

УДК 615.37

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/42/16>

CAR T-КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ КАК СОВРЕМЕННЫЙ МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

©**Штыров Е. М.**, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия, evgeniishtyrov@mail.ru

©**Зотов Р. А.**, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия, west3222@mail.ru

©**Лапштаева А. В.**, ORCID: 0000-0003-4828-2476, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева, г. Саранск, Россия, av_lapshtaeva@mail.ru

CAR T-CELL THERAPY AS A MODERN METHOD FOR THE TREATMENT OF ONCOLOGICAL DISEASES

©**Shtyrov E.**, Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia, evgeniishtyrov@mail.ru

©**Zotov R.**, Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia, west3222@mail.ru

©**Lapshtaeva A.**, ORCID: 0000-0003-4828-2476, Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russia, av_lapshtaeva@mail.ru

Аннотация. Ежегодный рост случаев онкологических заболеваний диктует необходимость поиска и разработки новых методов диагностики и терапии онкозаболеваний. В статье представлены результаты анализа современных литературных источников, посвященных CAR T–клеточной терапии, ставшей прорывным направлением в лечении ряда гематологических опухолей. В основе CAR T–клеточной терапии лежит создание пула опухоль–специфичных цитотоксических лимфоцитов путем внесения ex vivo трансгена, кодирующего химерный антигенный рецептор. В статье изложены основные принципы, возможные осложнения, преимущества и недостатки CAR T–клеточной терапии.

Abstract. The annual increase in cases of oncological diseases dictates the need to search for and develop new methods for diagnosing and treating cancer. The article presents the results of the analysis of modern literature sources devoted to CAR T–cell therapy, which has become a breakthrough trend in the treatment of a number of hematological tumors. The basis of CAR T–cell therapy is the creation of a pool of tumor–specific cytotoxic lymphocytes by introducing an ex vivo transgene encoding a chimeric antigen receptor (CAR). The article outlines the basic principles, possible complications, the advantages and disadvantages of CAR T–cell therapy.

Ключевые слова: иммунотерапия, CAR T-клетки, онкология.

Keywords: immunotherapy, CAR T-cells, oncology.

Онкологические заболевания сопровождают человечество на протяжении всей его истории. Впервые термин «карцинома» ввел в употребление еще Гиппократ. Со временем подходы к лечению онкозаболеваний менялись в соответствии с техническим и научным прогрессом в медицине. На данный момент онкологические заболевания являются второй из основных причин смертности в мире, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям. Несмотря на разработку новых методов диагностики и терапии данная проблема является

крайне актуальной, поскольку эффективность стандартных программ лечения, включая хирургию, лучевую терапию и химиотерапию, остается минимальной.

В ежегодном докладе «Успехи клинической онкологии 2018» опубликованном американским обществом клинической онкологии, CAR T-клеточная терапия была названа главным достижением года [1]. Адаптивная терапия генно-модифицированными Т-лимфоцитами стала, безусловно, прорывным направлением в лечении ряда гематологических опухолей. В ее основе лежит создание пула опухоль-специфичных цитотоксических лимфоцитов путем внесения *ex vivo* трансгена, кодирующего химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor, CAR). Такие клетки получили название в англоязычной литературе - CAR T-клетки [2].

Цель работы: оценить основные принципы, возможные осложнения, преимущества и недостатки CAR T-клеточной терапии.

Химерный антигенный рецептор — это рекомбинантный рецептор, дающий возможность CD-8 Т-лимфоциту активироваться и взаимодействовать с опухолевыми клетками [3]. Молекула CAR имеет сложное строение и представлена следующими частями, каждая из которых выполняет определенную функцию:

– *Таргетный домен* (antigen recognition [targeting] domain) необходим для поиска и узнавания опухолевой клетки. CAR рецептор подходит к молекулам опухолевой клетки «как ключ к замку», если данный «ключ» отсутствует, иммунные клетки не способны увидеть опухолевые.

– *Гибкая шарнирная область* обеспечивает подвижность рецептора и способствует более оперативной идентификации мишени.

– *Трансмембранный домен* необходим для закрепления химерного рецептора на поверхности Т-лимфоцита.

