

Praktické aspekty terapie CAR-T lymfocyty

Practical aspects of CAR-T cell therapy

Mihályová J.^{1,2}, Jelínek T.^{1,2}, Kaščák M.^{1,2}, Benková K.^{1,2}, Ďuraš J.^{1,2}, Demel I.¹, Kořístek Z.^{1,2}, Hájek R.^{1,2}

¹Klinika hematologie FN Ostrava

²Klinika hematologie LF OU

Souhrn

Východiska: Imunoterapie pomocí T lymfocytů s chimérickým antigenním receptorem (CAR-T lymfocyty) si postupně buduje své postavení v léčbě hematologických onemocnění. V ČR jsou k únoru 2022 schváleny tři léčivé přípravky vyráběné z autologních lymfocytů pacientů a obsahující anti-CD19 CAR-T lymfocyty určené k léčbě relapsu vybraných non-hodgkinských B lymfomů a akutní B-lymfoblastické leukemie. V klinických studiích se již testují CAR-T lymfocyty zaměřené na další cíle a v brzké budoucnosti lze předpokládat využití této léčby i u dalších hematologických onemocnění. Výroba a její logistika se optimalizovaly. V oblasti řešení časných nežádoucích účinků byly získány cenné zkušenosti, což se odrazilo ve znění aktuálních doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation a American Society for Transplantation and Cellular Therapy. Nevyřešenou otázkou zatím zůstává pozdní toxicita. Je důležité, aby pacienti, kteří podstupují tuto vysoce specifickou terapii, zůstali v dispenzarizaci specialistů několik desítek let. Stále probíhá intenzivní výzkum a vývoj, který je zaměřen na efektivitu výroby a na modifikace CAR konstruktů s cílem zvýšit jejich účinnost a současně snížit toxicitu. Významné zlepšení dostupnosti této jinak velmi nákladné léčby se očekává od vývoje univerzálních alogenních T lymfocytů, které budou exprimovat CAR podle typu cílového onemocnění. **Cíl:** Tento souhrnný článek se věnuje zásadám přípravy a podání autologních CAR-T lymfocytů.

Klíčová slova

imunoterapie – chimérický antigenní receptor – T lymfocyty s chimérickým antigenním receptorem

Summary

Background: Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy has been gradually building its position in the treatment of hematological malignancies. Currently, there are three types of autologous anti-CD19 CAR-T cells approved for the treatment of selected relapsed B cell non-Hodgkin's lymphomas and acute B-lymphoblastic leukemia in the Czech Republic. Additional clinical trials are ongoing to evaluate CAR-T cell therapy that targets other tumor-specific antigens. It is expected that some of these CAR-T cells will be approved for the treatment of other hemato-oncological diagnoses in the near future. Manufacturing and management of CAR-T cell therapy have been optimized. European Society for Blood and Marrow Transplantation and American Society for Transplantation and Cellular Therapy have updated their recommendations for the management and treatment of early CAR-T cell toxicity based on valuable experience gained during several years. Nevertheless, late toxicity remains an issue. It is crucial for patients undergoing this highly specific therapy to stay in follow-up for several decades. Intensive research and development have been devoted to manufacturing new CAR constructs with higher efficacy and lesser toxicity. A significant improvement in the availability of this, otherwise very expensive treatment, is expected from universal allogeneic T cells that will express CAR binding to tumor-specific antigen. **Purpose:** This review is focused on the preparation and administration of autologous CAR-T lymphocytes.

Key words

immunotherapy – chimeric antigen receptor – chimeric antigen receptor T cells

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Jana Mihályová
Klinika hematologie
LF OU a FN Ostrava
17. listopadu 1790
708 52 Ostrava-Poruba
e-mail: jana.mihalyova@fno.cz

Obdrženo/Submitted: 6. 4. 2021

Přijato/Accepted: 16. 6. 2021

doi: 10.48095/ccko202244

Úvod

Léčba vybraných hematologických malignit pomocí aplikace geneticky modifikovaných autologních T lymfocytů vybavených chimérickým antigenním receptorem (CAR-T lymfocyty) patří mezi nejmodernější buněčnou léčbu. Díky expresi CAR jsou T lymfocyty schopny rozeznávat konkrétní nádorový antigen nezávisle na molekule lidského leukocytárního antigenu (human leukocyte antigen – HLA) [1–3].

Komplex CAR je složený z extracelulární části, transmembránové domény a intracelulární části. Extracelulární část je nejčastěji tvořena fragmentem scFv (single chain variable fragment), pomocí kterého lymfocyt rozeznává a váže cílový antigen nádorové buňky (tzv. target). Transmembránová doména spojuje extra- a intracelulární část. Intracelulární část obsahuje CD3 zeta řetězec (část T-buněčného ko-receptoru) a jednu nebo více kostimulačních domén (CD28, 4-1BB, CD27, OX40, ICOS a jiné) [4] (obr. 1). Po vazbě CAR na cílový antigen se aktivují intracelulární

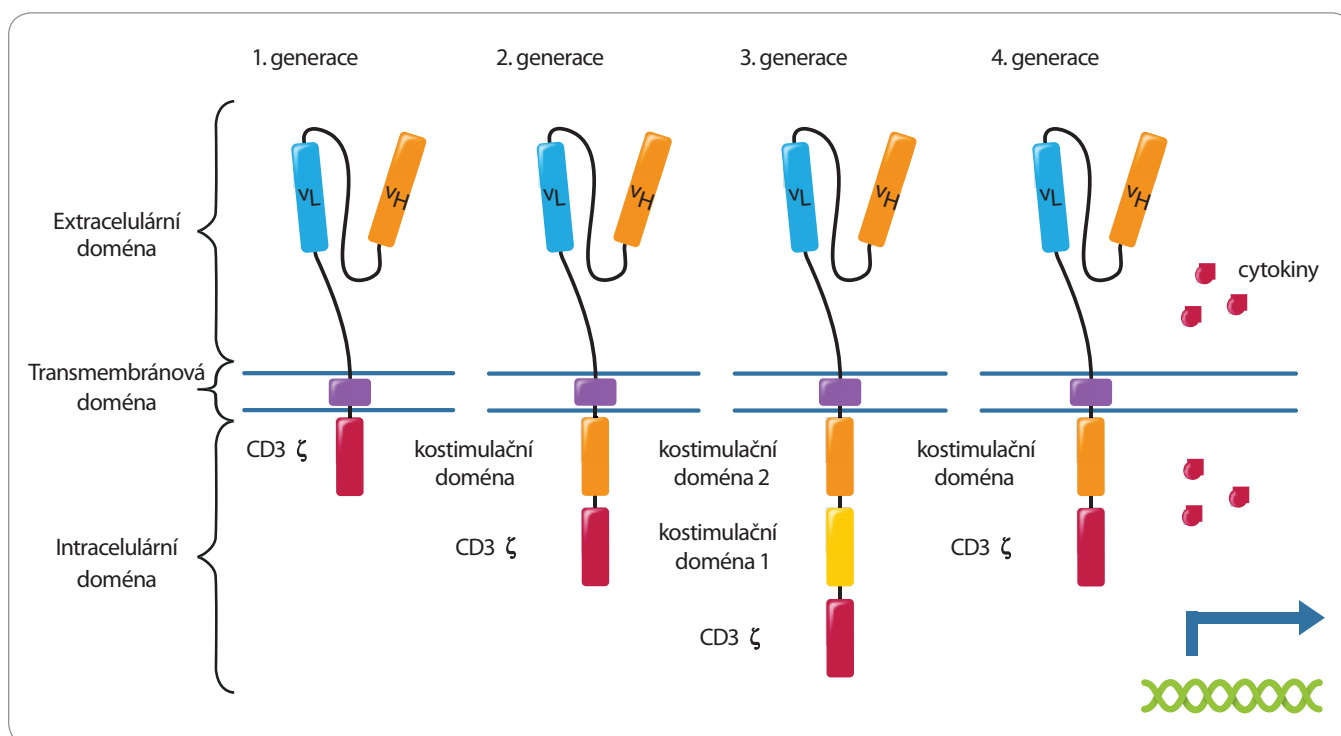
signalizační kaskády a spouští reakce podobné přirozené aktivaci cytotoxického T lymfocytu. Výsledkem je lýza nádorové buňky [5]. Novější typy CAR navíc ve své intracelulární části obsahují molekuly, které řídí např. expresi cytokinů nebo aktivují JAK-STAT signalizační dráhu a dále stimulují lymfocyt k proliferaci a přežívání [6,7]. Novější typy autologních CAR-T lymfocytů mohou obsahovat dva různé CAR (AUTO3 – anti-CD19/22 CAR-T lymfocyty) [8] nebo se lišit ve stavbě extracelulární části CAR a jsou schopné vázat dva a více antigenů [9]. Z alogenních lymfocytů je možné připravit univerzální neboli off-the-shelf CAR-T lymfocyty, které nerozeznávají alogenní antigeny, a konečné produkty tak mohou být aplikovány různým nemocným [10,11].

