

Immuntherapie bei akuter lymphatischer Leukämie

Optionen bei jungen Erwachsenen mit Hochrisikoprofil

Die Behandlung der akuten lymphoblastischen Leukämie (ALL) entwickelt sich ständig weiter. Immer neue Therapiemethoden kommen hinzu, darunter die Immuntherapien (werden zurzeit v.a. bei einem Rezidiv oder bei refraktären Patienten angewandt). Dieser Artikel gibt eine Übersicht über die aktuell verfügbaren Therapien. Wir konzentrieren uns hier vor allem auf Blinatumomab und Inotuzumab und beschreiben ausserdem die aktuell vorliegenden Studien im Bereich der CART-Zell-Therapie bei ALL.

RAPHAËL STADELMANN¹, FILIPE MARTINS², SABINE BLUM²

SZO 2018; 2: 6–13.



Raphaël Stadelmann



Sabine Blum

Diese Übersichtsarbeit beschreibt die aktuell zur Verfügung stehenden Immuntherapien bei akuten lymphoblastischen Leukämien (ALL). Die ALL ist trotz hoher Raten kompletter Remissionen (CR) schwer zu heilen. Ungefähr die Hälfte aller Patienten wird im Verlauf rezidivieren und sterben (1). Die CR-Rate nach einer Salvage-Chemotherapie ist niedrig (25–45%), die meisten dieser Patienten versterben trotz anfänglicher Remission (2, 3). Hier besteht also ein hoher Bedarf an therapeutischen Innovationen. Ein positiver Minimal-Residual-Disease-(MRD-)Status ist ein negativer prädiktiver Faktor und etablierter Marker für ein Rezidiv (4). Der Einsatz der Immuntherapie kann hier möglicherweise ein ansonsten unausweichliches Rezidiv verhindern.

Immuntherapie

Es besteht keine klare Definition einer Immuntherapie. Bei den Leukämien ist die allogene Stammzelltransplantation (HSCT) das prominenteste Beispiel für eine Immuntherapie, bei der der Graft-versus-Leukämie-Effekt zu einer Heilung führen kann, aber bei der auch ein Graft-versus-Host-Effekt als gefürchtete Nebenwirkung auftreten kann. Die Immuntherapie kann definitionsgemäss auch die Behandlung mit

monoklonalen Antikörpern oder die Verwendung der eigenen zellvermittelten Abwehr des Patienten, insbesondere seiner T-Lymphozyten, einschliessen. Wir konzentrieren uns hier insbesondere auf die neuesten, bereits verfügbaren Entwicklungen (v.a. auf die zellvermittelten Ansätze) und möchten einen Ausblick auf künftige Entwicklungen geben.

Mit diesen Therapien öffnet sich ein Feld neuer Komplikationen, wichtige Beispiele sind das Zytokin-Release-Syndrom (CRS) und die neurologischen Komplikationen. Aktuell verstehen wir die zugrunde liegenden Mechanismen nicht vollständig, dementsprechend muss die bestmögliche Behandlung erst noch festgelegt werden. Die Immuntherapie wird zurzeit bei ALL-Patienten mit äusserst schlechtem Risikoprofil im Falle eines Rezidivs oder einer MRD-Positivität eingesetzt.

Studien und Mechanismen

Antikörperkonjugate

Inotuzumab Ozogamicin (IO)

Unterschiedliche Untergruppen der B-ALL werden durch verschiedene Oberflächenantigene charakterisiert, eines der am häufigsten exprimierten Antigene ist CD22 (5). Da dieses Antigen einer Endozytose unterliegt (6), ist es ein ideales Ziel für ein antikörpervermitteltes Medikament, bei dem das antikörperassoziierte Toxin ins Innere der Zelle transportiert wird. IO (Besponsa[®]) besteht aus einem Anti-CD22-Antikörper, das mit Calicheamicin verbunden ist (7). Der Antikörper allein hat keinen zytotoxischen Effekt auf die Blasten (8).

ABSTRACT

Acute lymphoblastic leukaemia (ALL) – new options in young adults

The treatment of acute lymphoblastic leukaemia (ALL) is constantly evolving. Emerging new treatment options, the so-called immunotherapies, are starting to occur in the treatment of ALL, mainly in the relapse and refractory setting. This article aims to give an overview of the immunotherapeutic options for these patients currently available. We mainly describe the current standard of Blinatumomab and Inotuzumab treatment, and we describe the current study landscape of CART cell therapy in the ALL setting.

Keywords: ALL, immunotherapies, Blinatumomab, Inotuzumab, CART cell.

¹ Innere Medizin, FMI Spital Interlaken.

² Service d'hématologie, Centre Hospitalier Universitaire Vaudois, Lausanne.

Tabelle 1:
Inotuzumab in der ALL-Behandlung

Referenz	Phase	Patienten	Alter, Jahre (range)	Primärer Endpunkt	Sekundäre Endpunkte	Resultate	Nebenwirkungen
Kantarjian et al. (10)	II, rezidivierende oder refraktäre ALL, 1,8 mg/m ² alle 3–4 Wochen, einschliesslich Kinder, Rituximab erlaubt bei CD20+	n = 49	36 (6–80)	OR		ORR 57%, 18% (9) complete response, 39% (19) marrow complete response, 39% (19) resistant disease OS 5,1 Monate	Fieber, Hypotension, Leberassoziert, Zytopenien
Kantarjian et al. (11)	II, Extensionsstudie von (10), nächste 41 Patienten mit wöchentlicher Dosis von 0,8 mg/m ² (1. Woche) und 0,5 mg/m ² in der 2. und 3. Woche, alle 3–4 Wochen	n = 90	39,5 (4–84)			ORR 58%, 19% (17) CR, 30% (27) CRp, 9% (8) BM CR, gleiche Response-Raten in beiden Subgruppen, OS 5 Monate in Einzeldosis vs. 7 Monate in wöchentlicher Dosis, kein Unterschied bei MRD-positiven oder -negativen Patienten, tiefere Ansprechraten bei Philadelphia-positiven Patienten und bei t(4;11)	VOD in 17% nach HSCT (6/36)
Kantarjian et al. (12)	III, rezidivierende oder refraktäre ALL, 1:1-Randomisation IO vs. Standardchemo (FLAG, AraC/Mitox, HDAC) Dosis 0,8 mg/m ² d1, 0,5 mg/m ² d8 und 15, C2 bei d21, dann alle 4 Wochen, maximal 6 Zyklen	n = 326	IO: 47 (18–78) Standardchemo: 47 (18–79)	CR/CRi OS	MRD-Antwort, Remissionsdauer, PFS, Sicherheit, HSCT-Rate	IO vs. Chemo CR 80,7 vs. 29,4% OS 7,7 vs. 6,7 Monate MRD 78,4 vs. 28,1% PFS 5 vs. 1,8 Monate Remissionsdauer 4,6 vs. 3,1 Monate	v.a. Leberassoziert, Übelkeit, Kopfschmerzen, Fieber, Zytopenien einschliesslich febriler Neutropenien VOD 11% (n = 15), vs. 1, 2/5 mit VOD kurz nach IO waren post HSCT, 48 HSCT nach IO: 10 VOD (3 mit 2. HSCT), 4 im Gange, 1 Tod median 16 Tage bis VOD nach HSCT (3–39)

In einer Studie mit Non-Hodgkin-Lymphom-(NHL-) Patienten wurde eine venookklusive Erkrankung (VOD) bei 1 von 300 Patienten bemerkt (9). Im Gegensatz zu NHL-Patienten wird bei rezidivierenden und refraktären ALL-(r/rALL-)Patienten wenn immer möglich eine HSCT durchgeführt.