– *Внутриклеточный трансмембранный домен*, расположенный непосредственно на внутренней поверхности мембраны иммунной клетки, обеспечивает работу при контакте с опухолевой клеткой, а именно ее уничтожение. Данный домен состоит из следующих частей: активирующего сигнального домена, отвечающего за синтез молекул перфорина и гранзимов, вызывающих апоптоз опухолевой клетки, а также способствующий пролиферации лимфоцитов; и ко-стимулирующий домен, дополнительно активирующий работу лимфоцитов, продлевая срок их жизни в крови (данный домен присутствует в CAR второго поколения, CAR третьего поколения имеют в составе более двух ко-стимулирующих доменов).

CAR рецептор реагирует на антигены CD-19 и CD-22, которые специфичны опухолевым клеткам крови и отсутствуют на поверхности здоровых клеток. В противном случае здоровые клетки были бы подвержены атаке, что свело бы пользу от данного метода лечения к минимуму.

Производство CAR T-клеток

Выделяют несколько этапов производства CAR T-клеток для клинического применения: лейкоцитоз, активация Т-лимфоцитов с помощью синтетического поликлонального активатора, доставка трансгена, экспансия в среде, обогащенной цитокинами, контроль качества клеточного препарата, криоконсервация и/или подготовка к введению [4].

На первом этапе производства кровь пациента центрифугируют для выделения лейкоцитов пациента. Ключевым фактором, необходимым для производства терапевтического клеточного продукта, является сбор достаточного количества Т-лимфоцитов (около 100×10^6 клеток). В связи с этим аферез целесообразно проводить до курса

химиотерапии. Продукт афереза может быть подвержен криозаморозке или незамедлительно использован для создания Т-клеток, экспрессирующих CAR. Заморозка продукта дает большую мобильность для планирования терапии, однако сопровождается снижением количества клеток в результате процедуры.

Для второго этапа активации лимфоцитов чаще всего используют специальные реагенты – анти-CD3/CD28-антитела, иммобилизованные на магнитном носителе. Однако существуют и другие методы активации, такие как активация с использованием антиген-презентирующих клеток пациента или искусственных антиген-презентирующих клеток.

Третьим этапом является генетическая модификация клеток для чего применяются γ-ретровирусные и лентивирусные векторы, а также система транспозон/транспозаза. В более 50% случаев используют γ-ретровирусные векторы для создания CD19 CAR Т-клеток.

На четвертом этапе при помощи биореакторов с использованием цитокинов, поддерживающих пролиферацию Т-лимфоцитов — интерлейкинов (IL) 2, 7, 15 происходит экспансия модифицированных клеток. Наиболее используемыми являются биореакторы фирмы “GE WAVE”.

Перед введением препарата проводят контроль его качества — тестирование на микробиологическую безопасность, эффективность трансдукции и функциональную активность Т-лимфоцитов [5].

Однако, не смотря на положительные результаты CAR Т-клеточной терапии, был выявлен ряд побочных эффектов: В-лимфопения, синдром цитокинового шторма и нейротоксичность.

Наиболее часто встречающимся побочным эффектом является В-лимфопения, характеризующаяся деплецией В-лимфоцитов. Аплазия В-лимфоцитов сохраняется на всем протяжении CAR Т-клеточной терапии и приводит к гипогаммаглобулинемии. Данный побочный эффект не является угрозой жизни пациента и может быть скорректирован внутривенным введением иммуноглобулинов, поэтому не является противопоказанием к применению метода.

CAR Т-клетки могут повреждать ткани, которые экспрессируют антиген, распознаваемый CAR. Так, в исследовании, проведенном среди 3 пациентов с метастатической почечноклеточной карциномой, получавших инфузии аутологичных Т-клеток, трансдуцированных с помощью CAR, нацеленного на карбоксиангидразу-IX, было отмечено повышение уровня аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и общего билирубина в 3-4 раза. При биопсии печени пациентов был выявлен холангит с инфильтрацией Т-клеток, окружающих желчные протоки, также было обнаружено, что эпителиальные клетки желчных протоков экспрессируют карбоксиангидразу-IX [6].

В другом наблюдении пациент с метастатическим колоректальным раком, получавший инфузию аутологичных CAR Т-клеток, направленных против антигена ERBB2 (Her-2 / neu), испытывал острый респираторный дистресс-синдром и отек легких, требующий искусственной вентиляции легких, впоследствии приведший к летальному исходу. Предполагается, что легочная токсичность и последующая смерть пациента связаны с экспрессией ERBB2 на нормальной ткани легкого [6].

