

Ewa Wrona¹, Piotr Potemski^{1,2}
¹Klinika Chemioterapii Nowotworów, Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi

²Klinika Chemioterapii Nowotworów, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Nowoczesna immunoterapia nowotworów — historia terapii komórkami CAR-T

A novel immunotherapy — the history of CAR T-cell therapy

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

 Wrona E, Potemski P. A novel immunotherapy — the history of CAR T-cell therapy. *Oncol Clin Pract* 2019; 15: 202–207.

DOI: 10.5603/OCP.2019.0016.

Należy cytować wersję pierwotną.

Adres do korespondencji:

Lek. Ewa Wrona

Klinika Chemioterapii Nowotworów

Wojewódzkie Wielospecjalistyczne

Centrum Onkologii i Traumatologii

im. M. Kopernika w Łodzi

ul. Paderewskiego 4, 90-001 Łódź

e-mail: ewawrona00@gmail.com

STRESZCZENIE

Badania nad wykorzystaniem układu odpornościowego w leczeniu nowotworów prowadzone są już od ponad 30 lat. Doprowadziły one w ostatnim czasie do rejestracji w leczeniu części nowotworów hematologicznych genetycznie modyfikowanych limfocytów T z ekspresją chimer antygenu i przeciwciała na ich powierzchni (komórki CAR-T). Ideą tej nowatorskiej terapii jest wyposażenie własnych limfocytów T chorego w cząsteczkę, która na wzór przeciwciała jest w stanie zarówno bezbłędnie rozpoznać wybrany antygen na powierzchni komórki nowotworowej, jak i aktywować cytotoksyczną funkcję limfocytów T przeciwko nowotworowi. Przełomowe wyniki opisywane w leczeniu wybranych typów białaczek i chłoniaków zachęcają badaczy do dalszego udoskonalania metody oraz podejmowania prób terapii u pacjentów z nowotworami narządowymi. Ostatnie doniesienia sugerują, że mimo początkowych problemów powtórzenie sukcesu, jaki odniosła terapia komórkami CAR-T w onkohematologii, jest możliwe także w nowotworach narządowych. Mimo że ta przełomowa metoda wciąż wymaga ogromnego wysiłku badawczego, nigdy wcześniej wprowadzenie komórek CAR-T do rutynowego stosowania w onkologii klinicznej nie było tak bliskie jak obecnie.

Słowa kluczowe: terapia spersonalizowana, inżynieria genetyczna, terapia komórkami CAR-T, nowotwory narządowe, nowotwory hematologiczne

ABSTRACT

Robust research over the past 30 years has led recently to the first approval of genetically enhanced T lymphocytes expressing chimeric antigen receptors (CAR T-cells) as a tool to fight cancer. The backbone of the aforementioned therapy is to equip patients' T lymphocytes in a genetically modified receptor that can recognise the antigen present on the surface of a cancer cell with the accuracy of a specific antibody, and to ignite a cytotoxic reaction against it with the function of the T-lymphocyte receptor. Ground-breaking results achieved in patients with haematological malignancies led to multiple clinical trials of CAR T-cell-based therapy in solid tumours. Regardless of the initial hurdles, recent reports suggest that continuous evolution and further improvements of CAR T-cell therapy for solid tumours is as successful as that observed in haematology. Despite the fact that enormous efforts are still to be made, implementation of CAR T-cells into the clinical oncologist's daily routine practice was never as plausible as it is today.

Key words: personalised medicine, genetic modifications, CAR T-cell therapy, solid tumours, haematological malignancies

Tłumaczenie: dr n. med. Dariusz Stencel

Copyright © 2019 Via Medica

ISSN 2450-1646

Onkol Prakt Klin Edu 2019; 5: 249–256

Wstęp

Od wielu lat prowadzi się intensywne badania nad biologią nowotworów, mające na celu opracowanie skutecznych metod ich leczenia. Powstawanie nowotworu

(kancerogeneza) obejmuje niezwykle złożone i zawiązane mechanizmy, które stanowią spore wyzwanie dla zespołów badawczych. Każdego roku zaledwie w kilku badaniach klinicznych uzyskuje się takie wyniki, które pozwalają na wprowadzenie do praktyki klinicznej nowe-

go sposobu leczenia, wydłużającego przeżycie chorych. Zastosowanie bardziej wszechstronnych i odpowiednio ukierunkowanych metod leczenia nowotworów stanowi coraz pilniejszą potrzebę. Dobry obszar do podejmowania takich prób stanowią immunoterapia oraz metody prowadzące do wzmocnienia układu odpornościowego chorego poprzez wyposażenie go w odpowiednie, immunokompetentne komórki, wykazujące dodatkowe funkcje umożliwiające niezależne zwalczanie komórek nowotworowych.

Modulacja odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko nowotworowi wydaje się w istotnym stopniu poprawiać wyniki leczenia w porównaniu ze standardową chemioterapią systemową. Ukierunkowanie odpowiedzi immunologicznej jest możliwe na kilka różnych sposobów, a autorzy badań w tym obszarze zostali w ubiegłym roku wyróżnieni Nagrodą Nobla. Uzyskane przez nich wyniki stały się podstawą do opracowania inhibitorów immunologicznego punktu kontrolnego, ipilimumabu, pembrolizumabu, niwolumabu, atezolizumabu, durwalumabu i awelumabu, stosowanych już skutecznie w praktyce klinicznej. Inną metodą terapeutyczną jest zwiększenie liczby limfocytów naciekających guz (TIL, *tumor infiltrating lymphocyte*); nagromadzenie tych komórek w guzie oraz w otaczających tkankach zrębowych stanowi znany czynnik korzystnego rokowania [1]. Ostatnim i najbardziej zaawansowanym obszarem immunoterapii jest zwiększenie metodą inżynierii genetycznej liczby komórek immunokompetentnych, skuteczniej i precyzyjniej niszczących komórki nowotworowe; ten obszar jest przedmiotem niniejszej publikacji.