Bei ALL zeigten sich in der ersten publizierten Phase-II-Studie mit Follow-up relativ hohe CR-Raten im historischen Vergleich zur Standardtherapie, allerdings zeigte sich auch eine kurze Remissionsdauer (10, 11). In einer 2016 publizierten randomisierten Phase-III-Studie mit über 300 r/rALL-Patienten wurde IO mit einer Standardchemotherapie verglichen (12). Sie zeigte bessere CR-Raten im IO-Arm (80,7% vs. 29,4%), jedoch waren diese nur von kurzer Dauer, und das mittlere Gesamtüberleben (OS) war nur geringfügig besser (7,7 vs. 6,7 Monate). Die Remissionsraten waren in beiden Therapiearmen für die Subgruppen mit positivem Philadelphia-Chromosom (Ph+) und bei t(4;11)-ALL gleich. Typische Nebenwirkung dieser Behandlung war die VOD.

Table 1 (10–12) gibt einen Überblick über diese Studien.

Bispezifische T-Zell-Engagers (BiTE)

BiTE sind Moleküle, die Tumorzellen mit zytotoxischen T-Zellen verbinden, was durch Tumorzelllyse zum Zelltod führt. Diese Moleküle bestehen aus zwei einzelnen verknüpften, genetisch rekombinant hergestellten Antikörperketten (minimal binding domains): Die eine «minimal binding domain» hat ein extrazelluläres Antigen der malignen Zellen zum Ziel, in diesem Fall von leukämischen Blasten, die andere den T-Zell-Rezeptorkomplex. T-Zellen brauchen physischen Kontakt zu den Zielzellen, um ihre zytotoxische Wirkung zu entfalten. BiTE können Mechanismen der Tumorzellen, die eine Verbindung mit den T-Zellen zu entgehen, umgehen (13). Sie haben potenziell höhere Wirksamkeit als konventionelle monoklonale Antikörper.

Ein Beispiel für ein solches Molekül ist *Blinatumomab* (*Blinicyto*®), das für die Behandlung der ALL zugelassen ist (14). Es hat eine Bindungsstelle für CD3 und eine andere für CD19 und verbindet T-Zellen (CD3) mit ALL-Blasten (CD19) (*Abbildung 1*). Somit hängt die Wirksamkeit von Blinatumomab von der Verfügbarkeit der T-Zellen ab, welche nach mehreren Che-

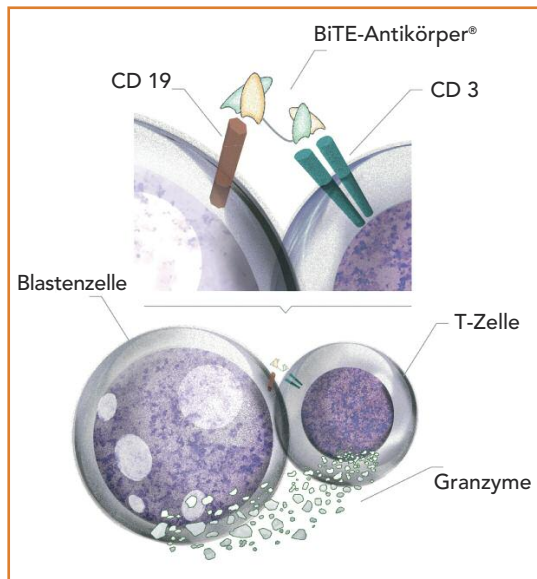


Abbildung 1: Wirkmechanismus des bi-spezifischen T-Zell-Engagers (BiTE): Es besteht eine Bindungsstelle für CD3 und eine andere für CD19. Verbunden werden T-Zellen (CD3) mit ALL-Blasten (CD19).

motherapiezyklen meist stark vermindert sind. Blinatumomab hat eine kurze Serumhalbwertszeit von 2 bis 3 Stunden, was bei starken Nebenwirkungen ein Vorteil sein kann; Blinatumomab muss dafür aber als Dauerinfusion verabreicht werden. Da CD19 auch auf anderen Zellen (z.B. reifen B-Zellen) exprimiert wird, ist die Therapie nicht spezifisch und führt zu einer gewissen Immunsuppression.

In einer Phase-II-Studie mit MRD-positiven Patienten wurden von 20 behandelten Patienten 16 MRD-negativ, alle nach dem ersten Zyklus und unabhängig vom BCR-ABL-Status (15). Diese Studie demonstrierte die Durchführbarkeit und die selbst bei Chemotherapieresistenz potenzielle Wirksamkeit einer Blinatumomab-Behandlung. 8 Patienten wurden danach ohne registrierte transplantationsbedingte Todesfälle mit einer HSCT behandelt. Diese Behandlung kann also als Überbrückung zur Transplantation verwendet werden und den MRD-Status verbessern, was wiederum nach HSCT prognostisch günstig ist. Es wurden Rezidive in extramedullären Organen beschrieben – Hinweis auf einen möglichen Ausweichmechanismus von inaktiven Tumorzellen, die in immunologisch abgeschotteten Organen wie Hirn oder Hoden überleben können. Zudem wurden Rezidive publiziert, deren Tumorzellen im Verlauf die Oberflächenantigene veränderten und CD19-negativ wurden. Die Langzeitüberlebensrate der Patienten betrug nach einer mittleren Beobachtungszeit von 33 Monaten 61%, 12 davon waren noch in kompletter Remission, ohne offensichtlichen Einfluss einer HSCT auf das OS (16). Eine weitere Phase-II-Studie mit 36 Patienten mit r/rALL, 15 davon im Rezidiv nach HSCT, ergab Raten von 69% CR oder CRh (CR mit partieller

hämatologischer Remission) (17). In der Regel war die CR-Rate nach mehreren Zyklen einer Salvage-Chemotherapie niedriger, am niedrigsten war sie bei einem Rezidiv nach HSCT. Von 25 Patienten mit CR oder CRh erreichten 88% eine MRD-Negativität. Bei 13 von 25 Patienten mit Remission wurde nachfolgend eine HSCT durchgeführt, dies mit hoher therapieassoziiierter Mortalität (TRM; bei 6 von 13), 2 rezidierten bis zum Publikationsdatum. Erneut waren von den 10 Patienten mit dokumentierten Rezidiven 3 Patienten CD19-negativ und 1 Patient extramedullär. 7 Patienten mit Ansprechen starben während der Studie ohne dokumentiertes Rezidiv, meist aufgrund von Infektionen. 6 von 36 Patienten (17%) entwickelten ZNS-Symptome, die zu einer Unterbrechung oder einem endgültigen Absetzen der Behandlung führten, 5 davon während der ersten Therapiwoche.

Da die Entwicklung von ZNS-Symptomen häufiger bei hoher Tumormast vorzukommen scheint, wurde eine zytoreduktive Prophase mit Cyclophosphamid bei hoher Tumormast empfohlen. Die 25 Patienten mit Remission zeigten nach einer mittleren Beobachtungszeit von 32,6 Monaten ein OS von 32,6 Monaten, ohne Einfluss des Transplantationsstatus (18). Es gab ein Plateau des OS nach 33 Monaten und eines für das rezidivfreie Überleben (RFS) nach 18 Monaten (HSCT nicht zensiert). Interessanterweise zeigten diese Langzeitüberlebenden während der ersten Behandlungszyklen eine starke T-Zell-Expansion, was einem Rezidiv vorbeugen könnte.

Die Wirksamkeit und die Sicherheit von Blinatumomab in der Behandlung von r/rALL wurden in einer anderen Phase-II-Studie mit 189 Patienten bestätigt (19). In dieser Studie wurde das aktuell gültige Verabreichungsschema getestet: 9 mcg/24 Stunden in der ersten Woche, 28 mcg/24 Stunden in den nachfolgenden 3 Wochen und in allen nachfolgenden 4 Wochenzyklen, mit 2 Wochen Pause zwischen den Behandlungszyklen. In dieser Studie wurde eine CR oder CRh bei 43% der Patienten beobachtet, 52% mit anschließender HSCT. Das OS betrug 6,1 Monate, die CR-Rate war höher bei Patienten mit einer Knochenmarkinfiltration < 50%.

