

TERAPIJA T STANICAMA S KIMERIČNIM ANTIGEN RECEPTOROM

MAJA PAVLOVIĆ¹, DANIEL TURUDIĆ², MATEJ JELIĆ², ERNEST BILIĆ^{1,3}

Koncept preuredbe vlastitog imunološkog sustava da prepozna tumorsku stanicu kao nešto strano i štetno svakako je atraktivnije naspram toksične i neselektivne kemoterapije. Terapija T stanicama s kimeričnim antigen receptorom (CAR) jedna je od inovativnih metoda liječenja i predstavlja revoluciju u personaliziranoj onkologiji. Riječ je o genetski inženjeringom promijenjenim T limfocitima pacijenta sa sintetičkim receptorom, putem kojeg se ciljano vežu za tumorsku stanicu i citotoksičnošću uništavaju tumorske stanice. Ohrabrujući rezultati u liječenju hematoloških malignih bolesti znanstvenika ponajprije iz Children's Hospital of Philadelphia doveli su do interesa diljem svijeta u stvaranju što učinkovitijih generacija CARsa. Ova stanična terapija je trenutno registrirana od Europske agencije za lijekove (EMA) kao lijek tisagenlecleucel (Kymriah®, Novartis) za pacijente u dobi od 1. do 25. godine s refrakternom/relapsirajućom B limfoblastičnom akutnom leukemijom (r/r pB ALL) te za odrasle pacijente s refrakternim/relapsirajućim difuznim velikostaničnim B limfomom (r/r DLBCL) te kao lijek axicabtagene ciloleucel (Yescarta®, Gilead) također za liječenje r/r DLBCL i primarnog medijastinalnog B staničnog limfoma (PMBCL) u odraslih. U svijetu je u tijeku par stotina kliničkih studija o primjeni CAR T stanične terapije, uključujući i one za solidne tumore, a najbrojnije su u Kini.

Deskriptori: CAR T TERAPIJA, IMUNOTERAPIJA, AKUTNA LIMFOBLASTIČNA LEUKEMIJA, LIMFOMI

Uvod

Osamdesetih godina prošlog stoljeća postalo je uobičajeno rezistentne i relapsirajuće hematološke maligne bolesti liječiti imunoterapijom u vidu transplantacije krvotvornih matičnih stanica (TKMS) (1). Nakon primjene kemoterapije i uvađanja pacijenta u remisiju, upravo se od novog imunološkog sustava, od davateljevih imunoloških stanica očekivalo da prepoznaju i unište preostale maligne stanice. Indikacije za alogeničnu TKMS stalno se revidiraju i mijenjaju, a pacijent bi idealno trebao biti u remisiji osnovne bolesti i dobrog općeg stanja (2). Postupak TKMS možda zvuči jednostavno, no riječ je o poprilično agresivnom liječenju s mogućim brojnim neželjenim posljedi-

cama (3). Glavna nuspojava je razvoj bolesti davatelja protiv primatelja (GVHD, eng. graft-versus-host disease), gdje T limfociti davatelja napadaju zdrava tkiva i organe primatelja, najčešće kožu, crijeva i jetru (4).

Zadnja dva desetljeća bilježi se otkrivanje drugih, manje agresivnih imunoterapijskih metoda posredovanih T limfocitima, poput povećanja broja tumor infiltrirajućih limfocita te inhibicije negativne regulacije imunološke aktivacije (otkriće tzv. checkpoint inhibitora - inhibitora proteina koji koče djelovanje T limfocita) (5-7). Godine 2018. dva su znanstvenika osvojila Nobelovu nagradu u polju medicine za otkriće checkpoint inhibitora - James P. Allison (MD Anderson Cancer Center, Sveučilište Houston, Texas, SAD) za otkriće citotoksičnog T limfocitnog antigena-4 (CTLA-4) na T limfocitima i Tasuku Honjo (Sveučilište Kyoto, Japan) za otkriće proteina programirane stanične smrti-1 (programmed cell death protein, PD-1) na tumorskoj stanici (8, 9). Primjenom protutijela koji inhibiraju inhibitore - anti-CTLA-4 ili anti-PD-1 potiče se aktivacija i prirod-

no antitumorsko djelovanje T limfocita. Ova terapija je pokazala pozitivan učinak u terapiji melanoma, karcinoma pluća i bubrega te nekih limfoma (10-12).

