

Statusartikel

Ugeskr Læger 2021;183:V03210280

Knoglemarvstransplantation og chimeric antigen receptor-T-celleterapi

Henrik Sengeløv & Søren Lykke Petersen

Hæmatologisk klinik, Københavns Universitetshospital – Rigshospitalet

Ugeskr Læger 2021;183:V03210280

HOVEDBUDSKABER

- Cytotoksiske lymfocytter kan udrydde kemoterapiresistente hæmatologiske sygdomme ved immunologisk angreb.
- Proceduren ved knoglemarvstransplantation er blevet mildere og mere personaliseret, hvilket betyder, at flere patienter, også ældre, kan blive transplanteret.
- Ved chimeric antigen receptor-T-celleterapi kan patientens egne lymfocytter modificeres til immunologisk angreb uden brug af donor.

Cellulær terapi mod maligne hæmatologiske sygdomme har været igennem en stor udvikling i de seneste årtier. De cellulære cytotoksiske angreb mod maligne celler omgår de resistensmekanismer, der ses ved kemoterapi, og benytter formentlig de immunologiske mekanismer der ved »daglig rengøring« eliminerer udtjente, præmaligne og maligne celler [1]. Ved cellulær immunterapi i hæmatologien forstærkes disse mekanismer, enten ved at der transplanteres et nyt immunsystem til patienten, eller ved at patientens egne immunceller modificeres til et kraftigere, targeteret angreb. I det følgende vil disse to kliniske behandlingsmetoder, knoglemarvstransplantation (KMT) og chimeric antigen receptor (CAR)-T-celleterapi blive gennemgået.

KNOGLEMARVSTRANSPLANTATION

Betegnelsen KMT kan være lidt vildledende, da den henfører mere til knoglemarvsfunktionen end immunsystemet, der bevirker den helbredende effekt. Der benyttes derfor også betegnelser som hæmatopoietisk stamcelletransplantation og hæmatopoietisk celletransplantation, der sprogligt bedre beskriver processen. I det følgende benyttes dog den gennem årtier velkendte terminologi KMT, selvom de fleste transplantationer ikke udføres med udtagelse af celler fra knoglemarven.

De første knoglemarvstransplantationer blev udført hos patienter med immundefekt eller aplastisk anæmi, dels med udtagelse af knoglemarv fra en donor, dels efter princippet om at transplantationen erstattede en defekt knoglemarv og et defekt immunsystem, i lighed med transplantation af solide organer [2]. Indikationen for KMT blev snart udvidet til også at omfatte leukæmier, og man mente i begyndelsen, at leukæmien blev udryddet med den forudgående kemoterapi og helkropsbestråling, og at man blot erstattede det destruerede med knoglemarv og immunsystem fra donoren. Det blev dog klart, at immunologiske mekanismer var involveret i eradikering af leukæmien, dels ud fra den observation at relapsraten var mindre hos patienter, der havde mild kronisk graft versus host-sygdom (GVHD), dels at man ved at indgive lille mængde lymfocytter fra en donor kunne opnå fornyet remission af et leukæmielaps efter transplantation [3, 4]. Denne gavnlige immunologiske effekt

benævnes graft-versus-leukæmi (GVL)-effekten, hvorimod det uhensigtsmæssige angreb på recipientens normale celler/organer kaldes GVHD [5]. De alloreaktive celler fra donor udgøres af både T-celler, NK-celler og gamma-/delta-T-celler, der genkender både humane leukocyt-antigener (HLA'er) og tumorantigener og efter antigenpræsentation undergår klonal ekspansion. Den biologiske effekt på målcellen udøves ved et komplekst netværk af klonale alloreaktive celler, regulatoriske T-celler, cytokiner og inflammatoriske mediatorer [6]. Indikationer for KMT er primært maligne hæmatologiske sygdomme.

Donor

Den ideelle donor er en HLA-identisk søskende, dog ikke syngen tvilling, hvor GVL-effekt ikke opnås. Hvis der ikke er en søskendedonor, søges der efter en donor i internationale registre. På verdensplan er der knap 40 mio. donorer, der har tilmeldt sig registre, hvor søgning kan gøres efter HLA-typen [7]. Som sekundære donorvalg foreligger mismatchede registerdonorer, navlesnorsceller og haplomatchedede familiedonorer [8].

