

---

## ОГЛЯД ЛИТЕРАТУРИ

---

УДК: 615.37:616-006

ПАВЕЛ ПАВЛОВИЧ СОРОЧАН, АЛЕКСАНДР СЕРГЕЕВИЧ ДУДНИЧЕНКО,  
ИРИНА АНДРЕЕВНА ГРОМАКОВА, НАТАЛЬЯ ЭДУАРДОВНА ПРОХАЧ,  
ИННА СЕРГЕЕВНА ГРОМАКОВА

ГУ «Институт медицинской радиологии им. С. П. Григорьева НАМН Украины», Харьков

### ПРИМЕНЕНИЕ В ОНКОЛОГИИ ГЕНЕТИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ, ЭКСПРЕССИРУЮЩИХ ХИМЕРНЫЕ АНТИГЕННЫЕ РЕЦЕПТОРЫ

В обзоре обобщен клинический опыт применения CAR Т-клеточной терапии у больных неходжкинской лимфомой, хроническим лимфоцитарным лейкозом, острым лимфобластным лейкозом и солидными опухолями. Описаны проблемы на пути CAR Т-клеточной терапии солидных опухолей и токсические эффекты иммунотерапии.

**Ключевые слова:** иммунотерапия, CAR Т-клетки, онкология.

В течение десятилетий основными методами противоопухолевого лечения оставались хирургическое лечение, лучевая терапия и химиотерапия, эффективность которых при лечении диссеминированных опухолей на сегодняшний день представляется незначительной. Однако в последние годы все большую эффективность при генерализованных онкологических заболеваниях показывает иммунотерапия. Одним из многообещающих подходов является адоптивный перенос генетически модифицированных Т-клеток, экспрессирующих химерные антигенные рецепторы. В данном обзоре представлены результаты анти-CD19 CAR Т-клеточной терапии больных неходжкинской лимфомой, хроническим лимфоцитарным лейкозом, острым лимфобластным лейкозом. Освещены также результаты CAR-Т-клеточной терапии больных солидными опухолями и рассмотрены сложности, с которыми сталкиваются при ее проведении у таких пациентов. Описаны токсические эффекты терапии.

#### СТРУКТУРА ХИМЕРНОГО АНТИГЕННОГО РЕЦЕПТОРА

Генетическая модификация Т-клеток, приводящая к синтезу химерных Т-клеточных рецепторов (chimeric antigen receptor (CAR)), является наиболее общим методом получения опухоль-специфических Т-клеток. CAR обычно включает следующие компоненты: антиген-распознающий домен (мышинный или

гуманизированный одноцепочечный фрагмент (scFv) иммуноглобулина), шарнирный или спейсерный домен, одну или несколько костимуляторных молекул (CD28 или 4-1BB (CD137)) и основной сигнальный домен, обычно CD3 $\zeta$ . Первое поколение CAR Т-клеток несло только антиген-распознающий домен и внутриклеточный CD3 $\zeta$  сигнальный домен, тогда как второе и третье поколение включало, соответственно, одну или две костимуляторные молекулы, активация которых усиливала пролиферацию Т-клеток, секрецию цитокинов, резистентность к апоптозу и *in vivo* персистенность [1, 2]. CAR Т-клетки четвертого поколения, известные как TRUCK клетки (T cell redirected for universal cytokine-mediated killing), секретуют трансгенный IL-12 или другие провоспалительные цитокины. TRUCK усиливают Т-клеточную активацию и дополнительно привлекают клетки врожденного иммунитета для уничтожения антиген-негативных опухолевых клеток, не обнаруживаемых CAR Т-клетками [2, 3].

Распознавание антигена антиген-распознающими доменами химерных рецепторов не зависит от наличия молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС), что является весьма важным, поскольку многие опухолевые клетки характеризуются сниженной экспрессией молекул МНС или ее отсутствием [4].

#### ПОЛУЧЕНИЕ CAR Т-КЛЕТОК

Получение CAR Т-клеток, как и других популяций клеток для клеточной иммунотерапии, начинается со сбора мононуклеарных клеток периферической

---

© П. П. Сорочан, А. С. Дудниченко, И. А. Громакова,  
Н. Э. Прохач, И. С. Громакова, 2018

крови с использованием стандартной процедуры лейкофереза. Отбор Т-клеток осуществляется посредством афереза. Затем проводится активация Т-лимфоцитов. В ряде протоколов перед этим этапом выполняется выделение отдельных субпопуляций лимфоцитов методом иммуномагнитной селекции. Наиболее часто активация Т-клеток осуществляется парамагнитными носителями, покрытыми анти-CD3 и анти-CD28 антителами в присутствии интерлейкина-2 или других цитокинов [5, 6]. Более сложным подходом является активация с применением антиген-презентирующих клеток пациента или искусственных антиген-презентирующих клеток [7, 8].

Активированные клетки подвергаются генетической модификации, для которой зачастую используют вирусные векторы, полученные из РНК-содержащих г-ретровирусов и лентивирусов. Путем обратной транскрипции происходит встраивание вектора и переносимого генетического материала непосредственно в геном клетки-мишени, что обеспечивает их постоянную экспрессию [5, 9].

