

Федеральное медико-биологическое агентство Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Государственный научный центр Российской Федерации –
Федеральный медицинский биофизический центр имени А.И. Бурназяна»
**МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИННОВАЦИЙ И НЕПРЕРЫВНОГО ОБРАЗОВАНИЯ**

УТВЕРЖДАЮ

Проректор

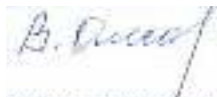
Медико-биологического университета

инноваций и непрерывного

образования ФГБУ ГНЦ ФМБЦ

им. А.И. Бурназяна ФМБА России

Олесова В.Н.



ОДОБРЕНО

Ученым советом

Медико-биологического

университета инноваций и

непрерывного образования ФГБУ

ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна

ФМБА России

Протокол № 2 от 30.04.2021 г.

Астрелина Т.А.

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
CAR-T ТЕРАПИИ**

**Учебно-методическое пособие для врачей гематологов, онкологов,
иммунологов, генетиков, педиатров, клинической лабораторной
диагностики**

Москва, 2021

УДК 616-08:[616-006+616.15]

ББК 53.530(55.6)

A912

Автор:

Астрелина Т.А. – заведующая кафедрой регенеративной медицины, гематологии, молекулярной цитогенетики с курсом педиатрии МБУ ИНО ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, руководитель Центра биомедицинских и аддитивных технологий ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, доктор медицинских наук, доцент.

Рецензенты:

Пащенко О.Е. – доцент кафедры иммунологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ, кандидат медицинских наук;

Азова М.М. – заведующая кафедрой биологии и общей генетики медицинского института РУДН, доктор биологических наук, доцент.

A912 Астрелина Т.А. Биологические основы CAR-T терапии: учебно-методическое пособие для врачей гематологов, онкологов, иммунологов, генетиков, педиатров, клинической лабораторной диагностики. – М.: ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, 2021. – 60 с.

Учебно-методическое пособие посвящено современным представлениям о биологических основах CAR-T терапии при гематологических заболеваниях и солидных опухолях и планировании в клинической практике. Составлено в соответствии с примерной программой по гематологии, трансфузиологии и педиатрии для постдипломной подготовки.

Учебно-методическое пособие предназначено врачам гематологам, онкологам, иммунологам, генетикам, педиатрам, клинической лабораторной диагностики, биологам, ординаторам, интернам, аспирантам и всем исследователям в области регенеративной медицины для использования в клинической практике. Пособие может использоваться для проведения занятий для эффективного процесса обучения.

ISBN 978-5-905926-99-0

© Астрелина Т.А., 2021

© ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна
ФМБА России, 2021

СОДЕРЖАНИЕ

| | |
|---|----|
| Предисловие | 4 |
| Актуальность | 5 |
| 1. Иммунотерапия | 6 |
| 2. Структура CAR-T-клеток | 11 |
| 3. CAR-T клеточная терапия | 14 |
| 4. Доза CAR-T клеточной терапии | 18 |
| 5. Успех и преимущества CAR-T клеточной терапии | 19 |
| 6. Побочные эффекты и проблемы терапии CAR-T-клетками | 21 |
| 7. Клинические мишени терапии CAR-T-клетками | 26 |
| 8. Результаты CAR-T терапии | 33 |
| 9. Другие области исследования CAR-T терапии | 41 |
| 10. Одобренная CAR-T терапия | 41 |
| 11. Будущее CAR-T терапии | 45 |
| Заключение | 48 |
| Список литературы | 49 |

ПРЕДИСЛОВИЕ

Клеточные технологии являются современным этапом в эволюционном развитии медицинских технологий. Они основаны на перспективе восстановления поврежденных клеток, тканей и органов, имеют мощный потенциал при терапии различных тяжелых заболеваний. В настоящее время иммунотерапия может стать ведущим методом лечения онкологических заболеваний. Одним из новых направлений является адоптивная иммунотерапия Т-клеток с химерным антигеном рецептора (CAR-T), демонстрирующая эффективность при лечении гематологических заболеваний. Более глубокое понимание патогенеза, биологических основ CAR-T терапии и ее осложнений (токсических потенциально опасных проявлений) является необходимым фактором для клинической практики.

Цель подготовки данного учебно-методического пособия – ознакомить читателя с современными биологическими особенностями, результатами лечения и развитием возможных осложнений новой CAR-T терапии у пациентов при гематологических заболеваниях и солидных опухолях. Лучшее понимание биологических основ CAR-T терапии может помочь в разработке прогнозирования и определения профилактики осложнений у пациентов. Для удобства восприятия пособие содержит иллюстрации и таблицы.

АКТУАЛЬНОСТЬ

В настоящее время иммунотерапия может стать ведущим методом лечения онкологических заболеваний. Одним из новых направлений является адоптивная иммунотерапия Т-клетками с химерным антигеном рецептора (CAR-T), демонстрирующая эффективность при лечении гематологических заболеваний. В 2017 году Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (англ. Food and Drug Administration, FDA) одобрило применение 2 препаратов на основе CAR-T терапии для лечения рецидивирующего / рефрактерного В-клеточного острого лимфобластного лейкоза и В-клеточной лимфомы, несмотря на ее высокую токсичность. Более глубокое понимание патогенеза, биологических основ терапии и ее осложнений является необходимым фактором для клинической практики. Адоптивная иммунотерапия Т-клетками химерного антигенного рецептора (CAR-T) является мощным инструментом для лечения гематологических заболеваний.

Адоптивная иммунотерапия – это быстро развивающаяся область современной биологии онкологических заболеваний и их лечения. Она основана на модификации *ex vivo* и пролиферации полученных от пациента антигенпрезентирующих клеток (APC) или Т-клеток с последующим повторным введением их обратно пациенту. Одним из наиболее многообещающих методов в этой области является генетически модифицированные Т-клетки, экспрессирующие рецептор химерного антигена (CAR-T), которые способны специфически распознавать целевой антиген (например, рецептор CD19 В-клеток) и устранять мишень – опухолевые клетки.

Стандартные методы лечения онкологических заболеваний включают хирургическое лечение, лучевую терапию, химиотерапию, лечение маломолекулярными таргетными препаратами, моноклональными антителами и трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК).

Хирургическое лечение эффективно у пациентов на ранней стадии заболевания, но не для метастатических раковых клеток; лучевая терапия и химиотерапия повреждают нормальные клетки и ткани. Таргетные препараты, включая моноклональные антитела, обладают более высокой эффективностью, но также могут стимулировать генные мутации опухолевых клеток и резистентность к препаратам. ТГСК эффективна, но поиск донора для ТГСК сложен, при этом после ТГСК возможно отторжение трансплантата.

Таким образом, адоптивная иммунотерапия CAR-T-клетками является актуальной для лечения онкологических заболеваний благодаря ее эффективности, длительной ремиссии и улучшению качества жизни пациентов.

Понимание того, как происходит эволюция простых Т-клеток до генетически модифицированных CAR-T-клеток, дает большие надежды в лечение злокачественных новообразований. В последнее десятилетие проведено много исследований по разработке и лечению CAR-T-клетками. Показаны успешные результаты при лейкозах, лимфомах и множественной миеломе, что способствует расширению спектра применения для CAR терапии.

1. ИММУНОТЕРАПИЯ

Иммунотерапия онкологических заболеваний направлена на усиление иммунной системы пациента для распознавания и уничтожения опухолевых клеток. Она включает лечение моноклональными антителами, программируемыми гибель клеток белками 1 ингибиторы (PD-1) и запрограммированными гибель клеток лигандом 1 (PD-L1), противоопухолевыми вакцинами, адоптивной клеточной терапией и цитокинами.

Иммунотерапия с программируемыми гибель клеток белками 1 ингибиторы (PD-1) и запрограммированными гибель клеток лигандом 1 (PD-L1) является основным методом лечения распространенного рака легкого [1-3]. Иммунотерапия в сочетании с терапией таргетными антителами PD-1 или PD-L1 (ClinicalTrials.gov: NCT02366143 и NCT02578680) значительно увеличила медиану без прогрессирования выживаемости и 1-летнюю общую выживаемость [1-3].

