

M.-L. Schubert, A. Schmitt, M. Schmitt. Med. Klinik V (Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie), Universitätsklinikum Heidelberg.

26. Mai 2020

Therapie von Leukämie- und Lymphom-Patienten mittels CAR-T-Zellen

Für Patienten mit CD19+ refraktären oder rezidierten Non-Hodgkin-Lymphomen (r/r NHL) oder akuter lymphatischer Leukämie (r/r ALL) gibt es seit wenigen Jahren neue Hoffnung: die Therapie mit T-Zellen, die genetisch so verändert wurden, dass sie einen CD19-spezifischen chimären Antigen-Rezeptor (CAR) auf ihrer Zelloberfläche tragen. Je nach Grundkrankheit werden mit CAR-T-Zellen Therapieerfolge bei 40-90% der Patienten beobachtet und teilweise langanhaltende Remissionen erreicht. Somit können CAR-T-Zellen eine Alternative zur allogenen Stammzelltransplantation für Patienten darstellen, die aufgrund ihres hohen Alters oder Komorbiditäten nicht mehr für eine (zweite) Stammzelltransplantation in Frage kommen. Allerdings gehen mit der CAR-T-Zell-Therapie auch ernste Nebenwirkungen einher, wie Zytokin-Freisetzungssyndrom (cytokine release syndrome (CRS)), Neurotoxizität (immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS)), B-Zell-Aplasie und länger anhaltende Zytopenien. Eine Behandlung mit CAR-T-Zellen ist in bislang etwa 30 Kliniken in Deutschland verfügbar. Es bedarf allerdings noch einer komplexen Analyse klinischer und laborchemischer Parameter, um die Patientengruppen zu definieren, die auf diese innovative Therapieform am besten und nachhaltig ansprechen. Hier berichten wir über die Erfahrung mit CAR-T-Zellen in Heidelberg, einem der größten CAR-T-Zentren in Europa, an dem bislang über 50 Behandlungen mit CAR-T-Zellen erfolgt sind.

Zu diesem Artikel ist auch ein CME-Test verfügbar.

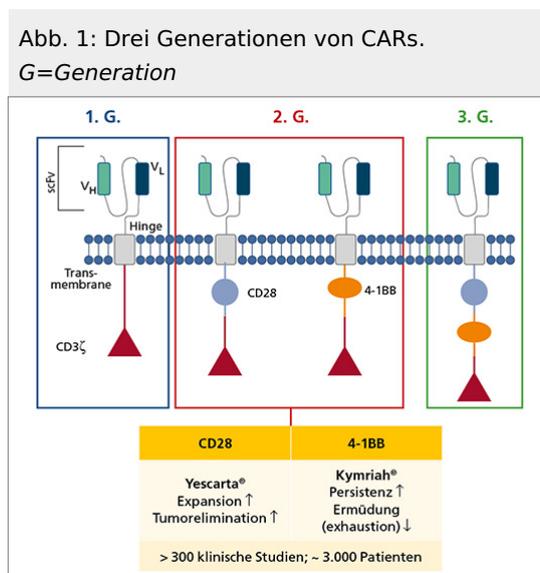
[Hier kommen Sie direkt zur Teilnahme](#)
(verfügbar bis zum 24.05.2021)

Hintergrund

Die erste Generation von chimären Antigen-Rezeptor-T-Zellen wurde um 1990 als „T-bodies“ von Zelig Eshhar und Mitarbeitern am Weizmann-Institut in Rehovot bei Tel Aviv in Israel entwickelt (1, 2). Danach wurden im Verlauf der letzten 3 Jahrzehnte weitere Generationen von CARs entwickelt, welche kostimulatorische Moleküle im CAR-Molekül tragen, um die Funktion und

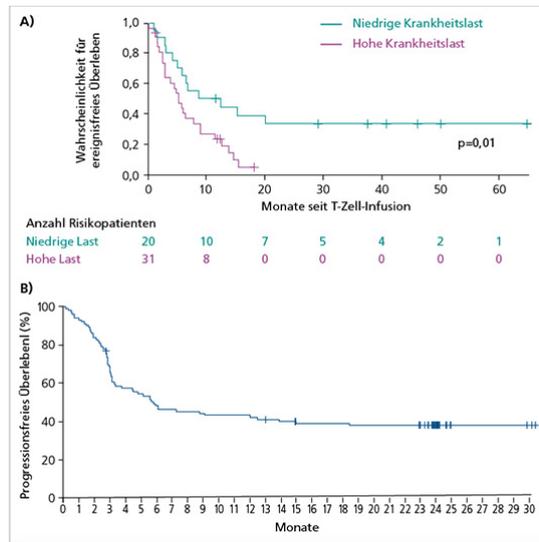
Persistenz von Antigen-spezifischen CAR-T-Zellen zu optimieren.

