



Kandidaatintutkielma

CAR T-soluhoido ja sen käyttö syövän hoidossa

Pia Vähäkuopus

Sisällysluettelo

Käytetyt lyhenteet

Sisällys

I KIRJALLISUUSTUTKIELMA

1. Johdanto	4
2. T-solut	4
2.1 T-solut ja syöpä:	5
2.1.1 Perforiini-välitteinen apoptoosi	6
2.1.2 Fas-reseptori välitteinen apoptoosi	8
3. CAR T-solut	9
3.1 CAR rakenne ja eri osien tehtävät	9
3.2 CAR sukupolvet	10
4. CAR T-solujen tuotanto	12
4.1 CAR T-soluterapiassa käytettävät geeninsiirtovektorit	12
5. CAR T-solut ja syöpä	13
5.1 Leukemiat	13
5.1.1 B-linjainen akuutti lymfoblastinen leukemia	13
5.1.2 Akuutti myeloinen leukemia	14
5.1.3 Krooninen lymfaattinen leukemia	15
6. CAR T-soluhoidon ongelmat ja haittavaikutukset	15
6.1 Sytokiinin vapautumisoireyhtymä	16
6.2 Neurotoksisuus	17
6.3 B-solu aplasia	18
7. Tulevaisuuden näkymät	18
8. Lähteet	19

II liite: TIEDETTÄ POPULARISOIVA ESITYS

Otsikko: CAR T-soluhoido ja sen käyttö syövän hoidossa

Toteutus: poster

Käytetyt lyhenteet

AAV	Adeno-associated virus/adeno-assosioitunut virus
B-ALL	B-linjainen akuutti lymfaattinen leukemia/B-cell acute lymphocytic leukemia
AML	Akuutti myeloinen leukemia/Acute myeloid leukemia
APC	Professional antigen presenting cell
CAR	Kimeerinen antigeenireseptori/Chimeric antigen receptor
CAR T-solu	T-solu johon on liitetty kimeerinen antigeenireseptori/Chimeric antigen receptor modified T-cell
CRS	Cytokine release syndrome
DISC-kompleksi	Death inducing signal complex, kuolemaa indusoiva signaalikompleksi
FADD/MORT1	Fas-associated protein with death domain, also called MORT1
FDA	The U.S. Food and Drug Administration
ICANS	Immune effector cell associated neurotoxicity syndrome
IL-2	Interleukiini-2
IL-6	Interleukiini-6
IL-12	Interleukiini-12
KLL	Krooninen lymfaattinen leukemia/Chronic lymphocytic leukemia
MHC	Major histocompatibility protein
mRNA	Lähetti-RNA/Messenger RNA
pMHC	Geenin koodaama proteiini, johon on liittynyt peptidi/Peptide-major histocompatibility complex
scFv	Yksiketjuinen vaihteleva fragmentti/Single-chain variable fragment
tBid	Truncated Bid
TCR	T cell receptor/T-solureseptori

TRUCK	T cells redirected for universal cytokine-mediated killing
CAD	Caspase-activated DNase
NK-solu	Luonnollinen tappajasolu/Natural killer cell
In vivo	Elävässä elimistö/solussa
Apaf-1	Apoptotic protease activating factor 1
IFN- γ	Gammainterferoni
dATP	Deoksiadenosiini trifosfaatti/Deoxyadenosine triphosphate
NFAT	Nuclear factor of activated T-cells

1. Johdanto

Syöpä on yleisnimitys suurelle joukolle erilaisia sairauksia. Se on kansantauti, joka aiheuttaa maailmanlaajuisesti toiseksi eniten kuolemia. Vuonna 2018 syöpään kuoli noin 9.6 miljoonaa ihmistä (World Health Organization, 2018). Suomessa vuonna 2018 todettiin 34372 uutta syöpätapausta ja noin 12730 ihmistä kuoli syöpään (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos, 2020). Koska syöpä on merkittävä kansantauti ja tiettyihin syöpämuotoihin ei ole vielä löydetty hyviä hoitomuotoja, on uusien syöpälääkkeiden/-hoitojen kehitys erittäin tärkeää.

CAR T-soluhoito on yksi uusimmista syövän hoitomuodoista ja sillä on saatu lupaavia tuloksia erityisesti verisyöpien hoidossa. CAR T-soluhoito on syövän immuunihoidomenetelmä, jossa kehon omia T-soluja muokataan siten, että ne tunnistavat syöpäsolujen pinnalla olevia antigeenejä ja näin ollen pystyvät tuhoamaan niitä. CAR T-soluja tutkitaan jatkuvasti ja niitä pyritään kehittämään siten, että ne toimisivat myös kiinteisiin kasvaimiin (Leppä & Vettenranta, 2019). Käsittelen tässä tutkielmassa CAR T-solujen rakennetta ja toimintaa sekä CAR T-soluhoitoon liittyviä ongelmia ja tulevaisuuden näkymiä.

2. T-solut

T-solut ovat lymfosyytteihin kuuluvia kehon omia puolustussoluja. Ne kuuluvat tärkeänä osana kehon adaptiiviseen immuunijärjestelmään. T-soluja syntyy luuytimessä niiden kantasoluista ja ne kypsyvät valmiiseen muotoonsa kateenkorvassa. T-soluja esiintyy veressä, imunesteessä ja imusoluelimissä, joihin kuuluvat perna, imusolmukkeet, luuydin, kateenkorva ja imukudos (Alberts et al., 2002).

T-solut voidaan jakaa niiden pintarakenteen mukaan erilaisiin alaluokkiin, joista merkittävimmät ovat CD4- ja CD8-positiiviset lymfosyytit. CD4-positiiviset lymfosyytit ovat ns. auttaja-T-soluja, jotka erittävät sytokiineja, jotka ohjaavat immuunijärjestelmää. Auttaja-T-solut tunnistavat antigeenejä, jotka ovat liittyneet MHC II -molekyylisiin, joita esiintyy dendriittisolujen ja makrofagien pinnalla (Brück, Keränen, Dufva, Kreutzman, & Mustjoki, 2016).

CD8-positiivisia lymfosyyttejä puolestaan kutsutaan tappaja-T-soluiksi. Niiden tehtävä on huolehtia soluvälitteisestä immunitetista ja tuhota infektoituneita/mutatoituneita soluja. Tappaja-T-solut tunnistavat T-solureseptorin (TCR) avulla antigeenejä, jotka ovat liittyneet MHC I -molekyyliin, joita esiintyy kaikkien tumallisten solujen pinnalla (Korhonen et al., 2018).

CD4- ja CD8-positiiviset T-solut tunnistavat infektoituneiden solujen antigeenit peptideihin sitoutuneiden MHC-molekyylien (pMHCs) avulla. Infektoituneiden solujen prosessit tuottavat ja siirtävät alkuperäisen patogeenien peptideitä MHC-molekyyyleille, jolloin niistä tulee pMHC ligandeja, jotka T-solut voivat tunnistaa. TCR ei kuitenkaan itsenäisesti pysty erottamaan patogeeneistä peräisin olevia ja itse tuotettuja proteiineja tai translaatiotuotteita. Tämän vuoksi T-lymfosyytit pitää aktivoida infektoituneen tai antigeeniä esittelevän (APC) solun toimesta (Feinerman, Germain, & Altan-Bonnet, 2008). Yleisimpiä antigeenejä esitteleviä soluja ovat dendriittisolut (Brück et al., 2016).

2.1 T-solut ja syöpä:

Kehon normaalit T-solut tunnistavat aluksi syöpäsolun antigeenin, jolloin ne aktivoituvat, jakautuvat ja alkavat taistella syöpäsoluja vastaan. T-solujen toimintaa vaikeuttaa se, että syöpäsolut muodostavat ympärillensä mikroympäristön, joka lamauttaa kehon puolustusjärjestelmää. T-solut pystyvät tunnistamaan monenlaisia antigeenejä, jotka ovat sitoutuneet syöpäsolujen MHC I-molekyyliin. Tunnistettavia antigeenejä ovat mutatoituneet antigeenit, neoantigeenit eli täysin uudet proteiinit ja ajallisesti/anatomisesti väärässä paikassa olevat proteiinit (Brück et al., 2016).