Podstawy teoretyczne terapii komórkami CAR-T

Limfocyty T z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR-T, *chimeric antigen receptor T cells*) są genetycznie modyfikowanymi komórkami, wykazującymi na swojej powierzchni ekspresję zmienionych receptorów, umożliwiających skuteczniejsze niszczenie komórek nowotworowych. Fizjologiczne limfocyty T nie mogą skutecznie zwalczać komórek nowotworowych, ponieważ wywołanie reakcji wymaga jednoczesnego rozpoznania antygeny głównego układu zgodności tkankowej (MHC, *major histocompatibility complex*) klasy I/II, a komórki nowotworowe celowo hamują ekspresję antygenów MHC na swojej powierzchni, aby stać się „niewidzialnymi” dla immunokompetentnych komórek układu odpornościowego gospodarza. Głównym celem terapii miałyby zatem być wyposażenie limfocytów T chorego w dodatkowe funkcje, poprawiające rozpoznawanie komórek nowotworowych, przemieszczanie się limfocytów T i niszczenie nowotworu. W wyniku zmian genetycznych w limfocytach powstaje receptor

komórki T (TCR, *T cell receptor*), w którym domena zewnątrzkomórkowa zostaje zastąpiona fragmentem przeciwciała, swoiście skierowanego przeciwko antygenowi nowotworowemu (scFv). Tym sposobem w jednym chimerycznym białku połączono obie funkcje: możliwość wywoływania reakcji cytotoksycznych limfocytu T oraz rozpoznanie określonego antygeny na powierzchni komórki nowotworowej z dokładnością przeciwciała, bez konieczności rozpoznania antygeny MHC klasy I/II. Wiadomo ponadto, że dodanie dodatkowych stymulatorów do białka CAR może wydłużyć żywotność limfocytów T oraz spośród innych funkcji wzmocnić szczególnie ich cytotoksyczność [1, 2].

Pewnym zaskoczeniem jest fakt, że uzyskanie immunokompetentnych komórek z obecnością zmodyfikowanych genetycznie receptorów na ich powierzchni nie jest nowym pomysłem. Pierwsze doniesienia dotyczące uzyskania chimerycznego skojarzenia receptorów i przeciwciał pochodzą z roku 1989, kiedy to opublikowano wyniki badań prowadzonych w Instytucie Naukowym Weizmanna w Izraelu [3]. Od tego czasu podjęto wiele prac naukowych w tym obszarze, uwieńczonych w 2012 roku skutecznym wyleczeniem 7-letniej Emily Whitehead z nawrotowej/opornej na leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej B-komórkowej (R/R B-ALL, *relapsed/refractory B cell acute lymphoblastic leukemia*) po infuzji komórek CAR-T skierowanych przeciwko antygenowi CD19. CD19 jest przykładem idealnego antygeny rozpoznawanego przez CAR-T, ponieważ znajduje się wyłącznie na limfocytach B, w tym także komórkach blastycznych pochodzących z linii B-komórkowej. Przypadek opisaney dziewczynki był przełomem nie tylko ze względu na pierwsze uzyskanie całkowitej remisji R/R B-ALL po jednym cyklu leczenia, ale także z uwagi na fakt, że było to pierwsze dziecko włączone do badania klinicznego z terapią komórkami CAR-T tisagenlecleucel (Kymriah, Novartis). Wspomniany przypadek tej dziewczynki nagłośniono w mediach na całym świecie, przedstawiając go jako cud terapeutyczny, w którym uzyskano wyleczenie z nowotworu przy użyciu wirusa HIV (*human immunodeficiency virus*) (w rzeczywistości wirus HIV był tylko wektorem w procesie transdukcji) [4]. Do czasu opracowania niniejszej publikacji dziewczynka pozostawała w całkowitej remisji, co przemawia za podjęciem prób szerszego zastosowania terapii CAR-T.

Proces wytwarzania

Wytwarzanie komórek CAR-T, które można podać chorem, wymaga intensywnych procesów badawczych, realizowanych we współpracy klinicystów i pracowników laboratorium, obejmujących wiele dokładnie przeprowadzanych etapów. Po pierwsze, z krwi obwodowej lub drogą leukaferazy należy uzyskać limfocyty T

mające szanse na przeżycie. Następnie oddziela się limfocyty Th17, a ich ogólna ilość zwiększa się poprzez wymuszenie mnożenia się limfocytów T w warunkach *ex vivo*. W kolejnym etapie przygotowany wcześniej wektor wirusowy, zawierający informację genetyczną dotyczącą tego, jak powinna wyglądać przyszła chimera przeciwciała z receptorem i jaki rodzaj antygeny powinna rozpoznawać, wprowadzany jest do limfocyty T. W procesie transfekcji wykorzystuje się kilka rodzajów wirusów (głównie lentiwirus lub renowirus) bądź plazmidów. Oczywiście genom wirusowy musi zostać zmieniony w taki sposób, aby po transfekcji pozbawić wirusa wirulencji [5]. W zakresie poprawy wytwarzania wektora wirusowego wykazano, że zastosowanie wysokiego dokładnego i efektywnego systemu endonukleazy CRISPR/cas9 oraz narzędzia do edycji genów TALEN wpływa na znaczną poprawę dokładności i wydajności procesu produkcji [6, 7]. Podstawą procesu transfekcji jest wprowadzenie informacji genetycznej do genomu limfocyty T w celu nasilenia ekspresji wielu czynnościowych CAR w błonie komórkowej.