Osim checkpoint inhibitora, za izdvojiti je primjena blinatumomaba, bispecifičnog monoklalnog protutijela, koje se istovremeno veže za T stanični receptor (TCR, eng. T cell receptor) i CD 19 antigen na B limfoblastima/limfocitima. Lijek je indiciran za liječenje djece iznad prve godine života i odraslih sa CD 19 pozitivnom i Philadelphia kromosom negativnom akutnom B- limfoblastičnom leukemijom, koja je refraktorna ili recidivirajuća nakon primanja najmanje dvije prethodne terapije ili recidivirajuća nakon prethodnog liječenja TKMS. Učinkovitost ovog lijeka kod djece i odraslih ne prelazi 40% (13-15). Daje se kod male ostatne tumorske mase, može imati brojne neželjene nuspojave, a služi kao premoštenje do TKMS (16).

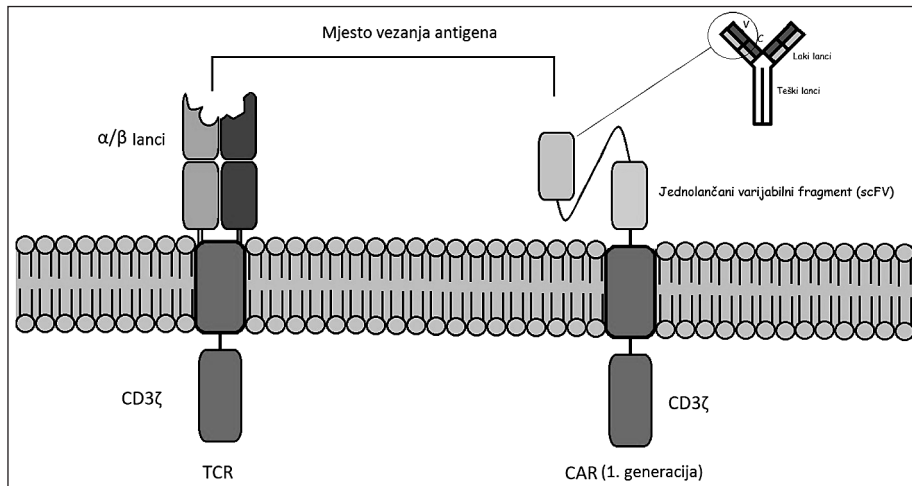
Za razumijevanje nastanka ideje i primjene CAR T stanične terapije u kliničkoj praksi, potrebno je predznanje o T staničnoj imunosti. T limfociti nastaju

¹Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za pedijatriju, Referentni centar Ministarstva zdravstva za dječju hematologiju i onkologiju

²Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za pedijatriju

³Sveučilište u Zagrebu, Medicinski Fakultet

Adresa za dopisivanje:
Maja Pavlović, dr. med.
10000 Zagreb, Dobri dol 41
drmajapavlovic@gmail.com



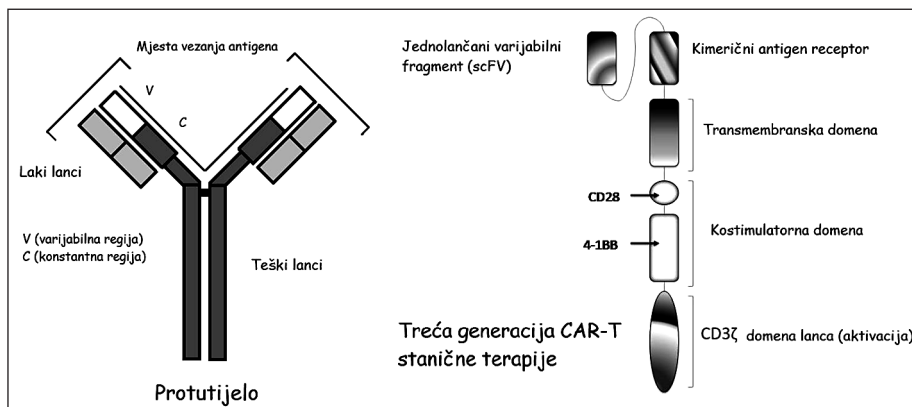
Slika 1. Izgled prvotnog CAR T staničnog receptora.

od matičnih stanica u koštanoj srži te putuju u timus, gdje prolaze strogu selekciju. Kako bi prepoznali strani antigen, on mora biti predočen od strane antigen predočnih stanica (APS) u sklopu molekule glavnog sustava tkivne podudarnosti, u čovjeka molekula HLA (human leukocyte antigen) (17).

T limfociti koji prepoznaju vlastite antigene (često prisutne i na tumorskim stanicama) umiru procesom apoptoze. Jedan od mehanizama bijega tumorske stanice od imunološkog sustava je inhibicija ekspresije molekule HLA na APS. Ideja je bila genetski promijeniti T stanični receptor tako da sâm, bez potrebe za HLA (spregnutim prepoznavanjem), prepoznaje i uništava tumorsku stanicu. Takav receptor bio bi kombinacija vanstaničnog dijela molekule za izrav-

no prepoznavanje antigena, odnosno staničnog biljega (svojstvo protutijela) i ostatka molekule T-staničnog receptora (TCR) koja je odgovorna za aktivaciju i efektorsku funkciju limfocita. Začudo, ova ideja je stara preko 30 godina i takav TCR su prvi sintetizirali znanstvenici iz Weizmannovog Instituta u Izraelu 1989. godine pod vodstvom profesora Zeliga Eshhara (18).

