

CAR-T 細胞療法の基礎と今後の臨床展開

赤塚 美樹

キメラ抗原受容体 (Chimeric Antigen Receptor, CAR)-T 細胞療法は遺伝子改変 T 細胞による養子免疫療法の一つであり、急性リンパ性白血病、悪性リンパ腫、慢性リンパ性白血病などの B 細胞性腫瘍や多発性骨髄腫に対する新規治療法として近年非常に注目されている。CD19 抗原を標的とした CAR-T 細胞による国際共同第 2 相試験において、難治性 B 細胞性腫瘍に対して高率な寛解導入効果が示された。CAR-T 細胞は短期間で調製でき、T 細胞が持つ T 細胞受容体より高い親和性をもった抗体を抗原受容体として利用したことが成功に寄与した。また抗体を抗原受容体とすることで T 細胞の HLA 拘束性を考慮する必要がない。CAR の構造は細胞外ドメインとし抗体の Fab 部分と、細胞内ドメインとして T 細胞のシグナルドメインから成る。T 細胞の活性化や機能増強、体内での長期生存能を付与するために細胞内ドメインにはさまざまな工夫が施されてきた。ただし治療後にサイトカイン放出症候群などの重篤な副作用が高頻度に起こりうる他、長期的には一部に再発も認められ、今後解決すべき課題も残されている。

キーワード：遺伝子改変 T 細胞，養子免疫療法，CAR-T 細胞

はじめに

化学療法に耐性となった造血器腫瘍患者の予後を大きく変える治療は最近まで存在しなかったが、抗腫瘍機序が根本的に異なるキメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor, CAR) 導入 T 細胞の出現でそれが変わりつつある。欧米に少し遅れるも、CD19 抗原を標的とした CAR-T 細胞療法が若年者再発または難治性の CD19 陽性急性 B 細胞性白血病 (B-acute lymphoblastic leukemia, B-ALL) とびまん性大細胞型リンパ腫 (Diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL) に対して確立した治療として国内でも 2019 年 3 月に製造販売承認された。DLBCL にはリツキシマブ以来の大型の新薬となる。本稿ではどのような経緯で CAR-T 細胞が開発されたか、またその効果および特有の留意点について述べる。

なぜ遺伝子改変 T 細胞療法なのか

体外で免疫エフェクター細胞を培養・増殖して投与する治療法は養子免疫細胞療法と呼ばれている。これまでインターロイキン (IL)-2 で活性化した NK 細胞療法や、がん組織に浸潤する腫瘍浸潤リンパ球 (tumor infiltrating lymphocyte, TIL) 療法、ウイルス特異的 T 細胞などが試され、一定の効果が示されてきた。しかし、特に抗原特異的 T 細胞を短時間で効率良く準備

することは容易ではない。しかし腫瘍抗原が同定され、その中で抗原性の高いものが分かってくると、それを認識する T 細胞クローンや抗体が樹立できればそれらの T 細胞受容体 (T cell receptor, TCR) や抗体の遺伝子をベクターに組み込んで T 細胞に遺伝子導入すれば迅速に抗原特異的 T 細胞の作成が可能となり、短期間で目的とする抗原特異的 T 細胞を準備できる。特に抗体の特異性を持つ CAR-T 細胞の場合、抗体療法では反復投与が必要であったが、CAR-T 細胞は体内で増殖できるので単回投与で済む利点がある。また抗体依存性細胞傷害活性を得るためには NK 細胞が必要であるが、化学療法でこうした細胞が減って効果が十分出ない可能性があるが、CAR-T 細胞はそれ自身が細胞傷害性をもっており、体外で増やして必要量が投与できる。さらに CAR 以外の遺伝子改変を追加することも可能であり、機能を強化するためのサイトカイン遺伝子の組み込みや、他の免疫細胞の動員を促進するためのケモカインやその受容体を発現させることもできる¹⁾。

CAR-T 細胞の原型とその後の開発の経緯

厳密にどれが CAR-T 細胞の原型かと決めるのは難しいが、B 細胞が使う抗原受容体である抗体分子を T 細胞で発現してみようと最初に考えたのは 1987 年の黒

