

Full Length |  Full Access

Effects of B cell depletion by CD19-targeted CAR-T cells in a murine model of systemic sclerosis

Jérôme Avouac MD, PhD , Anne Cauvet ITA, Cindy Orvain PhD, Morgane Boulch PhD, Françoise Tilotta PhD, Ly Tu PhD, Raphaël Thuillet ITA, Mina Ottaviani ITA, Christophe Guignabert PhD, Philippe Bousso PhD, Yannick Allanore MD, PhD ... [See fewer authors](#) 

First published: 23 August 2023 | <https://doi.org/10.1002/art.42677>

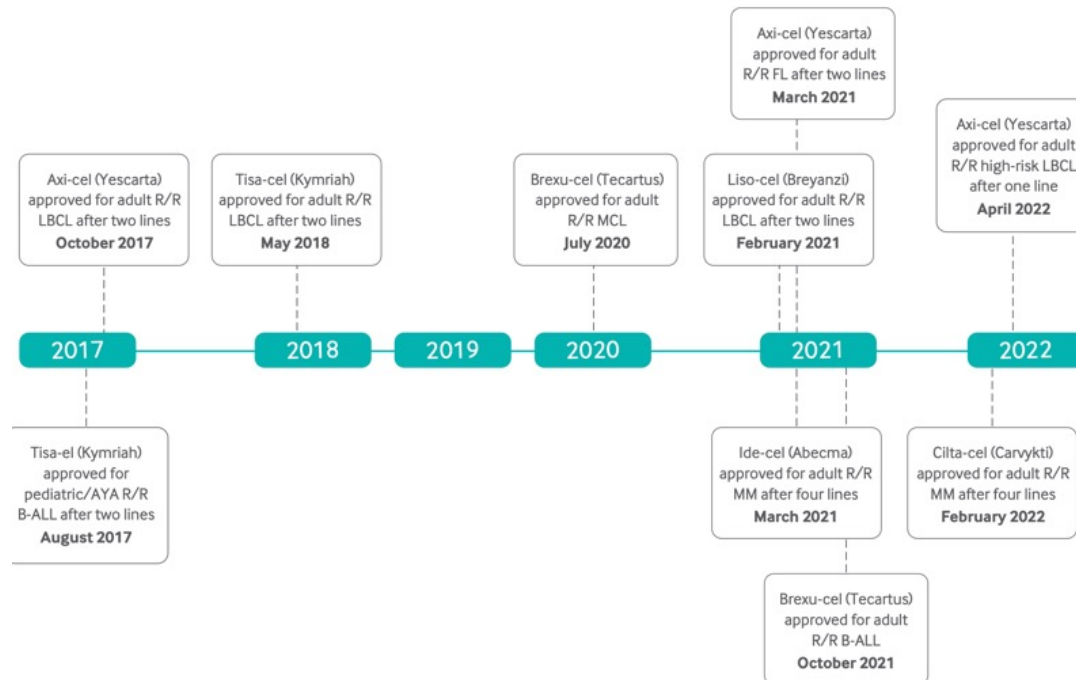
Arthritis Rheumatol. 2023 Aug 23. doi: 10.1002/art.42677. Online ahead of print.

膠原病ジャーナルクラブ

2023/10/24 田口 宏和

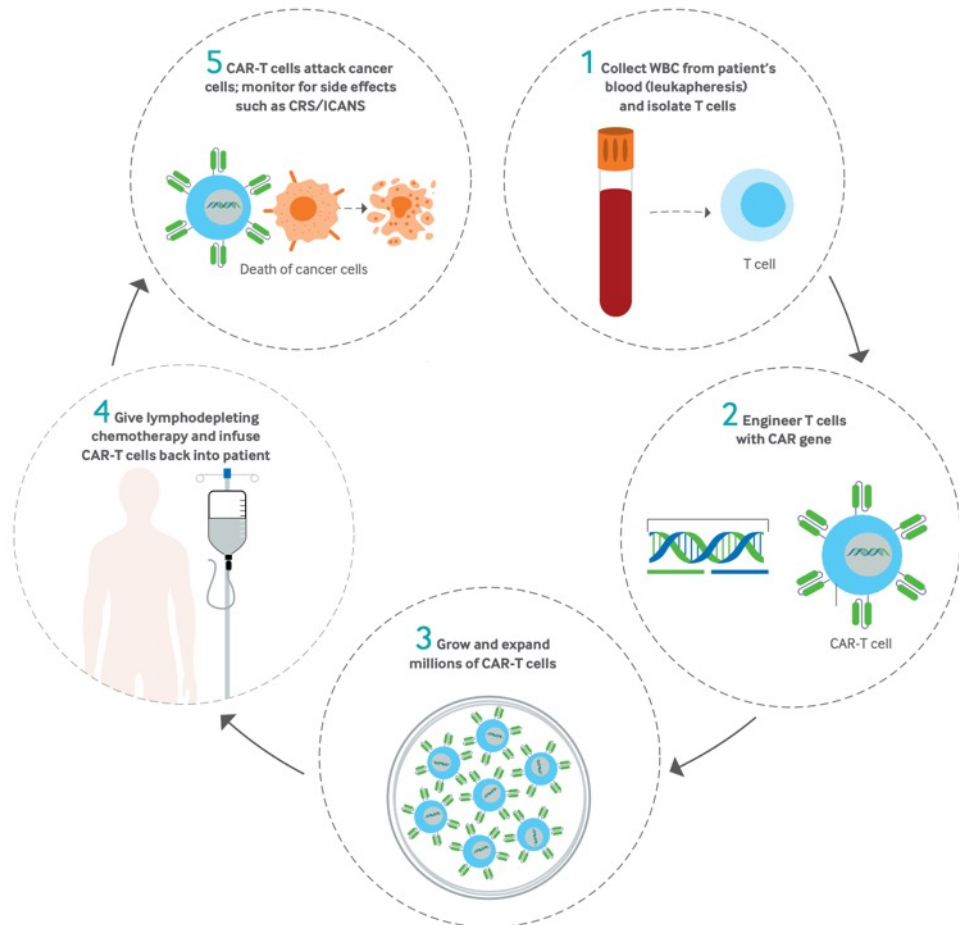
背景

- SScにおいて、B細胞は自己抗体の産生と線維化に寄与していることが示唆されている。
- SScにおけるB細胞を標的とした治療としてリツキシマブ(RTX)があるが、一部にしか有効でない。
 - ・ RTX投与後も組織中にB細胞の残存がある(SSc以外での報告)。
 - ・ CD20は plasmablast や Long lived-plasma cell上には発現していない。
 - ・ 組織中の autoreactive B cell はCD20を標的とした治療によるB細胞枯渇を阻害する。
- 血液疾患においてはB細胞標的治療としてCAR-T療法が行われている。



