

Chimeric antigen receptor-T-cellebehandling

Klaus Müller¹, Marianne Ifversen¹, Katrine Kielsen¹, Søren Lykke Petersen², Özcan Met³ & Inge Marie Svane³

Overlevelsen ved en række hæmatologiske cancerformer er øget markant i de seneste år. Et eksempel er akut lymfoblastær leukæmi (ALL), hvor bedre risikostratificering kombineret med intensivning af kemoterapien har medført overlevelseshæder på op til 90% hos børn og yngre voksne [1, 2]. Prisen for den mere intensive kemoterapi har dog været alvorlige akutte bivirkninger og fysiske eller psykosociale senfølger hos en stor del af patienterne [3]. Hos patienter med højrisiko-ALL og hos patienter med recidiv efter standardbehandling anvendes allogent stamcelletransplantation, som kombinerer intensiv kemoterapi med vedvarende immunologisk kontrol af leukæmicellerne via effekten af donorderiverede lymfocytter. Ved denne tilgang helbredes op til 70%, men med risiko for alvorlige bivirkninger som følge af helkropsbestråling, kemoterapi og *graft-versus-host*-sygdom og med en nonrelapsmortalitet på omkring 10% [4, 5]. For en række andre kræftformer hos børn, inkl. solide tumorer og cancer i centralnervesystemet, har udviklingen været mere beskedent, og hos børn med recidiv af ALL ses der fort-

HOVEDBUDSKABER

- ▶ Behandlingsmuligheder ved relaps af hæmatologisk cancer og primær behandlingsresistent sygdom er begrænsede.
- ▶ *Chimeric antigen receptor* (CAR)-T-celler er et lovende immunologisk behandlingsprincip.
- ▶ Behandling med CD19 CAR-T-celler fra kommercielle og nonkommercielle produkter etableres p.t. på Rigshospitalet.

sat høje mortalitetsrater [6, 7]. Et tilsvarende billede ses hos voksne, hvor langtidsoverlevelsen f.eks. efter recidiv af ALL er på 10-30% og ca. 20% ved behandlingsrefraktært eller recidiverende diffust storcellet B-cellelymfom (DLBCL) [8-10]. Der er således behov for udvikling af nye behandlingsprincipper, der kombinerer effektiv sygdomskontrol med en mere acceptabel bivirkningsprofil.

STATUSARTIKEL

- 1) BørneUngeKlinikken, Rigshospitalet
- 2) Klinik for Blodsygdomme, Rigshospitalet
- 3) Nationalt Center for Cancer Immunoterapi, Herlev Hospital

Ugeskr Læger
2019;181:V05190309

CANCERIMMUNTERAPI

Cancerimmunoterapi udgør et gennembrud i behandlingen af cancer og udnytter immunsystemets evne til at genkende og dræbe cancerceller. P.t. bliver nye former for immunoterapi godkendt i hastigt tempo til stadig flere kræftformer, og de nye behandlingsmuligheder tyder på, at langt flere patienter, selv med fremskreden sygdom, kan blive langtidsoverlevende. Cancerimmunoterapi omfatter forskellige behandlingsprincipper, hvoraf de såkaldte checkpointinhibitorer (CPI) er inde i en betydelig udvikling. CPI er antistoffer, der binder til receptorer på immunceller og/eller cancerceller og blokerer for inhibitoriske immunologiske signaler. Klinisk effekt af CPI er påvist over en bred række af hæmatologiske og solide cancerformer og skyldes aktivering/styrkelse af et T-cellebaseret immunrespons mod muterede tumorproteiner [11]. For flere cancerformer med lave mutationsrater, herunder akut leukæmi, er cancercellernes immunaktiverende effekt imidlertid så ringe, at der ikke induceres et naturligt immunrespons, og ved disse cancerformer har CPI begrænset effekt.

CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR-T-CELLER

En ny lovende strategi til generering af et effektivt anticancerimmunrespons ved de kræftformer, der ikke fremkalder et sufficent naturligt immunrespons, er anvendelse af *chimeric antigen receptor* (CAR)-T-celler.