Die verschiedenen CAR-Generationen sind in Abbildung 1 dargestellt.



Zunächst konnte im Rahmen akademischer Phase-I-Studien an mehreren großen US-amerikanischen Stammzelltransplantationszentren wie in Philadelphia, Seattle, Maryland sowie New York mit CAR-T-Zellen der zweiten Generation, welche ein kostimulatorisches Molekül enthalten, ein therapeutisches Ansprechen von therapierefraktären und bereits stark vorbehandelten Patienten nachgewiesen werden. Als Target diente dabei das B-Lymphozyten-Antigen CD19, ein wichtiges Oberflächenprotein in der B-Zell-Entwicklung, welches – ohne auf der hämatopoetischen Stammzelle exprimiert zu werden – in über 95% der malignen Zellen bei Patienten mit ALL oder anderen NHL vorkommt. Es konnten klinische Ansprechraten von 64-82% bei NHL-Patienten und von 83-88% bei Patienten mit ALL gezeigt werden (3-7). Abbildung 2 fasst das Ansprechen von NHL- und ALL-Patienten zusammen.

Abb. 2: Ansprechen auf CAR-T-Zell-Therapie.
A) Ereignisfreies Überleben von ALL-Patienten nach Krankheitslast (mod. nach (6)) , B) Progressionsfreies Überleben (mod. nach (3)).



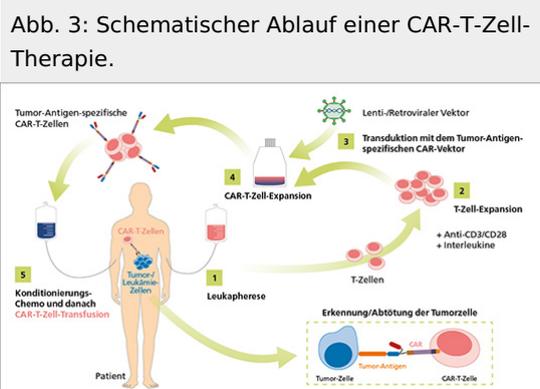
Diese Entwicklung ebnete den Weg für die kommerzielle Herstellung von zwei CAR-T-Zell-Produkten der zweiten Generation, nämlich Axicabtagenciloleucel (Yescarta®) und Tisagenlecleucel (Kymriah®). Diese wurden zur Behandlung von r/r Erkrankungen des lymphatischen Systems zunächst 2017 in den USA und schließlich im Sommer 2018 auch in Europa zugelassen (3-5). Axicabtagenciloleucel ist für zwei Unterformen des B-Zell-NHL, dem diffus-großzelligen B-Zell-Lymphom (DLBCL) und dem primär mediastinalen B-Zell-Lymphom (PMBCL) zugelassen (3), wobei aufgrund guter Daten bei der Behandlung des Mantelzelllymphoms (MCL) auf dem ASH 2019 eine Indikationserweiterung auch für diese Lymphom-Entität erwartet wird. Tisagenlecleucel ist für die Behandlung von DLBCL-Patienten (4) und ALL-Patienten, die jünger als 26 Jahre sind, indiziert (5) und auch für dieses Produkt werden in Kürze Indikationserweiterungen erwartet.

CARs der dritten und vierten Generation befinden sich aktuell in der weiteren Erforschung oder werden im Rahmen erster klinischer Studien untersucht (8). An unserem Zentrum evaluieren wir mit der Heidelberg CAR-Studie 1 (HD-CAR-1) einen CAR der dritten Generation (9). Dieser trägt neben der Antigen-Bindestelle (single chain fragment of the variable domain; scFv) für CD19 zwei kostimulatorische Moleküle: CD28 für die Aktivierung und CD137 (4-1BB) für die konstante Proliferation der CAR-T-Zelle (Abb. 1). Der Einbau von DNA-Abschnitten, die andere kostimulatorische Moleküle oder auch Zytokine kodieren, ist derzeit Gegenstand präklinischer Forschung (7, 8).

