***通讯作者:**高晨燕,女,主任药师,生物制品技术审评。

E-mail: gaocyc@cde.org.cn

疗相比,该疗法也具有基因治疗的部分特征,如外源性基因插入、需要利用病毒载体等。

1.2 临床前研究

临床前研究是否充分对于决定 CAR-T 细胞在临床试验中的疗效十分重要,例如,体内靶抗原的表达分布、嵌合抗原受体与靶抗原的亲力和特异性、体外转染效率、病毒载量、嵌合抗原受体表达水平、细胞活率等药理学研究越充分,越有利于保持产品质量稳定并增加后续药理毒理和临床试验的成功率。

在临床前研究中应对 CAR-T 细胞的体内分布、免疫反应、初始细胞剂量和毒性反应等进行研究,临床前研究设计应支持临床试验的剂量选择和给药途径等应用方案。与传统药物的药代动力学研究不同,CAR-T 细胞的 PK 研究设计应能阐明 CAR-T 细胞在体内的表达、分布和持久性,如果技术条件可行,还应对 CAR-T 细胞与正常 T 细胞在体内的生物学行为(分布、归巢、寿命等)进行比较。此外,免疫反应具有显著的种属特异性,部分动物体内得到的研究数据对人体的提示作用有限,因此,选择合适的种属和疾病动物模型来提供有效的临床前研究证据十分重要。

1.3 安全性风险

由于 CAR-T 细胞可以在体内长期存活,因此,其引起毒性反应的潜伏时间可能远长于传统的小分子药物^[9]。临床试验中已经报道的 CAR-T 细胞的不良反应包括细胞因子风暴(cytokine release syndrome, CRS)、神经毒性(neurotoxicity)、脑水肿(cerebral edema)、肿瘤溶解综合征(tumor lysis syndrome, TLS)、中靶-脱瘤效应(on-target/off-tumor effect),其他可能出现的安全性风险还包括移植抗宿主病(graft versus host disease, GVHD),插入性突变(insertional oncogenesis)等。

细胞因子风暴(CRS)是 CAR-T 细胞治疗最常见的不良反应,一般认为它是输注的 CAR-T 细胞在短时间内大量激活所引起,其特征为炎性细胞因子,包括 γ -干扰素、GM-CSF、IL-6、C-反应蛋白等短时间内急剧升高。临床表现为高热、乏力、疲劳、肌痛、恶心、厌食、心动过速、低血压、毛细血管渗透性增加、心功能不全、肾损害、肝功能衰竭、弥漫性血管内凝血等^[4]。临床上 CRS 的治疗药物包括皮质类固醇激素^[5]、IL-6 受体阻断剂托珠单抗等^[6]。

神经毒性的症状包括头痛、昏愤、谵妄、表达性失语、共济失调、迟钝、肌阵挛、癫痫发作等,在针对 CD19 的 CAR-T 细胞临床试验中有报道^[7],其发生机制有待进一步研究。有研究在患者的脑脊液中检测到 CAR-T

细胞^[8],原因可能是脑部组织表达的少量 CD19 诱导 CAR-T 细胞迁移到中枢神经系统^[9],也可能是 IL-6 的释放促进了 CAR-T 细胞穿过血脑屏障进入中枢神经系统^[10],目前尚没有证据显示神经毒性是由 CAR-T 细胞直接导致的。

脑水肿是一种严重甚至致命的不良反应,目前已有 8 例 CAR-T 细胞临床治疗中出现脑水肿导致死亡的病例报告,其中 5 例出现在 JUNO JCAR015 治疗成人急性淋巴细胞白血病(ALL)的临床试验中,2 例出现在 JUNO JCAR014 临床试验中,1 例出现在 Kite 的 ZUMA-1 II 期临床试验中。CAR-T 细胞治疗导致患者出现脑水肿的机制尚不清楚,出现脑水肿后的治疗方法包括抬高患者头部、过度换气、高渗盐水或甘露醇脱水治疗、脑脊液引流等。

肿瘤溶解综合征是指肿瘤细胞短时间内崩解破坏、细胞代谢产物迅速释放导致严重的高尿酸血症、高钾血症、高磷血症以及低钙血症,甚至并发急性肾功能衰竭等一系列病变,国内外 CAR-T 临床试验中均有出现 TLS 的报道^[11-12]。肿瘤负荷较大、肿瘤细胞增殖迅速、肾功能不全的患者出现 TLS 的风险较高。