CAR-T療法

- CARをコードする遺伝子を患者自身のT細胞に導入した自家免疫細胞療法の一つ。
- 主に血液内科領域でB細胞系腫瘍に対して活発に行われている(B-ALL, DLBCL, FL, MCL, MM)。
- 国内で使用可能なものはキムリア®, ブレヤンジ®など5種類で, 国内43施設で施行されている²。
- リウマチ膠原病領域では, SLEと筋炎での報告がある^{3,4}。

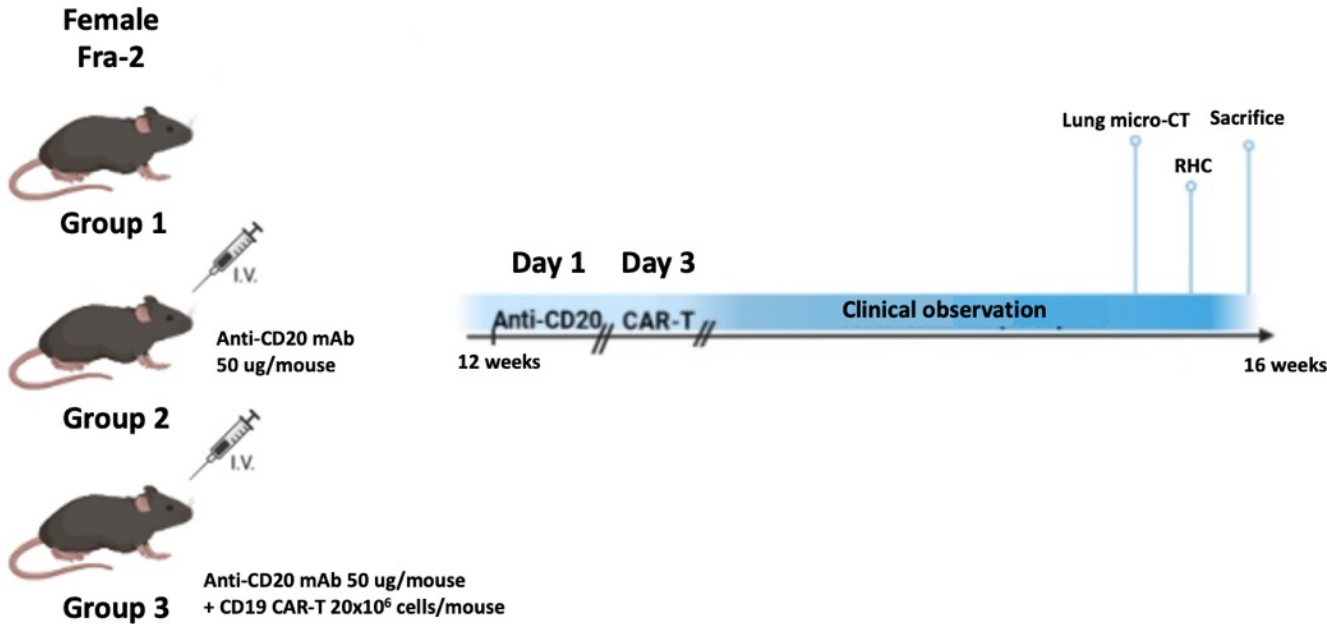


1. 白血球アフェレシス(患者T細胞の採取)
2. 遺伝子導入によるT細胞の改変
(レンチウイルスベクター)
3. CAR-T細胞の増殖
4. リンパ球除去化学療法とCAR-T細胞の輸注
5. CAR-T細胞による抗腫瘍活性

1. Maakaron, JE, et al. BMJ.2022;378:e068956
2. 大西 康. 日造血・免疫細胞療会誌.2023;12.148.
3. Mackensen A, et al. Nat Med. 2022;28:2124-32.
4. Pecher AC, et al. JAMA 2023;329:2154-62.

方法

- ・ 生後12wのFra2トランスジェニック (Fra2-Tg) マウス39匹を3群に分けて比較.
- ・ サンプルサイズは過去の実験結果から算出. 研究者は群の割付を盲検化.
- ・ マウスは生後18wで失血死させる.



*循環B細胞によってCAR-T細胞の肺への到達が阻害される既報があり, CAR-Tに抗CD20モノクローナル抗体を併用した(Group2と3で使用).

[評価項目]

- ・ 臨床経過：体重減少と行動の変化でスコアリング.
正常：0点
10%未満の体重減少, 毛づくろい欠如：1点
10-15%の体重減少, 脱毛/皮膚病変, 行動能力低下：2点
20%以上の体重減少, 無動など：3点

実験終了前に3点に到達した場合には安楽死となる.

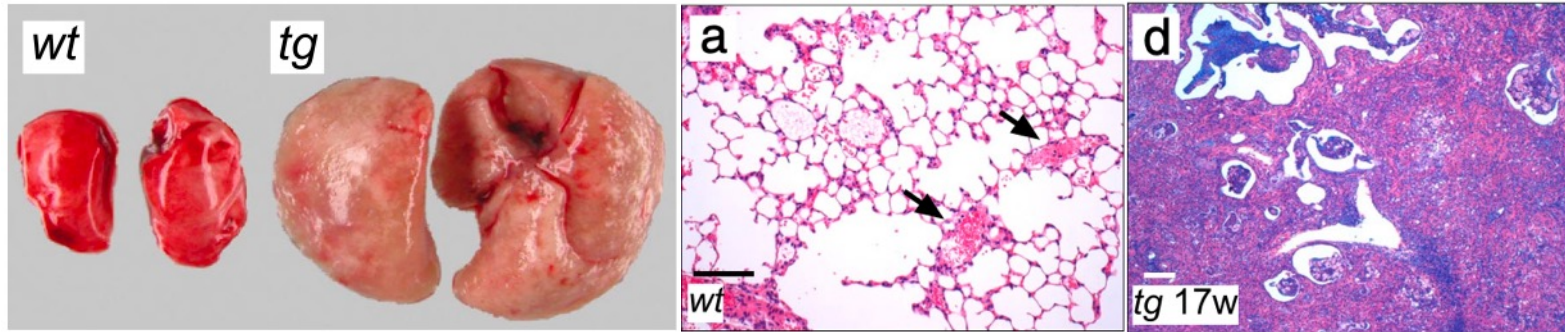
- ・ 肺CT(肺密度やFRCを測定) [失血死の2日前]
- ・ RVSP(右室収縮期圧) [失血死の直前]
- ・ 肺病変部のコラーゲン測定.
- ・ HE染色, 免疫染色：線維化の程度でスコア化(0-8点).
- ・ Flow Cytometry, Cytokine profile