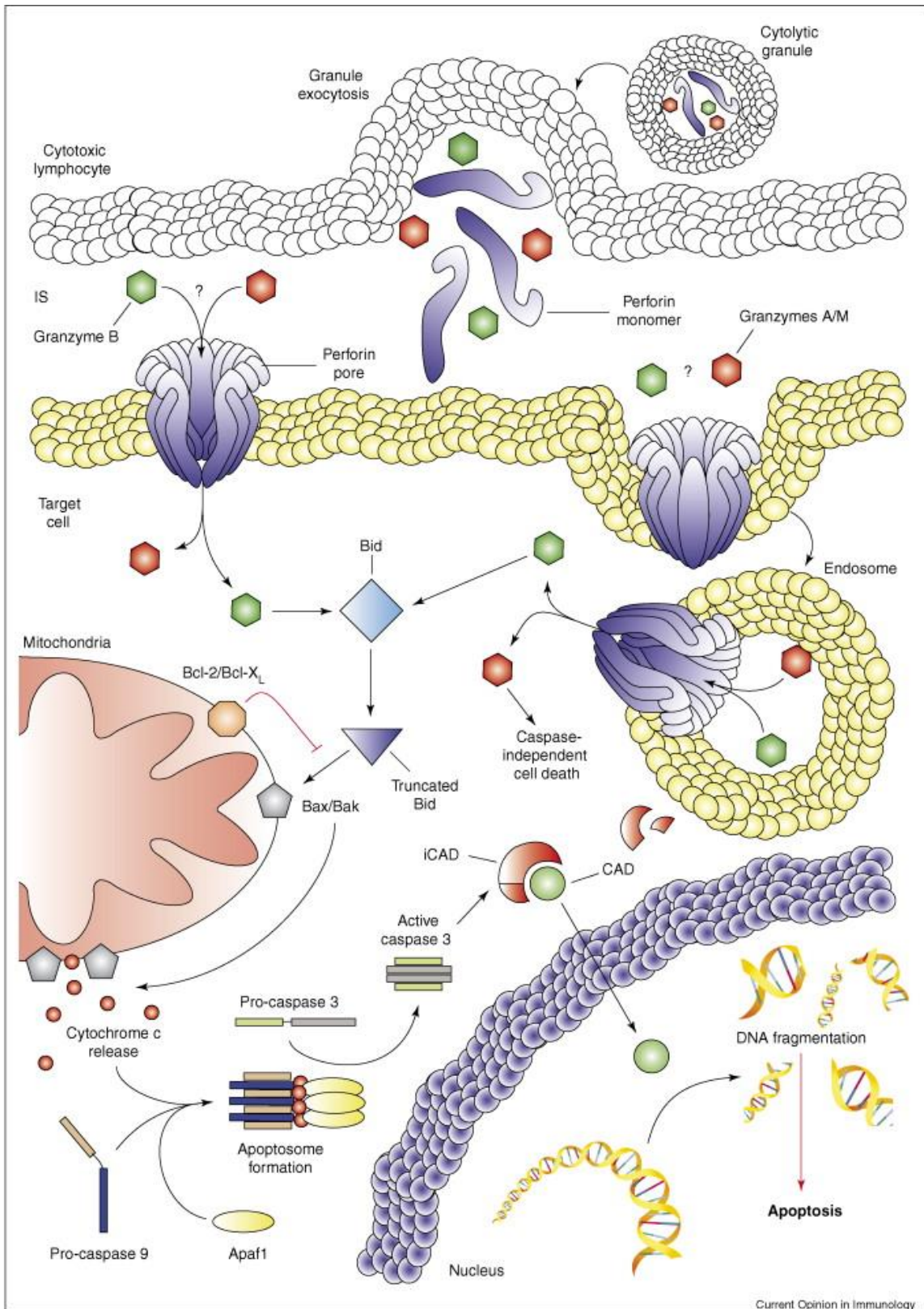
Antigeenit voivat olla syöpäsolujen pinnalla, tai ne voivat erittää niitä ja vapauttaa ne kuollessaan. Kun antigeenit vapautuvat ne päätyvät antigeenejä esittelevien solujen MHC II-molekyyyleille fagosytoosin kautta. Kun APC-solut ovat aktivoituneet ne siirtyvät esittelemään antigeenejä imukudoksiin esimerkiksi pernaan ja imusolmukkeisiin, jossa auttaja-T-solut tunnistavat ne ja aktivoituvat. Auttaja-T-solut erittävät aktivoituessaan gammainterferonia (IFN- γ) ja muita sytokiineja, jotka aktivoivat sekä tehostavat tappaja-T-solujen jakautumista (Brück et al., 2016).

T-solun ja antigeeniä esittelevän solun väliset signaalit vaikuttavat esittelyn lopputulokseen. Signaalit voivat olla estäviä tai aktivoivia. Kun T-solut aktivoituvat niin ne alkavat ilmentää CTLA-4-reseptoria, joka estää T-solujen aktivaatiota ja proliferaatiota. Tällä tavalla elimistö pystyy säätelemään immuunivasteen voimakkuutta ja kestoja imukudoksissa (Brück et al., 2016).

2.1.1 Perforiini-välitteinen apoptoosi

CD8-positiiviset tappaja-T-solut voivat aiheuttaa syöpäsolun apoptoosin kahdella tavalla: perforiini-välitteisesti tai Fas-reseptorin välityksellä. Perforiini-välitteisessä apoptoosissa tappaja-T-solun aktivoima tappaja-T-solu tunnistaa T-solureseptorin (TCR) avulla antigeenejä, jotka ovat liittyneet syöpäsolun MHC I -molekyyliin. Tappaja-T-solu liittyy antigeeniin ja vapauttaa eksosytoosilla eritysrakkuloita, jotka sisältävät perforiinia, grantsyymi A:ta ja grantsyymi B:tä. Rakkulat kuljetetaan tappaja-T-solun ja syöpäsolun väliseen immunologiseen synapsiin, jossa rakkulan sisältö vapautetaan (Bolitho, Voskoboinik, Trapani, & Smyth, 2007).

Rakkulat fuusioituvat syöpäsolun solukalvoon, johon perforiini muodostaa huokosia, joista grantsyymit pääsevät solun sisään. Grantsyymi B käynnistää apoptoosireitin pilkkomalla Bid-proteiinin, joka sitten aktivoi mitokondrion solukalvon Bax- ja Bak-proteiineja (Bolitho et al., 2007). Bax ja Bak tekevät mitokondrion solukalvosta paremmin läpäisevän, joka aiheuttaa sytokromi c:n vapautumisen solulimaan eli sytosoliin (van Delft et al., 2006). Prokaspasi 9, Apaf-1 ja sytokromi c muodostavat sitten apoptosomin, joka aktivoi prokaspasi 3:n. Aktiivinen prokaspasi 3 aiheuttaa DNAasin (CAD) vapautumisen ja siirtymisen tumaan. Tämä aiheuttaa DNA:n hajoamisen, joka lopulta johtaa apoptoosiin (Bolitho et al., 2007). Perforiini-välitteinen apoptoosi on esitetty kokonaisuudessaan kuvassa 1.

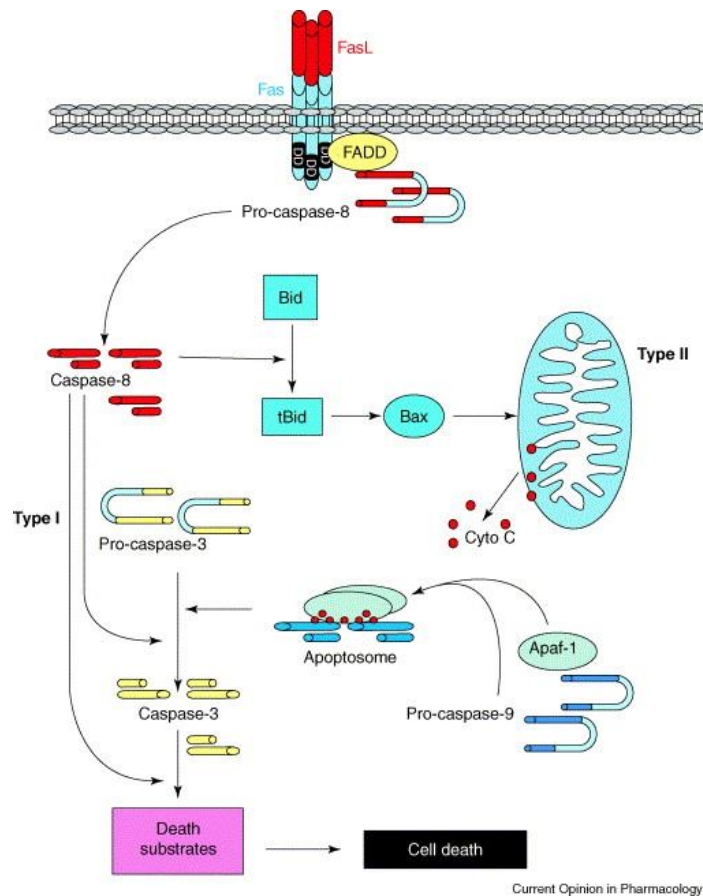


Current Opinion in Immunology

Kuva 1. Perforiini-välitteinen apoptoosi (Bolitho et al., 2007). Published with permission from Elsevier and Copyright Clearance Center.