中靶-脱瘤效应,如果靶抗原除了在肿瘤组织表达,还在瘤外正常组织中表达,CAR-T 细胞可能会对患者的正常组织发动攻击,导致患者出现严重不良反应,如以 HER2 为靶点的 CAR-T 细胞在治疗转移性结直肠癌时,攻击正常肺组织中表达的 HER2,导致患者出现急性肺渗出死亡^[13];或以 CD19 为靶点的 CAR-T 细胞在杀伤肿瘤细胞的同时,也杀伤正常的 B 细胞,导致患者 B 细胞发育不全,需要定期输注免疫球蛋白以预防感染^[14]。

在接受同种异体造血干细胞移植后肿瘤复发的患者中,开展同种异体 CAR-T 细胞治疗时,供者的 CAR-T 细胞可能攻击受者的组织器官引起移植抗宿主病(GVHD)^[15]。因此,增强供者 CAR-T 细胞抗肿瘤活性的同时,避免加重 GVHD 是早期临床试验中需要考虑的因素之一。

此外,在 CAR-T 细胞的生产过程中,大多数情况下都使用慢病毒(如 HIV-1)或其他逆转录病毒(如 γ -逆转录病毒,MLV)进行 CAR 的体外转染,存在病毒载体整合入基因组导致突变,甚至致癌的可能,一般来说逆转录病毒倾向于插入编码基因启动子和增强子区域,导致插入突变的风险较高,而慢病毒载体倾向于随机插入基因组,对正常基因表达的影响相对较小^[16],在早期临床试验开始前应对病毒载体插入突变引起的风险进行深入研究。如果 CAR-T 细胞临床试验的受试者中包括

HIV 感染或携带者,还应对病毒载体与体内野生型病毒同源重组导致病毒载体获得体内复制能力的风险进行分析。

2 早期临床试验设计

2.1 早期临床试验的目的

与小分子药物的早期临床试验相同,CAR-T 细胞早期临床试验的主要目的也是评价试验药物在人体中应用的安全性,包括初始剂量和安全剂量、不良反应类型和发生率等。但与传统药物不同的是,在 CAR-T 细胞的早期临床试验中需要对临床应用的可行性和细胞活性进行分析,此外还会对有效性进行初步分析。

2.1.1 剂量探索 经典的剂量探索方案可能不适用于 CAR-T 细胞产品,但在早期临床试验中对不同剂量(至少包括一个最低有效剂量和最大耐受剂量(MTD))进行研究可以为探索 CAR-T 细胞的量效关系提供参考,并为有效剂量的选择提供依据。由于 CAR-T 细胞产品的个体和批间差异较大,不同患者体内的免疫功能状态也存在差异,精确测定 CAR-T 细胞的 MTD 往往比较困难。CAR-T 细胞产品和细胞毒类药物的量效关系特征有显著差异,细胞数量到达一定水平后,继续增加细胞数量不一定能增强细胞在体内的疗效,反而可能增加不良反应的风险并增加制备难度,因此,探索合理的细胞剂量可以在保证疗效的同时,尽量降低细胞产品的不良反应风险。

2.1.2 应用可及性 CAR-T 细胞的生产环节包括细胞采集、体外培养和处理、细胞回输和冷冻运输等,全过程只有 2~3 周,而且临床应用时需要相应的配套设备或包装材料,早期临床试验中需要对 CAR-T 细胞产品的生产、运输、保存等进行验证,确保临床应用的可及性。

2.1.3 活性分析 除安全性外,早期临床试验中通常会设立次要疗效终点对 CAR-T 细胞的活性进行初步分析,如细胞增殖和分布特征、体内活性、肿瘤缓解程度等。

2.2 研究对象的选择

基于 CAR-T 细胞治疗的适应证和已有的安全性证据,一般不考虑在健康受试者中开展早期临床试验。招募受试者时应充分考虑 CAR-T 细胞产品对受试者的获益-风险影响,应尽可能在预期获益大于风险的患者中开展早期临床试验。通常来说,病情较严重的受试者与病情较轻的受试者相比,能够接受更高的风险以获得临床获益。如果受试者病情严重或进展迅速,难以耐受 CAR-T 细胞的治疗风险,如无法完成介入性操作如细胞采集,或无法等待细胞在体外的处理和运输过程,也不适合参加早期临床试验。此外,恶性程度不同的肿瘤

患者生理功能的受损程度不同,接受 CAR-T 细胞后显示出的疗效和安全性风险可能也有差异。选择与目标治疗人群的疾病或生理状态相似的受试者,可以增加早期临床试验结果的可信度并为下一阶段的试验提供依据。