Konditionering

Den »klassiske« konditionering er myeloablativ med højdosis cyclophosphamid i kombination med 12 Gy helkropsbestråling. I erkendelse af at det kurative princip er GVL-effekten, er der udviklet mildere konditioneringer, hvor formålet ud over en antineoplastisk effekt er at hæmme recipientens immunsystem for at facilitere engraftment af donorceller. Den reducerede toksicitet har betydet, at selv myeloablativ konditionering kan udføres på ambulant basis. Den mildeste konditionering med fludarabinphosphat og kun 2 Gy helkropsbestråling kan tilbydes ældre patienter op til 75 år, hvis der ikke er betydende komorbiditet [9]. De nye konditioneringsregimer har betydet et paradigmeskifte i KMT fra en intensiv behandling med isolation, parenteral ernæring og intravenøst indgivende antibiotika til i mange tilfælde at gennemføre et forløb ambulant med peroral medicin [10].

Ofte tillægges antithymocytglobulin (ATG) til konditioneringen for at reducere antallet af alloreaktive lymfocytter i donorgraften med det formål at hindre GVHD. Dette indebærer en risiko for også at eliminere de donorlymfocytter, der skal udøve GVL, men kliniske studier har vist, at fordelen ved mindre GVHD er større end risikoen for relaps [11]. Et nyt lovende princip for GVHD-profylakse blev indført ved introduktionen af haplotransplantationer [12]. Ved en haplotransplantation er der HLA-match på den ene haplotype og varierende match på den anden haplotype. For at undgå GVHD ved så høj grad af HLA-mismatch blev det introduceret at give højdosis cyclophosphamid i tre døgn, efter at donorcellerne var indgivet. På den måde bliver en stor del af de modne og prolifererende lymfocytter destrueret, hvorimod de hæmatopoietiske stamceller bliver sparet [13]. Denne metode har vist sig effektivt at kunne reducere både incidensen af GVHD og brug af immunsuppressiva ved haplotransplantationer uden øget forekomst af relaps, og der er lovende resultater på vej også ved transplantationer med en HLA-matched registerdonor [14].

Graft versus host-sygdom

Akut GVHD opstår inden for de første tre måneder efter transplantationen, og oftest er huden involveret, dernæst gastrointestinalkanalen og leveren. På huden udvikles et makulopapuløst eksantem, der i alvorlige tilfælde kan gå over i toksisk epidermal nekrolyse [15]. Gastrointestinalkanalen kan blive svært påvirket med destruktion af epitel, hvilket kan føre til svære diarréer samt væske- og elektrolyttab (Figur 1). Akut GVHD behandles initialt med højdosissteroid, ved terapivigt tillægges infliximab [16], ruxolitinib [17] eller ekstrakorporal fotoferease [18]. Akut GVHD medfører øget morbiditet og mortalitet i form af infektioner, medicinbivirkninger og organsvigt. Mismatchet donor, høj alder og intensiv konditionering bidrager til øget forekomst af GVHD, men også det fækale mikrobiom er indgået i kliniske studier gennem de seneste år [19]. Der er fundet en sammenhæng mellem et dysbiotisk fækalt mikrobiom med nedsat diversitet, antal genomer og incidensen af akut GVHD. Den kausale sammenhæng er dog ikke påvist endnu, men er et hastigt ekspanderende

forskningsområde [20].

FIGUR 1 A. Akut gastroenteral graft versus host-sygdom hos en 25-årig kvinde, primært involverende tyndtarm. Hovedparten af tyndtarmssegmenterne er ødematøse, 3.000 ml fæcesoutput/døgn efter syv dages steroidbehandling 2 mg/kg. **B.** Efter behandling med infliximab 10 mg/kg 1 × ugentligt i fire uger, 450 ml fæcesoutput/døgn, efterfølgende symptomfrihed (på 11. år).



Kronisk GVHD debuterer senere, ofte år efter transplantationen, og kan afficere mange organsystemer. Sygdomsmanifestationerne har mange lighedspunkter med autoimmunsygdomme: sicca af øjne, mund og genitalia, bronchiolitis obliterans, sclerodermi og vitiligo. Kronisk GVHD har som regel et langvarigt forløb, ofte livslangt, og patienterne skal vedvarende behandles med immunsuppressiva.