2.1.2 Fas-reseptori välitteinen apoptoosi

Fas-reseptori välitteisessä apoptoosissa tappaja-T-solun FasL-ligandi sitoutuu syöpäsolun Fas-reseptoriin. Tämä saa aikaan DISC-kompleksin muodostumisen. DISC-kompleksi muodostuu adaptori-proteiinista FADD/MORT-1 ja prokaspasasi 8:sta (Li, Zhu, Xu, & Yuan, 1998). DISC-kompleksin muodostuminen aktivoi kaspasasi 8:n, joka aktivoi prokaspasasi 3:n. Solut, joissa kaspasasi 8 aktivoi suoraan prokaspasasin 3:n kutsutaan tyypin 1 soluksi. Tyypin 2 soluissa prokaspasasi 3:n aktivointi tapahtuu eri tavalla. Tyypin 2 soluissa Bid-proteiini pilkkoutuu ja siten aktivoituu. Aktiivista Bid-proteiinia kutsutaan nimellä truncated Bid (tBid). Aktiivinen tBid aiheuttaa pro-apoptoottisten molekyylien (Bak ja/tai Bax) oligomerisaation mitokondrion solukalvolla. Sen jälkeen tBid vapauttaa pro-apoptoottiset molekyylit ja sytokromi c:n mitokondrion sisä- ja ulkokalvon väliseen tilaan. Sytokromi c muodostaa yhdessä Apaf-1-proteiinin, dATP:n ja prokaspasasi 9:n kanssa apoptosomin. Apoptosomissa prokaspasasi 9 aktivoituu kaspasasi 9:ksi, jolloin kaspasasi 9 aktivoi kaspasasi 3:n, joka johtaa apoptoosiin (Houston & O'Connell, 2004). Fas-reseptori välitteinen apoptoosi on esitetty kokonaisuudessaan kuvassa 2.



Kuva 2. Fas-reseptori välitteinen apoptoosi (Houston & O'Connell, 2004). Published with permission from Elsevier and Copyright Clearance Center.

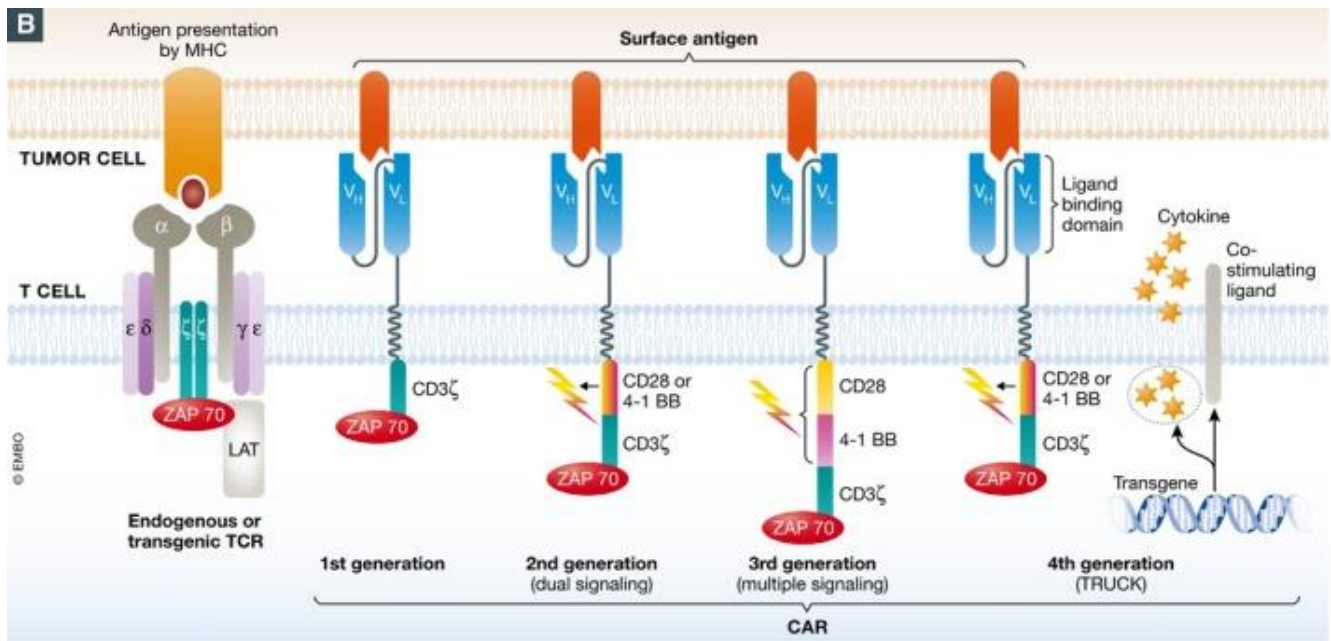
3. CAR T-solut

CAR T-solut ovat ihmisen omia T-soluja, joita on geneettisesti muokattu niin että niiden pinnalla on CAR-reseptori, joka pystyy spesifisesti tunnistamaan kasvainsolujen antigeenejä. CAR on kimeerinen antigeenireseptori, jonka antigeeniä tunnistava osa valitaan sen mukaan mihin antigeeniin sen halutaan sitoutuvan (Korhonen et al., 2018). CAR T-solut eivät tarvitse MHC-molekyyliä kohdeantigeeninsä tunnistukseen, tämän vuoksi CAR T-soluhoidolla voidaan myös hoitaa syöpiä, joissa syöpäsolut ovat kiertäneet MHC-molekyylin välityksellä tapahtuvan antigeenin esittelyn vähentämällä MHC:n ilmentämistä (Brück et al., 2016).

3.1 CAR rakenne ja eri osien tehtävät

CAR koostuu kolmesta domeenista: solunulkoisesta domeenista, transmembraani domeenista ja solunsisäisestä domeenista. Solunulkoisen domeenin tehtävä on tunnistaa kohdesolut niiden antigeenien avulla. Solunulkoinen domeeni sisältää raskaita- ja kevyitä immunoglobuliiniketjuja, jotka on liitetty toisiinsa linkkerillä. Immunoglobuliiniketjut muodostavat yksiketjuisen vasta-aineen (scFv), joka tunnistaa ja sitoutuu kasvainsolun antigeeniin. Vaihtamalla antigeenin tunnistavaa osaa voidaan CAR muokata spesifiseksi tietylle antigeenille. Mahdollisia kohdeantigeenejä voivat olla esimerkiksi CD19 tai CD33 (Zhang, Liu, Zhong, & Zhang, 2017). CD19 ja CD33 ovat hyviä kohdeantigeenejä, koska niiden tuotanto on lisääntynyt leukemioissa ja lymfoomissa. Normaaleissa B-soluissa CD19:n tuotanto vähenee, kun solu alkaa erilaistua, mutta leukemiassa ja lymfoomissa niiden tuotanto jatkuu (Scheuermann & Racila, 1995). CD33-antigeenia esiintyy kehon hematopoeettisissa kantasoluissa mutta ei kypsissä verisoluissa minkä vuoksi se on hyvä kohde erityisesti akuutin myelooisen leukemian hoidossa (Ehninger et al., 2014).