Для переноса генетического материала в Т-клетки используются также невирусные методы, такие как электропорация. Перенос генетического материала внутрь клетки происходит через поры в мембране, образующиеся под воздействием импульсного электрического воздействия. Для генетической модификации методом электропорации может использоваться матричная РНК, кодирующая молекулу химерного Т-клеточного рецептора, или плазмиды, содержащие промоторы и соответствующие гены CAR. Использование м-РНК ведет к кратковременной, в течение 1–2 недель, выработке рецептора. Экспрессия плазмидных генов наблюдается более продолжительное время [10]. Кратковременная выработка CAR требует многократных повторных инфузий Т-клеточного препарата, но делает продукт менее токсичным, что позволяет избежать тяжелых осложнений.

Лечебные дозы модифицированных Т-клеток получают путем экспансии в биореакторах различных типов с применением цитокинов, поддерживающих пролиферацию Т-лимфоцитов. Стимуляция пролиферации может осуществляться с помощью искусственных антиген-презентирующих клеток. Так, клеточная линия K-562, экспрессирующая CD32, CD64, CD86, CD137 и мембранную форму ИЛ-15, используется для клинических испытаний CD19-специфичных CAR Т-клеток [11].

Перед введением клеток пациенту осуществляется контроль качества клеточного продукта — проверка на микробиологическую безопасность, эффективность трансдукции и функциональную активность Т-лимфоцитов [5, 9].

## В-КЛЕТОЧНЫЕ ЛИМФОМЫ

Антигеном-мишенью CAR Т-клеточной терапии при злокачественных В-клеточных заболеваниях является CD19. Антиген представляет собой идеальную мишень, поскольку экспрессируется исключительно В-клетками на всех этапах дифференцировки (кроме

плазматических клеток) и на более чем 95 % клеток, которые подверглись неопластической трансформации, и не экспрессируется другими тканями [12, 13].

Необходимым условием применения CAR Т-клеточной терапии при гематологических злокачественных заболеваниях является предшествующее проведение лимфоистощающей химиотерапии, включающей главным образом флударабин и циклофосфамид. Лимфоистощение облегчает *in vivo* экспансию и персистенность CAR Т-клеток [14].

Терапевтический потенциал применения анти-CD19 CAR Т-лимфоцитов исследован у больных В-клеточными лимфомами. В исследовании Пенсильванского университета в когорте 38 пациентов с различными вариантами рецидивных/рефрактерных (P/P) В-клеточных лимфом общая частота ответа составила 68 %, а выживаемость без прогрессирования — 62 % при медиане наблюдения 11 мес. [15]. При лечении CAR Т-клетками 28 больных диффузной крупноклеточной В-лимфомой и фолликулярной лимфомой общая частота ответа составила 64 %. Полную ремиссию отмечали у 43 % больных крупноклеточной В-лимфомой и у 71 % больных фолликулярной лимфомой. CAR-клетки определялись в крови и костном мозге всех пациентов, получавших лечение. Ремиссия сохранялась от 7,7 до 37,9 мес. с медианой 29,3 мес. [16].

В мультицентровом испытании 2 фазы (ZUMA-1, NCT02348216) анти-CD19 CAR Т-клеточный препарат аксикабтаген силолейсел (axi-cel) был введен 101 пациенту после применения миелоаблативного режима кондиционирования, включавшего низкие дозы флударабина и циклофосфамида. Частота объективных ответов составила 82 % и полных — 54 %. При медиане наблюдения 15,4 мес. ответ присутствовал у 42 % пациентов, а у 40 % больных сохранялся полный ответ. 18-месячная выживаемость составила 52 %. В качестве наиболее общих побочных эффектов наблюдались лихорадка, нейтропения, анемия. Синдром высвобождения цитокинов и нейротоксичность 3 степени и выше наблюдали у 13 и 28 % пациентов, соответственно [17].

На основании высокой эффективности данного препарата управление по контролю за пищевыми продуктами и лекарственными средствами США (Food and Drug Administration (FDA)) одобрило применение аксикабтаген силолейсела (Yescarta) для лечения крупноклеточных В-лимфом у взрослых при неэффективности двух и более режимов лечения.

Эффективность CAR Т-клеточной терапии у больных лимфомой подтверждается и предварительными результатами двух незавершенных крупных испытаний. В мультицентровом исследовании II фазы (JULIET, NCT02445248) лечение 4–1BB CAR Т-клетками (CTL019) было проведено взрослым пациентам с P/P диффузной крупноклеточной лимфомой. На момент проведения анализа одну дозу CTL019 после лимфоистощающей химиотерапии получило 85 человек. У пациентов, наблюдавшихся более 3 мес., частота общих ответов составила 59 % и полных — 43 % [18]. В мультицентровом исследовании I фазы (TRANSCEND NHL 001) проанализированы

результаты лечения 67 больных неходжкинской лимфомой препаратом JCAR017, 4–1BB CAR T-клеточным продуктом, содержащим CD8+ и CD4+CAR T-клетки в соотношении 1:1. Частота общих ответов составила 51 %, полных — 39 % [19].

### ХРОНИЧЕСКИЙ ЛИМФОЦИТАРНЫЙ ЛЕЙКОЗ

Результаты терапии CAR T-клетками больных хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ) представлены исследованиями, включавшими небольшое число пациентов. В работе Porter et al. [20] была определена оптимальная доза CD19-специфических CAR T-клеток (CTL019), применение которой у 17 пациентов с Р/Р ХЛЛ вызвало 6 полных и 3 частичных ответа. У 5 пациентов медиана длительности полного ответа составила 26 мес. Экспансия CAR T-клеток коррелировала с ответом на терапию. В исследовании Turtle et al. [21] лечение анти-CD19 CAR T-клетками после лимфоистощающей химиотерапии было проведено 24 пациентам, у 19 из которых заболевание прогрессировало при лечении ибрутинибом. Через 4 недели после инфузии CAR T-клеток величина общего ответа составила 71 %. У 7 пациентов (29 %) была достигнута полная ремиссия без выявления минимальной остаточной болезни (МОБ). У 83 % пациентов развился синдром освобождения цитокинов и у 33 % — нейротоксичность, которые были обратимы, за исключением одного фатального случая.

