

Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
Studium Kształcenia Podyplomowego

*Immunoterapia CAR-T cells - genetycznie
zmodyfikowane limfocyty T*

Praca pogładowa w ramach specjalizacji z farmacji szpitalnej
mgr farm. Monika Diesner
Opiekun specjalizacji: mgr farm. Karolina Niewodniczańska-Góra

Wrocław 2023

Spis treści

Wstęp.....	3
Jak wygląda leczenie CAR-T.....	3
Budowa receptora CAR	4
Skuteczność terapii CAR-T.....	6
Główne przyczyny niepowodzenia terapii CAR-T.....	7
Działania niepożądane.....	8
Etapy terapii CAR-T.....	9
Pierwsze zarejestrowane produkty.....	13
Produkty CAR- T obecnie zarejestrowane w UE.....	13
Dostępność terapii CAR-T w Polsce.....	16
Granty Agencji Badań Medycznych.....	17
Nowe kierunki badań.....	19
Podsumowanie.....	21
Bibliografia.....	22

Wstęp

Układ odpornościowy (immunologiczny) umożliwia nie tylko obronę organizmu przed infekcjami lecz również zwalczanie komórek nowotworowych. Komórki zmienione nowotworowo zyskują zdolność do tzw. ucieczki spod nadzoru immunologicznego. Wykorzystują one mechanizmy, dzięki którym komórki układu odpornościowego tracą zdolność do ich rozpoznawania i eliminacji.

Immunoterapia CAR-T cells, należy do produktów leczniczych terapii zaawansowanej (ATMP, advanced therapy medicinal product) i polega na modyfikacji genetycznej komórek układu odpornościowego - limfocytów T, by były w stanie rozpoznać komórki nowotworowe, przyłączyć się do nich, a następnie zniszczyć.

Początkowo stosowanie terapii CAR-T było ograniczone do niewielkich badań klinicznych, głównie obejmujących pacjentów z zaawansowanymi nowotworami hematologicznymi. Jednak spektakularne efekty leczenia tych chorych, w szczególności z oporną lub nawrotową postacią nowotworu, u których wykorzystano już wszystkie standardowe schematy leczenia, ustanowiły punkt zwrotny w postępowaniu klinicznym, zapoczątkowując tym samym nowy obszar leczenia przeciwnowotworowego.

Terapia genowa CAR-T cells uznawana jest za przyszłość w leczeniu wielu typów nowotworów i jest obecnie, najbardziej zaawansowanym i dynamicznie rozwijającym się obszarem immunoterapii.

Jak wygląda leczenie CAR-T

Mechanizm działania immunoterapii CAR-T jest wyjątkowo interesujący. Terapia ta bazuje na własnych limfocytach T pacjenta onkologicznego. W certyfikowanych ośrodkach z krwi pacjenta chorego na daną chorobę (zwłaszcza chłoniaki i inne nowotwory hematologiczne) w procesie leukaferazy pobiera się limfocyty T, następnie wysyła do specjalistycznego laboratorium, gdzie metodami inżynierii genetycznej, wprowadza się do nich za pomocą dezaktywowanego wektora wirusowego, gen kodujący na ich powierzchni, chimeryczne receptory antygenowe (CAR, chimeric antigen receptors).

Nowo utworzone komórki CAR-T, są namnażane do klinicznie istotnych wartości, testowane pod kątem jakości i zamrażane w parach ciekłego azotu. W takiej postaci są transportowane z powrotem do ośrodka leczenia i podczas jednorazowej infuzji dożylniej zostają podane choremu od którego były pobrane. Otrzymane w ten sposób zmodyfikowane limfocyty CAR-T przeznaczone są wyłącznie do użytku autologicznego.

W organizmie pacjenta, receptory CAR pozwalają limfocytom T rozpoznawać i łączyć się z określonym antygenem, ulegającym ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych, (obecnie najlepiej zbadana oraz najszerzej stosowana jest terapia CAR-T wykorzystująca limfocyty T skierowane przeciwko antygenowi CD19). Wiązanie się receptora CAR z antygenem indukuje aktywację i proliferację limfocytów CAR-T, uwalnianie cytokin prozapalnych i cytotoksyczne uśmiercanie komórek nowotworowych oraz rozprzestrzenianie i utrzymywanie się limfocytów CAR-T w krwiobiegu pacjenta.

Ponadto rozpoznanie docelowego antygeny przez limfocyty CAR-T, prowadzi do ich aktywacji bez wcześniejszego prezentowania antygenów limfocytom T za pośrednictwem białek głównego układu zgodności tkankowej (MHC, major histocompatibility complex).

W obecnie zarejestrowanych preparatach CAR-T wykorzystuje się limfocyty T skierowane przeciwko antygenowi CD19 lub BCMA.

Zaprojektowanie odpowiednich komórek CAR-T wymaga znajomości antygenów specyficznych dla danych typów komórek. Do tej pory najlepiej zbadanym i najszerzej stosowanym jest CAR anti-CD19, rozpoznający antygen CD19 występujący na powierzchni komórek nowotworowych wywodzących się z limfocytów B. Zaletą CD19 w terapii celowanej jest ograniczone występowanie tej cząsteczki do limfocytów B i nowotworów wywodzących się z tych komórek. Terapia CAR-T wykorzystująca limfocyty T skierowane przeciwko antygenowi CD19 okazała się skuteczna w leczeniu nowotworów takich jak np. ostra białaczka limfoblastyczna z komórek B (B-cell ALL, B-cell acute lymphoblastic leukemia), chłoniak rozlany z dużych komórek B (DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma) czy pierwotny chłoniak śródpiersia (PMBCL, primary mediastinal large B-cell lymphoma). Wydawało się, że komórki szpiczaka mnogiego (MM, multiple myeloma), wywodzące się również z limfocytów B, będą podatne na leczenie komórkami CAR-T skierowanymi przeciwko antygenowi CD19. Jednak w przypadku tego nowotworu praktycznie nie dochodzi do ekspresji glikoproteiny CD19, a badania pokazały, że komórki CAR anti-CD19 dają praktycznie nikłe efekty. W walce ze szpiczakiem mnogim skutecznym celem terapeutycznym okazał się antygen specyficzny dla dojrzewających limfocytów B (BCMA, B cell maturation antygen).

Budowa receptora CAR

Chimeryczny receptor antygenowy (CAR, chimeric antygen receptor) to genetycznie modyfikowane białko receptorowe, składające się z zewnątrzkomórkowej domeny rozpoznającej antygen, domeny rozdzielającej (zawias lub element dystansowy), domeny transbłonowej oraz wewnątrzkomórkowych domen przekazujących sygnały aktywujące do wnętrza komórki. (ryc.1)

antigen-recognition domain - domena rozpoznająca antygen (część zewnątrzkomórkowa), którą tworzy najczęściej jednołańcuchowy fragment zmienny przeciwciała (scFv, a single-chain variable fragment) rozpoznaje i wiąże docelowy antygen komórkowy

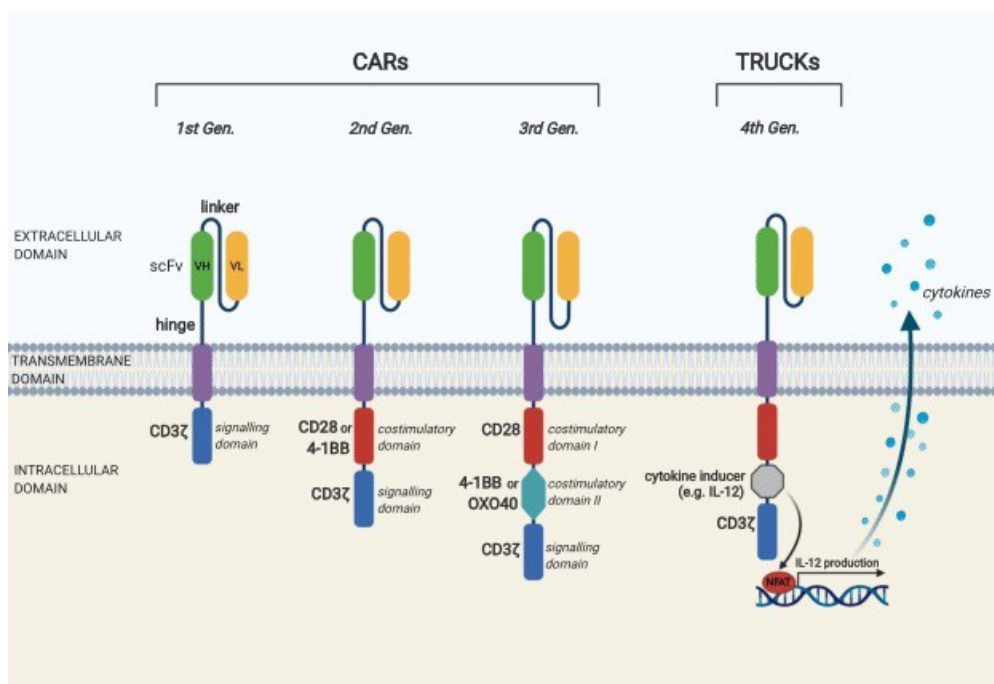
hinge - zawias lub element dystansowy, jest przeznaczony do łączenia scFv z domeną transbłonową