Solunulkoinen domeeni kiinnittyy transmembraani-domeeniin varsiosalla, joka lisää solunulkoisen domeenin liikkuvuutta. Transmembraani-domeeni myös kiinnittää CAR:n solukalvoon ja yhdistää solunulkoisen ja solunsisäisen domeenin. Solunsisäinen domeeni vastaa T-solujen signaloinnista ja toiminnasta. Yleisin signaaliosa solunsisäisessä domeenissa on CD3-zeeta molekyyli, joka on sytoplasmisen häntä, joka välittää TCR-kompleksin aktivaatiosignaalia. CD3-zeeta molekyyliin voidaan liittää myös esimerkiksi TCR:n koreseptorin CD28:n sytoplasmisen häntä, jolla voidaan vahvistaa aktivaatiosignaalia (Zhang et al., 2017). CAR T-solun rakenne havainnollistettuna kuvassa 3.



Kuva 3. Normaalin T-solun aktivaatio ja erilaisten CAR T-solujen aktivaatio. Normaalisissa T-soluaktivaatioissa kasvainsolun antigeenin T-solureseptorille esittelee MHC-proteiini, kun taas CAR T-soluaktivaatioissa CAR tunnistaa kasvainsolun pinta-antigeenin solun ulkoisen domeenin avulla (Hartmann, Schüßler-Lenz, Bondanza, & Buchholz, 2017). Published with permission from Elsevier and Copyright Clearance Center.

3.2 CAR sukupolvet

CAR T-solut voidaan jakaa neljään sukupolveen niiden rakenteen perusteella. Ensimmäisen sukupolven CAR T-solut sisältävät vain yhden CD3 signalointi-domeenin. Ensimmäisen sukupolven CAR T-solujen aktivaatio on kuitenkin heikohko eivätkä ne tuota tarpeeksi IL-2 interleukiinia minkä vuoksi ne eivät pysty tappamaan kasvainsoluja. Tutkimuksissa on havaittu, että ensimmäisen sukupolven CAR T-soluissa on paljon ongelmia esimerkiksi ne eivät jakaudu tehokkaasti, ne erittävät keholle haitallisia sytokiineja ja ovat elimistössä lyhytikäisiä (Fan et al., 2017).

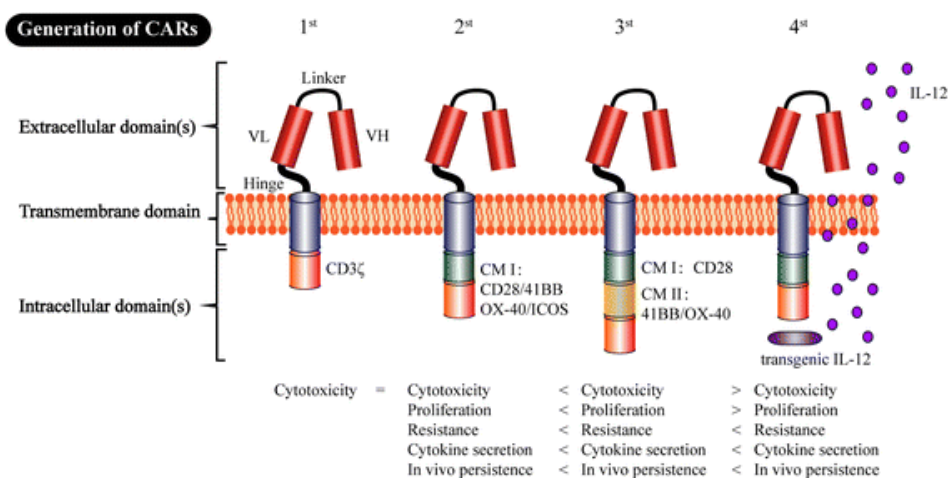
Toisen sukupolven CAR T-soluissa näitä heikkouksia on pyritty poistamaan lisäämällä niihin TCR:n koreseptoreiden signalointi-domeeneja, joita ovat esimerkiksi 4-1BB ja CD28 (Fan et al., 2017). Tutkimuksissa on osoitettu, että CD28 domeenin lisääminen CAR-reseptoriin vähentää sytokiinieneritystä ja lisää CAR T-solujen kasvainten vastaista tehoa (Milone et al., 2009). Toisen sukupolven CAR T-soluihin lisätyt signalointi-domeenit auttavat myös T-solujen aktivaatioissa, edistävät T-solujen hengissä pysymistä ja lisäävät IL-2 synteesiä, jonka vuoksi solujen apoptoosi estyy (Fan et al., 2017; Song et al., 2012). Toisen sukupolven CAR T-solut lisääntyvät ja kasvavat paremmin kuin

ensimmäisen sukupolven CAR T-solut CD28 domeenin ansiosta, mutta jos ne sen sijaan sisältävät 4-1BB domeenin niin ne väsyvät nopeasti minkä vuoksi kasvainten vastainen teho jää huonoksi. Väsyneet CAR T-solut eivät jakaudu, tuota sytokiineja normaalisti ja suurin osa niistä ajautuu apoptoosiin (Fan et al., 2017; Long et al., 2015). Tutkimuksissa on todettu, että toinen sukupolvi on paljon ensimmäistä parempi (Lo, Ma, Liu, & Junghans, 2010).

Kolmannen sukupolven CAR T-solujen CAR-reseptorit on koottu yhdistämällä CD3, CD28 ja OX40 domeenit tai CD3, CD28 ja 4-1BB domeenit. Tavoitteena oli parantaa soluja lisäämällä niiden sytokiinien tuotantoa ja syövän tappamiskykyä. Tutkimuksissa kuitenkin huomattiin, että kolmas sukupolvi ei ollut aikaisempaa sukupolvea parempi, koska se aiheutti aiempia sukupolvia enemmän sivuvaikutuksia syöpähoidoissa (Fan et al., 2017).

Neljännän sukupolven CAR T-soluja kutsutaan nimellä TRUCK (T cells redirected for universal cytokine-mediated killing). Ne ovat muuten samanlaisia kuin toisen sukupolven CAR T-solut, mutta niihin on liitetty NFAT-transkriptiotekijä. NFAT-transkriptiotekijä indusoi IL-12:n vapautumisen kun solu kohtaa syövän mikroympäristön (Smith, Oertle, Warren, & Prato, 2016). Vapautuneet sytokiinit puolestaan houkuttelevat paikalle muita immuunipuolustuksen soluja, esimerkiksi makrofageja ja NK-soluja, jotka sitten hyökkäävät syöpäsoluihin (Chmielewski, Hombach, & Abken, 2014).

Uusia CAR T-solu sukupolvia tutkitaan ja kehitetään koko ajan eteenpäin, mutta tällä hetkellä kaikissa FDA:n (the U.S. Food and Drug Administration) hyväksymissä CAR T-soluhoidoissa käytetään toisen sukupolven CAR T-soluja (Ahmad, Uddin, & Steinho, 2020).



Kuva 4. CAR T-solujen sukupolvet. Kuvassa havainnollistettu eri CAR T-solujen rakenteet ja ominaisuudet (Fan et al., 2017).

4. CAR T-solujen tuotanto

CAR T-solujen tuotanto alkaa siitä, että potilaan omaa verta kerätään ja siitä erotetaan valkosolut. Prosessia jossa valkosolut erotetaan verestä kutsutaan leukofereesiksi. Sen jälkeen valkosolujen joukosta erotetaan T-solut, joita sitten käytetään CAR T-solujen valmistukseen (Korell et al., 2020). Seuraavaksi valmistetaan haluttua CAR-reseptoria koodaava DNA-jakso, joka siirretään potilaalta kerättyihin T-soluihin. Yleisimmin DNA-jakso siirretään T-soluihin virustransduktiolla, jossa käytetään geeninsiirtokuljettimena γ -retrovirusia tai lentivirusia (Fan et al., 2017).

DNA-jakson siirtämisen jälkeen CAR T-solujen annetaan jakautua, jotta niiden määrä kasvaa. Kun CAR T-solut ovat valmiita ne pakastetaan ja viedään takaisin sairaalaan, jossa ne siirretään takaisin potilaan verenkiertoon infuusiolla (Korhonen et al., 2018). Ennen kuin CAR T-solut infusoidaan takaisin potilaan verenkiertoon hänelle annetaan solusalpaajahoitoa. Solusalpaajahoito vähentää lymfosyyttejä potilaan verenkierrössä mikä edistää CAR T-solujen kasvua elimistössä (Leppä & Vettenranta, 2019).