Praktischer Ablauf einer CAR-T-Zell-Therapie

Zunächst muss die Indikation des Patienten zur CAR-T-Zell-Therapie in entsprechenden Leukämie-/Lymphom-Boards sowie in der Zelltherapie-Konferenz beschlossen werden, bevor die Behandlung mit den Kostenträgern, dem Medizinischen Dienst, den pharmazeutischen Herstellern der CAR-T-Zellen und des dafür benötigten Leukapheresates (Klinik oder Blutspendedienst) geklärt wird. Dann wird an dem Patienten eine unstimulierte autologe Leukapherese zur Sammlung peripherer mononukleärer Zellen (PBMCs) durchgeführt. Das so gewonnene Leukapheresat wird dem Kurier direkt „warm“ übergeben oder zunächst eingefroren

und dann „kalt“ weitertransportiert. Nach dem Transport, der aktuell im kommerziellen Setting noch immer ein transatlantischer ist, wird die CAR-T-Zell-Produktion mittels Kultivierung, Stimulation und Transduktion der T-Zellen mit retro- oder lentiviralen Genfähren (CAR-Vektoren) nach den Regeln der Guten Herstellungspraxis (good manufacturing practice; GMP) in Reinraumlaboren durchgeführt. Das CAR-T-Zell-Produkt wird nach der Herstellung kryokonserviert und umfangreichen Qualitätskontrolluntersuchungen unterzogen, u.a. Freiheit von Bakterien, Endotoxinen, Mykoplasmen, Bestimmung der Zellzahl, Vektor-Kopienzahl pro Zelle und CAR-Zell-Funktionalität mittels Zytokinsekretions- oder Zytotoxizitäts-Assays. Schließlich wird das Produkt von einer sachkundigen Person gem. §14 Arzneimittelgesetz freigegeben und von der Herstellungsstätte an das behandelnde Zentrum transportiert. Nach Auftauen des Präparats wird dieses auf Station verbracht und dem Patienten intravenös appliziert. Der Transfusion der CAR-T-Zellen geht eine 3-tägige Chemotherapie mit Fludarabin und Cyclophosphamid (Fludarabin 25 bzw. 50 mg/m² Körperoberfläche (KOF) und Cyclophosphamid 250 bzw. 500 mg/m² KOF für Tisagenlecleucel bzw. Axicabtagenciloleucel) voran. In Studien wurden Dosen bis zur für die allogene Stammzelltransplantation üblichen Dosierung Fludarabin 5x 30 mg/m² KOF und 2x 60 mg/kg (!) Körpergewicht (KG) oder auch andere Zytostatika-Schemata eingesetzt (7). Um die Proliferation und Funktionalität der CAR-T-Zellen nicht zu beeinträchtigen, werden zwischen der Chemotherapie und CAR-T-Zell-Gabe ein oder zwei Pausentage geschaltet. In Abbildung 3 ist der Ablauf einer CAR-T-Zell-Therapie graphisch zusammengefasst.



Mögliche Risiken und Nebenwirkungen einer CAR-T-Zell-Therapie

CRS

Im Gegensatz zur klassischen Chemotherapie können bei der CAR-T-Zell-Therapie verschiedene immunvermittelte Nebenwirkungen auftreten. Eine häufig beobachtete Nebenwirkung nach der Gabe von CAR-T-Zellen ist das CRS. Wie in Abbildung 3 dargestellt, werden CAR-T-Zellen durch die Interaktion mit Antigen-positiven Tumor-/Leukämie-Zellen aktiviert und stimuliert. Dadurch werden autokrine und parakrine Interleukine wie Interleukin-6 (IL-6), IL-15, IL-18 und IL-21 sezerniert. Diese wiederum aktivieren andere Antigen-präsentierende Zellen wie Makrophagen, sodass weitere proinflammatorische Substanzen wie IL-1, Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF- α) sowie C-reaktives Protein (CRP) und Ferritin freigesetzt werden. Letzteres kann Serum-Spiegel

wie bei der juvenilen rheumatoiden Arthritis (JRA) oder dem Makrophagen-Aktivierungssyndrom (MAS) erreichen. CRS geht mit Fieber und grippeartigen Symptomen einher und kann bis zu Katecholaminpflichtigkeit, disseminierter intravasaler Gerinnung (DIC), Kapillarlecksyndrom (capillary leak syndrome) und Multi-organversagen fortschreiten und letal verlaufen (10, 11).