Tento souhrnný článek se věnuje přípravě a podání autologních CAR-T lymfocytů. Uvádí stručný přehled nejčastějších nežádoucích účinků a management jejich léčby vycházející z doporučení European Society for Blood and Marrow

Transplantation z roku 2020 [12] a American Society for Transplantation and Cellular Therapy z roku 2019 [13].

Indikace CAR-T lymfocytů v léčbě hematologických onemocnění

Americký úřad pro kontrolu potravin a léčiv (Food and Drug Administration – FDA) dosud schválil tři komerční přípravky s anti-CD19 CAR-T lymfocyty. Kymriah (tisagenlecleucelum; Novartis) je indikován u pacientů s difuzním velkobuněčným B lymfomem (diffuse large B cell lymphoma – DLBCL) po selhání 2. linie léčby [14] a u pacientů do 25 let s relabovanou a/nebo refrakterní (RR) akutní B-lymfoblastickou leukémií (B-ALL) [15]. Yescarta (axicabtagenum ciloleucelum; Gilead Sciences) je určena pro nemocné s DLBCL vč. transformovaného folikulárního lymfomu (FL) a primárního mediastinálního B lymfomu po selhání 2. linie léčby [16]. V červenci 2020 schválila FDA přípravek Tecartus (brexucabtagene



Obr. 1. Struktura chimérického antigenního receptoru.

Chimérický antigenní receptor (CAR) je složený z extracelulární části, transmembránové domény a intracelulární části. Extracelulární část je nejčastěji tvořena fragmentem scFv (single chain variable fragment). Transmembránová doména spojuje intracelulární a extracelulární část receptoru. Intracelulární část je složená z CD3 zeta řetězce a kostimulační domény. Jednotlivé generace CAR-T lymfocytů se liší počtem kostimulačních domén (1. generace – bez kostimulační domény, 2. generace – jedna kostimulační doména, 3. generace – dvě kostimulační domény, 4. a mladší generace – jedna kostimulační doména). Mladší generace navíc obsahují geny nebo vektory, které ovlivňují produkci cytokinů a jiných molekul.

Tab. 1. Minimální rozsah vyšetření v průběhu léčby CAR-T lymfocyty [12].

Doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation – vyšetření před indikací terapie CAR-T lymfocyty

Potvrzení nemoci	histologie lymfatických uzlin (nádorové masy) – lymfom, IFCM – ALL
ECOG PS skóre	≤ 2
Echokardiografie a EKG	EFLK > 40 %, vyloučit perikardiální výpotek
MR mozku a likvor	u pacientů s historií infiltrace CNS nebo neurologickými projevy
Krevní obraz + diff	APN > 1×10 ⁹ /l
Biochemie	Na, K, Cl, Ca, Mg, P, glukóza, urea, kreatinin, CrCl (> 30 ml/min), bilirubin celkový (< 34 μmol/l, u pacientů s Gilbertovým syndromem < 43 μmol/l), AST (< 5× ULN), ALT (< 5× ULN), ALP, GMT, LDH, CRP, celková bílkovina, albumin
Koagulace	PT, aPTT, PT-R, aPTT-R, TT, TT-R, fibrinogen, ATIII, DD
Fertilita	HCG v krvi fertálních žen (potvrzení negativy max. 8 dnů před převodem CAR-T lymfocytů)
Virologie	anti-HIV1, anti-HIV2, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV

Doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation – vyšetření před leukaferézou

ECOG PS skóre	≤ 2
Chemoterapie	zahájení leukaferézy po reparaci krevního obrazu
Kortikoidy	ukončit 7 dnů před aferézou, výjimečně 3 dny (povolená je fyziologická substituce hydrokortisonu nebo max. prednisolon 5 mg/den)
HBV, HCV, HIV, syfilis	anti-HIV1, anti-HIV2, HBsAg, anti-HBc, anti-HCV, TPHA výsledky vyšetření nesmí být v době aferézy starší 30 dnů
Biochemie	Na, K, Cl, Ca, Mg, P, glukóza, urea, kreatinin, bilirubin celkový, AST, ALT, ALP, GMT, LDH, B2-MG, CRP, celková bílkovina, albumin
Krevní obraz	Hb > 80 g/l Hct > 0,24 APN > 1×10 ⁹ /l APLy > 0,2×10 ⁹ /l Plt > 30×10 ⁹ /l (opakovat po leukaferéze)

Doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation – vyšetření před lymfodepleční terapií

Klinické vyšetření	vyloučit aktivní infekci (kontraindikace k podání lymfodepleční terapie)
Echokardiografie a EKG	EFLK > 40 %, vyloučit perikardiální výpotek (vyšetření opakovat v případě, že byla v rámci bridgingu použita kardiotoxická léčba)
Krevní obraz + diff	lymfodepleční terapie je indikovaná u všech pacientů bez ohledu na WBC a APLy (Kymriah – lymfodepleční terapie lze vynechat u pacientů s WBC ≤ 1×10 ⁹ /l týden před aplikací CAR-T lymfocytů)
Biochemie	Na, K, Cl, Ca, Mg, P, glukóza, urea, kreatinin, CrCl (> 30 ml/min), bilirubin celkový (< 34 μmol/l, vyšší hodnoty jsou akceptovatelné u pacientů s Gilbertovým syndromem), AST (< 5× ULN), ALT (< 5× ULN), ALP, GMT, LDH, CRP, celková bílkovina, albumin
Koagulace	fibrinogen

Podmínkou zahájení lymfodepleční terapie je obdržení preparátu CAR-T lymfocytů na pracovišti. Výjimky mohou být pouze ve výjimečných případech po potvrzení výroby CAR-T lymfocytů farmaceutickou společností.

ALL – akutní lymfoblastická leukemie, ALT – alaninaminotransferáza, APLy – absolutní počet lymfocytů, APN – absolutní počet neutrofilů, AST – aspartátaminotransferáza, ATIII – antitrombin III, B2-MG – beta-2 mikroglobulin, CrCl – clearance kreatininu, CRP – C reaktivní protein, DD – D dimery, diff – diferenciální rozpočet bílých krvinek, ECOG PS – Eastern Cooperative Oncology Group performance status, EFLK – ejekční frakce levé komory, Hb – hemoglobin, HBV – virus hepatitidy B, HCG – lidský choriový gonadotropin, Hct – hemtokrit, HCV – virus hepatitidy C, HIV – lidský virus imunodeficiency, IFCM – imunoflowcytometrie, LDH – laktátdehydrogenáza, WBC – absolutní počet leukocytů, Plt – trombocyty, TPHA – *Treponema Pallidum* hemaglutinace

Tab. 2. Minimální časové okno mezi protinádorovou léčbou a leukaferézou [42,43].

Doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation	
Alogenní transplantace kostní dřeně	1 měsíc po vysazení imunosuprese u pacientů bez známek reakce štěpu proti hostiteli
Infuze dárcovských lymfocytů	4 týdny (z hlediska vyloučení jakékoliv reakce štěpu proti hostiteli je bezpečnější interval 6–8 týdnů)
Léčba infiltrace CNS	1 týden
Vysokodávkovaná chemoterapie	3–4 týdny (vyčkat do reparace krevního obrazu)
Bendamustin	4 týdny
Cyklofosamid	1 týden
Pegylovaná asparagináza	4 týdny
Krátkodobě působící cytotoxické a antiproliferativní léky	3 dny (vyčkat do reparace krevního obrazu)
Konjugáty protilátka-léčivo (polatuzumab vedotin, inotuzumab ozogamicin)	1 týden
Blinatumomab	2 týdny
Systémové kortikoidy	7 dnů, výjimečně lze akceptovat 3 dny absolutní počet lymfocytů > 0,2×10 ⁹ /l (bez ohledu na načasování aferézy)
GCSF	1 týden
Pegylovaný GCSF	2 týdny

GCSF – faktor stimulující granulocyty

autoleucel; Gilead Sciences), tj. anti-CD19 CAR-T lymfocyty pro léčbu relabovaného/refrakterního lymfomu z pláštěvých buněk [17]. V roce 2021 FDA schválila přípravek Abecma (idecabtagen vicleucel; Ide-cel; bb2121; Bristol Myer Squibb), anti-BCMA CAR-T lymfocyty, pro léčbu mnohočetného myelomu po selhání 3. linie léčby a v únoru 2022 bude projednávat schválení ciltacabtagen autoleucelu (Cilta-cel; JNJ-68284528; Janssen/ Legend Biotech), anti-BCMA CAR-T lymfocytů ve stejné indikaci. Ve vývoji jsou další typy CAR-T lymfocytů namířených proti různým antigenům. V ČR jsou aktuálně (leden 2022) schváleny přípravky Kyriah, Yescarta a Tecartus. V tab. 1 je uvedený seznam klinických, laboratorních a zobrazovacích vyšetření v rámci screeningu pacientů vhodných k terapii CAR-T lymfocyty.

Příprava a aplikace CAR-T lymfocytů

Sběr koncentráту autologních lymfocytů pomocí leukaferézy

Leukaferéza je prvním krokem v přípravě konečného produktu. Slouží ke sběru su-

roviny pro výrobu CAR-T lymfocytů, kterou je koncentrát autologních mononucleárních buněk získávaných z periferní krve pacienta (peripheral blood – mononuclear cells – PBMCs). Tento koncentrát musí obsahovat dostatečný počet T lymfocytů pro výrobu léčivého přípravku. Doporučená hodnota koncentrace lymfocytů v krvi v době leukaferézy je > 0,2×10⁹/l. Při nižší koncentraci lymfocytů v krvi je menší pravděpodobnost výroby kvalitního buněčného koncentráту a naopak, koncentrace lymfocytů v krvi > 0,5×10⁹/l v době sběru významně zvyšuje pravděpodobnost úspěšného sběru a výroby buněčného koncentráту. Kumulativní dávky chemoterapeutik nebo radioterapie nepříznivě ovlivňují kvalitu cirkulujících T lymfocytů. V případě záchranné terapie podané před leukaferézou je proto potřeba počítat s časovým oknem (wash-out perioda), které minimalizuje cytotoxický vliv léčby na cirkulující lymfocyty (tab. 2). Aby byl zajištěn bezpečný proces výroby, každý pacient absolvuje před sběrem sadu laboratorních vyšetření (tab. 1). Plánování

leukaferézy je individuální a závisí na typu CAR-T lymfocytů. Farmaceutická společnost Novartis vyrábí přípravek Kymriah z kryokonzervovaných PBMCs, skládovaných max. 18 měsíců. Leukaferézu lze u části pacientů (primárně refrakterní, časná progresse po 1. linii léčby) provést před podáním 2. linie léčby, a snížit tak riziko nedostatečně výtěžného sběru. Společnost Gilead Sciences vyrábí přípravek Yescarta pouze z čerstvých, nekryokonzervovaných PMBCs. Datum leukaferézy se v případě Yescarty řídí plánovaným datem zahájení výroby CAR-T lymfocytů určeným výrobcem [12].

Bridging terapie

Časové okno mezi leukaferézou a samotným převodem CAR-T lymfocytů se pohybuje mezi 3–4 týdny [20]. V tomto období může část pacientů (zejména s agresivním průběhem nemoci) vyžadovat léčbu. Cílem je udržet kontrolu nad nemocí. Výběr terapeutického režimu závisí na rozsahu onemocnění, senzitivitě na předchozí léčbu a farmakokinetických vlastnostech zvolených protinádorových

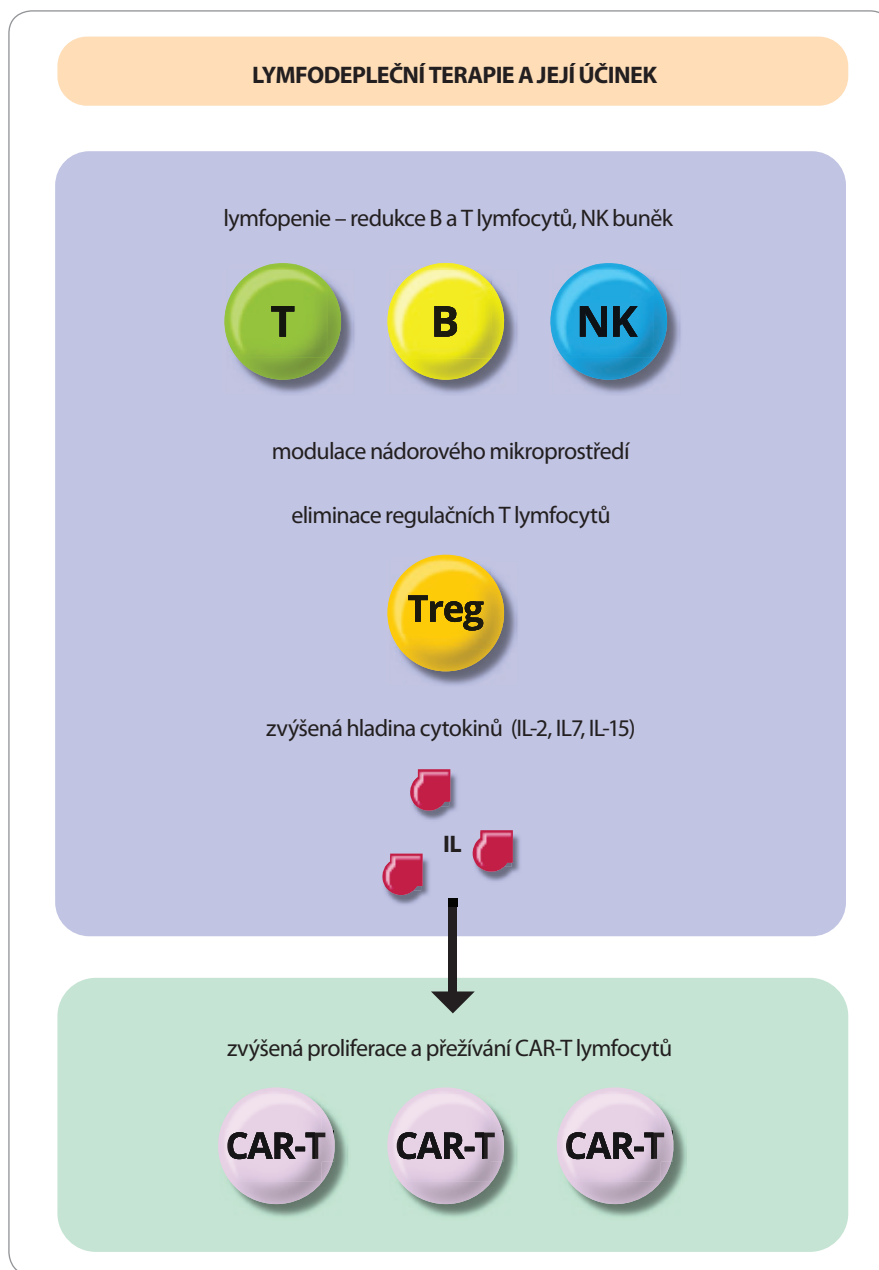
léků. Imunologická či jakákoliv jiná léčba s protražovaným účinkem (alemtuzumab, daratumumab, checkpoint inhibitory, brentuximab vedotin), která by mohla bránit přežívání a množení CAR-T lymfocytů, není vhodná. Vhodné nejsou ani myelosupresivní režimy s vysokým rizikem protražované cytopenie a infekčních komplikací. Mezi léky, které lze použít k bridging terapii, patří rituximab, gemcitabin, oxaliplatin, bendamustin, pixantron, etoposid, prokarbazin, cyklofosfamid, lenalidomid, ibrutinib, kortikoidy (prednison, dexametazon, solumedrol) a radioterapie [12].