### ОСТРЫЙ ЛЕЙКОЗ

Наилучшие результаты терапии CD19 CAR T-клетками были достигнуты у детей и подростков, больных острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ). В большом мультицентровом исследовании (ELIANA; NCT02435849), включавшем 68 детей и юношей с Р/Р ОЛЛ, частота МОБ-негативных ремиссий составила 83 % [22]. 6-месячная безрецидивная (БРВ) и общая выживаемость (ОВ) составили 75 % и 89 % соответственно. Длительная ремиссия после анти-CD19 CAR T-клеточной терапии отмечена у детей и юношей, проходивших лечение в детской больнице Филадельфии (СНОР). 12-месячная БРВ и ОВ составили соответственно 45 и 78 %, [23]. На основании этих результатов анти-CD19 CAR T-клеточный продукт tisagenlecleucel был одобрен FDA для лечения больных ОЛЛ, рефрактерным к лечению или со вторым или более поздним рецидивом в возрасте до 25 лет.

В недавнем клиническом испытании, включавшем взрослых больных ОЛЛ, был протестирован анти-CD19 CAR T-клеточный препарат, соотношение CD4+ и CD8+CAR T-клеток в котором составляло 1:1 [24]. Костномозговая ремиссия была достигнута у 27 из 29 (93 %) пациентов. Авторами показано, что опухолевая нагрузка является важным фактором, влияющим на экспансию CAR T-клеток. Экспансия как CD8+, так и CD4+ CAR T-клеток была в среднем в 100 раз выше у пациентов с содержанием бластов 5 % и более по сравнению с отмеченной у пациентов, имеющих менее 5 % бластов. В связи с этим пациенты с большей опухолевой нагрузкой для минимизации

токсичности могут изначально получать низкие дозы CAR T-клеток, в то время как более высокие или повторяющиеся дозы CAR T-клеток могут быть необходимы для лечения при минимальной опухолевой антигенной нагрузке.

### СОЛИДНЫЕ ОПУХОЛИ

Проведение адоптивной CAR T-клеточной терапии больным с солидными опухолями сталкивается с рядом проблем. Одной из таких проблем является идентификация опухоль-ассоциированных антигенов-мишеней. Потенциальные целевые антигены часто экспрессируются нормальными тканями, что может вызывать нецелевую (off-target) токсичность. Гетерогенная экспрессия поверхностных антигенов опухолевыми клетками также ограничивает эффективность адоптивной иммунотерапии. Опухолевыми мишенями, против которых созданы к настоящему времени CAR T-клетки, являются раково-эмбриональный антиген (carcinoembryonic antigen, CEA) [25], диганглиозид GD2 [26], мезотелин [27],  $\alpha$ -цепь рецептора интерлейкина 13 (IL-13R $\alpha$ ) [28], рецептор эпидермального фактора роста (human epidermal growth factor receptor-2, HER2) [29], вариант III рецептора эпидермального фактора роста I (EGFRvIII) [30], муцин-1 [31], муцин-16 [32], карбоновая ангидраза IX (CA-IX) [33], простатспецифический мембранный антиген (PSMA) [34] и др.

Ограничению эффективности CAR T-клеточной терапии может способствовать иммуносупрессорное опухолевое окружение многих солидных опухолей. Иммуносупрессия опосредована главным образом иммуносупрессорными клетками, такими как регуляторные T-клетки, супрессорные клетки миелоидного происхождения и опухоль-ассоциированные M2 макрофаги. Опосредованное этими клетками истощение локального уровня триптофана в опухолевом микроокружении и продукция ингибиторных цитокинов, таких как ИЛ-4, ИЛ-10, ингибиторного фактора лейкоза и ТФР- $\beta$ , оказывают негативное влияние на функциональную активность T-клеток. Простагландин E2 и аденозин, освобождаемые в больших количествах опухолевыми клетками и макрофагами в условиях гипоксии, ингибируют пролиферацию T-лимфоцитов посредством активации рецепторов, сопряженных с G-белками, и протеинкиназы A [35, 36].

Еще одной проблемой при проведении терапии является нарушение миграции CAR T-клеток в опухоль. При улучшении миграции CAR T-клеток в опухоль отмечается усиление противоопухолевого иммунного ответа [37]. Перенос CAR T-клеток в опухолевые сайты требует экспрессии и связывания рецепторов адгезии как на T-клетках, так и на эндотелиальной выстилке опухоли. Кроме того, рецепторы хемокинов CAR T-клеток должны соответствовать хемокинам, секретлируемым опухолями. Peng et al. [38] показали, что миграция T-клеток в опухолевые сайты может быть увеличена сверхэкспрессией CXCR2, распознающими продуцируемой опухолью CXCL1. Di Stasi et al. [39] на модели ксенотрансплантата мыши

продемонстрировали, что экспрессия CCR4 на CD30 CAR T-клетках усиливает миграцию этих клеток к клеткам лимфомы Ходжкина, секретирующей CCL17. Экспрессия CCR2b на GD2 CAR T-клетках вызывала более чем 10-кратное увеличение хоминга по отношению к клеткам нейробластомы, секретирующим CCL2 [40]. Разрушение опухолевой стромы также рассматривают в качестве стратегии, направленной на увеличение доставки CAR T-клеток в опухоли. Для облегчения инфильтрации CAR T-клеток Gauguana et al. [41] получили CAR T-клетки, сверхэкспрессирующие гепараназу, фермент, деградирующий основные компоненты субэндотелиальной базальной мембраны и экстраклеточного матрикса (ЭКМ), такие как гепарансульфат протеогликаны. Модифицированные CAR T-клетки, экспрессирующие гепараназу, обладали лучшей способностью разрушать ЭКМ, стимулировали T-клеточную инфильтрацию и противоопухолевую активность.