Komplikationer

Infektioner er hyppige, tidligt i forløbet ses bakterielle infektioner, og ved længere tids immundefekt opstår der senere invasive svampeinfektioner og virale infektioner. En speciel status har cytomegalovirus (CMV)-infektioner, idet op til 40% af patienterne fik en CMV-infektion eller reaktivering inden for det første år [21]. Senest er letermovir, en non-nukleosidhæmmer af CMV-replikation, introduceret som profylaktisk behandling, hvilket har nedsat incidensen af CMV-infektioner betydeligt [22]. Azoler som voriconazol og posaconazol givet peroralt har faciliteret profylakse og behandling af skimmelsvampinfektioner.

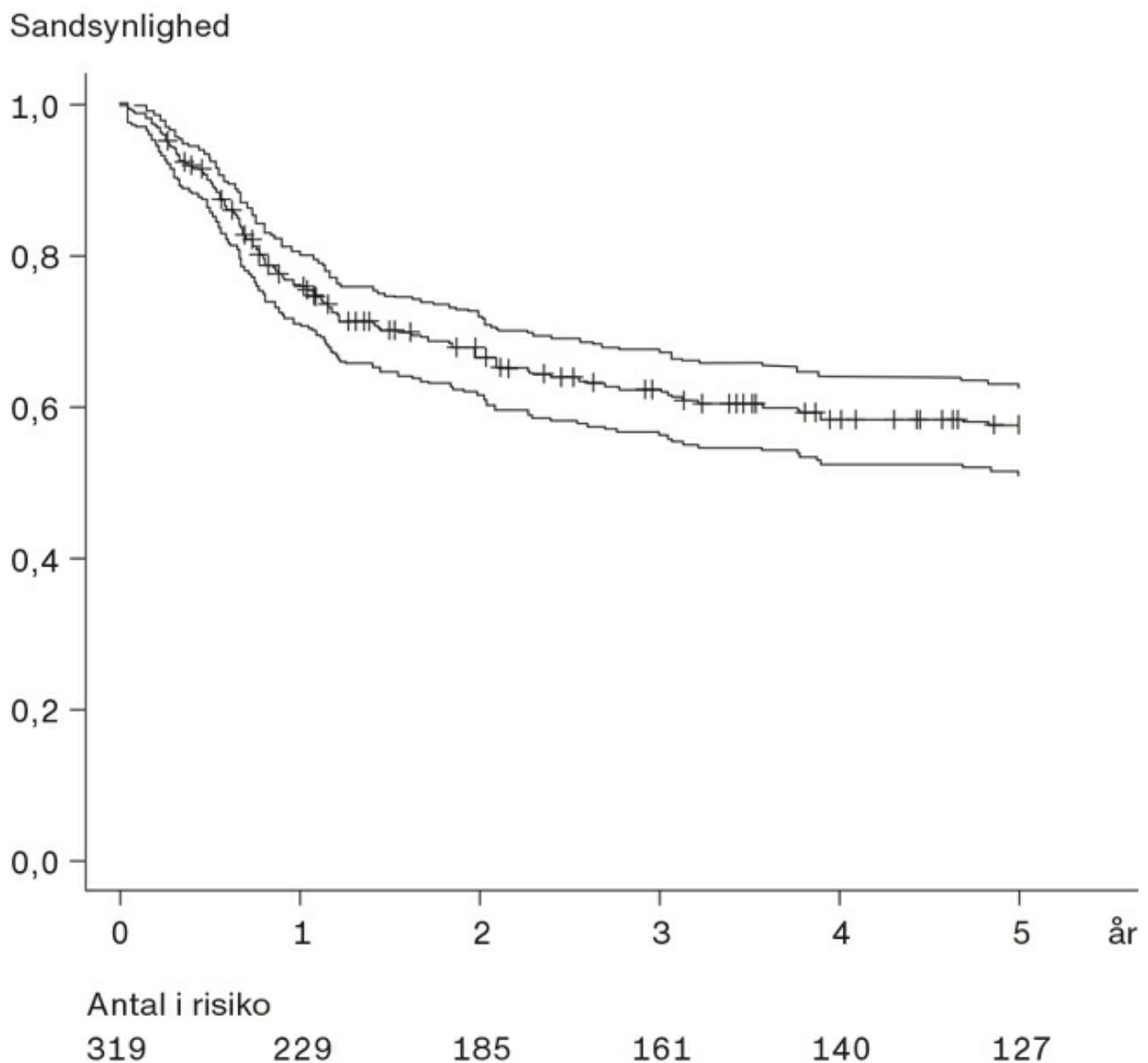
Kemoterapi, stråler og langvarig immunsuppressiv behandling med steroid kan give langtidsbivirkninger i form af katarakt, infertilitet, sekundær malignitet, metabolisk syndrom og aseptisk knoglenekrose.