In einer Phase-III-Studie wurde Blinatumomab mit einer Chemotherapie bei fortgeschrittener ALL verglichen (20). Diese Studie wurde gestoppt, als 75% der errechneten Todesfälle erreicht waren und sich ein Vorteil für die Blinatumomab-Gruppe gezeigt hatte (OS 7,7 vs. 4 Monate); die CR-Raten betragen 34% versus 16% (CR/CRh/Cri 44% vs. 25%). Bei Patienten mit kompletter Remission betrug die MRD-Negativität 76% vs. 48%. Die mittlere Remissionsdauer belief sich auf 7,3 vs. 4,6 Monate.

Eine weitere Phase-II-Studie mit Patienten mit r/rALL mit positivem Philadelphia-Chromosom bestätigte die Behandlungsmöglichkeit in dieser Gruppe und

Tabelle 2:

Blinatumomab in der ALL-Behandlung

Referenz	Phase	Patienten	Alter, Jahre (range)	Primärer Endpunkt	Sekundäre Endpunkte	Resultate	Nebenwirkungen
Topp et al. (15)	II, single arm, MRD+ oder Rezidiv nach Induktion und Konsolidation	n = 21	47 (20–77)	Wirksamkeit von Blinatumomab bei Patienten mit MRD+ B-ALL, Dosis: 15 µg/m ² /d, 4 Wochen on, 2 Wochen off	Sicherheit, Toleranz, Pharmakokinetik und -dynamik	16 Patienten MRD-, Wahrscheinlichkeit für RFS 78% nach 405 Tagen mittleren Follow-ups	Lymphopenie, Fieber, Schüttelfrost Verminderung der Immunglobuline, Hypokaliämie, 1 St. n. Epilepsie, 1 St. n. Konvulsions-synkope
Topp et al. (17)	II, single arm, rezidivierende oder refraktäre ALL	n = 36	32 (18–77)	CR/CRh Dosisfindungs-Run in: 1. Kohorte: 15 µg/m ² /d 2. Kohorte: 5 µg, gefolgt von 15 µg/m ² /d 3. Kohorte: 5,15,30 µg/m ² /d ZNS-Prophylaxe bei allen	MRD-Antwort, HSCT-Rate, RFS, OS, Inzidenz von NW	25 (69%) CR (CRh), 88% mit MRD-Antwort, median OS 9,8 Monate (8,5–14,9), median RFS 7,6 Monate (4,5–9,5), 13 (52%) HSCT nach CR	Fieber, 6 Patienten mit ZNS-NW, 2 Patienten mit St. n. CRS
Topp et al. (19)	II, single arm, nur Ph-	n = 189		CR/CRh, MRD Dosis: 28 µg/m ² /d 4 Wochen on, 2 Wochen off, erste Woche des 1. Zyklus 9 µg/m ² /d	RFS, OS, HSCT-Rate, Mortalität 100 Tage nach HSCT, Inzidenz und Schweregrad der NW	81 (43%) CR, einschliesslich 63 (33%) CRh, CR/CRh in 73% der Patienten mit < 50% KM-Blasten und 29% der Patienten mit > 50% KM-Blasten RFS der CR/CRh-Patienten: 5,9 Monate OS 6,1 Monate für alle Patienten, 82% der Responders mit MRD-Antwort	Fieber, Kopfschmerzen, febrile Neutropenie, periphere Ödeme, Hypokaliämie, Obstipation, 2% CRS, 18% mit endgültigem Absetzen wegen NW, 12% mit fatalen NW, v.a. Infektionen, 52% mit neurologischen Ereignissen, v.a. Grad 1–2 und im 1. Zyklus
Kantarjian et al. (20)	III, Blinatumomab vs. Chemotherapie 2:1-Randomisation	n = 376	41 (18–80)	OS	CR/CRh/Cri, EFS, CR-Dauer, MRD-Remission, HSCT-Rate, NW-Rate	OS Blinatumomab vs. Chemotherapie 7,7 vs. 4 Monate, CR 34 vs. 16%, CR/CRh/Cri 44 vs. 25%, EFS 31 vs. 12% nach 6 Monaten, Remissionsdauer 7,3 vs. 4,6 Monate	Neutropenie, infektionen, erhöhte Leberwerte, neurologische Ereignisse, CRS, Lymphopenie, Infusionsreaktionen, Zytopenie
Martinelli et al. (21)	II, single arm, Philadelphia-positive B-ALL	n = 45	55 (23–78)	Anteil an CR/CRh	MRD-Antwortrate, RFS, OS, allo-HSCT nach Remission	36% (n = 16) mit CR (n = 14)/CRh in den ersten 2 Zyklen, 14 Patienten mit MRD-Antwort, 40% Antwort in T315I-Mutationen (einschliesslich MRD), median RFS 6,7 Monate, RFS bei Patient mit MRD-Antwort 6,8 Monate, median OS 7,1 Monate, nicht erreicht bei Patienten mit kompletter MRD-Antwort nach 5,4 Monaten mittleren Follow-ups	Fieber, febrile Neutropenie, Kopfschmerzen, Thrombozytopenie, Anämie, Leberwert-erhöhung, 5 Patienten mit fatalen NW: Multiorganversagen, Sepsis, zerebrale Hämorrhagie, respiratorisches Versagen CRS bei 3 Patienten, führte bei keinem zur Beendigung der Behandlung, 47% neurologische Ereignisse
Topp et al. (22)	Analyse von Blinatumomab Reexposition	n = 11	25 (4–77)	Anteil an erneutem Ansprechen bei Rezidiv nach Blinatumomab		36% ORR (4/11), alle im ersten Zyklus, alle CD19+, medianes OS für alle 9,4 Monate	wie in vorherigen Studien

zeigte eine CR/CRh von 36%, meistens mit MRD-Negativität (21) und mit ähnlicher CR-Rate bei Patienten mit T315I-Mutation. Das OS ist auch in dieser Studie mit 7,1 Monaten kurz, mit oder ohne Rücksicht auf eine allogene HSCT.

Eine kürzlich veröffentlichte Studie demonstrierte das erneute Ansprechen bei 4 von 11 Patienten (36%), die nach Blinatumomab-Behandlung rezidierten und erneut damit behandelt wurden, alle im ersten Zyklus und alle CD19-positiv (22).

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über diese Studien.

Die meisten Nebenwirkungen treten im ersten Behandlungszyklus auf, weshalb die ersten 9 Behandlungstage im Spital verbracht werden. Die häufigsten Nebenwirkungen sind Fieber, Kopfschmerzen, Grippe- und ZNS-Symptome. Das CRS ist selten und zudem nach Unterbrechung der Infusion rasch reversibel.

Tandem-Diabodies (TandAb)

TandAb sind tetravalente bispezifische Antikörper mit zwei Bindungsstellen für jedes Antigen. Aufgrund des höheren Molekulargewichts ist die renale Elimination langsamer, sodass ohne Dauerinfusion die Verabreichung deutlich vereinfacht werden kann (23). Ein TandAb (AFM11) wurde gegen CD19-positive Zellen entwickelt (24). Dieses Molekül zeigte eine höhere In-vitro-Lyse von CD19-positiven Zellen als ein entsprechendes BiTE-Molekül, dies bei einer nur kleinen Abhängigkeit von der Effektor-Ziel-Ratio. In einem Mausmodell wurde eine Hemmung des Tumorwachstums nachgewiesen, die Halbwertszeit betrug bis zu 23 Stunden. In einer Dosierungsreihe war eine einzige Anwendung wohl effizient genug, um alle Tumorzellen zu eradizieren. Auch in einer humanen B-CLL-Zelllinie konnte die Wirksamkeit nachgewiesen werden.