Roztwór transfekowanych limfocytów T z wysoką ekspresją CAR na ich powierzchni jest następnie przenoszony do hodowli komórkowej, płukany, zawieszany w mieszaninie DMSO/dekstran 40/HSA/dekstroza/Plasma-Lyte A i poddawany krioprezerwacji. Przed przekazaniem do jednostki medycznej, w której komórki zostaną podane choremu, przeprowadza się testy sterylności [8, 9].

Zastosowanie kliniczne w nowotworach hematologicznych

Podanie komórek wymaga przygotowania chorego, tzn. premedykacji z paracetamolem i lekiem przeciw-

histaminowym (przeciwko receptorowi H1). Zakres dawek, tzn. liczba podawanych komórek CAR-T, różni się u dzieci i dorosłych i wynosi od $0,2 \times 10^6$ do $6,0 \times 10^8$ na kg masy ciała limfocytów CAR-dodatnich w przypadku preparatu Kymriah oraz 2×10^6 komórek CAR-T na kg masy ciała dla preparatu Yescarta (akcykabtagen cyloleucel, Gilead, zarejestrowany do leczenia chorych na chłoniaka R/R z dużych komórek B). Obliczona całkowita liczba komórek jest następnie podawana dożylnie w 3–4 kolejnych dawkach z krótkotrwałymi przerwami [8, 9]. Przed infuzją chory musi otrzymać chemioterapię zmniejszającą liczbę własnych limfocytów (fludarabina z cyklofosfamidem lub równoważna), jeśli liczba krwinek białych (WBC, *white blood cell*) przekracza $1 \times 10^9/l$. Komórki CAR-T należy podać w okresie od 2. do 14. dnia po zakończeniu przygotowawczej chemioterapii [9].

Opisane leczenie ma wiele ograniczeń, które poza niecałkowitą dostępnością technologii oraz czynnikami ekonomicznymi obejmują określone kryteria kwalifikacyjne, jakie muszą spełniać chorzy. W czasie przygotowywania publikacji rejestracja *Food and Drug Administration* (FDA) ograniczała się do chorych na R/R B-komórkową ALL oraz dorosłych chorych na chłoniaki R/R B-komórkowe (tab. 1). Podjęto jednak wysiłki mające na celu rozszerzenie wskazań do stosowania CAR-T o chłoniaka grudkowego (FL, *follicular lymphoma*) i przewlekłą białaczkę limfoblastyczną (CLL, *chronic lymphoblastic leukaemia*). Należy też podkreślić konieczność pobrania od chorego odpowiedniej liczby limfocytów, co praktycznie wyklucza chorych z głęboką limfopenią (poniżej 300 komórek/ μl). Zakażenia wirusami HIV, HCV (*hepatitis C virus*) lub HBV (*hepatitis B virus*) oraz choroby autoimmunizacyjne wymagające leczenia immunosupresyjnego także są kryteriami wykluczenia. Stan ogólny kandydatów do tej terapii musi również umożliwiać podanie chemioterapii kondycjonu-

Tabela 1. Zarejestrowane przez FDA wskazania do stosowania preparatów tisagenlecleucel i akcykabtagen cyloleucel

Nazwa międzynarodowa	Nazwa handlowa	Data rejestracji FDA	Wskazania
Tisagenlecleucel	Kymriah, Novartis	30 sierpnia 2017	Chorzy w wieku do 25 lat z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) z prekursorowych komórek B, oporną na leczenie, w fazie drugiego bądź kolejnego nawrotu [9]
		1 maja 2018	Dorośli pacjenci z nawracającym lub opornym na leczenie chłoniakiem z dużych komórek B po dwóch lub większej liczbie linii leczenia systemowego, w tym z chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL), bliżej nieokreślonym, chłoniakiem z komórek B o wysokim stopniu złośliwości oraz chłoniakiem DLBCL rozwijającym się z chłoniaka grudkowego [9]
Akcykabtagen cyloleucel	Yescarta, Gilead	18 października 2017	Dorośli pacjenci z nawracającym lub opornym na leczenie chłoniakiem z dużych komórek B po dwóch lub większej liczbie linii leczenia systemowego, w tym z chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL), bliżej nieokreślonym, pierwotnym chłoniakiem śródpiersia z dużych komórek B (PMBCL), chłoniakiem z komórek B o wysokim stopniu złośliwości oraz chłoniakiem DLBCL rozwijającym się z chłoniaka grudkowego [8]

jącej z cyklofosfamidem i fludarabiną lub równoważnej przed infuzją komórek CAR-T, dlatego początkowy stan sprawności (PS, *performance status*) w skali ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*) powinien wynosić 0–1 [8, 9].

Oczekiwane działania niepożądane

Niestety, u większości chorych leczonych preparatami Kymriah lub Yescarta dochodzi do ciężkich działań niepożądanych stopnia 3. lub wyższego. Częstość ich występowania w badaniach klinicznych ELIANA i JULIET, w których stosowano Kymriah, oraz w badaniu ZUMA-1 z zastosowaniem Yescarta określono na 83% w przypadku aplazji limfocytów B, 49% dla zespołu uwalniania cytokin (CRS, *cytokine release syndrome*), 37% dla gorączki neutropenicznej, 22% dla hipotensji, 18% dla hipoksji, 15% dla gorączki, 15% dla ostrego uszkodzenia nerek, 10% dla encefalopatii oraz 10% dla obrzęku płuc [9].

