

Le terapie geniche CAR-T

Le “CAR-T” (acronimo dall’inglese “Chimeric Antigen Receptor T cell therapies” ovvero “Terapie a base di cellule T esprimenti un Recettore Chimerico per antigene”) sono nuove terapie personalizzate contro il cancro che agiscono direttamente sul sistema immunitario del paziente per renderlo in grado di riconoscere e distruggere le cellule tumorali (immunoterapie).

Le CAR-T rientrano tra le cosiddette terapie avanzate, frutto dei progressi scientifici nel campo della biotecnologia cellulare e molecolare. Sono, più nello specifico, terapie geniche, poichè agiscono attraverso l’inserzione di materiale genetico all’interno delle cellule dell’organismo umano.

Le CAR-T utilizzano specifiche cellule immunitarie (i linfociti T), che vengono estratte da un campione di sangue del paziente, modificate geneticamente e coltivate in laboratorio (“ingegnerizzate”) per essere poi re-infuse nel paziente per attivare la risposta del sistema immunitario contro la malattia. Si distinguono, quindi, da altre terapie immunitarie note come “inibitori dei checkpoint immunologici” (come ad esempio gli anticorpi monoclonali), che mirano a togliere il freno alla risposta immunitaria, orientandola contro il cancro.

La tecnologia CAR-T, altamente innovativa, è stata inizialmente sviluppata dall’Università della Pennsylvania. Il primo trattamento è stato somministrato nel 2012 negli Stati Uniti a [una bambina di 7 anni che non rispondeva alle terapie classiche](#).

Si è finora rivelata efficace per alcuni tumori ematologici, anche se in tutto il mondo sono in corso sperimentazioni per altre indicazioni terapeutiche.

Le fasi della procedura

La produzione e la somministrazione di una terapia CAR-T richiedono una procedura complessa, che coinvolge specifiche figure professionali ed è articolata in più fasi:

1. **Prelievo:** i linfociti T vengono prelevati dal sangue del paziente in un centro trasfusionale autorizzato, mediante un processo che consente di isolarli dal sangue periferico (leucaferesi), rimettendo in circolo i restanti elementi ematici. I linfociti T vengono successivamente congelati e inviati alla struttura che si occuperà dell’ingegnerizzazione genetica.
2. **Ingegnerizzazione genetica:** i linfociti T del paziente vengono geneticamente modificati, in strutture altamente qualificate per la produzione di terapie avanzate. Utilizzando un virus inattivato (vettore virale), viene aggiunto al DNA dei linfociti un gene ricombinante che permette di esprimere sulla superficie dei linfociti T una proteina, nota come Recettore dell’Antigene Chimerico (CAR). Grazie a questo recettore, i linfociti T modificati (CAR-T cells) sono in grado di riconoscere un antigene specifico presente sulla superficie delle cellule tumorali e legarsi ad esse. Le cellule CAR-T vengono moltiplicate in laboratorio, congelate e successivamente inviate al centro che dovrà somministrare il trattamento.
3. **Chemioterapia pre-trattamento (linfodepletiva):** prima dell’infusione, il paziente è sottoposto a una chemioterapia di preparazione per permettere ai linfociti T modificati di

espandersi e attivarsi nell'organismo. La chemioterapia può essere somministrata anche in regime di *day hospital*.

4. **Infusione:** dopo la chemioterapia, le cellule CAR-T vengono infuse nel paziente, con un procedimento simile a una trasfusione di sangue. L'infusione avviene in centri ad alta specializzazione per il trattamento delle leucemie e dei linfomi, con disponibilità di accesso alla terapia intensiva.
5. **Monitoraggio:** dopo l'infusione, il paziente resta in ricovero per alcuni giorni e viene costantemente monitorato per reazioni avverse al trattamento. Nelle quattro settimane successive alla dimissione, il paziente deve comunque rimanere nei pressi di una struttura clinica qualificata per essere sottoposto a regolari controlli.