transmembrane domain - domena transbłonowa przekazuje sygnały rozpoznawania ligandów do domen(-y) wewnątrzkomórkowej(-ych)

signalling domain / activation domain - domena sygnałowa/aktywacyjna (część wewnątrzkomórkowa) (np. CD3 zeta) stymulująca proliferację komórek T, cytolizę i wydzielanie cytokin w celu wyeliminowania komórki docelowej ma krytyczne znaczenie dla rozpoczęcia aktywacji limfocytów T i aktywności przeciwnowotworowej

costimulatory domain - domena kostymulująca/kostymulacyjna (część wewnątrzkomórkowa) (np. CD28 lub 4-1BB) (nie ma jej w CAR pierwszej generacji) wzmacnia ciągłą proliferację komórek, nasila rozprzestrzenianie i utrzymywanie się limfocytów CAR-T w krwiobiegu pacjenta

Rycina 1



Źródło: Kathrine Rallis, Christopher Hillyar, Michail Sideris, Jeff Davies
„T-cell-based Immunotherapies for Haematological Cancers, Part B: A SWOT Analysis of Adoptive Cell Therapies”

Wyróżnia się co najmniej cztery generacje CAR-T

I generacja

Pierwszą generację charakteryzuje pojedyncza domena sygnalizacyjna, najczęściej jest to domena CD3 zeta. Limfocyty CAR-T pierwszej generacji wykazywały aktywność *in vitro*, przy braku skuteczności *in vivo*.

II generacja

CAR drugiej generacji, może generować podwójne sygnały poprzez domenę sygnałową CD3 zeta i domenę kostymulującą (np. CD28 lub 4-1BB)

W przypadku drugiej generacji receptorów stwierdzono skuteczność kliniczną i stałość działania. Komórki CAR-T drugiej generacji najlepiej przebadano i są wykorzystywane, w zarejestrowanych produktach leczniczych.

III generacja

W celu wzmocnienia potencjału przeciwnowotworowego do receptora trzeciej generacji dodano kolejne cząsteczki kostymulujące (np. CD28, 4-1BB lub OX40).

Wyniki badań są niejednoznaczne pod względem bezpieczeństwa i skuteczności terapii z powodu nadmiernego wydzielania cytokin.

W związku z tym limfocyty CAR-T trzeciej generacji nadal podlegają modyfikacjom.

IV generacja

Czwarta generacja to zróżnicowana grupa, obejmująca na przykład komórki T typu TRUCK (T cells redirected for universal cytokine killing). CAR czwartej generacji zawierają dodatkową domenę transdukcji, obejmującą jądrowy czynnik aktywowanych komórek T (NFAT, nuclear factor of activated T cells) czynnik transkrypcyjny indukujący produkcję interleukiny 12 (IL-12).

Rodzaje domen wewnątrzkomórkowych w CAR drugiej generacji dla przykładowych leków

Lek	receptor skierowany przeciwko antygenowi	domena kostymulująca / domena kostymulacyjna	domena sygnałowa / domena aktywacyjna
Kymriah (tisagenlecleucel)	CD19	4-1BB (CD137)	CD3 zeta
Yescarta (akcykabtagen cyloleucel)	CD19	CD28	CD3 zeta
Tecartus (brexucabtagen autoleucel)	CD19	CD28	CD3 zeta
Breyanzi (lizokaptagen maraleucel)	CD19	4-1BB (CD137)	CD3 zeta
Abecma (idekabtagen wikleucel)	BCMA	4-1BB	CD3 zeta
Carvykti (ciltakabtagen autoleucel)	BCMA	4-1BB	CD3 zeta

Skuteczność terapii CAR-T

Skuteczności terapii CAR-T wykazano w badaniach klinicznych z udziałem pacjentów, z oporną lub nawrotową postacią nowotworu, u których wykorzystano już wszystkie standardowe schematy leczenia. W przypadku takich pacjentów rokowania są bardzo niekorzystne mimo to metoda wykazała dużą skuteczność, umożliwiła kontrolę nad progresją nowotworu lub uzyskanie długotrwałych remisji, co stale znajduje potwierdzenie w praktyce klinicznej.

Wyniki pierwszych rejestracyjnych badań klinicznych:

W badaniu klinicznym ELIANA nad Kymriah (tisagenlecleucel) w leczeniu dzieci i młodych dorosłych (do 25. rż.) z nawrotową lub oporną na leczenie ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) z komórek B, odpowiedź na leczenie - całkowity wskaźnik remisji (ORR, overall remission rate) uzyskano u 81,3% pacjentów. 60% pacjentów uzyskało całkowitą remisję (CR, complete response). Prawdopodobieństwo 12-miesięcznego czasu przeżycia wśród wszystkich pacjentów (OS, overall survival) wyniosło 76,4%.

W badaniu JULIET nad Kymriah (tisagenlecleucel) w leczeniu DLBCL (chłoniak rozlany z dużych komórek B) odpowiedź na leczenie - całkowity wskaźnik remisji (ORR, overall remission rate) uzyskano u 51,6% pacjentów. 39,8% pacjentów uzyskało całkowitą remisję (CR, complete response). Prawdopodobieństwo 12-miesięcznego czasu przeżycia (OS, overall survival) wyniosło 49% wśród wszystkich pacjentów i 90% u pacjentów z całkowitą odpowiedzią.

W badaniu klinicznym nad skutecznością Yescarta (axicabtagene ciloleucel) (badanie ZUMA-1) odpowiedź na leczenie - całkowity wskaźnik remisji (ORR, overall remission rate) uzyskało 82% pacjentów chorujących na DLBCL lub PMBCL (pierwotny chłoniak śródpiersia). 54% pacjentów uzyskało całkowitą remisję (CR, complete response). Całkowite przeżycie (OS, overall survival) po 2 latach wyniosło 50,5%, a po 5 latach 42,6%. Podobnie jak w przypadku badania nad Kymriah, pacjenci u których wystąpiła całkowita odpowiedź na leczenie wykazywali dłuższy czas wolny od progresji choroby.

Cały czas prowadzone są dalsze badania, mające na celu ocenę długofalowej skuteczności terapii.

Główne przyczyny niepowodzenia terapii CAR-T

Główne przyczyny niepowodzenia terapii CAR-T związane są z opornością i nawrotami.

Pomimo niezwykle obiecujących wyników, jak również pozytywnej odpowiedzi na terapię u pacjentów z opornymi, nawracającymi nowotworami, nadal pozostaje pewna grupa chorych, u których nie obserwuje się odpowiedzi na zastosowaną terapię.

Wyniki badań klinicznych wskazują również, że u części pacjentów dochodzi do nawrotu choroby, po wcześniejszej pozytywnej odpowiedzi na podanie komórek CAR-T. Najczęstszymi przyczynami nawrotu choroby jest utrata docelowego antygeny na komórce nowotworowej (nawet do 60% nawrotów białaczek po terapii komórkami CAR-T anty-CD19), oraz tzw. wyczerpanie limfocytów T.

Utrata docelowego antygeny

Jako mechanizm utraty antygeny wskazuje się obecnie kilka zjawisk. Jednym z nich jest alternatywny splicing (alternatywne składanie genów), w wyniku którego dochodzi do powstawania takich wariantów antygeny, które nie zawierają epitopu wcześniej rozpoznawanego przez komórkę CAR-T. W przypadku genu kodującego na powierzchni komórki nowotworowej antygen CD19, w procesie tym dochodzi do łączenia eksonów (sekwencji kodujących) z pre-mRNA z pominięciem eksonu 2 co skutkuje utratą epitopu antygeny CD19 rozpoznawanego przez limfocyty CAR-T anty-CD19.