[統計解析]

- ・ 複数群比較はTurkeyのポストホック解析.
- ・ 2群間比較はt検定.
- ・ 両側p値<0.05を有意とする.

Fra2-Tgマウス

- Fra2 : Fos蛋白の一つで, B細胞の増殖や分化の多段階に関連する.
- マウスでのFra2の発現亢進は, 特に肺に線維化をきたす.
血管平滑筋細胞やマクロファージでのFra2発現亢進が肺線維化の原因と推測されている¹.



[肉眼所見での肺の増大]

[wtの病理像]

[tgの病理像]

- マウスでのFra2の発現亢進によって, 肺動脈の血管リモデリングによって肺高血圧症をきたす².

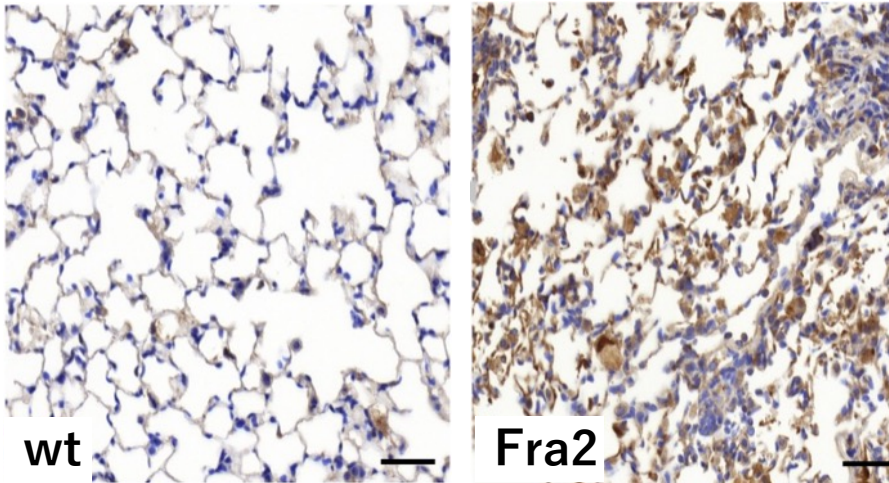
■ Fra2-Tgマウスの肺における変化?

- 血管リモデリングと血管周囲の炎症細胞浸潤 : 生後12wから.
- 線維化の進行 : 生後15wから.

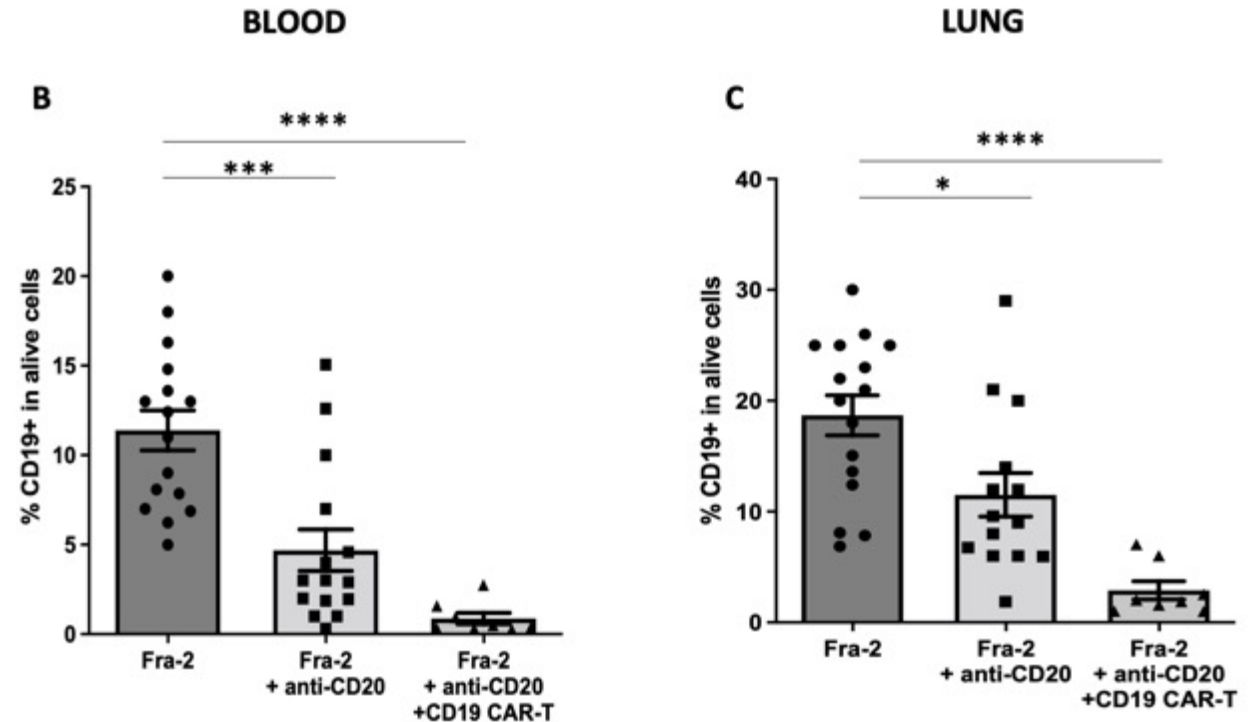
1. Eferl R, et al. PNAS. 2008;105:10525-30.
2. Maurer B, et al. Ann Rheum Dis. 2012;71:1382-7.