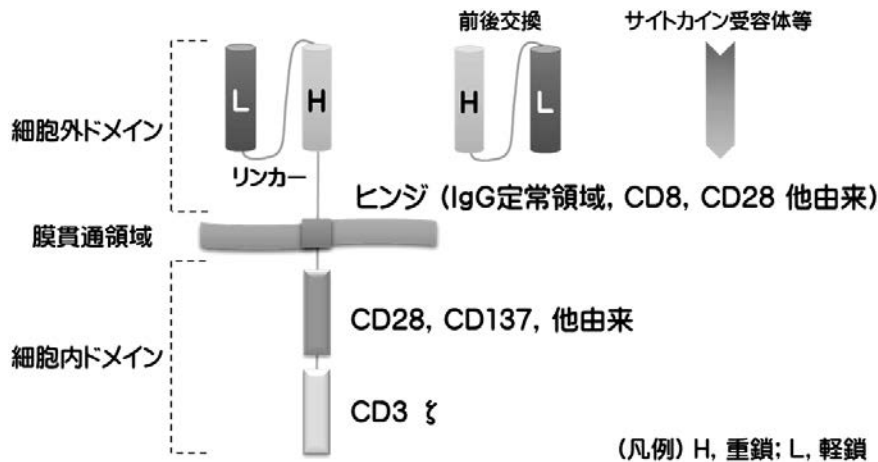


図1 キメラ抗原受容体 (CAR) の構造

澤らの報告²⁾ではないかと思われる。彼らは抗体の重鎖・軽鎖の可変領域と TCR の定常領域を結合しマウスの T 細胞株である EL4 に発現させ、抗原により EL4 が活性化することを示した。その2年後に Gross らが報告した論文³⁾では同様な構造が使われており、彼らはこれを chimeric T cell receptor, cTcR と名付けた。さらにその特長として、①MHC/HLA 拘束性がなく普遍的であること、②誰から得られた T 細胞も遺伝子導入で改変できること、③増殖可能で機能を発揮できることを挙げ、すでに現行の CAR-T 細胞治療の概念が完全に予見されていた。ところで、現在用いられている CAR は軽鎖と重鎖がタンデムに結合した一本鎖であるが、この原型は 1993 年に Eshhar らによって報告され⁴⁾、2027 年まで基本特許として生き続ける。これは各パーツをばらばらに遺伝子導入すると発現量が異なったり、別の分子と結合したりするので、単鎖化は重要なステップであった。当初は抗原シグナルを細胞内に伝達し、T 細胞を活性化する細胞内ドメインは TCR 複合体のシグナル伝達分子である CD3 ζ 鎖の細胞内ドメインだけであった。しかし 2000 年に開始された B 細胞抗原である CD20 に対する単鎖抗体と CD3 ζ 鎖からなる CAR-T 細胞を用いたリンパ腫を対象とした臨床試験 (試験番号 NCT00012207) 治療成績は満足出来るものではなく、特に輸注 CAR-T 細胞の体内生存の短さが問題となった⁵⁾。通常、T 細胞の活性化には TCR から入るシグナル 1 の他、CD28 や CD137 (4-1BB) などの副刺激分子から入るシグナル 2 が必要で、特に後者は T 細胞の活性化の度合いを高めたり、体内生存およびメモリー T 細胞の生成に影響したりする。この副刺激分子の細胞内ドメインを CAR の細胞内ドメインにタンデムに継いで組み込む方法が初めて報告され⁶⁾、その後 CD137⁷⁾を始めとしさまざまな副刺激分子由来のドメインが試されたが、現在は CD28 もしくは CD137 を CD3 ζ と組み合わせ

せることが主流となっている (図 1)。便宜的に CD3 ζ 単独の CAR が第一世代、CD3 ζ に副刺激分子を 1 つ足したものが第二世代、二つ足したものが第三世代と呼ばれている。第二世代以降は細胞傷害活性に加えて、増殖能、サイトカイン産生能、体内生存率の明らかな向上が認められている。