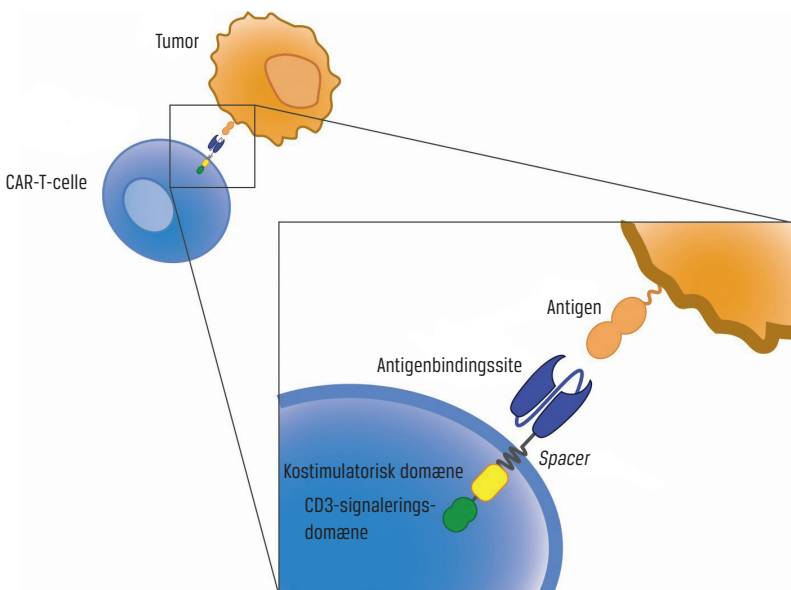
Udviklingen af CAR-T-celler er et lysende eksempel på, hvordan detaljeret grundvidenskabelig immunologisk indsigt kan føre til et muligt paradigmeskifte i cancerbehandlingen. Ved behandling med CAR-T-celler modificeres patientens egne T-celler *ex vivo* til på celleoverfladen at udtrykke en CAR, der er en kimærisk antigenreceptor bestående af den antigenbindende del af et immunoglobulinmolekyle koblet til T-celle-receptorens intracellulære domæne (**Figur 1**). For at opnå tilstrækkelig proliferation og aktivering efter infusion i patienten modificeres *constructet* i de nyere CARs til at indeholde et eller flere kostimulerende domæner (ofte CD28 eller 4-1BB). Uden disse ekstra signaler bliver både naturlige T-celler og CAR-T-celler anerge og dermed klinisk ineffektive [12-14].

Patientbehandlingen med CAR-T-celler er kompleks og kræver et tværfagligt setup med henblik på timing, leukafese, genmodificering, opbevaring og administrering af genmodificerede celler samt mulighed for hurtig adgang til en intensivafdeling pga. risiko for alvorlige akutte toksiciteter. Behandlingen indledes med høst af autologe lymfocytter fra patienten ved leukafese. De høstede T-celler transduceres *in vitro* under GMP-vilkår med anvendelse af en viral vektor (retro eller lentivirus), der bærer *CAR-constructet*, og cellepopulationen ekspanderes med anvendelse af cytokiner. Efter denne procedure, der som oftest tager 10-14 dage, skal CAR-T-celleproduktet kontrolleres for bl.a. virus og kan herefter reinfunderes intravenøst, som oftest forudgået af en kort forbehandling af patienten med lymfocyt-reducerende kemoterapi (**Figur 2**).

KLINISKE UNDERSØGELSER

Behandling med CAR-T-celler rettet imod maligne B-cellessygdomme er på nuværende tidspunkt den mest veletablerede, og de kliniske resultater har været bemærkelsesværdige, hvad angår både effekt og bivirkningsprofil. CAR-T-celler rettet mod CD19-receptoren på maligne celler har således i flere kliniske 1-2-studier vist høj antitumoreffekt hos børn og voksne med fremskreden ALL, kronisk lymfatisk leukæmi og B-cellelymfom [13]. De anvendte CAR-T-celleprodukter i disse studier adskiller sig i CAR-design, T-celleaktiverings- og transduktionsmetoder samt celledoser. Et af de bedst undersøgte CAR-T-celleprodukter er udviklet på University of Pennsylvania og Children's Hospital of Philadelphia og er efterfølgende i samarbejde med Novartis godkendt til klinisk anvendelse til CD19-positiv hæmatologisk cancer. Dette produkt, tisagenlecleucel, er undersøgt i et internationalt fase 2-studie af recidiverende/behandlingsrefraktær CD19+ B-celle-ALL hos 75 børn og yngre voksne i 25 centre. Resultaterne viste en recidivfri overlevelse og en samlet overlevelse på henholdsvis 73% (95% konfidens-interval (KI): 60-82) og 90% (95% KI: 81-95) ved seks måneder og på hen-