結果1：CAR-TでB細胞枯渇は達成される。

- Fra2-Tgマウスでは野生型に比較して、B細胞(CD22⁺)が増加する (左図).
- 試験薬投与後のCD19の発現 (右図).
 - ・ Fra2-Tgマウスの末梢血と肺でのCD19発現は低下する.
 - ・ CAR-T療法群では特に顕著に低下する.

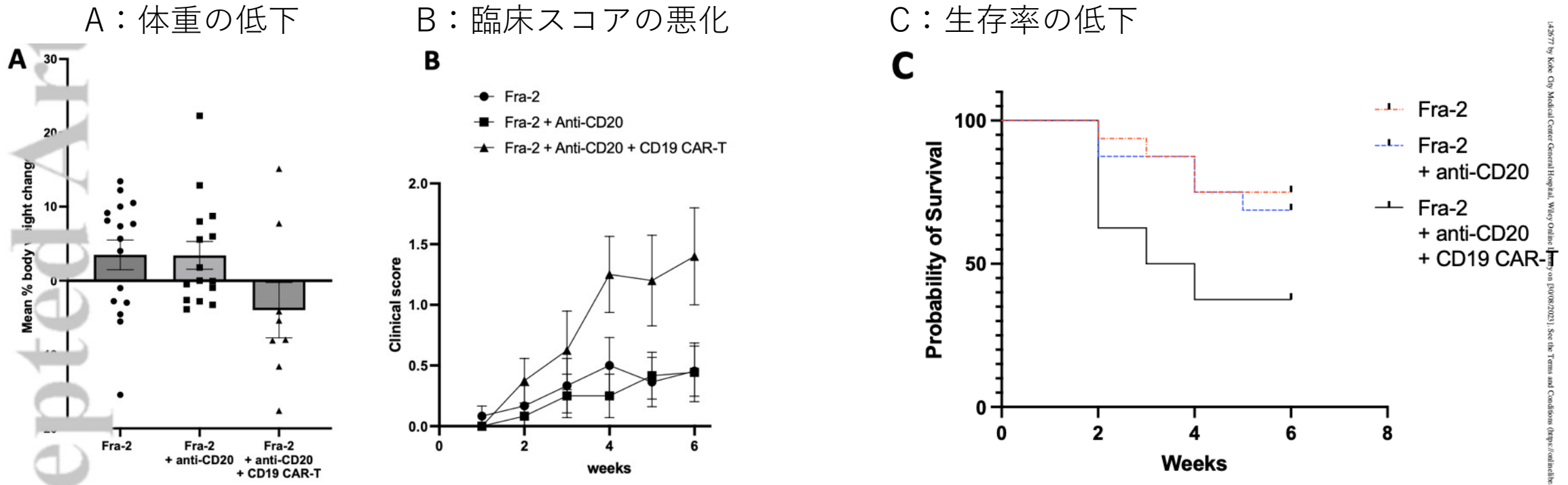


[CD22染色]