Problem je bio što takvi T limfociti nisu pokazivali dostatno jak afinitet prema tumorskoj stanici, niti su se umnožavali i opstajali u pokusnim modelima. Prošao je dugi niz godina i pokušaja stvaranja učinkovitog kimeričkog T staničnog receptora. Kasnih 90-ih došlo je do spoznaje kako dodavanje kostimulacijske molekule potiče unutarstaničnu signalizaciju i aktivaciju T limfocita (19,



Slika 2. T limfocit s trećom generacijom CAR (CAR T stanice treće generacije skupa s objašnjenjem građe receptora treće generacije).

20). Upravo se u izboru kostimulacijskih molekula danas dijele generacije CAR T stanica (21)

Nakon brojnih pokušaja 2012. godine tim liječnika iz Children's Hospital of Philadelphia prvi je objavio slučaj uspješne primjene CAR T stanične terapije u sedmogodišnje djevojčice s drugim relapsom pB ALL. Životna priča o čudesnom izlječenju djevojčice Emily Whitehead infuzijom genetski promijenjenih vlastitih T limfocita viralno je obišla svijet (22). Ona je bila prvi pedijatrijski pacijent uključen u studiju te prvi pacijent koji je postigao kompletnu trajnu remisiju primjenom tisagenlecleucela (Kymriah®, Novartis) (23). Djevojčica je i dan danas dobro i zdravo, a u njejoj krvi cirkuliraju CAR T limfociti (24).

CD19 antigen kojeg izražavaju B limfoblasti i zdravi B limfociti bio je pun pogodak za prvu klinički uspješnu primjenu CAR T stanica. Idealni antigen za CAR T staničnu terapiju trebao bi se izražavati na tumorskim stanicama, a ne bi smio biti prisutan na normalnim stanicama. To zahtijeva prepoznavanje novonastale molekule na staničnoj membrani tumorske stanice. Budući do sada nije pronađen antigen koji zadovoljava sve uvjete, alternativa su antigeni eksprimirani na jednoj staničnoj lozi, čija funkcija nije nezamjenjiva. CD19 je protein prisutan na B limfocitima u određenim fazama njihova zrenja, pa se stoga nalazi i na malignim stanicama bolesti koje zahvaćaju B-staničnu lozu: kronična limfocitna leukemija (KLL), pB ALL i neki oblici ne-Hodgkinova limfoma (NHL). Gotovo univerzalna ekspresija i specifičnost za jednu staničnu lozu čini CD19 atraktivnim ciljnim antigenom za CAR T staničnu terapiju hematoloških malignoma (25). Osim CD19, specifični B-stanični antigen CD22 pokazuje slične značajke te se i taj antigen trenutno aktivno istražuje (26).

Identifikacija ciljnog antigena kod T-stanične ALL predstavlja velik izazov, jer blasti eksprimiraju iste antigene kao i zrele T-stanice. Uz to, T-stanična aplazija je, u usporedbi s B-staničnom aplazijom, neprihvatljiva i smrtonosna nuspojava terapije. Zbog navedenih razloga, CAR

T-stanična terapija se još uvijek ne koristi u liječenju T-staničnih malignoma. Unatoč činjenici da određeni podtipovi T-stanične ALL mogu na svojoj površini aberantno ekspimirati proteine koji se normalno ne nalaze na T stanicama ili očitovati fuzijske proteine, trenutno nema ciljnog antigena koji je specifičan za T limfoblaste (27).

Postupak proizvodnje CAR T stanica

Terapija CAR T stanicama provodi se u visokospecijaliziranim hematološko-kološkim centrima s prikladnom opremom i educiranim medicinskim i laboratorijskim osobljem (28, 29). Prvi korak je prikladno izabrati kandidata. Lijekovi registrirani od EMA-e (tisagenlecleucel i axicabtagene ciloleucel) imaju jasno definirane indikacije. Istraživački laboratoriji diljem svijeta stvaraju vlastite CAR T stanice i time proširuju ciljnu skupinu, kao što je primjena CAR T stanica u dojenčadi, u pacijenata s imunodeficiencijom koji ne mogu biti liječeni kemoterapijom itd...