在招募早期临床试验的受试者时,还应充分考虑患者是否有其他治疗可以选择,如果目标治疗人群是难治性或无法治疗的患者,筛查时就需要对患者的治疗史和对其他治疗的反应进行充分评估,以确保入组患者与目标治疗人群的人口统计学特征一致。

对于适应证人群包括儿童患者的 CAR-T 细胞治疗,应首先在成人患者中取得初步的安全性和耐受性证据后,才在儿童受试者开展试验,并合理设计儿童受试者中的细胞数量和给药方法。

2.3 试验设计

2.3.1 剂量选择和爬坡方法(dose description and escalation)

早期临床试验中可以根据临床前研究结果或前期研究经验选择固定细胞数或按公斤体重计算细胞输注量。CAR-T 细胞是混合细胞产品,除了发挥治疗作用的活性细胞外还包括大量的非活性细胞,细胞数量和比例的个体差异较大。此外,不同患者的转染效率也存在较大差异。因此,在描述细胞剂量时除了细胞总数、还应考虑转染阳性率、细胞组成和比例(如 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞比例)等。以转染阳性细胞计数作为剂量依据可能更有利于分析 CAR-T 细胞的疗效和质量稳定性。可以根据临床前研究或既有临床研究中的疗效和安全性结果合理制定剂量爬坡方法,有些 CAR-T 细胞早期临床研究选择 101/2(约 3 倍)作为剂量递增间隔^[17]。

2.3.2 错峰给药(staggering administration)和群组人数

(cohort size) 由于现有临床试验结果显示 CAR-T 细胞在患者中可能引起 CRS 或脑水肿等严重不良反应,在早期临床试验中受试者同时给药(simultaneous administration)可能产生潜在安全性风险,因此 CAR-T 细胞早期临床试验中一般采用错峰给药方法,即单例或单组受试者给药后观察一段时间内的不良反应,如果没有出现严重不良反应则开始下一例或下一组受试者的用药。观察间隔(staggering interval)可以根据临床前研究或既有临床研究中急性或亚急性不良反应的出现时间来确定,也需考虑 CAR-T 细胞在体内的活性持续时间。

群组人数可以根据受试人群的所能接受的安全性风险进行调整,如果受试人群的病情较轻,能够接受的安全性风险较小,可以适度扩大单组受试者的人数。当 CAR-T 细胞存在安全性风险或生产工艺不稳定时,也需要扩大单组受试者的人数以充分评估其风险。目前绝

大多数 CAR-T 细胞治疗针对的适应证是各种类型的恶性肿瘤,可以考虑采用 3+3 的群组设计(图 1)。

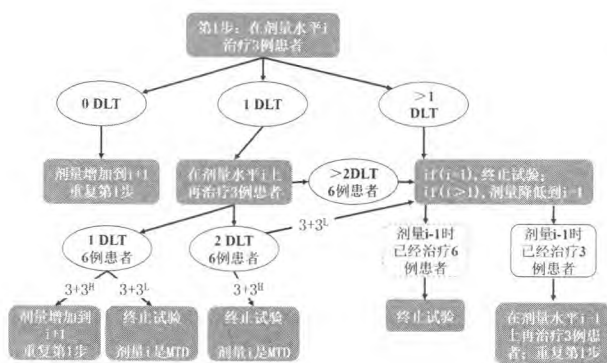


图1 3+3 群组设计示意图

注:3+3¹ 或 3+3² 分别表示最大耐受剂量(MTD)定义为六例患者中不超过1例或2例剂量限制性毒性(DLT)时的最高剂量^[18]。

2.4 监测和随访

CAR-T 细胞早期临床试验的目的主要是观察其安全性,研究方案中可以设计合理的体格、生化及细胞学等检查方法来监测细胞在体内的扩增情况、存活时间、活性状态及患者的不良反应情况,同时还需对患者可能出现的不良反应做好充分的治疗和抢救准备,如托珠单抗、完善的抢救设备和药物。此外,很多 CAR-T 细胞早期临床试验中都会选择疗效作为次要观察终点,研究方案可以根据适应证的特点选择合适的疗效终点指标。

CAR-T 细胞中的 CAR 可能包含非人源化序列,输注体内后可能激发机体产生针对 CAR-T 细胞的免疫反应,临床试验中可能需要定期观察细胞的免疫原性,如果试验方案中存在多次给药,CAR-T 细胞免疫原性的观察就更加重要。儿童受试者需要进行较长时间的随访以观察 CAR-T 细胞治疗对正常生长和发育的影响。此外,CAR-T 细胞治疗过程中存在病毒载体的基因序列与人体基因组整合,引起插入突变甚至新肿瘤的风险,也需要进行较长时间的随访,FDA 针对基因治疗临床试验要求进行15年的随访以观察其长期安全性^[19]。