Le CAR-T autorizzate. Trattamenti di "terza linea"

Le terapie CAR-T rappresentano la prima forma di terapia genica approvata per il trattamento della leucemia linfoblastica B e di alcune forme aggressive di linfoma non-Hodgkin. Le terapie CAR-T che hanno ottenuto l'Autorizzazione all'Immissione in Commercio (AIC) nell'Unione Europea sono:

- [Kymriah](#) (tisagenlecleucel), autorizzato il 22 agosto 2018
- [Yescarta](#) (axicabtagene ciloleucel), autorizzato il 23 agosto 2018

e sono indicate per il trattamento di:

- pazienti pediatrici e giovani adulti fino a 25 anni di età affetti da leucemia linfoblastica acuta a cellule B che non abbiano mai risposto alla chemioterapia, o che siano in recidiva dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche allogeniche o dopo almeno 2 linee di chemioterapia (**Kymriah**);
- pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule B o DLBCL (**Kymriah** e **Yescarta**) / linfoma primitivo del mediastino a cellule B o PMBCL (**Yescarta**) già sottoposti ad almeno 2 linee di terapia sistemica.

Le CAR-T rappresentano per queste malattie linfoproliferative un'ulteriore opzione terapeutica, e sono state studiate in pazienti nei quali le precedenti strategie standard (chemioterapia e trapianto di cellule staminali emopoietiche) non si sono dimostrate efficaci.

Attualmente, i pazienti pediatrici con leucemia linfoblastica acuta a cellule B (B-ALL) trattati in prima linea con protocolli polichemioterapici hanno probabilità di guarigione anche superiori all'85% e circa il 60-70% dei pazienti con linfoma non Hodgkin di tipo DLBCL o PMBCL può ottenere un controllo di malattia a lungo termine (o la guarigione) con gli attuali protocolli immunochemioterapici di prima linea, seguiti o meno da radioterapia. La terapia standard di seconda linea è in entrambi i casi basata sulla possibilità di accesso al trapianto di cellule staminali emopoietiche (da un donatore compatibile nel caso della leucemia, dallo stesso paziente nel caso dei linfomi) in seguito a risposta ad una chemioterapia di salvataggio.

Per questo motivo, le terapie CAR-T sono indicate per pazienti che non abbiano mai risposto alla chemioterapia o che siano in recidiva dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche o dopo

almeno 2 linee di chemioterapia (sono quindi terapie “di terza linea”). A causa delle reazioni avverse - anche gravi - che possono verificarsi con la terapia con CAR-T, l’idoneità al trattamento deve essere attentamente valutata caso per caso da medici ematologi esperti nel trattamento delle leucemie e dei linfomi, anche in considerazione del quadro clinico complessivo del paziente (ad esempio la presenza di gravi patologie concomitanti renali, epatiche, cardiache, infettive che possano metterlo a rischio di vita). La complessità e le tempistiche richieste per la procedura terapeutica, che include anche un trattamento di chemioterapia linfodepletiva pre-trattamento, impongono che il quadro clinico del paziente sia tale da garantirne la stabilità fino al momento dell’infusione.

CAR-T: efficacia e sicurezza del trattamento

Rispetto alle terapie “convenzionali”, le CAR-T permettono di ottenere remissioni complete anche in fasi di malattia molto avanzate. Inoltre, a un anno dall’infusione di CAR-T, la maggior parte dei pazienti che ha ottenuto una remissione è ancora viva e libera da malattia.

Negli studi clinici¹ valutati ai fini dell’Autorizzazione all’Immissione in Commercio (AIC) della terapia CAR-T per la leucemia linfoblastica acuta (LLA) a cellule B refrattaria, in recidiva post-trapianto o in seconda o ulteriore recidiva, sono stati osservati i seguenti dati di efficacia:

- l’81% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T ha ottenuto una remissione completa della leucemia;
- l’80% dei pazienti che ha ottenuto una remissione completa di malattia era ancora libero da malattia 6 mesi dopo l’infusione della terapia CAR-T;
- il 76% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T era ancora in vita a distanza di un anno dal trattamento.

Per il trattamento del linfoma B diffuso a grandi cellule B (Diffuse Large B Cell Lymphoma - DLBCL) e del linfoma primitivo del mediastino a cellule B (Primary mediastinal B-cell Lymphoma – PMBCL) dopo fallimento di due o più linee di terapia sistemica, negli studi clinici² delle terapie CAR-T autorizzate si è invece osservato che:

- il 40-47% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T ha ottenuto una remissione completa del linfoma;
- il 65% dei pazienti che ha ottenuto una remissione completa era ancora libero da malattia a distanza di 12 mesi dall’infusione;
- il 50-60% dei pazienti che ha ricevuto la terapia CAR-T era ancora in vita a un anno dal trattamento.