Postupak kreće postupkom leukafeze, skupljanjem i odvajanjem T limfocita bolesnika. Bitno je da bolesnik ima dovoljan broj T limfocita, što nije uvijek slučaj nakon brojnih i agresivnih kemo-

terapija (za novije generacije CAR T stanica potrebno je da apsolutni broj CD3+ limfocita bude minimalno 100-200/mcL) (30). Razglaba se i o funkcionalnosti skupljenih T limfocita te o ulozu omjera CD4+ i CD8+ limfocita. Također je bitno da je pacijent dobrog općeg stanja što se utvrđuje različitim bodovnim sustavima (npr. Karnofsky score, The Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) score...). Pacijent ne smije imati aktivnu infektivnu bolest (testira se na HIV, HBV, HCV...), a niti autoimunu bolest.

Nakon prikupljanja zamrznute stanice se šalju u specijalizirane laboratorije, gdje se nakon odmrzavanja ex vivo umnažaju. Potom se putem virusnog vektora (lentivirus ili retrovirus) ili putem plazmida u DNA T limfocita implementira genetski kod za sintezu kimeričkog receptora s izvanstaničnom domenom sličnom protutijelu. Ovakav sintetički receptor tek sad ima sposobnost vezanja za tumorski antigen bez potrebe da bude predočen u sklopu molekule HLA (31-33). Najnoviji način implementacije genoma je putem CRISPR/cas9 (eng. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) ili TALEN (eng. transcription activator-like effector nucleases) (34, 35). Otopina modificiranih T stanica s visokom ekspresijom CARsa dalje se ekspandira u staničnoj

kulturi i ponovo zamrzava nakon provjere sterilnosti.

Trajanje proizvodnje stanične kulture spremne za reinfuziju (lijeka) je različita, u prosjeku 20 do 40 dana. U tom razdoblju čekanja osnovnu bolest treba držati pod kontrolom, što je izazov, jer se radi o akutnim leukemijama i agresivnim limfomima. Kako je terapija u kliničkoj primjeni već par godina, postoje mnogi prijedlozi za održavanje bolesti u 'stabilnom' stanju. Za učinkovitost je također bitan dovoljan razmak (tzv. washout period) davanja kemoterapije od primjene CAR T stanica.

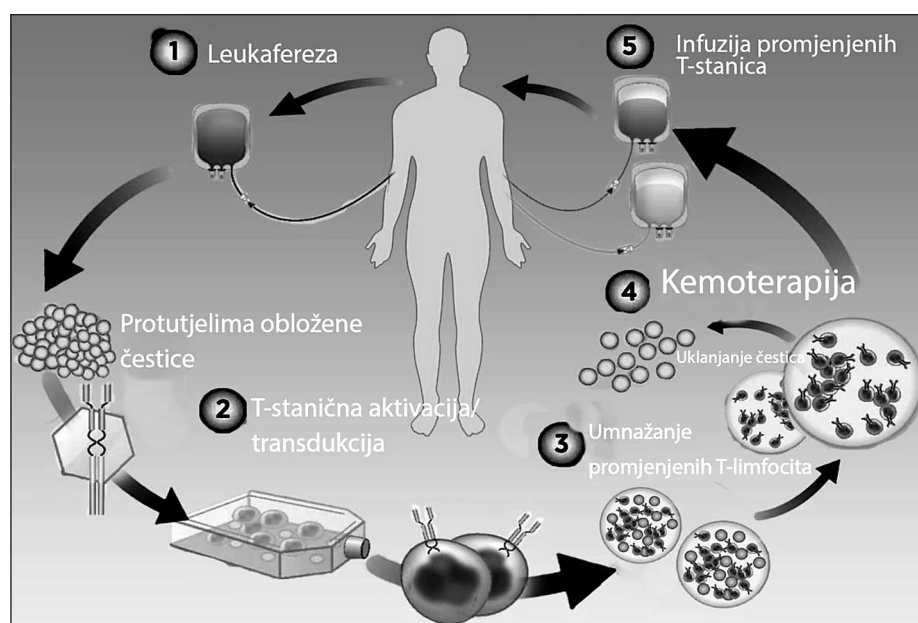
Kako bi se stvorili povoljni in vivo uvjeti za primjenu CAR T terapije, prije reinfuzije pacijent prima limfodeplecijsku kemoterapiju, obično fludarabin s ciklofosamidom (36). Lijek se daje između 2. i 14. dana nakon završetka limfodeplecijske terapije uz premedikaciju s nesteroidnim antireumaticima i antihi-staminikom.

Nuspojave CAR T stanične terapije

Nažalost, u velikoj većini pacijenata javljaju se ozbiljne nuspojave od kojih su najvažnije: 1) aplazija B limfocita (83%); 2) sindrom otpuštanja citokina (CRS) (49%); 3) febrilna neutropenija (37%); 4) hipotenzija (22%); 5) hipoksija (18%); 6) hiperpireksija (15%); 7) akutno oštećenje bubrega (15%); 8) encefalopatija (10%); 9) edem pluća 10% (37).