Полагают, что непосредственная доставка CAR T-клеток в опухоли может компенсировать низкую миграцию T-клеток и позволит избежать системной токсичности, связанной с внутривенным введением. Adusumilli et al. [42] показали, что интраплевральное введение CAR T-клеток оказывает больший противоопухолевый эффект при использовании меньших доз по сравнению с внутривенным введением. Местное введение вызывало также эффективное уничтожение экстраклеточных опухолевых очагов. Терапевтический эффект зависел от ранней CD4<sup>+</sup>-T-клеточной активации, ассоциированной с более высоким соотношением CD4/CD8 и CD28-зависимой, опосредованной CD4<sup>+</sup>-T-клетками цитотоксичностью. Brown et al. [28] описали результаты лечения больного глиобластомой, введение CAR T-клеток которому проводили двумя интракраниальными путями. При интракраниальном введении осуществлялся контроль локального рецидивирования опухоли, но глиобластома прогрессировала в отдаленных сайтах, включая появление новых опухолевых образований. При интравентрикулярном введении CAR T-клеток достигалась регрессия всех опухолей центральной нервной системы, включая спинальные опухоли.

У больных с солидными опухолями CAR T-клеточные препараты проходят начальные стадии испытаний. Результаты ранних клинических исследований с использованием CAR T-клеток первого поколения были неудовлетворительными [43–45].

Противоопухолевую активность CAR T-клеточной терапии удалось показать у пациентов со злокачественными новообразованиями мозга. В клиническом испытании I фазы Louis et al. [46] сообщили о полной ремиссии у 3 (27 %) из 11 пациентов с нейробластомой, леченных GD2-специфическими CAR T-клетками первого поколения без предшествующего лимфоистощения. Персистенция CART-клеток в этом исследовании составила 192 недели. В клинических испытаниях у больных с глиобластомой оценен эффект CAR T-клеток, специфичных к трем различным антигенам — IL13R $\alpha$ 2, HER2,

EGFRvIII. Многократные интракраниальные инфузии IL-13R $\alpha$ 2-специфических CAR T-клеток второго поколения вызвали регрессию опухоли у пациента с рецидивирующей мультифокальной глиобластомой [28]. Результатом лечения 17 больных прогрессирующей глиобластомой анти-HER2 вирус-специфическими CAR T-клетками был один частичный ответ длительностью более 9 мес. и стабилизация заболевания длительностью от 8 до 29 мес. у 7 пациентов. Медианы общей выживаемости составили 11,1 мес. после инфузии клеток и 24,5 мес. после постановки диагноза. Несмотря на отсутствие экспансии, CAR T-клетки обнаруживались в периферической крови пациентов в сроки до 12 мес. [47]. O'Rourke et al. представили результаты EGFRvIII CAR T-клеточной терапии 10 пациентов с рецидивирующей глиобластомой [48]. Авторы установили, что инфузировавшиеся внутривенно CAR T-клетки проникали в опухоль и проявляли антиген-специфическую активность. Клиническая эффективность не была определена в связи со сложностью дифференцировки между воспалением, связанным с иммунотерапией, и прогрессированием опухоли при томографическом исследовании.

Противоопухолевый эффект HER2-специфических CAR T-клеток второго поколения наблюдали у больных саркомой. У 4 из 17 пациентов, получавших CAR T-клеточную терапию, отмечена стабилизация заболевания длительностью от 12 недель до 14 мес. У трех пациентов, которым была проведена метастаз-эктомия, ремиссия сохранялась до 16 мес. [29].

В исследовании у больных немелкоклеточным раком легких терапия EGFR-специфическими CAR T-клетками приводила к стабилизации заболевания у 5 из 11 пациентов и частичному ответу у 2 пациентов и сопровождалась небольшими побочными эффектами [49].

Несмотря на неудачи применения CAR T-клеток первого поколения у больных раком грудной железы, клинические испытания адоптивной иммунотерапии у больных этой нозологии продолжают. Тестируются CAR T-клетки, экспрессирующие рецепторы, специфичные к опухолевым антигенам HER-2 (NCT01935843, NCT03060356), cMet (NCT03060356), мезотелину (NCT02580747).

## ТОКСИЧНОСТЬ CAR T-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Как и другие методы противоопухолевой терапии, CAR T-клеточная терапия может вызывать тяжелые, иногда фатальные, побочные эффекты. Одним из наиболее частых является синдром высвобождения цитокинов (СВЦ). При СВЦ наблюдается быстрое и массивное освобождение цитокинов в кровоток, источником которых являются как CAR T-клетки, так и вторичные клетки-эффекторы. Клиническими проявлениями СВ являются высокая лихорадка, общее недомогание, усталость, миалгия, тошнота, анорексия, тахикардия/гипотония, капиллярная утечка, сердечная дисфункция, почечная и печеночная недостаточность и распространенная внутрисосудистая

коагуляція [50]. Тяжеле течење сндрома може прнвести к поліорганној недостаточностн н летальному нсходу. Не выявлена четкая связь между клинической эффективностью и тяжестью СВЦ, однако у большинства пациентов, отвечающих на CAR-T терапию, отмечают по крайней мере незначительные проявления СВЦ [51].