Zespół uwalniania cytokin i neurotoksyczności są działaniami niepożądanymi w największym stopniu zagrażającymi życiu chorego otrzymującego wlew CAR-T. Zespół uwalniania cytokin jest efektem między innymi aktywacji komórek CAR-T, niszczenia komórek docelowych po rozpoznaniu antygenów oraz uwalniania czynnika martwicy nowotworów α (TNF α , *tumor necrosis factor α*), interleukiny-6 (IL-6) i interferonu γ (IFN γ), co wywołuje kaskadę reakcji bez możliwości jej samoistnego zahamowania. Objawy CRS obejmują gorączkę, hipotensję, hipoksję, tachykardię, z możliwymi następstwami w postaci niewydolności wielonarządowej lub zaburzeń krzepnięcia. Wiadomo, że nasilenie CRS koreluje z masą komórek nowotworowych. Zaobserwowano, że podzielenie całej ilości komórek CAR-T na 3–4 mniejsze dawki może zmniejszyć ryzyko wystąpienia CRS. Objawy zespołu występują 2–3 dni po infuzji i utrzymują się około 8 dni w przypadku podjęcia leczenia objawowego [10].

Większość neurologicznych objawów toksycznych, obejmujących majaczenia (delirium), afazję, drgawki czy encefalopatię, jest odwracalnych, choć mechanizm zajęcia ośrodkowego układu nerwowego nie został w pełni poznany. Neurotoksyczności stopnia 3. lub wyższego występują u 31% chorych, mediana czasu do wystąpienia pierwszych objawów wynosi 4 dni, a mediana czasu ich utrzymywania się — 17 dni. W wymienionych badaniach odnotowano łącznie 4 zgony u chorych otrzymujących Yescarta oraz 1 zgon u chorego otrzymującego Kymriah, wszystkie z powodu CRS [8, 9].

Jednym z naturalnych następstw podania komórek CAR-T skierowanych przeciwko antygenowi CD19 jest aplazja limfocytów B. Wykazano brak ekspresji CD19 na niektórych limfocytach B, które mogą uniknąć działania

CAR-T, tym samym utrzymując podstawowy poziom immunokompetencji, chociaż większość chorych wymaga dożylnego podawania immunoglobulin i profilaktycznej antybiotykoterapii [1, 5]. Aplazja jest następstwem długotrwałym, po 6 miesiącach stwierdzano ją jeszcze u 83% chorych [95-procentowy przedział ufności (CI, *confidence interval*): 69–91%] [11].

Leczenie działań niepożądanych

Działania niepożądane leczy się zwykle objawowo, choć w przypadku CRS i neurotoksyczności stopnia 2. lub wyższego zaleca się też podawanie tocilizumabu, w monoterapii lub w skojarzeniu z kortykosteroidami [8, 9]. Tocilizumab jest lekiem immunosupresyjnym, swoiście hamującym IL-6, powszechnie dostępnym w Polsce do leczenia chorych na reumatoidalne zapalenie stawów (RoActemra, Roche). Amerykańska FDA zarejestrowała tocilizumab do leczenia CRS wywołanego podaniem komórek CAR-T. Sugerowana dawka wynosi 8 mg/kg dożylnie w ciągu 1 godziny, a następnie co 8 godzin w razie potrzeby. Można podać maksymalnie 3 dawki w ciągu 24 godzin, łącznie do 4 dawek [8, 9]. W przypadku braku poprawy w ciągu 24 godzin od rozpoczęcia podawania tocilizumabu należy dołączyć kortykosteroidy, najlepiej metyloprednizolon w dawce 1 mg/kg masy ciała dożylnie 2 razy na dobę lub deksametazon 10 mg co 6 godzin [8, 9].

Badania kliniczne

W badaniach klinicznych, które stały się podstawą rejestracji Yescarta i Kymriah przez FDA do leczenia dorosłych chorych na chłoniaki R/R B-komórkowe (ZUMA-1 i JULIET, stwierdzono: odsetek przeżycia wolnego od progresji choroby (PFS, *progression-free survival*) po 15 miesiącach 41% (95% CI: 31–50), medianę czasu trwania odpowiedzi 11,1 miesiąca (95% CI: od 3,9 do wartości niemożliwej do oznaczenia), medianę PFS 5,8 miesiąca (95% CI: od 3,3 do wartości niemożliwej do oznaczenia), odsetki przeżycia całkowitego (OS, *overall survival*) 52% po 18 miesiącach z nieosiągniętą medianą OS (95% CI: od 12,0 miesięcy do wartości niemożliwej do oznaczenia) [12].

W badaniu klinicznym ELIANA z preparatem Kymriah, do którego włączono 75 chorych na R/R B-komórkową ALL w wieku do 21 lat, całkowity odsetek remisji w ciągu 3 miesięcy wyniósł 81%, odsetki przeżycia wolnego od zdarzeń (EFS, *event-free survival*) i OS wyniosły odpowiednio 73% (95% CI: 60–82) i 90% (95% CI: 81–95) po 6 miesiącach oraz 50% (95% CI: 35–64) i 76% (95% CI: 63–86) po 12 miesiącach obserwacji [11].