Наиболее распространенной острой токсичностью CAR Т-клеток является синдром цитокинового шторма (CRS — cytokine-release syndrome). Симптомами CRS-синдрома являются: лихорадка, тахикардия, гипотония, синдром капиллярной утечки, нарушение функций сердца, почек, печени. Цитокины, вовлеченные в CRS, могут непосредственно продуцироваться инфузировавшими CAR Т-клетками или другими иммунными клетками, которые могут продуцировать цитокины в ответ на цитокины, продуцируемые

инфузированными CAR T-клетками. Широкий спектр цитокинов, включая IL-6, интерферон- γ , фактор некроза опухоли, IL-2, IL-8 и IL-10, повышен в сыворотке пациентов [7].

Считается, что ключевым цитокином в образовании данного синдрома является IL-6. Этот интерлейкин обладает как противовоспалительными, так и провоспалительными эффектами, а результат зависит от варианта его взаимодействия с клеткой-мишенью. В классическом варианте при взаимодействии IL-6 с IL-6R происходит формирование комплекса лиганд-рецептор с димером мембранной молекулы gp130, которая экспрессирована на очень многих типах клеток. Этот комплекс активирует каскад внутриклеточных реакций, оборачивающихся обычно противовоспалительными эффектами. Но есть и другой вариант — *trans-signalling*. При этом IL-6 взаимодействует не с рецептором на мембране, а с растворимым рецептором sIL-6R. Они образуют комплекс, и уже этот комплекс взаимодействует с молекулами gp130. По всей видимости, другие клетки воспринимают это воздействие, как стресс, и реагируют на него провоспалительно [5, 8-10].

Результаты клинических исследований

Опорные клинические испытания фазы II, проводимые JULIET среди 81 пациента с диагнозом рецидивирующей или рефрактерной диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой, получивших однократную инфузию «Кимрайя» (“Kymriah”, Novartis International AG — Швейцария) показали следующие результаты: частота общего ответа на терапию составила 53,1%, включая полный ответ у 39,5% и частичный у 13,6% пациентов. Полный ответ, продемонстрированный в течении 90 дней, сохранился и по истечению 6 месяцев более чем в 90% случаев. Вероятность выживаемости и отсутствия рецидивов после 6 месячного периода наблюдалась на уровне 73.5% и 61.5% [11].

Опорные клинические испытания, проводимые ZUMA-1 фазы I/II среди 108 пациентов с рефрактерными диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой и первичной медиастинальной (тимической) В-крупноклеточной лимфомой, которые получили однократную инфекцию «Ескарта» (YESCARTA, Gilead Science — США) продемонстрировали следующие результаты: частота общего ответа 82%, включая полный ответ у 58% и частичный у 24% пациентов. В течении 15,4 месяцев наблюдения показали, что 42% продолжали отвечать на лечение, включая 40% тех, кто получил полную ремиссии. Средняя частота длительности ответа составляла 11,1 месяцев. Показатель общей выживаемости в течении полутора лет — 52% [12].

Следует отметить, что до появления CAR T-клеточной терапии последствия рефрактерных агрессивных лимфом в основном были не удовлетворительными. Частота общего ответа была в пределах 25%, в 7% случаев отмечался полный ответ. Период общей выживаемости не более 6.3 месяцев. Новейшая терапия принесла 10 кратный рост частоты возникновения ремиссии и более чем на 70% уменьшила риск смертельного исхода

Фундаментальные научные работы в CAR-T-клеточной области, в основном, ведутся в США. Первое же место по общему числу проводимых CAR T-клеточных терапий занимает Китай и на 3 месте по клиническим испытаниям. В Китае клинические исследования практически превратились в лечебный процесс, что обусловлено наиболее лояльной по сравнению с другими странами мира законодательной политикой в отношении проведения клинических испытаний. В России проходит одно клиническое испытание CAR T-клеток в Центре детской онкогематологии им. Димы Рогачёва [8, 12].

Преимущества и недостатки метода

Главным плюсом данной терапии является ее результативность, а именно: десятикратный рост частоты ремиссии и уменьшение риска летального исхода более чем на 70%.

К недостаткам метода можно отнести высокую стоимость (500 тыс. долл), сложность изготовления CAR T-клеток, низкую доступность метода, высокую вероятность развития побочных эффектов. Показатель общей выживаемости в течении полутора лет равняется 52%, это огромная цифра, но этого недостаточно [8].