Для оценки тяжести СВЦ Lee et al. [50] разработана система классификации, содержащая пять степеней, базирующаяся на клинических признаках и симптомах. В зависимости от тяжести лечение СВЦ может ограничиваться применением антипиретиков и проведением внутривенной регидратации или возникает необходимость антицитокиновой терапии. Полагают, что тоцилизумаб обладает меньшим токсическим эффектом в отношении эффективности CAR T-клеток по сравнению с блокаторами других цитокинов и кортикостероидами [52]. В 2017 году FDA одобрило применение препарата «Актемра» (тоцилизумаб) для лечения вызванного CAR T-клетками тяжелого или жизнеугрожающего синдрома СВЦ у пациентов от двух лет и старше.

Другим побочным эффектом CAR T-клеточной терапии является массивная гибель нормальных В-клеток, экспрессирующих CD19. В-клеточная аплазия приводит к длительной гипогаммаглобулинемии, что требует проведения заместительной иммуноглобулиновой терапии для предотвращения серьезных инфекционных осложнений [53].

Серьезным осложнением CD19 CAR T-клеточной терапии является нейротоксичность. Нейротоксичность проявляется спутанностью сознания, делирием, афазией, миоклонусом, судорогами, галлюцинациями [51, 54]. Патогенез нейротоксичности остается невыясненным. Не исключают прямого токсического эффекта CAR T-клеток на нормальные клетки центральной нервной системы, экспрессирующие таргетные антигены [55]. По данным Gust et al. [56], развитию нейротоксичности при проведении CAR T-клеточной терапии может способствовать активация эндотелиальных клеток. При тяжелой нейропатии у пациентов с рефрактерными злокачественными В-клеточными заболеваниями, получавших CD19 CAR-T клеточную терапию, наблюдали эндотелиальную активацию,

включающую диссеминированное внутрисосудистое свертывание, капиллярную утечку и увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера (ГЭБ). Увеличенная проницаемость ГЭБ создавала возможность переноса высоких концентраций сывороточных цитокинов, таких как IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , в цереброспинальную жидкость, что инициировало активацию перницитов сосудов мозга и секрецию ими эндотелиальных активирующих цитокинов. Эндотелиальная активация и мультифокальное поражение сосудов были обнаружены у пациента с фатальной нейротоксичностью [56]. Хотя нейротоксичность может наблюдаться в отсутствие СВЦ у небольшого количества пациентов, СВЦ и нейротоксичность являются связанными побочными эффектами, возникающими в результате избыточной иммунной активации CAR-T клеток или других иммунных клеток [57]. Любые факторы, которые способствуют увеличению *in vivo* числа CAR T-клеток, включая высокое время болезни, более высокую дозу CAR T-клеток, режим лимфоистощения высокой интенсивности, а также некоторые характеристики пациента (предсуществующая эндотелиальная активация, тяжелая степень тромбоцитопении) повышают риск СВЦ и/или нейротоксичности. Оптимальная схема для профилактики нейротоксичности у пациентов с высоким риском развития данной токсичности не разработана. Полагают, что эффективными могут быть эндотелиялстабилизирующие агенты [58].

Несмотря на то, что токсичность остается достаточно серьезной проблемой, клинические результаты применения CAR T-клеточной терапии подтверждают перспективность ее использования в онкологии. Достижения современной молекулярной биологии и иммунологии позволяют конструировать новые эффективные виды химерных рецепторов к различным поверхностным опухолевым антигенам. Новые CAR T-клеточные технологии, позволяющие снизить токсичность и повысить эффективность данного вида иммунотерапии, а также возможность комбинации CAR T-клеточной терапии с другими видами противоопухолевого лечения, открывают широкое поле для планирования и проведения новых доклинических и клинических испытаний.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gauthier J. Chimeric antigen-receptor T-cell therapy for hematological malignancies and solid tumors: Clinical data to date, current limitations and perspectives / J. Gauthier, I. Yakoub-Agha // *Curr. Res. Transl. Med.* — 2017. — Vol. 65, N 3. — P. 93–102.
2. Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) immunotherapy for solid tumors: lessons learned and strategies for moving forward / J. Li, W. Li, K. Huang et al. // *J. Hematol. Oncol.* — 2018. — Vol. 11. — Режим доступа: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-018-0568-6>.
3. Chmielewski M. TRUCKs: the fourth generation of CARs / M. Chmielewski, H. Abken // *Expert. Opin. Biol. Ther.* — 2015. — Vol. 15, N 8. — P. 1145–1154.
4. Antigen-Specific T-Cell Activation Independently of the MHC: Chimeric Antigen Receptor-Redirected T Cells / M. Chmielewski, A. A. Hombach, H. Abken et al. // *Front. Immunol.* — 2013. — Vol. 4. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3822734/>
5. Wang X. Clinical manufacturing of CAR T cells: foundation of a promising therapy / X. Wang, I. Riviere // *Mol. Ther. Oncolytics.* — 2016. — Vol. 3. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4909095/>
6. Comparison of CTS Dynabeads CD3/CD28, Miltenyi TransAct CD3/28 and ExpAct beads for large-scale CAR T cell manufacturing / Wang X., Stefanski J., Borquez-Ojeda O. et al. // Collaborative Congress of the European Society of Gene and Cell Therapy (ESGCT) and Finnish Society of Gene Therapy (FSGT), 17–20 Sep 2015, Helsinki, Finland. — Helsinki, 2015. — A31.