Relaps

Ved de myeloide sygdomme akut myeloid leukæmi (AML) og myelodysplastisk syndrom er relapsraten 10-40%, afhængig af sygdommens risikoprofil og remissionsgrad før KMT. Som anført vil en mindre grad af immunsuppression med det formål at øge GVL-effekten betyde større risiko for GVHD, og effekten på overlevelse vil derfor udeblive. Det er ikke lykkedes eksperimentelt at separere den immunologiske reaktion, der fører til GVL og GVHD, men i kliniske studier, hvor rekonstitutionen af undertyper af immunceller sammenholdes med de kliniske fund, har man påvist, at specielt solidt engraftment af natural killer-lymfocytter og T-celler med gamma-delta-kæde T-cellereceptor er associeret med mindre GVHD og mindre relaps [23, 24]. Teknisk er det muligt at separere celler i donorgraften, så indholdet af de nævnte celler er dominerende, hvilket

undersøges i kliniske studier. I perioden 2000-2020 blev 319 patienter transplanteret for AML i første remission med en femårsoverlevelse på 57% (Figur 2).

FIGUR 2 Kaplan-Meier-kurve over patienter, som havde akut myeloid leukæmi og fik foretaget transplantation i første komplette remission på Rigshospitalet i perioden 2000-2019. N = 319, femårsoverlevelsesestimat = 57%.