Aplazija B limfocita je očekivana nuspojava CD19 CAR T stanične terapije. Većina pacijenata stoga zahtijeva redovitu supstituciju intravenskih gama globulina i profilaktičku primjenu antibiotika (38).

CRS i neurotoksičnost CAR T stanica (u literaturi često označen kao ICANS od eng. Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome) su najopasnije i životno ugrožavajuće nuspojave i medicinsko osoblje koje provodi CAR T staničnu terapiju treba biti educirano i spremno na njihovo zbrinjavanje (39, 40). O infuziji CAR T stanica svakako treba obavijestiti jedinicu za intenzivno zbrinjavanje pacijenata, a liječnici intenziv-



Slika 3. Postupak proizvodnje CAR T stanica.

ne medicine također moraju biti upoznati s liječenjem nuspojava ove terapije.

CRS je najčešća ozbiljna nuspojava CAR T terapije, a nastaje uslijed aktivacije i ekspanzije CAR T stanica i lize ciljnih stanica, a uzrokuju ga citokini: TNF alfa, IL-6, IFN gama, IL-10, IL-2 i IL-1 beta... Javlja se obično 2-3 dana nakon infuzije, a manifestira se kao povišena temperatura (često praćena glavoboljom, mialgijom, atralgijom, općom slabosti i inapetencijom), hipotenzija, hipoksija, tahikardija, često sa multiorganskim zatajenjem i koagulopatijom. Poznato je da je CRS teži što je veća tumorska masa i što je viša laktat dehidrogenaza (LDH), a može se ublažiti reinfuzijom CAR T stanica u više (3-4) frakcija (41). CRS obično regredira unutar 7 do 8 dana, no može se oduljiti i do 30 dana. U teškim slučajevima CRS-a javlja se klinička slika hemofagocitne histiocitoze/sindroma aktivacije makrofaga (42).

Učestalost komplikacija središnjeg živčanog sustava povezanih s CD 19 CAR T staničnom terapijom varira od 23 do 67% u pacijenata s limfomima i od 40 do 62% u onih s leukemijom. Patofiziologija neurotoksičnosti CAR T terapije razlikuje se od patofiziologije CRSa i trenutno je slabo razjašnjena. Kao moguća objašnjenja navode se oštećenje endotela i disfunkcija krvno-možđane barijere. Manifestira se kao encefalopatija, delirij, afazija, letargija, smanjena koncentracija, agitiranost, tremor, epileptički napadi i edem mozga. Bitno je naglasiti da je većina neuroloških komplikacija samooograničavajuća i prolazna, no može biti smrtonosna. Ekspresivna afazija (nesposobnost imenovanja objekata, parafraziranje, usporen govor) je karakteristična nuspojava i može progredirati. Vrlo često se javlja glavobolja, koja ne mora nužno ukazivati na neurotoksičnost. Edem mozga se može javiti neovisno ili u sklopu epileptičkih napada. CAR T stanice prolaze krvno-možđanu barijeru i mogu se dokazati u likvoru. Neurološke komplikacije se javljaju tijekom ili puno češće nakon CRS-a, a gotovo nikada prije CRSa i regrediraju unutar 3 do 4 tjedna (43-46).

Za suzbijanje nuspojava CAR T stanične terapije postoje bodovni sustavi i smjernice, od kojih se najčešće koriste NCI (National Cancer Institute) consensus scoring system, UPENN (The University of Pennsylvania)/CHOP (Children's Hospital of Philadelphia) scoring system i ASBMT (The American Society of Blood and Marrow Transplantation) consensus scoring system (47). Zbrinjavanje nuspojava uz standardne simptomatske mjere (nadoknada tekućine, vazopresori, nesteroidni antireumatici...) uključuje i primjenu imunosupresivne biološke terapije - tocilizumaba (blokator IL-6 receptora) i/ili siltuksimaba (protutijelo na IL-6) te eventualno kortikosteroida. Tocilizumab je u Europi trenutno registriran za terapiju juvenilnog idiopatskog i reumoidnog artritisa te za liječenje arteritisa divovskih stanica, a FDA (Food and Drug Administration) je već odobrila primjenu lijeka za CRS izazvan CAR T staničnom terapijom (48). Daje se u dozi 8 mg/kg iv kroz sat vremena, s ponavljanjem svakih 8 sati. Ukoliko ne dođe do poboljšanja unutar 24 sata, indicirana je primjena kortikosteroida (obično se daje metilprednizolon).

