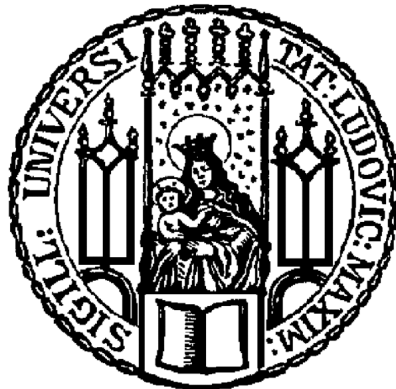


**Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik III  
des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Direktor: Prof. Dr. Dr. med. Michael von Bergwelt**

**T-ZELL BASIERTE IMMUNTHERAPIEN IN HÄMATOLOGISCHEN NEOPLASIEN**  
*PATHOPHYSIOLOGIE UND RISIKOMODELLE VON IMMUNTOXIZITÄT UND ANSPRECHEN*



Kumulative Habilitationsschrift  
zur Erlangung der Venia legendi an der Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
für das Fachgebiet der EXPERIMENTELLEN HÄMATOLOGIE & ONKOLOGIE

vorgelegt von Dr. med. Kai Rejeski  
geboren am 25.11.1993 in Washington DC

2023

**Fachmentorat:**

Prof. Dr. Dr. Michael von Bergwelt (Geschäftsführender Mentor)

Prof. Dr. Marion Subklewe

Prof. Dr. Wolfgang Kunz

*For my parents, whose love and support has always been my guiding light. And for Hazal, my life elixir and tower of strength.*

## Inhaltsverzeichnis

<b>0. Vorwort</b> .....	1
<b>1. Einleitung</b> .....	2
<b>2. Teilprojekt I: Klinischer Verlauf, Risikomodelle und Pathomechanismen der CAR T-Zell assoziierten Immuntoxizität</b> .....	4
2.1 Hämatotoxizität .....	4
2.2 Infektiologische Komplikationen.....	7
2.3 Cytokine Release Syndrom (CRS) .....	9
2.4 Immune Effector Cell Associated Neurotoxicity (ICANS).....	10
<b>3. Teilprojekt II: Einfluss der Immuntoxizität und andere Determinanten des klinischen Ansprechens auf T-Zell basierte Immuntherapien</b> .....	11
<b>4. Zusammenfassung der Ergebnisse</b> .....	17
<b>5. Diskussion</b> .....	18
5.1 <i>Klinischer Verlauf, Risikomodelle und Pathomechanismen der CAR T-Zell assoziierten Immuntoxizität</i> .....	18
5.2 <i>Einfluss der Immuntoxizität und andere Determinanten des klinischen Ansprechens auf T-Zell basierte Immuntherapien</i> .....	21
5.3 <i>Ausblick</i> .....	23
<b>6. Literaturverzeichnis</b> .....	24
<b>7. Publikationsverzeichnis</b> .....	29
7.1 <i>Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor</i> .....	29
7.2 <i>Originalarbeiten als Koautor</i> .....	31
7.3 <i>Kasuistiken und Letters to the Editor</i> .....	32
7.4 <i>Übersichtsartikel</i> .....	33
<b>8. Danksagung</b> .....	34
<b>9. Versicherung an Eides statt und Erklärung zu schriftlichen Habilitationsleistung</b> ..	35
<b>10. Curriculum vitae des Habilitanden</b> .....	36

## 0. Vorwort

Durch den Habilitanden wird eine kumulative Habilitationsleistung angestrebt, welche die Inhalte der folgenden Originalarbeiten umfasst und in den aktuellen wissenschaftlichen Kontext einordnet:

### **Teilprojekt I: Klinischer Verlauf, Risikomodelle und Pathomechanismen der CAR T-Zell assoziierten Immuntoxizität.**

#### 2.1. HÄMATOTOXIZITÄT

- **REJESKI et al.** in Blood, 2021 (PMID: 34166502)
- **REJESKI & WU et al.** in Blood, 2022 (PMID: 35776908)

Zusätzlich illustrieren folgende Arbeiten aktuelle Handlungsempfehlungen und neuartige Therapiekonzepte der Hämatotoxizität:

- **REJESKI et al.** in Blood Advances, 2022 (PMID: 35793454)
- **REJESKI et al.** in Hemasphere, 2023 (in press)

#### 2.2 INFEKTKOMPLIKATIONEN

- **REJESKI et al.** in Hemasphere, 2023 (in press)

#### 2.3 CYTOKINE RELEASE SYNDROME (CRS)

- DOS SANTOS & **REJESKI et al.** in Haematologica, 2022 (PMID: 35172565)

#### 2.4 IMMUNE EFFECTOR CELL ASSOCIATED NEUROTOXICITY SYNDROME (ICANS)

- SCHOEBERL & TIEDT, ...**REJESKI, ...et al.** in Blood Advances, 2022 (PMID: 35042236)

### **Teilprojekt II: Einfluss der Immuntoxizität und andere Determinanten des klinischen Ansprechens auf T-Zell basierte Immuntherapien.**

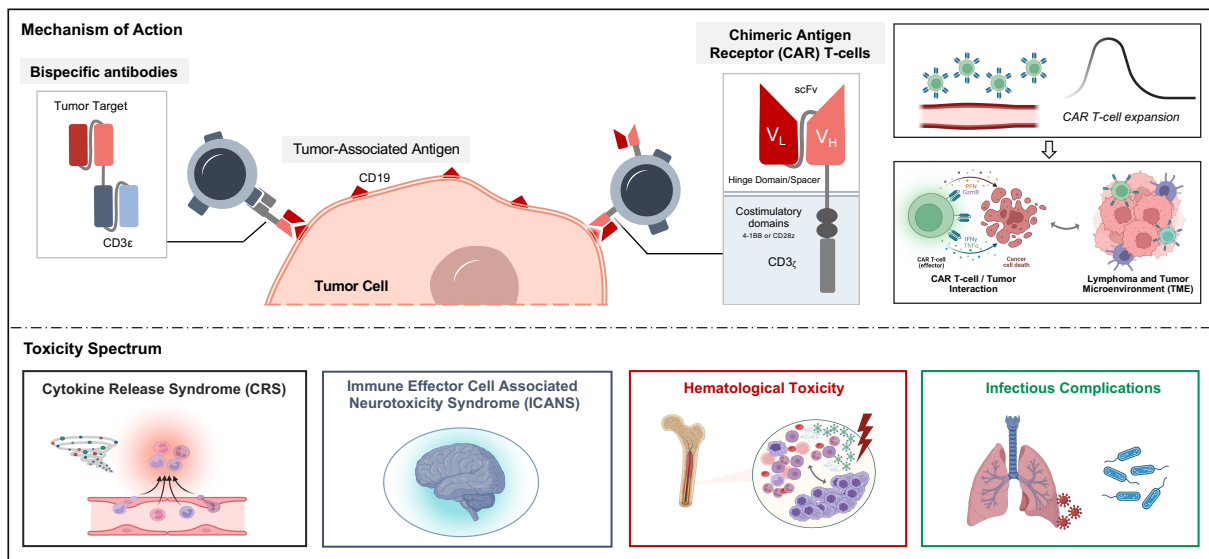
- **REJESKI et al.** in Journal for Immunotherapy of Cancer, 2022 (PMID: 35580927)
- **REJESKI & DOS SANTOS et al.** in Cancer Immunology Research, 2023 (in press)
- KARSCHNIA & **REJESKI et al.** in Neurology, 2022 (PMID: 35351785)
- PHILIPP, ...**REJESKI, ...et al.** in Blood, 2022 (PMID: 35878001)

## 1. Einleitung

T-Zell-basierte Immuntherapien wie bispezifische monoklonale Antikörper (BsMAb) und insbesondere Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Zellen haben sich als vielversprechender Ansatz für die Behandlung mehrerer refraktärer B-Zell Malignitäten etabliert (u.a. DLBCL, BCP-ALL, MCL).<sup>1-4</sup> Dabei integrieren CAR Konstrukte eine extrazelluläre Zielantigen-bindende Domäne sowie mehrere intrazelluläre T-Zell-aktivierende Domänen (CD3 $\zeta$  und ein kostimulatorisches Signal, üblicherweise CD28 oder 4-1BB), welche durch einen transmembranösen Linker verbunden werden (*Abbildung 1*).<sup>5</sup> Durch die genetische Modifikation wird die Effektorfunktion von autologen T-Lymphozyten unabhängig vom endogenen T-Zell-Rezeptor (TCR) gegen ein Zielantigen auf der Tumoroberfläche wie etwa CD19 gerichtet. Die Zahl der CAR Produkte und Behandlungsindikationen steigt stetig und es wird ein deutlicher Anstieg der Fallzahlen in Deutschland in den nächsten 10 Jahren erwartet, unter anderem im ambulanten Setting.<sup>6</sup> Auch wenn die Einführung der CAR T-Zelltherapie zu relevanten Fortschritten in der Behandlung von CD19 positiven Leukämien und Lymphomen geführt hat, ist diese Therapiemodalität mit einem einzigartigen Toxizitätsspektrum und einer hohen Rezidivrate von bis zu 60% vergesellschaftet. Zu den typischen Nebenwirkungen gehören das Cytokine Release Syndrom (CRS) sowie das Immune Effector Cell-Associated Neurotoxicity Syndrom (ICANS). Zudem gehören schwere und oftmals lang-anhaltende Zytopenien zu den häufigsten CTCAE Grad  $\geq 3$  Nebenwirkungen der CAR T-Zelltherapie und können für mitunter schwerwiegende infektiologische Komplikationen prädisponieren.<sup>7</sup> Tatsächlich repräsentieren Infekte die häufigste Ursache der Non-Relapse Mortalität nach CAR T-Zell Infusion.<sup>2, 8</sup> Gleichzeitig sind die zugrundeliegenden Pathomechanismen insbesondere der hämatologischen Toxizität nach CD19 CAR-T weitestgehend unverstanden.

Vor diesem Hintergrund beschäftigt sich **Teilprojekt I** der vorliegenden Habilitation mit den pathophysiologischen Mechanismen von CAR-T-assoziierten Nebenwirkungen mit einem besonderen Augenmerk auf die *Hämatotoxizität*, d.h. schwerwiegende und oft lang-anhaltende Zytopenien. Diese protrahierte zelluläre Immunsuppression kann für mitunter schwerwiegende *Infektkomplikationen* prädisponieren, welche tödlich verlaufen können. Eine größere diagnostische Schwierigkeit liegt dabei darin früh nach der CAR T-Zell Reinfusion (Tag 0 bis +30) zwischen Infekten und dem Zytokinsturm (CRS) zu differenzieren, da Fieber ein Kardinalsymptom beider Prozesse darstellt. Die systemische Hyperinflammation und endotheliale Dysfunktion im Rahmen des CRS ist oft ein entscheidender Ausgangspunkt für die neurologischen Nebenwirkungen der CAR T-Zelltherapie, welche ein breites Symptomspektrum abbilden und zu neurologische Spätfolgen führen können. Insgesamt sind die CAR T-Zell assoziierten Nebenwirkungen ein wichtiger Treiber der therapie-assoziierten

Morbidität und Mortalität, dessen zugrundeliegenden Prozesse im Rahmen dieser Habilitation näher beleuchtet werden.



**Abbildung 1:** Übersicht des Wirkmechanismus (oben) und des Toxizitätsprofils (unten) von Bispezifischen Antikörpern (BsMAB) und der Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Zelltherapie. Beide immuntherapeutischen Ansätze zielen auf das Erkennen von Tumor-assoziierten Antigenen wie etwa CD19. Dabei führen bispezifische Antikörper wie etwa der CD3xCD19 BsMAB Blinatumomab zur Bildung einer immunologischen Synapse zwischen Effektorzelle (T-Zelle) und der Tumorzelle. CAR T-Zell Konstrukte integrieren eine extrazelluläre scFv Domäne, welche MHC-unabhängig an das Zielantigen bindet (z.B. CD19). Dadurch kommt es zur Signaltransduktion und via den intrazellulären kostimulatorischen Domänen zur T-Zellaktivierung und Expansion. Im Falle einer Penetration des Tumor Microenvironments (TME) kommt es schließlich zur CAR T-Zell induzierten Zytolyse von Tumorzellen. Die systemische Hyperinflammation bedingt jedoch auch ein besonderes Nebenwirkungsspektrum. Das Cytokine Release Syndrom (CRS) manifestiert sich klinisch üblicherweise durch das Kardinalsymptom Fieber sowie ggf. hämodynamische Instabilität und respiratorische Insuffizienz. ICANS äußert sich in variablen neurologischen Beschwerden wie etwa Sprachstörungen, Veränderungen des Schriftbildes, kognitive und mnestiche Defizite, bis hin zu Vigilanzminderung, epileptischen Anfällen und dem oft fatalen Hirnödem. Sehr häufige Nebenwirkungen sind außerdem prothrombierte Zytopenien und infektiologische Komplikationen. Rejeski et al, unpubliziert.

Das besondere Toxizitätsprofil von immuntherapeutischen Ansätzen kann jedoch auch Rückschlüsse auf zugrundeliegende pathophysiologische Prozesse und insbesondere der Interaktion zwischen dem endogenen Immunsystem, körpereigenen Zellen und dem Tumor liefern. In diesem Kontext fokussiert sich **Teilprojekt II** auf den Schnittpunkt zwischen Toxizität und Effektivität von T-Zell basierten Immuntherapien sowie generellen Determinanten des Ansprechens. Dabei werden im Rahmen dieser Habilitation klinische, translationale und experimentelle Ansätze angewandt, um das wissenschaftliche Verständnis von T-Zell basierten Immuntherapien in hämatologischen Neoplasien zu vertiefen und präzise Risikomodelle der Toxizität zu entwickeln. Das übergeordnete Ziel des Vorhabens liegt darin durch individualisierte Diagnostik- & Therapieansätze die klinische Versorgung betroffener Patienten zu verbessern.

## **2. Teilprojekt I: Klinischer Verlauf, Risikomodelle und Pathomechanismen der CAR T-Zell assoziierten Immuntoxizität**

Zu den sehr häufigen akuten Nebenwirkungen der CAR T-Zelltherapie gehören Allgemeinsymptome wie Fieber und Schüttelfrost, welche im weiteren Verlauf in das Vollbild eines CRS mit hämodynamischer Instabilität und respiratorischer Insuffizienz übergehen können. Pathophysiologisch setzen aktivierte CAR T-Zellen nach Erkennen des Zielantigens die löslichen Zytokine IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  und GM-CSF frei,<sup>9</sup> wodurch nicht nur eine direkte Zytotoxizität auf die Tumorzelle ausgeübt wird, sondern auch *bystander* Zellen wie Monozyten/Makrophagen, Endothelzellen und Perizyten aktiviert werden. Dadurch wird das Immunsystem in eine unregulierte Hyperinflammation getrieben, was wiederum zu einer endothelialen Aktivierung und einem diffusen Kapillarleck führt.<sup>10</sup> Weitere, begleitend zum CRS, teils jedoch auch unabhängig davon auftretende Nebenwirkungen sind neurologische Komplikationen (ICANS), die sich als Vigilanzminderung, kognitive Defizite, Aphasie, Apraxie, bis hin zu epileptischen Anfällen und (fatalem) Hirnödem manifestieren können. Insgesamt ist das ICANS klinisch heterogen, pathophysiologisch nur unzureichend verstanden und teilweise Produkt-abhängig (CD28z > 4-1BB kostimulatorische Domäne). Eine frühzeitige Behandlung der Akuttoxizitäten, z.B. mit IL6-Rezeptor-Antagonisten und/oder Steroiden, ist von entscheidender Bedeutung zur Verhinderung sekundärer, teils auch schwerwiegender Organkomplikationen und neurologischer Langzeitschäden. Über die Akuttoxizität hinaus zeigen CAR T-Zell Patienten teils prolongierte Zytopenien mit einem typischerweise biphasischen Verlauf (Hämatotoxizität).<sup>11</sup> Zusammen mit der Hypogammaglobulinämie und B-Zell Aplasie als zu erwartende on-target/off-tumor Nebenwirkungen der CD19-gerichteten Zelltherapie, kommt es dadurch zur kombinierten zellulären und humoralen Immundefizienz, was sekundär das Risiko schwerer Infektionen erhöht. In diesem Teilprojekt werden die pathophysiologischen Zusammenhänge von CAR-T Nebenwirkungen exploriert, neue Biomarker identifiziert und individualisierte Risikomodelle exploriert.

