

CAR-ИММУНОТЕРАПИЯ — ПРОРЫВ В КЛЕТОЧНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

А. В. Тарасов¹, С. П. Казаков^{2,3}, В. П. Масенко¹, Е. А. Гринев¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр кардиологии имени академика Е. И. Чазова» Минздрава России, г. Москва, Россия

²ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ ФНКЦ ФМБА России), г. Москва, Россия

³ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Министерства обороны Российской Федерации, г. Москва, Россия

Резюме

В обзоре литературы приведены данные о внедрении в практическое здравоохранение методов лечения, основанных на технологии использования генетических продуктов для терапии онкологических и онкогематологических заболеваний. Технология базируется на иммунотерапии с использованием определенных субпопуляций иммунокомпетентных лимфоцитов и встроенных химерных антигенных рецепторов (CAR). Использование свойств цитотоксичности определенных субпопуляций лимфоцитов позволяет создавать препараты, нацеленные на определенные паттерны злокачественных клеток. Описана структура химерного рецептора, представлены данные о концепции по иммуноредактированию солидных опухолей, о технологии получения химерного рецептора на основе CAR-T-лимфоцитов и об особенностях пяти разработанных поколений данного препарата (технологии). Охарактеризованы технологические этапы проведения терапии T-лимфоцитами с химерными антигенными рецепторами для лечения пациентов. Представлено описание технологии получения химерного клеточного рецептора с использованием библиотек ретро- и лентивирусных частиц и описаны технологические особенности, основанные на фундаментальных разработках исследователей по получению и сложности создания векторов, продукции химерного рецептора определенных субпопуляций лимфоцитов, новые неинтегрирующиеся лентивирусные векторы и применение революционной CRISPR/Cas9 технологии для геномного редактирования, используемые в получении новых поколений векторов. Представлено подробное описание технологии получения векторов из лентивирусов и новых технологических достижений, которые используются для получения векторов и последующего создания новых вариантов химерных клеточных рецепторов и продуктов, которые есть на мировом рынке. Обозначены опыт практического применения CAR-T терапии, в основном T-лимфоцитарными клонами с химерным антигенным рецептором в онкогематологии и новые перспективные направления их использования при терапии солидных опухолей, в том числе в терапии аутоиммунных заболеваний и при трансплантации органов и тканей. Изложены перспективы иммунотерапии препаратами с химерным клеточным рецептором других субпопуляций иммунокомпетентных клеток, таких как NK-и NKT-лимфоцитов.

Ключевые слова: иммунотерапия, химерный клеточный рецептор, структура, генерация препаратов для CAR-терапии, технологии лечения, ретровирусы, лентивирусы, структура векторов, онкогематология, онкология.

DOI: 10.58953/15621790_2024_15_1-2_5

CAR-IMMUNOTHERAPY IS A BREAKTHROUGH IN CELL BIOLOGY AND MEDICINE

A. V. Tarasov¹, S. P. Kazakov^{2,3}, V. P. Masenko¹, E. A. Grinev¹

¹Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Centre of Cardiology named after Academician E. I. Chazov», Moscow, Russia

²Federal Scientific and Clinical Center for Specialized Types of Medical Care and Medical Technologies, FMBA of Russia, Moscow, Russia

³Federal State Budgetary Institution «Main Military Clinical Hospital named after academician N. N. Burdenko» of the Ministry of Defense of the Russian Federation», Moscow, Russia

Summary

The review article provides data on the introduction into practical healthcare of treatment methods based on the technology of using genetic products for the treatment of oncohematological and oncological diseases. The technology is based on immunotherapy using certain subpopulations of immunocompetent lymphocytes and embedded chimeric antigen receptors (CAR). The use of cytotoxicity properties of certain subpopulations of lymphocytes makes it possible to create drugs from them aimed at certain patterns of malignant cells. The article presents data starting from the concept of immunoreduction of solid tumors, describes the structure of the chimeric receptor, presents data on the technology of obtaining a chimeric receptor based on CAR-T lymphocytes and the features of the developed five generations of this drug (technology). The technological stages of T-lymphocyte therapy with chimeric antigen receptors for the treatment of patients are described. The authors focused on the description of the technology for obtaining a chimeric cellular receptor using libraries of retro- and lentivirus particles. The technological features based on the fundamental developments of scientists and biologists in obtaining vectors, the complexity of creating vectors and producing a chimeric receptor by a certain subpopulation of lymphocytes, new non-integrating lentiviral vectors and the use of revolutionary CRISPR/Cas9 technology for gene editing used in obtaining new generations of vectors are described. The authors elaborated on the technology of obtaining vectors from lentiviruses and new technological advances that are used to obtain vectors and subsequently create new variants of chimeric cellular receptors and products that are available on the world market. The experience of practical application of CAR therapy, mainly with T-lymphocytic clones with a chimeric antigen receptor in oncohematology and new promising directions for their use in the treatment of solid tumors, as well as in the treatment of autoimmune diseases and in organ and tissue transplantation are described. The prospects for immunotherapy with drugs with a chimeric antigen receptor of other subpopulations of immunocompetent cells, such as NK- and NKT lymphocytes, are presented.