7. *Trial watch: Dendritic cell-based interventions for cancer therapy* / E. Vacchelli, I. Vitale, A. Eggermont et al. // *Oncoimmunology*. — 2013. — Vol. 2, N 10. — P. e25771–e25771–15.
8. *The ABCs of artificial antigen presentation* / J. V. Kim, J. B. Latouche, I. Riviere, M. Sadelain // *Nat. Biotechnol.* — 2004. — Vol. 22, N 4. — P. 403–410.
9. *A guide to manufacturing CAR T cell therapies* / P. Vormittag, R. Gunn, S. Ghorashian, F. S. Veraitch // *Curr. Opin. Biotechnol.* — 2018. — Vol. 53. — P. 164–181.
10. *Treatment of advanced leukemia in mice with mRNA engineered T cells* // D. M. Barrett, Y. Zhao, X. Liu et al. // *Hum. Gene Ther.* 2011. — Vol. 22, N 12. — P. 1575–1586.
11. *Singh. H. A new approach to gene therapy using Sleeping Beauty to genetically modify clinical-grade T cells to target CD19* / H. Singh, H. Huls, L. J. N. Cooper // *Immunol. Rev.* — 2014. — Vol. 257, N 1. — P. 181–190.
12. *Scheuermann R. H. CD19 antigen in leukemia and lymphoma diagnosis and immunotherapy* / R. H. Scheuermann, E. Racila // *Leuk. Lymphoma*. — 1995. — Vol. 18, N 5/6. — P. 385–397.
13. *Ghorashian S. CD19 chimeric antigen receptor T cell therapy for haematological malignancies* / S. Ghorashian, M. Pule, P. Amrolia // *Br. J. Haematol.* — 2015. — Vol. 169, N 4. — P. 463–478.
14. *Sinks, suppressors and antigen presenters: how lymphodepletion enhances T cell-mediated tumor immunotherapy* / C. A. Klebanoff, H. T. Khong, P. A. Antony et al. // *Trends Immunol.* — 2005. — Vol. 26, N 2. — P. 111–117.
15. *Sustained Remissions Following Chimeric Antigen Receptor Modified T Cells Directed Against CD19 (CTL019) in Patients with Relapsed or Refractory CD19+ Lymphomas* / S. J. Schuster, J. Svoboda, S. D. Nasta et al. // *Blood*. — 2015. — Vol. 126. — P. 183.
16. *Chimeric Antigen Receptor T Cells in Refractory B-Cell Lymphomas* / S. J. Schuster, J. Svoboda E. A. Chong et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2017. — Vol. 377, N 26. — P. 2545–2554.
17. *Axicabtagene Ciloleucel CAR T-Cell Therapy in Refractory Large B-Cell Lymphoma* / S. S. Neelapu, F. L. Locke F. L., N. L. Bartlett et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2017. — Vol. 377, N 26. — P. 2531–2544.
18. *Global pivotal phase 2 trial of the CD19-targeted therapy CTL019 in adult patients with Relapsed or Refractory (R/R) Diffuse Large B-cell Lymphoma (DLBCL) — an interim analysis* / S. J. Schuster, M. R. Bishop, C. Tam et al. // *Hematol. Oncol.* — 2017. — Vol. 35 (S2). — P. 27.
19. *High CR rates in Relapsed/Refractory (R/R) aggressive B-NHL treated with the CD19- directed CAR T-cell product JCAR017 (TRANSCEND NHL 001)* / J. Abramson, M. L. Palomba, L. Gordon // *Hematol. Oncol.* — 2017. — Vol. 35 (S2) — P. 138.
20. *Randomized, phase II dose optimization study of chimeric antigen receptor (CAR) modified T cells directed against CD19 in patients (pts) with relapsed, refractory (R/R) CLL* / D. L. Porter, N. V. Frey, J. J. Melenhorst et al. // *J. Clin. Oncology*. — 2016. — Vol. 34. — Abstract 3009.
21. *Durable Molecular Remissions in Chronic Lymphocytic Leukemia Treated With CD19-Specific Chimeric Antigen Receptor–Modified T Cells After Failure of Ibrutinib* / C. J. Turtle, K. A. Hay, L. A. Hanafi et al. // *J. Clin. Oncology*. — 2017. — Vol. 35, N 26. — P. 3010–3020.
22. *Global registration trial of efficacy and safety of CTL019 in pediatric and young adult patients with relapsed/refractory (R/R) Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL): update to the interim analysis* / J. Buechner, S. A. Grupp, S. L. Maude et al. // *Clin. Lymphoma Myeloma Leukemia*. — 2017. — Vol. 17 (Suppl.2). — P. S263–S264.
23. *Durable remissions in children with relapsed/refractory ALL treated with T-cells engineered with a CD19-targeted chimeric antigen receptor (CTL019)* / S. A. Grupp, S. L. Maude, P. A. Shaw et al. // *Blood*. — 2015. — Vol. 126, N 23. — P. 681.
24. *CD19 CAR-T cells of defined CD4+: CD8+ composition in adult B cell ALL patients* / C. J. Turtle, L. A. Hanafi, C. J. Berger et al. // *Clin. Invest.* — 2016. — Vol. 126, N 6. — P. 2123–2138.
25. *T cells that target carcinoembryonic antigen eradicate orthotopic pancreatic carcinomas without inducing autoimmune colitis in mice* / M. Chmielewski, O. Hahn, G. Rappl et al. // *Gastroenterology*. — 2012. — Vol. 143, N 4. — P. 1095–1107.
26. *A novel anti-GD2/4–1BB chimeric antigen receptor triggers neuroblastoma cell killing* / M. Prapa, S. Calderer, C. Spano et al. // *Oncotarget*. — 2015. — Vol. 6, N 28. — P. 24884–24894.
27. *Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce anti-tumor activity in solid malignancies* / G. L. Beatty, A. R. Haas, M. V. Maus et al. // *Cancer Immunol. Res.* — 2014. — Vol. 2, N 2. — P. 112–120.
28. *Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy* / C. E. Brown, D. Alizadeh, R. Starr et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2016. — Vol. 375, N 26. — P. 2561–2569.
29. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) -Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma* / N. Ahmed, V. S. Brawley, M. Hegde et al. // *J. Clin. Oncol.* — 2015. — Vol. 33, N 15. — P. 1688–1696.
30. *Rational development and characterization of humanized anti-EGFR variant III chimeric antigen receptor T cells for glioblastoma* / L. A. Johnson, J. Scholler, T. Ohkuri et al. // *Sci. Transl. Med.* — 2015. — Vol. 7, N 275. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4467166/>
31. *Retargeting of human T cells to tumor-associated MUC1: the evolution of a chimeric antigen receptor* / S. Wilkie, G. Picco, J. Foster et al. // *J. Immunol.* — 2008. — Vol. 180, N 7. — P. 4901–4909. doi: 10.1158/1078–0432.CCR-10–0192. Epub 2010 Jul 13.
32. *Successful eradication of established peritoneal ovarian tumors in SCID-Beige mice following adoptive transfer of T cells genetically targeted to the MUC16 antigen* / A. A. Chekmasova, T. D. Rao, Y. Nikhamin et al. // *Clin. Cancer Res.* — 2010. — Vol. 16, N 14. — P. 3594–3606.
33. *Treatment of metastatic renal cell carcinoma with CAIX CAR-engineered T cells: clinical evaluation and management of on-target toxicity* / C. H. Lamers, S. Sleijfer, S. van Steenbergen et al. // *Mol. Ther.* — 2013. — Vol. 21, N 4. — P. 904–912.