Die TandAb könnten in Zukunft die BiTE ersetzen, da sie eine längere Halbwertszeit und auch eine höhere Bindungsaffinität aufweisen. Die Wirksamkeit muss in humanen Studien nachgewiesen werden. Eine Phase-I-Studie mit TandAb gegen CD30-positive Zellen bei M. Hodgkin demonstrierte eine Plasmahalbwertszeit von 19 Stunden (25). Das CRS bleibt eine mögliche Nebenwirkung; es besteht die Hoffnung auf weniger ZNS-Nebenwirkungen aufgrund des höheren Molekulargewichts.

Chimerische Antigen-Rezeptor-T-Zellen (CART)

Auf der Pionierarbeit von Rosenbergs Team in den späten 1980er-Jahren aufbauend, hat sich der adoptive Zelltransfer von tumorinfiltrierenden Lymphozyten (TIL) als neue Therapiemöglichkeit bei soliden Tumoren etabliert (26). Die frühen Erfolge bei der Behandlung von Melanomen führten zu weiterer Forschung mit Verbesserung der Wirksamkeit und der Toleranz sowie zur Ausweitung der Indikationen und der Durchführbarkeit (27, 28).

Tumorzellspezifische T-Zellen können durch Gentransfertechnologie mittels viraler oder nicht viraler Vektoren hergestellt werden (29, 30). Dieses Konzept ist ein Paradigmenwechsel hin zur Verwendung einer auf selektive Antigene ausgerichteten Immuntherapie und hin zur biologischen Konstruktion von T-Zellen, die einen chimerischen Antigenrezeptor (CAR) tragen. Dieser besteht aus einem extrazellulären, antigenerkennenden Komplex (Einzelketten-Antikörper oder Rezeptorligand), der über eine «hinge»-Region und eine transmembranäre Domain mit einer intrazellulären Signalisationsdomain (FcR-Rezeptor gamma oder CD3-Zeta-Kette) verbunden ist (31, 32). CAR-T-Zellen (CART) sind gegen ein selektiv ausgewähltes Antigen gerichtet; in der TIL-Therapie hingegen reagiert eine Vielzahl von Lymphozyten mit verschiedenen Tumor-Neoantigen-Epitopen über ihren natürlichen T-Zell-Rezeptor (TCR) (33, 34). Zur Aufnahme und Expansion dieser Zellen im Wirt ist eine Vorbehandlung mit einer lymphozytendepletierenden Konditionierungschemotherapie sowie eine Behandlung mit IL-2 nach der Reinfusion notwendig (35). Erste Versuche, eine Tumorregression mit CART zu erreichen, haben aus verschiedenen Gründen versagt. Die erste Generation von CART hatte eine kurze Halbwertszeit und konnte nicht lange genug im Wirt überleben, um ihr Ziel zu erreichen (36, 37). Um der Apoptose der CART zu entgehen, die durch die Tumorumgebung über Zytokine und T-Reg-Interaktionen ausgelöst wird, wurden sogenannte kostimulierende Moleküle (CM) durch ein geändertes intrazytoplasmatisches Signaling hinzugefügt. Die physiologische Erkennung von Epitopen durch den TCR auf einem «Major Histocompatibility Complex» (MHC) benötigt zusätzliche kostimulierende Signale zur Aktivierung der T-Zell-Antwort und der Proliferation. Dem chimären Rezeptor-Antigen-Komplex fehlt eine solche physiologische Kostimulation. Deswegen wurden durch Gen-Engineering zytoplasmatische, rezeptorgebundene Proteine wie CD28 oder CD137 (4-1BB CAR der zweiten Generation) hinzugefügt (37–42). Die Überlegenheit der CART der zweiten Generation bezüglich der In-vivo-Proliferation und des Überlebens wurde 2011 bei Patienten mit B-Lymphomen bewiesen (37).

Verschiedene Forschungsgruppen haben die T-Zell-Antwort durch die Zugabe von CD137-Endodomain zu CD28 im präklinischen Kontext weiterentwickelt (3. Generation) (43–46). Die Einführung von weiteren CM wie OX40 oder ICOS hat die Wirksamkeit wohl auch weiter verbessert (47, 48). Die Verbesserung der CAR durch die Zugabe von kostimulierenden Liganden (4-1BBL) und die programmierte Zytokinproduktion (IL-12) wird aktuell untersucht (4. Generation, sogenannte TRUCK-T-Zellen) (49, 50). *Abbildung 2* gibt einen Überblick über die verschiedenen CAR-Generationen.

Im Fokus: Malignome bei jungen Erwachsenen

Das CRS ist eine der wichtigsten Nebenwirkungen der CART-Therapie und direkt mit der verbesserten T-Zell-Expansion und der antitumoralen Aktivität der neuen Generationen verbunden (51). Auch die Kreuzreaktivität gegen andere als die Zielzellen, selbst wenn das Antigen nur schwach exprimiert wird, könnte mitwirken (51). Die Behandlung dieser Nebenwirkungen, oft begleitet von Multiorganversagen, verlangt nach einer intensivmedizinischen Infrastruktur mit multidisziplinärer Behandlung.

Die B-ALL ist ein einzigartiges Behandlungsfeld für die T-Zell-Therapien, erstens weil wichtige Hürden wie Probleme durch das «T-Zell-trafficking» wegfallen, da die Hauptlokalisation das Knochenmark und die Blutbahn sind, und zweitens weil die B-Zell-Depletion/Aplasie (z.B. Hypogammaglobulinämie) eine behandelbare Nebenwirkung ist (52, 53).

Abbildung 3 gibt eine schematische Übersicht über die CART-Produktion und -Therapie.

Die CD19-CART-Therapie zeigt antitumorale Wirkung gegen mehrere B-Zell-Malignome, mit der höchsten Wirksamkeit gegen r/rALL, diffus grosszellige B-Zell-Lymphome (DLBCL) und in geringerem Ausmass gegen die chronisch lymphatische Leukämie (CLL) (47, 54–60). Die Wirksamkeit wird durch einen Verlust des Zielantigens (verkleinertes Protein, Split-Varianten) oder durch eine Checkpoint-vermittelte Reaktionsverminderung (CTLA4, PDL-1) herabgesetzt (26, 28).

Die ersten klinischen Erfahrungen mit CART wurden bei zwei Kindern mit r/rALL gemacht (59). Beide erreichten eine CR, eines rezidierte rasch, das andere war zum Zeitpunkt der Publikation noch in Remission. Beide zeigten ein CRS und eine B-Zell-Depletion. Diese Erfahrung bewies die Durchführbarkeit, also wurde eine Phase-I/IIa-Studie mit 30 meist pädiatrischen Patienten durchgeführt (61). In dieser Hochrisikokohorte erreichten 90% eine CR mit einem OS von 78% nach 6 Monaten, und dies, obwohl die meisten Patienten nach der CART-Behandlung keine HSCT erhielten. Die Resultate wurden anlässlich eines Meetingabstracts für die pädiatrischen Patienten und die jungen Erwachsenen (bis 24 Jahre) aktualisiert, inzwischen wurden 53 Patienten behandelt. Die CR lag bei 94%, die EFS bei 70% nach 6 Monaten und bei 45% nach 12 Monaten, das OS lag bei 78% nach 12 Monaten (62).