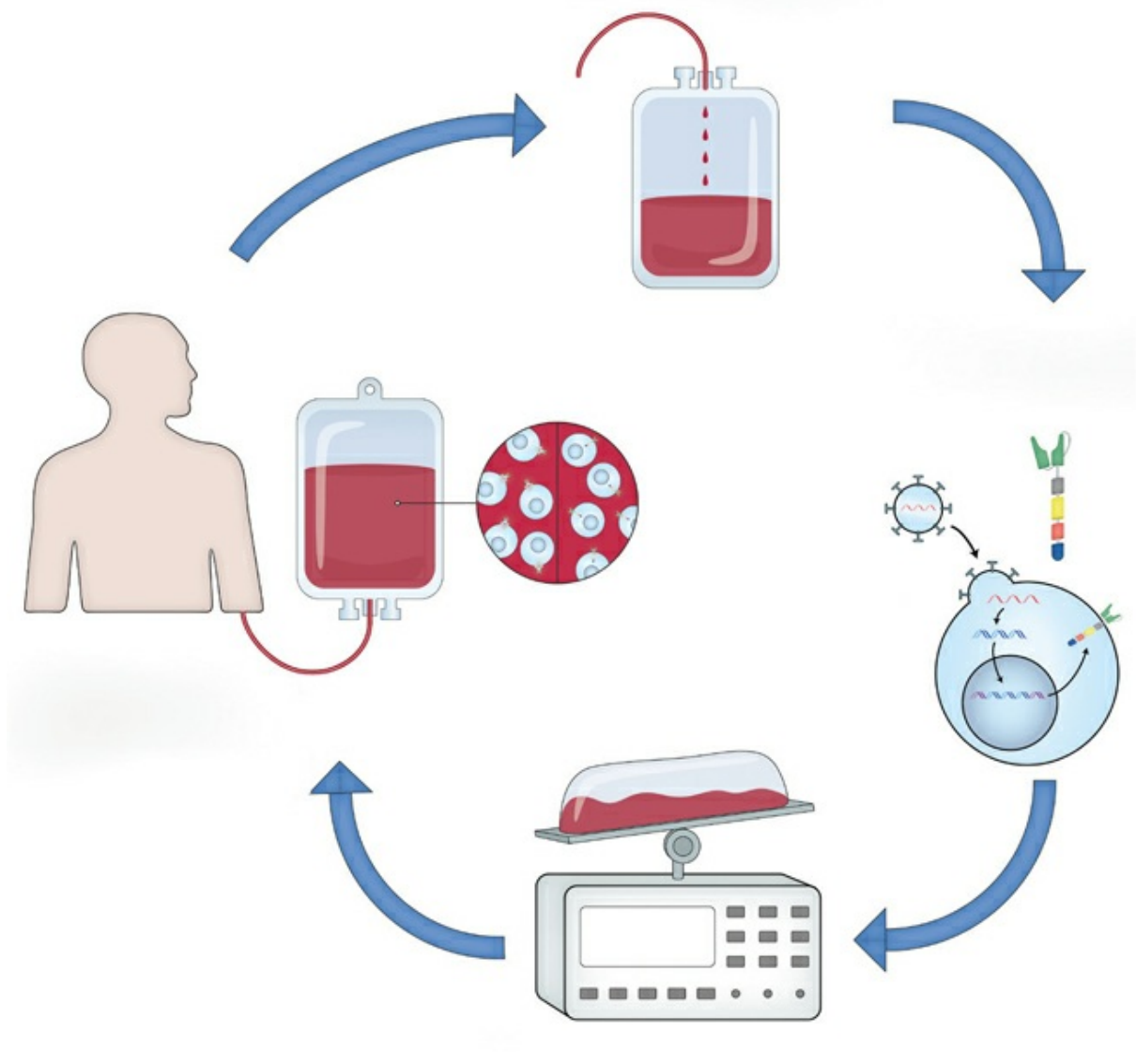


CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR-T-CELLETERAPI

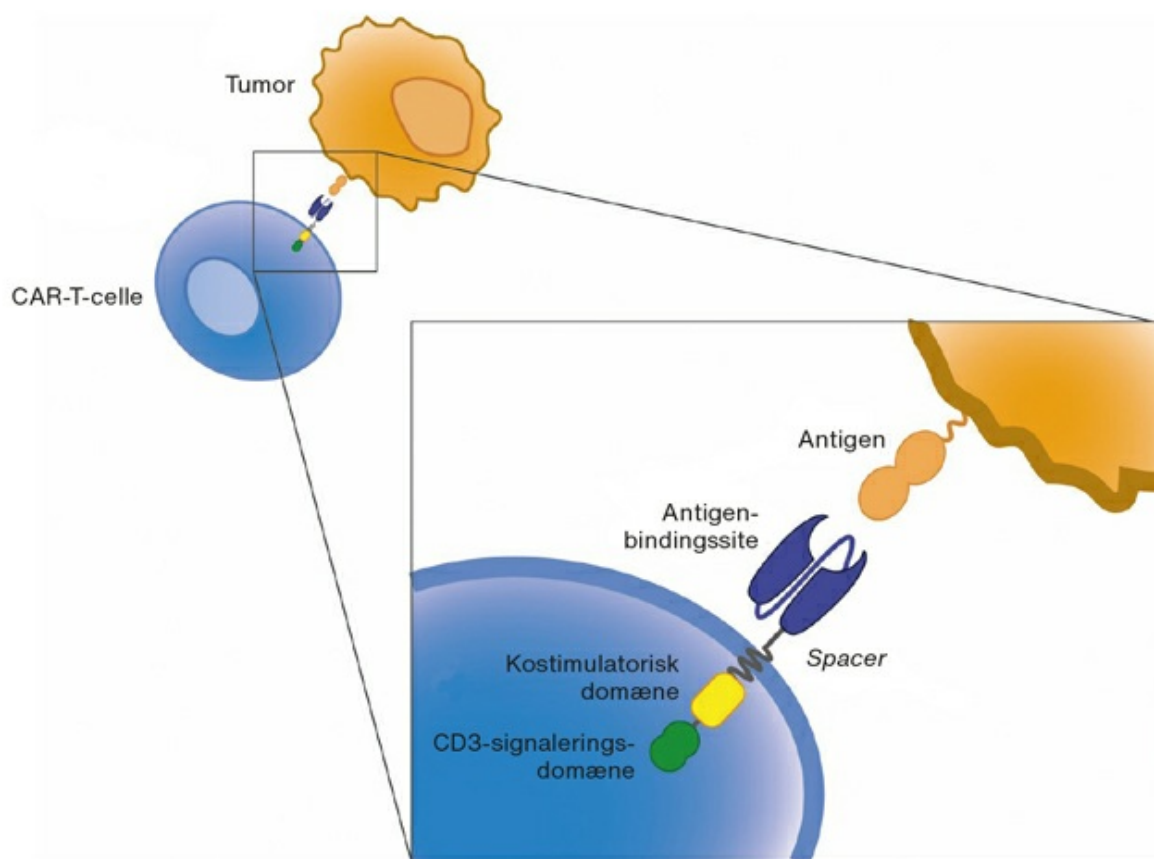
Ved CAR-T-cellebehandling udnyttes T-cellernes evne til at slå andre celler i kroppen ihjel. T cellerne genkender deres mål ved hjælp af en receptor på T-cellen. Denne receptor interagerer med et antigen på målcellen. Denne interaktion vil med den rette stimulation medføre, at målcellen dør. Ved hjælp af genmodificering kan man in vitro indsætte en kunstig receptor eller CAR i patientens T-celler og opformere disse. CAR-T-cellerne

