

Immunothérapie dans les leucémies aiguës lymphoblastiques : anticorps bispécifiques et CAR-T cells

Immunotherapy in acute lymphoblastic leukemia

A. Cabannes-Hamy*, N. Boissel**,**

RÉSUMÉ

La chimiothérapie conventionnelle dans le traitement de la leucémie aiguë lymphoblastique de la lignée B (LAL-B) permet d'obtenir des taux de rémission complète proches de 90 %, mais seulement 40 à 50 % de guérison. Une minorité de patients pouvant bénéficier d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, le développement de l'immunothérapie offre une opportunité majeure pour l'amélioration du pronostic des patients en situation de rechute ou de maladie réfractaire. Plusieurs stratégies de ciblage des antigènes de surface des cellules leucémiques ont été développées depuis les 10 dernières années, telles que les anticorps monoclonaux nus ou immunoconjugués, les anticorps bispécifiques anti-CD3-anti-CD19 visant à l'activation des lymphocytes T, et plus récemment les lymphocytes T génétiquement modifiés afin d'exprimer un récepteur antigénique chimérique (CAR-T). L'objectif de cette revue est de détailler les principaux résultats obtenus avec ces nouvelles molécules chez les patients atteints de LAL-B.

Mots-clés : Leucémie aiguë lymphoblastique – Immunothérapie – Blinatumomab – CAR-T.

SUMMARY

Multiagent combination chemotherapy regimens for the treatment of acute B-cell lymphoblastic leukemia (B-ALL) provide complete remission rates of 80% to 90%, but cure rates are only 40 to 50%. Given that only few patients can be bridged to hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), immunotherapy development offers a major opportunity to improve the outcome of relapsed or refractory patients. Many strategies targeting leukemic cells surface antigens have been developed over the last decade, including monoclonal antibodies, naked or immunoconjugated, bispecific T-cell engagers (BiTE) anti-CD3-anti-CD19, and more recently chimeric antigenic receptor modified T-cell (CAR-T). Here, we review the current status of main results achieved with these new molecules in patients treated for B-ALL.

Keywords: Acute lymphoblastic leukemia – Immunotherapy – Blinatumomab – CAR-T.

Le pronostic des patients adultes jeunes atteints d'une leucémie aiguë lymphoblastique de la lignée B (LAL-B) s'est significativement amélioré ces 10 dernières années, avec des taux de rémission complète (RC) proches de 90 %, et plus de 50 % de survie à 5 ans. Cette amélioration est essentiellement due à l'optimisation des protocoles de chimiothérapie inspirés des approches pédiatriques et à la stratification du risque sur les données d'oncogénétique et de maladie résiduelle (MRD). Le bénéfice des approches intensives se limite toutefois aux patients les plus jeunes, la toxicité des traitements augmentant progressivement avec l'âge (1). À la rechute, les taux de deuxième rémission ne sont que de 40 à 50 %, et les taux de survie à long terme, de 10 à 25 % après les chimiothérapies conventionnelles (2). Le développement de nouvelles thérapies représente ainsi une opportunité majeure pour améliorer le pronostic de ces patients.

De façon presque inattendue, la LAL-B est l'hémo-pathie dans laquelle les immunothérapies se sont le plus développées ces dernières années. De nombreuses cibles ont fait l'objet du développement d'anticorps monoclonaux nus – anti-CD20 : rituximab, ofatumumab, obinutuzumab ; anti-CD22 : épratuzumab ; anti-CD52 : alemtuzumab –, ou conjugués à des immunotoxines ou à des chimiothérapies – anti-CD19 : SGN-19A, SAR3419 ; anti-CD22 : inotuzumab ozogamycine –, ces derniers associant ciblage immunologique et chimiothérapie. La place du rituximab dans la prise en charge des patients souffrant de LAL-B CD20+ a récemment été confirmée par l'étude française de phase III R-GRAALL-2005 (3). Cet article détaille les approches visant à l'activation des lymphocytes T soit par le biais d'anticorps bispécifiques anti-CD3/anti-CD19 (blinatumomab), soit par l'induction de l'expression de récepteurs antigéniques chimériques (CAR-T cells) par des lymphocytes T manipulés.