Lymfodepleční terapie (conditioning)

Lymfodepleční terapie díky svému komplexnímu účinku vytváří vhodné prostředí pro proliferaci a přežívání CAR-T lymfocytů. Navozuje lymfopenii (redukuje počet B lymfocytů, T lymfocytů i NK buněk), zabíjí nádorové buňky a částečně mění charakter nádorového mikroprostředí [21–23]. Pozitivní vliv na funkci a přežívání transfundovaných CAR-T lymfocytů má potlačení imunosupresivního účinku regulačních T lymfocytů [22,23] a zvýšení hladiny některých cytokinů (IL-2, IL-15, IL-7) (obr. 2) [21–23]. Lymfodepleční terapie se zahajuje 3–5 dnů před převodem CAR-T lymfocytů. Nejčastěji používaným režimem je kombinace fludarabin-cyklofosfamid, alternativní možností je bendamustin, příp. pentostatin či celotělové ozáření. Individuální volba režimu u konkrétního pacienta závisí na dříve absolvované léčbě a dosažené léčebné odpovědi. Conditioning by měli absolvovat všichni nemocní bez ohledu na celkový počet leukocytů a lymfocytů (výjimku povoluje firma Novartis při aplikaci Kymriah – lymfodepleční terapii lze vynechat u pacientů s celkovým počtem leukocytů $\leq 1 \times 10^9/l$ týden před aplikací CAR-T lymfocytů). Lymfodepleční terapii lze opakovat v případě odkladu aplikace CAR-T lymfocytů a nárůstu celkového počtu leukocytů $> 1 \times 10^9/l$. Tab. 1 uvádí minimální rozsah vyšetření před zahájením conditioningu [12].

Přijetí, rozmrazení a převod CAR-T lymfocytů

Buněčný koncentrát CAR-T lymfocytů se uchovává ve vaku s kryoprotektivním



Obr. 2. Lymfodepleční terapie a její účinek.

Cílem lymfodepleční terapie je vytvořit vhodné prostředí pro proliferaci a přežívání transfundovaných CAR-T lymfocytů. Redukuje počet B a T lymfocytů i NK buněk, zabíjí nádorové buňky a částečně mění charakter nádorového mikroprostředí – potlačuje imunosupresivní účinek regulačních T lymfocytů a zvyšuje hladiny některých cytokinů (IL-2, IL-15, IL-7).

roztokem v zamražené formě až do dne převodu. Rozmrazení obvykle probíhá přímo u lůžka pacienta ve vodní lázni při teplotě okolo 37 °C. Po rozmrazení je vak aseptickým způsobem napojen na transfuzní set (transfuzní filtr 50–200 µm) a vlastní podání probíhá formou rychlé infuze nebo pomocí stříkačky (≤ 30 min po rozmrazení) cestou centrálního žil-

ního katetru. Převod CAR-T lymfocytů je ve většině případů dobře tolerovaný. K minimalizaci potenciální akutní reakce na infuzi se 30–60 min před převodem podává premedikace (paracetamol, antihistaminikum a kodein). Profylaktické podávání systémových kortikoidů je kontraindikované z důvodů jejich lymfotoxického účinku [12].

Tab. 3. Doporučení American Society for Transplantation and Cellular Therapy pro hodnocení CRS [13].

Doporučení ASTCT pro hodnocení CRS*

	Stupeň 1	Stupeň 2	Stupeň 3	Stupeň 4
horečka**	≥ 38 °C	≥ 38 °C	≥ 38 °C	≥ 38 °C
s hypotenzí	ne	bez nutnosti vazopresoru	vyžadující vazopresor s/bez vazopresinu	vyžadující kombinaci vazopresorů (kromě vazopresinu)
a/nebo s hypoxií	ne	oxygenoterapie ≤ 6 l/min nosem (kyslíkové brýle)	oxygenoterapie > 6 l/min (kyslíkové brýle, maska)	kontinuální přetlak v dýchacích cestách, neinvazivní plicní ventilace, umělá plicní ventilace, vysokoprůtoková nazální oxygenoterapie

* Stupeň CRS se hodnotí podle nejzávažnějšího příznaku. Teplota se nevyužívá k určení grade CRS u pacientů, kteří dostali antipyretikum, anti-IL-6 terapii nebo kortikoidy. V takovém případě se grade CRS určuje dle tíže hypotenze a/nebo hypoxie.

** tělesná teplota ≥ 38 °C nevztahující se k jiné příčině

CRS – syndrom z uvolněných cytokinů

Nežádoucí účinky terapie CAR-T lymfocyty a sledování

Aplikace a období po podání CAR-T lymfocyty může být doprovázeno specifickou i nespecifickou toxicitou a vyžaduje dlouhodobé sledování [12].

Časné nežádoucí účinky

(den 0 až +100)

Syndrom z uvolněných cytokinů

Syndrom z uvolněných cytokinů (cytokine release syndrom – CRS) je definován jako nadměrná fyziologická reakce organismu na jakoukoliv imunoterapii, která vede k aktivaci endogenních nebo transfundovaných T lymfocytů a/nebo jiných efektorových buněk imunitního systému [13]. Tato vůbec nejčastější komplikace se vyskytuje u 30–100 % (1.–4. stupeň) nemocných po podání CAR-T lymfocytů, přičemž závažný syndrom z uvolněných cytokinů (3.–4. stupeň) je pozorován u 10–30 % pacientů [24]. Medián vzniku prvních příznaků je den +2 až +3 (den +1 až +14, léčba lymfomů a B-ALL) a den +6 až +8 (den +1 až +12, léčba mnohočetného myelomu) po infuzi CAR-T lymfocytů a odeznívá během 1–10 dnů [19,25,26]. Projevy se mohou objevovat postupně, ale od samotného začátku musí být doprovázeny horeč-

kou (≥ 38 °C) s hypotenzí nebo bez ní a/nebo syndromem z kapilárního úniku, který může vést k hypoxii a orgánovému poškození [13]. Příznaky jsou různé, od mírných, podobných chřipce, po život ohrožující stav s multiorgánovým selháním [13,27]. Závažný CRS někdy napodobuje hemofagocytární syndrom (febrilie, vysoká hladina feritinu, multiorgánové poškození) [12]. Terapie závisí na závažnosti CRS. Lehké formy se řeší symptomaticky (hydratace, antipyretika, oxygenoterapie), těžší formy vyžadují specifickou terapii ve formě monoklonálních protilátek proti IL-6 (tocilizumab, siltuximab), příp. komplexní podpůrnou péči (katecholaminová podpora oběhu, neinvazivní nebo invazivní plicní ventilace) na jednotce intenzivní péče a podání kortikoidů. Kortikoidy mohou indukovat apoptózu CAR-T lymfocytů, proto nejsou vhodné u lehčích forem CRS. Hodnocení CRS a algoritmus léčby jsou uvedeny v tab. 3 a 4.