Клинические исследования фаза III (ClinicalTrials.gov: NCT02231749) продемонстрировали, что комбинированная иммунотерапия может улучшить выживаемость при почечно-клеточном раке. При сравнении с использованием ингибитора тирозинкиназы сунитиниба, препарата моноклональных антител, комбинация ниволумаба и ипилимумаба при лечении меланомы увеличила общую выживаемость до 18 месяцев у пациентов с почечно-клеточной карциномой высокого риска [4, 5]. В США 30 сентября 2018 г. FDA одобрило новый ингибитор анти-PD-1 (Cemiplimab; Libtayo) для лечения плоскоклеточного рака кожи (табл. 1) [6].

Следующее исследование (ClinicalTrials.gov: NCT02320058) показало, что частота полного ответа и частота частичного ответа составляли 26 и 30% соответственно после лечения ниволумабом и ипилимумабом, и выживаемость пациентов через 9 месяцев составила 82,8% [7].

В 2019 году наиболее популярной становится Т-клеточная иммунотерапия с рецепторами химерных антигенов (CAR). Одобренные FDA два препарата CAR-Т-клеток, такие как тисагенлеклеуцел (Kymriah, CTL019) и аксикабтаген цилолейцел (Yescarta, KET-C10) (ClinicalTrials.gov: NCT03123939), продемонстрировали долгосрочную эффективность [8, 9]. Терапия анти-CD19 CAR-Т-клетками является многообещающей для пациентов с рецидивирующим и рефрактерным В-клеточным острым лимфобластным лейкозом [9].

Таблица 1

Иммунотерапия, одобренная FDA [6]

| Наименование | Название | Мишень | Заболевание | Одобрено FDA, год, мес |
|----------------------------------|---------------|-----------|---|-------------------------------|
| Provenge | Sipuleucel-T | PAP | Асимптомные или минимальные симптомы метастатический рак простаты (гормонорезистентный) | 2010/04 |
| Yervoy | Ipilimumab | CTLA-4 | Взрослые пациенты с неоперабельной и метастатической меланомой | 2011/03 |
| Keytruda | Pembrolizumab | PD-1 | Дети в возрасте 12 лет и старше с неоперабельной и метастатической меланомой | 2017/07 |
| Blinicyto | Blinatumomab | CD19, CD3 | Прогрессия или неоперабельная меланома Классическая лимфома Ходжкина Рецидивирующий или метастатический рак шейки матки | 2014/09 2017/03 2018/06 |
| Opdivo | Nivolumab | PD-1 | Острый лимфобластный лейкоз, из В-клеток-предшественников MRD-положительный Острый лимфобластный лейкоз, из В-клеток-предшественников | 2014/01 2015/03 |
| Tecentriq | Atezolizumab | PD-L1 | Прогрессирование меланомы Немелкоклеточный рак легких Колоректальный рак | 2014/01 2015/03 2017/08 |
| Производство CAR-T-клеток | | | | |
| Bavencio | Avelumab | PD-L1 | Немелкоклеточный рак легких Первая линия терапии для мелкоклеточного рака легких | 2018/01 2019/03 |
| Imfinzi | Durvalumab | PD-L1 | Метастатический рак клеток Merkel Локальная прогрессия или метастатический рак уротелия | 2017/03 2017/05 |

| Наименование | Название | Мишень | Заболевание | Одобрено FDA, год, мес |
|-------------------|--------------------------|--------------|---|------------------------|
| Kymriah | Tisagenlecleucel | CD19 | Локальная прогрессия или метастатический рак мочевого пузыря | 2017/05 |
| | | | Стадия 3 неметастатического рака легких после операции, химиотерапии или лучевой терапии | 2018/02 |
| | | | Острый лимфобластный лейкоз, из В-клеток-предшественников | 2017/08 |
| Yescarta | Axicabtagene Ciloleucel | CD19 | Взрослые пациенты с рецидивом и рефрактерным течением крупноклеточной В-клеточной лимфомы | 2017/01 |
| Opdivo & Yervoy | Nivolumab & Ipilimumab | PD-1, CTLA-4 | Средний и плохой прогноз клеточного рака почки | 2018/04 |
| Keytruda & Inlyta | Pembrolizumab & Axitinib | PD-1, VEGFR | Прогрессирование клеточного рака почки | 2019/04 |

Примечание: PAP – простата кислая фосфатаза;
 CTLA-4 – цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4;
 VEGFR – рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста;
 MRD – минимально остаточная болезнь

В отличие от системной химиотерапии, в таргетной терапии используются определенные генные мутации в опухолевых клетках. Например, осимертиниб, новый ингибитор рецептора эпидермального фактора роста (ClinicalTrials.gov: NCT01802632), задерживает прогрессию рака легких в ответ на мутации устойчивости к препаратам [10]. Осимертиниб – препарат для лечения пациентов с немелкоклеточным раком легкого с мутациями рецептора эпидермального фактора роста [11]. Таргетная терапия мутации рецептора-2 эпидермального фактора роста человека (HER2) / пем, трастузумаб, разработана для лечения рака молочной железы [12]. Абемациклиб (Верzenio) – новый препарат (ClinicalTrials.gov.: NCT02102490, NCT02107703 и NCT02246621), ингибирует активность белка CDK4/6 (циклин-зависимые киназы 4/6), который регулирует скорость деления клеток, а не направлен на конкретные генные мутации [13-15].

Адоптивная иммунотерапия – это тип иммунотерапии, который включает модификацию Т-клеток, которые действуют как «живые лекарства», пролиферируют в организме пациента, распознают опухолевые клетки, обладающие специфическим антигеном, и убивают их [16]. Рецептор химерного антигена (CAR) Т-клетки – это живой биологический препарат, произведенный из Т-клеток крови пациента. Т-клетки играют важную роль в клеточном иммунном ответе человека. В последние годы разработано множество методов лечения, направленных на перенаправление, пролиферацию и усиление действия Т-клеток против опухолевых клеток [17]. Адоптивная иммунотерапия на основе Т-клеток сосредоточена на разработке новых средств борьбы со злокачественными новообразованиями, особенно с гематологическими заболеваниями и солидными опухолями. Новая терапия включает три метода: лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (TIL), Т-клетки, модифицированные рецепторами Т (TCR), и клетки CAR-T [18-20]. Первые два метода не имеют значительных изменений в Т-клетках, поэтому их эффективность невелика [17-20], тогда как терапия CAR-T-клетками показала свою эффективность в течение последних трех десятилетий, и многие ее продукты одобрены в США FDA [21, 22].

Преимущества CAR-T клеточной терапии:

- укорочение времени лечения пациентов по сравнению со стандартными методами лечения онкологических заболеваний;
- эффективность терапии, длительная ремиссия заболевания;
- улучшение качества жизни пациента.

По сравнению с ТГСК, которая также включает агрессивную химиотерапию, у большинства пациентов наблюдается быстрое выздоровление с помощью терапии CAR-T-клетками [23]. В отличие от TIL и TCR, которые зависят от экспрессии основного комплекса гистосовместимости (МНС) клеток-мишеней для распознавания антигена, клетки CAR-T распознают специфические антигены, независимо от процессинга антигена клетками-мишенями и МНС, таким образом, эффективно убивая опухолевые клетки [19, 24, 25].

Недостатки CAR-T клеточной терапии:

Несмотря на огромный прогресс в лечении онкологических заболеваний терапия CAR-T-клетками имеет и недостатки, такие как резистентность Т-клеток к опухолевым клеткам, развитие рецидива осинового заболевания, токсичность, длительность получения самих CAR-T-клеток (производство) и их высокая стоимость.

2. СТРУКТУРА CAR-T-КЛЕТОК

CAR-T-клетки состоят из внеклеточных, трансмембранных и внутриклеточных доменов и гибкого белка, который также повышает эффективность распознавания мишеней (рис. 1) [26]. Функциональные части трансмембранных молекул CAR-T-клетки: mAb – внеклеточный домен, полученный из вариательной области моноклонального антитела и переформатированный в одноцепочечный вариательный фрагмент (scFv) (состоящий из связанных вариательных областей обоих тяжелых (VH) и легких (VL) цепей), который распознает ассоциированные с опухолью антигены.

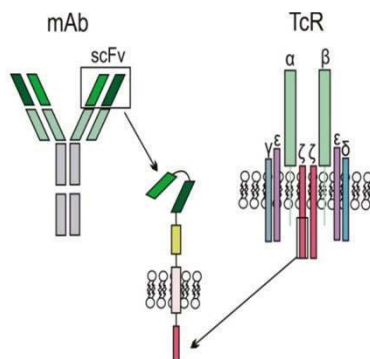


Рис. 1. Структура

Трансмембранный домен поддерживает стабильность CAR.