Innym zbadanym i niezwykle ciekawym zjawiskiem jest tzw. cell lineage switch, „zmiana linii” gdy po zastosowaniu terapii CAR-T anty-CD19 u pacjentów z białaczką limfoblastyczną z komórek B (B-ALL CD19+) następuje nawrót choroby w postaci ostrej białaczki szpikowej (AML CD19-) wraz z obserwowaną zmianą fenotypu białaczkowego z limfoidalnego na szpikowy.

Kolejnym z często występujących zjawisk odpowiedzialnych za brak skuteczności CAR-T jest obniżenie ekspresji antygeny w takim stopniu, który uniemożliwia zainicjowanie funkcji litycznej przez limfocyt CAR-T. Co interesujące, działanie CAR-T jest regulowane nie tylko przez gęstość antygeny na docelowych komórkach nowotworowych, lecz także przez samą gęstość CAR na zmodyfikowanych limfocytach T.

Wyczerpanie limfocytów T

Drugim z najczęściej wymienianych mechanizmów odpowiedzialnych za nieskuteczność terapii CAR-T jest tzw. wyczerpanie limfocytów T. Pojęcie „wyczerpania” (T-cells exhaustion) odnosi się do stanu dysfunkcji charakteryzującego się ograniczeniem funkcji efektorowej w postaci utraty funkcji cytotoksycznych i szczególnie zwiększoną ekspresją receptorów hamujących odpowiedź immunologiczną, tzw. immunologicznych punktów kontrolnych. Wyczerpanie po przewlekłej ekspozycji na antygen zwykle wywołane jest przez przewlekłą stymulację, np. w nowotworach. Cechą charakterystyczną takich „wyczerpanych” limfocytów jest ich upośledzona zdolność do proliferacji po zetknięciu się z antygenem. Mechanizmy wyczerpania komórek CAR-T wciąż nie są dobrze poznane.

Działania niepożądane

Podobnie do wszystkich terapii przeciwnowotworowych metoda CAR-T niesie za sobą ryzyko niepokojących, a czasem śmiertelnych działań niepożądanych. Spośród nich najczęstsze i najpoważniejsze za razem są zespół uwalniania cytokin (CRS, cytokine release syndrome) oraz neurotoksyczność w tym ciężkie neurologiczne działania niepożądane, znane również jako zespół neurotoksyczności związanej z komórkami efektorowymi układu odpornościowego (ICANS, immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome). Inne działania niepożądane to: reakcje alergiczne w tym ostra reakcja anafilaktyczna, hipogammaglobulinemia, zakażenia, gorączka neutropeniczna, przedłużająca się cytopenia oraz zespół rozpadu guza (TLS, tumour lysis syndrome).

Istotne jest ścisłe monitorowanie stanu pacjenta pod kątem działań niepożądanych. Opracowane zostały algorytmy postępowania w zależności od skali nasilenia CRS i toksyczności neurologicznej, ułatwiające rozpoznanie tych powikłań i wdrożenie odpowiedniego leczenia.

Zespół uwalniania cytokin

Zespół uwalniania cytokin obserwowany jest często, rozwija się najczęściej w okresie od 1 do 10 dnia od podania leku. Późno występujący CRS jest rzadki. Objawami zespołu uwalniania cytokin mogą być: wysoka gorączka, dreszcze, ból mięśni, ból stawów, nudności, wymioty, biegunka, wzmożona potliwość, wysypka, brak łaknienia, uczucie zmęczenia, ból głowy, hipotensja, encefalopatia, duszność, przyspieszony oddech oraz niedotlenienie narządów i tkanek. Ponadto niewydolność serca i arytmia oraz niewydolność nerek. Konsekwencją zespołu uwalniania cytokin mogą być zespół rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC, disseminated intravascular coagulation), zespół przesiąkania włośniczek (CLS, capillary leak syndrome) oraz zespół hemofagocytarny/zespół aktywacji makrofaga (HLH/MAS, haemophagocytic lymphohistiocytosis/macrophage activation syndrome).

W zespole uwalniania cytokin o nasileniu umiarkowanym lub ciężkim stosuje się terapię opartą na lekach anti-IL-6, takich jak tocilizumab. Ośrodek stosujący terapię CAR-T musi dysponować sprzętem ratunkowym niezbędnym do leczenia nagłych przypadków i minimum czterema dawkami tocilizumabu dla każdego pacjenta do zastosowania w przypadku wystąpienia CRS. Kortykosteroidy mogą być podawane jedynie w nagłych, zagrażających życiu przypadkach.

Neurotoksyczność

Podczas stosowania terapii CAR-T często występują neurologiczne działania niepożądane, szczególnie encefalopatia, stany splątania lub stan majaczeniowy i mogą one być ciężkie lub zagrażać życiu (ICANS). Inne objawy to: napady drgawkowe, afazja i zaburzenia mowy. Większość zdarzeń neurologicznych występuje w ciągu 8 tygodni po infuzji produktu leczniczego i są one przemijające. Objawy neurologiczne mogą nakładać się z objawami zespołu CRS.

Zakażenia

Terapia CAR-T wiąże się z obniżeniem odporności wynikającym w szczególności z leczenia limfodeplecyjnego oraz poterapeutycznej aplazji limfocytów B. Wpływa to na możliwość wystąpienia poważnych zakażeń, w tym zakażeń zagrażających życiu. Przed i w trakcie terapii pacjentów należy monitorować pod kątem przedmiotowych i podmiotowych objawów zakażenia oraz wdrożyć odpowiednią profilaktykę i leczenie. Pacjenci z czynnym, nieopanowanym zakażeniem nie powinni rozpoczynać leczenia produktem do czasu ustąpienia zakażenia.

Hipogammaglobulinemia

Limfocyty T wyposażone w receptory CAR skierowane przeciwko antygenowi C-19 mogą rozpoznawać i zabijać oprócz komórek nowotworowych również zdrowe limfocyty B odpowiadające za produkcję immunoglobulin. U pacjentów może wystąpić aplazja limfocytów B, prowadząca do hipogammaglobulinemii. Ze względu na możliwość wystąpienia hipogammaglobulinemii stężenie immunoglobulin powinno być monitorowane. U pacjentów z niskim stężeniem immunoglobulin należy stosować leczenie substytucyjne immunoglobulinami.

Przedłużająca się cytopenia

Odnotowano bardzo częste występowanie przedłużającej przez kilka tygodni się cytopenii, w tym małopłytkowość, neutropenię i niedokrwistość. Po infuzji preparatu CAR-T należy monitorować wyniki badań morfologii krwi pacjenta.

Etapy terapii CAR-T

W terapii CAR-T można wyróżnić następujące etapy:

- Kwalifikacja pacjenta do terapii CAR-T
- Leukafereza
- Zamrożenie pobranych komórek w Banku Komórek Krwiotwórczych
- Chemioterapia pomostowa - w trakcie oczekiwania na wytworzenie i przesłanie gotowego preparatu CAR-T
- Przekazanie komórek do specjalistycznego laboratorium - produkcja preparatu CAR-T

- Zamrożenie i transport gotowego produktu CAR-T do ośrodka leczenia
- Przechowywanie odebranego produktu w Aptece Szpitalnej
- Chemioterapia limfodeplecyjna
- Premedykacja przed infuzją
- Rozmrożenie komórek CAR-T
- Infuzja rozmrożonego preparatu
- Hospitalizacja

Kwalifikacja pacjenta do terapii CAR-T

Kwalifikacja pacjenta do terapii CAR-T odbywa się w certyfikowanym ośrodku i polega na weryfikacji kryteriów włączenia i przeciwwskazań. Przebiega ona na podstawie analizy wyników badań wymaganych do kwalifikacji oraz rozmowy z pacjentem. Warunkiem koniecznym są np. ujemne wyniki badań markerów zakaźnych u pacjenta (badania HBV, HCV i HIV). Opóźnienie kwalifikacji może skutkować brakiem możliwości wykonania skutecznej leukaferozy.

Leukaferoza

Leukaferoza polega na pobraniu leukocytów z krwi pacjenta przy pomocy separatora komórkowego. Bardzo istotne jest pozyskanie odpowiedniej ilości limfocytów T, które mogą być poddane modyfikacji genetycznej w celu utworzenia limfocytów CAR-T. Zaleca się jak najszybsze wykonanie leukaferozy, w późniejszym okresie ze względu na dynamikę choroby oraz prowadzone intensywne leczenie, skuteczna leukaferoza na potrzeby procesu produkcyjnego CAR-T może się okazać niemożliwa.

Działanie niektórych chemioterapeutyków może negatywnie wpływać na ilość i jakość limfocytów, uniemożliwiając pobranie odpowiedniej ilości komórek do wyprodukowania CAR-T cells. Planując leukaferozę należy uwzględnić okres wypłukiwania tych leków z organizmu pacjenta. Okres potrzebny do wypłukania leku jest specyficzny dla danego preparatu - generalnie przyjmuje się że, jest to okres równy 5 czasom półtrwania leku w organizmie.