Warto też wspomnieć o trzecim, nadal prowadzonym badaniu TRANSCEND NHL-001 z lisocabtagene

maraleucel (Liso-Cel, Celgene), do którego włączono chorych na R/R agresywne chłoniaki nieziarnicze (DLBCL, *diffuse large B-cell lymphoma*; CLL, *chronic lymphocytic leukemia*; MZL, *nodal marginal zone B-cell lymphoma*; PMBCL, *primary mediastinal (thymic) large B-cell lymphoma*; FL, *follicular lymphoma*). W badaniu tym całkowity odsetek odpowiedzi (ORR, *overall response rate*) wyniósł 74%, z odsetkiem odpowiedzi całkowitych (CR, *complete remission*) wynoszącym 52% i z odsetkiem CRS oraz neurotoksyczności stopnia 3. lub wyższego wynoszącym odpowiednio 1% i 15%, co wydaje się znacznie bardziej obiecujące w porównaniu z wynikami badań z Kymriah i Yescarta [13]. W innym interesującym badaniu wykazano skuteczność komórek CAR-T skierowanych przeciwko antygenowi dojrzewania limfocytów B (BCMA, *B cell maturation antigen*), którego znaczną ekspresję stwierdzono na komórkach szpiczaka. Łącznie 21 chorych leczono bb2121 (komórki CAR-T skierowane przeciwko BCMA), uzyskując ORR wynoszący 89%, z okresem odpowiedzi w zakresie 1,4–54,4 tygodnia. Warto podkreślić, że w tej grupie intensywnie leczonych wcześniej chorych odnotowano tylko 1 przypadek progresji choroby [14].

Dostępność

Terapia CAR-T jest niewątpliwie skuteczna, jednak jak dotąd jest dostępna jedynie w ramach badań klinicznych oraz w prywatnym sektorze opieki zdrowotnej. Większość badań klinicznych prowadzi się w ośrodkach w Chinach i Stanach Zjednoczonych, spośród których wiodącą placówką jest Uniwersytet Stanu Pensylwania. W Europie doświadczenie w stosowaniu komórek CAR-T mają jedynie ośrodki w Holandii i Wielkiej Brytanii [1, 15].

Ze względu na koszty brytyjska agencja *National Health Service* (NHS) odrzuciła początkowo w sierpniu 2018 roku wniosek o szeroki dostęp do preparatu Yescarta firmy Gilead, aczkolwiek kontynuowano nad nim dyskusję. Ostatecznie we wrześniu 2018 roku uzyskano porozumienie, na mocy którego NHS finansuje leczenie preparatem Yescarta 200 dorosłych chorych na chłoniaki R/R z dużych komórek B oraz preparatem Kymriah 30 dzieci i młodych dorosłych chorych R/R B-ALL rocznie. Dzięki temu precedensowi Wielka Brytania jest pierwszym krajem europejskim oferującym możliwość zastosowania tej innowacyjnej i wysoce obiecującej terapii, choć jeszcze w bardzo ograniczonym zakresie.

Poza badaniami klinicznymi kilka instytucji (głównie w Izraelu i Stanach Zjednoczonych) oferuje prywatny dostęp do terapii CAR-T, w ramach którego koszty leczenia są w całości pokrywane przez chorych. Preparaty Yescarta i Kymriah kosztują odpowiednio 373 000 USD

i 475 000 USD. Zgodnie z raportem NHS z ubiegłego roku łączne koszty leczenia preparatem Yescarta wraz z kosztami terapii kondycjonującej, hospitalizacji, leczenia działań niepożądanych oraz obserwacji wyniosły 583 362 funtów w porównaniu z kosztami standardowego leczenia wynoszącymi 80 106 funtów [16]. Niemniej jednak ostatnio w recenzowanych czasopismach pojawiają się opinie wskazujące, że wyniki analiz dodatkowych uzyskanych lat życia oraz lat życia skorygowanych o jakość (QALY, *quality-adjusted life-year*) przemawiają na korzyść preparatu Kymriah w porównaniu ze standardowym leczeniem. W przypadku dzieci chorych na R/R B-ALL oczekuje się, że u 40% chorych leczenie preparatem Kymriah umożliwi długotrwałe przeżycie, z uzyskaniem dodatkowo 10,34 roku życia oraz wartości QALY wynoszącej 9,28 w porównaniu z odpowiednio 2,43 roku i 2,10 QALY dla porównywanego leczenia klofarabiną. Ta wyraźna różnica powoduje, że skumulowany stosunek efektywności kosztowej wynosi 46 000 USD na QALY pomiędzy Kymriah a klofarabiną [17].

Możliwość zastosowania u chorych z guzami litymi

Przeniesienie sukcesu zastosowania komórek CAR-T w terapii nowotworów hematologicznych na leczenie guzów litych jest sporym wyzwaniem ze względu na wiele cech charakteryzujących guzy lite, które w przypadku nowotworów hematologicznych mają mniejsze znaczenie. Do sukcesu terapii komórkami CAR-T skierowanymi przeciwko antygenowi CD19 mogą się przyczyniać genetycznie modyfikowane limfocyty niszczące komórki blastyczne, mające pochodzenie hematopoetyczne i wykazujące możliwość migracji do tych samych lokalizacji co krew, szpik i węzły chłonne. Z uwagi na niestabilność genetyczną (mutacje somatyczne) i heterogeniczność komórki nowotworowe guzów litych wykazują zróżnicowany poziom ekspresji antygenów na swojej powierzchni w różnych klonach komórkowych. Ponadto antygeny obecne na komórkach guzów litych mogą też występować na zdrowych komórkach, co może się stać podstawą ciężkich działań niepożądanych w zakresie narządów docelowych *on-target off-tumor*, ograniczających zastosowanie tej terapii [5]. Największą trudnością związaną z opisywaną terapią jest wybór idealnego antygeny guza, tzn. obecnego na każdej komórce nowotworowej, jednak bez ekspresji na zdrowych komórkach, który byłby celem dla komórek CAR-T. Analizowano wiele potencjalnych antygenów, takich jak MUC1 [18, 19], HER2 [20], G2D [2], CEA [5], EGFR [5], GP100 [21], mezotelina [2] i wiele innych [22]. Idealnym celem terapeutycznym wydaje się na przykład swoisty antygen błonowy gruczolu krokowego (PSMA, *prostate-specific membrane antigen*), ponieważ zgodnie ze wstępnymi obserwacjami znajduje

się on na komórkach raka gruczołu krokowego oraz na komórkach śródbłonka naczyń krwionośnych w niektórych guzach, aczkolwiek nie stwierdza się tego antygeny na powierzchni prawidłowych komórek [2].