Внутриклеточный домен состоит из активированных цепочек иммунорецепторов тирозина (ITAM), цепи ζ комплекса CD3, TCR (Т-клеточного рецептора), который активирует костимулирующий сигнал [19] для эффективной активации Т-клеток во время распознавания антигена мишени независимо от молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС).

Технологии CAR широко исследуются и развиваются в каждом следующем поколении (рис. 2).

CAR первого поколения аналогичны эндогенному комплексу TCR, содержат одноцепочечный вариабельный фрагмент (scFv), линкеры, трансмембранный домен и внутриклеточные ITAM CD3 ζ с прямым распознаванием антигена на поверхности опухолевых клеток. Восприимчив к апоптозу, ограничен в пролиферация *in vivo* и обладает цитотоксичностью [17, 28-29].

CAR второго поколения имеют дополнительный внутриклеточный костимулирующий домен (рис. 2, *), например CD28 или рецептор 4-1BB (CD137), способствующий секреции интерлейкина-2 (IL-2), активации Т-клеток и предотвращению апоптоза и обладают цитотоксичностью. Клинические исследования CAR-Т-клеток, связанные с В-клеточным

маркером CD19, показали четкую эффективность при лечении злокачественных гематологических заболеваний, включая острые лейкозы [22-26, 30, 31], хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) [28, 29, 31, 32] и неходжкинской лимфомы (НХЛ) [33-43]. CAR-T-клетки, направленные на антиген созревания В-клеток (BCMA), продемонстрировали активность при множественной миеломе (ММ) [6, 34-46]. CAR-T-клетки в настоящее время также используются в клинических исследованиях для лечения лимфомы Ходжкина [47, 48] и солидных опухолей [49-52]. В 2017 г. в США FDA одобрило анти-CD19 CAR-T клеточный продукт (tisagenlecleucel) для лечения рецидивирующего или рефрактерного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) у детей [53]. Tisagenlecleucel и axicabtagene ciloleucel одобрены FDA для лечения подтипов диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы (DLBCL) после 2-х или более предшествующих линий химиотерапии [54-56].

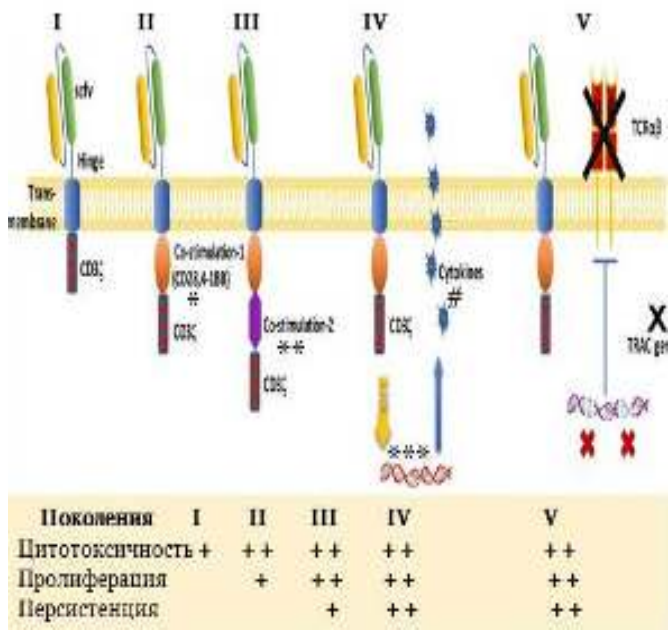


Рис. 2. Поколения (генерации) CAR [6]

CAR-T третьего поколения имеют два дополнительных костимулирующих домена (рис. 2, **), например CD28 или CD4-1BB и CD134.

CAR-T четвертого поколения дополнительно состоят из различных костимулирующих компонентов, таких как цитокины, антитела или другие функциональные белки (рис. 2, ***) [28, 29]. Они могут идентифицировать и удалять некоторые антигены, которые не распознаются Т-клетками более раннего поколения.

CAR-T пятого поколения основаны на *CAR* второго поколения с инактивацией гена TRAC, что приводит к удалению TCR α и β цепей, нокауту генов HLA и TСК-Т клеток, полученных от здорового донора для избежания развития РТПХ.

Исследователи использовали разные мишени и костимулирующие сигналы для сравнения результатов *CAR* второго и третьего поколения. В некоторых исследованиях сообщается, что рекомбинантные Т-клетки, экспрессирующие *CAR* Третьего поколения, значительно увеличивают противоопухолевую активность, выживаемость и способность к высвобождению цитокинов [57]. Стоит отметить, что эти результаты исследования получены только в экспериментах на мышах *ex vivo*, а *in vivo* отсутствуют. Разница между двумя поколениями *CAR* может происходить не только из домена передачи сигнала, но также из внеклеточного антигенсвязывающего домена (scFv), метода трансфекции, используемого для рекомбинантных Т-клеток (лентивирус против ретровируса), и режима ведения рекомбинантных Т-клеток (внутривенная инфузия или перитонеальная инфузия или внутриопухолевое введение).

3. CAR-T КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ

Историю развития *CAR-T* терапии можно представить в виде хронологической кривой (рис. 3).

CAR-T клеточная терапия – это революционная таргетная иммунотерапия [10, 58-60].



Рис. 3. Хронология развития CAR-T терапии

Производство CAR-T клеточной терапии возможно 2 способами:

1) *Ex situ* – введение внутривенно наночастиц, превращающих Т-клетки пациента в CAR-T-клетки.

2) *Ex vivo* – классическое производство CAR-T-клеток (рис. 4), требующее модификации Т-клеток пациента вне тела и повторной трансфузии этих клеток обратно в организм человека для борьбы с опухолевыми клетками-мишенями.

Типичный процесс производства клеток CAR-T делится на шесть этапов (рис. 4) [61].

Первый этап – получение периферической крови от больных с онкологическим заболеванием.

Второй этап – сортировка Т-клеток с помощью лейкоцитофереза.

Третий этап – модификация Т-клеток с помощью CAR, чтобы Т-клетки могли одновременно распознавать опухолевые клетки и активировать Т-клетки, создавая CAR-T-клетки [62, 63].

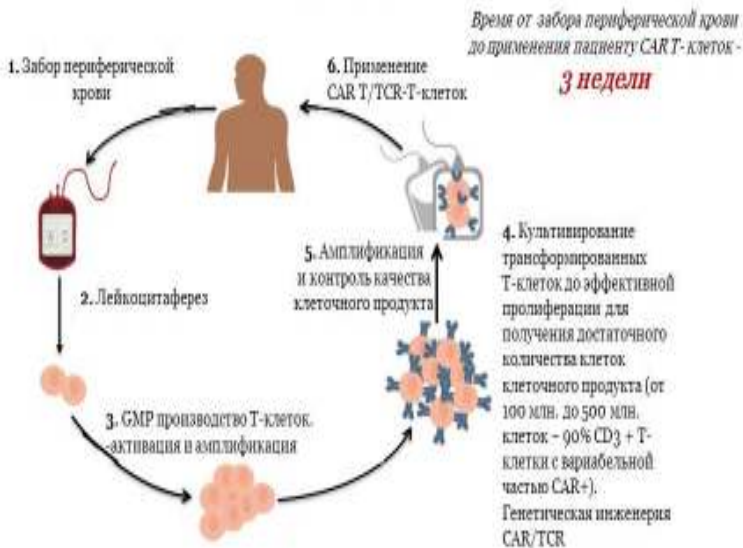


Рис. 4. Процесс производства клеток CAR-T [6]

На четвертом этапе CAR-T-клетки культивируются *ex vivo* и стимулируются цитокинами для производства получения достаточного количества CAR-T-клеток [63].

На пятом этапе проводится оценка качества полученного клеточного продукта.

Шестой этап – введение CAR-T-клеток обратно пациенту в соответствующей дозе [63]. Пациенты должны находиться под тщательным наблюдением, особенно для наблюдения и контроля тяжелых токсических реакций в последующие несколько дней [62].

Весь процесс занимает примерно 3 недели, а для получения CAR-T-клеток требуется примерно 2 недели, что делает этап подготовки клеток наиболее трудоемким [63].

CAR-T-клетки пролиферируют *ex vivo* и замораживаются для будущего введения. Пациентам назначают предварительную химиотерапию [62]. После повторной оценки опухолевой нагрузки вводят CAR-T-клетки. Когда

антигенсвязывающий домен распознает злокачественный антиген, он стимулирует нижестоящий сигнал активации и производит специфические эффекты уничтожения. Использование CAR-T клеточной терапии при В-клеточной лимфоме / лейкозе в клинике привело к полной ремиссии у рецидивирующих и рефрактерных к лечению пациентов на поздней стадии [64].