Keywords: immunotherapy, chimeric cell receptor, structure, generation of drugs for CAR therapy, treatment technologies, retroviruses, lentiviruses, vector structure, oncohematology, oncology.

В начале XX века появилась перспектива выявления иммунологическими методами различий нормальных и неопластических клеток, и в связи с этим открылась перспектива вакцинации против рака, основанная на результатах экспериментов по предотвращению роста трансплантированных опухолей животных путем иммунизации реципиентов [1]. Первые попытки выявления опухоль-специфических антигенов на поверхности клеток дали толчок к развитию иммунологических и иммунотерапевтических исследований в онкологии. И, наконец, представленная концепция иммуноредактирования рака [2] (рис. 1) легла в основу последующего создания технологии терапии опухолевых клеток субпопуляциями лимфоцитов адаптивной иммунной системы, способных к реализации клеточного цитотоксического потенциала [3]. Разрабатываются и другие перспективные мишени — иммунные контрольные точки, которые могут быть востребованы для реализации CAR-терапии [4].

В настоящее время терапия опухоль-специфическими Т-клетками с химерным антигенным рецептором (CAR-T) представляет собой новый эволюционный шаг в борьбе со злокачественными новообразованиями. Поэтому следует отметить, что истоки CAR-терапии в онкогематологии просматриваются в работах 70-х годов прошлого столетия по адаптивной специфической иммунотерапии [5]. Возможность адаптивного переноса иммунитета с помощью

лимфоцитов в экспериментах была показана как у животных, так и у человека [6]. Были описаны успешные терапевтические результаты у животных, и при этом показано, что действующим началом, играющим главную роль в подавлении или предотвращении опухолевого роста, являются Т-лимфоциты [7]. В 1970 году G.Mathe и соавт. [8] на мышах с лейкозом L1210 получили положительный результат при введении клеток лимфатических узлов доноров, предварительно иммунизированных лейкозными клетками.

Определённый интерес вызвали также работы по специфической адаптивной иммунотерапии с использованием так называемого фактора переноса (transferfactor). Была показана возможность передачи способности к реакциям замедленной кожной гиперчувствительности от иммунных к туберкулину и стрептококковым антигенам доноров к неиммунным реципиентам путем инъекций последним лизатов лейкоцитов от иммунных доноров [9]. Авторами было установлено, что действующим началом является диализирующееся вещество с молекулярной массой менее 10 000, которое и было названо transferfactor [10]. Изучение биохимических характеристик фактора переноса показало, что данное вещество передает от донора реципиенту только специфический клеточный иммунитет, и не обнаружено каких-либо признаков передачи гуморального иммунитета [11]. В последние десятилетия фактор пере-

Три стадии взаимоотношений иммунной системы и опухолевой прогрессии [2]

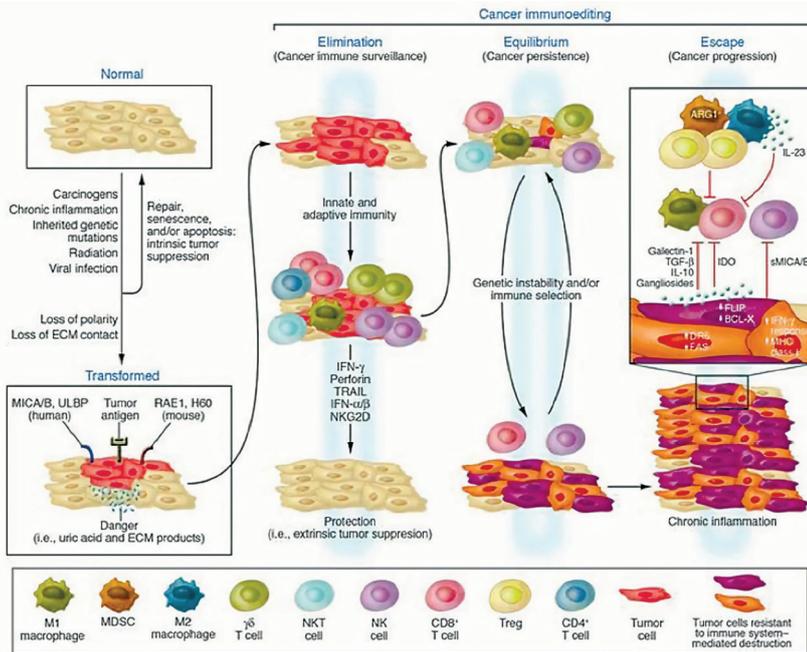


Рисунок 1.