結果2：CAR-T療法群で死亡率が高くなる。

■ CAR-T療法群ではFra2-Tgマウスの臨床症状の悪化と死亡率の増加を認める。



*B：臨床スコア

0点：正常

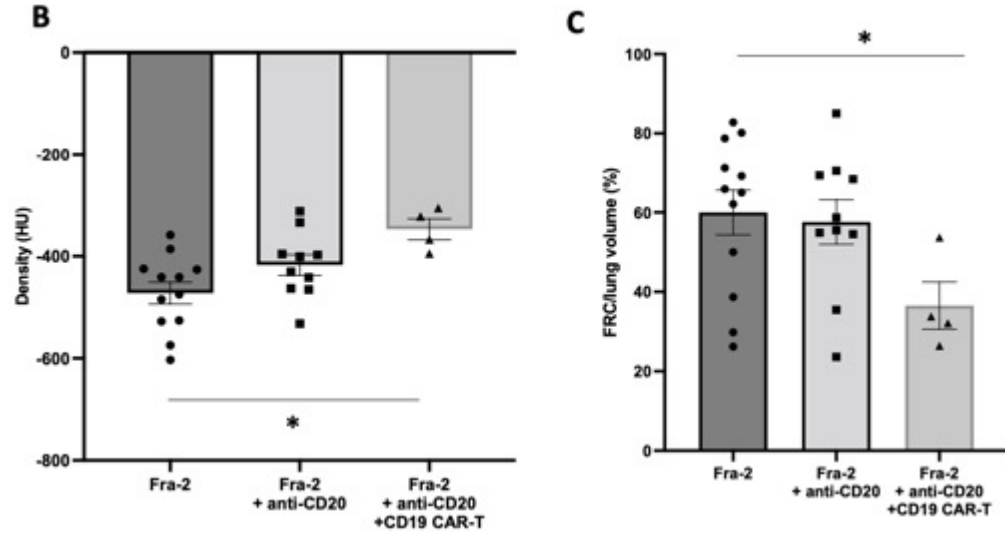
1点：10%未満の体重減少, 毛づくろい欠如

2点：10-15%の体重減少, 脱毛/皮膚病変, 行動能力低下, レイノー現象

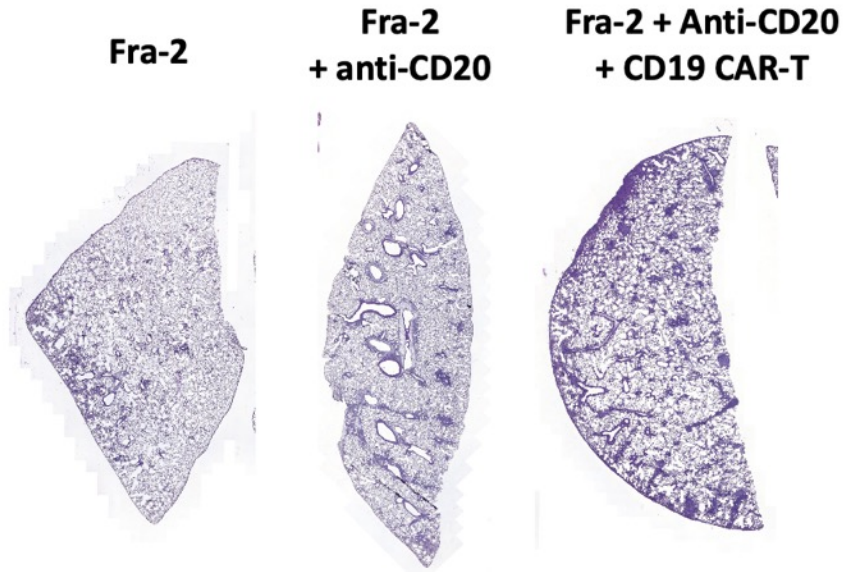
3点：20%以上の体重減少, 無動など

結果3：CAR-T療法群で肺の線維化が悪化する。

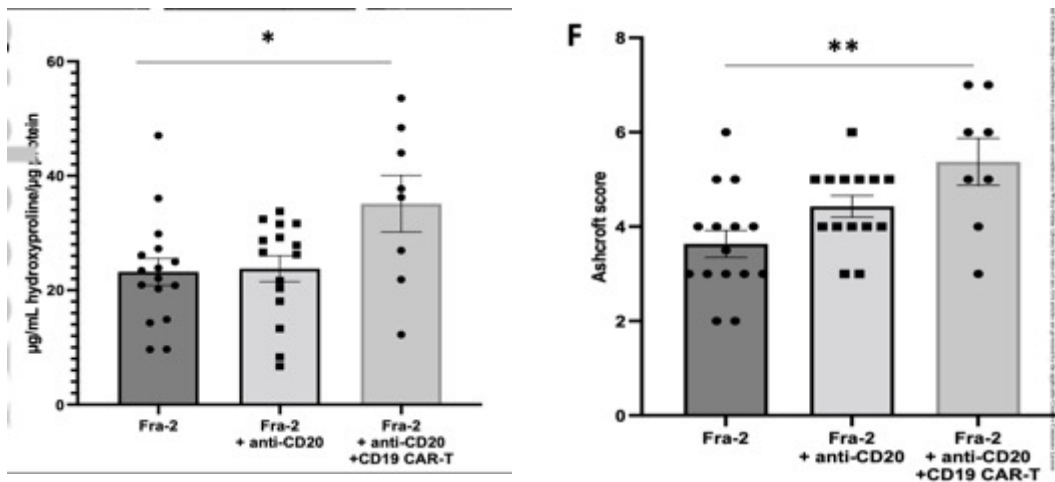
■ 肺の密度増加, FRCの低下.



[代表的な肺組織所見 (HE染色)]



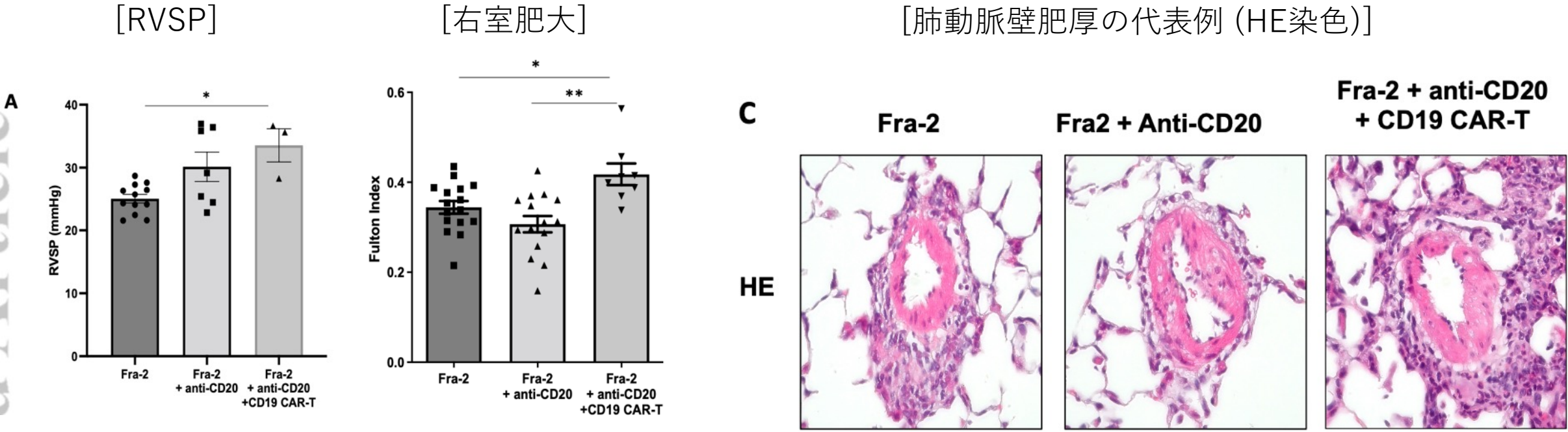
■ 肺組織中コラーゲン増加, 線維化の増加.