FIGUR 1 / Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cellens design. CAR-T-cellens receptor er sammensat af forskellige komponenter. Ekstracellulært sidder et fusionsprotein bestående af den antigenbindende del af et immunoglobulinmolekyle, som kan genkende og binde et antigen på en tumorcelle eksempelvis CD19. Et transmembrant domæne med en *spacer* forankrer *CAR-constructet* i cellemembranen. Intracellulært kan der være placeret et eller to kostimulatoriske domæner (ofte 4-1BB eller CD28), afhængigt af den specifikke generation af CAR-T-celler. Disse forøger signaleringen i CAR-T-cellen og er koblet til et signaleringsdomæne, der svarer til den normale T-celle-receptor.

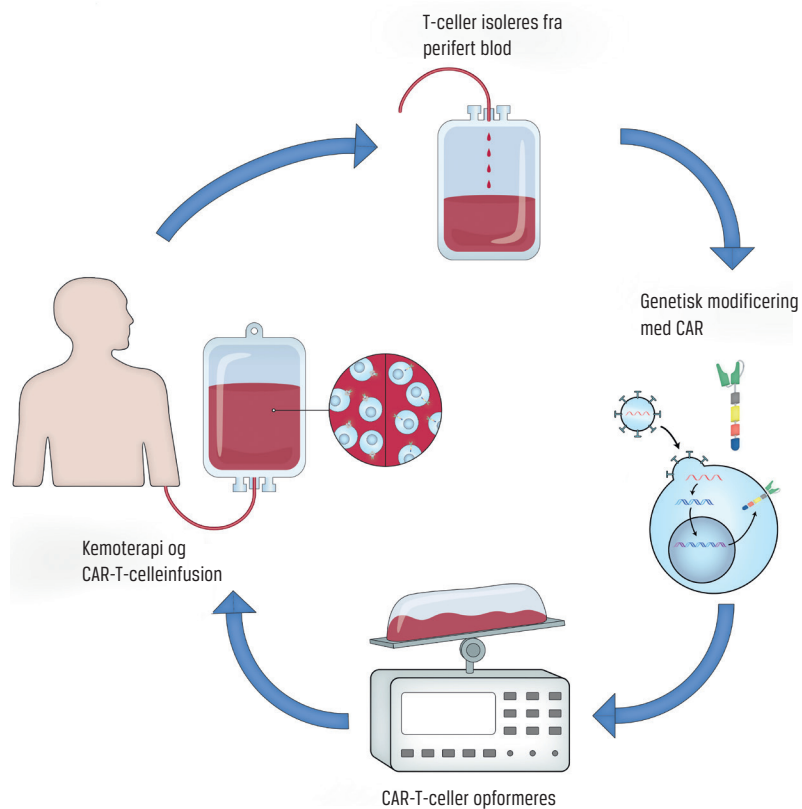


holdsvis 50% (95% KI: 35-64) og 76% (95% KI: 63-86) ved 12 måneder [15]. Samme produkt blev undersøgt i et fase 2-studie med voksne med behandlingsrefraktært eller recidiverende DLBCL. Af 93 behandlede patienter responderede 52% (95% KI:41-62), 40% med komplet respons og 12% med partielt respons. Blandt de responderende var 79% i live ved 12-måneders opfølgning [16]. I et studie af et lignende CAR-T-celleprodukt fra Kite/Gilead (axicabtagencicel) hos patienter med progredierende B-cellelymfom fandt man responsrater på mere end 80% og over 70% progressionsfri overlevelse efter 24 måneder hos de patienter, der var i remission ved tremånedersopfølgning. For alle behandlede var den progressionsfri og den samlede overlevelse på henholdsvis 39% og ca. 50% ved 24-månedersopfølgning [17]. Dette har medført godkendelse i både USA og Europa af disse to nu kommercielt tilgængelige CAR-T-celleprodukter til behandling af patienter, som er op til 25 år og har recidiverende eller refraktært B-ALL, samt til patienter med behandlingsrefraktært eller recidiverende DLBCL efter flere systemiske behandlinger. Behandling med CAR-T-celler er meget dyr, og i Danmark har Medicinrådet i starten af 2019 anbefalet brugen af tisagenlecleucel til B-ALL i ovenfor anførte situationer. Derimod anbefaler Medicinrådet hverken tisagenlecleucel eller axicabtagencicel som standardbehandling hos patienter med relaps/refraktært DLBCL, idet det vurderes, at der mangler evidens for den kliniske merværdi i forhold til den bedst tilgængelige behandling, samt at der ikke er et rimeligt forhold mellem lægemidlets kliniske merværdi og meromkostningerne ved denne behandling.