W przypadku pacjentów u których zastosowano przeszczepienie allogenicznych komórek krwiotwórczych, zalecany minimalny okres pomiędzy przeszczepieniem a leukaferozą wynosi 12 tygodni.

Leukaferozy nie należy wykonywać w przypadku aktywnej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (GVHD, Graft-Versus-Host Disease).

Zamrożenie pobranych komórek

Pobrane w procesie leukaferozy limfocyty T są przekazywane do Banku Komórek Krwiotwórczych, gdzie są zamrażane w parach ciekłego azotu i skąd są wysyłane do specjalistycznego laboratorium. Zamrożony materiał z aferozy może być przechowywany i wykorzystany do 30 miesięcy przed uruchomieniem produkcji CAR-T, jednak „zapobiegawcze” pobieranie limfocytów nie jest działaniem rutynowym.

Chemioterapia pomostowa

Ze względu na czas potrzebny na wytworzenie i przekazanie produktu leczniczego zawierającego limfocyty CAR-T, często zachodzi konieczność zastosowania chemioterapii pomostowej, by zapobiec gwałtownemu pogorszeniu się stanu pacjenta w trakcie kilkutygodniowej przerwy między leukaferazą a infuzją komórek CAR-T. Ma ona również na celu zmniejszenie ilości komórek nowotworowych w organizmie, gdyż duża aktywność choroby ujemnie koreluje ze skutecznością terapii CAR-T i może przyczyniać się do większego ryzyka wystąpienia powikłań, w szczególności - zespołu uwalniania cytokin (CRS, cytokine release syndrome).

Produkcja preparatu CAR-T

W specjalistycznym laboratorium, metodami inżynierii genetycznej, do genomu limfocytów T, za pomocą dezaktywowanego wektora wirusowego zostaje wprowadzony, gen kodujący na ich powierzchni, chimeryczne receptory antygenowe (CAR, chimeric antigen receptors). Najczęściej stosowane są techniki wirusowe, wykorzystujące retrowirusy lub lentiwirusy, które umożliwiają uzyskanie trwałego transgenu kodującego ekspresję CAR. Zapewniają one stabilną integrację z genomem limfocytów T i ich komórkami potomnymi, utworzonymi przez podział komórkowy. Nowo utworzone komórki CAR-T, są namnażane do klinicznie istotnych wartości, testowane pod kątem jakości i zamrażane w parach ciekłego azotu.

Przykładowo preparat Kymriah to 1 lub więcej worków infuzyjnych zawierających łącznie $1,2 \times 10^6$ do 6×10^8 żywotnych limfocytów T posiadających receptor CAR.

Informacja o liczbie żywotnych limfocytów T posiadających receptor CAR/ml i całkowitej liczbie komórek zawartej w danym produkcie jest podana w dokumentacji przygotowanej dla danej serii dołączonej do produktu.

Wytworzenie i przekazanie produktu leczniczego, zawierającego zmodyfikowane limfocyty CAR-T trwa zazwyczaj kilkanaście do kilkudziesięciu dni.

Przechowywanie i transport

Każdy worek infuzyjny z preparatem CAR-T jest umieszczony w aluminiowej kasecie, następnie w szczelnej kopercie ochronnej. Tak opakowany produkt, należy transportować i przechowywać w zbiorniku do przechowywania kriogenicznego, w parach ciekłego azotu (np. w temperaturze poniżej -120°C Kymriah, poniżej -150°C Yescarta). Nadzór nad przyjmowaniem, przechowywaniem i wydawaniem produktu oraz zarządzanie nim w oddziale szpitalnym należy do zadań zawodowych farmaceutów, pracowników Apteki Szpitalnej. Ośrodki stosujące terapię CAR-T muszą być wyposażone w zbiorniki kriogeniczne do przechowywania tych preparatów stale monitorowane pod względem temperatury i poziomu azotu.

Zamrożony produkt zachowuje trwałość w warunkach fazy gazowej ciekłego azotu zgodnie ze wskazaniami producenta (np. 9 miesięcy Kymriah, 1 rok Yescarta) i musi pozostawać zamrożony do momentu, gdy pacjent będzie gotowy do rozpoczęcia leczenia.

Na terenie placówki, produkt musi być transportowany w zamkniętych, odpornych na uszkodzenia, szczelnych pojemnikach.

Chemioterapia limfodeplecyjna - kondycjonowanie przed leczeniem

Kolejnym etapem poprzedzającym podanie choremu immunoterapii CAR-T jest chemioterapia limfodeplecyjna - polegająca na zastosowaniu tradycyjnej chemioterapii, w celu zredukowania liczby limfocytów T występujących w organizmie pacjenta. Ma to na celu zapobieganie odrzuceniu

zmodyfikowanych limfocytów CAR-T przez układ odpornościowy pacjenta oraz zwiększenie skuteczności ich działania.

Schemat chemioterapii limfodeplecyjnej jest ściśle określony, w zależności od podawanego preparatu i wskazania.

Na przykład w przypadku produktu leczniczego Kymriah zgodnie ze schematem, stosuje się dożylnie fludarabinę i cyklofosfamid. Jeśli u pacjenta nie można zastosować cyklofosfamidu, należy podać dożylnie cytarabinę i etopozyd - w ALL lub bendamustynę - w DLBCL. W przypadku produktu leczniczego Kymriah chemioterapię limfodeplecyjną można pominąć, jeśli liczba białych krwinek u pacjenta wynosi $\leq 1\ 000$ komórek/ μl w czasie 1 tygodnia poprzedzającego infuzję produktu.

Premedykacja

Aby zminimalizować potencjalne ostre reakcje związane min. z obecnością środków konserwujących w preparacie, na około 30-60 min. przed infuzją zaleca się zastosowanie u pacjentów premedykacji paracetamolem i difenhydraminą lub innym lekiem przeciwhistaminowym H1. Nie należy stosować kortykosteroidów (ponieważ mogą one wpływać na aktywność produktu), z wyjątkiem stosowania ich w celu leczenia zespołu uwalniania cytokin (CRS, cytokine release syndrome), toksyczności neurologicznych oraz w innych stanów nagłego zagrożenia życia.

Rozmrażanie

Rozmrażanie produktu można rozpocząć dopiero po potwierdzeniu, że pacjent jest przygotowany do infuzji.

Produkt należy rozmrażać w temperaturze 37°C w kąpielii wodnej lub metodą suchego rozmrażania do momentu, gdy w worku infuzyjnym nie będzie widocznego lodu.

W zależności od preparatu jedna dawka do indywidualnego leczenia zawiera zwykle 1 worek (np. Yescarta) albo 1 lub większą liczbę worków infuzyjnych (np. Kymriah). Jeśli do podania zalecanej dawki pacjent otrzymuje więcej niż jeden worek infuzyjny, drugiego worka nie należy rozmrażać do czasu podania w infuzji zawartości poprzedniego worka. Przed rozmrożeniem worek infuzyjny należy ocenić pod kątem wszelkich przecięć lub pęknięć. Jeśli worek infuzyjny wydaje się uszkodzony należy go wyrzucić zgodnie z lokalnie obowiązującymi procedurami bezpieczeństwa dotyczącymi leków biologicznych. Nie wolno ponownie zamrażać rozmrożonego produktu.

Infuzja

Produkt leczniczy jest przeznaczony wyłącznie do podawania w drodze infuzji dożylniej. Przed infuzją produktu leczniczego należy koniecznie potwierdzić, że tożsamość pacjenta jest zgodna z danymi identyfikacyjnymi pacjenta zamieszczonymi na worku (workach) infuzyjnym z produktem. Produkt leczniczy, zawierający limfocyty CAR-T otrzymane z limfocytów T danego chorego, jest przeznaczony wyłącznie do użytku autologicznego i w żadnym wypadku nie może być podawany innym pacjentom.

Produkt należy podać natychmiast po rozmrożeniu. Rozmrożony produkt należy przechowywać w temperaturze pokojowej (od 20°C do 25°C) i podać w infuzji w ciągu 30 minut, co pozwoli zachować maksymalną żywotność produktu. W czas ten wliczają się wszelkie przerwy w infuzji.

Przed infuzją należy upewnić się, że ośrodek dysponuje sprzętem ratunkowym niezbędnym do leczenia nagłych przypadków i minimum czterema dawkami tocilizumabu dla każdego pacjenta do zastosowania w przypadku wystąpienia zespołu uwalniania cytokin CRS.