### **2.1) HÄMATOTOXIZITÄT**

Insgesamt sind schwerwiegenden und anhaltende Zytopenien die häufigste CTCAE Grad  $\geq 3$  Nebenwirkung der CAR T-Zelltherapie. Dabei führt die anhaltende (Pan-)Zytopenie zu einem relevanten Transfusionsbedarf, erhöhtem Blutungs- und Infektionsrisiko sowie negativen Konsequenzen für die weitere Therapiefähigkeit im Falle eines Tumorrezidivs. Der Mechanismus bleibt unvollständig verstanden, jedoch spricht die protrahierte Qualität gegen einen direkten Effekt der initial applizierten lymphodepletierenden Chemotherapie und für einen CAR T-Zell assoziierten Prozess.



**REJESKI et al. in Blood, 2021:**

In dieser multizentrischen, retrospektiven Studie wurden potentielle prädiktive Biomarker der CAR T-Zell assoziierten Hämatotoxizität in 258 DLBCL-Patienten analysiert, die mit den kommerziellen CAR Produkten Axi-cel oder Tisa-cel behandelt wurden.<sup>12</sup> In diesem „Real-World“ Kollektiv zeigte sich eine sehr hohe Inzidenz an schweren (Grad  $\geq 3$ ) Zytopenien von mehr als 90%, welche sich in ca. zwei Drittel der Fälle noch nach Tag +21 nachweisen ließen. Dabei konnte eine neue Nomenklatur der Hämatotoxizität entwickelt werden, wobei drei charakteristische Phänotypen der Neutrophilen-Regeneration identifiziert wurden: „Quick“ vs. „Intermittent“ vs. „Aplastic“ (*Abbildung 2b*). Als primärer Endpunkt wurde die Dauer der schweren Neutropenie (ANC<500/ $\mu$ l) zwischen Tag 0 bis +60 gewählt. Innerhalb einer Trainingskohorte von 58 DLBCL-Patienten erfolgte die Evaluation von Markern, welche sich biologisch als prädiktiv für eine Zytopenie erweisen könnten. Es wurde besonders ein Zusammenhang mit der hämatopoetischen Reserve (Anzahl der neutrophilen Granulozyten und Thrombozyten, Hämoglobin-Wert) und der systemischen Inflammation (Ferritin, C-reaktives Protein) vor Therapiebeginn beobachtet (*Abbildung 2a*). Diese Parameter bilden unterschiedlich gewichtet das CAR-HEMATOTOX Scoring-System, welches in zwei unabhängigen Patientenkohorten aus den USA (100 Patienten) und Europa (91 Patienten) extern validiert wurde. Dabei diskriminierte der CAR-HEMATOTOX zwischen milden Verlaufsformen mit einer kurzweiligen Zytopeniephase (von weniger als 14 Tagen) und dem Auftreten einer schwerwiegenden, anhaltenden Zytopenie von mehr als 14 Tagen (AUC 0.89; Sensitivität/Spezifität: 0.89/0.68). Die Stratifizierung der Patienten gemäß des CAR-HEMATOTOX zeigte dabei Relevanz für alle drei hämatopoetischen Zellreihen. Ein hoher Score führte zu einer längeren Neutropenie-Dauer (12 vs. 5.5 Tage,  $p < 0.001$ ) und zu einer höheren Inzidenzrate der schweren Thrombozytopenie (87% vs. 34%) und schweren Anämie (96% vs. 40%). Der klinisch relevante aplastische Verlauf trat in HT<sup>high</sup> Patienten deutlich

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 2* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

**REJESKI K**, PEREZ A, SESQUES P, HOSTER E, BERGER C, JENTZSCH L, MOUGIAKAKOS D, FRÖLICH L, ACKERMANN J, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, JALLADES L, FEHSE B, FAUL C, KARSCHNIA P, WEIGERT O, DREYLING M, LOCKE F, BERGWELT M, MACKENSEN A, BETHGE W, AYUK F, BACHY E, SALLES G, JAIN M, SUBKLEWE M. The CAR-HEMATOTOX: a model for CAR T-cell-related hematological toxicity in relapsed/refractory large B-cell lymphoma. *Blood* 2021 Dec 16;138(24):2499-2513.

**Abbildung 2:** Das diskriminatorische CAR-HEMATOTOX Modell wird vor Lymphodepletion erhoben und erlaubt somit eine frühe Risikostratifizierung in ein hohes vs. niedriges Risiko für eine prolongierte Neutropenie. **A:** Der Score unterstreicht die pathophysiologie Bedeutung der hämatopoetischen Reserve sowie der systemischen Inflammation vor CAR T-Zell Infusion. **B:** Die hämatopoetische Regeneration nach CAR T-Zell Infusion lässt sich in drei distinkte Gruppen unterteilen: rasche Regeneration („quick“) vs. biphasischer Verlauf („intermittent“) vs. anhaltende tiefe Zytopenie („aplastic“). Durch Berechnung des CAR-HEMATOTOX lassen sich insbesondere die Patienten mit dem klinisch relevanten aplastischen Phänotypen (rot) identifizieren. Rejeski et al. in Blood, 2021.

häufiger auf (40% vs. 2%,  $p < 0.001$ ). Ein hoher Score führte darüber hinaus zu einer signifikant verlängerten Hospitalisierungsdauer. Somit erlaubt der *CAR-HEMATOTOX* score eine akkurate Risikostratifizierung von CAR-T Patienten hinsichtlich der Hämatotoxizität bereits vor Therapiebeginn. Daraus ergibt sich die Möglichkeit risikoadaptierte Strategien der anti-infektiven Therapie oder Wachstumsfaktor-Gabe mit G-CSF zu erproben. In Hochrisiko-Patienten mit schwerer G-CSF-refraktärer Aplasie ergibt sich mit der Reinfusion von kryopreservierten autologen oder allogenen Stammzellen (= „Stammzell-Boost“) ein neuer Therapieansatz, dessen Sicherheit und klinische Realisierbarkeit über mehrere internationale Zentren hinweg gezeigt werden konnte (*Rejeski et al. in Blood Advances 2022*).<sup>13</sup> Interessanterweise hatten alle 13 Patienten in dieser Studie einen hohen *CAR-HEMATOTOX* (median 4, IQR 2-7). Das entwickelte Scoring-System wird nun in vielen internationalen CAR T-Zell Zentren für die Risikostratifizierung der Hämatotoxizität angewandt und wird in die kommenden Europäischen Leitlinien integriert (*Rejeski et al. in Hemasphere 2023, in press*).

#### REJESKI & Wu et al. in Blood, 2022:

In dieser mechanistischen Arbeit wurden zugrundeliegenden pathophysiologischen Zusammenhänge der schweren Hämatotoxizität nach CD19-gerichteter CAR T-Zelltherapie multimodal experimentell untersucht.<sup>14</sup> Dabei untersuchten wir longitudinale Proben (Serum, PBMCs, Knochenmark) von einem Patienten mit Richter-transformiertem DLBCL, der eine schwere Agranulozytose und Thrombozytopenie bis in den 3. Monat nach CAR-T entwickelte. Diese wurden mit Proben von gesunden Spendern und T-LGLL Patienten verglichen. In der explorativen Serum-Proteomanalyse fand sich eine Runterregulation von *CD40-L* und *EGF*, während *FASLG* und *IFN $\gamma$*  hochreguliert wurde (*Abbildung 3a*) – eine Zytokinsignatur, welche auch für die schwere aplastische Anämie beschrieben wurde.<sup>15</sup> In der durchgeführten KM Biopsie wurde eine Infiltration durch *CD8<sup>+</sup>CD57<sup>+</sup>* CAR T-Zellen beobachtet. Immunphänotypisch fand sich diese Population (*CD8<sup>+</sup>/CD57<sup>+</sup>* effector memory CAR T-Zellen) auch im peripheren Blut (*Abbildung 3b*). Mit Hilfe von Einzelzell-RNA (scRNAseq) und T-Zell Rezeptor (TCR) Sequenzierung von prä- und post-CAR-T Proben, konnten Immunzell-Subpopulationen präzise zugeordnet werden (*Abbildung 3c*). Dabei wurde eine signifikante klonale Expansion mit TCR-Restriktion beobachtet (*Abbildung 3d*). Insgesamt fand sich auf single-cell Ebene ein klonaler Drift, wobei der expandierende Klon bereits vor Therapiebeginn sowohl auf CAR und nicht CAR T-Zellen identifiziert werden konnte. Die Expansion war vergleichbar mit einer Referenzpopulation an T-LGLL Patienten aus einer NIH-Kohorte (*Abbildung 3e*). In der Genexpressionsanalyse zeigte sich eine Hochregulation von Zellzyklus- & Inflammationsgenen in der expandierenden T-Zellpopulation (*Abbildung 3f*). Im myeloischen Kompartiment wurde hingegen eine Aktivierung von Apoptose-Genen beobachtet. Insgesamt unterstreichen diese Ergebnisse einen potentiellen neuen Pathomechanismus der CAR T-Zell

assoziierten Hämatoxizität, nämlich die oligoklonale T-Zell Expansion mit konsekutiver Suppression des myeloischen Kompartments. Der stimulierende Reiz für die Expansion bleibt jedoch weiterhin unklar. Mögliche Beispiele wären die hochgradige Inflammation im Rahmen des CRS, T- und B-Zell-Imbalancen oder die CLL als prädisponierende Grunderkrankung.

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 3* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

**REJESKI K\***, WU Z\*, BLUMENBERG V, KUNZ W, MUELLER S, KAJIGAYA S, GAO S, BÜCKLEIN V, FRÖLICH L, SCHMIDT C, BERGWELT M, FENG X, YOUNG N, SUBKLEWE M. Oligoclonal T-cell expansion in a patient with bone marrow failure after CD19 CAR-T for Richter transformed DLBCL. *Blood*. 2022 Nov 17;140(20):2175-2179.

**Abbildung 3:** Oligoklonale (CAR) T-Zell Expansion als möglicher Pathomechanismus der CAR T-Zell assoziierten Hämatoxizität. **A:** Longitudinale Serumproteom-Analyse mit Olink Proteomics: runterregulierte Proteine sind in rot dargestellt, hochregulierte Proteine in grün. NPX = normalized protein expression (log2 Skala). **B:** Expression des CAR Konstrukts in der CD8<sup>+</sup> T-Zellpopulation im Vergleich prä- und post-CAR-T (links) und Expression von CD57 in den CD8<sup>+</sup> CAR T-Zellen (rechts) **C:** t-SNE plots der Genexpression auf Einzelzellebene sowie Zuordnung von Zelltypen basierend auf transkriptomischer Ähnlichkeit **D:** Skyscraper plots mit polyklonalen T-Zell Rezeptor (TCR) Profil vor Therapiebeginn und TCR-Restriktion nach CAR T-Zell Applikation im Rahmen der schweren Hämatoxizität. **E:** Gini index der Größenverteilung der TCR-Klone im Therapieverlauf und im Vergleich zu gesunden Spendern und T-LGLL Patienten. **F:** Pathway Analyse (Genomatix software package) mit Darstellung der hochregulierten Signalwege im dominanten T-Zellklon. Rejeski et al. in *Blood*, 2021.

## 2.2) INFEKTKOMPLIKATIONEN

**REJESKI et al.** in *Hemasphere*, 2023:

In den ersten 10 Tagen nach CAR T-Zell Infusion sind neutropene Fiebersyndrome sehr häufig (>80%) und können sowohl eine Infektion oder CRS darstellen. Insbesondere die Identifikation von frühen Infektkomplikationen im Kontext des CRS stellt eine klinische Herausforderung dar. In dieser Studie wurden frühe Fieberepisode (Tag 0 bis +30) retrospektiv als Infektion vs. CRS gewertet.<sup>16</sup> In einer Trainingskohorte von 62 B-NHL Patienten, welche im real-world setting CD19 CAR T-Zellen erhielten, wurden verschiedene Serum-Inflamationsparameter (C-reactive-protein [CRP], interleukin-6 [IL-6], procalcitonin [PCT]) sequentiell gemessen. Zudem wurde in 52 Patienten sequentiell über 4 Zeitpunkte eine explorative Serumproteom-Analyse mittels einem *mutlplex proximity extension assay* (Olink proteomics) durchgeführt. In den Patienten mit schweren Infekten wurden im Vergleich zu den CRS<sup>only</sup> Patienten besonders

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 4* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

**REJESKI K**, BLUMENBERG V, IACOBONI G, LOPEZ-CORRAL L, KHARBOUTLI S, HERNANI R, PETRERA A, MÜLLER N, HILDEBRAND F, FRÖLICH L, KARSCHNIA P, SCHMIDT C, CORDAS DOS SANTOS D, LUIS PINANA J, MÜLLER F, AFRICA MARTIN A, DREYLING M, BERGWELT M, BARBA P, SUBKLEWE M, BÜCKLEIN V. Identifying early infections in the setting of CRS with routine and exploratory serum proteomics and the HT10 score following CD19 CAR-T for relapsed/refractory B-NHL. *Hemasphere*. 2023, 2023 Apr 5;7(4):e858.