4.1 CAR T-soluterapiassa käytettävät geeninsiirtovektorit

CAR voidaan siirtää T-soluun käyttämällä joko viraalisia vektoreita tai ei-viraalisia vektoreita. Viraalisia vektoreita ovat geneettisesti muokatut retrovirukset, lentivirukset, adenovirukset ja adeno-assosioituneet virukset (AAV). Tehokkaimpia näistä ovat γ -retrovirukset ja lentivirukset, koska ne pystyvät integroitumaan isäntäsolun genomiin ja ne eivät aiheuta immuunivastetta. Lentivirukset pystyvät myös kuljettamaan suuremman määrän DNA:ta ja integroitumaan myös ei-jakautuviin soluihin (El-Aneed, 2004; Fan et al., 2017). Lentivirusten on joissakin malleissa osoitettu olevan vähemmän alttiita isäntäsolun puolustusmekanismille, jonka seurauksena viruksen kantaman geenin tuottoepigeneettisesti hiljennetään (Pfeifer, Ikawa, Dayn, & Verma, 2002). Hiljennys aiheuttaa sen, että viruksen soluun tuoman geenin ilmentäminen loppuu eli jos hiljennystä ei tapahdu solu pystyy ilmentämään viruksen siihen tuomaa geeniä pitempään. Tämän vuoksi lentivirukset ovat suosituimpia vektoreita kliinisissä kokeissa. Ei-viraalisia vektoreita ovat mm. DNA, mRNA ja liposomit. Ei-viraaliset vektorit ovat hyviä vektoreita, koska ne ovat tehokkaita, ne voivat kuljettaa suuren määrän geneettistä informaatiota, niillä on kontrolloitu kemiallinen koostumus ja ne eivät aiheuta infektiota (El-Aneed, 2004; Fan et al., 2017).

5. CAR T-solut ja syöpä

Tällä hetkellä CAR T-soluhoidon pystytään käyttämään enimmäkseen erilaisten leukemioiden, lymfoomien ja myeloomien hoitoon. Syövän immunologisilla hoitomuodoilla on kaksi haastetta, jotka niiden täytyy pystyä suorittamaan. Ensiksi niiden täytyy tunnistaa syöpäsolut ja sen lisäksi aktivoida kehon oma puolustusjärjestelmä. CAR T-solut ovat pystyneet kumpaankin minkä vuoksi lupaavia hoitotuloksia on saatu. Lupaavia tuloksia on saatu mm. akuutin lymfaattisen leukemian, kroonisen lymfaattisen leukemian, akuutin lymfaattisen leukemian, myeloomien ja non-Hodgkin-lymfoomien hoidossa (Korhonen et al., 2018). Tässä työssä käsittelen ainostaan leukemioiden hoitoa.

5.1 Leukemiat

Leukemiat ovat varhaisesta kantasolusta alkunsa saaneita pahanlaatuisia verisairauksia, joissa normaalien verisolujen muodostuminen on estynyt ja epä kypsät blastitasoiset solut alkavat lisääntyä hallitsemattomasti luuytimessä ja leviävät veren mukana elimistöön. Leukemiat jaetaan akuutteihin ja kroonisiin leukemioihin sen perusteella, miten nopeasti tauti etenee ja kuinka vakavia taudin oireet ovat. Krooniset leukemiat ovat akuutteja leukemioita hitaammin eteneviä ja vähä oireisempia syöpämuotoja, jotka usein todetaan sattumalta potilaan verikokeista (Porkka & Koistinen, 2007).

Akuutit leukemiat puolestaan ovat nopeasti eteneviä ja ilman hoitoa nopeasti kuolemaan johtavia sairauksia. Akuutit leukemiat jaetaan yleensä kahteen pääluokkaan solujen erilaistumissuunnan perusteella: myelooiset akuutit leukemiat ja lymfaattiset akuutit leukemiat. Pääluokat jakautuvat vielä useisiin alaluokkiin, joilla jokaisella on omat piirteensä (Elonen, 2007).

5.1.1 B-linjainen akuutti lymfoblastinen leukemia

B-linjaisen akuutin lymfoblastisen leukemian (B-ALL) solut ilmentävät pinnallaan CD19-pintaproteiinia, joka on sama pintaproteiini mitä kehon normaalit B-solut ilmentävät, mutta sitä ei löydy juurikaan muualta minkä vuoksi se on hyvä kohde CAR T-soluille (Korhonen et al., 2018). Monissa tutkimuksissa on todettu, että CD19-pintaproteiinia ilmentävät CAR T-solut ovat tehokas hoitomuoto potilaille, jotka sairastavat B-linjaista akuuttia leukemiaa, mutta eivät ole saaneet apua tavanomaisista syöpähoidoista.

Neelapu (2017) artikkelin tutkimuksessa tutkittiin 111 potilasta, joista 101 sairasti B-linjaista akuuttia leukemiaa ja heistä suurin osa oli käynyt läpi muita syöpähoitoja ilman täydellistä vastetta. Heistä 82 % sai hoidosta objektiivisen vasteen ja jopa 54 % sai täydellisen vasteen hoitoon. 15,4 kuukautta hoidon jälkeen 42 %:lla potilaista oli vastetta jäljellä ja 40 %:lla heistä vaste oli täydellinen. 18 kuukautta hoidon jälkeen potilaista oli elossa 52 %. Hoidosta aiheutui osalle potilaista sivuvaikutuksia mm. neutropeniaa, anemiaa ja trombosytopeniaa. Vakavaa sytokiinien vapautumisoireyhtymää esiintyi 13 %:lla ja vakavia neurologisia ongelmia 28 %:lla potilaista. Tämän tutkimuksen johtopäätöksenä todettiin, että CAR T-soluhoidolla voidaan saavuttaa hyvä vaste B-linjaisen akuutin lymfoblastisen leukemian hoidossa, vaikkakin se aiheutti suurelle osalle potilaista haittavaikutuksia (Neelapu et al., 2017).

5.1.2 Akuutti myelooinen leukemia

Lähes kaikki akuutin myelooinen leukemian (AML) solut ilmentävät pinnallaan CD123-pintaproteiinia, joka on hyvä kohde CAR T-soluille. Erona CD19-pintaproteiinin kohdennettuun CAR T-soluhoidon on se, että myös osa kehon normaaleista hematopoieettisista ja endoteelisoluista ilmentävät CD123-proteiinia solukalvolla, joten hoito vaikuttaa siten myös kehon omiin soluihin. Ongelmana AML:n hoidossa onkin se, että miten saadaan hyviä hoitotuloksia siten, että potilaalle aiheutuu hoidosta mahdollisimman vähän haittaa. Mahdollisia hoidosta aiheutuvia haittoja ovat mm. hiussuonivuoto-oireyhtymää ja myelosuppressio eli luuytimen alentunut kyky tuottaa verisoluja (Perriello et al., 2021).

Gill (2014) artikkelin tutkimuksessa tutkittiin CD123-pintaproteiiniin kohdennettua CAR T-soluhoidoa hiirimalleilla. Tutkimuksessa todettiin, että CD123-pintaproteiini on hyvä kohde CAR T-soluhoidolle, koska sen ilmentyminen lisääntyy syöpäsoluissa *in vivo* ajan kuluessa. Lisäksi tutkimuksessa havaittiin, että CD123-pintaproteiinia ilmentävät CAR T-solut kykenevät antigeenispesifiseen lisääntymiseen, degranulaatioon ja useiden sytokiinien valmistukseen. Tutkimuksen loppupäätelmä oli se, että CD123-pintaproteiiniin kohdennettu CAR T-soluhoido toimii AML:n hoidossa ja sillä saatiin pidennettyä AML solulinjaisten hiirten elämää. Mutta suurena ongelmana hoidossa on edelleen se, että CD123-pintaproteiinia löytyy kehon omista soluista, jolloin hoidon seurauksena mm. riski luuytimen tuhoutumiseen on olemassa. Hoitomuodolla on saatu paljon lupaavia tuloksia, mutta vaaditaan vielä lisää tutkimuksia, jotta hoidosta saataisiin turvallisempi (Gill et al., 2014).