Kliničke studije relevantne za kliničku primjenu CAR T stanica

U studiji ELIANA ispitivala se učinkovitost tisagenlecleucela u djece i mladih odraslih do 21 godine života s r/r pB ALL. Od 75 ispitanika, remisiju (definiranu kao MRD minimal residual disease negativnu bolest ispitivanu protočnom citometrijom) je nakon 3 mjeseca postiglo njih 81%. Preživljenje bez neželjenog događaja i ukupno preživljenje iznosilo je 73% (95% CI 60-82) i 90% (95% CI 81-95) nakon 6 mjeseci, odnosno 50% (95% CI 35-64) i 76% (95% CI 63-86) nakon 12 mjeseci (31).

U studiji JULIET ispitivala se učinkovitost tisagenlecleucela u odraslih s r/r DLBCL. Sudjelovala su 93 ispitanika, a medijan praćenja od dana reinfuzije do objavljenih rezultata je 14 mjeseci. 40% pacijenata postiglo je kompletnu, a 12% djelomičnu remisiju. Preživljenje bez neželjenog događaja iznosilo je 65% nakon 12 mjeseci od inicijalnog odgovora (32).

U multicentričnoj studiji ZUMA-1 ispitivano je djelovanje axicabtagene ciloleucela u pacijenata s r/r DLBCL, PMBCL i transformiranim folikularnim limfomom. Lijek je primijenjen kod 101 ispitanika. Kompletan odgovor na terapiju postignut je kod 54% ispitanika. S medijanom praćenja od 15,4 mjeseci, 40% pacijenata je i dalje imalo kompletan odgovor, a ukupno preživljenje nakon 18 mjeseci zabilježeno je kod 42% ispitanika (33).

CAR T stanična terapija u solidnim tumorima

Primjena CAR T stanične terapije u liječenju solidnih tumora još se istražuje i zasad je manje učinkovita zbog posebnosti koje otežavaju liječenje u odnosu na hematološke maligne bolesti. Dodatni je izazov identificirati idealan tumorski antigen, prisutan na svakoj malignoj stanici, a odsutan na zdravim stanicama. Mnogi antigeni se istražuju kao moguće mete: MUC1, HER2, G2D, CEA, EGFR, GP100, mezotelin i mnogi drugi. Jedan od antigena koji se čini odličnim izborom je prostata specifični antigen (PSA) jer se nalazi na malignim stanicama i endotelu tumorske vaskulature, a odsutan je u normalnim stanicama. Druga zapreka je imunosupresivno djelovanje okolne strome, koja inhibira aktivaciju imunološkog sustava. Zbog navedenih razloga, a i činjenice da T stanice teško infiltriraju tumorsko tkivo, ulažu se veliki naponi u modificiranje membrane T stanica dodavanjem receptora i kostimulatorima, kao i mijenjanjem obrasca lučenja citokina kako bi se prilagodila tumorskim stanicama. Jedan od primjera je dodavanje anti-PD-1 protutijela, za koje se pokazalo da smanjuje prisutnost supresorskih stanica te se na taj način povećava antitumorsko djelovanje CAR T stanica (49, 50).

ZAKLJUČAK

CAR T stanična terapija predstavlja veliki iskorak u liječenju hematoloških malignih bolesti. Međutim, treba biti svjestan brojnih ograničenja ove terapije, počevši od njene dostupnosti, enormnih troškova i duljine trajanja proizvodnje do mogućih smrtonosnih nuspojava. Poku-

šaji znanstvenika da nađu univerzalni lijek protiv raka ovim još nije postignut, ali mnoga istraživanja se provode s idejom genetskog modificiranja T limfocita, ali i drugih imunoloških stanica, kako bi visoko specifično, sigurno i još efikasnije uništavali tumorske stanice s krajnjim ciljem da ovaj način liječenja bude široko dostupan i financijski prihvatljiv. Osobito su aktualna istraživanja na NK stanicama kao efektorima. Također se radi na proizvodnji alogenihi CD19 CAR T stanica od donora, tako da univerzalni lijek bude spreman u trenutku potrebe.

CAR T terapija se u ovom trenutku čini vrlo obećavajućom i u budućnosti se očekuje značajno šire indikacijsko područje ove terapija na ostale hematološke malignome, solidne tumore i neke autoimunosne bolesti. Pronalaskom djelotvornije terapije s manje nuspojava od sadašnje će se značajno unaprijediti onkološko liječenje.