reinfunderes i patienten og vil herefter genkende det antigen, som den indsatte receptor er rettet imod og slå celler med dette antigen på overfladen ihjel (Figur 3) [25]. Ud over receptorens antigenspecifikke del, som sidder på celleoverfladen, er det nødvendigt at tilføje et intracellulært kostimulatorisk domæne for at sikre aktivering og prolifération af CAR-T-cellen (Figur 4) [26]. Ligeledes er det vigtigt for effektiviteten af CAR-T-celleproduktet, at det indeholder både genmodificerede CD4⁺-T-celler og CD8⁺-T-celler og især af typen central memory T-celler og naive T-celler [27].

FIGUR 3 Oversigt over *chimeric antigen receptor* (CAR)-T-cellebehandling. T-celler isoleres fra patientens blodbane og manipuleres ved hjælp af genteknologi til at udtrykke en antigenreceptor rettet mod et overfladeantigen på en tumorcelle. Herefter opformeres CAR-T-cellerne i højt antal, før de gives tilbage til patienten, som forinden har fået kortvarig kemoterapi. (Ugeskr Læger 2019;181:V05190309).



FIGUR 4 Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cells design. CAR-T-cellsens receptor er sammensat af forskellige komponenter. Ekstracellulært sidder et fusionsprotein bestående af den antigenbindende del af et immunoglobulinmolekyle, som kan genkende og binde et antigen på en tumorcelle eksempelvis CD19. Et transmembrant domæne med en *spacer* forankrer CAR-*constructet* i cellemembranen. Intracellulært kan der være placeret et eller to kostimulatoriske domæner (oftest 4-1BB eller CD28), afhængigt af den specifikke generation af CAR-T-celler. Disse forøger signaleringen i CAR-T-cellen og er koblet til et signaleringsdomæne, der svarer til den normale T-cellereceptor. (Ugeskr Læger 2019;181:V05190309).



Der er størst erfaring med CAR-T-celler rettet mod CD19. CD19 findes på mange maligne B-celler og på normale B-celler, men ikke på andre af kroppens celler. Man kan overleve uden B-celler, og derfor har CD19 været et ideelt target for udvikling af CAR-T-celler. I Danmark er CD19-CAR-T-celleproduktet tisagenlecleucel godkendt til behandling af patienter, som er ≤ 25 år og har recidiverende eller refraktær (R/R)-B-akut lymfoblastisk leukæmi (B-ALL). Denne patientgruppe har tidligere haft en yderst ringe overlevelse. Med CAR-T-cellebehandling har man i kliniske forsøg [28] og i klinisk praksis [29] set en leukæmifri overlevelse på ca. 50% efter et år. De mest alvorlige bivirkninger er cytokin release syndrom (CRS) og neurotoksicitet. Symptomer på CRS er feber, hypotension og respirationsinsufficiens. Tilstanden, som er associeret til proliferation af CAR-T-celler, kan udvikle sig hurtigt og nødvendiggøre overflytning til intensivafdeling til bl.a. vasopressorbehandling. Ofte vil administration af interleukin-6-receptorantistof (tocilizumab) vende forløbet, således at patienten stabiliseres og siden kommer sig. Neurotoksicitet kan strække sig fra let forvirring til svær encefalopati, og da tocilizumab ikke har effekt på tilstanden, anvendes i sværere tilfælde dexamethason og understøttende behandling. De neurologiske symptomer aftager som regel igen uden sequelae, men blivende neurologiske