* Service d'hématologie adolescents et jeunes adultes, hôpital Saint-Louis, Paris.
** EA-3518, institut universitaire d'hématologie, université Paris-VII.

Blinatumomab

Design et construction

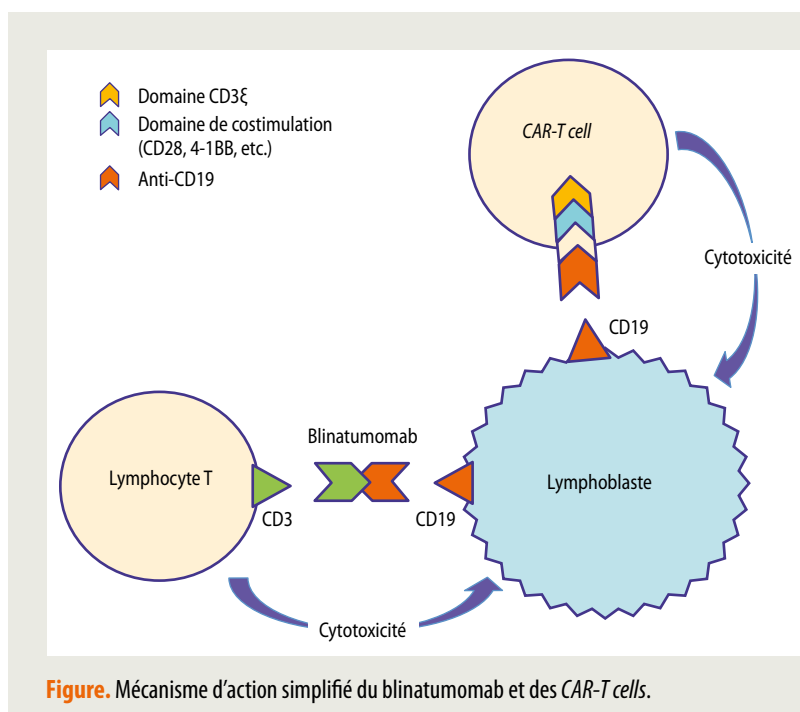
Le blinatumomab est une petite protéine de 55 kDa composée de 2 régions variables (chacune contenant un domaine variable de chaîne lourde et un domaine variable de chaîne légère d'immunoglobuline) reconnaissant l'antigène CD3, d'une part, et CD19, d'autre part, reliées entre elles par une molécule de liaison flexible non immunogène. Il s'agit donc d'un anticorps bispécifique, attirant les lymphocytes T du patient vers la surface des cellules leucémiques exprimant CD19. La création de cette synapse immunologique permet ainsi l'activation du lymphocyte T cytotoxique et la mort de la cellule leucémique par un mécanisme impliquant les perforines-granzymes (figure). Le blinatumomab est une molécule 3 fois plus petite que les anticorps monoclonaux classiques, ce qui contribue à son élimination rapide du sérum et à sa demi-vie très courte (environ 2 heures). Ces caractéristiques justifient une administration en perfusion intraveineuse continue sur plusieurs semaines, permettant une efficacité thérapeutique optimale tout en minimisant les effets indésirables. Le blinatumomab a été évalué dans 2 situations : en cas de MRD positive et en situation de rechute ou de maladie réfractaire.