Syndrom neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému

Neurologická toxicita, tj. syndrom neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému (immune

effector cell-associated neurotoxicity syndrome – ICANS), je poškození centrální nervové soustavy způsobené imunoterapií [13]. Jedná se o druhou nejčastější toxicitu, která se objevuje u 21–64 % pacientů (1.–4. stupeň) po podání CAR-T lymfocytů. Závažný průběh ICANS má 12–28 % nemocných [15,16,28]. Medián vzniku prvních neurologických příznaků je den +6 (den +1 až +34) po převodu CAR-T lymfocytů. Ve většině případů neurologické potíže odeznívají do 2–9 dnů, ale mohou se objevit i jako pozdní komplikace [12]. První příznaky ICANS se rozvíjí buď současně s CRS, nebo se objeví až po odeznění CRS. Symptomy se ve většině případů rozvíjí postupně a často jsou nespecifické (bolesti hlavy, třes, svalové záškuby, halucinace) [12]. Mezi více charakteristické projevy patří afázie, poruchy vědomí a kognitivních funkcí, motorická slabost, parciální i generalizované epileptické záchvaty a otok mozku [13]. Rizikovým faktorem pro rozvoj ICANS je preexistující neurologické onemocnění, meningeální poškození nebo předchozí terapie CNS [12]. Závažnost ICANS koreluje s hloubkou lymfopenie, proliferací CAR-T lymfocytů, časným a klinicky závažným CRS (horečka do 36 hodin po po-

Tab. 4. Algoritmus léčby syndromu z uvolněných cytokinů [12].

Stupeň 1	Stupeň 2	Stupeň 3	Stupeň 4
	informovat JIP o zhoršení stavu pacienta		
	vyloučit infekci – hemokultury, kultivace, zobrazovací vyšetření širokospektrá antibiotika symptomatická terapie – hydratace, antipyretika, ... systemové kortikoidy jsou kontraindikovány, výjimkou je život ohrožující stav		
	tocilizumab 8 mg/kg i.v. (max. 800 mg/dávku) a hospitalizace na JIP		
	zhoršování klinického stavu →	dexametazon 10 mg i.v. à 6 hod, 1–3 dny	
		zhoršování klinického stavu →	dexametazon 20 mg i.v. à 6 hod, 3 dny (s postupným snižováním v průběhu 3–7 dnů)
bez zlepšení do 3 dnů a vyloučená jiná etiologie potíží (nejčastěji infekce) ↓	bez zlepšení po 8 hod od podání tocilizumabu ↓ 2. dávka tocilizumabu 8 mg/kg i.v. ↓ bez zlepšení, trvávají známky syndromu z uvolněných cytokinů ↓		
zvážit tocilizumab 8 mg/kg i.v.	3. dávka tocilizumabu 8 mg/kg i.v. (max. 4x) nebo zaměnit za siltuximab 11 mg/kg i.v. 1x denně		
	dexametazon 10 mg à 6 hod i.v., 1–3 dny	dexametazon 20 mg à 6 hod i.v., 1–3 dny	methylprednisolon 1 000 mg/den i.v., 3 dny, postupná redukce 250 mg i.v. à 12 hod, 2 dny, 125 mg i.v. à 12 hod, 2 dny, 60 mg i.v. à 12 hod, 2 dny

dání CAR-T lymfocytů, hemodynamická nestabilita, hypoalbuminemie) [12]. Jakékoliv neurologické potíže po převodu CAR-T lymfocytů se do vyloučení jiné příčiny považují za nežádoucí účinek léčby. K rozeznání prvních příznaků ICANS mohou sloužit změny vědomí, jako je zmatenost a porucha jemné motoriky (psaní) [12]. Denní hodnocení rukopisu může pomoci při časném rozeznání symptomů a je doporučeno alespoň po dobu hospitalizace (prvních 14 dnů). Profylaktická antiepileptická terapie se doporučuje pacientům s pozitivní anamnézou epileptických záchvatů nebo onemocněním CNS. Základem léčby jsou kortikoidy, při současném výskytu ICANS a CRS pak kortikoidy s tocilizumabem [12]. Skórovací systém a algoritmus léčby ICANS jsou uvedeny v tab. 5–7.

Doporučené sledování pacientů s CRS a ICANS

Pravidelné sledování krevního obrazu a biochemie vč. CRP a feritinu je indikováno u všech nemocných s CRS a ICANS nebo s podezřením na tyto komplikace. Monitorování hladiny IL-6 se aktuálně rutinně neprovádí, ale je možné. U febrilních pacientů je potřebné odlišit infekci od CRS (kultivační vyšetření, zobrazovací vyšetření dle kliniky) [12], což může být v praxi často obtížné až nemožné.

Infekce

Infekce jsou třetí nejčastější komplikací terapie CAR-T lymfocytů. Důvodem je protrahovaná neutropenie (30 % nemocných > 30 dnů, 20 % > 90 dnů), lymfopenie a sekundární hypogamaglobulinemie (46 % nemocných, den +90). Deficit

CD19+ B lymfocytů může trvat i několik let po převodu anti-CD19 CAR-T lymfocytů [12,26]. Diferenciálně diagnostické potíže mohou nastat během prvních 2 týdnů, kdy infekci téměř nelze odlišit od CRS. V prvním měsíci jsou nejčastějším etiologickým agens bakterie, méně se objevují virové infekty. Invazivní mykózy jsou vzácné a postihují především pacienty s akutní lymfoblastickou leukémií po alogenní transplantaci kostní dřeně [29]. Od 2. měsíce začínají virové infekce převládat nad bakteriálními. Většinou se jedná o respirační virové infekty (cytomegalovirová (CMV) pneumonie, respirační syncytiální pneumonie), nárůst viremie vyvolané CMV, virem Epstein-Barrové (EBV) a lidským herpes virem-6, ale může se objevit i virová encefalitida. Méně často se vyskytuje

Tab. 5. Doporučení American Society for Transplantation and Cellular Therapy pro hodnocení syndromu neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému [13].

	Stupeň 1	Stupeň 2	Stupeň 3	Stupeň 4
Skóre ICE ¹⁾	7–9	3–6	0–2	0 (neprobudný, nelze vyhodnotit skóre ICE)
Snížená úroveň vědomí ²⁾	spontánně probudný	probudný na oslovení	probudný na taktilní podnět	neprobudný nebo probudný na výrazný nebo opakovaný taktilní podnět, sopor nebo koma
Epileptický záchvat	ne	ne	klinicky vyjádřený fokální nebo generalizovaný záchvat, který rychle odezní, nebo nekonvulzivní status epilepticus na EEG, který odezní po intervenci	život ohrožující dlouhý záchvat (> 5 min) nebo opakované klinicky vyjádřené nebo na EEG zachycené záchvaty bez návratu k normě v mezidobí
Motorické projevy ³⁾	ne	ne	ne	závažné fokální motorické oslabení (hemiparéza nebo paraparéza)
Intrakraniální hypertenze/otok mozku	ne	ne	fokální otok mozku ⁴⁾	difúzní otok mozku, decerebrační nebo dekortikační poloha, obrna VI. hlavového nervu, edém papily, Cushingovo trias

¹⁾ Skóre ICE – skórovací systém hodnotící schopnosti pacienta odpovídat na jednoduché otázky a splnit jednoduché úkony (psát, počítat, pojmenovat předměty, vyhovět výzvě), skóre 0 může být hodnoceno jako stupeň 3 ICANS, když je pacient při vědomí s globální afázií; stupeň 4 ICANS je v případě, že pacient je neprobudný.