Inne trudności dotyczą immunosupresyjnych właściwości otaczającej tkanki zrębowej, hamujących aktywację układu odpornościowego. Niestety, limfocyty T nie naciekają tkanki guza łatwo i w związku z tym podejmując się wysiłki ukierunkowane na zastosowanie dodatkowych receptorów i kostymulatorów w błonie komórek CAR-T w celu uproszczenia ich migracji oraz zmiany profilu chemokin wydzielanych przez CAR-T, tak aby skorelować to z charakterystyką komórek nowotworowych [2, 7]. Zaskakujące jest, że dodanie przeciwciał skierowanych przeciwko PD-1 zmniejsza populację komórek supresorowych pochodzenia mieloidalnego (MDSC, *myeloid derived suppressor cell*) w tkance zrębowej guza oraz zwiększa odsetek odpowiedzi przez zwiększenie aktywności przeciwnowotworowej komórek CAR-T [5, 23].

Serie przypadków

Dotychczas opublikowano tylko kilka opisów przypadków i badań z zastosowaniem CAR-T w guzach litych, między innymi u chorych na złośliwego międzybłoniaka opłucnej [18], raka gruczołowego z nabłonka przewodów trzustkowych [18], raka gruczołowego jelita grubego [2, 24], raka gruczołu krokowego [2], raka piersi [25], czerniaka [21] lub mięsaka kościopochodnego [20]. W większości przypadków wyniki leczenia były niezadowalające, z niewielkim ORR i krótkotrwałymi odpowiedziami, przy czym sporadycznie uzyskiwane CR obserwowano głównie u chorych na czerniaka [21]. Obecnie trwa rekrutacja do wielu badań klinicznych i w najbliższej przyszłości oczekuje się wielu nowych danych dotyczących skuteczności klinicznej leczenia komórkami CAR-T.

W czerwcu 2018 roku opublikowano przełomowe wyniki dotyczące chorej na rozlanego, chemoopornego raka piersi, leczonej w *National Cancer Institute* w Bethesda w Stanach Zjednoczonych, u której uzyskano CR po infuzji genetycznie modyfikowanych limfocytów T. Badacze przygotowali zawiesinę czterech różnych klonów limfocytów T skierowanych przeciwko czterem antygenom o największej ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych. Po leczeniu mieloablacyjnym i infuzji zmodyfikowanych autologicznych limfocytów T chora kontynuowała leczenie podtrzymujące pembrolizumabem i po roku uzyskała CR, która utrzymywała się przez 22 miesiące obserwacji [25].

Przyszłe koncepcje

Mimo przełomowej skuteczności leczenie komórkami CAR-T wykazuje też pewne wady, dlatego podejmując

się liczne wysiłki w kierunku takich modyfikacji tej metody, które umożliwiłyby przełamanie tych ograniczeń, dotyczących częstych i ciężkich działań niepożądanych, opracowania odpowiednich procedur wytwarzania czy wysokich kosztów. W tym celu podjęto wiele badań, prowadzonych zarówno w sektorze publicznym systemu opieki zdrowotnej, jak i w jednostkach prywatnych.

Jedną z ważniejszych koncepcji jest wykorzystanie komórek NK (*natural killer*) zamiast limfocytów T do modyfikacji genetycznej. Główną korzyścią z zastosowania limfocytów NK jest możliwość wywołania ich aktywności niezależnie od dopasowania ludzkich antygenów leukocytarnych (HLA, *human leukocyte antigen*), co powoduje, że nie ma konieczności ich pobierania od dawcy dobraneo w zakresie HLA. Ta cecha terapii opartej na komórkach CAR-NK umożliwia praktycznie natychmiastowy dostęp do leczenia przeciwnowotworowego w przeciwieństwie do komórek CAR-T, których wytworzenie wymaga znacznej personalizacji, czyli dopasowania do konkretnego chorego.

Koncepcja wytwarzania CAR na powierzchni komórek NK nie jest w rzeczywistości całkiem nowa. Wcześniej zmianom genetycznym poddawano już limfocyty NK uzyskane z krwi obwodowej lub pępowinowej oraz z linii komórkowej NK92. W tym ostatnim przypadku zapobieganie stałemu wszczepieniu komórek NK92 pobranych wcześniej od chorych na chłoniaki niezarnicze wymagało dodatkowego napromieniania zmienionych limfocytów, co istotnie zmniejszało przeżywalność komórek i ich dostępność do proliferacji w warunkach *in vivo* [26]. W przypadku wymienionych źródeł limfocytów NK proces ich pozyskiwania był podobny jak w przypadku limfocytów T, dodatkowe infuzje okazały się bezpieczniejsze, a działania niepożądane były rzadsze i mniej nasilone. Poza ograniczeniem następstw toksycznych terapia ta okazała się zaskakująco nieskuteczna, umożliwiając uzyskanie niewielkiego ORR [27].