Заключение

Несмотря на преобладание количества минусов над плюсами, тот факт что CAR-терапия показывает путь для потенциального изменения парадигмы в лечении рефрактерного или рецидивирующего рака, остается не оспоримым. CAR T-клеточная терапия является специфическим для пациента «живым» и самовоспроизводящимся препаратом. Хотя CAR терапия имеет большие успехи в лечении гематологических раковых заболеваниях, это только начало изучения мощного потенциала CAR перенаправленной иммунной системы в устранении резистентного, метастатического или рецидивирующего рака.

Список литературы:

1. Heymach J., Krilov L., Alberg A., Baxter N., Chang S. M., Corcoran R. B., Dale W., DeMichele A., Magid Diefenbach C. S., Dreicer R., ... Burstein H. Clinical Cancer Advances 2018: Annual Report on Progress Against Cancer From the American Society of Clinical Oncology // J Clin Oncol. 2018. V. 36 № 10. P. 1020-1044. DOI: 10.1200/JCO.2017.77.0446.
2. Geyer M. B., Brentjens R. J. Review: Current clinical applications of chimeric antigen receptor (CAR) modified T cells // Cytotherapy. 2016. V. 18. №11. P. 1393-1409. DOI: 10.1016/j.jcyt.2016.07.003.
3. Newick K., Moon E., Albelda S.M. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for solid tumors // Mol Ther Oncolytics. 2016. №3. P. 16006. DOI: 10.1038/mto.2016.6
4. Davila M. L., Sadelain M. Biology and clinical application of CAR T cells for B cell malignancies // International journal of hematology. 2016. V. 104. №. 1. P. 6-17. DOI: 10.1007/s12185-016-2039-6.
5. Maude S. L., Frey N., Shaw P. A., Aplenc R., Barrett D. M., Bunin N. J., Chew A., Gonzalez V. E., Zheng Z., Lacey S. F., Mahnke Y. D., Melenhorst J. J., Rheingold S. R., Shen A., Teachey D. T., Levine B. L., June C. H., Porter D. L., Grupp S. A. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia // New England Journal of Medicine. 2014. V. 371. №. 16. P. 1507-1517. DOI: 10.1056/NEJMoa1407222.
6. Hartmann J., Schüßler-Lenz M., Bondanza A., Buchholz C. J. Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts // EMBO molecular medicine. 2017. V. 9. №. 9. P. 1183-1197. DOI: 10.15252/emmm.201607485.
7. Bonifant C. L., Jackson H. J., Brentjens R. J., Curran K. J. Toxicity and management in CAR T-cell therapy // Molecular therapy oncolytics, 2016. №3, P. 16011. doi:10.1038/mto.2016.11
8. Brentjens R. J., Davila M. L., Riviere I., Park J., Wang X., Cowell L. G., Bartido S., Stefanski J., Taylor C., Olszewska M., Borquez-Ojeda O., Qu J., Wasielewska T., He Q., Bernal Y., Rijo I. V., Hedvat C., Kobos R., Curran K., Steinherz P., Jurcic J., Rosenblat T., Maslak P., Frattini M., Sadelain M. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia // Science Translational Medicine. 2013. V. 5. №177. P. e177ra38. DOI: 10.1126/scitranslmed.3005930.

9. Grupp S. A., Kalos M., Barrett D., Aplenc R., Porter D. L., Rheingold S. R., Teachey D. T., Chew A., Hauck B., Wright J. F., Milone M. C., Levine B. L., June C. H. Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia // *The New England Journal of Medicine*. 2013. V. 368. №16. P. 1509-1518. DOI: 10.1056/NEJMoa1215134.

10. Lee D.W., Kochenderfer J.N., Stetler-Stevenson M., Cui Y.K., Delbrook C., Feldman S.A., Fry T.J., Orentas R., Sabatino M., Shah N.N., Steinberg S.M., Stroncek D., Tschernia N., Yuan C., Zhang H., Zhang L., Rosenberg S.A., Wayne A.S., Mackall C.L. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial // *The Lancet*. 2015. V. 385. № 9967. P. 517-528. DOI: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.

11. Wei G., Ding L., Wang J., Hu Y., Huang H. Advances of CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia // *Experimental hematology & oncology*. 2017. V. 6. №. 1. P. 10. DOI: 10.1186/s40164-017-0070-9.

12. Gill S., Maus M. V., Porter D. L. Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25 years in the making // *Blood reviews*. 2016. V. 30. №. 3. P. 157-167. DOI:10.1016/j.blre.2015.10.003.