3 结语

CAR-T 细胞近年来在国内外研发的热度不断增加,有望成为继免疫检验点抑制剂之后又一极具潜力的肿瘤治疗方法。国内 CAR-T 细胞临床试验已经如火如荼地开展,美国临床试验数据库(clinicaltrial.gov)上注册的临床试验数量已经仅次于美国,成为世界上最多的国家或地区之一。在早期临床试验中探索 CAR-T 细胞的

有效剂量、不良反应、初步的有效性非常重要,此外,通过早期临床试验也可以验证 CAR-T 细胞的临床可及性及工艺稳定性。本文对 CAR-T 细胞早期临床试验中需要考虑的因素进行探讨,以期国内开展的 CAR-T 细胞临床试验提供参考。

参考文献:

- [1] FDA. Considerations for the Design of Early-Phase Clinical Trials of Cellular and Gene Therapy Products[EB/OL].(2015-06)[2017-07-01]. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM564952.pdf>.
- [2] Kakarla S, Gottschalk S. CAR T cells for solid tumors: armed and ready to go?[J]. Cancer Journal, 2014, 20(2):151.
- [3] 张敬伟,段冬梅,袁小笋,等.沙利度胺联合化疗治疗老年晚期非小细胞肺癌的临床观察[J].中国药物警戒,2017,14(8):460-463,469.
- [4] Lee D W, Gardner R, Porter D L, et al. Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome [J]. Blood, 2014, 124(2):188-195.
- [5] Davila M L, Riviere I, Wang X, et al. Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Science Translational Medicine, 2014, 6(224):224.
- [6] Maude S L, Barrett D, Teachey D T, et al. Managing Cytokine Release Syndrome Associated With Novel T Cell-Engaging Therapies[J]. Cancer Journal, 2014, 20(2):119.
- [7] Lee D W, Kochenderfer J N, Stetlerstevenson 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(9967):517.
- [8] Maus M V, Grupp S A, Porter D L, et al. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies [J]. Blood, 2014, 123(17):2625-2630.
- [9] Maus M V, Grupp S A, Porter D L, et al. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies [J]. Blood, 2014, 123(17):2620-2635.
- [10] Fisher D T, Chen Q, Skitzki J J, et al. IL-6 trans-signaling licenses mouse and human tumor microvascular gateways for trafficking of cytotoxic T cells[J]. Journal of Clinical Investigation, 2011, 121(10):3846-3859.
- [11] Kochenderfer J N, Dudley M E, Carpenter R O, et al. Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation[J]. Blood, 2013, 122(25):4129-4139.
- [12] Miao Y Q, Qu X Y, Wang L, et al. Tumor lysis syndrome in patients with chronic lymphocytic leukemia: two case reports and review of the literature[J]. Int J Clin Exp Pathol 2017;10(2):2446-2450.
- [13] Morgan R A, Yang J C, Kitano M, et al. Case Report of a Serious Adverse Event Following the Administration of T Cells Transduced (下转第 621 页)

(上接第 614 页)

- With a Chimeric Antigen Receptor Recognizing ERBB2[J]. Molecular Therapy the Journal of the American Society of Gene Therapy, 2010, 18(4):843.
- [14] Porter D L, Hwang W T, Frey N V, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia[J]. Science Translational Medicine, 2015, 7(303):303ra139.
- [15] Brudno J N, Somerville R P T, Shi V, 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]. Journal of Clinical Oncology Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 2016, 34(10):1112.
- [16] Therese L, Noemi P J, David E. Lentiviral Vectors for Cancer Immunotherapy and Clinical Applications[J]. Cancers, 2013, 5(3): 815-37.
- [17] Lee D W, Kochenderfer J N, Stetlerstevenson 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(9967):517.
- [18] Ji Y, Wang S J. Modified toxicity probability interval design: a safer and more reliable method than the 3+3 design for practical phase I trials[J]. Journal of Clinical Oncology Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 2013, 31(14):1785.
- [19] FDA. Guidance for Industry: Gene Therapy Clinical Trials—Observing Subjects for Delayed Adverse Events[EB/OL].(2006-11)[2017-07-19]. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/Guidance-ComplianceRegulatoryInformation/Guidances/CellularandGeneTherapy/UCM564952.pdf>

(收稿日期:2017-08-08 编辑:范燕)