細胞内ドメイン以外の構造で重要な要素は他にもある。単鎖抗体化する場合の軽鎖と重鎖の可変領域を継ぐ順序、継ぎとなるリンカー部分の長さやアミノ酸配列、可変領域以降の細胞膜までの長さや由来、膜貫通領域の由来などである。例えば CAR の標的となる細胞表面上分子の大きさやそのエピトープの位置 (分子の上端か、細胞膜近傍かなど) によって細胞外の CAR の“ヒンジ”部分の長さの適正化が必要となる場合がある⁸⁾。また抗体由来の定常領域をそのままヒンジとして使った場合に NK 細胞を活性化し CAR-T 細胞の存続に影響を与えたという報告⁹⁾があり、CD8 や CD28 など他分子由来の構造が使われることが多い。

構造以外にもう 1 つ CAR-T 細胞療法の効果の劇的な改善に寄与したものは前処置の導入であった。ちょうど第二世代の CAR が報告された 1998 年頃、同種造血幹細胞移植の分野では複数のグループが強度減弱前処置移植の成功例を報告¹⁰⁾¹¹⁾した。体外増幅後に輸注した T 細胞の生存不良の原因が、患者にもともと存在する T 細胞との競合と考えられていたため、この前処置がまず進行期悪性黒色腫に対する Mart-1 抗原特異的な TCR 導入 T 細胞療法の臨床試験に応用された¹²⁾。リンパ球除去前処置でリンパ球数が減少すると、IL-7 や IL-15 のようなサイトカインが分泌され、これが輸注した遺伝子改変 T 細胞の急速な体内増殖を可能にした¹³⁾。前処置としてフルダラビンとシクロフォスファミドが使われることが多いが、これ以外にもリンパ球への作用が強いメルファランやベンダムスチン、時には低容量

全身照射がこれまで併用されている。

さらに、体外での培養期間と T 細胞の分化度も輸注後の T 細胞の生存に関わる因子であることが示されている。開発初期は体外で大量に増やした方が効果が出るのではないかと期待から長期培養が行われて、100 億個レベルまで培養されていたが、輸注後は患者末梢血中から速やかに消失した⁵⁾。これは培養期間が長くなるにつれ T 細胞の表面形質がセントラルメモリーから分化したエフェクターメモリー、さらに終末エフェクターへ変化するためである¹⁴⁾。メモリー形質を保持する CAR-T 細胞は体内で抗原を発現した腫瘍細胞に出会うと活性化し増殖できるため、現在では培養期間を最小限に留めるようになってきている。以上のような試行錯誤が繰り返され、現在の CAR-T 細胞ができてきたのである。

CAR-T 細胞の臨床試験

先に単鎖 CD20 抗体をもつ第一世代の CAR-T 細胞の臨床試験について述べた。では第二世代以降の成績はどうであったであろうか。まず 2010 年に再発難治濾胞性リンパ腫が劇的に縮小したとの最初の報告があった¹⁵⁾。その後、まとまった症例数の報告が 2012 年にアメリカ国立衛生研究所の Rosenberg のグループからなされた¹⁶⁾。彼らは再発難治の濾胞性リンパ腫や慢性リンパ性白血病患者に対し、フルダラビンとシクロフォスファミドによる前処置後に $0.5 \sim 5.5 \times 10^7 / \text{kg}$ 個の CD19-CAR-T 細胞を投与した。CAR で使われた副刺激分子は CD28、ベクターはレトロウイルスで、培養期間は 24 日あった。8 例中 6 例では末梢血単核球中の CAR-T 細胞は最大で 1% 程度であったが、2 例では 30% を超える上昇を示した。慢性リンパ性白血病患者 (Chronic lymphocytic leukemia, CLL) 1 例で完全奏功が得られ、6 例で部分奏功、1 例で安定、1 例は感染症で死亡した。造血器腫瘍に対する CAR-T 細胞療法に関しては、2014 年から 2015 年にかけて複数施設から 14~30 例規模の報告が続いた^{17)~21)}。前処置はシクロフォスファミド (1.5 to 3.0 g/m²) 単独の 1 報¹⁷⁾を除き、他はフルダラビンおよびシクロフォスファミド併用であった。副刺激分子はレトロウイルスベクターを使用した施設 (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, MSKCC および National Institute of Health, NIH)¹⁷⁾¹⁹⁾²⁰⁾では CD28、レンチウイルスベクターを使用したペンシルバニア大学関連施設¹⁸⁾²¹⁾では CD137 であった。投与された CAR-T 細胞はおおむね $1 \sim 5 \times 10^6$ 個/kg の範囲であったが、ペンシルバニア小児病院¹⁸⁾では $1 \sim 5 \times 10^6$ 個/kg と 10 倍多かった。2 施設の対象は再発難治 B-ALL で、同種造血幹細胞移植後の再発例がそれぞれ 25%、60% を含まれていたが、寛解率はそれぞれ 71%、90% と高率で¹⁷⁾¹⁸⁾、この内