Показания для CAR-T клеточной терапии:

- 1) Пациенты в возрасте от 1 года до 75 лет.
- 2) Пациенты с рецидивами или рефрактерные к лечению онкологических заболеваний; неэффективность химиотерапии; трансплантация костного мозга; аутологичная / аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток; отсутствие эффективного лечения.

Противопоказания для CAR-T клеточной терапии:

- 1) Клинически значимые сердечно-сосудистые заболевания.
- 2) Беременные или кормящие грудью.
- 3) Пациенты, которые участвовали в любых других клинических испытаниях за последние 30 дней.
- 4) Пациенты с любым типом первичного иммунодефицита.
- 5) Другие симптомы, неприменимые для терапии CAR-T-клетками, так как они могут увеличить риск для пациента.

Предтерапия (кондиционирование)

Помимо прямого уничтожения опухолевых клеток, использование некоторых химиотерапевтических препаратов, таких как флударабин и циклофосфамид (СТХ), в качестве схем предварительной тарпии перед иммунотерапией, может вызывать синергетические иммунобиологические эффекты, тем самым усиливая эффекты противоопухолевой иммунотерапии [64]. Химиотерапия перед лечением может удалить существующие лимфоциты в лимфоидной ткани или ткани костного мозга, создать пространство для трансплантации вновь имплантированных противоопухолевых иммунных клеток и вызвать выработку цитокинов

костного мозга, тем самым способствуя восстановлению и пролиферации иммунных клеток [59, 60, 63-73]. Циклофосфамид – это наиболее часто используемый препарат для предварительного лечения при иммунотерапии онкологических заболеваний. Кроме того, к другим часто используемым химиотерапевтическим препаратам перед лечением относятся флударабин, гемцитабин, леналидомид и доцетаксел. Например, когда применяли флударабин α (рецептор фолиевой кислоты α) для предварительного лечения пациентов с раком яичников IV стадии перед CAR-T терапией, режим предварительного лечения был: Циклофосфамид 300 мг/м²/день в течение трех последовательных дней и Флударабин 30 мг/м²/день в течение трех дней подряд [74]. Для пациентов с меланомой Национальный институт рака (NCI) сформулировал стандартный режим приема Циклофосфамид 60 мг/кг/день в течение 2 дней и 25 мг/м²/день Флударабин в течение 5 дней [75]. Однако дозировка, режим и последовательность предварительного лечения все еще необходимо оптимизировать и исследовать. В некоторых исследованиях предварительная терапия у пациентов с лейкопенией не проводилась.

4. ДОЗА CAR-T КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

При клиническом лечении CAR-T-клетки вводят в широком диапазоне доз, иногда по схемам с увеличением дозы. Некоторые исследования предполагают, что существует корреляция между дозой введенных CAR-T-клеток и частотой развития цитокинового шторма [76]. Общее количество CAR-T-клеток колеблется от 10 тыс./кг до 10 млрд./кг или более. Для изучения переносимости пациента иногда вводят общее количество клеток за три курса: 10% в первый день, 30% во второй день и 60% на третий день [77]. Так, у одного пациента с хроническим лимфобластным лейкозом, получавшего терапию CAR-T-клетками, длительность ремиссии составила 5 лет [78]. Исследование показало, что минимальное количество клеток, необходимое для CAR-T клеточной терапии, может составлять всего одну клетку [78].

5. УСПЕХ И ПРЕИМУЩЕСТВА CAR-T КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Эмили Уайтхед была первым девочкой-пациентом с ОЛЛ, получившим лечение CAR-T-клетками. Клинические исследования CAR-T-клеток в университете Пенсильвании полностью вылечили Эмили от ОЛЛ.

Чтобы проиллюстрировать потенциал иммунотерапии CAR-T-клетками в лечении онкологических заболеваний остановимся на трех последних успешных случаях.

В клиническом исследовании у детей и подростков с онкологическими заболеваниями, у которых не было ответа на стандартную терапию, терапия CAR-T-клетками (Tisagenlecleucel, Kymriah) была успешной у 52 из 63 пациентов. В результате исследования у 3 из 4 пациентов была ремиссия заболевания в течение 6 месяцев [79]. По результатам этого исследования, FDA впервые одобрило tisagenlecleucel в августе 2017 года для лечения рецидивирующего или рефрактерного В-клеточного ОЛЛ у пациентов младше 25 лет.

В другом исследовании применялась терапия CAR-T-клетками (Аксикабтаген цилолейцель, Yescarta) для лечения резистентной крупноклеточной В-клеточной лимфомы [59]. Иммунотерапия замедлила или остановила прогрессирование крупноклеточной В-клеточной лимфомы у 82% пациентов, и в более половине (54%) случаев была полная ремиссия [59]. Через 15,4 месяцев примерно у 40% пациентов сохранялась ремиссия. В октябре 2017 года FDA одобрило второй препарат Аксикабтагена цилолейцела для лечения взрослых пациентов с рецидивирующей или резистентной крупноклеточной В-клеточной лимфомой, включая диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL), после двух или более линий химиотерапии.

Множественная миелома – неизлечимое заболевание и только примерно половина пациентов выживает в течение 5 лет после установления диагноза. Клинические исследования, представленные на ежегодном собрании Американского общества клинической онкологии (ASCO) в 2017 году, показали, что терапия CAR-T-клетками с использованием антигена

созревания В-клеток (BCMA) в качестве биомаркера может предотвратить развитие множественной миеломы. В исследование включены 35 пациентов с множественной миеломой, у которых возник рецидив после лечения или которые были онзистентны к лечению. У 74% из 35 пациентов был полный ответ на применение CAR-T-клеток против множественной миеломы BCMA [80].

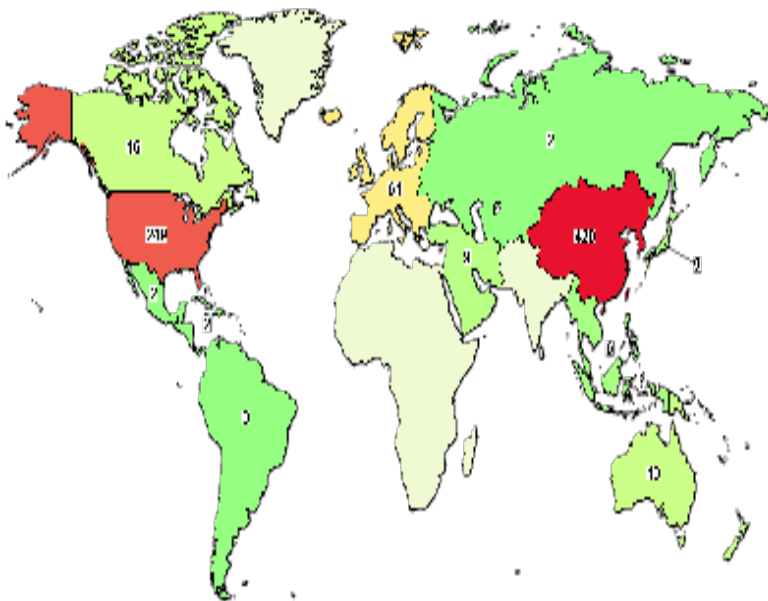


Рис. 5. Клинические исследования CAR терапии [Clinical Trial.gov]

CAR-T-клетки не зависят от МНС. Они специфически распознают антигены и более эффективно убивают опухолевые клетки. Проникающие в опухоль лимфоциты (TIL) и TCR могут распознавать только антигены, представленные конкретными молекулами МНС, и опухолевые клетки могут ускользать от иммунного ответа из-за подавления или мутации молекул МНС в опухолевых клетках, что приводит к отсутствию эффективности [80].

На сегодняшний день, по данным Clinical Trial.gov, проводится около 769 клинических исследований CAR-T терапии (рис. 5).

6. ПОБОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ И ПРОБЛЕМЫ ТЕРАПИИ CAR-T-КЛЕТКАМИ

Первые клинические исследования CAR-T-клеток третьего поколения включали терапию CAR-T-клетками, нацеленную на мишень HER2 при метастатической меланоме [81]. Первый пациент получил общую высокую дозу 100 млрд. CAR-T-клеток и после инфузии в течение нескольких минут пациент почувствовал сильную боль и вскоре впал в кому. Пациенту вводили высокие дозы гормонов, но несмотря на интенсивную терапию через 5 дней пациент умер. При вскрытии CAR-T-клетки были выявлены во всех тканях у пациента, больше всего их было в легких. Дальнейший проведенный анализ выявил, что экспрессия HER2 в эпителиальных клетках легких была основной причиной инфильтрации легких T-лимфоцитами, что привело к летальному исходу [81].

Некоторые виды иммунотерапии могут атаковать опухолевые клетки или замедлять их распространение в организме. Но иммунотерапия может атаковать здоровые клетки, что приводит к побочным эффектам. Различные виды иммунотерапии могут вызывать разные побочные эффекты. Возникновение многих побочных эффектов зависит от типа лечения, типа и локализации онкологического заболевания, а также от общего состояния здоровья пациента. Гиперемия кожи, образование пузырей и сухость – частые аллергические реакции, связанные с иммунотерапией. Усталость, жар, озноб, слабость, тошнота, рвота, головокружение, боль в теле и гипертония или гипотония также являются побочными эффектами иммунотерапии. Перед началом новой терапией онкологических заболеваний необходимо учитывать серьезные риски возникновения побочных эффектов.

Часто встречающиеся побочные действия CAR-T терапии:

1) *Синдром высвобождения цитокинов (CRS)* – это состояние, характеризующееся повышенной выработкой цитокинов (увеличением IFN γ , GM-CSF, IL-10 и IL-6, CAR-T-клеток) и сопровождающимся воспалением,

так называемый «цитокиновый шторм». Клинические проявления включают: лихорадку, тошноту, анорексию, тахикардию и / или гипотензию, сердечную дисфункцию, почечную недостаточность и печеночную недостаточность, другие тяжелые состояния. Тяжелая форма CRS может быть опасной для жизни, требующей интенсивной медицинской помощи, включая использование аппаратов ИВЛ, применение препаратов для повышения артериального давления и противоэпилептических средств. FDA одобрило внутривенную инъекцию тоцилизумаба (Actemra), ингибитора рецептора IL-6, для лечения вызванного CAR-T-клетками тяжелого или опасного для жизни CRS у пациентов в возрасте 2 лет и старше. CRS – это наиболее часто упоминаемая побочная реакция при лечении CAR-T-клетками. После инфузии CAR-T-клеток на мышинной модели наблюдалась системная воспалительная реакция, вызванная быстрым повышением уровня цитокинов, таких как IL-1 и IL-6 [82, 83]. CRS обычно возникает в течение 2 дней после инфузии CAR-T-клеток, а поздние реакции возникают в течение 1-2 недель после инфузии CAR-T-клеток [84]. В патофизиологический процесс включаются CRS не только активированные CAR-T-клетки, но также моноциты, макрофаги и дендритные клетки, участвующие в синтезе и высвобождении цитокинов, что приводит к возникновению соответствующих клинических симптомов [83]. Исследования показали, что у пациентов с диссеминированным поражением с высокой опухолевой прогрессией тяжелые осложнения CRS проявляются через 3 суток после инфузии CAR-T-клеток [83]. Поэтому, оценка лечения пациента перед инфузией CAR-T-клеток имеет большое значение для контроля и прогнозирования CRS. Тоцилизумаб следует вводить внутривенно в дозе от 4 до 8 мг/кг [84], однако он не эффективен при нейротоксичности CRS, так как не проникает через гематоэнцефалический барьер [84]. Возможно применение Метилпреднизолона у пациентов с тяжелым CRS, которые не получали тоцилизумаб.

2) *Нейротоксичность (NTX)* может проявляться как CAR-T связанной энцефалопатией с неврологической симптоматикой (спутанность сознания, делирий, выраженную афазию, миоклонус и судороги). Общая частота развития нейротоксичности составляет 40% [61]. Наиболее частые симптомы включают снижение сознания, спутанность сознания, судороги и отек мозга. Нейротоксичность может возникать отдельно или одновременно с CRS [66]. Легкие клинические признаки могут спонтанно исчезнуть в течение нескольких дней. При тяжелых симптомах может потребоваться лечение препаратами или комбинацией с дексаметазоном (10 мг внутривенно или перорально) [84, 85].

Тактику терапии для снижения развития CRS и нейротоксичности можно разделить на две категории: профилактическая тактика, направленная на снижение возникновения тяжелой токсичности, и лечебная тактика, направленная на минимизацию токсичности при возникновении летальной токсичности. Профилактическая тактика включает химиотерапию и снижение дозы CAR-T-клеток у пациентов перед инфузией [61]. Преждевременное назначение тоцилизумаба и дексаметазона снижает частоту развития тяжелого CRS [61]. В тяжелых случаях развивается деградация белого вещества. Так, пациенты, получавшие блинатумомаб – биспецифическое анти-CD19 / CD3-антитело BiTE, – также имели повышенную частоту неврологической токсичности, аналогичную той, которая наблюдалась у пациентов, получавших CAR-T терапию.

Другие редкие побочные эффекты CAR-T терапии:

1) *Синдром лизиса опухоли* – проявления тяжелой интоксикации организма за счет разрушенных клеток опухоли.

2) *В-клеточная аплазия* – является маркером функциональной персистенции CAR-T-клеток. Кратковременная аплазия В-клеток может не требовать лечения, в то время как более длительная аплазия В-клеток может потребовать замены иммуноглобулинов, особенно у детей.

3) *Болезнь трансплантата против хозяина (РТПХ)* – пациенты, перенесшие ранее трансплантацию стволовых клеток, часто сохраняют полный донорский химеризм Т-клеток, поэтому «аутологичные» Т-клетки, полученные от пациента, обычно имеют донорское происхождение. В клинические исследования CAR-T, одобренные FDA, не включались пациенты с активной РТПХ, нуждающиеся в системной терапии. В отсутствие активной РТПХ клетки донорского происхождения, полученные от пациента, по-видимому, переносятся, а РТПХ либо не наблюдается, либо крайне редка.

4) *Нецелевые токсичности* – конструкции CAR предназначены для распознавания определенных маркеров и здоровая ткань, представляющая выбранные мишени, может быть затронута. Следует обратить внимание на выбор секторных антигенов, чтобы избежать возможности ошибочного нацеливания CAR-T-клетками. Пока мишень не на 100% специфична для опухоли, будет наблюдаться нецелевой эффект, который является основным источником побочных эффектов CAR-T-клеток. Это означает, что эти мишени экспрессируются не только в раковых, но и в здоровых тканях [61]. Могут быть выбраны специфические антигены, экспрессирующиеся только на поверхности опухолевых клеток, или могут быть созданы структуры CAR с множеством антигенов для идентификации антигенов. Лучшим примером лечебной тактики является добавление к CAR-T-клеткам генов самоубийства или элиминации, которые могут быть активированы для избирательного истощения CAR-T-клеток в случае серьезной токсичности [86]. Таким образом, можно эффективно избежать токсичности «на мишень – вне опухоли».

Истощение CAR-T-клеток возникает из-за истощения Т-лимфоцитов Т-клетки, попадающие в солидные опухоли, могут перестать работать. Совместная экспрессия некоторых цитокинов, таких как IL-15, способствует пролиферации и персистенции Т-клеток в модели на мышах [87]. Семейство

факторов транскрипции Nr4a (факторы транскрипции ядерных рецепторов) играет важную роль в регуляции генов, связанных с истощением Т-клеток [88]. На модели мышей с меланомой, лишенных факторов транскрипции Nr4a, показано, что лечение CAR-T-клетками может уменьшить размер опухоли и улучшить выживаемость мышей [89]. Поэтому возможно, что ядерный фактор активированных Т-клеток (NFAT) и белки Nr4a помогают противостоять истощению Т-клеток при онкологическом заболевании и являются «маркерами истощения» Т-клеток [89]. Однако полученные результаты нельзя использовать в клинической практике, поскольку последствия редактирования нескольких генов в клетках человека неизвестны.