Die Tochter von Carl June, dem Pionier der klinischen CAR-T-Zell-Therapie, leidet an juveniler rheumatoider Arthritis, sodass er auf die Idee kam, bei CRS seiner Patienten, die hohe IL-6-Serumspiegel aufwiesen, Tocilizumab (RoActemra®), einen für JRA klinisch zugelassenen monoklonalen Antikörper, einzusetzen. Tatsächlich steht mit Tocilizumab in der Dosierung 8 mg/kg KG bei Erwachsenen (max. Einzeldosis 800 mg) eine spezifische Therapie zur Blockade des IL-6-Rezeptors zur Verfügung, durch welche der Verlauf des CRS mit der Symptomatik von Fieberschüben, Schüttelfrost, Hypotonie und Dyspnoe deutlich abgemildert werden kann. Daher wurde Tocilizumab zeitgleich zur Zulassung der kommerziellen CAR-T-Zell-Produkte für die CRS-Behandlung zugelassen im Sinne einer Indikationserweiterung. Kann mit Tocilizumab keine hinreichende Therapie eines CRS erreicht werden, finden Steroide (Dexamethason (10 mg alle 6 Stunden) oder Methylprednisolon (1.000 mg/Tag)) Anwendung.

ICANS

Der genaue Mechanismus der durch CAR-T-Zellen vermittelten Neurotoxizität ist bisher nicht geklärt. Allerdings scheint die Interaktion verschiedener Zellpopulationen im zentralen Nervensystem (ZNS), u.a. CAR-T-Zelle und Perizyten, sowie die Ausschüttung von Zytokinen eine ZNS-Entzündungsreaktion zu bedingen. Die dadurch bedingte Neurotoxizität äußert sich klinisch in Konzentrationsstörungen, Desorientiertheit, Dysgraphie, Aphasie, Somnolenz und Stupor. Im schlimmsten Fall muss der Patient schutzintubiert und künstlich beatmet werden. ICANS kann außerdem zu einem Hirnödem führen, wobei sich die Häufigkeit dieser hochgradigen Neurotoxizität (ICANS Grad IV-V) glücklicherweise im Promille-Bereich befindet. Leichtgradiges ICANS (Grad I-III) kann jedoch je nach Produkt und Studie bei bis zu 70% der Patienten beobachtet werden (4-6, 9, 10). In Tabelle 1 ist der in unserer Klinik angewandte Behandlungsalgorithmus bei Auftreten von ICANS dargestellt.

Tab. 1: Behandlungsalgorithmus für ICANS-Patienten am Universitätsklinikum Heidelberg.

ICANS Grad I: Symptomatische Therapie <ul style="list-style-type: none">• Diagnostik (cMRT; wenn nicht möglich, cCT), EEG & Krampfprophylaxe erwägen• Atemwegsschutz erwägen
ICANS Grad II: <ul style="list-style-type: none">• Bei ausbleibender Besserung ≤ 24 Stunden: Dexamethason 10 mg i.v. alle 6 Stunden
ICANS Grad III: Verlegung auf Intensivstation erwägen <ul style="list-style-type: none">• Dexamethason 10 mg i.v. alle 6 Stunden• Krampfanfall: Therapie gemäß Leitlinie; Hinweise erhöhter Hirndruck: Hirndrucktherapie• Bei ausbleibender Besserung ≤ 24 Stunden: Methylprednisolon 1.000 mg i.v./Tag
ICANS Grad IV: Verlegung auf Intensivstation <ul style="list-style-type: none">• Methylprednisolon 1.000 mg i.v./Tag• Immuntherapie-Alternativen prüfen (Anakinra, T-Zell-Depletion)

Zur frühzeitigen Detektion von Prodromi eines ICANS haben sich nach CAR-T-Zell-Transfusion die Durchführung von Schriftproben beim Patienten (3x/Tag) sowie ein „Mini-Mental-Test“ bewährt.