MSKCC では CAR-T 細胞治療後に 7 例が同種造血幹細胞移植を受けていた¹⁷⁾。他方、後述するサイトカイン放出症候群 (cytokine release syndrome, CRS) も高率に発生し、重症 CRS はそれぞれ 50%、27% に発生し¹⁷⁾¹⁸⁾、神経毒性が副刺激分子に CD28 を用いた MSKCC で 4 例に発生した (うち 1 例は CRS の合併は認められなかった)¹⁷⁾。残りの 3 報告は非ホジキンリンパ腫と CLL が主な対象で、完全奏効率は B-ALL より低く 50% 未満で、CRS もペンシルバニア大学の報告²¹⁾を除き低かった¹⁹⁾²⁰⁾。前処置や投与細胞数、副刺激分子が異なるため結論づけるのは困難であるが、CRS はリンパ腫症例で低い傾向があり、また神経毒性は副刺激分子に CD28 が用いられた場合に目立つ傾向があった。いずれにしても再発・難治の B-ALL および DLBCL における中~長期成績は画期的なものであり、並行で行われた国際第 II 相試験の結果²²⁾²³⁾も踏まえ、その後のノバルティス社の tisagenlecleucel の最初の承認へつながった。さらに CAR-T 細胞療法への関心が高まり、CD19 以外の新たな標的抗原に対する CAR-T 細胞の開発や、固形がんへの応用研究も盛んになった。

CAR-T 細胞の有害事象と問題点およびその対策

1) サイトカイン放出症候群 (CRS)²⁴⁾

CRS は免疫系が過剰に活性化した状態で起こる症候群で、多くの場合投与翌日から 14 日目まで (CD19 CAR-T 細胞では中央値は 3 日目前後) に発生し、急速に進行し重症例では呼吸循環管理を要し、死亡する場合もある。症状や所見が血球貪食症候群と一部類似する²⁵⁾。CRS は CAR-T 細胞療法に限定したのではなく、現在では T 細胞を含む免疫エフェクター細胞の活性化に関わって発症するものとみなされている。例えば blinatumomab²⁶⁾や抗体療法によって免疫細胞活性化される場合が含まれる。当時の CTCAE v4.03²⁷⁾で規定される CRS では実臨床にそぐわないこと、CAR-T 細胞試験を行なっている施設間や対象症例、前処置、CAR-T の構造、投与細胞数などの違いなどにより症状や対応にも違いがあったため、米国内の 6 施設が集まって診断と治療のガイドラインの作成がなされた²⁸⁾。それによると発熱が初期症状であり、低血圧および低酸素血症の重症度によってグレードが決定され、それに応じた介入も示された。また後述する中枢神経毒性症候群は、臨床研究初期には区別が曖昧で、CTCAE v4.03 では悪心や頭痛も含まれていたが、完全に区別されるようになった。2019 年になって米国移植細胞治療学会 (ASTCT) からさらに多くの施設が参加して作成されたガイドラインが公表された。上述のガイドラインに準じているが、時間を争う治療開始が必要なことから、どのような施設でも診断に短時間で得られる情報だけでグレードが