Химерный антигенный рецептор (chimeric antigen receptor, CAR) представляет собой рекомбинантный рецептор, который дает возможность иммунной клетке (Т-цитотоксическому или NK-, NKT-лимфоциту) активироваться и взаимодействовать с опухолевой клеткой. Молекула CAR имеет сложное строение и состоит из нескольких частей [17]:

- **Таргетный домен** используется для поиска и распознавания мишени. В роли мишени часто выступают определенные антигены (рецепторы, паттерны) опухолевых и иных таргетных клеток. Он должен подходить к антигенным детерминантам мишеней клеток подобно тому, как ключ подходит к замку. Если «ключа» нет, то иммунная клетка не видит необходимую таргетную клетку, а потому не способна ее уничтожить.

• **Трансмембранный домен** требуется для фиксации химерного рецептора на поверхности определенной субпопуляции иммунокомпетентной клетки.

- **Гибкая шарнирная область** улучшает идентификацию мишени, обеспечивает подвижность химерного рецептора.

• **Внутриклеточный трансмембранный домен** расположен внутри иммунной клетки и на ее мембране, обеспечивает непосредственно разрушение мишеневидной клетки. В эту структуру входит два домена:

- активирующий сигнальный домен вызывает саморазрушение таргетной клетки и способствует размножению используемых для CAR-терапии определенных иммунокомпетентных лимфоцитов одной субпопуляции;

□ ко-стимулирующий домен активирует и увеличивает срок жизни используемых субпопуляций лимфоцитов или блокирует иммунокомпетентные клетки, отправляя их в один из видов программируемой клеточной гибели.

Технология CAR-терапии наиболее эффективна и широко распространена в онкологии и онкогематологии. В настоящее время появилось уже несколько поколений химерных антигенных рецепторов. Некоторые элементы, улучшающие эффективность использования CAR-терапии, связывают с использованием во втором поколении этих технологий ко-стимулирующего домена. В третьем поколении этой технологии уже использовалось несколько таких доменов. Трансмембранный и внутриклеточный домены CAR важны для запуска активирующего сигнального ка-

носа активно используется в терапии большого числа заболеваний, но не в качестве лекарственного вещества, а в качестве биологически активной добавки. К сожалению, природа фактора переноса мало изучена, и основное количество работ касалось его физико-химических свойств.

Первым шагом к разработке CAR-T-терапии явилось использование опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL) у пациентов с метастатической миеломой [12]. Следующим шагом стало применение Т-лимфоцитов, модифицированных геном рецептора Т-клеток [13]. Метод ограничен тем, что может быть применен только у гистосовместимых пациентов. Для преодоления данного ограничения был использован ранее разработанный метод химерного антигенного рецептора Т-лимфоцитов (CAR-T). Первые химерные рецепторы, содержащие части антигена и Т-клеточного рецептора, первоначально названные «Т-тельцами», были описаны в 1987 году [14]. Эти исследования сочетали способность антител специфично связываться с различными мишенями и постоянными доменами TCR- α - или TCR- β -белков [15].

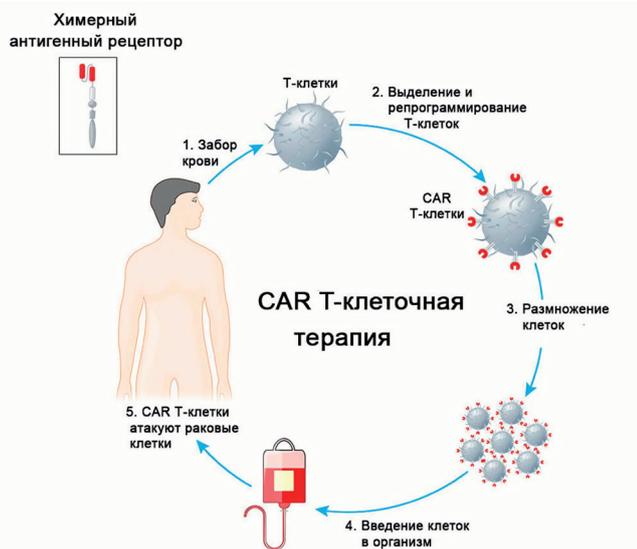
CAR-T были сконструированы путем слияния одноцепочечного переменного фрагмента, полученного из антитела с внутриклеточными сигнальными доменами. Распознавание поверхностных антигенов, модифицированных таким образом Т-клетками, не ограничено главным комплексом гистосовместимости, и не зависят от процессинга и презентации антигена [16].