udfald samt fatale forløb med cerebralt ødem er set [30]. CAR-T-cellebehandling af børn og yngre voksne med R/R-B-ALL med tisagenlecleucel er etableret på Rigshospitalet og foregår i et samarbejde mellem Afdeling for Blodsygdomme, BørneUngeAfdelingen og Klinisk Immunologisk Afdeling. Der modtages patienter fra hele Danmark, og der er indtil nu behandlet fire patienter med denne indikation. Der samarbejdes nationalt om retningslinjer for CAR-T-cellebehandling.

To CAR-T-celleprodukter, tisagenlecleucel og axicabtagen ciloleucel, har opnået godkendelse af Food and Drug Administration (FDA) i USA og European Medicines Agency (EMA) til behandling af R/R-diffust storcellet B-cellelymfom (DLBCL). Disse produkter er evalueret af Medicinrådet, men har ikke opnået godkendelse som standardbehandling i Danmark. Desuden har produktet brexucabtagene autoleucel opnået FDA- og EMA-godkendelse til behandling af R/R-mantle celle-lymfom og produktet lisocabtagene maraleucel har opnået FDA-godkendelse til R/R-DLBCL-behandling. Således er der flere produkter på vej, og det må formodes, at CAR-T-cellebehandling i fremtiden vil blive mere udbredt.

Korrespondance Henrik Sengeløv. E-mail: sengelov@rh.dk

Antaget 7. juli 2021

Publiceret på ugeskriftet.dk 18. oktober 2021

Interessekonflikter Der er anført potentielle interessekonflikter. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på ugeskriftet.dk

Referencer findes i artiklen publiceret på ugeskriftet.dk

Artikelreference Ugeskr Læger 2021;183:V03210280

SUMMARY

Bone marrow transplantation and chimeric antigen receptor T cellular therapy

Henrik Sengeløv & Søren Lykke Petersen

Ugeskr Læger 2021;183:V03210280

Malignant hematologic diseases resistant to chemotherapy can be cured by immune cellular therapy. Bone marrow transplantation (BMT) elicits a “pan-immunologic” attack, whereas therapy with chimeric antigen receptor (CAR)-T is a targeted attack. The immunologic activity after BMT can be adjusted by selection of donor cells before transplantation, or with post-BMT sequential chemotherapy. Many haematologic diseases are clonal, and the development of CAR-T cellular therapy directed against a variety of epitopes is under development as summarised in this review.

REFERENCER

1. Matzinger P. The danger model: a renewed sense of self. *Science* 2002;296:301-5.
2. Storb BR, Etzioni R, Anasetti C et al. Cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin in preparation for allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia. *Blood* 1994;84:941-9.
3. Sweeney C, Vyas P. The graft-versus-leukemia effect in AML. *Front Oncol* 2019;9:1217.
4. Gyurkocza B, Storb R, Storer BE et al. Nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28:2859-67.
5. Zeiser R, Blazar BR. Acute graft-versus-host disease — biologic process, prevention, and therapy. *N Engl J Med* 2017;377:2167-79.
6. Hill GR, Betts BC, Tkachev V et al. Current concepts and advances in graft-versus-host disease immunology. *Annu Rev*