表1 造血器腫瘍に対する CAR-T 細胞療法の候補となる標的抗原

標的抗原名	対象疾患
CD5	T 細胞性腫瘍
CD19	B 細胞性腫瘍
CD19-CD20	B 細胞性腫瘍
CD19-CD22	B 細胞性腫瘍
CD20 (MS4A1)	B 細胞性腫瘍
CD22 (SIGLEC-2)	B 細胞性腫瘍
CD30 (Ki-1, TNFRSF8)	B 細胞性腫瘍
CD33 (SIGLEC-3)	骨髄球性腫瘍
CD38 (ADP-ribosyl cyclase 1)	多発性骨髄腫
CD44v6 (hyaluronic acid receptor)	急性骨髄性白血病
CD70 (TNFSF7, CD27 receptor)	B 細胞性/T 細胞性腫瘍
CD116 (GM-CSF receptor alpha)	小児骨髄単球性白血病
CD123 (IL-3R α)	急性骨髄性白血病
CD138 (syndecan-1)	骨髄球性腫瘍
CD269 (B cell maturation antigen, BCMA)	多発性骨髄腫
Ig-kappa	B 細胞性腫瘍, 多発性骨髄腫
Lewis Y antigen	急性骨髄性白血病, 骨髄異形成症候群
NKG2D ligands	急性骨髄性白血病, 骨髄異形成症候群
ROR1 (receptor tyrosine kinase like orphan receptor 1)	B 細胞性腫瘍

決定できるように工夫されている (表1)²⁴⁾。低血圧のグレードは昇圧剤の要否と単剤か2剤以上の併用が必要かどうか, 低酸素血症のグレードは6l/分以下かそれ以上の酸素投与の要否と陽圧換気が必要かどうかの2指標だけで決定できる。なお最近承認された tisagenlecleucel は試験の際の CRS 管理アルゴリズムが異なっており, 適正使用ガイドの記載もそれを踏襲している。治療はグレード2までは補液と昇圧剤, 通常酸素投与であるが, 反応が不良でグレードが進行すれば臨機応変に介入度を高めるとともに IL-6 受容体抗体である tocilizumab の投与が考慮される。グレード4となれば挿管が必要となり, CRS 鎮静化を優先してメチルプレドニゾロン等のステロイドが考慮される。その後 CRS の予防もしくは軽減のために, 投与する CAR-T 細胞量を 1×10^6 /kg 程度に減量すること, または漸増方法で複数回投与することなどが試みられたが, 標的抗原や CAR 部分に用いる抗体の種類, まさ細胞内シグナルドメインによって CAR-T 細胞の体内動態は大きく変わるため, 個別に検討する必要がある。

2) 神経毒性

CAR-T 細胞治療後の神経症状には併存する肝障害や電解質異常, 投与薬剤の有害事象や異常高血圧などでも起こりうるが, これらは除外診断されるべきであるため, CAR-related encephalopathy syndrome (CRES)²⁹⁾ と命名されたが, 他の免疫エフェクター細胞も原因となり得ることから Immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome (ICANS) という名前が提唱されている²⁴⁾。未だ原因は明らかとなっていないが, CRS 鎮静後に発症するケースも多いこと, 症状も異なっていることから CRS とは別の病態と考えられている。T

細胞の過剰活性化に加えて髄液中の炎症性サイトカイン¹⁹⁾³⁰⁾や血液脳関門異常³¹⁾に原因があるとする報告もあり, 実際 CAR-T 細胞が髄液中でも検出される³⁰⁾。当初は頭痛, 幻覚, 振戦, ミオクロームスなども症状とされていたが特異性に乏しいため単独では診断に使われない²⁴⁾。現在では脳症, 意識障害, 痙攣, 不全片側/対麻痺, 画像診断における脳浮腫が主徴と見なされている。脳症の症状として失語があり, 見当識障害や書字障害, 失名詞などが初期から見られる²⁴⁾²⁹⁾。炎症性サイトカインの関与が指摘されているが, tocilizumab の投与は無効であり, 対症療法で自然軽快を待つことになる。