5.1.3 Krooninen lymfaattinen leukemia

Kroonisen lymfaattisen leukemian (KLL) solut ilmentävät pinnallaan B-ALL:n tavoin CD19-pintaproteiinia. CD-19 pintaproteiinin kohdennettu CAR T-soluhoido on todettu myös KLL:n hoidossa hyväksi kohteeksi. Gauthier (2020) tutkimuksessa tutkittiin KLL:n hoitoa CD19-pintaproteiinin kohdistetulla CAR T-soluhoidolla yhdessä ibrutinibi lääkkeen kanssa (Gauthier et al., 2020). Ibrutinibi on Brutonin tyrosiinikinaasin inhibiittori, joka estää B-solujen lisääntymistä ja selviytymistä (Burger et al., 2015). Gauthier (2020) tutkimuksessa todettiin että, ibrutinibi lisää T-solujen määrää ja parantaa niiden toimintaa, joka puolestaan johti siihen että CAR T-solut pystyivät lisääntymään paremmin eikä kasvaimia muodostunut. Ibrutinibin todettiin myös vähentävän sytokiinien vapautumisoireyhtymän kehittymistä ja vakavuutta KLL potilailla (Gauthier et al., 2020).

6. CAR T-soluhoidon ongelmat ja haittavaikutukset

Niin kuin lähes kaikkiin lääketieteellisiin hoitoihin myös CAR T-soluhoidon liittyy ongelmia. Ongelmia on sekä CAR T-solujen valmistuksessa että siinä, miten hoito vaikuttaa potilaisiin. Yksi suurimmista ongelmista, joka vaikuttaa sekä hoidon saatavuuteen että sen kehitykseen, on sen kalliit kustannukset. Kustannukset muodostuvat CAR-reseptoreiden valmistuksesta ja niiden valmistukseen tarvittavista raaka-aineista, tuotteiden toimituksista ja hoitoon liittyvistä muista kuluista. Kalliit kustannukset aiheuttavat sen, että läheskään kaikilla hoitoa tarvitsevilla ei ole mahdollista päästä hoitoon sen korkean hinnan vuoksi ja hoitomuodon kehitys on myös hitaampaa (Rogosic & Ghorashian, 2020).

Hoitomuotona CAR T-soluhoido on vielä niin uusi, että CAR T-soluja ei toistaiseksi pystytä valmistamaan monessa paikassa mikä aiheuttaa sen, että solut joudutaan yleensä lähettämään muualle geenimuokkausta varten. Tämän vuoksi potilas saattaa joutua odottamaan jopa 3-4 viikkoa ennen kuin hoito pystytään aloittamaan ja se on varsinkin aggressiivisen taudin kanssa liian pitkä aika. Tulevaisuudessa pitääkin pystyä kehittämään jokin helpompi tai tehokkaampi tapa valmistaa CAR T-soluja, jotta prosessia saadaan nopeutettua ja kaupallistettua (Leppä & Vettenranta, 2019).

Yhtenä ongelmana CAR T-solujen tuotannossa on myös niiden heterogeenisyys. Solujen heterogeenisyyden takia niiden laatua on vaikea tarkkailla, joka aiheuttaa mutaatoriskin. Jottei mutaatioita pääse tapahtumaan täytyy geenisiirtovektoreiden olla stabiileja. Laaduntarkkailua helpottaisi se, että käytettäisiin samaa geeninsiirtovektoria CAR T-solujen valmistukseen. Myös hoitoprotokollaa tulisi saada yhtenäistettyä, jotta CAR T-soluhoidon hyvä laatu pystytään takaamaan tulevaisuudessa (Zhang et al., 2017).

Toinen iso ongelma CAR T-soluhoidossa on syövän uusiutuminen. CAR T-soluhoidon on kehitetty ja tutkittu paljon, mutta silti sairaus uusiutuu jopa 50 %:lla potilaista. Uusiutumista voidaan selittää CAR T-solujen heikentyneellä persistenssillä ja CAR T-solujen kohde proteiinien häviämällä (antigenic escape) (Rogosic & Ghorashian, 2020). Heikentyneeseen persistenssiin vaikuttaa mm. solujen viljely olosuhteet, viljeltävien solujen määrä ja CAR:n rakenne (Fan, Das, Xiong, Chen, & Song, 2021). Kohde proteiinien häviämiseen puolestaan johtaa se, että uusiutunut syöpä on fenotyypiltään sama mutta sen pinnalla ei ole samoja pintaproteiineja joihin potilaan kehossa olevat CAR:t voisivat kiinnittyä eli CAR:t eivät pysty tunnistamaan syöpäsoluja. Syövän pintaproteiinit ovat siis mutatoituneet tai hävinneet ja näin ollen syöpäsolut pystyvät ohittamaan CAR T-solujen tunnistuksen mikä aiheuttaa syövän uusiutumisen (Sotillo et al., 2015).

Edellä mainitut ongelmat ja CAR T-soluhoidon kehittymättömyys aiheuttavat potilaille paljon haittavaikutuksia. Haittavaikutuksista vakavimmat ja yleisimmät ovat sytokiinin vapautumisoireyhtymä, neurotoksisuus ja B-solu aplasia.

6.1 Sytokiinin vapautumisoireyhtymä

Sytokiinin vapautumisoireyhtymä (CRS) on suurin CAR T-soluhoidon liittyvistä haittavaikutuksista. Se on elimistön systeeminen tulehdusvaste, joka aiheutuu CAR T-solujen aktivaation ja lisääntymisen seurauksena tuotetusta sytokiinin suuresta määrästä (Jiang et al., 2019). CRS:n oireisiin kuuluu mm. kuume, väsymys, hypotensio, pahoinvointi, päänsärky, ja hengitysvaikeudet (Jiang et al., 2019; Lee et al., 2014). CRS on vakava sairaus, joka pahimmillaan uhkaa myös potilaan henkeä, sillä osa CRS:ssään sairastuneista potilaista on kuollut hyvästä hoidosta huolimatta (Jiang et al., 2019).

CRS:n vakavuus ja oireet vaihtelevat hyvin paljon potilaiden välillä, mikä johtuu mm. potilaiden geneettisistä eroista, syöpätyypistä ja CAR rakenteiden eroista. Vakavan CRS:n merkittävimmät riskitekijät ovat korkea ikä ja se, että potilas sairastaa jo ennestään useampaa eri sairautta (Lee et al., 2014). Potilaiden seerumin korkean IL-6 pitoisuuden on myös todettu lisäävän vakavan CRS:n kehittymistä, mutta tämä yhteys ei ole täysin selkeä. Tämän vuoksi potilailta olisi hyvä tunnistaa toksisuutta ennustavia biomarkkereita ja antaa heille sytokiineihin kohdennettua hoitoa ennen kuin heille kehittyy vakava CRS (Teachey et al., 2016).

CRS:n hoito riippuu sen aiheuttamien oireiden vakavuudesta, mutta yleensä käytetään lääkkeenä antibodia, joka estää IL-6 erittymisen (Rogosic & Ghorashian, 2020). IL-6 mahdollistaa T-solujen jakautumisen eli jos sitä ei erity niin solut eivät pysty jakautumaan (Li, Jones, & Geiger, 2018). Myös kortikosteroideja käytetään, mutta ne saattavat heikentää T-solujen toimintaa ja lisääntymistä, joka näin ollen heikentää myös CAR T-soluhoidon tehoa (Rogosic & Ghorashian, 2020).

6.2 Neurotoksisuus

Neurotoksisuus on CRS:n jälkeen toiseksi yleisin haittavaikutus. Neurotoksisuus voi esiintyä CRS:n kanssa yhdessä, sen jälkeen tai yksinään (Neelapu et al., 2018). Neurotoksisuuden patofysiologiasta ei ole vielä tarkkaa tietoa, mutta nykyisellä tiedolla sen ajatellaan liittyvän endoteelisolujen ja monosyyttien/makrofagien aktivaation seurauksena aiheutuneesta veriaivoesteen heikentymisestä. CAR T-soluterapian aiheuttamaa neurotoksisuutta kutsutaan nimellä immune effector cell associated neurotoxicity syndrome (ICANS). Yleisimpiä oireita ovat haurailu, aivosairaudet, afasia, uneliaisuus ja kognitiiviset häiriöt (Rogosic & Ghorashian, 2020).