VIDEREUDVIKLING AF CAR-T-CELLEBEHANDLING

På trods af høje primære responsrater er recidiv efter CAR-T-behandling en betydelig risiko. Forskelle i de observerede respons- og recidivrater afspejler dels forskelle i CAR-*constructet*, dels forskelle i celledosering og sammensætningen af de transducerede celler og forskelle i anvendelsen af den indledende lymfocytreduserende kemoterapi. Recidiver kan skyldes tab af CAR-T-cellerne, tab af deres cytotoxiske aktivitet eller udvikling af CD19-negativ leukæmi. Nye strategier for at imødegå dette er sikring af bedre CAR-T-celleekspansion bl.a. via indsættelse af flere kostimulatoriske domæner i CAR-*constructet* eller supplerende transduktion med andre aktivatorer som f.eks. cytokinreceptorer og cytokiner. Kombinationsbehandling med CPI er en anden lovende strategi til modvirkning af tab af CAR-T-celleaktivitet. En anden mulighed, der p.t. afprøves, er anvendelse af bispecifikke CAR-T-celler rettet mod en kombination af antigenepitoper. F.eks. har en kombination af CD22- og CD19-specificitet vist lovende resultater ved tilbagefald af CD19-negativ B-ALL efter primær behandling med CD19-CAR-T-celler [18, 19].

FIGUR 2 / Oversigt over *chimeric antigen receptor (CAR)*-T-cellebehandling. T-celler isoleres fra patientens blodbane og manipuleres ved hjælp af genteknologi til at udtrykke en antigenreceptor rettet mod et overfladeantigen på en tumorcelle. Herefter opformeres CAR-T-cellerne i højt antal, før de gives tilbage til patienten, som forinden har fået kortvarig kemoterapi.



Udvidelse af anvendelsen af CAR-T-celler til behandling af solide tumorer og andre hæmatologiske cancers er et vigtigt mål, men resultaterne har hidtil været skuffende. Det drejer sig bl.a. om kræftformer som glioblastom, gliom, mesoteliom og neuroblastom samt akut myeloid leukæmi. Den foreløbig begrænsede succes på dette område skyldes bl.a. det immunhæmmende tumormikromiljø, der gør CAR-T-cellerne anerge, og udfordringer med at identificere egnede tumorspecifikke *target*-molekyler uden risiko for krydsreaktivitet over for raske væv [20, 21]. En mere fuldstændig gennemgang af dette mangeartede forskningsområde ligger uden for målet med denne artikel, men er resumeret i en aktuell oversigtsartikel [22].

Behovet for adgang til CAR-T-celler rettet mod et større spektrum af cancer typer og ønsket om at øge effekten via supplerende aktiveringsmekanismer forklarer dynamikken på dette forskningsområde. Feltet er i en hastig udvikling med mere end 300 igangværende kliniske undersøgelser primært i USA og Asien, rettet mod mere end 20 forskellige cellulære overflademærker [23, 24]. Flere af CAR-T-celleprodukterne er udvik-

let i universitetsmiljøer, og omkring en tredjedel af de kliniske studier udgår fra nonindustrielle forskningsinstitutioner, bl.a. pga. udfordringer med pris og tilgængelighed af de kommercielle produkter. Herhjemme er klinisk anvendelse af det kommercielle tisagenlecleucel tilgængelig på Rigshospitalet, ligesom behandling med egenproducerede CAR-T-celler er undervejs gennem et samarbejde mellem Herlev Hospital og Rigshospitalet.