¹ EMA EPAR KYMRIAHA: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/kymriah-epar-public-assessment-report_en.pdf

Maude SL et al, NEJM 2018

² EMA EPAR KYMRIAHA: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/kymriah-epar-public-assessment-report_en.pdf

Schuster SJ et al, NEJM 2019; Locke FL et al, Lancet Oncology 2018; Neelapu SS et al, NEJM 2017

Tuttavia l'utilizzo di terapie CAR-T è associato al rischio di eventi avversi anche gravi. In particolare:

- **sindrome da rilascio di citochine (CRS):** la CRS è caratterizzata dalla possibile comparsa di febbre, abbassamento della pressione arteriosa, aumento della frequenza cardiaca, brividi e riduzione dell'ossigeno nel sangue ed è dovuta all'intensa risposta infiammatoria che si sviluppa in seguito all'attivazione delle cellule CAR-T nell'organismo. È stata osservata in una percentuale variabile tra il 58% e il 93% dei pazienti e, nella maggior parte dei casi, si manifesta entro 7-14 giorni dalla somministrazione della terapia. Il 12-47% dei pazienti ha presentato una CRS grave, che in alcuni casi ha richiesto il ricovero in terapia intensiva, e in rari casi è risultata fatale. In caso di CRS grave sono somministrati farmaci specifici per ridurre i livelli di sostanze infiammatorie in circolo (per esempio tocilizumab o cortisonici);
- **riduzione dei linfociti B e degli anticorpi (ipogammaglobulinemia):** l'utilizzo delle terapie CAR-T comporta, insieme alle cellule tumorali, anche la distruzione dei linfociti B (cellule del sistema immunitario responsabili della produzione di anticorpi), con riduzione del livello di anticorpi nel sangue riscontrabile nel 14-47% dei pazienti trattati. In alcuni casi, per raggiungere una concentrazione normale di anticorpi e ridurre il rischio infettivo, è stato necessario sottoporre i pazienti a infusioni periodiche di immunoglobuline umane (anticorpi);
- **reazioni avverse neurologiche:** le più comuni osservate sono grave alterazione dello stato di coscienza (encefalopatia), tremore, incapacità di esprimersi o di comprendere informazioni scritte o verbali (afasia), delirio. Nella maggior parte dei casi si presentano entro le 8 settimane successive alla somministrazione della terapia CAR-T, in una percentuale variabile tra il 21% e il 65% dei pazienti. La durata media di queste alterazioni è stata di 14 giorni, con scomparsa completa dei sintomi nel 98% dei pazienti. Il 13-31% dei pazienti ha presentato reazioni avverse neurologiche gravi (potenzialmente letali).

Sebbene non osservate, alcune possibili criticità legate all'ingegnerizzazione delle cellule sono rappresentate dallo sviluppo di virus capaci di replicarsi e infettare l'organismo e dall'insorgenza di tumori che possono originarsi dalle cellule geneticamente modificate. Per tale ragione, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha recentemente richiesto l'implementazione di un registro dei pazienti trattati per monitorarli fino a quindici anni dopo l'infusione.

Le CAR-T in Europa e in Italia

Quadro europeo

Attualmente non esiste un database europeo per le terapie CAR-T che consenta di conoscere in tempo reale il numero e la tipologia di trattamenti avviati nell'Unione Europea sia in sperimentazioni cliniche che con i prodotti già autorizzati. L'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha recentemente richiesto l'implementazione di un [registro](#) dei pazienti trattati per monitorarli fino a quindici anni dopo l'infusione.

Le CAR-T in Italia

In Italia è stato raggiunto l'accordo per la rimborsabilità di tisagenlecleucel da parte del Servizio Sanitario Nazionale (SSN) per entrambe le indicazioni autorizzate, e quindi sia per il trattamento di pazienti pediatrici e giovani adulti fino a 25 anni di età affetti da leucemia linfoblastica acuta a cellule B che non abbiano mai risposto alla chemioterapia, o che siano in recidiva dopo trapianto di cellule staminali emopoietiche allogeniche o dopo almeno 2 linee di chemioterapia, sia per i pazienti con linfoma diffuso a grandi cellule B o DLBCL già sottoposti ad almeno 2 linee di terapia sistemica.

Il 7 agosto l'AIFA ha approvato la rimborsabilità della prima terapia CAR-T.