Ostatnio opublikowano jednak wyniki badania, w którym genetycznie modyfikowane limfocyty NK pozyskiwano poprzez transdukcję informacji genetycznej dotyczącej CAR do immunologicznie wielopotentjalnych komórek macierzystych (iPSC, *immunologic pluripotent stem cell*), w których następnie wymuszano transformację w kierunku limfocytów NK wykazujących ekspresję CAR. Proces okazał się niezwykle wydajny, umożliwiając uzyskanie dużej liczby zdolnych do przeżycia komórek CAR-NK. Następnie zawiesinę komórek CAR-NK podawano we wlewie myszom z wszczepionym rakiem jajnika i obserwowano znaczne, długotrwałe zmniejszenie objętości guza, wskazując na przewagę terapii CAR-NK w tym modelu nad zastosowaniem zmodyfikowanych komórek CAR-T [28].

W komórkach CAR-T wymuszana jest ekspresja zmodyfikowanej cząstki CAR, niezależnie od obecności endogennych receptorów TCR, wykazujących swoistość osobniczą, dlatego jest to główny czynnik ograniczający

natychmiastową dostępność tej metody terapeutycznej. Inny przykład działania mającego na celu przełamanie tego ograniczenia stanowi genetycznie niema ekspresja natywnych TCR na komórkach CAR-T, co jest możliwe niezależnie od zgodności w układzie HLA, bez ryzyka wywołania choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD, *graft vs. host disease*). Kilka firm rozpoczęło badania w tym obszarze, umieszczając także w komórkach CAR-T geny samobójcze lub inne kostymulujące cząstki, umożliwiające poprawę skuteczności [2, 29]. Poza działaniami dużych firm farmaceutycznych najlepszymi przykładami podejmowania prób komercjalizacji terapii komórkami CAR-T w wyniku opisanych modyfikacji są prace podejmowane przez firmy biotechnologiczne, takie jak Cellectis, Parker Institute for Cancer Immunotherapy, TMunity lub inne z Wielkiej Brytanii, Australii, Chin czy Singapuru.

Podsumowanie

Zastosowanie komórek CAR-T uważa się za wysoce innowacyjną i skuteczną metodę terapii, będącą niewątpliwie jednym z najbardziej przełomowych osiągnięć ostatnich lat w zakresie leczenia nowotworów. Niemniej jednak onkolodzy powinni być świadomi nie tylko jej niezaprzeczalnych zalet, ale także ograniczeń związanych z tą metodą leczenia. Współzawodnictwo w zakresie opracowania skutecznej terapii przeciwnowotworowej jeszcze się nie zakończyło, wiele zespołów badawczych kontynuuje prace and uzyskaniem specjalnie „wyszkolonych” limfocytów, swoiście, bezpiecznie i skutecznie niszczących komórki nowotworowe, które można by udostępnić jako dostępną od ręki terapię przy akceptowanych przez płatnika kosztach.

Niezależnie od wyników dalszych badań powinniśmy być przygotowani na zastosowanie w przyszłości terapii opartej na genetycznie modyfikowanych limfocytach. Ważne też, abyśmy teraz mogli udzielić chorym odpowiedzi na nurtujące ich pytania dotyczące tego rodzaju terapii oraz przedstawić wszystkie zalety i wady takiego postępowania. Konieczne są też świadomość działań niepożądanych oraz umiejętność ich leczenia, aby być odpowiednio przygotowanym na zastosowanie w przyszłości terapii komórkami CAR-T.

Piśmiennictwo

1. June C, O'Connor R, Kawalekar O, et al. CAR T cell immunotherapy for human cancer. *Science*. 2018; 359(6382): 1361–1365, doi: [10.1126/science.aar6711](https://doi.org/10.1126/science.aar6711).
2. Yong C, Dardalhon V, Devaud C, et al. CAR T-cell therapy of solid tumors. *Immunology and Cell Biology*. 2017; 95(4): 356–363, doi: [10.1038/icb.2016.128](https://doi.org/10.1038/icb.2016.128).
3. Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989; 86(24):