**Abbildung 4:** Identifikation von frühen Infektkomplifikationen im Kontext von CRS mit routinemäßigen und explorativen Serumproteomanalysen und dem HT10 score. **A:** Procalcitoninspiegel im Serum ( $\mu\text{g/l}$ ) in Relation zum jeweiligen „Index-Event“: schwerer Infekt (grün) vs. CRS Grad 2 (lila) vs. CRS Grad 1 (grau). Tag 0 = Tag des Events, es sind die aggregierten medianen Serumspiegel in den 3 Tagen vor und 7 Tagen nach dem jeweiligen Event dargestellt. **B:** Validierungskohorte ( $n=125$ ): Receiver operating characteristic (ROC) Analyse von dem HT10 score (lila) und simplifizierten HT10 score (blau) in Bezug zu dem binären Endpunkt einer schweren Infektion in den ersten 30 Tagen nach CAR T-Zell Infusion versus nur CRS (ohne Infektion). **C:** Schweregradverteilung für alle Infekt-Subtypen (links) und für nicht-virale Infekte (rechts) nach HT10 Score Risikogruppe. Die grünen Linien zeigen die Prozentzahlen für alle Schweregrade, die grauen Linien für schwere Infekte ( $\text{Grad} \geq 3$ ). **D:** Volcano Plots für die durchschnittliche Differenz in Proteinspiegeln ( $\text{NPX} = \text{Normalized Protein eXpression}$ ) zwischen Patienten mit schweren Infekten vs. nur CRS an Tag 0 (vor CAR-T Infusion) und an Tag +4. Dunkelblau sind die Kandidatproteine dargestellt, welche nach Korrektur für multiples testing, einen adjustierten p-Wert  $< 0.05$  aufwiesen. Links sind die hochregulierten Proteine und rechts die herunterregulierten Proteine in Patienten mit schweren Infekten dargestellt. **E:** Heatmap der normalisierten NPX-Werte der 16 Kandidatproteine mit signifikanten Unterschieden zwischen Infekt vs. nur CRS Patienten. Jede Reihe stellt eine Probe und jede Spalte ein Protein dar. Das Dendrogramm zeigt die Ergebnisse der hierarchischen Clustering-Analyse. Rejeski et al. in *Hemasphere*, 2023, in press.

hohe Serum-PCT Spiegel gemessen (Median 1.6 vs. 0.3  $\mu\text{g/L}$ ,  $p < 0.0001$ ; *Abbildung 4a*). Mit Hilfe von ROC-Analysen konnte für PCT und schwere Infekte ein optimaler diskriminatorischer Wert von 1.5  $\mu\text{g/L}$  am Tag des ersten Fiebers etabliert werden ( $\text{AUC}_{\text{ROC}}=0.78$ ). Als nächstes wurde der identifizierte PCT-Schwellenwert mit dem patienten-individuellen CAR-HEMATOTOX score integriert (Addition von 10 Punkten im Fall eines  $\text{PCT} \geq 1.5 \mu\text{g/L}$ ). In einer multizentrischen Validierungskohorte ( $n=125$ ) prädizierte der entsprechende „HT10 score“ zum Zeitpunkt des ersten Fiebers die Entwicklung von schweren Infekten ( $\text{AUC}_{\text{ROC}}=0.87$ ,  $p < 0.0001$ , sens. 86%, spec. 86%; *Abbildung 4b*). Patienten mit erhöhtem HT10 score ( $\geq 5$  Punkten) entwickelten signifikant häufiger Infekte und insbesondere schwere Infekte (55% vs. 3%,  $p < 0.0001$ , *Abbildung 4c*). Diese Hochrisikopatienten zeigten in der Serumproteom-Analyse bereits vor Therapiebeginn eine ausgeprägte Immundysregulation mit Hochregulation von *TNFRSF12A* und *CXC3L1* (*Abbildung 4d*). In der Heatmap/Hierarchischen Clustering-Analyse offenbarte sich eine progrediente Immundysregulation (z.B. veränderte CD40/CD40-L Achse) und deutliche endotheliale Dysfunktion (Erhöhung des Verhältnisses von Angiopoietin 2 zu Angiopoietin 1 =  $\text{Ang2/1 ratio}$ ) in den Patienten, die schwere Infekte

entwickelten (*Abbildung 4e*). Insgesamt unterstreicht die diskriminatorische Kapazität des „HT10 scores“ die Vorteile eines seriellen Monitorings von Serum-Procalcitonin Spiegeln in CAR T-Zell Patienten. Dies erlaubt eine dynamische Risikostratifizierung, d.h. die Integration des patienten-individuellen Basisrisikos mit täglichen Veränderungen von Serummarkern. Die Olink-Analysen liefern mit der progredienten Immundysregulation und endothelialen Dysfunktion ein pathophysiologisches Korrelat für das erhöhte Risiko für schwere Infekte in dem HT10<sup>high</sup> Patientenkollektiv. Der Score könnte in Zukunft die risiko-adaptierte und individualisierte Antibiotika-Gabe ermöglichen.

### 2.3) CYTOKINE RELEASE SYNDROM (CRS)

DOS SANTOS & REJESKI et al. in Haematologica, 2022:

In dieser Arbeit wurde der Einfluss von *Body Composition* und anthropometrischen Faktoren auf das Auftreten, die Dynamik und Schwere von CRS (und ICANS) analysiert.<sup>17</sup> Dabei wurden radiomische Analysen von prä-CAR-T Schnittbildgebungen (PET/CT und CT) in 64 CAR-Patienten mit refraktären B-Zell-Erkrankungen durchgeführt. Basierend auf Hounsfield-Einheiten wurden patienten-individuelle Volumetrien von verschiedenen Gewebetypen wie adipöses Fett und Muskelgewebe gemessen (*Abbildung 5a*). Patienten mit hochgradigem CRS präsentierten mit signifikant erhöhtem BMI, Waist-to-Height Ratio (WtHR) und viszeralen adipösem Gewebe (VAT).

Hingegen war die Muskelmasse weder mit CRS noch mit ICANS assoziiert. In der Multivariatanalyse waren die Marker BMI, WtHR und VAT unabhängig von bekannten Risikofaktoren (z.B. Ferritin, CRP, LDH, Tumormasse) mit hochgradigem CRS und früheren CRS-Beginn assoziiert. Basierend auf Receiver Operating Characteristic (ROC) Analysen konnten optimale diskriminatorische Schwellenwerte für diese Marker definiert werden. Interessanterweise zeigten die VAT<sup>high</sup> Patienten deutlich höhere *Interleukin-6* Werte, was eine potenzierende Wirkung des metabolisch aktiven viszeralen

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 5* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

CORDAS DOS SANTOS D\*, **REJESKI K\***, WINKELMANN M, LIU L, TRINKNER P, GÜNTHER S, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, KUNZ W, BERGWELT M, THEURICH S, SUBKLEWE M. Increased visceral fat distribution and body composition impact CRS onset and severity after CD19-CAR-T in advanced B-cell malignancies. *Haematologica* 2022 Sep 1;107(9):2096-2107.

**Abbildung 5:** Metabolisch aktives viszerales adipöses Fett erhöht das Risiko für hochgradiges CRS. **A:** Mit Hilfe von Segmentierungsanalysen von prä-CAR-T CT Bildgebungen wurden Fett- & Muskelgewebe anhand von prädefinierten Schwellenwerten der Radiodichte (engl. Hounsfield unit = HU) volumetrisch bemessen. **B:** Patienten mit hohen Anteilen an viszeral-betonen adipösem Fett (VAT) zeigen einen deutlich früheren und höheren Anstieg des systemischen Inflammationsmarkers Interleukin-6. **C:** Modell der Metaflammation als potenzierender Faktor in der CRS Pathogenese. Durch die Einwanderung von Makrophagen und CD8<sup>+</sup> T-Zellen wird das adipöse Fett in ein inflammatorisches endokrines Organ umgewandelt (Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen wie IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ). Dos Santos & Rejeski et al. in *Haematologica*, 2022.

Fetts auf die CRS-bedingte Hyperinflammation suggeriert (*Abbildung 5b und 5c*). Ähnliche proinflammatorische Effekte durch viszerale Fettdepots sind bereits für andere hyperinflammatorische Syndrome beschrieben (etwa Diabetes Mellitus Typ II, Covid-19), waren jedoch im Kontext von zellulären Immuntherapien unbekannt. Diese Daten unterstreichen die Bedeutung von Patienten-intrinsischen Faktoren (sogenannte „host factors“) in der Entwicklung von CRS. Als potentieller neuer Biomarker der Immuntoxizität könnte viszeral adipöses Fett in bereits bestehende Risikoklassifikationssysteme wie etwa dem EASIX score<sup>18</sup> integriert werden, um die individualisierte Prädiktion von Nebenwirkung vor Therapiebeginn zu verbessern.

#### **2.4) IMMUNE EFFECTOR CELL ASSOCIATED NEUROTOXICITY SYNDROM (ICANS)**

SCHOEBERL & TIEDT... REJESKI...et al. in Blood Adv, 2022:

Schwere neurologische Nebenwirkungen nach der CAR T-Zell Applikation können bedrohlich sein und limitieren besonders die ambulante Führung von Patienten. Neurologische Spätfolgen wie kognitive Defizite und Verwirrheitszustände können die Lebensqualität der Patienten einschränken und zu erheblichen gesundheits-ökonomischen Kosten beitragen. Aus diesem Grund werden neue prädiktive Biomarker, die Hochrisiko-Verläufe individuell vorhersagen von hohem klinischem Interesse. In dieser bi-institutionellen Studie von 96 CAR Patienten mit B-Zell Lymphomen, welche am Klinikum der Universität München und dem Universitätsklinikum Heidelberg behandelt wurden, erfolgte die retrospektive Bestimmung der Serumkonzentration von *Neurofilament Light Chain* (*NfL* = Marker für neuro-axonale Schädigung/Integrität).<sup>19</sup> Dabei zeigte sich eine direkte, lineare Beziehung zwischen posttherapeutischen Serum-NfL Spiegel und dem Schweregrad der Neurotoxizität nach ASTCT Kriterien (*Abbildung 6a*). Eine schwere Neurotoxizität (ASTCT Grad 2-4) war im Vergleich zu Patienten mit ausbleibenden oder nur leichten neurologischen Beschwerden (ASTCT Grad 0-1) mit signifikant höheren posttherapeutischen *NfL*-Serumkonzentration assoziiert (*Abbildung 6b*). Interessanterweise wiesen die Patienten welche ein hochgradiges ICANS entwickelten, bereits vor Therapiebeginn höhere *NfL*-Serumkonzentrationen auf. In der ROC-Analyse konnte der vielversprechende Wert vom prä-CAR *NfL* als prädiktiver Marker einer schweren Neurotoxizität bestätigt werden (AUC 0.71 mit CI 0.58-0.84) (*Abbildung 6c*). Diese Daten unterstreichen die Bedeutung der neuroaxonalen Integrität sowohl vor und während der CAR T-Zelltherapie im Pathomechanismus von ICANS. Wenn diese Daten in größeren unabhängigen Kohorten und prospektiv validiert werden, könnten *NfL*-Messungen einen neuen Serum-Biomarker der Neurotoxizität darstellen. Dies würde die frühzeitige Identifikation von Risikopatienten und somit risiko-adaptierte Therapiestrategien ermöglichen, was wiederum die Sicherheit einer CAR T-Zelltherapie deutlich erhöhen könnte.

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 6* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

SCHÖBERL F\*, TIEDT S\*, SCHMITT A, BLUMENBERG V, KARSCHNIA P, BURBANO VG, BÜCKLEIN V, **REJESKI K**, SCHMIDT C, BUSCH G, BERGWELT M, TONN JC, SCHMITT M, SUBKLEWE M, VON BAUMGARTEN L. Neurofilament light chain levels correlate with the severity of neurotoxicity after CAR T cell treatment. *Blood Adv* 2022 May 24;6(10):3022-3026.

**Abbildung 6:** Neurofilament Leichketten (NfL) im Serum korrelieren mit der Schweregrad von ICANS nach CAR-T-Zell Infusion. **A:** Lineare Beziehung zwischen Grad der Neurotoxizität (x-Achse) und NfL-Serumkonzentrationen (y-Achse) nach CAR-T. **B:** Signifikante höhere NfL-Serumkonzentrationen vor Therapiebeginn bei schwerer Neurotoxizität (ASTCT Grad 2-4). **C:** ROC-Analyse mit einer Sensitivität/Spezifität von 0.88/0.50 bei einer NfL-Serumkonzentration von 74.8 pg/ml als Cutoff-Wert vor CAR-T. Schoeberl & Tiedt et al. in *Blood Advances*, 2022.

### 3. Teilprojekt II: Einfluss der Immuntoxizität und andere Determinanten des klinischen Ansprechens auf T-Zell basierte Immuntherapien

Das spezifische Toxizitätsprofil von immuntherapeutischen Ansätzen wird schon lange als Fenster in die zugrundeliegenden biologischen Prozesse der Interaktion zwischen Tumor, Host und dem Immunsystem betrachtet. Erste Beispiele davon sind die Assoziation zwischen akuter Graft-versus-Host-Disease und dem Graft-versus-Leukemia-Effekt nach allogener Stammzelltransplantation,<sup>20-22</sup> aber auch der positive prognostische Wert von immune-related adverse events (irAE) nach Checkpoint-Inhibitor Therapie.<sup>23, 24</sup> Darüber hinaus konnte ein vorteilhafter Zusammenhang zwischen leicht bis moderaten CRS und CAR T-Zell Ansprechen nachgewiesen werden.<sup>25</sup> Gleichzeitig können Nebenwirkungen auch klinisch verheerend und mitunter tödlich verlaufen. So kann die Non-Relapse Mortalität (NRM) nach allogener Stammzelltransplantation je nach Verfahren zwischen 10-25% rangieren.<sup>26</sup> Auch nach der CAR T-Zelltherapie können tödliche Nebenwirkungen auftreten, wie etwa schwere Infekte aufgrund der multimodalen Immunsuppression (*Rejeski et al. BMC ID 2021*).<sup>27</sup> Die überschießende gegen den Tumor gerichtete Immunantwort ist somit oft Fluch und Segen zugleich. Diese beiden Enden des Spektrums im individuellen Patienten zu differenzieren gelingt schlussendlich nur durch die Anwendung von prädiktiven Biomarkern zur präzisen Identifikation von Hochrisiko-Kandidaten. Darüber hinaus existieren mannigfaltige Gründe für ein Nicht-Ansprechen auf eine T-Zell basierte Immuntherapie wie etwa *Antigen Escape* (Runterregulierung oder Mutation des Zielantigens), inadäquates *trafficking* und Infiltration der Immuneffektorzellen in das Zielgewebe, sowie die Tumorgenomik und ein immunsuppressives Mikromilieu.<sup>28</sup> Dabei bildet die Entdeckung von neuen tumor-intrinsischen oder T-Zell spezifischen Faktoren des Ansprechens den Grundstein für die Entwicklung von neuen bzw. Optimierung von bestehenden Therapiekonzepten.

**REJESKI et al. in JITC, 2022:**

In dieser multizentrischen, internationalen Studie von 248 LBCL-Patienten erfolgte die systematische Erfassung von frühen infektiologischen Komplikationen (Tag 0 bis +90) sowie eine Analyse von Prognosefaktoren des Progressions-freien (PFS) und Gesamtüberleben (OS) nach CD19-gerichteter CAR T-Zelltherapie.<sup>29</sup> Insgesamt waren Infekte mit einer kumulativen 90-Tage-Inzidenz von 44% (schwere Infekte: 24%) eine häufige Nebenwirkung. Bakterielle Infekte waren die häufigste Ursache und traten insbesondere in den ersten 30 Tagen auf, gefolgt von viralen Infekten, die öfter post-stationär beobachtet wurden. Pilzinfektionen waren selten, jedoch mit einer hohen Mortalität assoziiert (3 Todesfälle). Auffällig war die hohe Rate an neutropenen (73%) und nicht-neutropenen Fieber (13%) in den ersten 10 Tagen nach CAR T-Zell Infusion (*Abbildung 7a*). Aufgrund dessen war die Exposition zu Breitspektrum i.v. Antibiotika mit 86% in diesem Zeitraum sehr hoch.

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 7* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

**REJESKI K,** PEREZ A, IACOBONI G, PENACK O, BÜCKLEIN V, JENTZSCH L, MOUGIAKAKOS D, JOHNSON G, ARCIOLA B, CARPIO C, BLUMENBERG V, HOSTER E, BULLINGER L, LOCKE F, BERGWELT M, MACKENSEN A, BETHGE W, BARBA P, JAIN M, SUBKLEWE M. The CAR-HEMATOTOX risk-stratifies for severe infections and disease progression after CD19-CAR-T in R/R LBCL. *J Immunother Cancer*. 2022 May;10(5):e004475.