Évaluation clinique en MRD positive

Dans une première étude (4), le blinatumomab a été évalué chez des patients en rémission hématologique complète mais présentant une MRD élevée ou une rechute moléculaire, à la dose de 15 µg/m²/j. Dans cette petite cohorte de 20 patients à haut risque, le taux de négativation de la MRD était de 80% après 1 cycle et la survie sans rechute (SSR) à 3 ans était de 60%. Neuf patients ont reçu une allogreffe après administration de blinatumomab, mais leur survie globale (SG) a été comparable à celle des sujets n'ayant pas reçu d'allogreffe. Ces résultats ont récemment été actualisés à 5 ans, avec une SSR de 50%, les seuls patients survivants étant ceux qui avaient reçu le blinatumomab en situation de résistance primaire (5). L'étude européenne de phase II (BLAST), concernant 116 patients, a confirmé ces résultats, avec 80% de réponses moléculaires après 1 cycle, une SSR médiane de 18,9 mois et une SG médiane de 36,5 mois. Dans cette étude, la question du bénéfice de l'allogreffe est posée, notamment chez les patients en première RC (6).

Évaluation clinique en maladie réfractaire ou en rechute

Le blinatumomab a également été testé chez des patients ayant une LAL en rechute ou réfractaire (R/R). Trois doses différentes ont été évaluées en adminis-



tration intraveineuse continue sur 28 jours, répétée toutes les 6 semaines. Dans l'étude pilote, qui a analysé 36 cas, le taux de réponse RC/RCh était de 69% après 2 cycles et la médiane de survie était de 9,8 mois (7). La dose retenue était finalement de 5 µg/m² la première semaine, suivie de 15 µg/m² les 3 semaines suivantes. Lors de l'étude de phase II multicentrique, qui a inclus 189 patients avec une LAL R/R, le taux de RC/RCh était de 43%, avec 80% des réponses obtenues dès le premier cycle, 82% de réponses moléculaires chez les patients en RC/RCh et une médiane de survie de 6,1 mois (8). L'essai TOWER est une étude multicentrique de phase III, qui a randomisé 405 patients atteints d'une LAL R/R (ratio 2:1) entre un bras blinatumomab et un bras chimiothérapie standard (laissée au choix de l'investigateur) [9]. L'âge médian était de 37 ans, le taux de RC/RCh observé était de 46% dans le groupe blinatumomab et de 28% dans le groupe chimiothérapie (p = 0,001). La survie médiane après blinatumomab était de 7,7 mois contre 4,0 mois pour la chimiothérapie conventionnelle (p = 0,012). Cette différence restait significative après censure des patients allogreffés à la date de la greffe. Dans les LAL-B à chromosome Philadelphie (Ph+) R/R après 2 lignes d'inhibiteur de tyrosine kinase ou avec une mutation T315I, le blinatumomab a également été évalué, chez 45 patients, dans le cadre de l'étude ALCANTARA (10). Le taux de RC/RCh observé était de 36%, et la médiane de survie, de 7,1 mois (tableau I, p. 88).

Tableau I. Études cliniques évaluant le blinatumomab dans la LAL-B.

Étude	Indication	n	Allogreffe pré-blinatumomab n (%)	RC/RCh (%)	Réponse moléculaire (%)	SSR (mois)	SG (mois)	Allogreffe post-blinatumomab n (%)
M.S. Topp et al. (MRD pilote) [4]	MRD	21	0	NC	80	61 % (à 33 mois)	NC	9 (45)
N. Gökbüget et al. (BLAST) [6]	MRD	116	0	NC	80	18,9	36,5	90 (78)
M.S. Topp et al. (phase II pilote) [7]	R/R Ph-	36	15 (42)	69	88	7,6	9,8	13 (50)
M.S. Topp et al. (confirmation) [8]	R/R Ph-	189	64 (34)	43	82	5,9	6,1	32 (40)
G. Martinelli et al. (ALCANTARA) [10]	R/R Ph+	45	20 (44)	36	88	6,7	7,1	7 (44)
H. Kantarjian et al. (TOWER) [9]	R/R Ph-	405	142 (35)	46	NC	NC	7,7	NC
Von Stackelberg et al. (pédiatrique) [11]	R/R	70	40 (57)	39	52	4,4	7,5	13 (48)

RC: réponse complète; RCh: réponse complète avec récupération hématologique incomplète; SSR: survie sans rechute; SG: survie globale; NC: non communiqué.