References:

1. Heymach, J., Krilov, L., Alberg, A., Baxter, N., Chang, S. M., Corcoran, R. B., Dale, W., DeMichele, A., Magid Diefenbach, C. S., Dreicer, R., ... & Burstein, H. (2018). Clinical Cancer Advances 2018: Annual Report on Progress Against Cancer From the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol*, 36 (10). 1020-1044. doi:10.1200/JCO.2017.77.0446.

2. Geyer, M. B., & Brentjens, R. J. (2016). Current clinical applications of chimeric antigen receptor (CAR) modified T cells. *Cytotherapy*, 18(11), 1393-1409. doi:10.1016/j.jcyt.2016.07.003.

3. Newick, K., Moon, E., & Albelda, S. M. (2016). Chimeric antigen receptor T-cell therapy for solid tumors. *Molecular therapy oncolytics*, 3, 16006. doi:10.1038/mto.2016.6.

4. Davila, M. L., & Sadelain, M. (2016). Biology and clinical application of CAR T cells for B cell malignancies. *International journal of hematology*, 104(1), 6-17. doi:10.1007/s12185-016-2039-6.

5. Maude, S. L., Frey, N., Shaw, P. A., Aplenc, R., Barrett, D. M., Bunin, N. J., ... & Mahnke, Y. D. (2014). Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *New England Journal of Medicine*, 371(16), 1507-1517. doi:10.1056/NEJMoa1407222.

6. Hartmann, J., Schüßler-Lenz, M., Bondanza, A., & Buchholz, C. J. (2017). Clinical development of CAR T cells—challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO molecular medicine*, 9(9), 1183-1197. doi:10.15252/emmm.201607485.

7. Bonifant, C. L., Jackson, H. J., Brentjens, R. J., & Curran, K. J. (2016). Toxicity and management in CAR T-cell therapy. *Molecular therapy oncolytics*, 3, 16011. doi:10.1038/mto.2016.11.

8. Brentjens, R. J., Davila, M. L., Riviere, I., Park J., Wang, X., Cowell, L. G., Bartido, S., Stefanski, J., Taylor, C., Olszewska, M., Borquez-Ojeda, O., Qu J., Wasielewska, T., He Q., Bernal, Y., Rijo, I. V., Hedvat, C., Kobos, R., Curran, K., Steinherz, P., Jurcic, J., Rosenblat, T., Maslak, P., Frattini, M., & Sadelain, M. (2013). CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Science Translational Medicine*, 5(177). e177ra38. doi:10.1126/scitranslmed.3005930.

9. Grupp, S. A., Kalos, M., Barrett, D., Aplenc, R., Porter, D. L., Rheingold, S. R., ... & Milone, M. C. (2013). Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *New England Journal of Medicine*, 368(16), 1509-1518. doi:10.1056/NEJMoa1215134.

10. Lee, D. W., Kochenderfer, J. N., Stetler-Stevenson, M., Cui, Y. K., Delbrook, C., Feldman, S. A., Fry, T. J., Orentas, R., Sabatino, M., Shah, N. N., Steinberg, S. M., Stroncek, D., Tschernia, N., Yuan, C., Zhang, H., Zhang, L., Rosenberg, S. A., Wayne, A. S., & Mackall, C. L. (2015). V T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. *The Lancet*, 385 (9967). 517-528. doi:10.1016/S0140-6736(14)61403-3.

11. Wei, G., Ding, L., Wang, J., Hu, Y., & Huang, H. (2017). Advances of CD19-directed chimeric antigen receptor-modified T cells in refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Experimental hematology & oncology*, 6(1), 10. doi:10.1186/s40164-017-0070-9.

12. Gill, S., Maus, M. V., & Porter, D. L. (2016). Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25 years in the making. *Blood reviews*, 30(3), 157-167. doi.org/10.1016/j.blre.2015.10.003

*Работа поступила
в редакцию 17.04.2019 г.*

*Принята к публикации
21.04.2019 г.*

Ссылка для цитирования:

Штыров Е. М., Зотов Р. А., Лапштаева А. В. CAR T-клеточная терапия как современный метод лечения онкологических заболеваний // Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5. №5. С. 121-127. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/42/16>.

Cite as (APA):

Shtyrov, E., Zotov, R., & Lapshtaeva, A. (2019). CAR T-cell Therapy as a Modern Method for the Treatment of Oncological Diseases. *Bulletin of Science and Practice*, 5(5), 121-127. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/42/16>. (in Russian).