**Abbildung 7:** Der CAR-HEMATOTOX score als prädiktives Modell für Infekt komplikationen nach CAR T-Zelltherapie und prognostischer Faktor von PFS und OS. **A:** Inzidenz von neutropenen und nicht-neutropenen Fieber in den ersten 10 Tagen nach CAR-T. **B-C:** Multivariate Modelle von prä-CAR-T (**B**) und post-CAR-T (**C**) Faktoren in Bezug auf den Endpunkt einer schweren Infektion nach binärer logistischer Regressionsanalyse (dargestellt: adjustiertes odds ratio mit 95% Konfidenzintervall). **D:** Rate an bakteriellen Infektionen nach CAR-HEMATOTOX (HT) score; schwere bakterielle Infekte sind durch die dunkelgraue Linie dargestellt. **E:** Kaplan-Meier Kurve des Gesamtüberlebens nach HT score. Rejeski et al. in JITC, 2022.

In der multivariaten Analyse von prä-CAR-T Faktoren, identifizierte nur der CAR-HEMATOTOX (HT) Score Patienten mit einem hohen Risiko für schwere Infekt komplikationen (adjustierter HR 6.4, 95% CI 3.1 - 13.1, *Abbildung 7b*). HT<sup>high</sup> Patienten entwickelten häufiger schwere Infekte (40% vs 8%, p<0.0001), besonders schwere bakterielle Infekte (27% vs 0.9%, p<0.0001, *Abbildung 7d*). Die Multivariatanalyse der post-CAR-T Faktoren ergab, dass das Infektrisiko durch eine prolongierte Neutropenie-Dauer (≥14 Tage) oder Glukokortikoid-Applikation (≥9 Tage) erhöht wird, während eine Fluorchinolon-Prophylaxe das Risiko für schwere Infekte reduzierte (*Abbildung 7c*). Dabei reduzierte die antibakterielle Prophylaxe die



Wahrscheinlichkeit eine schwere bakteriellen Infektion zu erleiden in den HT<sup>high</sup> (16% vs 46%,  $p < 0.001$ ), jedoch nicht in den HT<sup>low</sup> Patienten (0% vs 2%,  $p = n.s.$ ). Die HT<sup>high</sup> Patienten hatten ein schlechteres mediane PFS (3.4 vs 12.6 Monate) und OS (9.1 Monate vs nicht-erreicht; *Abbildung 7e*) und waren länger hospitalisiert (median 20 vs 16 Tage). Insgesamt waren schwere Infekte die häufigste Ursache der Non-Relapse Mortalität nach CAR T-Zelltherapie und waren mit schlechteren Ansprechraten assoziiert. Zusätzlich wurde ein Trend zur höheren Non-Relapse Mortalität in den HT<sup>high</sup> Patienten beobachtet (8.0% vs 3.7%,  $p = 0.09$ ). Diese Daten unterstreichen die Bedeutung der hämatopoetischen Funktion und systemischen Inflammation vor Therapiebeginn für die Entwicklung von a) schweren Infekten und b) dem Therapieerfolg nach CD19 CAR-T. Die prognostische Bedeutung des CAR-HEMATOTOX scores konnte mittlerweile auch für das Mantelzellymphom (MCL) und das Multiple Myelom (MM) bestätigt werden.<sup>30, 31</sup> Während Hochrisikopatienten wahrscheinlich von einem intensivierten Monitoring, eskalierten Supportivmaßnahmen und sogar einer antibakteriellen Prophylaxe profitieren, könnte das Einsparen von Antibiotika in Niedrigrisiko-Kandidaten in prospektiven Studien untersucht werden. Diese könnte zu einer Reduktion der Antibiotika Exposition führen, was im Kontext der multifunktionalen und immunomodulatorischen Rolle des Mikrobioms im Kontext der CAR T-Zelltherapie von Vorteil sein könnte.<sup>32</sup>

**REJESKI & DOS SANTOS *et al.* in Cancer Immunology Research, 2023:**

Neben den Lymphom-bezogenen Faktoren (z.B. Tumorgenetik, inflammatorisches Tumor-Mikromilieu) und CAR T-Zell-assoziierten Faktoren (z.B. Expansion und Persistenz), unterstreichen neuere Forschungsergebnisse die Bedeutung von Patienten-bezogenen Faktoren für den Erfolg der CAR T-Zelltherapie. In dieser retrospektiven Studie von 106 refraktären LBCL-Patienten wurde der Einfluss von immunometabolischen „Host“-Faktoren (z.B. BMI, Ernährungsstatus) sowie detaillierten *body composition* Analysen auf das Therapieansprechen analysiert.<sup>33</sup> Dafür erfolgte die präzise Charakterisierung der patientenindividuellen *body composition* basierend auf prä-therapeutischen (<sup>18</sup>FDG PET)/CT Bildgebungen durch die Messung von Volumetrien des Fett- & Muskelgewebes auf Höhe von L3 (*Abbildung 8a*). Zudem wurden vor Therapiebeginn sogenannte immuno-nutritional scores wie der *Glasgow Prognostic Score* (GPS) oder der *Prognostic Nutritional Index* (PNI) erfasst. Patienten mit einem frühen Ansprechen (Tag 90 Responder) hatten im Vergleich zu Non-Respondern einen höheren abdominalen Gesamtfettanteil (TAT: 336 vs. 266 mm<sup>3</sup>,  $P = 0.008$ ) und vorteilhafte immuno-nutritional scores. In der univariaten Cox Regressionsanalyse waren die viszerale Fettverteilung, die Sarkopenie und mehrere Ernährungs-Indizes signifikant mit dem Progressions-freien (PFS) und Gesamtüberleben (OS) assoziiert. So hatten Patienten mit einem niedrigen „skeletal muscle index“ (e.g. SMI < 34.5), ein Indikator der Sarkopenie, besonders schlechte Langzeitergebnisse (mOS 3.0 vs. 17.6 months, logrank  $p = 0.0026$ ). Auch

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 8* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

**REJESKI K\***, CORDAS DOS SANTOS D\*, PARKER NH, BÜCKLEIN V, WINKELMANN M, JHAVERI K, LIU L, TRINKNER P, GÜNTHER S, KARSCHNIA P, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, KUNZ W, BERGWELT M, JAIN M, THEURICH S, SUBKLEWE M. Influence of adipose tissue distribution, sarcopenia and nutritional status on clinical outcomes after CD19 CAR T-cell therapy. *Cancer Immunol Res.* 2023 Apr 11; CIR-22-0487.

**Abbildung 8:** Einfluss des viszeralen Fettanteils und der Sarkopenie auf das Therapieansprechen nach CD19-gerichteter CAR T-Zelltherapie. **A:** Überblick des Studiendesigns und der Erfassung der patientenindividuellen Volumetrien für Fett- & Muskelgewebe basierend auf (PET) CT Bildern vor Therapiebeginn auf der Höhe von L3. Neben diesen Volumetrien wurde der Einfluss von immuno-nutritional scores (z.B. Glasgow Prognostic Score: GPS, Prognostic Nutritional Index: PNI) und anthropometrischen Faktoren (z.B. BMI) auf das Ansprechen und langfristig Überleben nach CD19-gerichteter CAR T-Zelltherapie in einer bizenitrischen Kohorte von 106 LBCL Patienten ausgewertet. **B:** Das Progressions-freie (PFS, links) und Gesamtüberleben (OS, rechts) ist in den Patienten mit hohem abdominellen Fettanteil (Total Abdominal Tissue: TAT<sup>high</sup>) und hoher Muskelmasse (skeletal muscle index: SMI<sup>high</sup>) verbessert (grüne Kurven). Kachektische Patienten mit niedrigem Fettanteil und geringer Muskelmasse (TAT<sup>low</sup> SMI<sup>low</sup>, rote Kurven) zeigen hingegen signifikant schlechtere Therapieergebnisse. Rejeski & Dos Santos et al. in *Cancer Immunology Research*, 2023, in press.

Patienten mit prognostisch ungünstigen immuno-nutritional scores hatten ein schlechteres Gesamtüberleben (low PNI, HR<sub>OS</sub>: 6.31, 95% CI 3.35-11.90, P<0.001). In der adjustierten multivariaten Cox Regressionsanalyse war TAT unabhängig von den etablierten Risikofaktoren ECOG, CRP und LDH mit verbesserten Therapieergebnissen assoziiert (adjustierter HR<sub>OS</sub>: 0.27, 95% CI 0.08-0.90, P=0.03). Dabei zeigten insbesondere CAR-T Patienten mit hohem abdominellen Fettanteil und hoher Muskelmasse (TAT<sup>high</sup> SMI<sup>high</sup>) sehr gute Langzeitergebnisse (1-Jahres PFS 50%, 1-Jahres OS 83%; *Abbildung 8b*). Kachektische Patienten mit wenig Fettanteil und geringer Muskelmasse hatten hingegen ein signifikant schlechteres Überleben. Zusammenfassend untermauern diese Real-World Daten die Bedeutung von Host-Faktoren wie *body composition* und Ernährungsstatus im Kontext der

CAR T-Zelltherapie bei B-NHL Patienten. Diese Studie suggeriert, dass das „Obesity Paradoxon“<sup>34</sup> nicht nur für die Checkpoint-Inhibitor Therapie gilt, sondern auch für moderne T-Zell-basierte Immuntherapien.

KARSCHNIA & REJESKI et al. in Neurology, 2022:

Sekundäre ZNS-Beteiligungen von systemischen B-Zell Lymphomen (SCNSL) stellen eine therapeutische Herausforderung dar und sind mit schlechten Überlebensraten assoziiert. Aufgrund der theoretischen Möglichkeit einer ausgeprägten Neurotoxizität wurden SCNSL-Patienten in den Zulassungsstudien der CD19 CAR T-Zelltherapie ausgeschlossen. In diesem interdisziplinären Habilitationsprojekt wurden alle Patienten mit ZNS-Befall zum Zeitpunkt der CAR T-Zell Infusion, welche am Klinikum der Universität München behandelt worden sind, hinsichtlich (Neuro-)Toxizität und dem klinischen Ansprechen evaluiert.<sup>35</sup> Dabei wurden 7 Patienten mit intraparenchymaler und 3 Patienten mit leptomeningealer Beteiligung identifiziert. Neurotoxische Nebenwirkungen waren zwar häufig (etwa 60%), verliefen jedoch meist transient (wenige Tage) und mild ( $\leq$ ASTCT Grad 3). Somit war das Sicherheitsprofil insgesamt vergleichbar mit anderen Real-World Kohorten ohne ZNS-Beteiligung. Im ZNS-spezifischen Staging nach einem Monat wurde eine beeindruckende Ansprechrate von 70% erfasst, wobei einzelne Patienten auch langanhaltende vollständige Remission aufwiesen (*Abbildung 9a*). Dabei korrelierte das Ansprechen der ZNS-Manifestationen mit dem Ansprechen der systemischen Erkrankung (*Abbildung 9b*). Dementsprechend beobachteten wir in drei Langzeitansprechern auch langfristige Remissionen des ZNS-Befalls. Diese Daten unterstreichen, dass CAR T-Zellen beträchtliche anti-tumor Effekte im ZNS erreichen können und suggerieren eine Passage der Bluthirnschranke durch die modifizierten T-Zellen. CD19-gerichtete CAR T-Zellen stellen somit einen vielversprechenden Therapieansatz in der Behandlung von primären und sekundären ZNS-Lymphomen dar. Prospektive Studien zu CAR T-Zellen in dieser Indikation laufen aktuell an (z.B. CAROUSEL-Studie, NCT04443829).

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 9* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

KARSCHNIA P\*, **REJESKI K\***, WINKELMANN M, SCHÖBERL F, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, BLOBNER J, BERGWELT M, TONN JC, KUNZ W, SUBKLEWE M, VON BAUMGARTEN L. Toxicities and response rates of secondary CNS lymphoma after adoptive immunotherapy with CD19-directed CAR T-cells. *Neurology*, 2022 May 24;98(21):884-889.

**Abbildung 9:** CAR T-Zellen als neuer Therapieansatz in der Behandlung von sekundären ZNS-Lymphomen (SCNSL). **A:** Partielle Remission eines SCNSL in rechts temporaler Lokalisation (Pfeil: Kontrastmittel-gewichtete T1-Sequenzen jeweils links) nach der Infusion mit CAR T-Zellen. Auch das Tumor-bedingte vasogene Ödem (FLAIR-gewichtete Sequenzen jeweils rechts) zeigt sich nach Behandlung deutlich regredient. **B:** Das ZNS-spezifische Ansprechen reflektiert das systemische Ansprechen und deutet somit die Transmigration von CAR T-Zellen in das ZNS an. Karschnia & Rejeski et al. in Neurology, 2022.

PHILIPP... **REJESKI**...*et al.* in Blood, 2022:

Auch wenn T-Zell rekrutierende bispezifische monoklonale Antikörper (BsMAb) einen vielversprechenden Ansatz in der Behandlung von hämatologischen Malignitäten darstellen, sind Resistenzmechanismen und Rezidive eine große klinische Herausforderung. Die persistierende Antigenstimulation und konsekutiv chronisch-aktivierte Signaltransduktion (*tonic signalling*) kann zu einer Induktion von T-Zell *Exhaustion* führen. Dabei war der Einfluss einer kontinuierlichen Exposition von BsMAb auf die T-Zell Funktion nur unvollständig verstanden. In der dargestellten Arbeit wurde zunächst die Auswirkung einer kontinuierlichen Gabe des CD19xCD3 BsMAb Blinatumomab in sequentiellen Proben von Patienten mit R/R BCP-ALL analysiert, wobei sich eine mit der Zeit abnehmende T-Zellfunktion fand.<sup>36</sup> In einem

*in vitro* Modell der kontinuierlichen BsMAb-Gabe wurden typische Kennzeichen der T-Zell *Exhaustion* rekapituliert wie etwa eine Abnahme der *ex vivo* Zytotoxizität und Zytokinsekretion (z.B. *IFN-γ*, *TNF*, *IL-2*) sowie eine Hochregulation der inhibitorischen Rezeptoren PD-1, Tim-3 und LAG-3. Andererseits konnten sogenannte Treatment-free intervals (TFIs), einen solchen *Exhaustion* Phänotypen konterkarieren. TFIs führten zu einer funktionalen Wiederbelebung der endogenen T-Zellpopulationen (TFI-spezifische vs.

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 10* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

PHILIPP N, KAZERANI M, NICHOLLS A, VICK B, WULF J, STRAUB T, SCHEURER M, MUTH A, HÄNEL G, NIXDORF D, SPONHEIMER M, OHLMEYER M, LACHER S, BRAUCHLE B, MARCINEK A, ROHRBACHER L, LEUTBACHER A, **REJESKI K**, WEIGERT O, BERGWELT M, THEURICH S, KISCHEL R, JEREMIAS I, BÜCKLEIN V, SUBKLEWE M. T-cell exhaustion induced by continuous bispecific molecule exposure is ameliorated by treatment-free intervals. *Blood* 2022 Sep 8;140(10):1104-1118.