Utilisation clinique du blinatumomab

Actuellement, le blinatumomab est disponible en France dans le cadre de l'autorisation de mise sur le marché (AMM) chez les patients adultes présentant une LAL-B Ph- R/R.

Afin de limiter le risque de syndrome de relargage de cytokines (SRC), qui constitue une des principales conséquences indésirables de l'action du blinatumomab, une escalade de dose est recommandée chez les patients en R/R, en commençant le premier cycle à la dose de 9 µg/j pendant la première semaine, puis de 28 µg/j les 3 semaines suivantes. Un cycle consiste en 4 semaines de perfusion continue, suivi de 15 jours de pause et le traitement peut être répété jusqu'à 4 cycles supplémentaires. La cinétique des lymphocytes observée sous blinatumomab est caractéristique, avec une diminution précoce des lymphocytes B et T, suivie d'une récupération lymphocytaire T avec expansion des CD4 et CD8 effecteurs mémoires, mais persistance d'une déplétion lymphocytaire B profonde responsable d'une hypogammaglobulinémie nécessitant souvent une substitution à long terme (11, 12).

Lymphocytes T à récepteur antigénique chimérique, ou CAR-T cells

Design et construction

Les CAR-T cells sont des lymphocytes T, le plus souvent autologues, génétiquement modifiés pour exprimer un récepteur de surface capable de reconnaître directement un antigène tumoral spécifique, ici CD19 sur les blastes B. Ce mécanisme de reconnaissance antigénique est indépendant du processus d'apprêtement et de présentation de l'antigène, ainsi que du complexe majeur d'histocompatibilité. Cela est lié au fait que le site de reconnaissance des CAR-T cells est en fait une

région variable d'immunoglobuline. Les CAR-T cells dites de deuxième génération, actuellement évaluées en clinique, associent, dans leur région intracellulaire, le domaine de signalisation CD3ξ à un domaine de costimulation comme CD28 ou 4-1BB (CD137), ce qui augmente leur activité antitumorale, leur expansion et leur longévité. Les lymphocytes T du patient, prélevés par aphérèse, sont activés avant d'être transduits puis amplifiés en présence de facteurs de croissance spécifiques pendant une à plusieurs semaines. Le produit final est ensuite transfusé au patient sur 1 ou 2 jours, après une chimiothérapie lymphodéplétive (associant généralement cyclophosphamide et fludarabine), en milieu hospitalier en raison du risque de SRC. In vivo, les cellules ont une capacité d'expansion de 1 000 à 10 000 fois et peuvent persister dans l'organisme de quelques semaines à quelques années.

Essais cliniques avec les CAR-T cells anti-CD19

Les premiers résultats prometteurs démontrant une certaine efficacité des CAR-T cells dans le traitement des LAL-B ont été rapportés par l'université de Pennsylvanie, chez 30 patients adultes et pédiatriques qui ont obtenu des taux de RC et de réponse moléculaire de 90 et 79%, respectivement. La survie sans rechute était de 67% à 6 mois, et la SG, de 78% à 1 an (13). M. Davila et al. (14) ont rapporté un taux de 88% de RC dans une cohorte de 16 patients adultes ayant une LAL-B réfractaire, avec une négativation de la MRD dans 75% des cas et une SG médiane de 9 mois. L'actualisation de ces données sur 44 patients a confirmé ces résultats, avec 84% de RC et 83% de MRD négative. L'allogreffe, réalisée avant ou après l'injection des CAR-T cells, n'influçait la SG dans aucune de ces 2 études. Plus récemment, D.W. Lee et al. (15) ont publié les résultats de 21 patients enfants et adultes traités au National Cancer Institute: taux de RC de 67%, 60% de négativation de la MRD, survie