Etwa gleichzeitig behandelten Brentjens und Kollegen 5 Patienten mit r/rALL (63). Sie konnten ebenfalls zeigen, dass die CART hochwirksam waren, 4 der 5 Patienten hatten eine persistierende Erkrankung nach einer Salvage-Therapie zum Zeitpunkt der CART-Infusion. Danach wurde eine Phase-I-Studie mit 16 Patienten durchgeführt (64). Dabei führten die CART zu einer CR-Rate von 88% sowie zu einer MRD-Negativität von 77%. Auch diese Resultate wurden als Meetingabstract aktualisiert, inzwischen mit 44

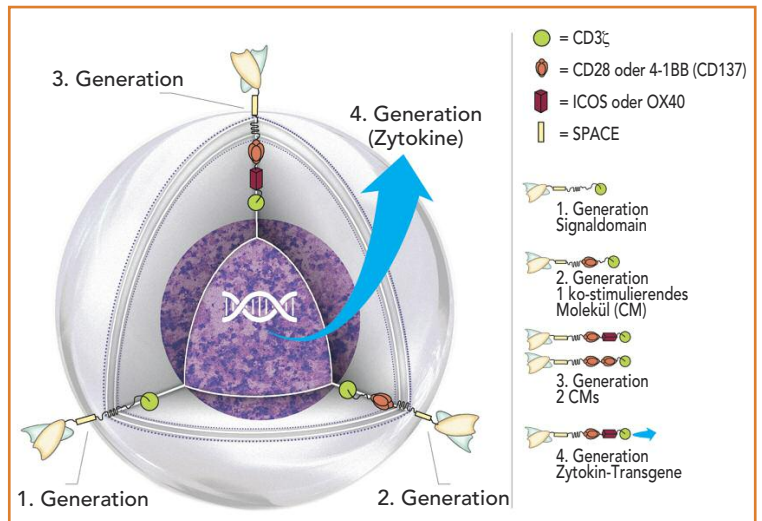


Abbildung 2: Verschiedene CART-Zell-Generationen (1. bis 4. Generation).

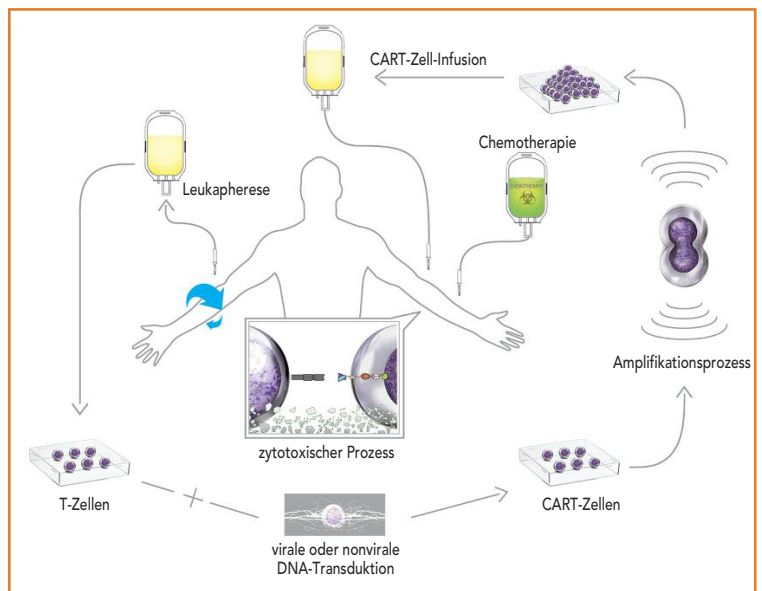


Abbildung 3: Schematische Übersicht über die CART-Produktion und -Therapie.

Patienten (65). Die CR-Rate betrug 84% und die MRD-CR-Rate 83%. Das mittlere OS war stark vom MRD-Status abhängig (76% für MRD-negative Patienten und 14% für MRD-positive).

Lee und Kollegen haben 19 von 21 eingeschlossenen Patienten (1–30 Jahre) mit r/rALL und NHL in einer Phase-I-Studie mit CART behandelt (53). In der Intention-to-treat-Analyse betrug die CR-Rate 66,7% mit einer MRD-Negativität von 60%. Nach 10 Monaten betrug das OS 51,6%. Es traten die erwarteten Nebenwirkungen wie in den anderen CART-Studien auf. Eine Extensionsstudie wurde als Abstract publiziert, mit bis dahin 39 eingeschlossenen Patienten (66). Die CR-Rate betrug 59% gesamt und 61% in der ALL-Gruppe. 13 von 16 Patienten mit niedriger Tumorlast (81%) erreichten eine CR, 10 von 22 (46%) in der Gruppe mit hoher Tumorlast. Bei 20 Patienten mit einer MRD-CR betrug die LFS 17,7 Monate.

Tabelle 3:

CART in der Behandlung der ALL

Referenz	Phase	Patienten	Alter (Jahre)	Resultate	Nebenwirkungen
Grupp et al. (59)	II bei Kindern	n = 2	7 und 10	CR bei beiden, 1 noch aktuell, 1 Rezidiv (CD19-Blasten) 2 Monate nach Behandlung	CRS B-Zell-Aplasie
Maude et al. (61)	I, IIa rezidivierende/refraktäre ALL	n = 30	14 (5–60)	CR bei 90% (27), einschliesslich 2 Blinatumumab-resistente Patienten und 15 nach HSCT, 6 Monate EFS: 67% und OS 78%, sustained remission bei 19 Patienten (15 ohne weitere Therapie), 3 mit nachfolgender HSCT	CRS bei allen Patienten, schwer bei 27%
Grupp et al. (62)	Follow-up-Studie der obigen	n = 53	11 (4–24)	CR 94%, MRD – bei 45 Patienten mit Ansprechen nach 1 Monat, nach medianem Follow-up von 10,6 Monaten: 29 Patienten in weitergehender CR, EFS 70% nach 6 Monaten und 45% nach 12 Monaten, RFS 72% nach 6 Monaten und 44% nach 12 Monaten, OS 78% nach 12 Monaten	alle mit CRS, ausser 5 Patienten
Brentjens et al. (63)	rezidivierende ALL, 4 mit persistierender Erkrankung nach Salvage-Chemotherapie zur Zeit CART-Infusion	n = 5	66, 56, 59, 58, 23	alle 5 in MRD-CR unabhängig von der Tumormasse	signifikante Erhöhung der Zytokine
Davila et al. (64)	I rezidivierende oder refraktäre ALL	n = 16	23–74	88% CR, 77% MRD–	CRS, neurologische Toxizität
Park et al. (65)	Langzeit-Follow-up der obigen Studie	n = 44	45 (22–74)	43 auswertbar, 22 mit morphologischer Erkrankung zur Zeit der CART, 21 mit MRD, 36 (84%) CR, 83% MRD–, 16 Patienten mit 6 oder mehr Monaten Follow-up: 7 disease free über 1 Jahr bis 45 Monate, median OS alle MRD-CR: 8,5 Monate/10,8 Monate, MRD-OS nach 6 Monaten: 76%, MRD+ OS nach 6 Monaten: 14%, kein Einfluss einer HSCT nach CART	wie oben
Lee et al. (53)	I mehrheitlich ALL, aber einschliesslich NHL	n = 21	1–30	CR 66,7%, MRD – 60%, OS nach 10 Monaten Follow-up: 51,6%	Grad-4-CRS: 14%, Fieber (43%), Hypokaliämie (43%), Fieber und Neutropenie (38%)
Lee et al. (66)	Extensionsstudie der obigen	n = 39	Extensionskohorte: 4–25	CR 59%, 61% in ALL, 13/16 (81%) mit low burden und 10/22 mit high burden ALL haben eine CR, 20 Patienten mit MRD-CR: LFS 17,7 Monate	wie oben
Kebriaei et al. (70)	ALL und NHL	n = 26, einschliesslich 17 ALL	21–61	1-Jahres-PFS 53%, 1-Jahres-OS 63%	3 GVHD
Cruz et al. (71)	ALL und NHL, Rezidiv nach HSCT	n = 8, einschliesslich 4 ALL	9–59	6 im Rezidiv: 2 mit Ansprechen (1 mit ALL), 2 ohne Rezidiv in weitergehender Remission nach 2 und 8 Monaten	
Turtle et al. (67)	ALL rezidivierende ALL	n = 32	40 (20–73)	93% CR, 86% MRD –	
Gardner et al. (68)	ALL	n = 45	1–27	89% MRD-CR, 12 Monate EFS 50,8% und OS 69,5%, 18 Rezidive, 7 CD19-, 1 Lineage Switch zu AML	B-Zell-Aplasie, CRS 93%, 49% Neurotoxizität
Maude et al. (69)	I–II vorbehandelte ALL	n = 75	2–23	81% ORR, alle MRD –, 6 Monate EFS und OS 73 bzw. 90%, nach 12 Monaten 50 bzw. 76%, 15/16 beim Rezidiv CD19-negativ	
Fry et al. (72)	I transplantierte ALL	n = 21	7–30	17 der Patienten mit CD19- Immuntherapie vorbehandelt (15 mit CART), 73% CR (11/15) mit $\geq 1 \times 10^6$ CD22-CART/kg, mediane Ansprechdauer: 6 Monate, Rezidiv mit Verlust von CD22	

Eine andere CART-Studie mit einer optimierten CD4/CD8-Ratio mit 29 ALL-Patienten wurde publiziert (67). Eine CR konnte bei 93% erreicht werden, mit einer MDR-CR bei 86%. Eine Phase-I/II-Studie mit 45 Patienten (1–27 Jahre) mit r/rALL zeigte nach einer

CART-Behandlung ein OS von 74% nach einem Jahr mit einem krankheitsfreien 1-Jahres-Überleben von 53% (68).