Kratice:

APS - antigen predočujuća stanica
 CAR - chimeric antigen receptor
 EMA - European Medicines Agency
 FDA - Food Drug Administration
 GVHD - graft versus host disease
 HLA - human leukocyte antigen
 r/r DLBCL - refrakterni/relapsirajući difuzni velikostanični B limfom
 r/r pB ALL - refrakternom/relapsirajućom B limfoblastičnom akutnom leukemijom
 TKMS - transplantacija krvotvornih matičnih stanica
 TCR T - stanični receptor

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./ *All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

- Appelbaum FR. Hematopoietic-cell transplantation at 50. *N Engl J Med.* 2007; 357 (15): 1472-5.
- Duarte RF, Labopin M, Bader P et al. Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe, 2019. *Bone Marrow Transplant.* 2019; 54 (10): 1525-52.
- Ghimire S, Weber D, Mavin E, Wang XN, Dickinson AM, Holler E. Pathophysiology of GvHD and Other HSCT-Related Major Complications. *Front Immunol.* 2017; 8: 79.
- Sung AD, Chao NJ. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. *Stem Cells Transl Med.* 2013; 2 (1): 25-32.
- Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science.* 1986; 233 (4770): 1318-21.
- Haanen JB, Robert C. Immune Checkpoint Inhibitors. *Prog Tumor Res.* 2015; 42: 55-66.
- Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science.* 2015; 348 (6230): 56-61.
- Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 1996; 271 (5256): 1734-6.
- Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J.* 1992; 11 (11): 3887-95.
- Furue M, Ito T, Wada N, Wada M, Kadono T, Uchi H. Melanoma and Immune Checkpoint Inhibitors. *Curr Oncol Rep.* 2018; 20 (3): 29.
- Herzberg B, Campo MJ, Gainor JF. Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. *Oncologist.* 2017; 22 (1): 81-8.
- Carlo MI, Voss MH, Motzer RJ. Checkpoint inhibitors and other novel immunotherapies for advanced renal cell carcinoma. *Nat Rev Urol.* 2016; 13 (7): 420-31.
- Furue M, Ito T, Wada N, Wada M, Kadono T, Uchi H. Melanoma and Immune Checkpoint Inhibitors. *Curr Oncol Rep.* 2018; 20 (3): 29.
- Martinelli G, Boissel N, Chevallier P et al. Complete Hematologic and Molecular Response in Adult Patients With Relapsed/Refractory Philadelphia Chromosome-Positive B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia Following Treatment With Blinatumomab: Results From a Phase II, Single-Arm, Multicenter Study (published correction appears in *J Clin Oncol.* 2017; 35 (23): 2722.) (published correction appears in *J Clin Oncol.* 2017; 35 (24): 2856). *J Clin Oncol.* 2017; 35 (16): 1795-802.
- Gore L, Locatelli F, Zugmaier G et al. Survival after blinatumomab treatment in pediatric patients with relapsed/refractory B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood Cancer J.* 2018; 8 (9): 80.
- Zeng Y, Katsanis E. Potential niche indications for blinatumomab as a bridge to hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2017; 52 (12): 1671-3.
- Altmann DM, Trowsdale J. Major histocompatibility complex structure and function. *Curr Opin Immunol.* 1989; 2 (1): 93-8.
- 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 USA.* 1989; 86 (24): 10024-8.
- Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol.* 1996; 14: 233-58.
- Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol.* 1996; 14: 233-58.
- Weinkove R, George P, Dasyam N, McLellan AD. Selecting costimulatory domains for chimeric antigen receptors: functional and clinical considerations. *Clin Transl Immunology.* 2019; 8 (5): 1049.
- <https://ascopost.com/issues/may-25-2019/emily-whitehead-celebrates-7-years-cancer-free/>
- Grupp SA, Kalos M, Barrett D et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia (published correction appears in *N Engl J Med.* 2016; 374 (10): 998.). *N Engl J Med.* 2013; 368 (16): 1509-18.
- <https://ascopost.com/issues/may-25-2019/emily-whitehead-celebrates-7-years-cancer-free/>
- Ghorashian S, Pule M, Amrolia P. CD19 chimeric antigen receptor T cell therapy for hematological malignancies. *Br J Haematol.* 2015; 169 (4): 463-78.
- Long AH, Haso WM, Orentas RJ. Lessons learned from a highly-active CD22-specific chimeric antigen receptor. *Oncoimmunology.* 2013; 2 (4): 23621.
- Maude SL, Teachey DT, Porter DL, Grupp SA. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2015; 125 (26): 4017-23.
- Levine BL, Miskin J, Wonnacott K, Keir C. Global Manufacturing of CAR T Cell Therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016; 4: 92-101.
- Xu J, Melenhorst JJ, Fraietta JA. Toward precision manufacturing of immunogene T-cell therapies. *Cytotherapy.* 2018; 20 (5): 623-38.
- Broj cd 3+ ly ref.