sans leucémie de 79 % à 5 mois et SG de 52 % à 6 mois. Les auteurs ont observé que l'incidence du SRC était corrélée à la masse tumorale et que les taux de RC étaient plus élevés chez les patients ayant une faible masse tumorale (81 versus 46 %). Dans l'expérience du MD Anderson Cancer Center, 17 patients ont reçu l'injection en traitement adjuvant d'une greffe (autologue ou allogénique) pour une LAL-B réfractaire. Après un suivi médian de 7,5 mois, les taux de survie sans progression (SSP) et de SG à 1 an étaient respectivement de 53 et 36 % (16). Dans une étude de phase I, l'équipe du Baylor College a démontré, chez 4 patients allogreffés pour une LAL-B, la faisabilité de l'utilisation des CAR-T cells issues de lymphocytes du donneur en traitement préemptif ou curatif de la rechute après allogreffe. Aucun conditionnement n'était réalisé avant la réinjection des CAR-T cells; la tolérance était bonne, sans aucune GVH observée, et la médiane de détection des CAR-T cells dans le sang était de 2 mois. Un des patients traités en rechute après allogreffe était en RC, et 2 des patients traités en préemptif n'avaient pas rechuté à la date de publication (17). L'équipe de Seattle du Fred Hutchinson Cancer Research Center a analysé le devenir de 29 patients ayant reçu des CAR-T cells développées spécifiquement à partir de sous-populations CD4+ ou CD8+ et réinjectées avec un ratio optimisé CD4/CD8. Une RC a été obtenue chez 93 % des patients, avec une négativation de la MRD dans 86 % des cas. Une expansion polyclonale était observée dans les 2 sous-types de CAR-T cells, cette expansion était corrélée à la réponse (18). Plus récemment, l'équipe de Seattle a présenté à l'ASCO® 2016 un taux de 91 %

de MRD négative parmi 36 enfants et adultes jeunes (moins de 25 ans) traités par CAR-T cells en situation de rechute d'une LAL, avec une survie sans maladie à 1 an de 53 % et une SG de 74 %. La persistance des CAR-T cells à 2 mois, mesurée par la déplétion lymphocytaire B, était associée à une amélioration de la survie sans maladie (tableau II).

Persistance

La persistance des CAR-T cells varie beaucoup selon les études, avec une longévité de 2 à 3 mois pour les constructions basées sur CD28 et une persistance allant jusqu'à 2 ans chez quelques patients pour les constructions basées sur 4-1BB. L'expansion in vivo semble maximale dans les 14 jours après l'injection dans la majorité des études; les rechutes sont associées soit à l'élimination des CAR-T cells, soit à l'échappement tumoral d'un clone CD19 négatif (19).

Perspectives

Plusieurs études multicentriques sont en cours dans des populations adultes (NCT02614066, NCT02030847) ou pédiatriques (NCT02435849, NCT02625480) afin de confirmer les exceptionnelles réponses observées dans ces études monocentriques. Étant donné la variabilité entre les constructions des CAR-T cells, d'autres études comparatives sont nécessaires afin d'identifier la combinaison optimale. Par ailleurs, d'autres études sur le développement de CAR-T cells ciblant d'autres antigènes que CD19 (CD20, CD123), des CAR-T cells bispécifiques (anti-CD19/CD22), des CAR-T cells mémoire visant à améliorer leur persistance et des thérapies combinées

Tableau II. Essais cliniques évaluant les CAR-T cells anti-CD19 dans la LAL-B.