左：肺組織中コラーゲン
右：線維化スコア

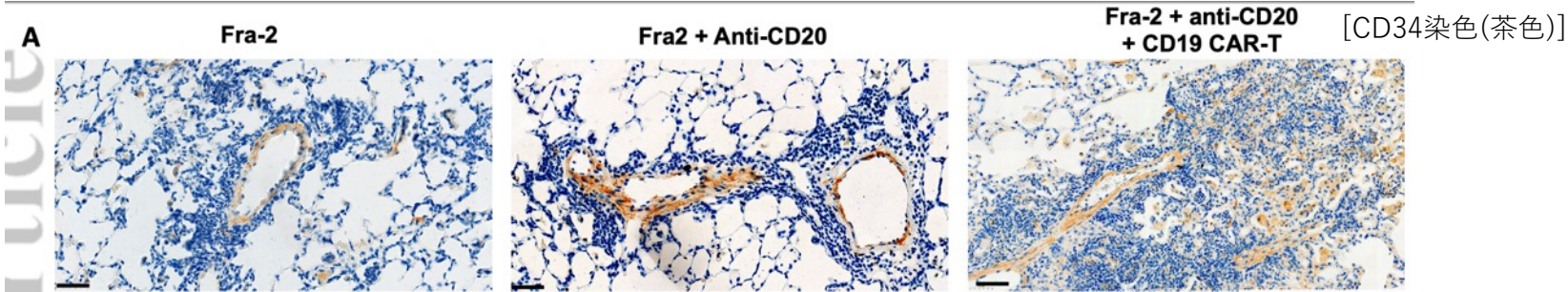
結果4：CAR-T療法群で肺高血圧が悪化する。

■ CAR-T療法群における肺高血圧症の悪化。

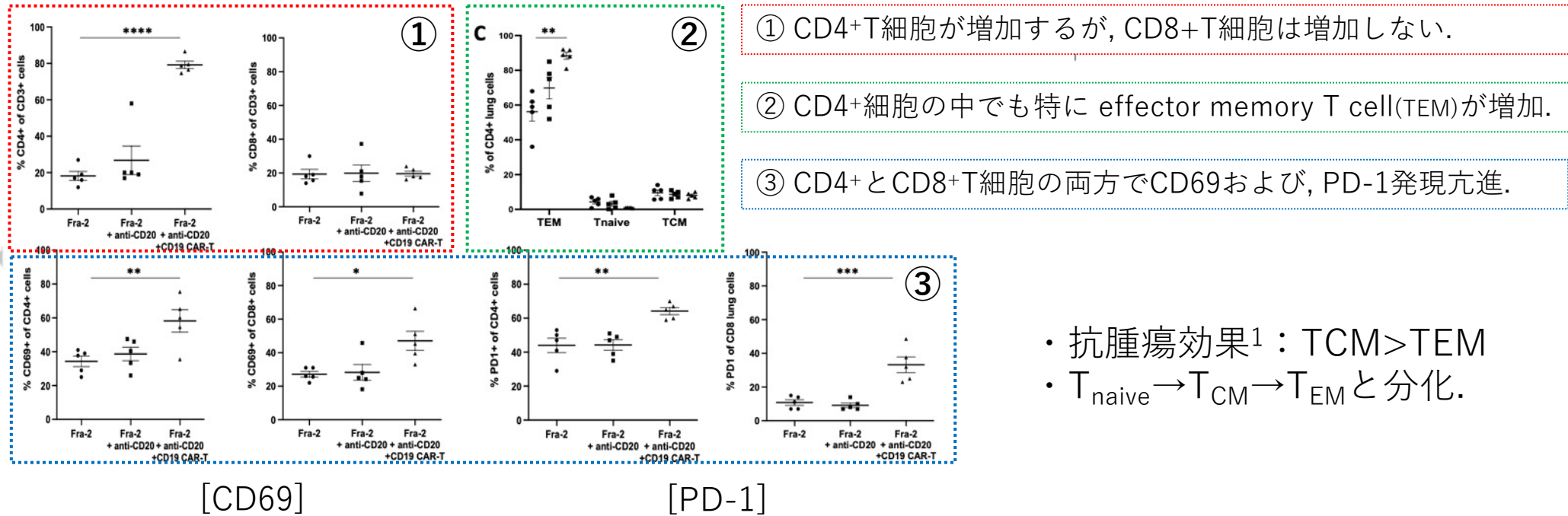


結果5：CAR-TによりCD4⁺T細胞が増加する。

■ CART輸注後6wでも肺組織(特に血管周囲)にCAR-T細胞(CD34⁺)を認める。



■ 特にCD4⁺effector memory T cellが増加する。



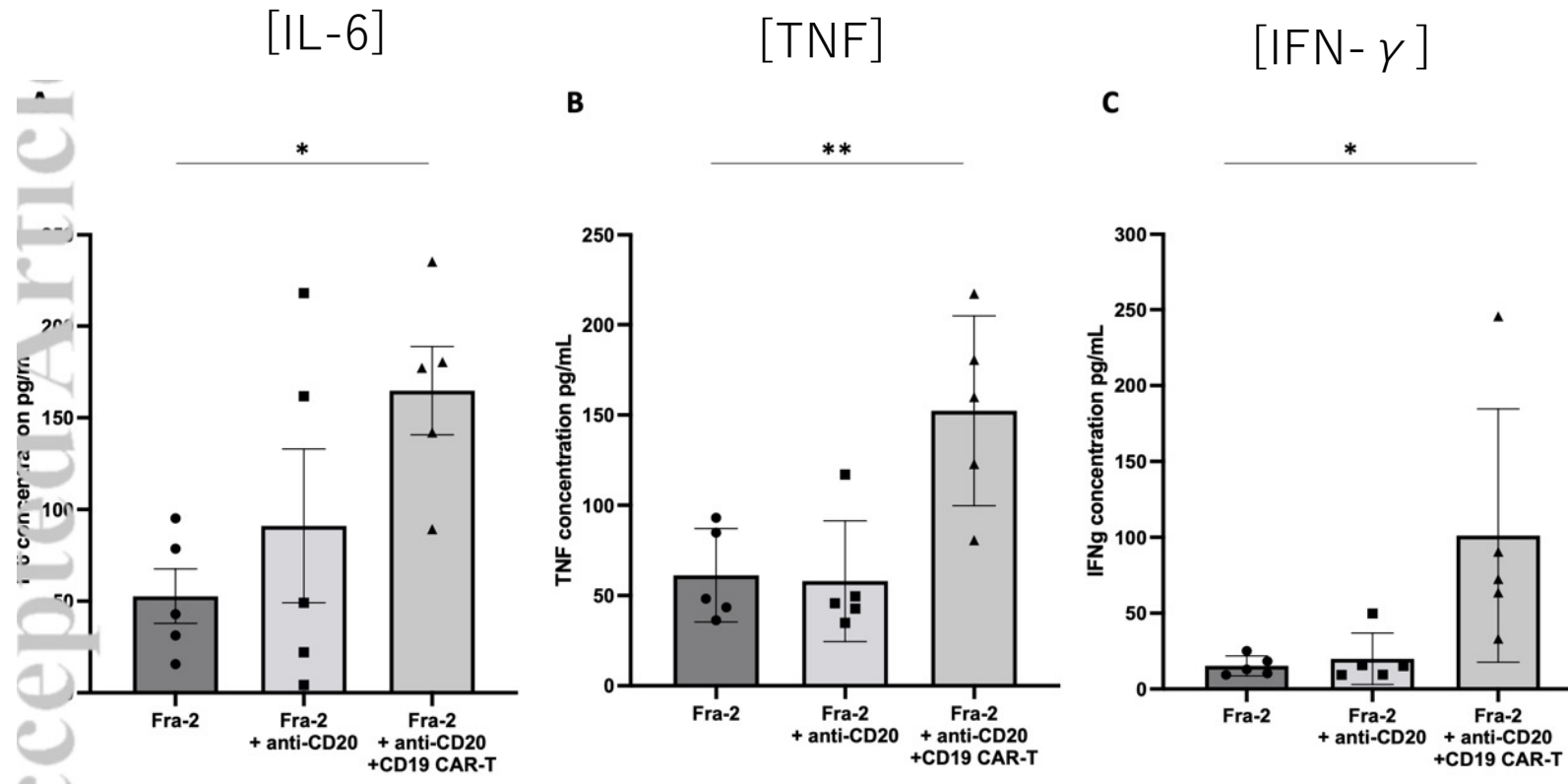
- 抗腫瘍効果¹：TCM>TEM
- T_{naive}→T_{CM}→T_{EM}と分化.