Kürzlich wurden die Daten einer CD19-CART-Phase-I/II-Studie mit 75 vorbehandelten Patienten (3–23

Jahre) veröffentlicht, die Remissionsraten von 81%, alle MRD-negativ, demonstrierten (69). Nach 6 Monaten betrug das ereignisfreie Überleben und das Gesamtüberleben 73% respektive 90%, nach 12 Monaten 50 respektive 76%. 15 von 16 Patienten waren beim Rezidiv CD19-negativ. Weitere CART-CD19-Studien (70–71) sind in *Tabelle 3* aufgeführt.

Bisher wurde eine Phase-I-Studie mit 21 bereits transplantierten Patienten (7–30 Jahre) mit CD22-CART publiziert (72). 17 Patienten waren mit CD19-gerichteter Immuntherapie vorbehandelt, davon 15 mit CART. Die Aktivität dieser CART war dosisabhängig mit 73%iger CR (bei 11/15 Patienten) (mit $\geq 1 \times 10^6$ CD22-CART/kg), inklusive 5 Patienten mit CD19-negativer oder schwach exprimierender ALL. Die mediane Ansprechdauer betrug 6 Monate. Auch hier zeigte sich im Rezidiv der Verlust der Antigenexpression, hier CD22. *Tabelle 3* gibt einen Überblick über diese CART-Studien.

Immun-Checkpoint-Inhibitoren (ICPI)

Bei einer Neoplasie versagt die Immunüberwachung des Wirtes. Ein möglicher Ausweichmechanismus ist der «programmed death-1 (PD-1)»-Signalweg (28). Der PD-1-Rezeptor ist Teil der Immunglobulin-Superfamilie, die von T- und B-Lymphozyten, NK-Zellen und myeloischen Zellen exprimiert wird; er interagiert mit den Rezeptorliganden PD-L1 und PD-L2. Die Hauptaufgabe dieses Pathways (Signalwegs) ist die Downregulation der Immunantwort durch Aktivierung der Apoptose der aktivierten T-Zellen (73, 74). Das Blockieren des Signalwegs führt zur Up-Regulation der Immunantwort.

Der Erfolg der PD-1-blockierenden Medikamente bei der Behandlung solider Tumoren führt nun zu entsprechenden Studien bei hämatologischen Neoplasien. Bei adulten T-Zell-Neoplasien einschliesslich HTLV-1 getriggert Leukämie konnte auf T-Zellen eine PD-1- und eine PD-L1-Expression demonstriert werden (75).

Diskussion

Die Immuntherapie findet aktuell nur bei rezidivierenden oder refraktären ALL-Patienten oder bei MRD-Positivität Verwendung. Trotz Hochrisikoprofil dieser Patientenpopulation zeigen die aktuell erhältlichen Immuntherapien Wirksamkeit. In Zukunft könnten die weniger gefährlichen immuntherapeutischen Strategien als Erstlinienbehandlung etabliert werden, sodass das Outcome der Patienten mit ALL verbessert werden könnte. Diese Strategien sind bei der ALL weiter fortgeschritten als bei der AML, obwohl diese eine höhere Prävalenz und eine schlechtere Heilungsrate aufweist. Kombinationen von verschiedenen Immuntherapien werden aktuell nicht verwendet, auch ist der richtige Zeitpunkt des Einsatzes nicht klar definiert. Der Stellenwert sowie die rich-

tige Reihenfolge der Immuntherapien in Kombination mit oder anstatt einer HSCT müssen etabliert werden.

Therapiekriterien

Im Gegensatz zu den Studienergebnissen mit Blinatumomab scheint Inotuzumab Ozogamicin (IO) bei Patienten mit positivem Philadelphia-Chromosom und ALL weniger wirksam. Ohne HSCT war das Ansprechen zudem nicht dauerhaft. Bei der Wahl zwischen IO und Blinatumomab mit vergleichbaren Ansprechraten müssen das Nebenwirkungsprofil und die individuelle Patientensituation beachtet werden. Bei Philadelphia-Chromosom-positiven Patienten und bei Patienten mit hohem VOD-Risiko und vor oder nach HSCT scheint Blinatumomab die bessere Wahl.

Bezüglich der CART wurden bereits mehrere Generationen von CAR hergestellt, die Resultate stimmen zuversichtlich. Es gilt, Nebenwirkungen zu vermindern. CART sind keine Standardbehandlung, kürzliche Rückschritte zeigten mögliche Gefahrenquellen auf, namentlich als JCAR015 das Auftreten von Hirnödemen und den nachfolgenden Tod mehrerer Patienten verursachte. Nicht für alle Patienten ist die Herstellung von CART erfolgreich. Nicht nur ist diese Behandlung keine Standardtherapie; die Herstellung der Zellen ist zudem individuell und dementsprechend kosten- und zeitintensiv. Erste Erfahrungen mit allogenen Off-The-Shelf-CART werden gemacht. 2015 wurde ein 15-monatiges Kind behandelt, es befand sich nach 18 Monaten in Remission, 6 Monate später wurde ein zweites 16-monatiges Kind behandelt, das sich nach 12 Monaten in Remission befand. Diese Behandlung scheint Erfolg versprechend und kann die Kosten, die Zeit bis zur Behandlung und damit die Verfügbarkeit verbessern (76).

Zuletzt sind auch andere Behandlungen wie Impfungen oder die Entwicklung von BCR-ABL-spezifischen T-Zellen interessant, doch wenige dieser Behandlungen finden aktuell Anwendung in der Klinik. ■

Dr. med. Sabine Blum
(Erstautorin, Korrespondenzadresse)
Service d'hématologie
Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV)
1011 Lausanne
E-Mail: sabine.blum@chuv.ch

Dr. med. Raphaël Stadelmann
Innere Medizin
Spital Interlaken

Dr. med. Filipe Martins
Service d'hématologie
Centre Hospitalier Universitaire Vaudois (CHUV)
1011 Lausanne

Anmerkung:
Die Autoren danken Roger Guindon für die Erstellung der Abbildungen.