Bei der Behandlung des ICANS stehen Steroide im Vordergrund. Tocilizumab kann die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren und spielt daher bei der Behandlung von ICANS keine Rolle. Bei schwerwiegenden oder sogar lebensbedrohlichen Komplikationen kann eine Blockade des IL-1-Rezeptors mittels Anakinra (Kineret®) erwogen werden (10-13). Ein Vorteil von Anakinra ist, dass es nicht nur zur Behandlung von ICANS, sondern auch zur Behandlung eines CRS verwendet werden kann. Weiterhin hat es eine kurze Halbwertszeit, sodass durch Anakinra eine nur kurzfristige Immunsuppression und Vulnerabilität gegenüber opportunistischen Keimen vermittelt wird.

Weitere Ansätze, um lebensbedrohliche CAR-T-Zell-Toxizitäten zu behandeln, sind bisher nicht klinisch erforscht. Der Tyrosinkinase-Inhibitor (TKI) Dasatinib (Sprycel®), der die Leukozyten-Kinase (LCK) und somit die Phosphorylierung der zeta-Kette des CD3-Moleküls als intrazellulären Teil eines CAR inhibiert, ist in experimenteller Erprobung.

B-Zell-Aplasie

Das Phänomen einer B-Zell-Aplasie ist nach Zytostatika-Applikation und Stammzelltransplantation nicht unbekannt. Mit CAR-T-Zellen, die bei der Behandlung lymphatischer Erkrankungen gegen CD19 gerichtet werden, tritt dies aber immer auf, da auch die physiologischen B-Zellen CD19-positiv sind und durch die CAR-T-Zellen „abgeräumt“ werden. Die B-Zell-Aplasie nach CAR-T-Zell-Gabe kann wochen- bis monatelang persistieren und zu vermehrten opportunistischen Infektionen wie viralen Infekten oder bakteriellen Atemwegsinfektionen führen. An unserem Zentrum wurden nach Behandlung von ca. 50 CAR-T-Zellen-Patienten jeweils ein schwerer Fall einer Influenza- und einer Respiratorische Synzytial-Virus (RSV)-Infektion beobachtet. Es wird empfohlen, bei Serumspiegel von Immunglobulinen der Klasse G unterhalb 400 mg/dl alle 3-4 Wochen hochdosierte Immunglobuline intravenös oder subkutan zu verabreichen, bis sich die B-Zellen wieder erholt haben (10, 11).

Zytopenien

In der Regel erreichen Patienten nach Konditionierungstherapie und CAR-T-Zell-Gabe (= Tag 0) am Tag 7 den Nadir der Blutwerte, bevor nach Tag 10-14 die hämatopoetische Regeneration eintritt. Allerdings sind an Tag 30 nach der CAR-T-Zell-Gabe noch rund ein Drittel der Patienten zytopen für zumindest eine hämatopoetische Reihe, an Tag 90 immerhin noch 17% (3-6, 10, 11). Symptomatisch stehen Substitutionen mit Erythro- und Thrombozytenkonzentraten im Vordergrund. Bei Leukopenie kann eine Gabe des Wachstumsfaktors Filgrastim erwogen werden, wobei dies aber direkt nach CAR-T-Zell-Transfusion vermieden werden sollte, um die Gefahr eines CRS nicht zu vergrößern. Auch Erythropoetin oder Thrombopoetin können verabreicht werden. Im schlimmsten Fall ist die Gabe eines autologen bzw. allogenen Stammzellpräparates als „Top-Up“ zu erwägen.

[Ausblick - wie wird es weitergehen?](#)