Neurotoksisuuden vakavuuteen vaikuttaa se mitä CAR T-solu tuotetta on käytetty. Tutkimuksissa on havaittu, että CAR T-solut, jotka sisältävät CD28 signaalintiosan aiheuttavat todennäköisemmin neurotoksisuutta lapsi- ja aikuispotilaissa. Neurotoksisuuden hoitoon vaikuttaa sen aiheuttamien oireiden vakavuus. Jos oireet ovat lievät niitä hoidetaan oireiden mukaisilla lääkkeillä niin, että potilaalla on mahdollisimman vähän kipuja. Jos taas on kyseessä vakavammat oireet ja potilaalla on myös CRS, hoitona käytetään silloin IL-6 vasta-ainetta, joka estää IL-6:n toiminnan. Jos oireet ovat erittäin vakavat hoitona käytetään kortikosteroideja (Rogosic & Ghorashian, 2020).

6.3 B-solu aplasia

B-solu aplasia tarkoittaa kehon omien B-solujen tuhoutumista. B-solu aplasiaa esiintyy CD19-pintamolekyyliin suunnatussa CAR T-soluhoidossa (Korhonen et al., 2018). Koska sekä elimistön omat B-solut että syöpäsolut ilmentävät CD19-pintamolekyyliä, molemmat tuhoutuvat sillä CAR T-solut eivät pysty erottamaan niitä toisistaan. Sen vuoksi tätä hoitomuotoa saavat potilaat tarvitsevan immunoglobuliinikorvaushoitoa. Immunoglobuliinikorvaushoitoa on jatkettava niin kauan kuin CAR T-soluja on elimistössä ja joissain tapauksissa sitä tarvitaan kauemminkin (Korhonen et al., 2018). Tutkimuksissa on huomattu, että B-solu aplasia esiintyy useammin lapsilla kuin aikuisilla. Syyksi on arveltu lapsien puutteellista CD19-plasmasolubarastoa (Rogosic & Ghorashian, 2020).

7. Tulevaisuuden näkymät

Tällä hetkellä CAR T-soluhoidon pystytään käyttämään lähinnä verisyöpien hoitoon, mutta tavoitteena olisi, että sillä pystyttäisiin tulevaisuudessa hoitamaan myös syöpäkasvaimia. Aiheesta on lukuisia tutkimuksia meneillään ja osissa tutkimuksista on saatu lupaavia tuloksia, mutta haittavaikutukset ovat vielä toistaiseksi liian suuria ja arvaamattomia (Leppä & Vettenranta, 2019).

Syöpäsolujen tunnistusta pyritään parantamaan CAR T-soluilla, jotka sitoutuisivat kahteen antigeeniin mikä johtaisi siihen, että täydellinen T-solu aktivaatio tapahtuisi vasta kun molemmat antigeenit ovat sitoutuneet. Se lisäisi CAR T-solujen spesifisyyttä ja vähentäisi mahdollisesti myös hoidon sivuvaikutuksia. Sillä voitaisiin mahdollisesti estää myös CAR T-soluja vastaan muodostuvaa resistenssiä, koska on epätodennäköistä, että molemmat syöpäsolun pinta-antigeeneistä häviäisivät (Rogosic & Ghorashian, 2020).

Tulevaisuudessa hoidon kustannukset tulevat laskemaan, kun tuotantoprosessia saadaan kehitettyä eteenpäin. Pienemmät kustannukset mahdollistavat sen että, hoito tulee saataville kaikille niille, jotka sitä tarvitsevat. Laajempi saatavuus mahdollistaa myös uusien tutkimusten tekemisen ja CAR T-soluhoidon kehittymisen. Tulevaisuudessa CAR T-soluilla voidaan todennäköisesti hoitaa verisolusyöpien lisäksi myös kiinteitä syöpäkasvaimia ja muita sairauksia.

8. Lähteet

- Ahmad, A., Uddin, S., & Steinho, M. (2020). CAR-T cell therapies: An overview of clinical studies supporting their approved use against acute lymphoblastic leukemia and large b-cell lymphomas. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(11), 3390. <https://doi.org/10.3390/ijms21113906>
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). The adaptive immune system. *Molecular biology of the cell* (4th ed.). New York: Garland Science.
- Bolitho, P., Voskoboinik, I., Trapani, J. A., & Smyth, M. J. (2007). Apoptosis induced by the lymphocyte effector molecule perforin. *Current opinion in immunology*, 19(3),339-347. <https://doi-org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.coi.2007.04.007>
- Brück, O., Keränen, M., Dufva, O., Kreutzman, A., & Mustjoki, S. (2016). T-solut ja syöpä – miksi tappajat uupuvat? *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*, 21(132), 1984-1992.
- Burger, J. A., Tedeschi, A., Barr, P. M., Robak, T., Owen, C., Ghia, P., Bairey, O., Hillmen, P., Bartlett, N. L., Li, J., Simpson, D., Grosicki, S., Devereux, S., McCarthy, H., Coutre, S., Quach, H., Gaidano, G., Maslyak, Z., Stevens, D. A., Janssens, A., . . . RESONATE-2 Investigators (2015). Ibrutinib as initial therapy for patients with chronic lymphocytic leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 373(25), 2425-2437. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1509388>
- Chmielewski, M., Hombach, A. A., & Abken, H. (2014). Of CARs and TRUCKs: Chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma. *Immunological Reviews*, 257(1), 83-90. <https://doi.org/10.1111/imr.12125>
- Ehninger, A., Kramer, M., Röllig, C., Thiede, C., Bornhäuser, M., von Bonin, M., Wermke, M., Feldmann, A., Bachmann, M., Ehninger, G., & Oelschlägel, U. (2014). Distribution and levels of cell surface expression of CD33 and CD123 in acute myeloid leukemia. *Blood Cancer Journal*, 4(6), e218. <https://doi.org/10.1038/bcj.2014.39>
- El-Aneed, A. (2004). An overview of current delivery systems in cancer gene therapy. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 94(1), 1-14. <https://doi.org.pc124152.oulu.fi:9443/10.1016/j.jconrel.2003.09.013>
- Elonen, E. (2007). Akuutit leukemiat. In: Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R., & Porkka, K. (Eds.). *Veritaudit*, 285-309. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.

- Fan, M., Li, M., Gao, L., Geng, S., Wang, J., Wang, Y., Yan, Z., & Yu, L. (2017). Chimeric antigen receptors for adoptive T cell therapy in acute myeloid leukemia. *Journal of Hematology & Oncology*, *10*(1), 151. <https://doi.org/10.1186/s13045-017-0519-7>
- Fan, J., Das, J. K., Xiong, X., Chen, H., & Song, J. (2021). Development of CAR-T cell persistence in adoptive immunotherapy of solid tumors. *Frontiers in Oncology*, *10*, 574860. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.574860>
- Feinerman, O., Germain, R. N., & Altan-Bonnet, G. (2008). Quantitative challenges in understanding ligand discrimination by $\alpha\beta$ T cells. *Molecular immunology*, *45*(3), 619–631. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2007.03.028>
- Gauthier, J., Hirayama, A. V., Purushe, J., Hay, K. A., Lymp, J., Li, D. H., Yeung, C., Sheih, A., Pender, B. S., Hawkins, R. M., Vakil, A., Phi, T. D., Steinmetz, R. N., Shadman, M., Riddell, S. R., Maloney, D. G., & Turtle, C. J. (2020). Feasibility and efficacy of CD19-targeted CAR T cells with concurrent ibrutinib for CLL after ibrutinib failure. *Blood*, *135*(19), 1650-1660. <https://doi.org/10.1182/blood.2019002936>
- Gill, S., Tasian, S. K., Ruella, M., Shestova, O., Li, Y., Porter, D. L., Carroll, M., Danet-Desnoyers, G., Scholler, J., Grupp, S. A., June, C. H., & Kalos, M. (2014). Preclinical targeting of human acute myeloid leukemia and myeloablation using chimeric antigen receptor-modified T cells. *Blood*, *123*(15), 2343-2354. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-09-529537>
- Hartmann, J., Schübler-Lenz, M., Bondanza, A., & Buchholz, C. J. (2017). Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Molecular Medicine*, *9*(9), 1183-1197. <https://doi.org/10.15252/emmm.201607485>
- Houston, A., & O’Connell, J. (2004). The fas signalling pathway and its role in the pathogenesis of cancer. *Current opinion in pharmacology*, *4*(4), 321–326. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2004.03.008>
- Jiang, H., Liu, L., Guo, T., Wu, Y., Ai, L., Deng, J., Dong, J., Mei, H., & Hu, Y. (2019). Improving the safety of CAR-T cell therapy by controlling CRS-related coagulopathy. *Annals of Hematology*, *98*(7), 1721-1732. <https://doi.org/10.1007/s00277-019-03685-z>