Quellen:

- Gokbuget N, Hoelzer D, Arnold R, et al.: Treatment of Adult ALL according to protocols of the German Multicenter Study Group for Adult ALL (GMALL). *Hematology/oncology clinics of North America* 2000; 14: 1307–1325, ix.
- Gokbuget N, Stanze D, Beck J, et al.: Outcome of relapsed adult lymphoblastic leukemia depends on response to salvage chemotherapy, prognostic factors, and performance of stem cell transplantation. *Blood* 2012; 120: 2032–2041. DOI: 10.1182/blood-2011-12-399287.
- Kantarjian HM, Thomas D, Ravandi F, et al.: Defining the course and prognosis of adults with acute lymphocytic leukemia in first salvage after induction failure or short first remission duration. *Cancer* 2010; 116: 5568–5574. DOI: 10.1002/cncr.25354.
- Bassan R, Spinelli O, Oldani E, et al.: Improved risk classification for risk-specific therapy based on the molecular study of minimal residual disease (MRD) in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood* 2009; 113: 4153–4162. DOI: 10.1182/blood-2008-11-185132.
- Picaluga PP, Arpinati M, Candoni A, et al.: Surface antigens analysis reveals significant expression of candidate targets for immunotherapy in adult acute lymphoid leukemia. *Leukemia & lymphoma* 2011; 52: 325–327. DOI: 10.3109/10428194.2010.529206.
- Shan D and Press OW.: Constitutive endocytosis and degradation of CD22 by human B cells. *J Immunol* 1995; 154: 4466–4475.
- Damle NK and Frost P.: Antibody-targeted chemotherapy with immunoconjugates of calicheamicin. *Curr Opin Pharmacol* 2003; 3: 386–390.
- Carnahan J, Stein R, Qu Z, et al.: Epratuzumab, a CD22-targeting recombinant humanized antibody with a different mode of action from rituximab. *Mol Immunol* 2007; 44: 1331–1341. DOI: 10.1016/j.molimm.2006.05.007.
- Advani A, Coiffier B, Czuczman MS, et al.: Safety, pharmacokinetics, and preliminary clinical activity of inotuzumab ozogamicin, a novel immunoconjugate for the treatment of B-cell non-Hodgkin's lymphoma: results of a phase I study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2010; 28: 2085–2093. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.1900.
- Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, et al.: Inotuzumab ozogamicin, an anti-CD22-calicheamicin conjugate, for refractory and relapsed acute lymphocytic leukaemia: a phase 2 study. *The Lancet Oncology* 2012; 13: 403–411. DOI: 10.1016/S1470-2045(11)70386-2.
- Kantarjian H, Thomas D, Jorgensen J, et al.: Results of inotuzumab ozogamicin, a CD22 monoclonal antibody, in refractory and relapsed acute lymphocytic leukemia. *Cancer* 2013; 119: 2728–2736. DOI: 10.1002/cncr.28136.
- Kantarjian HM, DeAngelo DJ, Stelljes M, et al.: Inotuzumab Ozogamicin versus Standard Therapy for Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England journal of medicine* 2016; 375: 740–753. DOI: 10.1056/NEJMoa1509277.
- Offner S, Hofmeister R, Romaniuk A, et al.: Induction of regular cytolytic T cell synapses by bispecific single-chain antibody constructs on MHC class I-negative tumor cells. *Mol Immunol* 2006; 43: 763–771. DOI: 10.1016/j.molimm.2005.03.007.
- Baeuerle PA, Kufer P and Bargou R. BiTE: Teaching antibodies to engage T-cells for cancer therapy. *Curr Opin Mol Ther* 2009; 11: 22–30.
- Topp MS, Kufer P, Gokbuget N, et al.: Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2011; 29: 2493–2498. DOI: 10.1200/JCO.2010.32.7270.
- Topp MS, Gokbuget N, Zugmaier G, et al.: Long-term follow-up of hematologic relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab in patients with MRD in B-lineage ALL. *Blood* 2012; 120: 5185–5187. DOI: 10.1182/blood-2012-07-441030.
- Topp MS, Gokbuget N, Zugmaier G, et al.: Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2014; 32: 4134–4140. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.3247.
- Zugmaier G, Gokbuget N, Klinger M, et al.: Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment. *Blood* 2015; 126: 2578–2584. DOI: 10.1182/blood-2015-06-649111.
- Topp MS, Gokbuget N, Stein AS, et al.: Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *The Lancet Oncology* 2015; 16: 57–66. DOI: 10.1016/S1470-2045(14)71170-2.
- Kantarjian H, Stein A, Gokbuget N, et al.: Blinatumomab versus Chemotherapy for Advanced Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England journal of medicine* 2017; 376: 836–847. DOI: 10.1056/NEJMoa1609783.
- Martinelli G, Boissel N, Chevallier P, et al.: Complete Hematologic and Molecular Response in Adult Patients With Relapsed/Refractory Philadelphia Chromosome-Positive B-Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia Following Treatment With Blinatumomab: Results From a Phase II, Single-Arm, Multicenter Study. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2017; JCO2016693531. DOI: 10.1200/JCO.2016.69.3531.
- Topp MS, Stelljes M, Zugmaier G, et al.: Blinatumomab retreatment after relapse in patients with relapsed/refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2018; 32: 562–565. 2017/10/11. DOI: 10.1038/leu.2017.306.
- Reusch U, Harrington K, Gudgeon C, et al.: Characterization of CD33/CD3 Tetravalent Bispecific Tandem Diabodies (TandAbs) for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research* 2016. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0350.
- Reusch U, Duell J, Ellwanger K, et al.: A tetravalent bispecific TandAb (CD19/CD3), AFM11, efficiently recruits T cells for the potent lysis of CD19(+) tumor cells. *MABS* 2015; 7: 584–604. DOI: 10.1080/19420862.2015.1029216.
- Rothe A, Sasse S, Topp MS, et al.: A phase 1 study of the bispecific anti-CD30/CD16A antibody construct AFM13 in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2015; 125: 4024–4031. DOI: 10.1182/blood-2014-12-614636.
- Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY, et al.: CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994; 1: 405–413.
- Stein C, Kellner C, Kugler M, et al.: Novel conjugates of single-chain Fv antibody fragments specific for stem cell antigen CD123 mediate potent death of acute myeloid leukaemia cells. *British journal of haematology* 2010; 148: 879–889. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.08033.x.
- Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, et al.: PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008; 26: 677–704. DOI: 10.1146/annurev.immunol.26.021607.090331.
- Scholler J, Brady TL, Binder-Scholl G, et al.: Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. *Sci Transl Med* 2012; 4: 132ra153. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003761.
- Biffi A, Bartolomea CC, Cesana D, et al.: Lentiviral vector common integration sites in preclinical models and a clinical trial reflect a benign integration bias and not oncogenic selection. *Blood* 2011; 117: 5332–5339. DOI: 10.1182/blood-2010-09-306761.
- Fujiwara H. Adoptive immunotherapy for hematological malignancies using T cells gene-modified to express tumor antigen-specific receptors. *Pharmaceuticals (Basel)* 2014; 7: 1049–1068. DOI: 10.3390/ph7121049.
- Maus MV, Grupp SA, Porter DL, et al.: Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood* 2014; 123: 2625–2635. DOI: 10.1182/blood-2013-11-492231.
- Sun C, Dotti G and Savoldo B.: Utilizing cell-based therapeutics to overcome immune evasion in hematologic malignancies. *Blood* 2016; 127: 3350–3359. DOI: 10.1182/blood-2015-12-629089.
- Schumacher TN, Schreiber RD.: Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science* 2015; 348: 69–74. DOI: 10.1126/science.aaa4971.
- Gattinoni L, Finkelstein SE, Klebanoff CA, et al. Removal of homeostatic cytokine sinks by lymphodepletion enhances the efficacy of adoptively transferred tumor-specific CD8+ T cells. *J Exp Med* 2005; 202: 907–912. DOI: 10.1084/jem.20050732.
- Jensen MC, Popplewell L, Cooper LJ, et al.: Antitransgene rejection responses contribute to attenuated persistence of adoptively transferred CD20/CD19-specific chimeric antigen receptor redirected T cells in humans. *Biology of blood and marrow transplantation: journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation* 2010; 16: 1245–1256. DOI: 10.1016/j.bbmt.2010.03.014.
- Savoldo B, Ramos CA, Liu E, et al.: CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *The Journal of clinical investigation* 2011; 121: 1822–1826. DOI: 10.1172/JCI46110.
- Loskog A, Giandomenico V, Rossig C, et al.: Addition of the CD28 signaling domain to chimeric T-cell receptors enhances chimeric T-cell resistance to T regulatory cells. *Leukemia* 2006; 20: 1819–1828. DOI: 10.1038/sj.leu.2404366.
- Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, et al.: Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta /CD28 receptor. *Nature biotechnology* 2002; 20: 70–75. DOI: 10.1038/nbt0102-70.
- Kowolik CM, Topp MS, Gonzalez S, et al.: CD28 costimulation provided through a CD19-specific chimeric antigen receptor enhances in vivo persistence and antitumor efficacy of adoptively transferred T cells. *Cancer research* 2006; 66: 10995–11004. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0160.
- Imai C, Mihara K, Andreansky M, et al.: Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2004; 18: 676–684. DOI: 10.1038/sj.leu.2403302.
- Tammana S, Huang X, Wong M, et al.: 4-1BB and CD28 signaling plays a synergistic role in redirecting umbilical cord blood T cells against B-cell malignancies. *Human gene therapy* 2010; 21: 75–86. DOI: 10.1089/hum.2009.122.
- Wang J, Jensen M, Lin Y, et al.: Optimizing adoptive polyclonal T cell immunotherapy of lymphomas, using a chimeric T cell receptor possessing CD28 and CD137 costimulatory domains. *Human gene therapy* 2007; 18: 712–725. DOI: 10.1089/hum.2007.028.
- Finney HM, Akbar AN, Lawson AD.: Activation of resting human primary T cells with chimeric receptors: costimulation from CD28, inducible costimulator, CD134, and CD137 in series with signals from the TCR zeta chain. *J Immunol* 2004; 172: 104–113.
- Carpenito C, Milone MC, Hassan R, et al.: Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 3360–3365. DOI: 10.1073/pnas.0813101106.
- Milone MC, Fish JD, Carpenito C, et al.: Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased anti-leukemic efficacy in vivo. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy* 2009; 17: 1453–1464. DOI: 10.1038/mt.2009.83.
- Till BG, Jensen MC, Wang J, et al.: CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. *Blood* 2012; 119: 3940–3950. DOI: 10.1182/blood-2011-10-387969.
- Guedan S, Chen X, Madar A, et al.: ICOS-based chimeric antigen receptors program bipolar TH17/TH1 cells. *Blood* 2014; 124: 1070–1080. DOI: 10.1182/blood-2013-10-535245.