- Aktuell ist die Gabe von kommerziellen CD19-gerichteten CAR-T-Produkten an fast 30 Universitätskliniken in Deutschland möglich, die für die Verabreichung zumindest eines der kommerziellen Präparate akkreditiert sind. Diese Zahl wird in einer zweiten Ausrollphase sicherlich größer werden.
- Für 2021 wird die Zulassung weiterer CD19-CAR-T-Produkte wie z.B. Lisocabtagenmaraleucel für DLBCL-Patienten erwartet.
- Weiterhin wird die Zulassung eines CAR-T-Produkts zur Behandlung des Multiplen Myeloms (MM) erwartet: Idecabtagen Vicleucel richtet sich gegen das B-Zell-Reifungs-Antigen (BCMA). Auch weitere Firmen prüfen BCMA-CARs in Zulassungsstudien. Insgesamt weisen BCMA-CARs bei der Behandlung des MM hohe Ansprechraten mit tiefen Remissionen auf, selbst bei Patienten, die bereits mit Proteasom-Inhibitoren, Antikörpern (Daratumumab, Elotuzumab) und Immunmodulatoren (IMiDs, Lenalidomid, Pomalidomid) vorbehandelt waren. Leider ist die Dauer der Remissionen bei den meisten dieser stark vorbehandelten Patienten auf etwa ein Jahr begrenzt.
- Die Nutzung von CAR-T-Zellen als frühere Therapielinien (aktuell werden CAR-T-Zellen in der 3./4. Therapielinie genutzt) wird in der nächsten Zeit evaluiert werden. Brian Durie fordert sogar die Integration der BCMA-CARs im Rahmen eines komplexen Erstlinienkonzepts.
- Weitere Antigene, die als CAR-Zielgene genutzt werden könnten, wie z.B. CD33, CD123 und CLL1, werden aktuell für Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) klinisch erprobt (14).
- Kombinationen von CAR-T-Zellen mit bereits zugelassenen Substanzen wie z.B. Ibrutinib, Lenalidomid oder Idelalisib werden untersucht (15).
- Neben T-Lymphozyten rücken nun auch Natürliche Killer (NK-)Zellen, die mit CAR-Vektoren transduziert werden, in den Vordergrund der klinischen Forschung. Im Gegensatz zu T-Zellen haben NK-Zellen keine Restriktion des Gewebetyps (HLA-Restriktion), sodass sie nicht mehr individuell generiert werden müssen. Mit einer einzigen Herstellung („from the shelf“) können NK-CAR-Zellen für bis zu 100 Patienten genutzt werden (16). Gegen CD19-gerichtete NK-CAR-Zellen haben bei CD19+ Neoplasien bereits klinisches Ansprechen gezeigt (16).

Zu diesem Artikel ist auch ein CME-Test verfügbar.

[Hier kommen Sie direkt zur Teilnahme](#)
(verfügbar bis zum 24.05.2021)

Es besteht kein Interessenkonflikt.



Dr. med. Maria-Luisa Schubert

Ärztin

Med. Klinik V (Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie)
Universitätsklinikum Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 410
69120 Heidelberg

Tel.: 06221/566614

E-Mail: maria-luisa.schubert@med.uni-heidelberg.de



PD Dr. med. Anita Schmitt

FÄ für Transfusionsmedizin

Leiterin der Herstellung und Leitende Ärztliche Person der Spendeinheit

Med. Klinik V (Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie)
Universitätsklinikum Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 410
69120 Heidelberg

Tel.: 06221/566614

E-Mail: anita.schmitt@med.uni-heidelberg.de



Prof. Dr. med. Michael Schmitt, MHBA

Joachim-Siebeneicher-Professor für Zelluläre Immuntherapie

Leiter GMP-Core-Facility

Med. Klinik V (Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie)
Universitätsklinikum Heidelberg

Im Neuenheimer Feld 410
69120 Heidelberg

Tel.: 06221/566614

E-Mail: michael.schmitt@med.uni-heidelberg.de

ABSTRACT

M.-L. Schubert, A. Schmitt, M. Schmitt. Med. Klinik V (Hämatologie, Onkologie und Rheumatologie), Universitätsklinikum Heidelberg.

CAR-T cell therapy is a promising treatment for patients with refractory or relapsed non-Hodgkin lymphoma (NHL) or acute lymphatic leukemia (ALL). Depending on the underlying disease, therapy success with CAR-T cells is observed in 40-90% of patients and in some cases long-lasting remissions were achieved. Thus, CAR-T cells can be an alternative to allogenic stem cell transplantation for patients who, due to old age or comorbidity, are not eligible for a (second) stem cell transplantation. However, there are serious side effects such as cytokine release syndrome (CRS), immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS), B-cell aplasia and prolonged cytopenia. Treatment with CAR-T cells is currently available in about 30 clinics in Germany. It still requires a complex analysis of clinical and laboratory chemical parameters to define the patient groups that will benefit the most from this innovative form of therapy.

Keywords: *Immunotherapy, CAR-T cell therapy, cytokine release syndrome (CRS), immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS)*