²⁾ Snížená úroveň vědomí nevztahující se k jiné příčině.

³⁾ Tremor a myoklonus asociovaný s buněčnou terapií se hodnotí dle obecných terminologických kritérií pro nežádoucí účinky a nemá vliv na hodnocení ICANS.

⁴⁾ Intrakraniální krvácení s/bez souvisejícího otoku není hodnocené jako neurotoxicita a je vyloučené z hodnocení ICANS – hodnotí se dle obecných terminologických kritérií pro nežádoucí účinky.

ICANS – syndrom neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému, ICE – encefalopatie vyvolaná efektorovými buňkami imunitního systému

Tab. 6. Skórovací systém encefalopatie vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému.

Test	Body
Orientace: rok, měsíc, město, nemocnice	4
Pojmenování: schopnost pojmenovat 3 objekty (např. stůl, televize, polštář)	3
Vyhovění výzvě: schopnost splnit jednoduché úkony (např. usmát se, otevřít ústa)	1
Psaní: schopnost napsat jednoduchou větu (např. Jsem rád, že mám svoji rodinu)	1
Pozornost: schopnost odečítat ze 100 po desítkách	1

klostridiová enterokolitida nebo cholangitida [12]. Porucha opsonizace bakterií zvyšuje riziko infekcí opouzdřenými bakteriálními kmeny. Širokospektrá antibiotika jsou v prvních týdnech po podání CAR-T lymfocytů indikována u všech nemocných, u kterých nelze infekci odlišit od CRS. Substituce intravenózních imu-

noglobulinů je doporučována pacientům s hypogamaglobulinemií a recidivujícími infekčními komplikacemi. Subkutánní aplikace imunoglobulinů je alternativou po 6 měsících léčby [12]. Tenofovir je povinnou profylaxií pro pacienty s prodělanou infekcí virové hepatitidy B [30] V tab. 8 je souhrn doporučení European

Society for Blood and Marrow Transplantation týkajících se profylaktické a podpůrné protinfekční terapie (antibiotické, antimykotické a antivirotické).

Syndrom nádorového rozpadu

Syndrom nádorového rozpadu (tumor lysis syndrom – TLS) nepatří mezi typické

Tab. 7. Algoritmus terapie syndromu neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému [12].

Stupeň 1	Stupeň 2	Stupeň 3	Stupeň 4
informovat JIP o zhoršení stavu pacienta, neurologické vyšetření, oční pozadí, EEG, MR/CT mozku (preferenčně MR), u grade ≥ 2 EEG denně do odeznění epileptických záchvatů, oční pozadí denně do vymizení edému papily, MR opakovat dle kliniky, kontrola polykání – při poruše nic <i>per os</i>			
	dexametazon 10 mg i.v. à 6 hod, 1–3 dny	dexametazon 10–20 mg i.v. à 6 hod, 1–3 dny	methylprednisolon 250 mg i.v. à 6 hod, 3 dny, dále redukce 250 mg i.v. à 12 hod, 2 dny, 125 mg i.v. à 12 hod, 2 dny, 60 mg i.v. à 12 hod, 2 dny
		epileptické záchvaty (potvrzené klinicky nebo dle EEG) klonazepam (Rivotril) i.v. 0,015 mg/kg (max. 1 mg) + levetiracetam (Keppra) 500 mg i.v. à 12 hod ↓ trvá nebo se opakuje záchvat ↓ 2. dávka klonazepam i.v. za 5 min ↓ pokud není efekt, dále jako status epilepticus	
		edém papily acetazolamid (Diluran) 1 000 mg p.o. a dále 250–1 000 mg à 12 hod	
		→	otok mozku manitol 0,5–1g/kg i.v., a dále 0,25–1g/kg i.v. à 6 hod, (nedávat při osmolalitě > 320 mmol/kg, elevace hlavy na 30°)

ICANS + CRS ≥ 1 (febrilní pacient) : tocilizumab 8 mg/kg i.v. (max. 800 mg) a postupovat dle algoritmu pro CRS
 CRS – syndrom z uvolněných cytokinů, ICANS – syndrom neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému

nežádoucí účinky CAR-T lymfocytů. Pacienti s vyšším rizikem TLS (velká nádorová masa, zvýšená hladina kyseliny močové) mají v rámci profylaxe dostat alopurinol nebo rasburikázu a intenzivní hydrataci [12].

Reakce štěpu proti hostiteli

Reakce štěpu proti hostiteli je vzácnou komplikací spojenou s infuzí CAR-T lymfocytů. Téměř výhradně se objevuje u pacientů, kteří podstoupili alogenní transplantaci kostní dřeně [12].

Pozdní nežádoucí účinky (od dne +100) a dlouhodobé sledování

O pozdní toxicitě CAR-T lymfocytů zatím není dostatek informací. Část pacientů trpí prolongovanou cytopenií a hypo-

gamaglobulinemií, což může mít za následek vyšší výskyt infekcí. Na teoretické úrovni se diskutuje o riziku sekundárních malignit a neurologických a autoimunitních komplikací. Všichni pacienti, kteří absolvují terapii CAR-T lymfocytů, mají zůstat v dispenzarizaci specialistů alespoň 15 let. Důležité je pravidelné monitorování a vyhodnocování: stavu nemoci (remise, progresse, relaps, zbytková nemoc, smrt), terapeutické strategie v případě progresse/relapsu, infekčních komplikací (vč. CMV, EBV, adenoviru), funkce imunitního systému (hladina imunoglobulinů, buněčné populace, přítomnost CAR-T lymfocytů), sekundárních malignit, autoimunitních onemocnění, funkce endokrinního a reprodukčního systému, neurologických

komplikací (trvání/odeznění následků způsobených ICANS), psychologického stavu pacienta a kvality života, funkce kardiovaskulárního systému (echokardiografie) s intervencí rizikových faktorů metabolického syndromu (kouření, obezita), respirační soustavy, gastrointestinální soustavy [12]. Postavení očkování je v této chvíli nejasné a je třeba k němu přistupovat přísně individuálně (věk, předchozí infekční komplikace, stav buněčné a humorální imunity) [12,31].

Vývoj a budoucnost terapie CAR-T lymfocytů

Výzkum a vývoj léčby v oblasti terapie CAR-T lymfocytů postupuje velmi rychle. Základním rozdílem prvních tří generací CAR-T lymfocytů je počet kos-

Tab. 8. Doporučená profylaktická protiinfekční terapie [12].