Понимание роли факторов транскрипции Nr4a предоставляет новые направления для разработки более эффективных методов лечения онкологических заболеваний. Молекулярный дизайн CAR-T также оказывает значительное влияние на пролиферацию и устойчивость CAR-T-клеток. CAR, несущий костимулирующий домен индуцибельной костимулирующей молекулы (ICOS) (ICOS-CAR), демонстрирует улучшенную способность поддерживать устойчивость CD4⁺ Т-клеток на костимулирующей модели мыши [90]. При введении комбинации CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, экспрессирующих различные CAR, мышам в соотношении 1:1, исследователи обнаружили, что CD4⁺ Т-клетки, экспрессирующие ICOS-CAR, не только увеличивают свою собственную устойчивость, но также увеличивают устойчивость CD8⁺ Т-клеток. [90]. Противоопухолевый эффект этой комбинации клеток был эффектиным у мышей с немелкоклеточным раком легкого. Когда костимулирующие домены ICOS и 4-1BB были добавлены к внутриклеточному костимулирующему домену CAR-T-клетки третьего поколения (ICOSBBz-CAR-T-клетки) и CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетки экспрессировали этот ICOSBBz-CAR, полученные Т-клетки были более устойчивые и имели лучший противоопухолевый эффект, чем комбинация

CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих ICOS-CAR, и CD⁺ Т-клеток, экспрессирующих BBz-CAR [90]. Уровень экспрессии ICOSBBz-CAR на поверхности Т-клеток был ниже, чем у ICOS-CAR или BBz-CAR. Возможная причина этого заключается в том, что экспрессия CAR была слишком высокой, что может вызывать непрерывную активацию Т-клеток, что приводит к их преждевременному истощению.

Не эффективность CAR-T терапии

Хотя частота ответа пациентов на лечение CAR-T-клетками высокая, у многих пациентов, получавших CAR-T-клетки, возникает рецидив заболевания. Есть много причин возникновения рецидива, например, подавление антигена в опухолевых клетках или низкий уровень антигена. Механизм не эффективности CAR-T терапии тесно связан с метастазированием опухоли, что может влиять на гетерогенность опухолей и играть ключевую роль в последующем развитии и метастазировании опухолей [91]. Механизмы иммунной не эффективности CAR-T терапии включают изменение экспрессии регуляторных белков G1; выброс ингибиторов, таких как IL-10, трансформирующий бета-фактор роста (TGF- β) и индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO); сверхэкспрессия иммуносупрессивных рецепторов, таких как PD-L1; и Tregs [92]. Поэтому следует применять комбинированную терапию с иммунными ингибиторами (такими как антитела PD-1 / PD-L1).

7. КЛИНИЧЕСКИЕ МИШЕНИ ТЕРАПИИ CAR-T-КЛЕТКАМИ

На сегодняшний день применение CAR-T терапии в разных странах направлено на мишени опухолевых клеток и проводятся клинические исследования при лечении гематологических заболеваниях (табл. 2, рис. 6), солидных опухолях (табл. 3, рис. 7).

Таблица 2

Клинические мишени CAR терапии при гематологических заболеваниях (Clinical Trial.gov)

| Мишень | Гематологические заболевание | Стадия КИ | Фаза КИ | Номер КИ | Страна |
|---|--|---------------|-------------|-------------|----------------|
| CD19 | Рефрактерная CD19+ лимфома и ОЛЛ | Завершено | I | NCT01626495 | США |
| | В-клеточные ОЛЛ или лимфома | | I | NCT01029366 | США |
| | Рефрактерная В-клеточная прогрессия | | I/II | NCT02132624 | Швеция |
| | В-клеточные ОЛЛ или лимфома | | I | NCT01593696 | США |
| | ОЛЛ | | I | NCT01551043 | США |
| | Резистентный и рефрактерный CD19+ ОЛЛ | | I | NCT02975687 | Китай |
| | Резистентный и рефрактерный CD19+ ОЛЛ | | II | NCT02030847 | США |
| CD19+ CD22 | Рецидивирующая и рефрактерная В лимфома и ОЛЛ | Рекрутировано | I/II | NCT03398967 | Китай |
| | CD19 диффузная крупноклеточная В-клеточная лимфома или ОЛЛ | | I | NCT03233854 | США |
| | CD19+ CD22+ ОЛЛ | | I | NCT03330691 | США |
| | Рецидивирующая и рефрактерная В лимфома | | I/II | NCT03098355 | Китай |
| | Детский и юношеский положительный CD19 В-ОЛЛ | | I | NCT03241940 | США |
| | В-клеточный ОЛЛ | | I/II | NCT03614858 | Китай |
| | В-клеточный ОЛЛ | | I/II | NCT03289455 | Великобритания |
| | В-клеточная прогрессия | | I/II | NCT02903810 | Китай |
| CD19/CD22-экспрессия В-клеточная прогрессия | | I | NCT03448393 | США | |

| Мишень | Гематологические заболевание | Стадия КИ | Фаза КИ | Номер КИ | Страна |
|---|--|---------------|---------|-------------|--------|
| CD19+ CD20 CD22 | Рецидивирующая и рефрактерная В лимфома | Рекрутировано | I/II | NCT03398967 | Китай |
| | CD22+ ОЛЛ, лимфома | Активно | I | NCT03244306 | США |
| | Резистентный и рефрактерный ОЛЛ к химиотерапии | Завершено | I | NCT02588456 | США |
| | В-клеточная прогрессия | Рекрутировано | I/II | NCT02935153 | Китай |
| | В-клеточная прогрессия | Рекрутировано | I/II | NCT03262298 | Китай |
| | ОЛЛ | Рекрутировано | I | NCT03620058 | США |
| | ОЛЛ | Рекрутировано | I | NCT02650414 | США |
| CD20 | Рецидивирующая и рефрактерная В лимфома | Рекрутировано | I | NCT03576807 | Китай |
| | В-клеточная прогрессия | Рекрутировано | I/II | NCT02710149 | Китай |
| | Рецидивирующая и рефрактерная В-неходжскинская лимфома | Рекрутировано | I/II | NCT03277729 | США |
| ROR1R ROR1+ орфанный рецептор трозин- киназы | Прогрессия | Рекрутировано | I | NCT02706392 | США |
| | ХЛЛ | Отозвано | I | NCT02194374 | США |
| CD4 | CD4+ лимфома и ОЛЛ | Рекрутировано | I | NCT03829540 | США |
| CD7 | Высокий риск Т клеточной прогрессии | Отозвано | I | NCT03690011 | США |
| CD38 | Рецидив В-клеточного ОЛЛ после анти-CD19 CAR-T терапии | Рекрутировано | I/II | NCT03754764 | Китай |

| Мишень | Гематологические заболевание | Стадия КИ | Фаза КИ | Номер КИ | Страна |
|-------------|------------------------------|---------------|---------|-------------|--------|
| CD30 | Лимфоцитарная прогрессия | Рекрутировано | I/II | NCT02958410 | Китай |
| | Лимфома Ходжкина, взрослые | НД | - | NCT03914885 | США |
| BCMA | Высокий риск миеломы | Рекрутировано | I/II | NCT03455972 | Китай |
| | В-клеточные ОЛЛ и лимфома | Рекрутировано | I/II | NCT02954445 | Китай |

Таблица 3

Клинические мишени CAR терапии при солидных опухолях (Clinical Trial.gov)

| Мишень | Солидные опухоли | Стадия КИ | Фаза КИ | Номер КИ | Страна |
|------------------|---|---------------|---------|-------------|--------|
| Мезотелий | Метастазы, прогрессия опухоли | Рекрутировано | I | NCT02930993 | Китай |
| | Злокачественная мезотелиома плевры | Завершено | I | NCT01355965 | США |
| | Метастазы панкреодуоденальной карциномы | Завершено | I | NCT02159716 | США |
| | Эпителиальный рак яичников | Завершено | I | NCT01897415 | США |
| EGFR | EGFR+ Прогрессия солидных опухолей | Рекрутировано | I/II | NCT03182816 | Китай |
| | EGFR+ колоректальный рак | Рекрутировано | I/II | NCT03152435 | Китай |
| | Метастазы колоректального рака | NR | I | NCT03542799 | Китай |
| | Рефрактерность и рецидивы опухолей ЦНС | Рекрутировано | I | NCT03638167 | США |
| | Рефрактерность глиобластома мультформа | Рекрутировано | I | NCT02844062 | Китай |
| GPC3 | Прогрессия гепатоцеллюлярная карцинома | Завершено | I/II | NCT03130712 | Китай |
| | Гепатоцеллюлярная карцинома | Рекрутировано | I | NCT02905188 | США |