Centre	Étude	n	Vecteur	Groupe d'âge	Allogreffe pré-CAR-T n (%)	RC/RCh (%)	MRD- (%)	SSR (mois)	SG (mois)	Allogreffe post-CAR-T n (%)	Persistance des CAR-T	Toxicités
UPenn	S.L. Maude et al. (14)	30	Lentiviral	Enfants Adultes	15	90	79	67 % à 6 mois	78 % à 12 mois	3	68 % à 6 mois Persistance 39 mois	SRC 100 % SRC sévère 27 %
MSKCC	M.L. Davila et al. (15)	16	Rétroviral	Adultes	4	88	75	NC	9	7	Expansion en 15 jours Persistance 2-3 mois	NC
Baylor	C.R. Cruz et al. (18)	4	Rétroviral	Enfants Adultes	4	75	NC	NC	NC	0	2 mois	Aucune GVH
NCI	D.W. Lee et al. (16)	21	Rétroviral	Enfants Adultes	8	67	60	79 % à 4,8 mois	52 % à 10 mois	10	Indéteçtable à 68 jours	Fièvre, confusion hypotension
MDACC	P. Kebriaei et al. (17)	17	"Sleeping beauty" transposition	Adultes	17	NC	NC	53 % à 1 an	63 % à 1 an	0	51 jours	Aucune
FHCRC	C.J. Turtle et al. (19)	29	Lentiviral	Adultes	11	93	86	NC	NC	NC	NC	NC

CAR: Chimeric Antigen Receptor; MRD: maladie résiduelle; RC: réponse complète; RCh: réponse complète avec récupération hématologique incomplète; SSR: survie sans rechute; SG: survie globale; NC: non communiqué.

afin d'optimiser le ciblage du microenvironnement tumoral sont également en cours.

Effets indésirables du blinatumomab et des CAR-T cells

Du fait de modalités d'action relativement proches, les effets indésirables du blinatumomab et des CAR-T cells sont similaires. La toxicité immédiate se traduit le plus souvent par un syndrome de lyse tumorale, de la fièvre et des frissons. En fonction de la masse tumorale (clinique, pourcentage de blastes médullaires, leucocytose), un SRC peut survenir, qui associe des signes généraux à une ou plusieurs défaillances d'organe. Cette complication est plus fréquente après administration de CAR-T cells : de 18 à 100 % des patients en fonction des études, avec 27 à 53 % de formes sévères. Cette complication, souvent contrôlée après arrêt du blinatumomab et administration de corticostéroïdes, peut nécessiter une prise en charge en soins intensifs et l'administration d'inhibiteurs de la voie de l'interleukine 6 (tocilizumab, siltuximab). La deuxième toxicité observée est neurologique, avec des manifestations très variables : confusion, somnolence, vertiges, aphasie, encéphalopathie, épilepsie. Selon les essais, des événements neurologiques de grade 3-4 sont observés chez 9 à 45 % des patients. Ils sont dans la plupart des cas réversibles, notamment à l'arrêt du blinatumomab, dont la demi-vie est courte. Récemment, on a toutefois appris l'arrêt du développement d'un nouveau type de CAR-T cell en raison de

la survenue d'un œdème cérébral fatal chez 5 patients adultes. Le dernier effet indésirable qu'il ne faut pas méconnaître est l'hypogammaglobulinémie profonde, liée à un effet déplétant sur les cellules B normales et qui nécessite parfois une supplémentation prolongée en immunoglobulines.

Conclusion

L'immunothérapie constitue une avancée majeure dans la prise en charge des patients atteints de LAL-B. Les molécules prometteuses utilisées actuellement en situation de rattrapage méritent d'être évaluées en première ligne et en association avec une chimiothérapie classique, afin d'optimiser leur efficacité. Le groupe coopérateur GRAALL prévoit ainsi l'incorporation du blinatumomab au schéma de chimiothérapie de première ligne dans l'actuel protocole GRAALL-2014-B pour tous les patients présentant un facteur de risque élevé (GRAALL-QUEST). Les questions soulevées par l'apport de ces nouvelles thérapies restent nombreuses, concernant notamment leurs associations entre elles, à la chimiothérapie conventionnelle et à la greffe de cellules souches allogéniques. Enfin, la valeur de la MRD après immunothérapie, comme outil de stratification du risque et d'orientation de la prise en charge, reste à déterminer. Si l'utilisation de ces molécules est aujourd'hui encore en grande partie restreinte aux essais cliniques, leur accessibilité pour une large population et leur prix seront des enjeux majeurs de la prise en charge des patients. ■