**Abbildung 10:** *Behandlungs-freie Intervalle (sog. Treatment-free intervals = TFI) mit BsMAbs führen im Vergleich zur kontinuierlichen Exposition zu einer transkriptionalen Reprogrammierung und einer Funktionsverbesserung von endogenen T-Zell Populationen. Philipp et al. in Blood, 2022.*

kontinuierliche Lyse der Zielzellen an Tag 14: 93% vs. 35%,  $P < 0.001$ ) und zu einer entsprechenden transkriptionalen Reprogrammierung mit einer Hochregulierung von  $T_{\text{memory}}$  assoziierten Gensignaturen (z.B. *IL7R*, *TCF7*) und herabregulierten Zellzyklus- (z.B. *CCNB1* und *CDK1*) und Aktivierungs-Genen (z.B. *IL2RA*). Auffällig war zudem die Anreicherung von pathways der oxidativen Phosphorylierung sowie eine höhere glykolytische Aktivität in den TFI-Zellen – beides wichtige Voraussetzungen von hochaktiven und funktionalen T-Zellen (*Abbildung 10*). Darüber hinaus konnte die anti-leukämische Wirkung von TFIs in einem *in vivo* PDX-ALL Modell mit NSG Mäusen bestätigt werden. Hier zeigte sich eine vermehrte T-Zell Expansion und eine verbesserte Erkrankungskontrolle. Insgesamt zeigen diese Daten, dass die Wirksamkeit von T-Zell basierten Immuntherapien durch kontinuierliche Antigenstimulation eingeschränkt wird. TFIs könnten diesen Mechanismus entgegenwirken und somit die anti-leukämische Wirkung von BsMAbs potenzieren.

#### 4. Zusammenfassung des Habilitationsantrags

In der vorliegenden kumulativen Habilitation wurden experimentelle, translationale und klinische Ansätze angewandt, um das Nebenwirkungsspektrum und die Determinanten des Therapieansprechens nach T-Zell basierten Immuntherapien näher zu beleuchten.

Im Rahmen des **Teilprojekts I** wurde das Nebenwirkungsprofil von modernen Zelltherapien pathophysiologisch erörtert. Dabei konnte die hämatopoetische Reserve und die systemische Inflammation vor Therapiebeginn als treibende Kraft für die Entwicklung von prolongierten Zytopenien nach CAR T-Zelltherapie identifiziert werden und es wurden drei typische Phänotypen der hämatopoetischen Rekonstitution definiert. Die etablierten Risikofaktoren konnten in ein diskriminatorisches Risikomodell (*CAR-HEMATOTOX*) kombiniert werden, welches sich zur Risikoeinschätzung der Hämatotoxizität eignet. Durch multimodale experimentelle Ansätze auf Einzelzellebene, konnte die oligoklonale (CAR) T-Zell Expansion als ein potentiell ursächlicher Mechanismus beschrieben werden. Die Basiswahrscheinlichkeit für eine protrahierte Neutropenie kann durch den CAR-HEMATOTOX mit Serum-PCT Spiegeln am Tag des ersten Fiebers nach CAR T-Zell Infusion integriert werden, um schwere Infekte frühzeitig im Kontext des CRS zu erkennen (HT10 Score). In Serumproteom-Analysen konnte die systemische Immundysregulation und progrediente endotheliale Dysfunktion als wichtiger Risikofaktor für die Entwicklung von schweren Infekt komplikationen identifiziert werden. Außerdem wurden detaillierte radiomische Analysen (*Body Composition*) durchgeführt, welche eine Verbindung zwischen dem metabolisch aktiven viszeralen Fettgewebe und der Schwere des Cytokine Release Syndroms herstellten, wobei IL-6 eine Schlüsselrolle zukommt. Schließlich konnte mit dem Serummarker *NfL* (Neurofilament light chain) ein neuer prädiktiver Biomarker des ICANS identifiziert werden, welcher die Bedeutung des neuroaxonalen Schadens bereits vor Therapiebeginn aber auch während der Neurotoxizität unterstreicht.

Gleichzeitig bietet das einzigartige Immuntoxizitätsprofil von T-Zell basierten Immuntherapien auch mannigfaltige Einblicke in die zellbiologischen Prozesse und Interaktionen zwischen Tumor, Immunsystem und körpereigenen Zellen, welche in **Teilprojekt II** genauer untersucht wurden. Es konnte eine negative Assoziation zwischen Infekt komplikationen und PFS/OS nach der CAR T-Zelltherapie beschrieben werden. Der prätherapeutische *CAR-HEMATOTOX* score war mit schweren Infekten und schlechten klinischen Ansprechen assoziiert und eignet sich daher zur frühen Risikostratifizierung bzw. als Grundlage für risikoadaptierte Therapiestrategien. Interessanterweise wurde beobachtet, dass Patienten mit hohem viszeralen Fettanteil und höherer Muskelmasse bessere Therapieergebnisse nach der CAR T-Zelltherapie erzielen, während kachektische Patienten weniger von der Zelltherapie

profitieren. Die Anwendung von CAR T-Zellen für das sekundäre ZNS-Lymphom war insgesamt mit einem akzeptablen Sicherheitsprofil vergesellschaftet, wobei das ZNS-spezifische und systemische Ansprechen Hand in Hand gingen. Im Kontext der BsMAB-Therapie konnte die positive Auswirkung von Behandlungsfreien Intervallen für die Vermeidung von T-Zell Exhaustion und der funktionalen Wiederbelebung und transkriptionalen Reprogrammierung von endogenen T-Zellpopulationen dargestellt werden. Insgesamt liefert das skizzierte Habilitationsprojekt mittels multimodaler Ansätze einen Beitrag zum vertieften Verständnis von immuntoxischen Nebenwirkungen und deren Assoziation mit klinischem Ansprechen nach T-Zell basierter Immuntherapie in hämatologischen Neoplasien.

## 5. Diskussion

### 5.1 Klinischer Verlauf, Risikomodelle und Pathomechanismen der CAR T-Zell assoziierten Immuntoxizität

Moderne T-Zell basierte Immuntherapien sind durch ein neuartiges Nebenwirkungsspektrum charakterisiert (z.B. CRS und ICANS). Trotzdem finden sich auch gewisse „alte Bekannte“ der klassischen Chemotherapie wie etwa die hämatologische Toxizität und die assoziierten Infektkomplikationen. Dabei kann das schwere CRS als ein inflammatorischer Stressor für die Entwicklung von schweren Zytopenien wirken.<sup>37</sup> So waren hohe systemische IL-6 Spiegel mit einer verzögerten Neutrophilen-Regeneration assoziiert.<sup>38</sup> Diese Daten unterstützen die Hypothese, dass zirkulierende Zytokine (z.B. Interferon- $\gamma$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ) direkt im Knochenmark eine myelosuppressive Wirkung entfalten.<sup>39</sup> Ähnliche Pathomechanismen spielen sich etwa auch im Rahmen der sekundären HLH/MAS oder beim septischen Schock ab.<sup>40-42</sup> Dabei könnten Patienten mit einer angeschlagenen hämatopoetischen Reserve besonders sensibel auf Veränderungen des inflammatorischen Mikromilieus im Knochenmark reagieren. Interleukin-vermittelte Signalkaskaden modulieren nämlich die Reifung von hämatopoetischen Stammzellen und Interferon- $\gamma$  spielt eine Schlüsselrolle beim Stammzell *Cycling*.<sup>43, 44</sup> Neben diesen Zytokin-vermittelten Prozessen suggerieren die Einzelzell-Experimente, dass auch endogene T-Zellpopulationen myelosuppressive Effekte entfalten können.<sup>14</sup> In Zukunft könnten transgene und humanisierte Mausmodelle weitere mechanistische Erkenntnisse über die CAR T-Zell assoziierte Hämatotoxizität liefern. Dabei ist die Rolle von endogenen Immunzellen wie etwa Makrophagen und regulatorischen T-Zellen und deren Interaktion mit hämatopoetischen Stamm- & Progenitorzellen und eventuell sogar den CAR T-Zellen selbst von großem Interesse. Therapeutisch wird zunehmend die frühere Applikation des Wachstumsfaktors G-CSF für die CAR T-Zell assoziierte Hämatotoxizität erprobt. Die G-CSF Gabe an Tag +2 reduzierte die febrile Neutropenie-Rate, hatte jedoch keinen negativen Effekt

auf die CAR T-Zellexpansion oder die Inzidenz von anderen Nebenwirkungen.<sup>32</sup> In G-CSF-refraktären Fällen kommen TPO-Agonisten, autologe Stammzellboosts (wenn vorhanden) und als ultima ratio die allogene Stammzelltransplantation zum Einsatz.<sup>13, 45</sup>

Die dynamische Risikomodellierung wie sie hier für den HT10 score und der Entwicklung von schweren Infekten beschrieben wurde, integriert eine Basiswahrscheinlichkeit für ein Ereignis mit der dynamischen Veränderung eines gängigen Markers wie Serum-PCT.<sup>16</sup> Damit konnten zum Zeitpunkt des ersten Fiebers sehr präzise CAR-T Patienten identifiziert werden, die schwere Infekte entwickelten. Nur in sehr wenigen Ausnahmefällen wurden hingegen schwere Infekte in den Niedrigrisikokandidaten beobachtet. Durch die Hinzunahme von weiteren Serummarkern wie etwa IL-8, IL1 $\beta$  oder IFN- $\gamma$  könnte die Diskriminationskapazität für schwere Infekte noch weiter erhöht werden.<sup>46, 47</sup> Dies ist wichtig, da die große Mehrheit der CAR-T Patienten in den ersten 10 Tagen Fieber entwickeln und dieses sich meistens in der Neutropenie-Phase ereignet. Entsprechend erhalten fast alle CAR-T Patienten Breitspektrum-Antibiotika wie Piperacillin/Tazobactam oder Meropenem, obwohl diese nachweislich im Kontext der CAR T-Zelltherapie einen negativen Effekt auf die immunmodulatorische Darmflora haben.<sup>32</sup> Die durchgeführten Serumproteomanalysen suggerieren außerdem, dass Patienten mit schweren Infekten schon vor Therapiebeginn eine ausgeprägte Immundysregulation und endotheliale Dysfunktion aufwiesen. Die erhöhte endotheliale Permeabilität könnte zusammen mit der Herunterregulation von Endothel-assoziierten antioxidativen Abwehrmechanismen und dem sogenannten *glycocalyx shedding*, die Infektanfälligkeit begünstigen.<sup>48</sup> In Reaktion auf die mikrobielle Exposition, beobachteten wir hohe Serumspiegel der Regulatorproteine des angeborenen Immunsystems wie *CXC3L1*, *CCL20* und *CXCL13* in den Patienten mit schweren post-CAR-T Infekten.<sup>49</sup> Die externe Validierung des HT10 scores an 4 weiteren internationalen CAR-T Zentren lädt nun die weitere prospektive Validierung des scores zum Zeitpunkt des ersten Fiebers ein. Dabei bleibt offen, ob die niedrigen Infektraten auch beobachtet werden, wenn die CAR-T Patienten nicht eine prophylaktische oder prä-emptive antibiotische Therapie erhalten.

Das CRS repräsentiert eine der häufigsten Nebenwirkungen von T-Zell basierten Immuntherapien und wird durch die Aktivierung von T-Zellen und der konsekutiven Ausschüttung von pro-inflammatorischen Zytokinen (insbesondere IFN- $\gamma$  und TNF) in die Zirkulation verursacht. Die immunologische Kaskade wird zudem von endogenen T-Zellen und Bystander-Zellen (z.B. Endothelzellen, Monozyten und Makrophagen) aufrechterhalten.<sup>10</sup> Die klinischen Symptome korrelieren eng mit dem Ausmaß der *in vivo* CAR T-Zellexpansion und dem frühen Anstieg von Entzündungsmarkern im peripheren Blut. Neben den vorbekannten CAR T-Zell assoziierten Risikofaktoren (z.B. CAR T-Zelldosis, CD28z ko-stimulatorische

Domäne) konnte mit einem erhöhten Anteil des viszeralen adipösen Fetts ein neuer Patientenbezogener Risikofaktor für schwerwiegendes CRS identifiziert werden. Diese Ergebnisse sind gut mit dem bekannten Modell der *Metaflammation* („metabolische Inflammation“) vereinbar, in dem Makrophagen und CD8+ T-Zellen das Fettgewebe infiltrieren und in ein inflammatorisches endokrines Organ verwandeln, welches dann zur Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-6, TNF- $\alpha$  und IL1 $\beta$  führt.<sup>50</sup> Dieses Modell ist bereits für mehrere chronische Inflammationssyndrome wie Typ II Diabetes Mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen validiert, wobei insbesondere das viszerale adipöse Fett eine immunogene Wirkung hat.<sup>51, 52</sup> Tatsächlich wurden deutlich höhere IL-6 Spiegel in CAR T-Zell Patienten mit vermehrten viszeralen Fettdepots beobachtet, gut vereinbar mit einer Sekretion von IL-6 durch Adipozyten und Fettgewebsmakrophagen.<sup>53</sup> Wichtige Limitationen dieser Studie sind das monozentrische Design sowie die geringe Anzahl der schwer-adipösen Patienten (WHO Grad  $\geq 1$ ) in der Kohorte. Trotzdem liefern diese *proof-of-concept* Ergebnisse eine potentielle Hypothese für das verbesserte PFS und OS in CAR-T Patienten mit hohem viszeralen Fettanteil,<sup>33</sup> da die immunogenen Adipozyten und Makrophagen im Fettgewebe einen positiven Verstärkungsmechanismus für die CAR T-Zellexpansion und -persistenz darstellen könnten. Zusammengefasst unterstreichen diese Daten die Bedeutung der *body composition* als wichtiger Hostfaktor im Kontext der CAR T-Zelltherapie. Die Integration in existierende CRS-Risikomodelle wie dem EASIX score,<sup>18, 54</sup> könnte die individuelle Prädiktion dieser Nebenwirkung verbessern.

Die neurologischen Nebenwirkungen von T-Zell basierten Immuntherapien sind klinisch variabel und heterogen. In der Maximalform kann das ICANS zu schweren epileptischen Anfällen und zu dem verheerenden und oft fatalen Hirnödem folgen.<sup>55</sup> Die von den Immuneffektorzellen verursachte systemische Hyperinflammation induziert sowohl die Neuroinflammation als auch die Dysfunktion der Bluthirn-Schranke mit konsekutiv erhöhter Permeabilität.<sup>56, 57</sup> Die Identifikation des zirkulierenden Neurofilaments als prädiktiver Marker des ICANS unterstreicht zudem die Rolle der neuroaxonalen Integrität bereits vor Therapiebeginn.<sup>19</sup> Die kumulative Dosierung der neurotoxischen Vortherapien könnte durch die Verletzung der neuroaxonalen Integrität dazu beitragen, dass Patienten ICANS entwickeln. Dabei bleibt offen, ob die Gabe von CAR T-Zellen in früheren Therapielinien diesen Mechanismus nivellieren kann.<sup>58</sup> Patienten mit hohen prätherapeutischen Serum-NfL Spiegeln könnten von eskalierten Supportivmaßnahmen und einer engmaschigeren neurologischen Überwachung profitieren.