31. 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): 439-48.
32. 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 (1): 45-56.
33. 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 (1): 31-42.
34. Tsai SQ, Nguyen NT, Malagon-Lopez J, Topkar VV, Aryee MJ, Joung JK. CIRCLE-seq: a highly sensitive in vitro screen for genome-wide CRISPR-Cas9 nuclease off-targets. *Nat Methods.* 2017; 14 (6): 607-14.
35. Benjamin R, Berges BK, Solis-Leal A, Igbinedion O, Strong CL, Schiller MR. TALEN gene editing takes aim on HIV. *Hum Genet.* 2016; 135 (9): 1059-70.
36. Hay KA, Turtle CJ. Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells: Lessons Learned from Targeting of CD19 in B-Cell Malignancies. *Drugs.* 2017; 77 (3): 237-45.
37. Pennisi M, Jain T, Santomasso BD et al. Comparing CAR T-cell toxicity grading systems: application of the ASTCT grading system and implications for management. *Blood Adv.* 2020; 4 (4): 676-86.
38. Miliotou AN, Papadopoulou LC. CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy. *Curr Pharm Biotechnol.* 2018; 19 (1): 5-18.
39. Bonifant CL, Jackson HJ, Brentjens RJ, Curran KJ. Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Mol Ther Oncolytics.* 2016; 3: 16011.
40. Brudno JN, Kochenderfer JN. Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. *Blood Rev.* 2019; 34: 45-55.
41. Hay KA. Cytokine release syndrome and neurotoxicity after CD19 chimeric antigen receptor-modified (CAR-) T cell therapy. *Br J Haematol.* 2018; 183 (3): 364-74.
42. Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy - assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol.* 2018; 15 (1): 47-62.
43. Gust J, Taraseviciute A, Turtle CJ. Neurotoxicity Associated with CD19-Targeted CAR-T Cell Therapies. *CNS Drugs.* 2018; 32 (12): 1091-101.
44. Rice J, Nagle S, Randall J, Hinson HE. Chimeric Antigen Receptor T Cell-Related Neurotoxicity: Mechanisms, Clinical Presentation, and Approach to Treatment (published correction appears in *Curr Treat Options Neurol.* 2019; 21 (8, 9): 40-3.).
45. Wang Z, Han W. Biomarkers of cytokine release syndrome and neurotoxicity related to CAR-T cell therapy. *Biomark Res.* 2018; 6: 4.
46. Hunter BD, Jacobson CA. CAR T-cell associated neurotoxicity: Mechanisms, clinicopathologic correlates, and future directions (published online ahead of print, 2019 Feb 11). *J Natl Cancer Inst.* 2019; 10.1093/jnci/djz017.
47. Yáñez L, Sánchez-Escamilla M, Perales MA. CAR T Cell Toxicity: Current Management and Future Directions. *Hemisphere.* 2019; 3 (2): 186.
48. Le RQ, Li L, Yuan W et al. FDA Approval Summary: Tocilizumab for Treatment of Chimeric Antigen Receptor T Cell-Induced Severe or Life-Threatening Cytokine Release Syndrome. *Oncologist.* 2018; 23 (8): 943-7. doi:10.1634/theoncologist.2018-28.
49. Newick K, O'Brien S, Moon E, Albelda SM. CAR T Cell Therapy for Solid Tumors. *Annu Rev Med.* 2017; 68: 139-52.
50. Kloess S, Kretschmer A, Stahl L, Fricke S, Koehl U. CAR-Expressing Natural Killer Cells for Cancer Retargeting. *Transfus Med Hemother.* 2019; 46 (1): 4-13.

Summary

CAR T CELL THERAPY

Maja Pavlović, Daniel Turudić, Matej Jelić, Ernest Bilić

The idea of rearranging one's own immune system to recognize a tumor cell as something foreign and harmful is certainly more appealing than toxic and non selective chemotherapy. Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy is one of the new innovative treatment methods and represents revolution in personalized oncology. Encouraging results from Children's Hospital of Philadelphia in the treatment of hematologic malignancies have led to worldwide interest in creating more effective generation of CARs. This cell therapy is currently registered with the European Medicines Agency (EMA) as a tisagenlecleucel (Kymriah®, Novartis) for young patients aged up to 25 with refractory / relapsing B lymphoblastic acute leukemia (r/r pB ALL) and adults patients with diffuse large B-cell lymphoma (r/r DLBCL). Similar drug axicabtagene ciloleucel (Yescarta®, Gilead) has been approved by EMA for treatment of diffuse large B-cell lymphoma (r/r DLBCL) as well as primary mediastinal B-cell lymphoma (PMBCL). Several hundred clinical studies about CAR T-cell therapy are currently ongoing, including those for solid tumors and most of them are in China.

Descriptors: CAR T-CELL THERAPY, IMMUNOTHERAPY, LYMPHOBLASTIC ACUTE LEUKEMIA, LYMPHOMA

Primljeno/Received: 10. 2. 2020.

Prihvaćeno/Accepted: 2. 3. 2021.