скада в линиях иммунокомпетентных клеток. Кроме ко-стимулирующего и сигнального доменов, в последующих поколениях используются домены, обеспечивающие выживаемость определенной линии, используемой в CAR-T-клетках. Для этого применяют технологии, дающие запуск экспрессии определенных цитокинов, необходимых для поддержания эффективного функционирования используемой линии субпопуляции лимфоцитов.

Различают пять технологий (генераций) CAR-T-клеток с разной структурой внутриклеточного домена химерного рецептора [18]. CAR первого поколения представляют собой гибридные рецепторы, содержащие внеклеточный домен для распознавания целевого антигена—single chain variable fragment (scFv), трансмембранный домен и внутриклеточный сигнальный домен, ответственный за активацию Т-клеток. Структура CAR второго и третьего поколений обязательно включает активирующий домен и один или два дополнительных внутриклеточных ко-стимулирующих домена, а CAR четвертого поколения являются модификацией CAR второго поколения, в котором используется группа дополнительных генов, кодирующих специфические цитокины, необходимые для эффективного функционирования лимфоцитов. CAR пятого поколения построены на CAR второго поколения, но содержат встроенный дополнительный цитоплазматический домен, полученный из IL-2Rβ, позволяющий активировать лимфоциты путем внесения ИЛ-2.

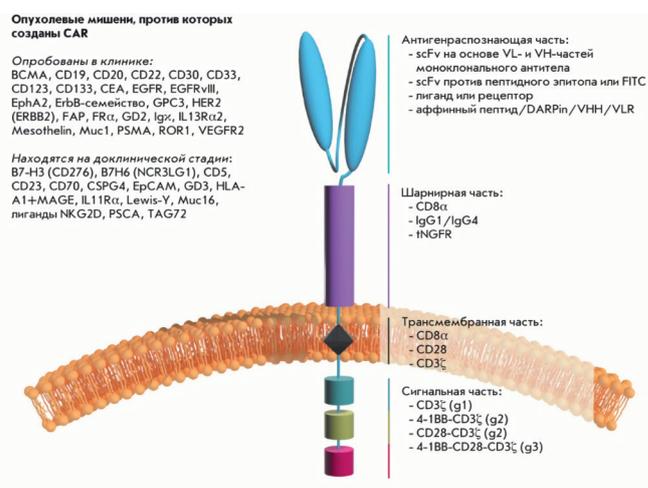
Производство CAR-T-клеток для клинического применения — достаточно сложный и дорогостоящий процесс. Он состоит из нескольких этапов, каждый из которых требует существенных производственных, научных и финансовых затрат (рис. 2).

Рисунок 2.
Этапы CAR-T-терапии [19]



На первом этапе путем афереза лейкоцитов пациента выделяют фракцию, с которой в последующем будут работать. Выделенную из лейкоцитов субпопуляцию Т-лимфоцитов активируют с помощью синтетического поликлонального активатора, связывающегося с рецепторами CD3 и CD28. Сегодня считается технологически доказанным, что минимальное количество Т-лимфоцитов должно составлять 100×10^6 клеток. Продукт афереза может быть подвержен как крио-заморозке, так и использован для создания Т-клеток, экспрессирующих химерный клеточный рецептор. Заморозка продукта облегчает процесс планирования терапии, однако сопровождается снижением количества используемой субпопуляции лимфоцитов в результате данной процедуры [20]. Далее Т-клетки подвергаются репрограммированию путем встраивания (трансфицирования) трансгена, кодирующего химерный рецептор, представленный специфическим вектором, взятым из библиотеки ленти- и ретровирусов, который создаст на поверхности лимфоцита непосредственно сам химерный рецептор (рис. 3), строго к определенному специфическому паттерну (антигену, рецептору).

Рисунок 3.
Организация химерного антигенного рецептора в мономерном виде [21]



Возможно трансфицирование с использованием других способов — использование систем транспозона/транспозаза («Sleepingbeauty» или «Piggybag»). Сконструированные таким образом Т-лимфоциты с химерным рецептором активируют в среде, обогащенной определенным пулом цитокинов, в специальном биореакторе, и после контроля качества созданного клеточного препарата вводятся дозированно пациенту [22]. Активация Т-лимфоцитов необходима для последующей экспансии (размножения) клеток и эффективной трансдукции ретровирусными и/или лентивирусными векторами. Наиболее часто используется

активация с использованием специального реагента — анти-CD3/CD28-антител, иммобилизованных на магнитном носителе разного размера в присутствии таких цитокинов, как ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-15 или других активационных, модулирующих цитокинов [23,24]. Пулы цитокинов обычно являются ноу-хау компаний, которые позволяют получить наиболее эффективный продукт. В последующем полученные таким образом клеточные линии, состоящие из определенных субпопуляций, в основном цитотоксических лимфоцитов, подвергаются контролю для определения функциональной активности клеток, их микробиологической безопасности и эффективности трансдукции. Полученный персонифицированный препарат вводят в организм человека однократно или курсами, в зависимости от технологии применения, и такой порядок введения часто тоже является особенностями применения этих препаратов.