BIVIRKNINGER OG RISICI

Toksicitet ved CAR-T-cellebehandling forårsages af inflammatoriske reaktioner som følge af forstyrrelser i den normale immunologiske homøostase. Hos hovedparten af patienterne ses der varierende grader af *cytokin-release-syndrom* (CRS) i dagene umiddelbart efter infusionen af CAR-T-celler med høj feber, myalgier, generel utilpashed og evt. *capillary leak*-syndrom, der kan medføre hypoksi, hypotension, nyresvigt og koagulopati [25]. Syndromet skyldes stærkt øgede niveauer af cirkulerende inflammatoriske cytokiner bl.a. interleukin (IL)-6 og ses særligt hos patienter med stor tumorbyrde pga. øget initial aktivering af CAR-T-cellerne [12, 15, 26]. Forløbet er i de fleste tilfælde mildt, og i sværere tilfælde kan tilstanden behandles med en kombination af kortikosteroid og cytokinininhibitorer primært rettet mod IL-6 (f.eks. tocilizumab). Hos nogle få patienter er der dog rapporteret om dødelig udgang [13, 27]. En innovativ og lovende strategi til kontrol af svære tilfælde af CRS er neutralisering af aggressive CAR-T-celler via kotransduktion af inducerbare »selvmordsgener« (f.eks. caspase 9), der selektivt inducerer apoptose i CAR-T-cellerne efter aktivering ved indgivelse af en kemisk inducer hos patienter, der udvikler ukontrollerede immunreaktioner [28].

Neurotoksicitet er en anden relativt hyppig komplikation, som indtræder 1-3 uger efter CAR-T-celleinfusion. Symptomerne er generelt forbigående med en varighed på 5-10 dage og omfatter tremor, afasi, kon-

fusion, hallucinationer og undertiden kramper [29]. Symptomerne tilskrives til dels inflammatoriske mekanismer og ledsages i svære tilfælde af EEG-forandringer [24, 30].

Anvendelsen af CAR-T-celler rettet mod CD19-receptoren ledsages generelt af et reduceret niveau af normale, raske B-celler (*on-target off-tumour toxicity*) med resulterende reduktion i plasmaceller og hypogammaglobulinæmi, hvilket nødvendiggør substitutionsbehandling med immunglobulin [14, 16]. Hos hovedparten af patienterne ses der efter CAR-T-cellebehandling tillige korterevarende anæmi, trombocytopeni og neutropeni, som bl.a. tilskrives den indledende lymfocytreducerende kemoterapi. Hos nogle patienter varer cytopenien dog i flere måneder efter CAR-T-cellebehandling, men dette har kun i få tilfælde medført alvorlige infektioner eller blødning [30].

KONKLUSION

CAR-T-cellebehandling er et helt nyt behandlingsprincip inden for cellulær immunterapi og har vist meget lovende kliniske resultater. Hos patienter med behandlingsrefraktær hæmatologisk cancer ses der responsrater på op til 90% med bivirkninger, der oftest er forbigående. CAR-T-celler og andre former for cellulær immunterapi kan potentielt ændre de terapeutiske strategier inden for en række kræftformer i de kommende år. Perspektivet er, at flere kan blive kræftoverlevende og med væsentligt færre senfølger, da behovet for toksisk kemoterapi og bestråling reduceres.

KORRESPONDANCE: Klaus Müller. E-mail: kgmuller@gmail.com

ANTAGET: 20. august 2019

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 14. oktober 2019

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

TAKSIGELSER: Børnecancerfonden takkes for støtte til udvikling og implementering af CAR-T-cellebehandling i Danmark.

LITTERATUR: Findes i artiklen publiceret på Ugeskriftet.dk

SUMMARY

Klaus Müller, Marianne Ifversen, Katrine Kielsen, Søren Lykke Petersen, Özcan Met & Inge Marie Svane:

Chimeric antigen receptor T-cell therapy

Ugeskr Læger 2019;181:V05190309

Although treatment of haematological cancer has improved significantly during the latest decades, the prognosis is poor in case of relapse or refractory disease. This review describes the chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy, which has emerged as a new promising treatment principle, in which the patient's own T-cells are genetically modified to recognise cancer cells. The possible side effects are usually only transient. A commercial CD19 CAR T-cell product has recently been approved as treatment for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults in Denmark, and a non-commercial CAR T-cell production is being established.