Doporučení European Society for Blood and Marrow Transplantation	
GCSF	při APN < 1 od dne +14 (vyhýbat se podání u CRS a ICANS)
IVIG	při IgG < 4g/l
Antibiotika	cotrimoxazol 480 mg tbl à 24 hod od lymfodepleční terapie po dobu 1 roku ciprofloxacín 500 mg tbl à 12 hod zvážit při dlouhodobé neutropenii
Antivirotika	valaciklovir 500 mg tbl à 12 hod nebo aciklovir 800 mg tbl à 12 hod od lymfodepleční terapie po dobu 1 roku tenofovir 300 mg tbl à 24 hod po prodělané infekci virem hepatitidy B od lymfodepleční terapie po dobu 1 roku cave: antivirotika mohou být součástí záchranné terapie sloužící k aktivaci „suicide“ genu, u těchto produktů s CAR-T lymfocyty je třeba ověřit možnost použití antivirotik u výrobce
Antimykotika	flukonazol 200 mg tbl à 12 hod od lymfodepleční terapie do vzestupu APN > 1 posakonazol 300 mg tbl à 24 hod od lymfodepleční terapie do vzestupu APN > 1 (předchozí alogenní transplantace kostní dřeně, invazivní aspergilóza, dlouhodobá léčba kortikoidy)

APN – absolutní počet neutrofilů, CRS – syndrom z uvolněných cytokinů, GCSF – granulocyty stimulující faktor, ICANS syndrom neurotoxicity vyvolané efektorovými buňkami imunitního systému, IVIG – intravenózní imunoglobuliny

timulačních domén intracelulární části, které pomáhají v aktivaci lymfocytu, jeho proliferaci a přežívání. Novější generace mohou v intracelulární části navíc obsahovat např. sebevražedné geny, které lze velmi rychle aktivovat v případě závažných nežádoucích účinků (pomocí antivirotik nebo jiné ne-nádorové terapie) [32]. Jiné typy označované jako TRUCKS (T cells redirected for universal cytokine killing) mají místo sebevražedných genů geny odpovědné za expresi cytokinů (IL-12, IL-18, IL-7, IL-15 a IL-23). Cytokiny se uvolňují po vazbě CAR na cílový antigen a přispívají k aktivaci TRUCKS i jiných buněk imunitního systému (NK buňky, makrofágy) [6]. Bispecifické CAR-T cells (AUTO3 – anti-CD19/22 CAR-T lymfocyty), které rozeznávají dva různé nádorové antigeny, jsou konstruovány za účelem zvýšení efektivity a snížení nádorové rezistence [8]. Z nádorových buněk se pomocí immune checkpoint molekul přenáší inhibiční signály, které mohou spustit předčasnou inaktivaci a apoptózu transfundovaných CAR-T lymfocytů. Aktivaci těchto signalizačních drah lze zabránit několika způsoby. Testují se CAR-T lymfocyty s modifikovaným immune checkpoint receptorem (down-regulace receptoru, switch receptor, dominantně negativní receptor) [33–35] nebo CAR-T lymfocyty, které uvolňují checkpoint inhibitory [36].

Vývoj se posouvá i ve výrobě tzv. univerzálních CAR-T lymfocytů (off-the-shelf CAR-T lymfocyty). Jedná se o alogenní T lymfocyty, které jsou geneticky modifikovány tak, aby neexprimovaly T buněčný receptor a/nebo HLA molekulu I. třídy. Pozměněné T lymfocyty nerozeznávají alogenní antigeny, což zamezuje rozvoji reakce štěpu proti hostiteli a používají se k výrobě univerzálních CAR-T lymfocytů [37,38]. Struktura CAR (SUPRA CAR – split, universal and programmable; BBIR CAR – biotin-binding immune receptor) [39,40] je složitější než u dosud schválených preparátů. Očekává se, že takto konstruované CAR-T lymfocyty budou mít širší uplatnění, budou lépe kontrolovatelné a schopné vázat různé antigeny [39,40]. Terapie je ale teprve v začátcích. Do fáze klinického hodnocení vstoupilo jenom několik konstruktů (CTA101 – univerzální anti-CD19/22 CAR-T lymfocyty; ALLO-715 – univerzální anti-Bcma CAR-T lymfocyty; anti-CD52 ALLO-647 – univerzální anti-CD52 CAR-T lymfocyty [10,11].

Závěr

V současnosti jsou FDA schváleny tři anti-CD19 CAR-T lymfocyty pro léčbu relapsu difuzního velkobuněčného B lymfomu, akutní B-lymfoblastické leukemie a lymfomu z pláštových buněk [14–17]. V roce 2021 byl schválen první přípravek anti-BCMA CAR-T lymfocytů pro

léčbu relapsu mnohočetného myelomu [18,19] a lze předpokládat rozšiřování indikací i u jiných hematologických onemocnění. S rostoucím počtem zkušeností se postupně upravují doporučení pro řešení časných nežádoucích účinků. Aplikace tocilizumabu se posouvá do časnějších stadií CRS [12], dokonce se zkouší jeho profylaktické podání před samotným převodem CAR-T lymfocytů [41]. Kortikoidy zůstávají lékem volby pro izolovanou formu neurologické toxicity [12].

Nové konstrukty CAR-T lymfocytů se vyrábí za účelem zvýšení účinnosti a bezpečnosti léčby. Optimalizuje se struktura kostimulační domény CAR, vyrábí se CAR-T lymfocyty s geny odpovědnými za expresi cytokinů [6], CAR-T lymfocyty se sebevražednými geny [32] nebo CAR-T lymfocyty s univerzálním receptorem – SUPRA CAR [39]. Bispecifické nebo vícespecifické produkty [8], kombinace systémově podávaných checkpoint inhibitorů a CAR-T lymfocytů nebo CAR-T lymfocytů, které samy blokují aktivaci inhibičních signálů [33–36], mají zabránit vzniku časně rezistence na podanou léčbu.

Problémy (časová příprava, koncentrát PBMNCs s nízkým obsahem buněk), které jsou spojené s výrobou autologních produktů, by v budoucnosti mohla odbourat výroba univerzálních CAR-T lymfocytů z alogenních T lymfo-

cytů. Léčba by se pak měla stát dostupnější pro větší skupinu pacientů. Je nesporné, že se tato forma buněčné terapie bude v příštích letech dále vyvíjet. Její definitivní postavení mezi jinými typy imunoterapie bude záviset na účinnosti, cenové dostupnosti i časové náročnosti.