Следует отметить, что в современной иммунотерапии CAR-T-терапия вызвала колоссальный интерес в связи с неожиданными блестящими результатами. Наиболее эффективные результаты достигнуты в онкогематологии, в частности, при лечении острого лимфолейкоза CAR-T. По данным разных авторов, полная ремиссия достигается у 67–90% больных [25], что является очень хорошим результатом для данной патологии.

В большинстве опубликованных исследований использовался технологический процесс производства CAR-T-клеток, основанный на доставке трансгена CAR с помощью относительно иммуногенных ретровирусных или лентивирусных векторов, которые обеспечивают технологию генного редактирования. В процессе исследования было выяснено, что по целому ряду свойств лентивирусы оказались более эффективными и безопасными по сравнению с ретровирусами. Поэтому на первый план использования данной технологии выходят наличие библиотек ленти- и ретровирусов. Информации о разработке, создании, производстве и хранении этих вирусов немного, она недоступна большинству интересующихся исследователей и требует создания отдельных междисциплинарных вирусологических и молекулярно-биологических научных направлений в специализированных подразделениях (лабораториях). Чем шире представлены вирусы, используемые для создания векторов, тем более широкий спектр трансгендеров может быть создан с уникальными свойствами, которые будут реализованы в химерном рецепторе для целевой иммунотерапии. Альтернативой вирусным векторам может стать применение транспозонов, фрагментов ДНК, способных перемещаться как целостные структуры [26], однако

это направление находится в стадии разработки, информации о практическом ее применении крайне мало.

В настоящий момент научные исследования проводятся в основном на лентивирусах в целях разработки на их основе векторов. Известно о трех поколениях лентивирусных векторов. Первые лентивирусные векторные системы содержали три плазмиды: трансферную (transfer), оболочечную (envelope) и упаковочную (packaging).

Упаковочная плазида содержала большую часть генома исходного вируса (структурные, ферментативные, регуляторные и вспомогательные последовательности) и не включала гены, кодирующие поверхностные белки вириона. Именно эти гены нужны для связи с клеткой и проникновения внутрь клетки, что является ключевым этапом репликативного цикла. Следовательно, такие векторные системы (с удаленным геном env) к репликации уже неспособны, однако уметь проникать в клетку они все же должны, иначе не совсем понятно, как они смогут доставить туда целевые гены, которые созданы на основе секвенирования отдельных участков целевой (опухольной) клетки и которые являются специфическим паттерном для цитотоксического взаимодействия рецептора иммунной клетки.

Для помощи векторной частице в связывании с рецепторным белком на поверхности клетки необходима оболочечная плазида, несущая последовательность вирусного гликопротеина, такого как оболочечный гликопротеин G вируса везикулярного стоматита VSV-G.

Данная технология, основанная на общем свойстве большинства ретровирусов возможности формировать так называемые псевдотипы (частицы, в оболочку которых включается поверхностный белок какого-то другого вируса), позволила расширить диапазон поражаемых ими клеток. Псевдотипированные белком VSV-G векторы обладают уникальными преимуществами: большей стабильностью, способностью связываться с аroB, E (Scavenger) рецепторами, участвующими в интернализации липопротеинов низкой плотности, присутствующими на поверхности множества макрофагов и эндотелиальных клеток печени, что и определяет широкий тропизм этих частиц [13]. Существуют и другие варианты псевдотипирования векторов, которые в настоящее время изучаются в целях расширения их тропизма.

Еще один компартмент векторной системы первого поколения — трансферная плазида — несет целевой специфический трансген, необходимый для сворачивания вирусной РНК в вирион путем использования технологии пси-петли.

После контролируемого внесения в клетки трех вышеуказанных плазмид в таргетных клетках осуществляется сборка вирусных частиц, после чего эти вирусные векторы (частицы) выходят из клетки во внешнюю среду, при этом такие векторы имеют способность проникать в клетку и вносить генетический материал, но лишены возможности к размножению. Способность к размножению у этих частиц может возникнуть вновь, но для этого необходима рекомбинация генетического аппарата с природными ленти- и ретровирусами.

Сегодня ученые и производители векторов для обеспечения большей безопасности продолжают эксперименты с исходным геномом лентивирусов путем разбивки на большее количество плазмид, одновременно удаляя участки генов или модифицируя их исключительно для выполнения необходимого функционала. Именно такая стратегия и легла в основу разработки и создания лентивирусных векторов второго и третьего поколений.