Monitorowanie pacjenta po infuzji

Minimalny czas hospitalizacji po podaniu preparatu CAR-T to 10 dni, zazwyczaj jednak jest dłuższy - około 2 tygodnie. W tym czasie pacjentów należy całodobowo monitorować, pod kątem przedmiotowych i podmiotowych objawów potencjalnego zespołu uwalniania cytokin CRS, zdarzeń neurologicznych i innych działań toksycznych. W przypadku wystąpienia powikłań, pacjent pozostaje w ośrodku do czasu ustąpienia objawów. Przez co najmniej 4 tygodnie po infuzji pacjent powinien przebywać w pobliżu certyfikowanego ośrodka, do dwóch godzin podróży, aby w razie wystąpienia późnych powikłań mógł szybko być poddany leczeniu.

Pierwsze zarejestrowane produkty

W 2017 roku terapię CAR-T zatwierdziła amerykańska Agencja ds. Żywności i Leków (FDA, Food and Drug Administration) w leczeniu dzieci z ostrą białaczką limfoblastyczną z komórek B (B-cell ALL, B-cell acute lymphoblastic leukemia) oraz dorosłych z zaawansowaną postacią chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma).

W wieloośrodkowych badaniach klinicznych wykazano możliwość uzyskania długotrwałej remisji u pacjentów z DLBCL oraz ALL z komórek B, leczonych limfocytami CAR-T anty-CD19 w przypadku braku skutecznych innych opcji terapeutycznych. Rejestracje uzyskały dwa produkty, tisagenlecleucel - Kymriah w sierpniu 2017 roku (badanie rejestracyjne ELIANA) do leczenia dzieci i młodych dorosłych (do 25 rż.) chorych na ALL oraz axicabtagene ciloleucel - Yescarta w październiku 2017 roku (badanie rejestracyjne ZUMA-1) do leczenia DLBCL .

Produkty CAR- T obecnie zarejestrowane w UE

W 2018 r. zarówno tisagenlecleucel (Kymriah) jak i axicabtagene ciloleucel (Yescarta) zostały zatwierdzone przez Europejską Agencję Leków (EMA) były to pierwsze dwie terapie komórkowe z chimerycznym receptorem antygenowym (CAR) dopuszczone do obrotu na terenie Unii Europejskiej. Liczba rejestracji nowych produktów CAR-T jak i rozszerzenie wskazań do wcześniej zarejestrowanych preparatów wciąż się powiększa.

Preparaty CAR-T zatwierdzone przez EMA:

Kymriah (tisagenlecleucel)

Produkt leczniczy Kymriah (tisagenlecleucel) jest wskazany w leczeniu: dzieci, młodzieży i młodych dorosłych w wieku do 25 lat z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) z komórek B, oporną na leczenie, która znajduje się w fazie nawrotu po transplantacji lub w fazie drugiego bądź kolejnego nawrotu oraz dorosłych pacjentów z nawracającym lub opornym na leczenie chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL), po dwóch lub większej liczbie linii leczenia systemowego.

W marcu 2022 Europejska Agencja Leków wydała pozytywną rekomendację rozszerzającą wskazanie dla leku tisagenlecleucel (Kymriah) o leczenie dorosłych pacjentów z nawracającym lub opornym na leczenie chłoniakiem grudkowym (FL) po dwóch lub większej liczbie linii leczenia systemowego.

Yescarta (axicabtagene ciloleucel)

Produkt Yescarta (axicabtagene ciloleucel) jest wskazany w leczeniu nawrotowego lub opornego na leczenie chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma) i pierwotnego chłoniaka śródpiersia z dużych komórek B (PMBCL, primary mediastinal large B-cell lymphoma) u dorosłych pacjentów, którzy uprzednio otrzymali co najmniej dwie linie leczenia systemowego.

Od kwietnia 2022 produkt Yescarta jest wskazany w leczeniu nawrotowego lub opornego na leczenie chłoniaka grudkowego (FL, follicular lymphoma) u dorosłych pacjentów, którzy uprzednio otrzymali co najmniej trzy linie leczenia systemowego.

Axicabtagene cyloleucel jest pierwszą terapią z wykorzystaniem chimerycznych receptorów antygenowych (CAR) zatwierdzoną dla pacjentów w Europie już w drugiej linii leczenia.

We wrześniu 2022 Europejska Agencja Leków wydała pozytywną opinię rozszerzającą wskazanie dla leku Yescarta o leczenie pacjentów z chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL) lub chłoniakiem o wysokim stopniu złośliwości z komórek B (HGBL, high-grade B-cell lymphoma) po nawrocie w ciągu 12 mies. lub oporności na pierwszą linię leczenia systemowego.

Tecartus (brexucabtagene autoleucel)

Produkt Tecartus (brexucabtagene autoleucel) jest wskazany w leczeniu nawrotowego lub opornego na leczenie chłoniaka z komórek płaszczka (MCL, mantle cell lymphoma) u dorosłych pacjentów, którzy uprzednio otrzymali co najmniej dwie linie leczenia systemowego, w tym inhibitor kinazy tyrozynowej Brutona (BTK, Bruton's tyrosine kinase).

Ponadto od lipca 2022 produkt Tecartus jest wskazany w leczeniu nawrotowej lub opornej na leczenie ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL, acute lymphoblastic leukaemia) wywodzącej się prekursorów limfocytów B u dorosłych pacjentów w wieku 26 lat i starszych.

Abecma (idecabtagene vicleucel)

Produkt Abecma jest wskazany do leczenia dorosłych pacjentów z nawrotowym i opornym na leczenie szpiczakiem mnogim (MM, multiple myeloma), u których stosowano wcześniej co najmniej trzy metody leczenia, w tym lek immunomodulujący, inhibitor proteasomu i przeciwciało anti-CD38, i wykazano progresję choroby podczas ostatnio stosowanego leczenia.

Breyanzi (lisocabtagene maraleucel)

Produkt leczniczy Breyanzi jest wskazany do leczenia dorosłych pacjentów z nawrotowym lub opornym na leczenie chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma), pierwotnym chłoniakiem śródpiersia z dużych komórek B (PMBCL, primary mediastinal B-cell lymphoma) oraz chłoniakiem grudkowym stopnia 3B (FL3B, follicular lymphoma grade 3B) po zastosowaniu dwóch lub więcej linii leczenia systemowego.

Carvykti (ciltacabtagene autoleucel)

Produkt leczniczy Carvykti jest wskazany do leczenia dorosłych pacjentów z nawrotowym i opornym na leczenie szpiczakiem mnogim (MM, multiple myeloma), u których stosowano wcześniej co najmniej trzy metody leczenia, w tym lek immunomodulujący, inhibitor proteasomu i przeciwciało anty-CD38 i u których stwierdza się progresję choroby w trakcie ostatniej metody leczenia.

Obecnie w Unii Europejskiej zarejestrowane są następujące preparaty CAR-T:

Lek	Rejestracyjne badanie kliniczne	Sponsor	Wskazanie
Kymriah (tisagenlecleucel)	ELIANA	Novartis	Ostra białaczka limfoblastyczna z komórek B B-cell ALL, B-cell acute lymphoblastic leukemia
Kymriah (tisagenlecleucel)	JULIET	Novartis	Chłoniak rozlany z dużych komórek B DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma
Kymriah (tisagenlecleucel)	ELARA	Novartis	Chłoniak grudkowy FL, follicular lymphoma
Yescarta (axicabtagene ciloleucel)	ZUMA-1	Kite	Chłoniak rozlany z dużych komórek B DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma Pierwotny chłoniak śródpiersia PMBCL, primary mediastinal large B-cell lymphoma
Yescarta (axicabtagene ciloleucel)	ZUMA-5	Kite	Chłoniak grudkowy FL, follicular lymphoma
Yescarta (axicabtagene ciloleucel)	ZUMA-7	Kite	W drugiej linii leczenia: Chłoniak rozlany z dużych komórek B DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma Chłoniak o wysokim stopniu złośliwości z komórek B HGBL, high grade B-cell lymphoma
Tecartus (brexucabtagene autoleucel)	ZUMA-2	Kite	Chłoniak z komórek płaszcz MCL, mantle cell lymphoma
Tecartus (brexucabtagene autoleucel)	ZUMA-3	Kite	Ostra białaczka limfoblastyczną z komórek B B-cell ALL, B-cell acute lymphoblastic leukemia
Breyanzi (lisocabtagene maraleucel)	TRANSCEND-NHL-001	Juno Therapeutics	Chłoniak rozlany z dużych komórek B DLBCL, diffuse large B-cell lymphoma Pierwotny chłoniak śródpiersia PMBCL, primary mediastinal large B-cell lymphoma Chłoniak grudkowy stopnia 3B FL3B, follicular lymphoma grade 3B
Abecma (idecabtagene vicleucel)	KarMMa	BMS	Szpiczak mnogi MM, multiple myeloma
Carvykti (ciltacabtagene autoleucel)	CARTITUDE-1	Janssen	Szpiczak mnogi MM, multiple myeloma

Dostępność terapii CAR-T w Polsce

Terapia CAR T jest dostępna także dla pacjentów w Polsce. Obecnie leczenie jest refundowane przez NFZ ramach dwóch programów lekowych. Na terenie Polski prowadzone są również komercyjne i niekomercyjne badania kliniczne dotyczące terapii CAR-T.