## 5.2 Einfluss der Immuntoxizität und andere Determinanten des klinischen Ansprechens auf T-Zell basierte Immuntherapien

Trotz der bemerkenswerten Fortschritte für T-Zell basierte Immuntherapien bei refraktären B-Zell Malignitäten, entwickeln mehr als 50% der Patienten primäre Resistenzmechanismen oder rezidivieren. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind vielschichtig und umfassen tumor-intrinsische Faktoren (z.B. molekulare Veränderungen wie TP53 Mutationen<sup>59</sup> oder komplexe chromosomale Aberrationen<sup>60</sup>), ein immunsuppressives Tumormikromilieu (z.B. Tumor Interferon *Signalling* und suppressive myeloische Zellen<sup>61</sup>) und CAR T-Zell assoziierte Faktoren (z.B. schlechtes Effektor zu Target Ratio, wenige CCR7<sup>+</sup> CD45RA<sup>+</sup> T-Zellen im Apheresat<sup>62</sup>). Dabei scheinen etablierte Prognose-Faktoren wie die Serum LDH, das metabolische Tumervolumen (MTV) oder das Vorhandensein eines Tumor Bulks (>7.5 cm) auch im Kontext der CAR T-Zelltherapie von Bedeutung zu sein.<sup>63, 64</sup> Insbesondere das vom <sup>18</sup>FDG-PET/CT abgeleitete MTV bildet das metabolisch aktive (maligne) Tumorgewebe ab und kann die Risikoabschätzung für das Therapieansprechen verbessern. Ein wichtiges Beispiel ist der neu entwickelte *International Metabolic Prognostic Index* (IMPI),<sup>65</sup> welcher den klassischen IPI in der Prognostizierung übertraf und auch im Kontext der CD19 CAR T-Zelltherapie beim LBCL vielversprechend erscheint.<sup>66</sup> Die prognostische Wertigkeit des CAR-HEMATOTOX scores unterstreicht zusammen mit dem MTV den negativen Einfluss der systemischen Inflammation auf die CAR T-Zell Effektivität. In Zukunft könnten diese radiographischen und laborchemischen Marker zusätzlich mit nicht-invasiven Methoden wie die zirkulierende Tumor-DNA (ctDNA) kombiniert werden. Die ctDNA-Menge vor CAR T-Zelltherapie korrelierte mit erhöhter CAR-T Resistenz und kann zusätzlich wertvolle Informationen zur molekularen Zusammensetzung des Lymphoms liefern.<sup>67, 68</sup> Dynamische Risikomodelle nutzen zusätzlich die Veränderung der ctDNA über die Zeit ( $\Delta$ CAR-T zu Tag +7 oder Tag +30) und Informationen zur CAR T-Zellexpansion via cfDNA.<sup>68</sup>

Patienten mit primär refraktärer Grunderkrankung („Chemorefraktärität“) haben ein besonders schlechtes Therapieansprechen auf T-Zell basierten Immuntherapien. Dies gilt sowohl in der Erstlinie als auch unmittelbar vor der CAR T-Zelltherapie im Rahmen der sogenannten Bridging-Therapie.<sup>2, 63, 69, 70</sup> Auf der Zellebene widerspiegelt die Chemorefraktärität zugrundeliegende biologische Prozesse und vor allem die molekulare Zusammensetzung des Lymphoms. In diesem Zusammenhang betonen neue Studienergebnisse mittels whole-genome sequencing die Bedeutung von genetischen Faktoren als ein treibendes Element der CAR T-Zell Resistenz.<sup>60, 71</sup> Interessanterweise waren CD19 Mutationen nur selten mit Resistenz assoziiert. Andererseits waren komplexe strukturelle Aberrationen (z.B. double minutes, Chromothripsis), APOBEC Mutationssignaturen, die Deletion des RHOA Tumorsuppressors und genetische Schäden durch reaktive oxidative Spezies (ROS) mit

CD19 CAR-T Resistenz vergesellschaftet. Solche aggressiven genomischen Veränderungen werden oft auch durch ein pro-inflammatorisches Mikromilieu flankiert bzw. begünstigen dieses. Das Tumor Microenvironment (TME) stellt dabei eine wichtige Herausforderung für die Entfaltung der Lymphom-gerichteten Wirkung der CAR T-Zellen dar, da es das *trafficking* zum Tumor einschränken kann, negativ die metabolische Funktion der CAR T-Zellen beeinflusst und durch die immunsuppressive Wirkung die CAR T-Zell *Exhaustion* propagiert.<sup>72,73</sup> Wichtige Komponenten des TMEs sind dabei Osteoklasten, Fibroblasten, Endothelzellen, Tumor-assoziierte Makrophagen (TAMs, besonders M2 Makrophagen), myeloide Suppressorzellen (MDSCs) und regulatorische T-Zellen (T<sub>regs</sub>).<sup>74</sup> Das immunsuppressive TME korreliert mit den Serummarkern CRP und Ferritin, was deren prognostische Bedeutung erklärt.<sup>61</sup>

Neben diesen beschriebenen tumor-intrinsischen und CAR T-Zell-assoziierten Determinanten des klinischen Ansprechens auf T-Zell basierte Immuntherapien betonen die Ergebnisse dieser Habilitation insbesondere auch die Rolle von Hostfaktoren wie etwa die patientenindividuelle Verteilung des Fett- & Muskelgewebes. Diese Daten unterstreichen die Bedeutung der körperlichen Fitness und des Allgemeinzustandes (ECOG, KPS) vor Therapiebeginn, welche sich besonders auf das langfristige Überleben (OS) auswirken.<sup>2, 75</sup> Ein weiteres prominentes Beispiel eines Hostfaktors ist die Rolle des intakten Darm-Mikrobioms vor und während der CAR T-Zelltherapie.<sup>32</sup> Schließlich ist die hämatopoetische Funktion und Knochenmarkreserve des Patienten ein wichtiger Indikator für den Therapieerfolg, da Zytopenien eine zugrundeliegende KM-Infiltration abbilden können und auch mit anderen risikoreichen biologischen Krankheitsmerkmalen assoziiert sind.<sup>29-31</sup> Darüber hinaus können die drei in dieser Habilitation beschriebenen Phänotypen der Neutrophilen-Regeneration (quick [“Q”] vs. intermittent recovery [“I”] vs. aplastic [“A”]) nun angewandt werden, um den Zusammenhang zwischen hämatopoetischer Rekonstitution und CAR T-Zellansprechen zu verstehen. In einer multizentrischen Folgestudie (n=344, LBCL)

Aufgrund bestehender Urheberrechtsrestriktionen kann *Abbildung 11* der Originalpublikation nicht abgedruckt werden und es wird auf folgende Originalpublikation verwiesen:

**REJESKI K**, PEREZ A, IACOBONI G, BUECKLEIN VL, BLUMENBERG V, VOELKL S, PENACK O, ALBANYAN O, FORSBERG S, PETRERA A, MUELLER N, REID KM, FARAMAND R, DAVILA ML, BERGWELT M, LOCKE FL, BETHGE W, BULLINGER L, MACKENSEN A, BARBA P, JAIN M, SUBKLEWE M (2022). Biphaseic Neutrophil Recovery after CD19 CART in R/R LBCL Is Associated with Superior PFS/OS, Robust CAR T-Cell Expansion in Relation to Baseline Tumor Volume, and a Decrease of Systemic Inflammation over Time. *Blood* **140**(Supplement 1): 4549-4551.

**Abbildung 11:** Biphaseische Neutrophilen-Regeneration nach CD19-gerichteter CAR T-Zelltherapie ist mit exzellentem Überleben und robuster CAR T-Zell Expansion assoziiert. **A:** Kaplan-Meier Kurven für PFS je nach Phänotyp der Neutrophilen-Regeneration (grün: physiologisch; gelb: biphasischer Verlauf; rot: aplastischer Verlauf). **B:** Absolute CD3<sup>+</sup> CAR<sup>+</sup> T-Zell Expansion in den ersten 120 Tagen nach CAR-T je nach Phänotyp der Neutrophilen-Regeneration. Dargestellt ist die area under the curve AUC der Expansionskurve. Rejeski et al. auf der ASH Jahrestagung 2022 und unpubliziert.

zeigten die Patienten mit rekurrenten Neutrophilen-Abfällen („intermittent“ Phänotyp) ein signifikant verlängertes PFS und OS im Vergleich zu den Patienten mit rascher oder aplastischer Regeneration (*Abbildung 11a*, A vs. I vs. Q: medianes PFS 3 vs. 20 vs. 4 Monate;  $P < 0.0001$ ). Die biphasische Neutrophilen-Regeneration war mit erhöhter Expansion und Persistenz von CAR T-Zellen assoziiert, während aplastische Verläufe mit einem ungünstigen Verhältnis von Effektorzellen zur Tumorlast charakterisiert waren (*Abbildung 11b*). Diese Daten zeigen, dass die Hämatotoxizität wichtige qualitative Unterschiede aufweist, welche sich differentiell auf das Überleben nach CAR-T auswirken. In der Tat könnte die Hämatotoxizität dabei indirekt die CAR T-Zell Funktion und Effektivität abbilden.

### 5.3 Ausblick

Ein tiefgründiges Verständnis der pathophysiologischen Zusammenhänge der CAR T-Zell assoziierten Toxizität stellt den Grundstein für die Entwicklung von neuartigen Therapien dar, welche Symptome lindern ohne die Effektivität der CAR T-Zellen einzuschränken. Insbesondere die systemische Inflammation vor Therapiebeginn treibt maßgeblich das Risiko für schwere Toxizitätsereignisse und könnte therapeutisch durch anti-inflammatorische Therapien oder durch CAR-Rezeptor Design und dem Einbringen von sogenannten „off-switches“ moduliert werden.<sup>76</sup> Durch die Entwicklung (auch in Europa), dass T-Zell basierte Immuntherapien zunehmend auf Normalstationen oder sogar im ambulanten Bereich appliziert werden,<sup>77</sup> rückt die Patientensicherheit und die patientenindividuelle Prädiktion von Nebenwirkungen immer mehr in den Vordergrund. In diesem Zusammenhang steht der CAR-HEMATOTOX score nun als Online-Rechner auf der Website der German Lymphoma Alliance zur Verfügung: <https://www.german-lymphoma-alliance.de/Scores.html>. Dadurch kann der score breit angewandt werden und für verschiedene Krankheitsentitäten validiert werden (z.B. MCL, MM). In prospektiven Studien können nun risikoadaptierte Therapiestrategien für die anti-infektive Prophylaxe und für die Gabe von G-CSF erprobt werden. Solche individualisierten Studienkonzepte zielen darauf bei Hochrisikokandidaten schwerwiegende Nebenwirkungen zu vermeiden und gleichzeitig bei Niedrigrisiko-Patienten potentiell schädliche Supportivstrategien einzusparen. Die in dieser Habilitation gewonnenen Erkenntnisse zur prognostischen Bedeutung von Hostfaktoren wie etwa der hämatopoetischen Funktion, der *body composition* und dem Ernährungsstatus rücken zudem den Patienten wieder in den Vordergrund. Zum Verständnis von Resistenz und auch dem Erfolg von T-Zell basierten Immuntherapien in hämatologischen Neoplasien ist es daher von kritischer Bedeutung die Interaktion von Tumor, CAR T-Zellen und dem Patienten als mehr als die Summe der Einzelteile zu verstehen.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Hutchings M, Morschhauser F, Iacoboni G, et al. Glofitamab, a Novel, Bivalent CD20-Targeting T-Cell-Engaging Bispecific Antibody, Induces Durable Complete Remissions in Relapsed or Refractory B-Cell Lymphoma: A Phase I Trial. *J Clin Oncol* 2021;39:1959-1970.
2. Bethge WA, Martus P, Schmitt M, et al. GLA/DRST real-world outcome analysis of CAR-T cell therapies for large B-cell lymphoma in Germany. *Blood* 2022.
3. Locke FL, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene Ciloleucel as Second-Line Therapy for Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 2022;386:640-654.
4. Wang M, Munoz J, Goy A, et al. KTE-X19 CAR T-Cell Therapy in Relapsed or Refractory Mantle-Cell Lymphoma. *N Engl J Med* 2020;382:1331-1342.
5. June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy. *N Engl J Med* 2018;379:64-73.
6. Myers GD, Verneris MR, Goy A, Maziarz RT. Perspectives on outpatient administration of CAR-T cell therapy in aggressive B-cell lymphoma and acute lymphoblastic leukemia. *J Immunother Cancer* 2021;9.
7. Hill JA, Li D, Hay KA, et al. Infectious complications of CD19-targeted chimeric antigen receptor-modified T-cell immunotherapy. *Blood* 2018;131:121-130.
8. Nastoupil LJ, Jain MD, Feng L, et al. Standard-of-Care Axicabtagene Ciloleucel for Relapsed or Refractory Large B-Cell Lymphoma: Results From the US Lymphoma CAR T Consortium. *J Clin Oncol* 2020;38:3119-3128.
9. Spear P, Barber A, Rynda-Applé A, Sentman CL. Chimeric antigen receptor T cells shape myeloid cell function within the tumor microenvironment through IFN- $\gamma$  and GM-CSF. *J Immunol* 2012;188:6389-6398.
10. Shimabukuro-Vornhagen A, Godel P, Subklewe M, et al. Cytokine release syndrome. *J Immunother Cancer* 2018;6:56.
11. Fried S, Avigdor A, Bielewicz B, et al. Early and late hematologic toxicity following CD19 CAR-T cells. *Bone Marrow Transplant* 2019;54:1643-1650.
12. Rejeski K, Perez Perez A, Sesques P, et al. CAR-HEMATOTOX: A model for CAR T-cell related hematological toxicity in relapsed/refractory large B-cell lymphoma. *Blood* 2021.
13. Rejeski K, Burchert A, Iacoboni G, et al. Safety and feasibility of stem cell boost as a salvage therapy for severe hematotoxicity after CD19 CAR T-cell therapy. *Blood Adv* 2022;6:4719-4725.
14. Rejeski K, Wu Z, Blumenberg V, et al. Oligoclonal T-cell expansion in a patient with bone marrow failure after CD19 CAR-T for Richter transformed DLBCL. *Blood* 2022.
15. Feng X, Scheinberg P, Wu CO, et al. Cytokine signature profiles in acquired aplastic anemia and myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2011;96:602-606.
16. Rejeski K, Blumenberg V, Forsberg SK, et al. Distinguishing Early Infections from CRS with Routine and Exploratory Serum Proteomics and the HT10 Score Following CD19 CAR-T for Relapsed/Refractory B-NHL. *Blood* 2022;140:7421-7422.
17. Dos Santos DMC, Rejeski K, Winkelmann M, et al. Increased visceral fat distribution and body composition impact cytokine release syndrome onset and severity after CD19 chimeric antigen receptor T-cell therapy in advanced B-cell malignancies. *Haematologica* 2022;107:2096-2107.