34. *Advanced generation anti-prostate specific membrane antigen designer T cells for prostate cancer immunotherapy* / Q. Ma, E. M. Gomes, A. S. Lo, R. P. Junghans // *Prostate*. — 2014. — Vol. 74, N 3. — P. 286–296.
35. *CAR-T cells: the long and winding road to solid tumors* / M. M. D'Aloia, I. G. Zizzari, B. Sacchetti et al. // *Cell Death and Disease*. — 2018. — Vol. 9. — Режим доступа: <https://www.nature.com/articles/s41419-018-0278-6>.
36. *Chimeric Antigen Receptors T Cell Therapy in Solid Tumor: Challenges and Clinical Applications* / H. R. Mirzaei, A. Rodriguez, J. Shepphird et al. // *Front Immunol*. — 2017. — Vol. 8. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5744011>.
37. *Tumor-derived chemokine MCP-1/CCL2 is sufficient for mediating tumor tropism of adoptively transferred T cells* / C. E. Brown, R. P. Vishwanath, B. Aguilar et al. // *J. Immunol*. — 2007. — Vol. 179, N 5. — P. 3332–3341.
38. *Transduction of tumor-specific T cells with CXCR2 chemokine receptor improves migration to tumor and antitumor immune responses* / W. Peng, Y. Ye, B. A. Rabinovich et al. // *Clin. Cancer Res*. — 2010. — Vol. 16, N 22. — P. 5458–5468.
39. *T lymphocytes coexpressing CCR4 and a chimeric antigen receptor targeting CD30 have improved homing and antitumor activity in a Hodgkin tumor model* / A. Di Stasi, B. De Angelis, C. M. Rooney et al. // *Blood*. — 2009. — Vol. 113, N 25. — P. 6392–6402.
40. *Enhanced tumor trafficking of GD2 chimeric antigen receptor T cells by expression of the chemokine receptor CCR2b* / J. A. Craddock, A. Lu, A. Bear et al. // *J. Immunother*. — 2010. — Vol. 33, N 8. — P. 780–788.
41. *Heparanase promotes tumor infiltration and antitumor activity of CAR-redirected T lymphocytes* / I. Caruana, B. Savoldo, V. Hoyos et al. // *Nat. Med*. — 2015. — Vol. 21, N 5. — P. 524–529.
42. *Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity* / P. S. Adusumilli, L. Cherkassky, J. Villena-Vargas et al. // *Sci. Transl. Med*. — 2014. Vol. 6, N 261. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4373413/>
43. *Ma Q. Genetically engineered T cells as adoptive immunotherapy of cancer* / Q. Ma, R. M. Gonzalo-Daganzo, R. P. Junghans // *Cancer Chemotherapy and Biological Response Modifiers*. — 2002. — Vol. 20. — P. 315–341.
44. *Adoptive transfer of chimeric antigen receptor re-directed cytolytic T lymphocyte clones in patients with neuroblastoma* / J. R. Park, D. L. Digiusto, M. Slovak et al. // *Mol. Ther*. — 2007. — Vol. 15, N 4. — P. 825–833.
45. *Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autologous T-lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: first clinical experience* / C. H. Lamers, S. Sleijfer, A. G. Vulto et al. // *J. Clin. Oncol*. — 2006. — Vol. 24, N 13. — P. e20–e22.
46. *Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma* / C. U. Louis, B. Savoldo, G. Dotti et al. // *Blood*. — 2011. — Vol. 118, N 23. — P. 6050–6056.
47. *HER2-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified Virus-Specific T Cells for Progressive Glioblastoma: A Phase 1 Dose-Escalation Trial* / N. Ahmed, V. Brawley, M. Hegde et al. // *JAMA Oncol*. — 2017. — Vol. 3, N 8. — P. 1094–1101.
48. *A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma* / D. M. O'Rourke, M. P. Nasrallah, A. Desai et al. // *Sci. Transl. Med*. — 2017. — Vol. 9, N 399. — Режим доступа <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762203/>
49. *Chimeric antigen receptor-modified T cells for the immunotherapy of patients with EGFR-expressing advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer* / K. Feng, Y. Guo, H. Dai et al. // *Sci. China Life Sci*. — 2016. — Vol. 59, N 5. — P. 468–479.
50. *Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome* / D. W. Lee, R. Gardner, D. L. Porter // *Blood*. — 2014. — Vol. 124, N 2. — P. 188–195.
51. *Toxicity and management in CAR T-cell therapy* / C. L. Bonifant, H. J. Jackson, R. J. Brentjens, K. J. Curran // *Mol. Ther. Oncolytics*. — 2016. — Vol. 3. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5008265/>
52. *Frey N. V. Cytokine release syndrome with novel therapeutics for acute lymphoblastic leukemia* / N. V. Frey, D. L. Porter // *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program*. — 2016. — Vol. 2016, N 1. — P. 567–572.
53. *B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells* / J. N. Kochenderfer, M. E. Dudley, S. A. Feldman et al. // *Blood*. — 2012. — Vol. 119, N 12. — P. 2709–2720.
54. *Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia* / S. L. Maude, N. Frey, P. A. Shaw // *N. Engl. J. Med*. — 2014. — Vol. 371, N 16. — P. 1507–1517.
55. *Chimeric Antigen Receptors Modified T-Cells for Cancer Therapy* / H. Dai, Y. Wang, X. Lu, W. Han // *J. Natl. Cancer Inst*. — 2016. — Vol. 108, N 7. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762203/>
56. *Endothelial Activation and Blood-Brain Barrier Disruption in Neurotoxicity after Adoptive Immunotherapy with CD19 CAR-T Cells* / J. Gust, K. A. Hay, L. A. Hanafi et al. // *Cancer Discov*. — 2017. — Vol. 7, N 12. — P. 1404–1419.
57. *Mackall C. L. CNS Endothelial Cell Activation Emerges as a Driver of CAR T Cell-Associated Neurotoxicity* / C. L. Mackall, D. B. Miklos // *Cancer Discov*. — 2017. — Vol. 7, N 12. — P. 1371–1373.
58. *Wang Z. Biomarkers of cytokine release syndrome and neurotoxicity related to CAR-T cell therapy* / Z. Wang, Han W. // *Biomark. Res*. — 2018. — Vol. 6 — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5762203/>