49. Chmielewski M, Kopecky C, Hombach AA, et al.: IL-12 release by engineered T cells expressing chimeric antigen receptors can effectively Muster an antigen-independent macrophage response on tumor cells that have shut down tumor antigen expression. *Cancer research* 2011; 71: 5697-5706. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-0103.
50. Zhang L, Kerkar SP, Yu Z, et al.: Improving adoptive T cell therapy by targeting and controlling IL-12 expression to the tumor environment. *Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy* 2011; 19: 751-759. DOI: 10.1038/mt.2010.313.
51. Brudno JN, Kochenderfer JN.: Toxicities of chimeric antigen receptor T cells: recognition and management. *Blood* 2016; 127: 3321-3330. DOI: 10.1182/blood-2016-04-703751.
52. Scheuermann RH, Racila E.: CD19 antigen in leukemia and lymphoma diagnosis and immunotherapy. *Leukemia & lymphoma* 1995; 18: 385-397. DOI: 10.3109/10428199509059636.
53. Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M, et al.: T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2015; 385: 517-528. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.
54. Porter DL, Levine BL, Kalos M, et al.: Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *The New England journal of medicine* 2011; 365: 725-733. DOI: 10.1056/NEJMoa1103849.
55. Till BG, Jensen MC, Wang J, et al.: Adoptive immunotherapy for indolent non-Hodgkin lymphoma and mantle cell lymphoma using genetically modified autologous CD20-specific T cells. *Blood* 2008; 112: 2261-2271. DOI: 10.1182/blood-2007-12-128843.
56. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al.: T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011; 3: 95ra73. DOI: 10.1126/scitranslmed.3002842.
57. Park JH, Geyer MB, Brentjens RJ.: CD19-targeted CAR T-cell therapeutics for hematologic malignancies: interpreting clinical outcomes to date. *Blood* 2016; 127: 3312-3320. DOI: 10.1182/blood-2016-02-629063.
58. Tasian SK, Gardner RA.: CD19-redirection chimeric antigen receptor-modified T cells: a promising immunotherapy for children and adults with B-cell acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Ther Adv Hematol* 2015; 6: 228-241. DOI: 10.1177/2040620715588916.
59. Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al.: Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *The New England journal of medicine* 2013; 368: 1509-1518. DOI: 10.1056/NEJMoa1215134.
60. Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH, et al.: Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2015; 33: 540-549. DOI: 10.1200/JCO.2014.56.2025.
61. Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al.: Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *The New England journal of medicine* 2014; 371: 1507-1517. DOI: 10.1056/NEJMoa1407222.
62. Grupp S, Maude SL, Shaw P, et al.: Durable Remissions in Children with Relapsed/Refractory ALL Treated with T Cells Engineered with a CD19-Targeted Chimeric Antigen Receptor (CTL019). *Blood* 2015; 126: 681.
63. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al.: CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 2013; 5: 177ra138. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005930.
64. Davila ML, Riviere I, Wang X, et al.: Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 2014; 6: 224ra225. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008226.
65. Park JH, Riviere I, Wang X, et al.: Implications of Minimal Residual Disease Negative Complete Remission (MRD-CR) and Allogeneic Stem Cell Transplant on Safety and Clinical Outcome of CD19-Targeted 19-28z CAR Modified T Cells in Adult Patients with Relapsed, Refractory B-Cell ALL. *Blood* 2015; 126: 682.
66. Lee DW, Stetler-Stevenson M, Yuan CM, et al.: Safety and Response of Incorporating CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy in Typical Salvage Regimens for Children and Young Adults with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 2015; 126: 682.
67. Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, et al.: CD19 CAR-T cells of defined CD4+:CD8+ composition in adult B cell ALL patients. *The Journal of clinical investigation* 2016; 126: 2123-2138. DOI: 10.1172/JCI85309.
68. Gardner RA, Finney O, Annesley C, et al.: Intent to treat leukemia remission by CD19CAR T cells of defined formulation and dose in children and young adults. *Blood* 2017. DOI: 10.1182/blood-2017-02-769208.
69. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al.: Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *The New England journal of medicine* 2018; 378: 439-448. 2018/02/01. DOI: 10.1056/NEJMoa1709866.
70. Kebriaei P, Singh H, Huls MH, et al.: Phase I trials using Sleeping Beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *The Journal of clinical investigation* 2016; 126: 3363-3376. DOI: 10.1172/JCI86721.
71. Cruz CR, Micklethwaite KP, Savoldo B, et al.: Infusion of donor-derived CD19-redirection virus-specific T cells for B-cell malignancies relapsed after allogeneic stem cell transplant: a phase 1 study. *Blood* 2013; 122: 2965-2973. DOI: 10.1182/blood-2013-06-506741.
72. Fry TJ, Shah NN, Orentas RJ, et al.: CD22-targeted CAR T cells induce remission in B-ALL that is naive or resistant to CD19-targeted CAR immunotherapy. *Nat Med* 2018; 24: 20-28. 2017/11/21. DOI: 10.1038/nm.4441.
73. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, et al.: Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000; 192: 1027-1034.
74. Okazaki T, Honjo T.: The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance. *Trends Immunol* 2006; 27: 195-201. DOI: 10.1016/j.it.2006.02.001.
75. Shimauchi T, Kabashima K, Nakashima D, et al.: Augmented expression of programmed death-1 in both neoplastic and non-neoplastic CD4+ T-cells in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Int J Cancer* 2007; 121: 2585-2590. DOI: 10.1002/ijc.23042.
76. Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, et al.: Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. *Sci Transl Med* 2017; 9: DOI: 10.1126/scitranslmed.aaj2013.