18. Greenbaum U, Strati P, Saliba RM, et al. CRP and ferritin in addition to the EASIX score predict CAR-T-related toxicity. *Blood Adv* 2021;5:2799-2806.
19. Schoeberl F, Tiedt S, Schmitt A, et al. Neurofilament light chain serum levels correlate with the severity of neurotoxicity after CAR T-cell treatment. *Blood Adv* 2022;6:3022-3026.
20. Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, et al. Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood* 2012;119:2141-2148.
21. Kanda Y, Izutsu K, Hirai H, et al. Effect of graft-versus-host disease on the outcome of bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling donor using GVHD prophylaxis with cyclosporin A and methotrexate. *Leukemia* 2004;18:1013-1019.
22. Gratwohl A, Brand R, Apperley J, et al. Graft-versus-host disease and outcome in HLA-identical sibling transplantations for chronic myeloid leukemia. *Blood* 2002;100:3877-3886.
23. Eggermont AMM, Kicinski M, Blank CU, et al. Association Between Immune-Related Adverse Events and Recurrence-Free Survival Among Patients With Stage III Melanoma Randomized to Receive Pembrolizumab or Placebo: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2020;6:519-527.
24. Maher VE, Fernandes LL, Weinstock C, et al. Analysis of the Association Between Adverse Events and Outcome in Patients Receiving a Programmed Death Protein 1 or Programmed Death Ligand 1 Antibody. *J Clin Oncol* 2019;37:2730-2737.
25. Brammer JE, Braunstein Z, Katapadi A, et al. Early toxicity and clinical outcomes after chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy for lymphoma. *J Immunother Cancer* 2021;9.
26. Penack O, Peczynski C, Mohty M, et al. How much has allogeneic stem cell transplant-related mortality improved since the 1980s? A retrospective analysis from the EBMT. *Blood Adv* 2020;4:6283-6290.
27. Rejeski K, Kunz WG, Rudelius M, et al. Severe *Candida glabrata* pancolitis and fatal *Aspergillus fumigatus* pulmonary infection in the setting of bone marrow aplasia after CD19-directed CAR T-cell therapy - a case report. *BMC Infect Dis* 2021;21:121.
28. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J* 2021;11:69.
29. Rejeski K, Perez A, Iacoboni G, et al. The CAR-HEMATOTOX risk-stratifies patients for severe infections and disease progression after CD19 CAR-T in R/R LBCL. *J Immunother Cancer* 2022;10.
30. Rejeski K, Wang Y, Albanyan O, et al. The CAR-Hematotox Score Identifies Patients at High Risk for Hematological Toxicity, Infections and Poor Clinical Outcomes Following Brexucabtagene Autoleucel in Relapsed/Refractory Mantle Cell Lymphoma. *Blood* 2022;140:651-653.
31. Rejeski K, Hansen DK, Bansal R, et al. The CAR-Hematotox Score As a Prognostic Model of Toxicity and Response in Patients Receiving BCMA-Directed CAR-T for Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. *Blood* 2022;140:7506-7508.
32. Smith M, Dai A, Ghilardi G, et al. Gut microbiome correlates of response and toxicity following anti-CD19 CAR T cell therapy. *Nat Med* 2022;28:713-723.

33. Rejeski K, Cordas dos Santos DM, Trinkner P, et al. Body Composition and Immunonutritional Status Impact Survival Outcomes after CD19 CAR T-Cell Therapy. *Blood* 2022;140:10405-10406.
34. Lee DH, Giovannucci EL. The Obesity Paradox in Cancer: Epidemiologic Insights and Perspectives. *Curr Nutr Rep* 2019;8:175-181.
35. Karschnia P, Rejeski K, Winkelmann M, et al. Toxicities and Response Rates of Secondary CNS Lymphoma After Adoptive Immunotherapy With CD19-Directed Chimeric Antigen Receptor T Cells. *Neurology* 2022.
36. Philipp N, Kazerani M, Nicholls A, et al. T-cell exhaustion induced by continuous bispecific molecule exposure is ameliorated by treatment-free intervals. *Blood* 2022;140:1104-1118.
37. Jain T, Knezevic A, Pennisi M, et al. Hematopoietic recovery in patients receiving chimeric antigen receptor T-cell therapy for hematologic malignancies. *Blood Adv* 2020;4:3776-3787.
38. Juluri KR, Wu V, Voutsinas JM, et al. Severe cytokine release syndrome is associated with hematologic toxicity following CD19 CAR T-cell therapy. *Blood Adv* 2021.
39. Harmer D, Falank C, Reagan MR. Interleukin-6 Interweaves the Bone Marrow Microenvironment, Bone Loss, and Multiple Myeloma. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2018;9:788.
40. Rodriguez S, Chora A, Goumnerov B, et al. Dysfunctional expansion of hematopoietic stem cells and block of myeloid differentiation in lethal sepsis. *Blood* 2009;114:4064-4076.
41. Zhang H, Rodriguez S, Wang L, et al. Sepsis Induces Hematopoietic Stem Cell Exhaustion and Myelosuppression through Distinct Contributions of TRIF and MYD88. *Stem Cell Reports* 2016;6:940-956.
42. Sandler RD, Tattersall RS, Schoemans H, et al. Diagnosis and Management of Secondary HLH/MAS Following HSCT and CAR-T Cell Therapy in Adults; A Review of the Literature and a Survey of Practice Within EBMT Centres on Behalf of the Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) and Transplant Complications Working Party (TCWP). *Front Immunol* 2020;11:524.
43. Tie R, Li H, Cai S, et al. Interleukin-6 signaling regulates hematopoietic stem cell emergence. *Exp Mol Med* 2019;51:1-12.
44. de Bruin AM, Demirel O, Hooibrink B, Brandts CH, Nolte MA. Interferon-gamma impairs proliferation of hematopoietic stem cells in mice. *Blood* 2013;121:3578-3585.
45. Drillet G, Lhomme F, De Guibert S, Manson G, Houot R. Prolonged thrombocytopenia after CAR T-cell therapy: the role of thrombopoietin receptor agonists. *Blood Adv* 2023;7:537-540.
46. Diorio C, Shaw PA, Pequignot E, et al. Diagnostic biomarkers to differentiate sepsis from cytokine release syndrome in critically ill children. *Blood Adv* 2020;4:5174-5183.
47. Luo H, Wang N, Huang L, et al. Inflammatory signatures for quick diagnosis of life-threatening infection during the CAR T-cell therapy. *J Immunother Cancer* 2019;7:271.
48. Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. The Endothelium in Sepsis. *Shock* 2016;45:259-270.
49. Vilgelm AE, Richmond A. Chemokines Modulate Immune Surveillance in Tumorigenesis, Metastasis, and Response to Immunotherapy. *Front Immunol* 2019;10:333.
50. Ferrante AW, Jr. The immune cells in adipose tissue. *Diabetes Obes Metab* 2013;15 Suppl 3:34-38.

51. Ibrahim MM. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences. *Obes Rev* 2010;11:11-18.
52. Misra A, Vikram NK. Clinical and pathophysiological consequences of abdominal adiposity and abdominal adipose tissue depots. *Nutrition* 2003;19:457-466.
53. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW. Comparison of the release of adipokines by adipose tissue, adipose tissue matrix, and adipocytes from visceral and subcutaneous abdominal adipose tissues of obese humans. *Endocrinology* 2004;145:2273-2282.
54. Pennisi M, Sanchez-Escamilla M, Flynn JR, et al. Modified-EASIX predicts severe cytokine release syndrome and neurotoxicity after Chimeric Antigen Receptor (CAR) T cells. *Blood Adv* 2021.
55. Karschnia P, Jordan JT, Forst DA, et al. Clinical presentation, management, and biomarkers of neurotoxicity after adoptive immunotherapy with CAR T cells. *Blood* 2019;133:2212-2221.
56. Gust J, Hay KA, Hanafi LA, et al. Endothelial Activation and Blood-Brain Barrier Disruption in Neurotoxicity after Adoptive Immunotherapy with CD19 CAR-T Cells. *Cancer Discov* 2017;7:1404-1419.
57. Santomasso BD, Park JH, Salloum D, et al. Clinical and Biological Correlates of Neurotoxicity Associated with CAR T-cell Therapy in Patients with B-cell Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Discov* 2018;8:958-971.
58. Neelapu SS, Dickinson M, Munoz J, et al. Axicabtagene ciloleucel as first-line therapy in high-risk large B-cell lymphoma: the phase 2 ZUMA-12 trial. *Nat Med* 2022;28:735-742.
59. Shouval R, Alarcon Tomas A, Fein JA, et al. Impact of TP53 Genomic Alterations in Large B-Cell Lymphoma Treated With CD19-Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *J Clin Oncol* 2022;40:369-381.
60. Jain MD, Ziccheddu B, Coughlin CA, et al. Whole-genome sequencing reveals complex genomic features underlying anti-CD19 CAR T-cell treatment failures in lymphoma. *Blood* 2022;140:491-503.
61. Jain MD, Zhao H, Wang X, et al. Tumor interferon signaling and suppressive myeloid cells are associated with CAR T-cell failure in large B-cell lymphoma. *Blood* 2021;137:2621-2633.
62. Locke FL, Rossi JM, Neelapu SS, et al. Tumor burden, inflammation, and product attributes determine outcomes of axicabtagene ciloleucel in large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 2020;4:4898-4911.
63. Bachy E, Le Gouill S, Di Blasi R, et al. A real-world comparison of tisagenlecleucel and axicabtagene ciloleucel CAR T cells in relapsed or refractory diffuse large B cell lymphoma. *Nat Med* 2022;28:2145-2154.
64. Sermer D, Batlevi C, Palomba ML, et al. Outcomes in patients with DLBCL treated with commercial CAR T cells compared with alternate therapies. *Blood Adv* 2020;4:4669-4678.
65. Mikhaeel NG, Heymans MW, Eertink JJ, et al. Proposed New Dynamic Prognostic Index for Diffuse Large B-Cell Lymphoma: International Metabolic Prognostic Index. *J Clin Oncol* 2022;40:2352-2360.
66. Winkelmann M, Blumenberg V, Rejeski K, et al. Prognostic value of the International Metabolic Prognostic Index for lymphoma patients receiving chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2022.

67. Frank MJ, Hossain NM, Bukhari A, et al. Monitoring of Circulating Tumor DNA Improves Early Relapse Detection After Axicabtagene Ciloleucel Infusion in Large B-Cell Lymphoma: Results of a Prospective Multi-Institutional Trial. *J Clin Oncol* 2021;39:3034-3043.
68. Sworder BJ, Kurtz DM, Alig SK, et al. Determinants of resistance to engineered T cell therapies targeting CD19 in large B cell lymphomas. *Cancer Cell* 2023;41:210-225 e215.
69. Perez A, Johnson G, Patel K, et al. Primary progression during frontline CIT associates with decreased efficacy of subsequent CD19 CAR T-cell therapy in LBCL. *Blood Adv* 2022;6:3970-3973.
70. Buecklein VL, Perez-Perez A, Rejeski K, et al. Inferior Outcomes of EU Vs. US Patients with Relapsed/Refractory Large B-Cell Lymphoma after CD19 CAR T-Cell Therapy Are Associated with Differences in Tumor Burden, Systemic Inflammation, Bridging Therapy Utilization and CAR-T Product Selection. *Blood* 2022;140:2411-2413.
71. Cherng HJ, Sun R, Sugg B, et al. Risk assessment with low-pass whole-genome sequencing of cell-free DNA before CD19 CAR T-cell therapy for large B-cell lymphoma. *Blood* 2022;140:504-515.
72. Kankeu Fonkoua LA, Sirpilla O, Sakemura R, Siegler EL, Kenderian SS. CAR T cell therapy and the tumor microenvironment: Current challenges and opportunities. *Mol Ther Oncolytics* 2022;25:69-77.
73. Srivastava S, Riddell SR. Chimeric Antigen Receptor T Cell Therapy: Challenges to Bench-to-Bedside Efficacy. *J Immunol* 2018;200:459-468.
74. Lindo L, Wilkinson LH, Hay KA. Befriending the Hostile Tumor Microenvironment in CAR T-Cell Therapy. *Front Immunol* 2020;11:618387.
75. Vercellino L, Di Blasi R, Kanoun S, et al. Predictive factors of early progression after CAR T-cell therapy in relapsed/refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood Adv* 2020;4:5607-5615.
76. Safarzadeh Kozani P, Safarzadeh Kozani P, Rahbarizadeh F, Khoshtinat Nikkhoui S. Strategies for Dodging the Obstacles in CAR T Cell Therapy. *Front Oncol* 2021;11:627549.
77. Borogovac A, Keruakous A, Bycko M, et al. Safety and feasibility of outpatient chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy: experience from a tertiary care center. *Bone Marrow Transplant* 2022;57:1025-1027.



## 7. Publikationen

24 publizierte Arbeiten mit einem **kumulativen Impact Faktor (IF) von 254.0** und einem **mittleren IF von 10.6**.

Davon **19/24 Arbeiten in akademischen Journalen des obersten Quartils (= Q1)** und **12/24 Arbeiten als Erstautor**.

### 7.1. Originalarbeiten als Erst- oder Letztautor (chronologisch)

Bisher konnten 10 Erst- bzw. Letztautorschaften (inkl. 5 geteilte Erst-Autorschaften; **kumulativer IF: 132.4, mittlerer IF 13.2, alle Q1**) publiziert werden:

1. **REJESKI K**, GRECO R, ONIDA F, SANCHEZ-ORTEGA I, SUREDA A, YAKOUB-AGHA I, SUBKLEWE M. An international survey on grading, diagnosis and management of Immune Effector Cell Associated Hematotoxicity (ICAHT) following CAR T-cell therapy on behalf of the European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) and the European Hematology Association (EHA). *Hemasphere*. 2023 Apr 27;7(5):e889.  
**IF: 8.3 (2021); Q1**
2. **REJESKI K\***, CORDAS DOS SANTOS D\*, PARKER NH, BÜCKLEIN V, WINKELMANN M, JHAVERI K, LIU L, TRINKNER P, GÜNTHER S, KARSCHNIA P, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, KUNZ W, BERGWELT M, JAIN M, THEURICH S, SUBKLEWE M. Influence of adipose tissue distribution, sarcopenia and nutritional status on clinical outcomes after CD19 CAR T-cell therapy. *Cancer Immunol Res*. 2023 Apr 11; CIR-22-0487.  
**IF: 12.0 (2021); Q1** \*geteilte Erst-Autorenschaft
3. **REJESKI K**, BLUMENBERG V, IACOBONI G, LOPEZ-CORRAL L, KHARBOUTLI S, HERNANI R, PETRERA A, MÜLLER N, HILDEBRAND F, FRÖLICH L, KARSCHNIA P, SCHMIDT C, CORDAS DOS SANTOS D, LUIS PINANA J, MÜLLER F, AFRICA MARTIN A, DREYLING M, BERGWELT M, BARBA P, SUBKLEWE M, BÜCKLEIN V. Identifying early infections in the setting of CRS with routine and exploratory serum proteomics and the HT10 score following CD19 CAR-T for relapsed/refractory B-NHL. *Hemasphere*. 2023, 2023 Apr 5;7(4):e858.  
**IF: 8.3 (2021); Q1**
4. CORDAS DOS SANTOS D\*, **REJESKI K\***, WINKELMANN M, LIU L, TRINKNER P, GÜNTHER S, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, KUNZ W, BERGWELT M, THEURICH S, SUBKLEWE M. Increased visceral fat distribution and body composition impact CRS onset and severity after CD19-CAR-T in advanced B-cell malignancies. *Haematologica* 2022 Sep 1;107(9):2096-2107.

**IF: 11.0 (2021); Q1**

\*geteilte Erst-Autorenschaft

5. **REJESKI K**, BURCHERT A, IACOBONI G, SESQUES P, FRANSECKY L, BÜCKLEIN V, TRENKER C, HERNANI R, NAUMANN R, SCHÄFER J, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, SOHLBACH K, BERGWELT M, BACHY E, BARBA P, SUBKLEWE M. Safety and feasibility of stem cell boost as a salvage therapy for severe hematotoxicity after CD19 CAR T-cell therapy. *Blood Adv.* 2022 Aug 23;6(16):4719-4725.