Статья поступила в редакцию 7.06.2018.

П. П. СОРОЧАН, А. С. ДУДНІЧЕНКО, І. А. ГРОМАКОВА, Н. Е. ПРОХАЧ, І. С. ГРОМАКОВА

ДУ «Інститут медичної радіології ім. С. П. Григор'єва НАМН України», Харків

### **ЗАСТОСУВАННЯ В ОНКОЛОГІЇ ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНИХ Т-ЛІМФОЦИТІВ, ЩО ЕКСПРЕСУЮТЬ ХИМЕРНІ АНТИГЕННІ РЕЦЕПТОРИ**

В огляді узагальнено клінічний досвід застосування CAR T-клітинної терапії у хворих із неходжкінською лімфоною, хронічним лімфоцитарним лейкозом, гострим лімфобластним лейкозом і солідними пухлинами. Описано проблеми на шляху CAR T-клітинної терапії солідних пухлин та токсичні ефекти імунотерапії.

**Ключові слова:** імунотерапія, CAR T-клітини, онкологія.

P. P. SOROCHAN, A. S. DUDNICHENKO, I. A. GROMAKOVA, N. E. PROKHACH, I. S. GROMAKOVA

SI «Grigoriev Institute for Medical Radiology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»

### **USE OF GENETICALLY MODIFIED T-LYMPHOCYTES EXPRESSING CHIMERIC ANTIGENIC RECEPTORS IN ONCOLOGY**

The review summarizes the clinical experience of CAR T-cell therapy using for patients with non-Hodgkin's lymphoma, chronic lymphocytic leukemia, acute lymphoblastic leukemia, and solid tumors. The problems associated with CAR T-cell therapy of solid tumors and toxic effects of immunotherapy have been described.

**Keywords:** CAR T-cell, immunotherapy, oncology.

#### **Контактная информация:**

Сорочан Павел Павлович

канд. мед. наук, зав. лаборатории радиационной иммунологии ГУ «Институт медицинской радиологии  
им. С. П. Григорьева НАМН Украины»

ул. Пушкинская, 82, г. Харьков, 61024, Украина

тел. +38 (057) 725-50-34