Od 1 września 2021r. terapia CAR-T (Kymriah - tisagenlecleucel) jest refundowana przez NFZ w ramach programu lekowego:

LECZENIE CHORYCH NA OSTRĄ BIAŁACZKĘ LIMFOBLASTYCZNĄ (ICD-10 C91.0)
Załącznik B.65.

Kwalifikacja do programu dotyczy, dzieci i dorosłych do 25 roku życia, z nawrotową/oporną ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) z komórek B, u których spełniony jest co najmniej jeden z warunków włączenia jak np. drugi lub kolejny nawrót w szpiku kostnym oraz wszystkie kryteria funkcjonalne opisane w programie.

Od maja 2022r. koszty terapii CAR-T (Kymriah - tisagenlecleucel oraz Yescarta - axicabtagene ciloleucel) zaczęły być refundowane przez NFZ również w ramach programu lekowego:

LECZENIE CHORYCH NA CHŁONIAKI ROZLANE Z DUŻYCH KOMÓREK B ORAZ INNE CHŁONIAKI B-KOMÓRKOWE (ICD-10: C83, C85) Załącznik B.93.

Od stycznia 2023 są one refundowane w ramach programu lekowego:

LECZENIE CHORYCH NA CHŁONIAKI B-KOMÓRKOWE (ICD-10: C82, C83, C85)
Załącznik B.12., który powstał z połączenia programów lekowych: B.12. "Leczenie chorych na chłoniaki złośliwe (ICD-10 C82.0; C82.1; C82.7)" oraz B.93. "Leczenie chorych na chłoniaki rozlane z dużych komórek B oraz inne chłoniaki B-komórkowe (ICD-10: C83, C85)"

Kwalifikacja do programu obejmuje chorych z potwierdzonym histologicznie: Chłoniakiem rozlanym z dużych komórek B (DLBCL) albo chłoniakiem z komórek B o wysokim stopniu złośliwości (HGBCL) albo stransformowanym w DLBCL chłoniakiem grudkowym (TFL) - dotyczy leczenia aksykabtagenem cyloleucelu (Yescarta) lub tisagenlecleucelem (Kymriah) , oraz pierwotnym chłoniakiem śródpiersia z dużych komórek B (PMBCL) - dotyczy leczenia wyłącznie aksykabtagenem cyloleucelu (Yescarta), spełniających kryteria włączenia jak np. udokumentowane niepowodzenie dwóch lub więcej linii leczenia systemowego. Opisane w programie kryteria wymagane do kwalifikacji muszą być spełnione łącznie.

Urzędowa cena zbytu i wysokość limitu finansowania refundowanych preparatów, zgodnie z załącznikiem do Obwieszczenia Ministra Zdrowia z dnia 21 grudnia 2022 r. w sprawie wykazu refundowanych leków, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego oraz wyrobów medycznych na 1 stycznia 2023 r. wynosi:

Yescarta (aksykabtagen cyloleucel)

urzędowa cena zbytu - 1407665,52 PLN

wysokość limitu finansowania - 1478048,80 PLN

Kymriah (tisagenlecleucel)

urzędowa cena zbytu - 1373760,00 PLN

wysokość limitu finansowania - 1442448,00 PLN

Ze względu na poziom zaawansowania terapii CAR-T, leczenie może być prowadzone jedynie w wyspecjalizowanych ośrodkach posiadających certyfikację Podmiotu Odpowiedzialnego zgodnie z wymogami EMA oraz akceptację MZ po pozytywnej opinii Krajowej Rady Transplantacyjnej odnośnie pobierania i wykorzystania autologicznych limfocytów.

Obecnie certyfikacje Podmiotu Odpowiedzialnego posiadają:

- Klinika Hematologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
- Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu, Szpital Kliniczny im. Heliodora Święcickiego
- Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie, Państwowy Instytut Badawczy, Oddział w Gliwicach
- Klinika Hematologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie
- Klinika Hematologii, Transplantologii Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego w Gdańsku
- Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej „Przyłodek Nadziei” Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu (ośrodek dla pacjentów pediatrycznych)
- Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego we Wrocławiu

Kolejne ośrodki są w trakcie procesu certyfikacji.

Granty Agencji Badań Medycznych

W 2021 roku Agencja Badań Medycznych AMB rozpoczęła realizację programu mającego na celu opracowanie i wprowadzenie do Polski na szeroką skalę terapii leczenia nowotworów przy użyciu modyfikowanych genetycznie limfocytów CAR-T cells.

Kilka ośrodków w Polsce, otrzymało z ABM granty, łącznie ponad 130 mln zł, na badania nad tą innowacyjną terapią.

Największe środki 100 mln zł, otrzymało konsorcjum, na którego czele stoi prof. dr hab. Sebastian Giebel - Kierownik Kliniki Transplantacji Szpiku i Onkohematologii gliwickiego oddziału Narodowego Instytutu Onkologii - Państwowego Instytutu Badawczego, na realizację projektu pod nazwą „Polish Chimeric Antigen Receptor T-cell Network” CAR-NET.

Projekt ten realizowany jest w ramach konkursu ABM/2020/4 pt. „Opracowanie polskiej terapii adoptywnej (CAR/CAR-T) z wykorzystaniem komórek immunokompetentnych modyfikowanych genetycznie”

Wnioskodawcą tego projektu i liderem konsorcjum jest Warszawski Uniwersytet Medyczny.

Celem projektu jest opracowanie polskiego leku CAR-T o podobnej skuteczności do obecnie istniejących, a przy tym w znacznie korzystniejszej cenie. W tym celu mają zostać opracowane

innowacyjne rozwiązania, które po fazie przedklinicznej zostaną podane weryfikacji w trakcie wieloośrodkowego badania klinicznego. Co istotne - proces wytwarzania komórek CAR T ma mieć miejsce w Polsce, w dedykowanym temu laboratorium w standardzie GMP, którego powstanie będzie możliwe dzięki dotacji ABM.

Cele projektu to:

1. Optymalizacja terapii w oparciu o badania i produkcję w Polsce
2. Opracowanie CAR T-cells w nowych wskazaniach
3. Zwiększenie dostępności dzięki ograniczeniu kosztów produktu i stworzeniu sieci kompetentnych ośrodków
4. Stworzenie nowoczesnej bazy naukowej i klinicznej do rozwoju tej terapii

Projekt będzie realizowany przez konsorcjum w skład którego wchodzi:

- Warszawski Uniwersytet Medyczny - lider konsorcjum
- Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Państwowy Instytut Badawczy,
- Uniwersyteckie Centrum Kliniczne Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego,
- Instytut Hematologii i Transfuzjologii,
- Szpital Kliniczny Przemienienia Pańskiego Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
- Szpital Uniwersytecki nr 1 im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy,
- Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu,
- Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie,
- Wojewódzkie Wielospecjalistyczne Centrum Onkologii i Traumatologii im. M. Kopernika w Łodzi,
- Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 im. Prof. Tadeusza Sokołowskiego Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie,
- Świętokrzyskie Centrum Onkologii
- Uniwersytet Medyczny w Łodzi

W ramach konkursu numer ABM/1/2020 na działalność badawczo - rozwojową w zakresie niekomercyjnych badań klinicznych, na badania związane z terapią CAR-T, granty otrzymały dwa inne ośrodki:

- Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego kierowana przez prof. dr hab. med. Grzegorza W. Basaka

Na projekt pod tytułem: „Zastosowanie limfocytów CAR-T antyCD19 w niskich dawkach w leczeniu dorosłych chorych na nawrotową i oporną ostrą białaczkę limfoblastyczną i chłoniaka Burkitta. Badanie kliniczne fazy I/II (MERMAID1)”.