- 10024–10028, doi: [10.1073/pnas.86.24.10024](https://doi.org/10.1073/pnas.86.24.10024), indexed in Pubmed: 2513569.
4. Allen N. Emily Whitehead: girl whose cancer was 'cured' by HIV. 2012. <https://www.telegraph.co.uk/news/worldnews/northamerica/usa/9738355/Emily-Whitehead-girl-whose-cancer-was-cured-by-HIV.html>.
5. Androulla M, Lefkothea P. CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2018; 19(1): 5–18, doi: [10.2174/1389201019666180418095526](https://doi.org/10.2174/1389201019666180418095526).
6. Levine BL, Miskin J, Wonnacott K, et al. Global Manufacturing of CAR T Cell Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2017; 4: 92–101, doi: [10.1016/j.omtm.2016.12.006](https://doi.org/10.1016/j.omtm.2016.12.006), indexed in Pubmed: 28344995.
7. Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med*. 2017; 9(374): 1–9, doi: [10.1126/scitranslmed.aaj2013](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaj2013), indexed in Pubmed: 28123068.
8. FDA. Full prescribing information: axicabtagene ciloleucel. 2017. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM581226.pdf>.
9. FDA. Full prescribing information: tisagenlecleucel. 2017. <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM573941.pdf>.
10. Maude S, Frey N, Shaw P, et al. Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia. *New England Journal of Medicine*. 2014; 371(16): 1507–1517, doi: [10.1056/nejmoa1407222](https://doi.org/10.1056/nejmoa1407222).
11. 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(5): 439–448, doi: [10.1056/NEJMoa1709866](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1709866), indexed in Pubmed: 29385370.
12. Neelapu S, Locke F, Bartlett N, et al. Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma. *New England Journal of Medicine*. 2017; 377(26): 2531–2544, doi: [10.1056/nejmoa1707447](https://doi.org/10.1056/nejmoa1707447).
13. Abramson JS, Palomba L, Gordon LI, et al. Transcend NHL 001: Immunotherapy with the CD19-Directed CAR T-Cell Product JCAR017 Results in High Complete Response Rates in Relapsed or Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma. *Blood* 2016; 128(22): 4192 LP-4192. <http://www.bloodjournal.org/content/128/22/4192.abstract>.
14. Berdeja JG, Lin Y, Raju N, et al. Durable Clinical Responses in Heavily Pretreated Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma: Updated Results from a Multicenter Study of bb2121 Anti-Boma CAR T Cell Therapy. *Blood* 2017; 130(Suppl 1):740 LP-740. http://www.bloodjournal.org/content/130/Suppl_1/740.abstract.
15. Maher J. Immunotherapy of Malignant Disease Using Chimeric Antigen Receptor Engrafted T Cells. *ISRN Oncology*. 2012; 2012: 1–23, doi: [10.5402/2012/278093](https://doi.org/10.5402/2012/278093).
16. Hettle R, Corbett M, Hinde S, et al. The assessment and appraisal of regenerative medicines and cell therapy products: an exploration of methods for review, economic evaluation and appraisal. *Health Technol Assess*. 2017; 21(7): 1–204, doi: [10.3310/hta21070](https://doi.org/10.3310/hta21070), indexed in Pubmed: 28244858.
17. Whittington M, McQueen R, Ollendorf D, et al. Long-term Survival and Value of Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy for Pediatric Patients With Relapsed or Refractory Leukemia. *JAMA Pediatrics*. 2018; 172(12): 1161, doi: [10.1001/jamapediatrics.2018.2530](https://doi.org/10.1001/jamapediatrics.2018.2530).
18. Beatty GL, Haas AR, Maus MV, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies. *Cancer Immunol Res*. 2014; 2(2): 112–120, doi: [10.1158/2326-6066.CCR-13-0170](https://doi.org/10.1158/2326-6066.CCR-13-0170), indexed in Pubmed: 24579088.
19. You F, Jiang L, Zhang B, et al. Phase 1 clinical trial demonstrated that MUC1 positive metastatic seminal vesicle cancer can be effectively eradicated by modified Anti-MUC1 chimeric antigen receptor transduced T cells. *Sci China Life Sci*. 2016; 59(4): 386–397, doi: [10.1007/s11427-016-5024-7](https://doi.org/10.1007/s11427-016-5024-7), indexed in Pubmed: 26961900.
20. Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) -Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. *J Clin Oncol*. 2015; 33(15): 1688–1696, doi: [10.1200/JCO.2014.58.0225](https://doi.org/10.1200/JCO.2014.58.0225), indexed in Pubmed: 25800760.
21. Sharpe M, Mount N. Genetically modified T cells in cancer therapy: opportunities and challenges. *Disease Models & Mechanisms*. 2015; 8(4): 337–350, doi: [10.1242/dmm.018036](https://doi.org/10.1242/dmm.018036).
22. Kakarla S, Gottschalk S. CAR T Cells for Solid Tumors: Armed and Ready to Go? *Cancer J*. 2014; 20(2): 151–155, doi: [10.1097/pco.0000000000000032](https://doi.org/10.1097/pco.0000000000000032).
23. Chen N, Morello A, Tano Z, et al. CAR T-cell intrinsic PD-1 checkpoint blockade: A two-in-one approach for solid tumor immunotherapy. *Oncol Immunology*. 2017; 6(2): e1273302, doi: [10.1080/2162402x.2016.1273302](https://doi.org/10.1080/2162402x.2016.1273302).

24. Zhang C, Wang Z, Yang Z, et al. Phase I Escalating-Dose Trial of CAR-T Therapy Targeting CEA Metastatic Colorectal Cancers. *Mol Ther*. 2017; 25(5): 1248–1258, doi: [10.1016/j.ymthe.2017.03.010](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.03.010), indexed in Pubmed: [28366766](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28366766/).
25. Zacharakis N, Chinnasamy H, Black M, et al. Immune recognition of somatic mutations leading to complete durable regression in metastatic breast cancer. *Nat Med*. 2018; 24(6): 724–730, doi: [10.1038/s41591-018-0040-8](https://doi.org/10.1038/s41591-018-0040-8), indexed in Pubmed: [29867227](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29867227/).
26. Zhang C, Oberoi P, Oelsner S, et al. Chimeric Antigen Receptor-Engineered NK-92 Cells: An Off-the-Shelf Cellular Therapeutic for Targeted Elimination of Cancer Cells and Induction of Protective Antitumor Immunity. *Front Immunol*. 2017; 8: 533, doi: [10.3389/fimmu.2017.00533](https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00533), indexed in Pubmed: [28572802](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28572802/).
27. Tang X, Yang L, Li Z, et al. First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells: safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *Am J Cancer Res*. 2018; 8(6): 1083–1089, indexed in Pubmed: [30034945](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30034945/).
28. Li Ye, Hermanson D, Moriarity B, et al. Human iPSC-Derived Natural Killer Cells Engineered with Chimeric Antigen Receptors Enhance Anti-tumor Activity. *Cell Stem Cell*. 2018; 23(2): 181–192.e5, doi: [10.1016/j.stem.2018.06.002](https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.06.002).
29. Ruella M, Kenderian SS. Next-Generation Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy: Going off the Shelf. *BioDrugs*. 2017; 31(6): 473–481, doi: [10.1007/s40259-017-0247-0](https://doi.org/10.1007/s40259-017-0247-0), indexed in Pubmed: [29143249](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29143249/).