| Мишень | Солидные опухоли | Стадия КИ | Фаза КИ | Номер КИ | Страна |
|--------------|---|---------------|---------|-------------|----------------|
| MUC1 | Внутрипеченочная холангиосаркома | Рекрутировано | I/II | NCT03633773 | Китай |
| | Немелкоклеточный рак легких | Рекрутировано | I/II | NCT03525782 | Китай |
| | Эзофагальный рак | Рекрутировано | I/II | NCT03706326 | Китай |
| HER2 | Лептоменингеальные метастазы головного мозга | Рекрутировано | I | NCT03696030 | США |
| | HER2+ рак | Рекрутировано | I/II | NCT02713984 | Китай |
| | Рак молочной железы | Завершено | I/II | NCT02547961 | Китай |
| | HER2+ рак ЦНС | Рекрутировано | I | NCT02442297 | США |
| | Прогрессирующее / рефрактерный рак ЦНС у детей | Рекрутировано | I | NCT03500991 | США |
| | Прогресс солидных опухолей | НД | I/II | NCT01935843 | Китай |
| GD2 | Высокий риск / рецидив / резистентность нейробластомы | Рекрутировано | I/II | NCT03373097 | Италия |
| | Глиома | Рекрутировано | I | NCT02761915 | Великобритания |
| | Глиома | Рекрутировано | I/II | NCT03252171 | Китай |
| CEA | Метастазы рака поджелудочной железы | Рекрутировано | I | NCT03818165 | США |
| | Метастазы печени | Завершено | I | NCT02416466 | США |
| EpCAM | Назофарингеальная карцинома | Рекрутировано | I/II | NCT02915445 | Китай |
| | Прогрессия рака желудка с перитонеальными метастазами | Рекрутировано | I | NCT03563326 | Китай |
| LeY | Прогресс рака | Рекрутировано | I | NCT03851146 | Австралия |
| | Миелоидная малигнизация | Рекрутировано | I/II | NCT02958384 | Китай |
| PSCA | Метастазы резистентного рака простаты | Рекрутировано | I | NCT03873805 | США |

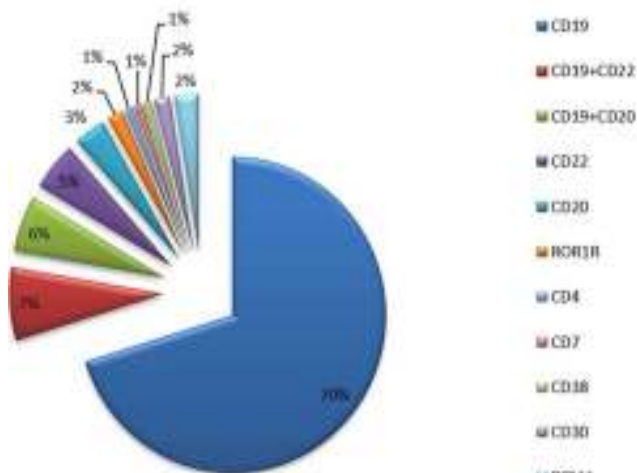


Рис. 6. Клинические мишени CAR терапии при гематологических заболеваниях (Clinical Trial.gov)

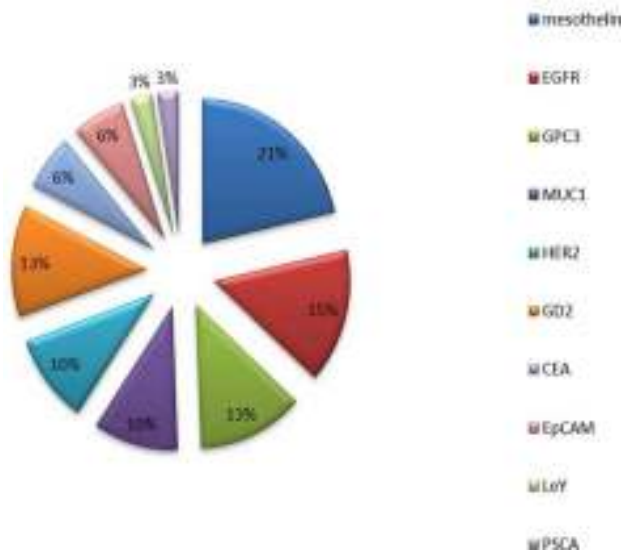


Рис. 7. Клинические мишени CAR терапии при солидных опухолях (Clinical Trial.gov)

США и Китай являются лидерами в проведении клинических исследований лечения гематологических заболеваний и солидных опухолей, что обуславливает более частое применение CAR-T терапии в этих странах (рис. 8).



Рис. 8. Частота проведения клинических исследований CAR терапии [CellTrials.org]

В Российской Федерации в 2021 год проводится всего 2 клинических исследования CAR-T терапии при лечении В-ОЛЛ у детей и подростков (рис. 9). Деятельность CAR-T терапии регулируется Федеральным законом от 23.06.2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах».

| Строка | Сортировано | Статус | Название исследования | Условия | Всесторонность | Локации |
|--------|--------------------------|-----------|---|---|--|---|
| 1 | <input type="checkbox"/> | Результат | Секреторная CD19 CAR-T для лечения детей и подростков с r/r B-ALL | <ul style="list-style-type: none"> • B-клеточный острый лейкоз (B-ALL) | <ul style="list-style-type: none"> • Препараты: CD19 CAR-T | <ul style="list-style-type: none"> • Федеральный научный исследовательский институт детской гематологии, онкологии и иммунологии, Москва, Российская Федерация |
| 2 | <input type="checkbox"/> | Результат | CD19 CAR для лечения детей и подростков с r/r B-ALL | <ul style="list-style-type: none"> • B-клеточный острый лейкоз (B-ALL) • Острый лейкоз (B-ALL) • Острый лейкоз (B-ALL) | <ul style="list-style-type: none"> • Биологические: Т-клеточная терапия с генетически модифицированными Т-клетками • Лекарственные средства: Флуорабин • Лекарства: Циклофосфид • Лекарственные средства: тозилтосумид | <ul style="list-style-type: none"> • Национальный исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии имени Дмитрия Рогачева Москва, Российская Федерация |

Рис. 9. Клинические исследования CAR терапии в России [Clinical Trial.gov]

8. РЕЗУЛЬТАТЫ CAR-T ТЕРАПИИ

Результаты CAR-T терапии представлены в таблицах 4 и 5. Экспрессия молекул CD в качестве поверхностных маркеров может использоваться для идентификации типов клеток. Зарегистрированы клинические исследования с использованием CD19 в качестве мишени для CAR-T-клеток. Помимо CD19, который является наиболее известной мишенью, существует много мишеней, связанных с опухолевыми клетками, которые изучаются в клинических исследованиях фазы I и фазы II. В зарегистрированных в настоящее время клинических исследованиях и опубликованных результатах антиген созревания В-клеток (BCMA) представлен как особенно важная мишень.

Таблица 4

Результаты CAR-T терапии при гематологических заболеваниях [6]

| Мишень | Гематологические заболевания | Костимулирующий домен | Вектор | Препарат | Доза | Кол-во пациентов | Фаза | Эффект | Страна |
|--------|------------------------------|-----------------------|------------|----------|------------------------------|------------------|------|---|--------|
| CD19 | В-ОЛЛ | CD28 | Lentivirus | FLU, CY | 5 тыс. – 1 млн/кг | 3 | I | 2 или 3-я степень CRS | Китай |
| CD19 | В-ОЛЛ | 4-1BB | Lentivirus | FLU, CY | 1,19 млн/кг | 2 | - | Острая РТПХ | Китай |
| CD19 | В-ОЛЛ | CD28 4-1BB | Lentivirus | FLU | 20 тыс. – 20 млн/кг | 30 | I/II | У 93% – ремиссия | США |
| CD19 | Лимфома Ходжкина | HL 4-1BB | Lentivirus | FLU, CY | 15,6 млн/кг | 18 | I/II | У 2 – 3 степень токсичности; У 13 – ремиссия | Китай |
| CD19 | ХЛЛ | DLBCL CD28 | Retrovirus | FLU, CY | 1 млн/кг | 15 | - | У 80% – ремиссия; 1 умер | США |
| CD19 | В-ОЛЛ | 4-1BB | Lentivirus | | 76 тыс – 20,6 млн/кг | 30 | I/II | У 90% – ремиссия; У 27% – токсичность CRS | США |
| CD19 | В-ОЛЛ | 4-1BB | Lentivirus | FLU, CY | 14 млн – 110 млн/ пациент | 14 | I | У 57% – ремиссия; У 4 – полная ремиссия | США |