Celem badania jest przeprowadzenie zaawansowanych prac badawczo-rozwojowych w zakresie niekomercyjnego badania klinicznego fazy I/II wieloośrodkowego, jednoramiennego z zastosowaniem produktu ATMP – produkowanych w Polsce limfocytów CAR T antyCD19 do leczenia dorosłych chorych z oporną i nawrotową B-OBL i chłoniakiem Burkitta (BL) stosując niskie dawki limfocytów w kontekście czynników genetycznych nowotworu i pacjenta.

- Katedra i Klinika Hematologii, Nowotworów Krwi i Transplantacji Szpiku Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu kierowana przez prof. dr hab. Tomasza Wróbla.

Na projekt pod tytułem: „Development of an optimal strategy for the production and administration of CAR-T lymphocytes in adults and children with B-cell non-Hodgkin lymphomas and acute lymphoblastic leukemia”.

Celem badania jest wdrożenie produkcji komórek CAR-T w miejscu leczenia z wykorzystaniem systemu CliniMACS Prodigy i wektora lentiwirusowego anty-CD19 (Lentigen).

Nowe kierunki badań

Terapia CAR-T cells jest wciąż na etapie intensywnego rozwoju. Celem jest poprawa efektywności i dystrybucji zmodyfikowanych komórek oraz rozszerzenie profilu dostępnych molekuł skierowanych przeciwko różnorodnym antygenom. Nieustannie podejmuje się próby zwiększenia skuteczności przeciwnowotworowej oraz eliminacji działań niepożądanych.

Na całym świecie w badaniach klinicznych opracowuje się i testuje coraz większą liczbę terapii komórkami CAR-T, a kierunki tych badań są bardzo zróżnicowane.

Zastosowanie terapii CAR-T na wcześniejszym etapie leczenia

Trwają intensywne badania nad tym, aby terapię CAR-T-cells stosować już na wcześniejszych etapach leczenia, a nie jako lek ostatniej szansy. Do niedawna terapię CAR-T można było zastosować, gdy w zależności do rodzaju terapii CAR-T i choroby co najmniej dwie lub trzy linie leczenia okazały się nieskuteczne. Trwają prace zmierzające do zastosowania jej wcześniej w momencie, kiedy układ odpornościowy chorego nie jest jeszcze osłabiony chemioterapią. Wtedy leczenie CAR-T-cells może dawać lepsze efekty.

Świadczą o tym wyniki zakończonych badań klinicznych III fazy ZUMA-7 oraz TRANSFORM które wskazały, że immunoterapia CAR-T (Yescarta oraz Breyanzi) zastosowana jako leczenie drugiej linii chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL) jest skuteczniejsza niż dotychczasowy standard terapeutyczny (po dwóch lub większej liczbie linii leczenia systemowego).

Na podstawie oceny wyników tych badań w 2022 roku, FDA zatwierdziła w drugiej linii leczenia DLBCL axicabtagene ciloleucel (Yescarta) w kwietniu 2022 i lisocabtagene maraleucel (Breyanzi) w czerwcu 2022, natomiast EMA axicabtagene ciloleucel (Yescarta) we wrześniu 2022. Są to pierwsze preparaty CAR-T zarejestrowane w drugiej linii leczenia.

Trwają również badania nad zastosowaniem terapii CAR-T w pierwszej linii leczenia. Wstępne wyniki badania II fazy ZUMA-12 wykazały skuteczność preparatu axicabtagene ciloleucel (Yescarta) w terapii pierwszego rzutu w leczeniu chłoniaka o wysokim stopniu złośliwości z komórek B (HGBL, high-grade B-cell lymphoma).

Ukierunkowanie na kilka różnych antygenów

Wyniki badań klinicznych wskazują, że zjawisko utraty przez komórki nowotworowe antygeny przeciwko któremu skierowane są limfocyty CAR (np. antygen CD19), to główna przyczyna niepowodzenia terapii komórkami CAR-T.

Aby przeciwdziałać nawrotom choroby w wyniku tego zjawiska badane są terapie wykorzystujące CAR-T skierowane przeciw więcej niż jednemu antygenowi (np. przeciw antygenom CD19 i CD22). Takie podejście osiągnięte jest albo poprzez jednoczesne lub sekwencyjne podawanie różnych komórek CAR-T skierowanych przeciw różnym antygenom (koadministracja) lub też skonstruowanie bispecyficznych lub tandemowych CAR-T (jedna komórka T ma dwie lub więcej cząsteczki CAR skierowane przeciw różnym antygenom). Możliwa jest również kotransdukcja, czyli transdukowanie komórek T dwoma wektorami kodującymi różne CAR, w wyniku czego otrzymuje się komórki pozytywne dla jednego pojedynczego CAR (antygen 1), komórki pozytywne dla drugiego pojedynczego CAR (antygen 2) oraz pozytywne dla obu CAR. Za podejściem w terapii CAR-T do celowania w więcej niż jeden antygen przemawia dużo zalet, niemniej pozostaje wiele krytycznych zagadnień, takich jak ocena bezpieczeństwa zastosowania, szczególnie pod kątem zwiększenia toksyczności, które wymagają dalszych badań.

Wykorzystanie innych komórek odpornościowych

Obecnie w leczeniu stosowane są zmodyfikowane limfocyty T, ale prowadzone są prace nad wprowadzeniem chimerycznych receptorów antygenowych CAR także do innych komórek odpornościowych. Badania dotyczą np. wykorzystania komórek NK naturalnych zabójców (NK, Natural Killers). Efektem tych zabiegów jest powstanie komórek oznaczanych jako CAR-NK. Prowadzone badania wskazują skuteczność chimerycznych komórek NK w immunoterapii nowotworów. Ponadto, w odróżnieniu od limfocytów T, komórki NK nie powodują hipercytokinemi, tzw. burzy cytokin, która często prowadzi do ciężkich powikłań po zastosowaniu komórek CAR-T.

W ostatnim czasie próbuje się również tworzyć również chimerowe makrofagi CAR-M (CAR-macrophages), wstępne wyniki badań wskazują na bezpieczeństwo terapii i potencjał w leczeniu niektórych nowotworowych litych. Zdaniem badaczy, makrofagi CAR-M szybciej docierają do guzów i mają lepsze zdolności do wnikania i przetrwania w nich w porównaniu do limfocytów CAR-T. Aby potwierdzić skuteczność i bezpieczeństwo CAR-M potrzeba jeszcze wiele dowodów w postaci badań klinicznych.

Zastosowanie w terapii nowotworów litych

Prace trwają również nad możliwością zastosowania terapii CAR-T do leczenia nowotworów litych a nie tylko hematologicznych. Badania, przeprowadzane są na przykład w kierunku raka płuca, raka piersi, raka jelita grubego, trzustki czy glejaka wielopostaciowego. Wyniki badań wskazują na razie na umiarkowaną skuteczność tej terapii, gdyż istnieje szereg ograniczeń utrudniających zastosowanie tej metody w terapii guzów litych. Główne trudności stanowią: ograniczony zestaw unikalnych antygenów, w które można wycelować cząsteczki CAR oraz wysoka heterogenność komórek guza pod względem ekspresji antygenów. Innym ograniczeniem jest niezdolność komórek T do skutecznego dotarcia do guza oraz przenikania przez fizyczne bariery i wyraźnie immunosupresyjne mikrośrodowisko guza. W przypadku nowotworów hematologicznych nieprawidłowe komórki są rozproszone i rozsiane, dlatego są łatwiej dostępne dla zmodyfikowanych komórek odpornościowych. W przeciwieństwie do nowotworów

hematologicznych, w przypadku guzów litych zarówno przemieszczanie się limfocytów T w okolice guza, jak i naciekanie są często silnie ograniczone przez mikrośrodowisko immunosupresyjne. Wydzielane przez komórki guza hemokiny zapobiegają zarówno przemieszczaniu się komórek T w kierunku zmian nowotworowych, jak i ich infiltracji.

Próby zastosowania terapii CAR-T do leczenia nowotworów litych stanowią intensywny obszar badań klinicznych.

Uniwersalne limfocyty CAR

Terapie z wykorzystaniem autologicznych limfocytów CAR-T mają ogromny potencjał terapeutyczny, jednak koszt, czas trwania oraz złożoność procedury nadal pozostają problemem uniemożliwiającym upowszechnienie metody. W związku z tym trwają badania nad stworzeniem „uniwersalnych limfocytów CAR-T” gotowych dla każdego pacjenta z określonym typem nowotworu, zwanych CAR-T off the shelf - „CAR-T czekające na półce”.