Полученные предварительные результаты использования новых векторов на основе вторых и третьих поколений лентивирусов согласно регистру клинических испытаний ClinicalTrials.gov показали функциональность этих разработок и сейчас их уже тестируют более чем в 4000 исследований. Количество испытаний новых незарегистрированных продуктов на основе лентивирусных векторов растет по экспоненте, например, в 2017 году было проведено только 200 тестирований, а в 2020-м – уже более 600 [27].

Практическим выходом на фоне такого экспоненциального роста технологий производства лентивирусных векторов становятся новые генетические препараты, разрешенные в западных странах: Zynteglo (Bluebirdbio, Массачусетс, США) – для лечения бета-талассемии, Kymriah (Novartis, Базель, Швейцария) – для лечения онкогематологических болезней [27].

Оба эти генетических препарата (технологии) используют для лечения аутологичных генномодифицированных клеток крови пациентов, однако в швейцарских препаратах применяется дополнительное технологическое решение, связанное с внедрением генов с целью видоизменения поверхностного рецептора Т-лимфоцитов. После такого видоизменения (модификации) рецепторы получают дополнительную возможность распознавать таргетные, специфичные паттерны на опухолевых клетках, при этом модифицированные таким образом Т-лимфоциты пациентов получают более эффективную систему для распознавания, прикрепления и обеспечения цитолитического эффекта определенного типа злокачественных blastov.

Таким образом, самым важным направлением с точки зрения фундаментальности является разра-

ботка генетических продуктов для эффективной генной терапии на основе новых векторов-носителей (частиц), которые в последующем будут применены в CAR-терапии. Так, в настоящее время исследователи занимаются разработкой неинтегрирующихся лентивирусных векторов (*non-integrating lentiviral vectors*, NILVs). Определенные перспективы в создании генетических продуктов для CAR-терапии представляет использование их совместно с революционной, но пока еще не вошедшей в практику технологией CRISPR/Cas9. По мнению многих исследователей, использование CRISPR/Cas9-технологии позволит значительно улучшить и ускорить технику генного редактирования для создания библиотеки новых вирусов, векторов и, как следствие, продуктов для CAR-терапии.

Анализируя известные на сегодняшний день результаты CAR-T-терапии, по-видимому, следует отметить два момента: 1-й – безусловно, адаптивная клеточная терапия открыла огромные просторы для эффективной иммунотерапии при самых фатальных, безнадежных заболеваниях; 2-й – было бы наивно ожидать полной и окончательной победы с применением CAR-T-терапии. Несомненно, первоначальные технологии применения CAR-T будут дорабатываться и обрастать новыми находками, повышающими эффективность адаптивной клеточной терапии, начатой с самых примитивных методов более века назад.

Чаще всего CAR используют в борьбе с лимфомами, лейкозами, миеломной болезнью, где был достигнут наибольший прогресс. Важно отметить тот факт, что с 2021 года Европейское агентство по лекарственным средствам (EMA) и Управление по контролю за продуктами и лекарствами в США (FDA) одобрили применение первых препаратов на основе CAR-T – Идекабтагена виклейсел (ide-cel) и Цилтакабтагена аутолейсел (cilta-cel). Несмотря на высокую стоимость, ограничивающую широкое применение этих препаратов, есть определенная уверенность в том, что будут найдены оптимальные технологии для снижения стоимости этих средств. Наиболее активно этот вид терапии и производства развит в США, Германии, Японии, Китае, Индии. В нашей стране в ФГБУ «НМИЦ Гематологии» Минздрава России разработан и проходит клинические испытания 1/2 фазы препарат анти-CD19 CAR-T для терапии против клеток, несущих CD19, а именно практически всех В-лимфоцитов. В основном он направлен против В-клеточного острого лимфобластного лейкоза и различных неходжкинских лимфом. Если говорить о стадиях, то вообще сейчас CAR-T применяют для тех пациентов, у кого нет других вариантов, то есть это третья и следующие линии терапии. Но важно, что эффективность зависит от сте-

пени предлечения, поэтому мы сейчас уже ясно понимаем, что эффективнее будет начинать такую терапию на более раннем этапе лечения [17].

Сам метод лечения на основе химерного рецептора в 10 раз увеличил частоту достижения ремиссии, по сравнению с используемыми ранее способами терапии. Также он на 70% уменьшил риск смерти от онкогематологического заболевания.