I centri in cui si potranno effettuare le infusioni di CAR-T sono identificati dalle Regioni e possiedono tutte le autorizzazioni previste per legge.

Il processo per la produzione e somministrazione delle CAR-T è, infatti, molto complesso e necessita di un adeguato monitoraggio clinico del paziente dopo l'infusione del trattamento. Per tali motivi i centri specializzati in ematologia e onco-ematologia, pediatrica e per adulti, per poter essere autorizzati alla somministrazione delle terapie CAR-T, devono essere in possesso di specifici requisiti organizzativi e infrastrutturali, quali ad esempio: la certificazione del Centro Nazionale Trapianti in accordo con le Direttive UE, l'accreditamento per il trapianto allogenico, un centro di aferesi, un laboratorio per la criopreservazione con personale qualificato e adeguatamente formato, la disponibilità di un'Unità di Terapia Intensiva, la presenza di un *team* multidisciplinare adeguato alla gestione clinica del paziente e delle possibili complicanze.

L'AIFA renderà disponibile sul proprio sito l'elenco dei Centri autorizzati alla somministrazione del trattamento non appena questi saranno stati individuati dalle competenti Regioni e Province Autonome.

Sperimentazioni cliniche e uso compassionevole

Ad oggi sono state autorizzate 17 sperimentazioni cliniche che prevedono l'utilizzo delle terapie CAR-T. Una di queste è stata finanziata dall'Agenzia Italiana del Farmaco nell'ambito dei bandi per la Ricerca Indipendente. È inoltre possibile per pazienti affetti da linfoma primitivo del mediastino a cellule B (PMBCL) già sottoposti ad almeno 2 linee di terapia sistemica, accedere al trattamento con axicabtagene ciloleucel (Yescarta), nell'ambito dell'uso compassionevole, con fornitura diretta e gratuita del medicinale da parte dell'azienda produttrice. Le terapie CAR-T somministrate

nelle sperimentazioni in corso o in fase autorizzativa in Italia sono 6. Oltre alla leucemia linfoblastica acuta in fase recidiva/refrattaria e al linfoma non Hodgkin a cellule B recidivato o refrattario, gli studi riguardano anche i linfomi follicolari refrattari o recidivati, il neuroblastoma ad alto rischio e/o recidivo/refrattario e il mieloma multiplo recidivante e refrattario.

Glossario

Anticorpi monoclonali

Anticorpi sintetizzati in laboratorio e “disegnati” per legare in maniera selettiva un singolo bersaglio all’interno dell’organismo (o “antigene”, p.e. una proteina espressa sulla superficie di alcune cellule specifiche). Gli anticorpi monoclonali sono utilizzati nel trattamento di vari tipi di tumori, da soli, o in combinazione/coniugati con agenti antitumorali. Legando l’antigene, l’anticorpo monoclonale può stimolare una risposta immunitaria contro il bersaglio o facilitare l’introduzione nella cellula tumorale di agenti tossici, al fine di eliminare le cellule bersaglio.

CAR-T

Acronimo dall’inglese “Chimeric Antigen Receptor T cell” sta per “recettore antigenico chimerico delle cellule T”. Sono recettori sintetizzati in laboratorio per riconoscere le cellule tumorali.

Chemioterapia linfodepletiva

Particolari protocolli chemioterapici che hanno l’obiettivo di ridurre il numero dei linfociti circolanti. Una chemioterapia linfodepletiva (p.e. ciclofosfamide e fludarabina) è solitamente somministrata prima dell’infusione di CAR-T per permettere una più rapida e intensa espansione delle cellule CAR-T nell’organismo, migliorando così l’efficacia della terapia.

Inibitori dei checkpoint immunologici

Farmaci che agiscono bloccando alcune proteine presenti sulle cellule del sistema immunitario e, in maniera anormale, sulle cellule di alcuni tumori (p.e. PD-1/PD-L1, CTLA-4/B7-1/B7-2). Queste proteine regolano l’azione del sistema immunitario, e in alcuni casi possono impedire alle cellule del sistema immunitario (linfociti T) di eliminare le cellule tumorali. Bloccando queste proteine con farmaci specifici, questo “freno” al sistema immunitario viene rimosso, e i linfociti T riacquisiscono la capacità di eliminare le cellule tumorali.