3) 再発

単一の抗原を標的にする以上, その抗原性を喪失したバリエーションが出現すると CAR-T 細胞の効果は期待できなくなる。小児 B-ALL においては 10~20% の頻度で CD19 抗原の消失が起こり¹⁸⁾³²⁾, その中で CD19 を含む遺伝子座の欠失や新たな CD19 のフレームシフト変異, さらに CAR に用いられた抗体のエピトープをコードする exon 2 をスキップするような変異 mRNA が報告された³³⁾。同様な抗原ロスは CD22 CAR-T 細胞でも報告されている³⁴⁾。これらの知見は CAR-T 細胞療法後においても, 免疫編集が起き, 免疫に抵抗性をもつクローンが選択されてくることを示している。こうした抗原喪失バリエーションの問題を克服するため, 2種類の抗体結合部位をもった Dual CAR-T³⁵⁾ または Tandem CAR-T³⁶⁾ 細胞が開発されてきている。これまでに検討されてきた造血器腫瘍に対する主な標的抗原を表2に示す。

4) その他の問題点

CAR-T 細胞にすることで抗体療法では傷害できない

表2 サイトカイン放出症候群のグレード (注1)

グレード	発熱	低血圧	低酸素
1	38℃ 以上	なし	なし
2	38℃ 以上	昇圧剤不要	低流速 (6l/分以下) の経鼻酸素を要する (注2)
3	38℃ 以上	1種類の昇圧剤 (バズプレッシン併用可) を要する	高流速 (6l/分以下) の経鼻酸素, マスクを要する
4	38℃ 以上	2種類以上の昇圧剤を要する	陽圧換気を要する (注3)

(注1) Lee らの論文²⁴⁾をもとに著者作成。

(注2) 小児はマスクやカニューレを怖がるので、酸素チューブを数センチ離して吹き流しとする。

(注3) CPAP (continuous positive airway pressure), BiPAP (biphasic positive airway pressure), 挿管, 人工呼吸器管理を含む。

ような低い抗原しか発現していない腫瘍細胞も傷害が可能になったが³⁷⁾, 正常細胞が弱いながら同じ抗原を発現していると傷害をされ得ることを意味する。CD19 CAR-T 細胞治療後は正常 B リンパ球も消失し, 補充が必要なほどの免疫グロブリンの低下を来す。これらは On-target off-tumor 反応と呼ばれる。これ以外に off-target 反応として, 抗体が予想外の交差反応を起こすこともあり, 治療標的の選択には注意が必要となる。この他, CAR-T 細胞に用いられている抗体の変異領域やベクター由来タンパク質に対する患者側の免疫反応によって拒絶反応が起こり, CAR-T 細胞が排除される³⁸⁾。また固形がんの場合はがん微小環境が極めて免疫抑制的であるため期待された効果が出ない場合が多く, 併用療法が検討されている³⁹⁾。

従来の CAR-T 細胞は患者毎のテーラーメイドであり, 末梢血採取と搬送, 細胞培養加工施設での無菌培養とウイルスベクターによる遺伝子導入, 品質検査および治療施設への搬送まで多額の費用がかかる。それでも CAR-T 細胞療法単独で多くの患者に長期生存が得られれば, 他の化学療法の反復や B-ALL では同種造血幹細胞移植などに必要な費用と大差がなくなるかもしれない。上述の臨床試験では同種造血幹細胞移植後の再発時に CAR-T 細胞療法を行ったり, CAR-T 細胞治療で寛解に入ったところで地固めの同種造血幹細胞移植を行ったりしており, 単独に比べれば2倍前後となる試算がなされている⁴⁰⁾。例えば CAR-T 細胞を再発ハイリスク患者の微小残存病変の時期に行えば成績が向上して同種造血幹細胞移植が不要となればコストは低下するかもしれないが, これは今後の検討課題である。いずれにしても CAR-T 細胞調製のコスト削減は喫緊の課題である。現在ウイルスベクターを使わないトランスポゾン遺伝子導入法が国内外で試験中であり, その結果が待たれる⁴¹⁾⁴²⁾。