Использование данной технологии для солидных опухолей носит пока экспериментальный характер, в тоже время при ряде видов рака иммунотерапия CAR-T-клетками имеет перспективы. Прежде всего, это такие виды, как немелкоклеточный рак лёгкого, меланома, рак простаты, рак почки, глиома, остеосаркома, рак яичников, желудочно-кишечные стромальные опухоли, мезотелиома, рак шейки матки и др.

Сегодня существует несколько направлений, по которым развивается CAR-терапия солидных опухолей. Использование универсальной системы UniCA позволяет реализовывать цитотоксический эффект сразу на множество мишеней, а также менять эти мишени уже после начала терапии. При необходимости химерный рецептор, размещенный на иммунокомпетентных клетках, должен становиться неактивным, что позволит предотвратить тяжелые осложнения лечения. Вторая система, которая позволяет повышать эффективность и безопасность этого типа иммунотерапии, – SUPRA CAR. Это модульная CAR-система с использованием мотива лейциновой молнии. SUPRA означает «разделяемая, универсальная и программируемая» (split, universal and programmable). С помощью этой системы появляется возможность выбрать разные таргеты на опухолевых клетках, без дополнительных манипуляций с иммунными клетками пациента. Одним из важных уникальных свойств технологии SUPRA CAR является возможность изменения параметров, способных регулировать ответ Т-лимфоцитов, в том числе, когда необходимо снизить их чрезмерную активацию, что характерно для любого механизма иммунной реакции [17]. Использование этих двух технологий особенно важно при генной терапии солидных опухолей, у которых имеются специфические особенности, характерные для опухолевой трансформации: изменчивость рецепторных структур (паттернов) в процессе онкогенеза и CAR или иных видов терапии благодаря снижению экспрессии антигенов или видоизменяя их вследствие мутаций, высокий риск развития цитокинового шторма, невозможность проникновения внутрь солидных опухолей, особенно когда их размеры значительны [17].

В ближайшем будущем, несомненно, будут приняты широкие интенсивные исследования, прежде

всего направленные на борьбу с отрицательными побочными эффектами: синдромом высвобождения цитокинов, анафилаксией, клеточной аплазией, повышением риска тяжелых инфекций, неврологической токсичностью с отёком мозга и рядом других тяжелых последствий. И, безусловно, будет расширяться сфера применения CAR-терапии не только в онкологии и гематологии, но и при самых различных заболеваниях, затрагивающих воздействие иммунной системы на патологический процесс, прежде всего, это аутоиммунные заболевания, и трансплантация органов и тканей [28,29]. Определенный интерес вызывают и первые результаты применения CAR-NK-клеток и CAR-NKT-клеток. Полагают, что данная терапия может стать успешной, если будет разработана соответствующая технология для целевого использования цитотоксических иммунных клеток [30]. Первые многоцентровые исследования дали положительный эффект применения этих новых направлений CAR-терапии, основанной на генетических продуктах.

Список литературы

1. Бергольц В.М., Кисляк Н.С., Еремеев В.С. *Иммунология и иммунотерапия лейкоза*. – М.: Медицина, 1978. – 408 с.
2. Swann J., Smyth M. *Immune surveillance of tumors // J.Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117. – P. 1137–1146.
3. Павлов А.В., Смолин А.В., Казаков С. П. и др. *Потенциальные предикторы эффективности иммунотерапии // Медицинский вестник ГВКГ им. Н.Н. Бурденко*. – 2021. – № 3. – С. 63–69.
4. Казаков С.П., Мишина Т.Е., Соловьев С.С. *Противоопухолевый иммунитет. Реализованные и перспективные контрольные точки в иммунотерапии солидных опухолей. Возможности по мониторингу иммунотерапии // Лабораторная служба*. – 2019. – Т. 8. – С. 31.
5. Hall J. *Lymphocyte transfusions and the adoptive immunotherapy of cancer // Colloq. Int. Centre Nat. Res. Sci. Paris*. – 1970. – Vol. 185. – P. 139–144.
6. Curtis J., Hersh E., Freireich E. *Antigen-specific immunity in recipients of leukocytes transfusions from immune donors // Cancer Res.* – 1970. – Vol. 30. – P. 2921–2929.
7. Freedman I., Cerottini J., Brunner K. *In vivo studies of the role of cytotoxic T cells in tumor allograft immunity // J. Immunol.* – 1972. – Vol. 109. – P. 1371–1378.
8. Mathe G., Pouillard P., Schwarzenberg L., Schneider M. *Transfusions of lymphocytes from*

non-immunized or immunized donors in mice leukemic therapy // *Colloc.Int. Centre Nat. Rech. Sci. Paris.* - 1970. - Vol. 185. - P. 197-204.

9. Lawrence H. The transfer in humans of delayed skin sensitivity to streptococcal M substance and tuberculin with disrupted leukocytes // *J. Clin. Invest.* - 1955. - Vol. 34. - P. 219-230.