LITTERATUR

- Toft N, Birgens H, Abrahamsson J et al. Results of NOPHO ALL2008 treatment for patients aged 1-45 years with acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2018;32:606-15.
- Kansagra A, Dahiya S, Litzow M. Continuing challenges and current issues in acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 2017;59:526-41.
- Schmiegelow K, Müller K, Mogensen SS et al. Non-infectious chemotherapy-associated acute toxicities during childhood acute lymphoblastic leukemia therapy. *F1000Res* 2017;6:444.
- Harvey J, Green A, Cornish J et al. Improved survival in matched unrelated donor transplant for childhood ALL since the introduction of high-resolution matching at HLA class I and II. *Bone Marrow Transplant* 2012;47:1294-300.
- Peters C, Schrappe M, von Stackelberg A et al. Stem-cell transplantation in children with acute lymphoblastic leukemia: a prospective international multicenter trial comparing sibling donors with matched unrelated donors – The ALL-SCT-BFM-2003 trial. *J Clin Oncol* 2015;33:1265-74.
- Oskarsson T, Söderhäll S, Arvidson et al. Relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia in the Nordic countries: prognostic factors, treatment and outcome. *Haematologica* 2016;101:68-76.
- Oskarsson T, Söderhäll S, Arvidson J et al. Treatment-related mortality in relapsed childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Blood Cancer* 2018;65:e26909.
- Fielding AK, Richards SM, Chopra R et al. Outcome of 609 adults after relapse of acute lymphoblastic leukemia (ALL); an MRC UKALL12/ECOG 2993 study. *Blood* 2007;109:944-50.
- Gokbuget N, Stanze D, Beck J et al. Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood* 2012;120:2032-41.
- Crump M, Neelapu SS, Farooq U et al. Outcomes in refractory diffuse large B-cell lymphoma: results from the international SCHOLAR-1 study. *Blood* 2017;130:1800-8.
- Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science* 2018;359:1350-5.
- Davila ML, Sadelain M. Biology and clinical application of CAR T cells for B cell malignancies. *Int J Hematol* 2016;104:6-17.
- Park JH, Geyer MB, Brentjens RJ. CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: interpreting clinical outcomes to date. *Blood* 2016;127:3312-20.
- Majzner RG, Mackall CL. Tumor antigen escape from CAR T-cell therapy. *Cancer Discov* 2018;8:1219-26.
- Maude SL, Laetsch TW, Buechner J et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018;378:439-48.
- Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS et al. Tisagenlecleucel in adult relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2019;380:45-56.
- Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol* 2019;20:31-42.
- Zhao J, Song Y, Liu D. Clinical trials of dual-target CAR T cells, donor-derived CAR T cells, and universal CAR T cells for acute lymphoid leukemia. *J Hematol Oncol* 2019;12:17.
- Majzner RG, Mackall CL. Tumor antigen escape from CAR T-cell therapy. *Cancer Discov* 2018;8:1219-26.
- Majzner RG, Heitzeneder S, Mackall CL. Harnessing the immunotherapy revolution for the treatment of childhood cancers. *Cancer Cell* 2017;31:476-85.
- Petersen CT, Krenciute G. Next generation CAR T cells for the immunotherapy of high-grade glioma. *Front Oncol* 2019;9:69.
- Panagopoulou TI, Rafiq QA. CAR-T immunotherapies: biotechnological strategies to improve safety, efficacy and clinical outcome through CAR engineering. *Biotechnol Adv* 25. jun 2019(e-pub ahead of print).
- Townsend MH, Shrestha G, Robison RA et al. The expansion of targetable biomarkers for CAR T cell therapy. *J Exp Clin Cancer Res* 2018;37:163.
- Cancer Research Institute. Immuno-oncology Landscape. <https://www.cancerresearch.org/scientists/clinical-accelerator/landscape-of-immuno-oncology-drug-development> (7. maj 2019).
- Hirayama AV, Turtle CJ. Toxicities of CD19 CAR-T cell immunotherapy. *Am J Hematol* 2019;94:S42-S49.
- Brudno JN, James N. Kochenderfer2 toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood* 2016;127:3321-30.
- Riegler LL, Jones GP, Lee DW. Current approaches in the grading and management of cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Ther Clin Risk Manag* 2019;15:323-35.
- Casucci M, Hawkins RE, Dotti G et al. Overcoming the toxicity hurdles of genetically targeted T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2015;64:123-30.
- Rubin DB, Danish HH, Ali AB et al. Neurological toxicities associated with chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Brain* 2019;142:1334-48.
- Fried S, Avigdor A, Bielewicz B et al. Early and late hematologic toxicity following CD19 CAR-T cells. *Bone Marrow Transplant* 26. feb 2019 (e-pub ahead of print).