結 論

CD19 CAR-T 細胞療法は予後不良な再発難治の若年者 B-ALL および DLBCL に奏功および一部に治癒をもたらさうる画期的な治療法として登場した。CRS など

の重篤な有害事象が発生するが, そのマネジメントに熟練すれば強力な治療アームとなり得る。標的抗原ロスによる再発や製造コストなどまだ多くの課題があるが, これらを克服する研究も進んでおり, 今後の発展に期待したい。

著者の COI 開示: 赤塚美樹 (講演料: ノバルティスファーマ, セルジーン, プリストル・マイヤーズ スクイブ, プロジェクト研究講座・研究費: プリストル・マイヤーズ スクイブ)

本論文の内容の一部は, 第 67 回日本輸血・細胞治療学会総会教育講演 2 で発表した。

文 献

- 1) Adachi K, Kano Y, Nagai T, et al: IL-7 and CCL19 expression in CAR-T cells improves immune cell infiltration and CAR-T cell survival in the tumor. *Nat Biotechnol*, 36: 346—351, 2018.
- 2) Kuwana Y, Asakura Y, Utsunomiya N, et al: Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions. *Biochem Biophys Res Commun*, 149: 960—968, 1987.
- 3) Gross G, Waks T, Eshhar Z: Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 86: 10024—10028, 1989.
- 4) Eshhar Z, Waks T, Gross G, et al: Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 90: 720—724, 1993.
- 5) 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*, 112: 2261—2271, 2008.

- 6) Finney HM, Lawson AD, Bebbington CR, et al: Chimeric receptors providing both primary and costimulatory signaling in T cells from a single gene product. *J Immunol*, 161: 2791—2797, 1998.
- 7) 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*, 172: 104—113, 2004.
- 8) Hudecek M, Lupo-Stanghellini MT, Kosasih PL, et al: Receptor affinity and extracellular domain modifications affect tumor recognition by ROR1-specific chimeric antigen receptor T cells. *Clin Cancer Res*, 19: 3153—3164, 2013.
- 9) Almasbak H, Walseng E, Kristian A, et al: Inclusion of an IgG1-Fc spacer abrogates efficacy of CD19 CAR T cells in a xenograft mouse model. *Gene Ther*, 22: 391—403, 2015.
- 10) Slavin S, Nagler A, Naparstek E, et al: Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood*, 91: 756—763, 1998.
- 11) Childs R, Clave E, Contentin N, et al: Engraftment kinetics after nonmyeloablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: full donor T-cell chimerism precedes alloimmune responses. *Blood*, 94: 3234—3241, 1999.
- 12) Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al: Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science*, 298: 850—854, 2002.
- 13) Tan JT, Ernst B, Kieper WC, et al: Interleukin (IL) -15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8+ cells but are not required for memory phenotype CD4+ cells. *J Exp Med*, 195: 1523—1532, 2002.
- 14) Louis CU, Savoldo B, Dotti G, et al: Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma. *Blood*, 118: 6050—6056, 2011.
- 15) Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, et al: Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood*, 116: 4099—4102, 2010.
- 16) Kochenderfer JN, Dudley ME, Feldman SA, et al: B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood*, 119: 2709—2720, 2012.
- 17) 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*, 6: 224ra225, 2014.
- 18) Maude SL, Frey N, Shaw PA, et al: Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med*, 371: 1507—1517, 2014.
- 19) 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*, 385: 517—528, 2015.
- 20) 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. *J Clin Oncol*, 33: 540—549, 2015.
- 21) Porter DL, Hwang WT, Frey NV, et al: Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med*, 7: 303ra139, 2015.
- 22) Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al: Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia. *N Engl J Med*, 378: 439—448, 2018.
- 23) Schuster SJ, Bishop MR, Tam CS, et al: Tisagenlecleucel in Adult Relapsed or Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*, 380: 45—56, 2019.
- 24) Lee DW, Santomaso BD, Locke FL, et al: ASTCT Consensus Grading for Cytokine Release Syndrome and Neurologic Toxicity Associated with Immune Effector Cells. *Biol Blood Marrow Transplant*, 25: 625—638, 2019.
- 25) Grupp SA, Kalos M, Barrett D, et al: Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med*, 368: 1509—1518, 2013.
- 26) Teachey DT, Rheingold SR, Maude SL, et al: Cytokine release syndrome after blinatumomab treatment related to abnormal macrophage activation and ameliorated with cytokine-directed therapy. *Blood*, 121: 5154—5157, 2013.
- 27) https://www.eortc.be/services/doc/ctc/ctcae_4.03_2010-06-14_quickreference_5x7.pdf (2019/9 accessed).