10. Lawrence H., Al-Askau S., David J. et al. Transfer of immunologic information in humans with dialysates of leukocyte lysates // *Trans. Assoc. Am. Phys.* - 1963. - Vol. 76. - P. 84-91.

11. Goust J., Marescot M., Lesourd B. et al. Characterization of human dialyzable transfer factor from normal and chronic lymphoid leukemia sources // *Biomedicine.* - 1976. - Vol. 24. - P. 39-44.

12. Rosenberg S., Packard B., Aebersold P. et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report // *N. Engl. J. Med.* - 1988. - Vol. 3119. - P. 1676-1680.

13. Ping Y., Liu C., Zhang Y. T-cell receptor-engineered T cells for cancer treatment: current status and future directions // *Protein Cell.* - 2018. - Vol. 9. - P. 254-266.

14. Kuwana Y., Asakura Y., Utsunomiya N. et al. Expression of chimeric receptor composed of immunoglobulin-derived V regions and T-cell receptor-derived C regions // *Biochemical and Biophysical Research Communications.* - 1987. - Vol. 149. - P. 960-968.

15. Eshhar Z., Bach N., Fitzer-Attas C. et al. The T-body approach: potential for cancer immunotherapy // *Springer Seminars in Immunopathology.* - 1996. - Vol. 18. - P. 199-209.

16. Шамова Т.В., Ситковская А.О., Ващенко Л.Н., Кеchedжиева Э.Э. Адоптивная клеточная терапия: достижения последних лет // *Южно-российский онкологический журнал.* - 2020. - № 1. - С. 43-59.

17. CAR-T терапия рака // <https://bookinghealth.net/blog/lechenie/diagnostika-i-lechenie/603864-car-t-terapiya-raka.html> (дата обращения 09.09.2024)

18. Семочкин С.В. CAR T-клеточная терапия множественной миеломы по материалам конгрессов ASH 2021 и ASCO-2022 // *Клиническая онкогематология.* - 2023. - № 1. - С. 1-13.

19. Линге И. Как первые российские CAR-T-клетки с опухолью боролись // <https://biomolecula.ru/articles/kak-pervye-rossiiskie-car-t-kletki-s-opukholiu-borolis> (дата обращения 09.09.2024)

20. Wang X., Rivière I. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy // *Mol Ther Oncolytics* 2016 Jun 15;3:16015. doi: 10.1038/mt.2016.15. eCollection 2016.

21. Кулемзин С.В., Кузнецова В.В., Мамонкин М. и др. Основы дизайна химерных антигенных рецепторов // *АКТА NATURAE.* - 2017. - Т.9. - № 1 (32). - С. 6-15.

22. Gill S., Maus M., Porter D. Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25 years in the making // *Blood Rev.* - 2016. - Vol. 30. - P. 157-167.

23. Kochenderfer J., Dudley M., Kassim S. et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor // *J Clin Oncol.* - 2015. - Vol. 33. - P. 540-549.

24. Wang X., Stefanski J., Borquez-Ojeda O. et al. Comparison of CTS Dynabeads CD3/CD28, Miltenyi TransAct CD3/28 and ExpAct beads for large-scale CAR T cell manufacturing / *European Society of Gene and Cell Therapy Collaborative Congress.* - Helsinki, 2015. - A31.

25. Павлова А.А., Масчан М.А., Пономарев В.В. Адоптивная иммунотерапия генетически модифицированными Т-лимфоцитами, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы // *Онкогематология.* - 2017. - №1. - С. 17-32.

26. Лаптев И.А., Раевская Н.М., Филимонова Н.А., Синецкий С.П. Транспозон piggyBac как инструмент для генетической инженерии // *Биотехнология.* - 2016. - № 6. - С. 35-44.

27. Comisel R., Kara B., Fiesser F. et al. Lentiviral vector bioprocess economics for cell and gene therapy commercialization // *Biochemical Engineering Journal* 167 (2021) 107868 doi.org/10.1016/j.bej.2020.107868.

28. Zhang Q., Lu W., Liang C. et al. Chimeric Antigen Receptor (CAR) Treg: a promising approach to inducing immunological tolerance // *Front Immunol.* 2018 Oct 12;9:2359. doi: 10.3389/fimmu.2018.02359. eCollection 201

29. Mougiakakos D., Krönke G., Völkl S. et al. cd19-targeted car t cells in refractory systemic lupus erythematosus // *N England Journal of Medicine.* - 2021. - Vol. 385. - P. 567-569.

30. Xin Yu, Hubbard-Lucey V., Tang J. The global pipeline of cell therapies for cancer // *Nature Reviews Drug Discovery.* - 2019. - Vol. 18. - P. 821-822.