W tym celu prowadzone są zarówno badania w których jako źródła limfocytów T wykorzystuje się limfocyty T pochodzące od zdrowych dawców, jak i badania w których wykorzystuje indukowane pluripotencjalne komórki macierzyste (iPSC, induced pluripotent stem cells), które mogą służyć jako prekursorzy limfocytów T. Tego typu komórki można hodować w laboratorium bez ograniczeń i różnicować w limfocyty T, ponadto łatwo poddają się manipulacji genetycznej.

Zastosowanie gotowych allogenicznych komórek CAR-T może stanowić rozwiązanie problemów związanych z zaburzeniami funkcji limfocytów T pobranych od chorych, ma także wiele innych potencjalnych zalet w porównaniu z podejściem autologicznym, takich jak natychmiastowa dostępność zamrożonych partii do leczenia pacjentów, uniknięcie opóźnień w leczeniu, możliwa standaryzacja produktu komórek CAR-T, obniżenie kosztów przy użyciu procesu przemysłowego i rozszerzenie dostępu do terapii.

Jednak allogeniczne limfocyty CAR-T mogą powodować zagrażającą życiu chorobę przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD) i mogą być szybko eliminowane przez układ odpornościowy gospodarza. Rozwój allogenicznych limfocytów CAR T nowej generacji w celu rozwiązania tych problemów jest aktywnym obszarem badań.

Zastosowanie terapii CAR-T w chorobach nienowotworowych

Trwają również badania by terapia komórkami cytotoksycznymi CAR-T mogła znaleźć zastosowanie także w leczeniu chorób nienowotworowych. Badania dotyczące CAR-T są prowadzone w wielu wskazaniach poza onkologią, takich jak np. choroby alergiczne, astma, choroby zakaźne takie jak HBV, HCV czy HIV.

Podsumowanie

Rozwój technologii wykorzystujących zmodyfikowane limfocyty T następuje bardzo szybko. Intensywność prowadzonych badań daje nowe możliwości terapeutyczne, jakich nie dawały w pewnych rodzajach nowotworów chemio- czy radioterapia. Immunoterapia limfocytami CAR-T to przełomowe i wysoce efektywne narzędzie do walki z nowotworami krwi. Intensywność, wielokierunkowość oraz rozwój metodologii, prowadzonych badań daje szansę na dalszą poprawę rokowania chorych na nowotwory hematologiczne oraz stwarza możliwość zastosowania tej terapii w innych schorzeniach.

Bibliografia

1. Katarzyna Karwicka, Joanna Wawer, Olga Czabak, Janusz Kocki, Marek Hus
„Innowacyjna terapia CAR-T w leczeniu nowotworów hematologicznych — wybrane aspekty genetyczne i immunologiczne” [źródło](#)
2. Amelia Kierasińska, Damian Ciunowicz, Marta Węgierska, Ewelina Stoczyńska-Fidelus, Piotr Rieske
„Terapia CAR-T w onkologii i w innych dziedzinach medycyny” [źródło](#)
3. Kathrine Rallis, Christopher Hillyar, Michail Sideris, Jeff Davies
„T-cell-based Immunotherapies for Haematological Cancers, Part B: A SWOT Analysis of Adoptive Cell Therapies” [źródło](#)
4. Xinjie Xu, Qihang Sun, Xiaoqian Liang, Zitong Chen, Xiaoli Zhang, Xuan Zhou, Meifang Li, Huilin Tu, Yu Liu, Sanfang Tu1 and Yuhua Li
„Mechanisms of Relapse After CD19 CAR T-Cell Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia and Its Prevention and Treatment Strategies” [źródło](#)
5. prof. dr hab. Sebastian Giebel, dr Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, dr Iwona Mitrus
„Terapia CAR-T dla chorych na agresywne chłoniaki B-komórkowe”
Poradnik dla ośrodków hematologicznych Novartis
6. „Niekomercyjne badanie kliniczne dotyczące terapii CAR-T z dofinansowaniem Agencji Badań Medycznych” [źródło](#)
7. „Wykaz projektów realizowanych w ramach konkursu numer ABM/4/2020” [źródło](#)
8. „Wykaz projektów realizowanych w ramach konkursu numer ABM/1/2020 na działalność badawczo - rozwojową w zakresie niekomercyjnych badań klinicznych” [źródło](#)
9. dr hab. n. med. Radosław Zagożdżon (Kierownik Projektu) / prof. dr hab. Sebastian Giebel (Główny Badacz)
„Polish Chimeric Antigen Receptor T-cell Network” [źródło](#)
10. „First two CAR-T cell medicines recommended for approval in the European Union” [źródło](#)
11. Jarosław Gośliński
„Europejska Agencja Leków (EMA) – rekomendacje w onkologii – 2022” [źródło](#)
12. „Breyanzi. CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO” [źródło](#)
13. „Tecartus. CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO” [źródło](#)
14. „Abecma. CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO” [źródło](#)
15. „Yescarta. CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO” [źródło](#)
16. „Kymriah. CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO” [źródło](#)
17. „Carvykti, CHARAKTERYSTYKA PRODUKTU LECZNICZEGO” [źródło](#)
18. Ministerstwo Zdrowia > Leki i wyroby medyczne > Refundacja > Programy lekowe >
„Choroby onkologiczne” [źródło](#)
19. Ministerstwo Zdrowia > Aktualności > Komunikaty > Leki >
„Obwieszczenia ministra zdrowia - lista leków refundowanych” [źródło](#)
20. Monika Stelmach
„Immunoterapia CAR-T to przełom w leczeniu hematoonkologicznym” [źródło](#)

21. Prof. dr hab. Sebastian Giebel
„Terapia CAR-T-CELLS – nowe możliwości zastosowania” [źródło](#)
22. Frederick L Locke, David B Miklos, Caron A Jacobson, Miguel-Angel Perales, Marie-José Kersten, Olalekan O Oluwole, Armin Ghobadi, Aaron P Rapoport, Joseph McGuiirk, John M Pagel, Javier Muñoz, Umar Farooq, Tom van Meerten, Patrick M Reagan, Anna Sureda, Ian W Flinn, Peter Vandenberghe, Kevin W Song, Michael Dickinson, Monique C Minnema, Peter A Riedell, Lori A Leslie, Sridhar Chaganti, Yin Yang, Simone Filosto, Jina Shah, Marco Schupp, Christina To, Paul Cheng, Leo I Gordon, Jason R Westin; All ZUMA-7 Investigators and Contributing Kite Members
„Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma” [źródło](#)
23. Locke FL, Miklos DB, Jacobson C, et al.
„Primary Analysis of ZUMA-7: A Phase 3 Randomized Trial of Axicabtagene Ciloleucel (Axi-Cel) Versus Standard-of-Care Therapy in Patients with Relapsed/Refractory Large B-Cell Lymphoma” [źródło](#)
24. Natalia Tarłowska
„Pozytywne wyniki terapii CAR-T w II linii leczenia chłoniaka rozlanego z dużych komórek B” [źródło](#)
25. „FDA approves axicabtagene ciloleucel for second-line treatment of large B-cell lymphoma” [źródło](#)
26. „FDA approves lisocabtagene maraleucel for second-line treatment of large B-cell lymphoma” [źródło](#)
27. Chase Doyle
„ZUMA-12: Axicabtagene Ciloleucel Shows Substantial Benefit in High-Risk Large B-Cell Lymphoma” [źródło](#)
28. Sattva S Neelapu, Michael Dickinson, Javier Munoz, Matthew L Ulrickson, Catherine Thieblemont, Olalekan O Oluwole, Alex F Herrera, Chaitra S Ujjani, Yi Lin, Peter A Riedell, Natasha Kekre, Sven de Vos, Christine Lui, Francesca Milletti, Jinghui Dong, Hairong Xu, Julio C Chavez
„Axicabtagene ciloleucel as first-line therapy in high-risk large B-cell lymphoma: the phase 2 ZUMA-12 trial” [źródło](#)
29. Jarosław Gośliński
„Komórki NK („Naturalni Zabójcy”) – zastosowanie w immuno-onkologii” [źródło](#)
30. Paulina Kwaśnik, Marta Kinga Lemieszek, Wojciech Rzeski
„Możliwości wykorzystania komórek NK w immunoterapii nowotworów” [źródło](#)
31. Ewa Kowalczyk
„Technologia CAR-M – kolejna nadzieja dla onkologicznych pacjentów” [źródło](#)
32. Mark Zipkin
„CAR T Cells: Off the Shelf and On the Mark” [źródło](#)
33. Maria Themeli
„Off-the-shelf T cell therapies for multiple myeloma” [źródło](#)