**IF: 7.6 (2021); Q1**

6. **REJESKI K\***, WU Z\*, BLUMENBERG V, KUNZ W, MUELLER S, KAJIGAYA S, GAO S, BÜCKLEIN V, FRÖLICH L, SCHMIDT C, BERGWELT M, FENG X, YOUNG N, SUBKLEWE M. Oligoclonal T-cell expansion in a patient with bone marrow failure after CD19 CAR-T for Richter transformed DLBCL. *Blood.* 2022 Nov 17;140(20):2175-2179

**IF: 25.5 (2021); Q1**

\*geteilte Erst-Autorenschaft

7. KARSCHNIA P\*, **REJESKI K\***, WINKELMANN M, SCHÖBERL F, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, BLOBNER J, BERGWELT M, TONN JC, KUNZ W, SUBKLEWE M, VON BAUMGARTEN L. Toxicities and response rates of secondary CNS lymphoma after adoptive immunotherapy with CD19-directed CAR T-cells. *Neurology*, 2022 May 24;98(21):884-889.

**IF: 11.8 (2021); Q1**

\*geteilte Erst-Autorenschaft

8. **REJESKI K**, PEREZ A, IACOBONI G, PENACK O, BÜCKLEIN V, JENTZSCH L, MOUGIAKAKOS D, JOHNSON G, ARCIOLA B, CARPIO C, BLUMENBERG V, HOSTER E, BULLINGER L, LOCKE F, BERGWELT M, MACKENSEN A, BETHGE W, BARBA P, JAIN M, SUBKLEWE M. The CAR-HEMATOTOX risk-stratifies for severe infections and disease progression after CD19-CAR-T in R/R LBCL. *J Immunother Cancer.* 2022 May;10(5):e004475.

**IF: 12.5 (2021); Q1**

9. **REJESKI K**, PEREZ A, SESQUES P, HOSTER E, BERGER C, JENTZSCH L, MOUGIAKAKOS D, FRÖLICH L, ACKERMANN J, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, JALLADES L, FEHSE B, FAUL C, KARSCHNIA P, WEIGERT O, DREYLING M, LOCKE F, BERGWELT M, MACKENSEN A, BETHGE W, AYUK F, BACHY E, SALLES G, JAIN M, SUBKLEWE M. The CAR-HEMATOTOX: a model for CAR T-cell-related hematological toxicity in relapsed/refractory large B-cell lymphoma. *Blood* 2021 Dec 16;138(24):2499-2513.

**IF: 25.5 (2021); Q1**

10. LIANG Y\*, TEBALDI T\*, **REJESKI K\***, JOSHI P\*, STEFANI G\*, TAYLOR A, VASIC R, MAZIARZ J, BALASUBRAMANIAN K, ARDASHEVA A, DING A, QUATTRONE A, HALENE S. SRSF2 mutations drive oncogenesis by activating a global program of aberrant alternative splicing in hematopoietic cells. *Leukemia* 2018 Dec;32(12):2659-2671

**IF: 9.9 (2018); Q1**

\*geteilte Erst-Autorenschaft

## 7.2. Originalarbeiten als Ko-Autor (chronologisch)

Bisher konnten 9 Ko-Autorschaften (**kumulativer IF: 83.2, mittlerer IF 9.2, davon 6/9 Q1**) publiziert werden:

1. XU T, KARSCHNIA P, CADILHA B, DEDE S, LORENZ M, SEEWALDT N, NIKOLAISHVILI E, MÜLLER K, BLOBNER J, TESKE N, HEROLD JJ, **REJESKI K**, LANGER S, OBECK H, LORENZINI T, MULAZZANI M, ZHANG W, ISHIKAWA-ANKERHOLD H, BUCHHOLZ VR, SUBKLEWE M, THON N, STRAUBE A, TONN JC, KOBOLD S VON BAUMGARTEN L. In vivo dynamics and anti-tumor effects of EpCAM-directed CAR T-cells against brain metastases from lung cancer. *Oncoimmunology*. 2023 Jan 13;12(1):2163781.  
**IF: 7.7 (2021); Q1**
2. KATZENDOBLER S, DO A, WELLER J, **REJESKI K**, DOROSTKAR MM, ALBERT NL, FORBIG R, NIYAZI M, EGENSEPGER R, TONN JC, VON BAUMGARTEN L, QUACH S, THON N. The value of stereotactic biopsy of primary and recurrent brain metastases in the era of precision medicine. *Front Oncol*. 2022 Dec 20;12:1014711.  
**IF: 5.7 (2021); Q2**
3. WINKELMANN M, BLUMENBERG V, **REJESKI K**, BÜCKLEIN V, RUZICKA M, UNTERRAINER M, SCHMIDT C, DEKORSY F, BARTENSTEIN P, RICKE J, BERGWELT M, SUBKLEWE M, KUNZ W. Prognostic value of the international metabolic prognostic index for lymphoma patients receiving chimeric antigen receptor T-cell therapy. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2022 Dec 14.  
**IF: 10.1 (2021); Q1**
4. WINKELMANN M, **REJESKI K**, BLUMENBERG V, BÜCKLEIN V, RUZICKA M, UNTERRAINER M, SCHMIDT C, DEKORSY F, BARTENSTEIN P, RICKE J, BERGWELT M, SUBKLEWE M, KUNZ W. Chimeric Antigen Receptor T-cell Therapy: Imaging Response Criteria and Relation to Progression-free and Overall Survival. *Hemasphere*. 2022 Sep 27;6(10):e781.  
**IF: 8.3 (2021); Q1**
5. PHILIPP N, KAZERANI M, NICHOLLS A, VICK B, WULF J, STRAUB T, SCHEURER M, MUTH A, HÄNEL G, NIXDORF D, SPONHEIMER M, OHLMEYER M, LACHER S, BRAUCHLE B, MARCINEK A, ROHRBACHER L, LEUTBACHER A, **REJESKI K**, WEIGERT O, BERGWELT M, THEURICH S, KISCHEL R, JEREMIAS I, BÜCKLEIN V, SUBKLEWE M. T-cell exhaustion induced by continuous bispecific molecule exposure is ameliorated by treatment-free intervals. *Blood* 2022 Sep 8;140(10):1104-1118.  
**IF: 25.5 (2021); Q1**
6. WINKELMANN M, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, **REJESKI K**, RUZICKA M, UNTERRAINER M, SCHMIDT C, DEKORSY F, BARTENSTEIN P, RICKE J, BERGWELT M, SUBKLEWE M, KUNZ W. Lymphoma tumor burden

before chimeric antigen receptor T-cell treatment: RECIL vs. Lugano vs. metabolic tumor assessment. *Front Oncol* 2022 Sep 8;12:974029 2022

**IF: 5.7 (2021); Q2**

7. IACOBONI G, REJESKI K, VILLACAMPA G, VON DOESUM J, CHIAPPELLA A, BONIFAZI F, CORRAL LL, VAN AALDEREN M, KWON M, MARTINEZ-CIBRIAN N, BRAMANTI S, REGUERA-ORTEGA JL, CAMACHO-ARTEAGA L, SCHMIDT C, MARIN-NIEBLA A, KERSTEN MJ, GARCIA-SANCHO AM, ZINZANI PL, CORRADINI P, VAN MEERTEN T, SUBKLEWE M, BARBA P. Real-world evidence of brexucabtagene autoleucel for the treatment of relapsed or refractory mantle cell lymphoma. *Blood Adv* 2022 Jun 28;6(12):3606-3610.

**IF: 7.6 (2021); Q1**

8. SCHÖBERL F, TIEDT S, SCHMITT A, BLUMENBERG V, KARSCHNIA P, BURBANO VG, BÜCKLEIN V, REJESKI K, SCHMIDT C, BUSCH G, BERGWELT M, TONN JC, SCHMITT M, SUBKLEWE M, VON BAUMGARTEN L. Neurofilament light chain levels correlate with the severity of neurotoxicity after CAR T cell treatment. *Blood Adv* 2022 May 24;6(10):3022-3026.

**IF: 7.6 (2021); Q1**

9. KARSCHNIA P, WELLER J, BLOBNER J, STOECKLEIN VM, DOROSTKAR M, REJESKI K, FORBIG R, NIYAZI M, VON BAUMGARTEN L, DIETRICH J, TONN JC, THON N. Subventricular zone involvement is associated with worse outcome in glioma WHO grade 2 depending on molecular markers. *Scientific Reports* 2021 Oct 8;11(1):20045.

**IF: 5.0 (2021); Q2**

### 7.3. Kasuistiken und Letters to the Editor (chronologisch)

Bisher konnten 3 Kasuistiken und 1 Letter to the Editor (inkl. 1 Erstautorschaft; **kumulativer IF: 29.6, mittlerer IF 7.4, davon 2/4 Q1**) publiziert werden:

1. KARSCHNIA P, REJESKI K, SUBKLEWE M, VON BAUMGARTEN L. Long-term neurological safety in B-cell lymphoma patients treated with anti-CD19 CAR T-cell therapy. *Neurology*. <https://n.neurology.org/content/reader-response-long-term-neurological-safety-b-cell-lymphoma-patients-treated-anti-cd19-car>.

**IF: 11.8 (2021); Q1**

2. WINKELMANN M, REJESKI K, UNTERRAINER M, SCHMIDT C, RUZICKA M, RICKE J, RUDELIUS M, SUBKLEWE M, KUNZ W. Transformation of diffuse large B cell lymphoma into dendritic sarcoma under CAR T cell therapy detected on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging* 2021 May;48(5):1692-1693

**IF: 10.1 (2021); Q1**

3. WINKELMANN M, **REJESKI K**, BLUMENBERG V, BÜCKLEIN V, RUZICKA M, UNTERRAINER M, SCHMIDT C, DEKORSY F, BARTENSTEIN P, RICKE J, BERGWELT M, SUBKLEWE M, KUNZ W. Sarcoid-Like Reaction in Non-Hodgkin's Lymphoma-A Diagnostic Challenge for Deauville Scoring on <sup>18</sup>F-FDG PET/CT Imaging. *Diagnostics*. 2021 May 31;11(6):1009.  
**IF: 4.0 (2021); Q2**
  
4. **REJESKI K**, KUNZ W, RUDELIUS M, BÜCKLEIN V, BLUMENBERG V, SCHMIDT C, KARSCHNIA P, SCHÖBERL F, DIMITRIADIS K, VON BAUMGARTEN L, STEMMLER J, WEIGERT O, DREYLING M, BERGWELT M, SUBKLEWE M. Severe *Candida glabrata* pancolitis and fatal *Aspergillus fumigatus* pulmonary infection in the setting of bone marrow aplasia after CD19-directed CAR T-cell therapy – a case report. *BMC Infect Dis*. 2021 Jan 28;21(1):121  
**IF: 3.7 (2021); Q2**

#### 7.4. Übersichtsartikel

Bisher konnte eine Übersichtsarbeit publiziert werden:

1. **REJESKI K**, DUQUE-AFONSO J, LUEBBERT M. AML1/ETO and its function as a regulator of gene transcription via epigenetic mechanisms. *Oncogene* 2021 Sep;40(38):5665-5676  
**IF: 8.8 (2021); Q1**

## 8. Danksagung

„Die wahre Entdeckungsreise besteht nicht darin, neue Landschaften zu suchen, sondern mit anderen Augen zu sehen.“

- Marcel Proust

An erster Stelle bedanke ich mich bei meinem Klinikdirektor und dem geschäftsführenden Mentor dieser Habilitation Prof. Dr. Michael von Bergwelt, der mich in meiner klinischen und wissenschaftlichen Entwicklung stets begleitet und motiviert hat. Ohne sein volles Vertrauen und seinem kontinuierlichen Einsatz wäre diese Arbeit nie möglich gewesen.

Mein größter Dank geht an meine Arbeitsgruppenleiterin und Mentorin Prof. Marion Subklewe. Dass mir Forschung so viel Spaß macht, ist vor allem Ihr Verdienst, da Ihr unbändiger Enthusiasmus für neue Entdeckungen und ihre Leidenschaft wahrlich ansteckend war und ist. Auch schwierige Revisionen oder herausfordernde Experimente waren stets gut zu meistern, da ich mich immer auf ihren Rat und Zuspruch verlassen konnte. Dabei bin ich mir sicher, dass diese Habilitation nur ein erster Stein auf unserem gemeinsamen Forschungsweg sein wird. Auf viele weitere Projekte zusammen! Als Teil meines Fachmentrates bedanke ich mich zudem bei Prof. Dr. Wolfgang Kunz für seinen wertvollen interdisziplinären Blickwinkel und seine unterstützende Art. Trotz 8000 km Entfernung, hat Prof. Dr. Michael Jain vom Moffitt Cancer Center viele unserer Forschungsprojekte durch seinen Innovationsgeist bereichert.

Forschung ist vor allem Teamarbeit. Viele der Arbeiten dieser Habilitation entstanden aus dem Diskurs mit sehr geschätzten Kolleg:innen. Dabei konnte schnell aus einer nächtlichen Schnapsidee eine Datenanalyse und ein Manuskript entstehen. Ich möchte mich insbesondere bei meinen folgenden *partners in crime* bedanken. Seit unserer gemeinsamen Zeit in New Haven ist Dr. Philipp Karschnia nicht nur ein kreativer und scharfsinniger *sparring partner*, sondern vor allem ein toller Freund geworden. Unsere gemeinsame Zeit auf der CAR T-Zell Station inspirierte uns nicht nur neue Forschungsideen auszuprobieren, sondern machte Dr. David Cordas dos Santos zu einem wichtigen Kollaborationspartner und Wegbegleiter. Schließlich ist Dr. Veit Bücklein nicht nur ein absolutes Vorbild was die klinische Versorgung unserer CAR-T Patient:innen angeht, sondern hatte immer ein offenes Ohr wenn etwas nicht nach Plan verlief oder einen kreativen Gedanken um Probleme zu lösen.

I want to thank my wonderful girlfriend Hazal for her patience with me when I had to work on that last grant, submission or revision. Your unconditional love has allowed me to weather many a storm as well as the ups and inevitable downs of scientific discovery. Finally, I want to thank my parents for their steadfast support throughout the years. Any success of mine is certainly theirs.

## **9. Versicherung an Eides statt und Erklärung zur schriftlichen Habilitationsleistung**

Hiermit erkläre ich, Herr Dr. med. Kai Rejeski, geboren am 25. November 1993 in Washington DC, an Eides statt, dass ich die schriftliche Habilitationsleistung selbstständig verfasst und die Herkunft des verwendeten oder zitierten Materials in ordnungsgemäßer Weise kenntlich gemacht habe.

Weiterhin erkläre ich, dass ich an keiner anderen Hochschule ein Habilitationsgesuch eingereicht habe, ich nicht schon einmal ein Habilitationsverfahren im gleichen Fach ohne Erfolg beendet habe und mir kein akademischer Grad entzogen worden oder ein solches Verfahren anhängig ist beziehungsweise droht.

---

Dr. med. Kai Rejeski  
in München, den 20.02.2023

**10. Curriculum vitae des Habilitanden**

**Name** Kai Rejeski, Dr. med., \*25.11.1993  
**Adresse** Ludwig-Maximilians-Universität, Medizinische Klinik und Poliklinik III,  
Marchioninistraße 15, 81377 München  
**Telefon** +49 (0)89 4400-711746  
**E-Mail** kai.rejeski@med.uni-muenchen.de

Mein detaillierter Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Habilitationsschrift nicht veröffentlicht.