- Korell, F., Laier, S., Sauer, S., Veelken, K., Hennemann, H., Schubert, M. L., Sauer, T., Pavel, P., Mueller-Tidow, C., Dreger, P., Schmitt, M., & Schmitt, A. (2020). Current challenges in providing good leukapheresis products for manufacturing of CAR-T cells for patients with relapsed/refractory NHL or ALL. *Cells*, *9*(5), 1225. <https://doi.org/10.3390/cells9051225>
- Korhonen, M., Keränen, M., Vettenranta, K., Leppä, S., Ylä-Herttuala, S., & Porkka Kimmo. (2018). Syövän immunologinen täsmähoito geneettisesti muokatuilla T-soluilla. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*, *16*(134), 1592-1599. <https://www.duodecimlehti.fi/duo14476>
- Lee, D. W., Gardner, R., Porter, D. L., Louis, C. U., Ahmed, N., Jensen, M., Grupp, S. A., & Mackall, C. L. (2014). Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood*, *124*(2), 188-195. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-552729>
- Leppä, S., & Vettenranta, K. (2019). CAR-T-soluhoido - mitä ja millä hinnalla? *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim*, *12*(135), 1202-1206. <https://www.duodecimlehti.fi/duo14969>
- Li, B., Jones, L. L., & Geiger, T. L. (2018). IL-6 promotes T cell proliferation and expansion under inflammatory conditions in association with low-level ROR γ t expression. *Journal of Immunology*, *201*(10), 2934-2946. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1800016>
- Li, H., Zhu, H., Xu, C. J., & Yuan, J. (1998). Cleavage of BID by caspase 8 mediates the mitochondrial damage in the fas pathway of apoptosis. *Cell*, *94*(4), 491-501. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81590-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81590-1)
- Lo, A. S. Y., Ma, Q., Liu, D. L., & Junghans, R. P. (2010). Anti-GD3 chimeric sFv-CD28/T-cell receptor ζ designer T cells for treatment of metastatic melanoma and other neuroectodermal tumors. *Clinical Cancer Research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, *16*(10), 2769-2780. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-10-0043>
- Long, A. H., Haso, W. M., Shern, J. F., Wanhainen, K. M., Murgai, M., Ingaramo, M., Smith, J. P., Walker, A. J., Kohler, M. E., Venkateshwara, V. R., Kaplan, R. N., Patterson, G. H., Fry, T. J., Orentas, R. J., & Mackall, C. L. (2015). 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors. *Nature Medicine*, *21*(6), 581-590. <https://doi.org/10.1038/nm.3838>

- Milone, M. C., Fish, J. D., Carpenito, C., Carroll, R. G., Binder, G. K., Teachey, D., Samanta, M., Lakhali, M., Gloss, B., Danet-Desnoyers, G., Campana, D., Riley, J. L., Grupp, S. A., & June, C. H. (2009). Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo. *Molecular Therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy*, *17*(8), 1453-1464. <https://doi.org/10.1038/mt.2009.83>
- Neelapu, S. S., Locke, F. L., Bartlett, N. L., Lekakis, L. J., Miklos, D. B., Jacobson, C. A., Braunschweig, I., Oluwole, O. O., Siddiqi, T., Lin, Y., Timmerman, J. M., Stiff, P. J., Friedberg, J. W., Flinn, I. W., Goy, A., Hill, B. T., Smith, M. R., Deol, A., Farooq, U., McSweeney, P., ... Go, W. Y. (2017). Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *The New England Journal of Medicine*, *377*(26), 2531-2544. <https://doi.org/10.1056/NEJMoal707447>
- Neelapu, S. S., Tummala, S., Kebriaei, P., Wierda, W., Gutierrez, C., Locke, F. L., Komanduri, K. V., Lin, Y., Jain, N., Daver, N., Westin, J., Gulbis, A. M., Loghin, M. E., de Groot, J. F., Adkins, S., Davis, S. E., Rezvani, K., Hwu, P., & Shpall, E. J. (2018). Chimeric antigen receptor T-cell therapy—assessment and management of toxicities. *Nature Reviews. Clinical Oncology*, *15*(1), 47-62. <https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.148>
- Perriello, V. M., Gionfriddo, I., Rossi, R., Milano, F., Mezzasoma, F., Marra, A., Spinelli, O., Rambaldi, A., Annibaldi, O., Avvisati, G., Di Raimondo, F., Ascani, S., Falini, B., Martelli, M. P., & Brunetti, L. (2021). CD123 is consistently expressed on NPM1-mutated AML cells. *Cancers*, *13*(3), 496. <https://doi.org/10.3390/cancers13030496>
- Pfeifer, A., Ikawa, M., Dayn, Y., & Verma, I. M. (2002). Transgenesis by lentiviral vectors: Lack of gene silencing in mammalian embryonic stem cells and preimplantation embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*(4), 2140-2145. <https://doi.org/10.1073/pnas.251682798>
- Porkka, K., & Koistinen, P. (2007). Krooninen myeloinen leukemia. In: Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R., & Porkka, K. (Eds.). *Veritaudit*, 324-334. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim.
- Rogosic, S., & Ghorashian, S. (2020). CAR-T cell therapy in paediatric acute lymphoblastic leukaemia – past, present and future. *British Journal of Haematology*, *191*(4), 617-626. <https://doi.org/10.1111/bjh.17153>

Scheuermann, R. H., & Racila, E. (1995). CD19 antigen in leukemia and lymphoma diagnosis and immunotherapy. *Leukemia and Lymphoma*, 18(5-6), 385-397. <https://doi.org/10.3109/10428199509059636>

Smith, A. J., Oertle, J., Warren, D., & Prato, D. (2016). Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for malignant cancers: Summary and perspective. *Journal of Cellular Immunotherapy*, 2(2), 59-68. <https://doi.org/10.1016/j.jocit.2016.08.001>

Song, D. G., Ye, Q., Poussin, M., Harms, G. M., Figini, M., & Powell Jr, D. J. (2012). CD27 costimulation augments the survival and antitumor activity of redirected human T cells in vivo. *Blood*, 119(3), 696-706. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-03-344275>

Sotillo, E., Barrett, D. M., Black, K. L., Bagashev, A., Oldridge, D., Wu, G., Sussman, R., Lanauze, C., Ruella, M., Gazzara, M. R., Martinez, N. M., Harrington, C. T., Chung, E. Y., Perazzelli, J., Hofmann, T. J., Maude, S. L., Raman, P., Barrera, A., Gill, S., Lacey, S. F., ... Thomas-Tikhonenko, A. (2015). Convergence of acquired mutations and alternative splicing of CD19 enables resistance to CART-19 immunotherapy. *Cancer Discovery*, 5(12), 1282-1295. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-1020>

Teachey, D. T., Lacey, S. F., Shaw, P. A., Melenhorst, J. J., Maude, S. L., Frey, N., Pequignot, E., Gonzalez, V. E., Chen, F., Finklestein, J., Barrett, D. M., Weiss, S. L., Fitzgerald, J. C., Berg, R. A., Aplenc, R., Callahan, C., Rheingold, S. R., Zheng, Z., Rose-John, S., White, J. C., ... Grupp, S. A. (2016). Identification of predictive biomarkers for cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Discovery*, 6(6), 664-679. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0040>

Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (2020). Syövän yleisyys. Viitattu: 20.8.2021. <https://thl.fi/fi/web/kansantaudit/syopa/syovan-yleisyys>

van Delft, M. F., Wei, A. H., Mason, K. D., Vandenberg, C. J., Chen, L., Czabotar, P. E., Willis, S. N., Scott, C. L., Day, C. L., Cory, S., Adams, J. M., Roberts, A. W., & Huang, D. C. (2006). The BH3 mimetic ABT-737 targets selective bcl-2 proteins and efficiently induces apoptosis via bak/bax if mcl-1 is neutralized. *Cancer cell*, 10(5), 389-399. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.08.027>

World Health Organization (2018). Cancer. Viitattu: 20.8.2021. https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1

Zhang, C., Liu, J., Zhong, J. F., & Zhang, X. (2017). Engineering CAR-T cells. *Biomarker Research*, 5(22). <https://doi.org/10.1186/s40364-017-0102-y>