- 28) Lee DW, Gardner R, Porter DL, et al: Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*, 124: 188—195, 2014.
- 29) Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, et al: Chimeric antigen receptor T-cell therapy — assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*, 15: 47—62, 2018.
- 30) Santomaso BD, Park JH, Salloum D, et al: Clinical and Biological Correlates of Neurotoxicity Associated with CAR T-cell Therapy in Patients with B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Discov*, 8: 958—971, 2018.
- 31) Gust J, Hay KA, Hanafi LA, et al: Endothelial Activation and Blood-Brain Barrier Disruption in Neurotoxicity after Adoptive Immunotherapy with CD19 CAR-T Cells. *Cancer Discov*, 7: 1404—1419, 2017.
- 32) 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. *J Clin Oncol*, 32: 4134—4140, 2014.
- 33) Sotillo E, Barrett DM, Black KL, et al: Convergence of Acquired Mutations and Alternative Splicing of CD19 Enables Resistance to CART-19 Immunotherapy. *Cancer Discov*, 5: 1282—1295, 2015.
- 34) 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*, 24: 20—28, 2018.
- 35) Grada Z, Hegde M, Byrd T, et al: TanCAR: A Novel Bispecific Chimeric Antigen Receptor for Cancer Immunotherapy. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2: e105, 2013.
- 36) Schneider D, Xiong Y, Wu D, et al: A tandem CD19/CD20 CAR lentiviral vector drives on-target and off-target antigen modulation in leukemia cell lines. *J Immunother Cancer*, 5: 42, 2017.
- 37) Watanabe K, Terakura S, Martens AC, et al: Target antigen density governs the efficacy of anti-CD20-CD28-CD3 zeta chimeric antigen receptor-modified effector CD8+T cells. *J Immunol*, 194: 911—920, 2015.
- 38) Lamers CH, Willemsen R, van Elzakker P, et al: Immune responses to transgene and retroviral vector in patients treated with ex vivo-engineered T cells. *Blood*, 117: 72—82, 2011.
- 39) Long KB, Young RM, Boesteanu AC, et al: CAR T Cell Therapy of Non-hematopoietic Malignancies: Detours on the Road to Clinical Success. *Front Immunol*, 9: 2740, 2018.
- 40) Lin JK, Muffly LS, Spinner MA, et al: Cost Effectiveness of Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy in Multiply Relapsed or Refractory Adult Large B-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol*, 37: 2105—2119, 2019.
- 41) Ramanayake S, Bilmon I, Bishop D, et al: Low-cost generation of Good Manufacturing Practice-grade CD19-specific chimeric antigen receptor-expressing T cells using piggyBac gene transfer and patient-derived materials. *Cytotherapy*, 17: 1251—1267, 2015.
- 42) https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr_view.cgi?recptno=R000035020 (2019/9 accessed).

BASICS OF CAR-T CELL THERAPY AND ITS FUTURE DEVELOPMENT

Yoshiki Akatsuka

Department of Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine

Keywords:

Chimeric antigen receptor, gene-modified T cell, B-cell malignancy, adoptive T cell therapy

©2019 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.jstmct.or.jp/>