結果6：CAR-TによりTh1サイトカインが増加する。

■ CAR-T療法群におけるサイトカインプロファイル

- ・ Th1サイトカイン：著増
- ・ Th2サイトカイン：検出感度未満.

■ CD20モノクローナル抗体単独群ではT細胞の組織浸潤，サイトカインプロファイルに変化がなかった。



Discussion 1

■ 有効性

- ・ CD20mAbと併用したAnti-CD19 CAR-T療法によってB細胞枯渇は可能であった。

■ 死亡率の増加と肺症状の悪化

- ・ 肺組織に流入したCAR-T細胞による過剰なT細胞活性化+炎症性サイトカイン産生が原因の可能性がある。
- ・ CAR-Tによる遅発性の肺合併症では悪性リンパ種においても報告されている¹。

■ 肺組織でのT細胞とサイトカイン

- ・ CAR-T後の肺組織ではリンパ球(特にCD4⁺T細胞)と炎症性サイトカインが増加していた。
- ・ 特にTh1サイトカインの増加を認めた。

肺への炎症性T細胞の浸潤を抑制するために、治療前に免疫抑制薬を導入することの重要性が示唆される。

Discussion 2

■ 肺障害があればCAR-T療法は不適合か？

- ・ ヒトSScでの既報¹では, (軽度だが)肺機能低下があるものの, CAR-Tでの肺関連有害事象は認めていない.
- ・ SLE²やARS抗体症候群³の既報でも肺病変はあるので, 肺病変がある ≠ CAR-T不適合ではないと思われる.

血液疾患のCAR-T療法では肺機能が著しく悪い症例は適応にならないので大きな問題にならない
→強皮症においては実用化の問題になるかも？

■ リンパ球除去化学療法は膠原病領域でも必要か？

- ・ CAR-T細胞の生着および, 患者末梢血中のリンパ球(主にTreg)除去目的が目的(有効性には関係しない)⁴.
- ・ SSc¹, SLE², ASS³のヒトでの既報ではリンパ球除去療法(Flu+Cy)を行って, CRSはごく軽度.
- ・ ASSの既報³では輸注後にT細胞活性化予防にAZA/MMFを使用している.

リンパ球除去化学療法(あるいは輸注後の免疫抑制薬)は少なくとも行ったほうが良さそう.

1. Bergmann C, et al. Ann Rheum Dis. 2023;82:1117-20.
2. Mackensen A, et al. Nat Med. 2022;28:2124-32.
3. Pecher AC, et al. JAMA. 2023;329:2154-62.
4. Amini L, et al. Nat Rev Clin Oncol. 2022;19:342-55.

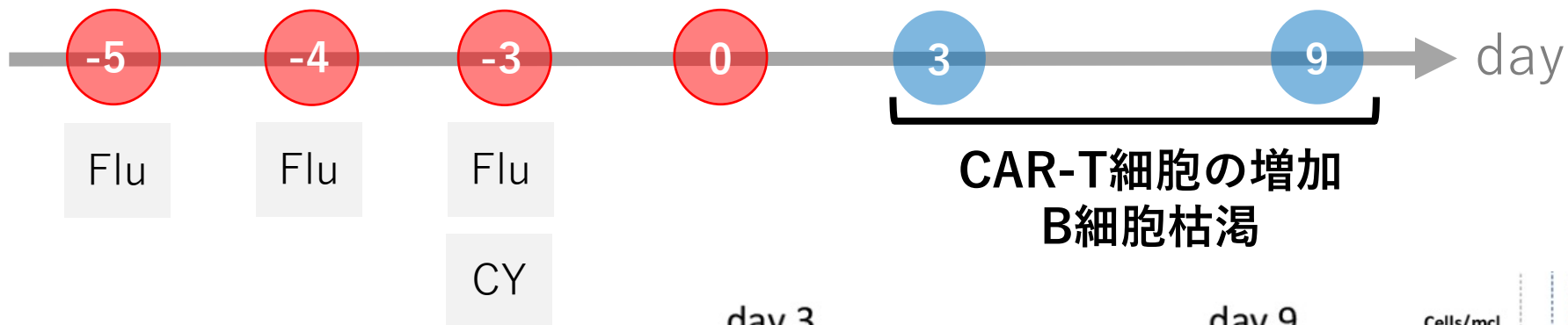
Treatment of a patient with severe systemic sclerosis (SSc) using CD19-targeted CAR T cells

SSc (ヒト)へのCD19-CAR-T治療の初めての報告

- ・ 60歳, 男性. 28ヶ月前に全身性強皮症(ANAx320, RNAポリメラーゼ3抗体陽性)を発症.
- ・ 心病変, ILD, PAH(mPAH 33/wedge 14), 関節炎. MMF, MTXが無効. CYの使用歴なし.