Leucaferesi

Procedura trasfusionale che preleva il sangue dall’organismo per rimuovere/raccogliere un tipo specifico di cellula del sangue. Le cellule rimanenti e il plasma sono re-infusi al paziente.

Leucemia linfoblastica acuta a cellule B (B-ALL)

È la più comune forma tumorale riscontrabile in età pediatrica. Attualmente i pazienti con tale patologia sono trattati in prima linea con protocolli polichemioterapici intensivi, che garantiscono probabilità di guarigione anche superiori all’85%. Per i pazienti ad alto rischio o non rispondenti/in recidiva dopo il trattamento iniziale, il trapianto di cellule staminali emopoietiche allogeniche (da un donatore compatibile), quando possibile, rappresenta la terapia standard di seconda linea. Le percentuali di guarigione in questo caso sono però più basse rispetto a quanto si osserva in prima linea. Le terapie CAR-T possono essere utilizzate quando le due precedenti linee di trattamento non hanno funzionato.

Linfociti T

I linfociti T sono cellule fondamentali per la risposta immunitaria dell'organismo, derivano da una cellula staminale pluripotente del midollo osseo e maturano nel timo. I linfociti T hanno un recettore specifico per l'antigene costituito da una specifica struttura detta TCR (T-cell receptor) associata a un insieme di molecole che formano un'unità strutturale. I linfociti T hanno un ruolo importante nell'eliminazione delle cellule neoplastiche e di molti agenti patogeni.

Linfoma diffuso a grandi cellule B e linfoma primitivo del mediastino a cellule B

Il linfoma non Hodgkin (NHL) diffuso a grandi cellule B (DLBCL) e il linfoma non Hodgkin primitivo del mediastino a cellule B (PMBCL) sono due forme di linfoma aggressivo. In particolare, il DLBCL è la forma più comune, rappresentando circa il 30% di tutti i LNH di nuova diagnosi. La prognosi di queste forme dipende dalle caratteristiche cliniche del paziente, dall'estensione della malattia al momento della diagnosi e dalle caratteristiche biologiche e genetiche delle cellule tumorali. Con gli attuali protocolli di immunochemioterapia (regimi terapeutici che combinano chemioterapici classici con immunoterapici biologici), seguiti o meno da radioterapia, il 60-70% dei pazienti può ottenere un controllo della malattia a lungo termine o la guarigione. Per i pazienti refrattari al trattamento o in recidiva dopo un'iniziale risposta clinica, la strategia terapeutica standard consiste in una immunochemioterapia di seconda linea (o di salvataggio) seguita da chemioterapia ad alte dosi e trapianto di cellule staminali emopoietiche autologhe (ovvero ottenute dallo stesso paziente). Le opzioni terapeutiche efficaci per i pazienti che non rispondono alla terapia di salvataggio e/o non possono ricevere un trapianto di cellule staminali emopoietiche autologhe (ad esempio per età avanzata o gravi condizioni patologiche concomitanti) sono limitate. Per questo motivo, la terapia cellulare CAR-T è stata studiata ed è indicata per pazienti con DLBCL o PMBCL dopo due o più linee di terapia sistemica.

Terapie avanzate

Sono terapie sviluppate grazie ai recenti progressi scientifici nel campo della biotecnologia cellulare e molecolare e possono essere classificate in quattro gruppi principali:

- **Medicinali di terapia genica:** Agiscono attraverso l'inserzione di materiale genetico (DNA "ricombinante") all'interno delle cellule dell'organismo. Un gene ricombinante è un tratto di DNA che viene creato in laboratorio, riunendo DNA da fonti diverse. Sono utilizzate per il trattamento di una varietà di malattie, tra cui malattie genetiche, cancro o malattie croniche.
- **Medicinali di terapia cellulare somatica:** Contengono cellule o tessuti che sono stati manipolati per cambiare le loro caratteristiche biologiche, o cellule/tessuti non destinati ad essere utilizzati per le stesse funzioni essenziali originali. Possono essere utilizzati per curare, diagnosticare o prevenire le malattie.
- **Medicinali di ingegneria tessutale:** Contengono cellule o tessuti che sono stati modificati in modo da poter essere impiegati per riparare, rigenerare o sostituire tessuti umani.
- **Medicinali di terapia avanzata combinati:** Contengono uno o più dispositivi medici come parte integrante del medicinale. Un esempio sono le cellule fatte crescere su matrici biodegradabili o supporti sintetici.