- Immunol 2021;39:19-49.
7. Lown RN, Philippe J, Navarro W et al. Unrelated adult stem cell donor medical suitability: Recommendations from the world marrow donor association clinical working group committee. *Bone Marrow Transplant* 2014;49:880-6.
 8. Passweg JR, Baldomero H, Chabannon C et al. The EBMT activity survey on hematopoietic-cell transplantation and cellular therapy 2018: CAR-T's come into focus. *Bone Marrow Transplant* 2020;55:1604-13.
 9. Sengeløv H, Gerds TA, Brændstrup P et al. Long-term survival after allogeneic haematopoietic cell transplantation for AML in remission: single-centre results after TBI-based myeloablative and non-myeloablative conditioning. *Bone Marrow Transplant* 2013;48:1185-91.
 10. Wedge E, Sengeløv H, Hansen JW et al. Improved outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with fludarabine/treosulfan for patients with myelodysplastic syndromes: flutreo conditioning for patients with MDS. *Biol Blood Marrow Transplant* 2020;26:1091-8.
 11. Mohty M, Malard F. Antithymocyte globulin for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2017;35:3993-5.
 12. Robinson TM, O'Donnell P V, Fuchs EJ, Luznik L. Haploidentical bone marrow and stem cell transplantation: experience with post-transplantation cyclophosphamide. *Semin Hematol* 2016;53:90-7.
 13. Nunes NS, Kanakry CG. Mechanisms of graft-versus-host disease prevention by post-transplantation cyclophosphamide: an evolving understanding. *Front Immunol* 2019;10:2668.
 14. Bailén R, Kwon M, Pascual-Cascón MJ et al. Post-transplant cyclophosphamide for GVHD prophylaxis compared to ATG-based prophylaxis in unrelated donor transplantation. *Ann Hematol* 2021;100:541-53.
 15. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet* 2009;373:1550-61.
 16. Nygaard M, Andersen NS, Moser CE et al. Evaluation of infliximab as second-line treatment of acute graft versus host disease -validating response on day 7 and 28 as predictors of survival. *Bone Marrow Transplant* 2018;53:844-51.
 17. Zeiser R, von Bubnoff N, Butler J et al. Ruxolitinib for glucocorticoid-refractory acute graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 2020;382:1800-10.
 18. Nygaard M, Wichert S, Berlin G, Toss F. Extracorporeal photopheresis for graft-vs-host disease: A literature review and treatment guidelines proposed by the Nordic ECP Quality Group. *Eur J Haematol* 2020;104:361-75.
 19. Jenq RR, Taur Y, Devlin SM, Ponce DM et al. Intestinal blautia is associated with reduced death from graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015;21:1373-83.
 20. Ilett EE, Jørgensen M, Noguera-Julian M et al. Associations of the gut microbiome and clinical factors with acute GVHD in allogeneic HSCT recipients. *Blood Adv* 2020;4:5797-809.
 21. Lodding IP, da Cunha Bang C, Sørensen SS et al. Cytomegalovirus (CMV) disease despite weekly preemptive cmv strategy for recipients of solid organ and hematopoietic stem cell transplantation. *Open Forum Infect Dis* 2018;5:1-8.
 22. Marty FM, Ljungman P, Chemaly RF et al. Letermovir prophylaxis for cytomegalovirus in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2017;377:2433-44.
 23. Minculescu L, Marquart HV, Friis LS, Petersen SL et al. Early natural killer cell reconstitution predicts overall survival in t cell-replete allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22:2187-93.
 24. Minculescu L, Marquart HV, Ryder LP et al. Improved overall survival, relapse-free-survival, and less graft-vs.-host-disease in patients with high immune reconstitution of TCR gamma delta cells 2 months after allogeneic stem cell transplantation. *Front Immunol* 2019;10:1-18.
 25. Müller K, Ifversen M, Kielsen K et al. Chimeric antigen receptor-T-cellebehandling. *Ugeskr Læger* 2019;181:V05190309.
 26. June CH, Sadelain M. Chimeric antigen receptor therapy. *N Engl J Med* 2018;379:64-73.
 27. Sommermeyer D, Hudecek M, Kosasih PL et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells derived from defined CD8+ and. *Leukemia* 2016;30:492-500.
 28. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018;378:439-48.
 29. Pasquini MC, Hu ZH, Curran K et al. Real-world evidence of tisagenlecleucel for pediatric acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin lymphoma. *Blood Adv* 2020;4:5414-24.
 30. Oved JH, Barrett DM, Teachey DT. Cellular therapy: immune-related complications. *Immunol Rev* 2019;290:114-26.