Literatura

- Quesnel B. CAR T-cells: a John von Neumann legacy? *Curr Res Transl Med* 2018; 66(2): 35–36. doi: 10.1016/j.retram.2018.04.002.
- Cartellieri M, Bachmann M, Feldmann A et al. Chimeric antigen receptor-engineered T cells for immunotherapy of cancer. *J Biomed Biotechnol* 2010; 2010: 956304. doi: 10.1155/2010/956304.
- Maus MV, Grupp SA, Porter DL et al. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood* 2014; 123(17): 2625–2635. doi: 10.1182/blood-2013-11-492231.
- Šmída M. Chimeric antigen receptor T-cells – gene therapy of the future for malignant diseases? *Klin Onkol* 2015; 28(Suppl 4): 4S44–4S47. doi: 10.14735/amko20154s44.
- Jena B, Moyes JS, Huls H et al. Driving CAR-based T-cell therapy to success. *Curr Hematol Malig Rep* 2014; 9(1): 50–56. doi: 10.1007/s11899-013-0197-7.
- Chmielewski M, Abken H. TRUCKS, the fourth-generation CAR T cells: current developments and clinical translation. *Adv Cell Gene Ther* 2020; 3(3): e84. doi: 10.1002/acg2.84.
- Kagoya Y, Tanaka S, Guo T et al. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK–STAT signaling domain mediates superior antitumor effects. *Nat Med* 2018; 24(3): 352–359. doi: 10.1038/nm.4478.
- Ramakrishnan A, Ardeshtna KM, Batlevi CL. Phase 1 Alexander study of AUTO3, the first CD19/22 dual targeting CAR T cell therapy, with pembrolizumab in patients with relapsed/refractory (r/r) DLBCL. *J Clin Oncol* 2020; 38 (Suppl 15): 8001. doi: 10.1200/JCO.2020.38.15_suppl.8001.
- Ruella M, Barrett DM, Kenderian SS et al. Dual CD19 and CD123 targeting prevents antigen-loss relapses after CD19-directed immunotherapies. *J Clin Invest* 2016; 126(10): 3814–3826. doi: 10.1172/JCI87366.
- Yongxian H, Zhou Y, Zhang M et al. The safety and efficacy of a CRISPR/Cas9-engineered universal CAR-T cell product (CTA101) in patients with relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2020; 136 (Suppl 1): 52. doi: 10.1182/blood-2020-142262.
- Mailankody S, Matous JV, Liedtke M et al. Universal: an allogeneic first-in-human study of the anti-bcma ALLO-715 and the anti-CD52 ALLO-647 in relapsed/refractory multiple myeloma. *Blood* 2020; 136 (Suppl 1): 24–25. doi: 10.1182/blood-2020-140641.
- Yakoub-Agha I, Chabannon C, Bader P et al. Management of adults and children undergoing chimeric antigen receptor T-cell therapy: best practice recommendations of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the Joint Accreditation Committee of ISCT and EBMT (JACIE). *Haematologica* 2020; 105(2): 297–316. doi: 10.3324/haematol.2019.229781.
- Lee DW, Santomasso BD, Locke FL et al. ASTCT consensus grading for cytokine release syndrome and neurologic toxicity associated with immune effector cells. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(4): 625–638. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.12.758.
- Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS et al. Primary analysis of Juliet: a global, pivotal, phase 2 trial of CTL019 in adult patients with relapsed or refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2017; 130(1): 577–577. doi: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.577.577.
- 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.
- Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2017; 377(26): 2531–2544. doi: 10.1056/NEJMoa1707447.
- Wang M, Munoz J, Goy A et al. KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. *N Engl J Med* 2020; 382(14): 1331–1342. doi: 10.1056/NEJMoa1914347.
- Lin Y, Noopur SR, Berdeja JG et al. Idecabtagene Vicleucel (ide-cel, bb2121), a BCMA-directed CAR T cell therapy, in patients with relapsed and refractory multiple myeloma: updated results from phase 1 CRB-401 study. *Blood* 2020; 136 (Suppl 1): 26–27. doi: 10.1182/blood-2020-134324.
- Berdeja JG, Madduri D, Usmani SZ et al. Ciltacabtagene autoleucel, a B-cell maturation antigen-directed chimeric antigen receptor T-cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma (CARTITUDE-1): a phase 1b/2 open-label study. *Lancet* 2021; 398(10297): 314–324. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00933-8.
- Tyagarajan S, Spencer T, Smith J. Optimizing CAR-T cell manufacturing processes during pivotal clinical trials. *Mol Ther Methods Clin Dev* 2019; 16: 136–144. doi: 10.1016/j.jomtm.2019.11.018.
- Gattinoni L, Finkelstein SE, Klebanoff CA et al. Removal of homeostatic cytokine sinks by lymphodepletion enhances the efficacy of adoptively transferred tumor-specific CD8+ T cells. *J Exp Med* 2005; 202(7): 907–912. doi: 10.1084/jem.20050732.
- Hirayama AV, Gauthier J, Hay KA et al. The response to lymphodepletion impacts PFS in patients with aggressive non-Hodgkin lymphoma treated with CD19 CAR T cells. *Blood* 2019; 133(17): 1876–1887. doi: 10.1182/blood-2018-11-887067.
- Neelapu SS. CAR-T efficacy: is conditioning the key? *Blood* 2019; 133(17): 1799–1800. doi: 10.1182/blood-2019-03-900928.
- Frey N, Porter D. Cytokine release syndrome with chimeric antigen receptor T cell therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2019; 25(4): e123–e127. doi: 10.1016/j.bbmt.2018.12.756.
- Gauthier J, Turtle CJ. Insights into cytokine release syndrome and neurotoxicity after CD19-specific CAR-T cell therapy. *Curr Res Transl Med* 2018; 66(2): 50–52. doi: 10.1016/j.retram.2018.03.003.
- Maude SL, Frey N, Shaw PA et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371(16): 1507–1517. doi: 10.1056/NEJMoa1407222.
- Hay KA, Hanafi L-A, Li D et al. Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy. *Blood* 2017; 130(21): 2295–2306. doi: 10.1182/blood-2017-06-793141.
- 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. doi: 10.1056/NEJMoa1804980.
- Hill JA, Li D, Hay KA et al. Infectious complications of CD19-targeted chimeric antigen receptor-modified T-cell immunotherapy. *Blood* 2018; 131(1): 121–130. doi: 10.1182/blood-2017-07-793760.
- Strati P, Nastoupil LJ, Fayad LE et al. Safety of CAR T-cell therapy in patients with B-cell lymphoma and chronic hepatitis B or C virus infection. *Blood* 2019; 133(26): 2800–2802. doi: 10.1182/blood.2019000888.
- Majhail NS, Rizzo JD, Lee SJ et al. Recommended screening and preventive practices for long-term survivors after hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2012; 18(3): 348–371. doi: 10.1016/j.bbmt.2011.12.519.
- Minagawa K, Al-Obaidi M, Di Stasi A. Generation of suicide gene-modified chimeric antigen receptor-redirected T-cells for cancer immunotherapy. *Methods Mol Biol* 2019; 1895: 57–73. doi: 10.1007/978-1-4939-8922-5_5.
- Cherkassky L, Morello A, Villena-Vargas J et al. Human CAR T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade resist tumor-mediated inhibition. *J Clin Invest* 2016; 126(8): 3130–3144. doi: 10.1172/JCI83092.
- Li S, Siritwon N, Zhang X et al. Enhanced cancer immunotherapy by chimeric antigen receptor-modified T cells engineered to secrete checkpoint inhibitors. *Clin Cancer Res* 2017; 23(22): 6982–6992. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0867.
- Liu X, Ranganathan R, Jiang S et al. A chimeric switch-receptor targeting PD1 augments the efficacy of second generation CAR T-cells in advanced solid tumors. *Cancer Res* 2016; 76(6): 1578–1590. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2524.
- Suarez ER, Chang DK, Sun J et al. Chimeric antigen receptor T cells secreting anti-PD-L1 antibodies more effectively regress renal cell carcinoma in a humanized mouse model. *Oncotarget* 2016; 7(23): 34341–34355. doi: 10.18632/oncotarget.9114.
- Georgiadis C, Preece R, Nickolay L et al. Long terminal repeat CRISPR-CAR-coupled “universal” T cells mediate potent anti-leukemic effects. *Mol Ther* 2018; 26(5): 1215–1227. doi: 10.1016/j.jymthe.2018.02.025.
- Torikai H, Reik A, Liu P-Q et al. A foundation for universal T-cell based immunotherapy: T cells engineered to express a CD19-specific chimeric-antigen-receptor and eliminate expression of endogenous TCR. *Blood* 2012; 119(24): 5697–5705. doi: 10.1182/blood-2012-01-405365.
- Cho JH, Collins JJ, Wong WW. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses. *Cell* 2018; 173(6): 1426–1438.e11. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.038.
- Urbanska K, Lanitis E, Poussin M et al. A universal strategy for adoptive immunotherapy of cancer through use of a novel T-cell antigen receptor. *Cancer Res* 2012; 72(7): 1844–1852. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3890.
- Caimi P, Sharma A, Rojas P et al. CAR-T therapy for lymphoma with prophylactic tocilizumab: decreased rates of severe cytokine release syndrome without excessive neurologic toxicity. *Blood* 2020; 136 (Suppl 1): 30–31. doi: 10.1182/blood-2020-143114.
- Kansagra AJ, Frey NV, Bar M et al. Clinical utilization of chimeric antigen receptor T-cells (CAR-T) in B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL) – an expert opinion from the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the American Society for Blood and Marrow Transplantation (ASBMT). *Bone Marrow Transplant* 2019; 54(11): 1868–1880. doi: 10.1038/s41409-019-0451-2.
- Korell F, Laier S, Sauer S et al. Current challenges in providing good leukapheresis products for manufacturing of CAR-T cells for patients with relapsed/refractory NHL or ALL. *Cells* 2020; 19(5): 1225. doi: 10.3390/cells9051225.