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

RÉFÉRENCES

- Huguet F, Leguay T, Thomas X et al. The upper age limit for a pediatric-inspired therapy in younger adults with Ph-negative acute lymphoblastic leukemia? Analysis of the Graall-2005 Study. *Blood* 2016;128(22):762.
- Desjonquères A, Chevallier P, Thomas X et al. Acute lymphoblastic leukemia relapsing after first-line pediatric-inspired therapy: a retrospective GRAALL study. *Blood Cancer J* 2016;6(12):e504.
- Maury S, Chevret S, Thomas X et al. Rituximab in B-lineage adult acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2016;375(11):1044-53.
- Topp MS, Kufer P, Gökbuğten N et al. Targeted therapy with the T-cell-engaging antibody blinatumomab of chemotherapy-refractory minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia patients results in high response rate and prolonged leukemia-free survival. *J Clin Oncol* 2011;29(18):2493-8.
- Gökbuğten N, Zugmaier G, Klinger M et al. Long-term relapse-free survival in a phase 2 study of blinatumomab for the treatment of patients with minimal residual disease in B-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 2017;102(4):e132-e135.
- Gökbuğten N, Dombret H, Bonifacio M et al. Long-term outcomes after blinatumomab treatment: follow-up of a phase 2 study in patients with minimal residual disease positive B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015;126:680.
- Topp MS, Gökbuğten 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* 2014;32(36):4134-40.
- Topp MS, Gökbuğten N, Stein AS et al. Safety and activity of blinatumomab for adult patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukaemia: a multicentre, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2015;16(1):57-66.
- Kantarjian H, Stein A, Gökbuğten N et al. Blinatumomab versus chemotherapy for advanced acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2017;376(9):836-47.
- Martinelli G, Dombret H, Chevallier P et al. Complete molecular and hematologic response in adult patients with relapsed/refractory Philadelphia chromosome-positive B-precursor acute lymphoblastic leukemia following treatment with blinatumomab: results from a phase 2 single-arm, multicenter study (ALCANTARA). *Blood* 2015;126:679.
- Zugmaier G, Gökbuğten N, Klinger M et al. Long-term survival and T-cell kinetics in relapsed/refractory ALL patients who achieved MRD response after blinatumomab treatment. *Blood* 2015;126(24):2578-84.
- Klinger M, Brandl C, Zugmaier G et al. Immunopharmacologic response of patients with B-lineage acute lymphoblastic leukemia to continuous infusion of T cell-engaging CD19/CD3-bispecific BiTE antibody blinatumomab. *Blood* 2012;119(26):6226-33.
- Maude SL, Frey N, Shaw PA et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(16):1507-17.
- 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* 2014;6(224):224ra25.
- Lee DW, Kochenderfer JN, Stetler-Stevenson M et al. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2015;385(9967):517-28.
- Kebräe P, Singh H, Huls MH et al. Phase I trials using sleeping beauty to generate CD19-specific CAR T cells. *J Clin Invest* 2016;126(9):3363-76.
- Cruz CR, Micklethwaite KP, Savoldo B et al. Infusion of donor-derived CD19-redirection virus-specific T cells for B-cell malignancies relapsed after allogeneic stem cell transplant: a phase 1 study. *Blood* 2013;122(17):2965-73.
- Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4⁺:CD8⁺ composition in adult B cell ALL patients. *J Clin Invest* 2016;126(6):2123-38.
- 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* 2015;5(12):1282-95.