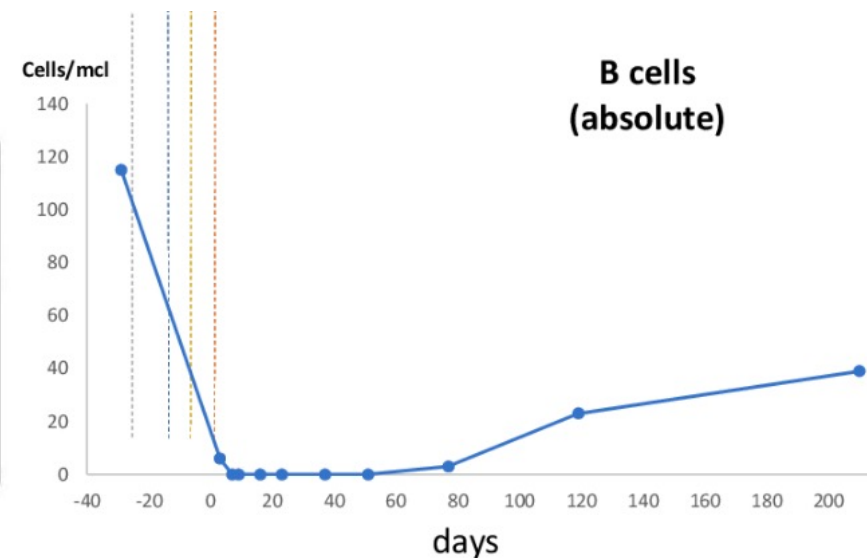
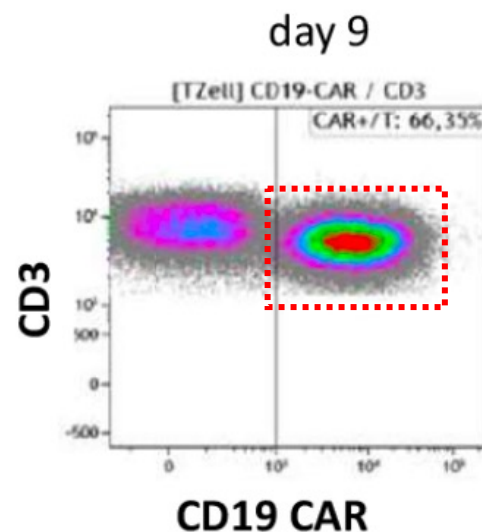
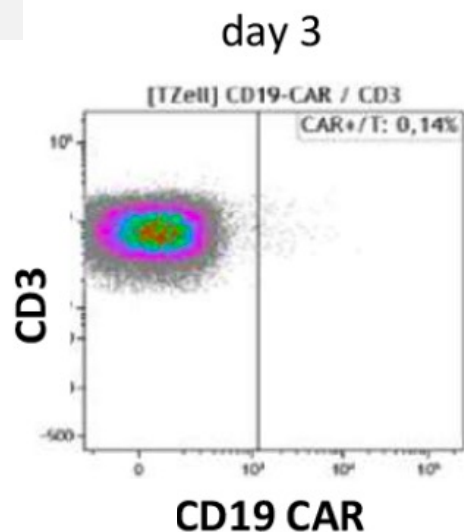
リンパ球除去化学療法

輸注



- 有害事象:
- ・ CRS : grade1.
 - ・ ICANS : なし.

Flu : フルダラビン
 CY : シクロホスファミド
 CRS : サイトカイン放出症候群
 ICANS : 神経系事象



Treatment of a patient with severe systemic sclerosis (SSc) using CD19-targeted CAR T cells

SSc (ヒト)へのCD19-CAR-T治療の初めての報告

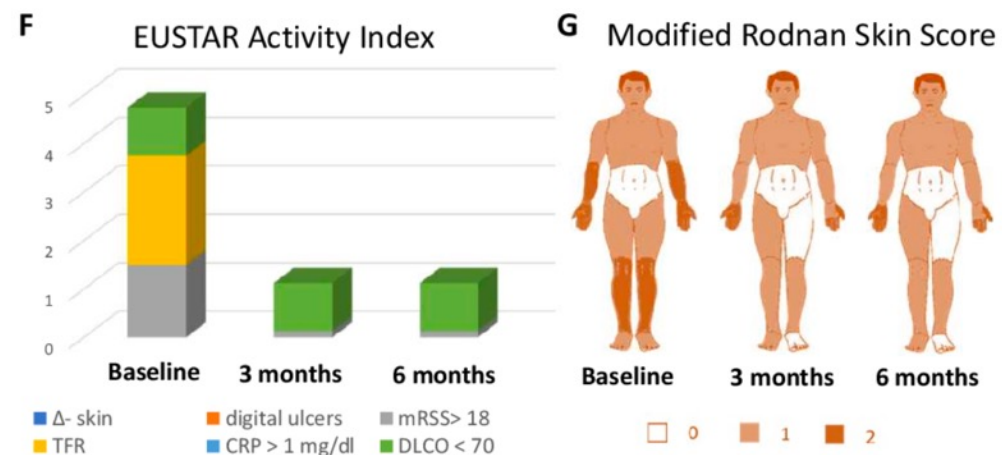
■ 抗体

- IgG \geq 700 : 6ヶ月後もキープ.
- 抗核抗体 : 陰性化.
- RNApoly3 : 3ヶ月時点で陰性化.

■ 心臓PET/関節MRI

- 共に3ヶ月後のフォローで改善.

■ 皮膚硬化の改善, DLCOの改善



H

	Baseline	3 months follow-up	6 months follow up
PFT			
FVC	3,27 l (73% pred.)	3,45 l (77% pred.)	3,21 (72% pred.)
DLCO	49 mmol/(min*kPa)	52 mmol/(min*kPa)	59 mmol/(min*kPa)
KCO	58 mmol/(min*kPa*l)	68 mmol/(min*kPa*l)	80 mmol/(min*kPa*l)

I

	Baseline	6 months follow up
TTE		
EF	55-60%	55-60%
PASP	27 mmHg	20 mmHg
RA area	31 cm ²	17 cm ²

- リンパ球除去療法が結果に影響しているかもしれない.
- 予後不良因子(ScI70陽性など)があるSScでの検討が必要.

Limitation

■ 方法について

- ・ 動物モデルのため, そのままヒトに適用することはできない.
- ・ CAR-Tと抗CD20モノクローナル抗体の併用により, 未知の相互作用があるかもしれないが評価していない.
- ・ CD20モノクローナル抗体単独群ではサイトカインプロファイルに変化がなかった. このマウスモデルでのB細胞の関与についての研究がさらに必要.
- ・ 血液疾患では基本的になっているリンパ球除去化学療法を行っていない.
- ・ リンパ球除去化学療法を施行するにしても, 原疾患への影響についての検討が必要.

■ 実際のヒトへの適応について

- ・ この結果のみで肺病変が有る ≠ CAR-T療法に不適格とは言えない.