| Мишень | Гематологические заболевания | Костимулирующий домен | Вектор | Препарат | Доза | Кол-во пациентов | Фаза | Эффект | Страна |
|--------|-------------------------------------|-----------------------|------------|----------|---------------------------------|------------------|------|---|-----------|
| CD19 | В-ОЛЛ | CD28 | Retrovirus | CY | 3 млн/кг | 16 | I | У 88% – регрессия | США |
| CD19 | Неходжжинская Лимфома | CD28 + 4-1BB | Lentivirus | CY, VP | 2 млн – 20 млн/кг | 32 | I | У 13 – 3 степень CRS; У 72% – ремиссия | США |
| CD20 | Крупноклеточная В-клеточная лимфома | 4-1BB | Lentivirus | CY, VCR | 1 млн – 10 млн/пациент | 7 | – | У 5 – регрессия опухоли | Китай |
| CD22 | В-ОЛЛ | 4-1BB | Lentivirus | CY, FLU | 30 тыс. – 3 млн/кг | 21 | I | У 73% – полная ремиссия; У 8 – рецидив | США |
| CD30 | Неходжжина Лимфома | CD28 | Retrovirus | - | 20 млн – 200 млн/м ² | 9 | I | У 1 – полная ремиссия | США |
| LeY | ОМЛ | CD28 | Retrovirus | FLU | 500 млн – 1300 млн/пациент | 5 | I | У 1 – рецидив; У 1 – длинная ремиссия | Австралия |

Таблица 5

Результаты CAR-T терапии при солидных опухолях [6]

| Мишень | Солидные опухоли | Костимулирующий домен | Вектор | Претерапия | Доза | Кол-во пациентов | Фаза | Ответ | Страна |
|----------|----------------------------------|-----------------------|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------------|------------------|------|----------------------------------|--------------------|
| EGFRvIII | Глиобlastома | 4-1BB | Lentivirus | Temozolo- mide облучение | 100 млн – 500 млн/ пациент | 10 | I | У 5 – ремиссия | США |
| EGFR | Немелкоклеточ- ный рак легких | 4-1BB | Lentivirus | СУ, CDDP | 4,5 млн – 10,9 млн/кг | 11 | I/II | У 7 – ремиссия | Китай |
| GD2 | Нейробlastома | NA | Retrovirus | - | 20 млн – 100 млн/м ² | 19 | I | У 11 – ремиссия | США |
| GD2 | Метастазы меланомы | CD28 + OX40 | Retrovirus | FLU, СУ | 10 млн – 20 млн/м ² | 4 | I | У всех частичный ответ | Южная Австралия |
| L13Ra2 | Глиома | | DNA Electropo- ration | - | 1060 млн/ пациент | 13 | I | У 3 – рецидив | СА |
| IL13Ra2 | Глиома | 4-1BB | Lentivirus | | 52 млн – 92 млн/ пациент | 1 | I | У 1 – рецидив | США |
| HER2 | Опухоли ЦНС | CD28 | Retrovirus | ХТ | 1 тыс. – 100 млн/м ² | 19 | I/II | У 1 – некроз; У 4 – ремиссия; | США |

| Мишень | Солідные опухоли | Костимулирующий домен | Вектор | Претерапия | Доза | Кол-во пациентов | Фаза | Ответ | Страна |
|------------|---|-----------------------|----------------------|------------|--|------------------|------|-----------------------------|------------|
| CAIX | Почечно-клеточный рак | - | Retrovirus | - | 300 млн – 2100 млн/пациент | 11 | - | – | Нидерланды |
| CAIX | Почечно-клеточный рак | - | Retrovirus | - | 600 млн – 4000 млн/пациент | 12 | | – | Нидерланды |
| Mesothelin | Периниальный аллергический колит | MPM 4-1BB | mRNA electroporation | - | 1200 млн/пациент | 4 | – | У 1 – аллергическая реакция | США |
| Mesothelin | Злокачественная плевральная мезотелиома | PDA 4-1BB | mRNA electroporation | ХТ | 4400 млн/пациент; 3100 млн/м ² | 2 | I | У 1 – частичный ответ | США |
| MUC1 | Рак семенных везикул | CD28 + 4-1BB | Lentivirus | - | Интраопухолевое введение 50 тыс. | 1 | I | Нет эффекта | Китай |
| CEA | Метастатический колоректальный рак | CD28 | Lentivirus | CY, FLU | 50 млн – 15200 млн/пациент | 10 | I | У 70% – ремиссия | Китай |

| Мишень | Солидные опухоли | Костимулирующий домен | Вектор | Претерапия | Доза | Кол-во пациентов | Фаза | Ответ | Страна |
|--------|---------------------------|-----------------------|----------------------|------------|------------------------------|------------------|------|---|----------------|
| CEA | Метастазы печени | CD28 | Retrovirus | - | 100 млн – 30000 млн/пациент | 6 | I | 5 пациентов умерли от прогрессии | США |
| CEA | Аденокарцинома | PMP | - | FLU, CY | 1000 млн – 50000 млн/пациент | 14 | I | Острая ОРДС | Великобритания |
| BCMA | Множественная миелома | CD28 | Retrovirus | MM CY, FLU | 30 тыс. – 9 млн/кг | 12 | I | У 1 – рецидив после 17 нед.; У 1 – полная ремиссия | США |
| c-Met | РМЖ | 4-1BB | mRNA electroporation | - | 30 млн – 300 млн/пациент | - | - | У 6 – лизис опухоли | США |
| PSMA | Рак предстательной железы | - | Retrovirus | ХТ | 1000 млн – 10000 млн/пациент | 5 | I | У 2 – частичная ремиссия | США |
| TAG72 | Колоректальный рак | - | Retrovirus | - | 31100 млн/пациент | 16 | I | Низкая токсичность CRS | США |

В настоящее время проводятся клинические исследования CAR-T-клетками на различные мишени (табл. 2, 3). Клинические исследования терапии CAR-T-клетками в основном сосредоточены на CD19, CD20, CD22, GPC3 (Glypican-3), BCMA и других мишенях.

Успех CAR-T клеточной терапии при лечении гематологических заболеваний расширил возможности для лечения солидных опухолей. Увеличивается количество клинических исследований с использованием CAR-T клеточной терапии солидных опухолей. Однако результаты клинических исследований часто неудовлетворительны. Терапевтический эффект CAR-T клеточной терапии солидных опухолей значительно уступает терапевтическому эффекту CAR-T терапии гематологических заболеваний и часто сопровождается токсичностью [93]. Гематологические опухолевые клетки рассредоточены, а солидные опухоли обычно образуют твердые массы в определенных органах на ранних стадиях опухолевого процесса, что не только создает множество препятствий для получения иммунных клеток в пораженных участках, но также приводит к накоплению многих видов иммунодепрессивных клеток и молекул [92]. Антигены гематологических опухолей часто специфичны и не экспрессируются в других нормальных тканях, тогда как антигены солидных опухолей обычно экспрессируются в небольших количествах в других местах, таких как сердце, легкие и печень, что приводит к ошибочным эффектам после лечения. С одной стороны, существуют большие различия между солидными опухолями и гематологическими опухолями.

Высокая гетерогенность значительно затрудняет лечение солидных опухолей с помощью терапии CAR-T-клетками. Кроме того, опухолевые антигены, связанные с солидными опухолями, экспрессируются не только в опухолевых тканях, но и в нормальных тканях. Это создает еще одну проблему при лечении солидных опухолей с помощью CAR-T-клеток [93]. Кроме того, хоуминг и активация CAR-T-клеток в солидных опухолях также

являются сложной задачей. Остается не решенный вопрос о том, как заставить CAR-T-клетки из периферической крови функционировать в очаге опухоли, но однократная инфузия CAR-T-клетками не решает эту проблему.

Более того, клетки CAR-T способствуют экспрессии цитокинов для усиления их киллерной активности и направления функции, таких как IL-2, IL-7 и хемокиновый (СС-мотив) лиганд 19 (CCL19).

Исследователи из отделения нейрохирургии Медицинской школы Перельмана при Пенсильванском университете использовали CAR-T-клетки для нацеливания на опухолеспецифический антиген EGFRvIII для лечения пациентов [76]. В этом исследовании авторы обнаружили две основные проблемы, связанные с этим методом лечения: одна проблема заключается в том, что экспрессия EGFRvIII в опухолевых клетках пациентов весьма переменчива; во-вторых, метастазы обладают сильным иммуносупрессивным действием. Таким образом, авторы показали, что необходим поиск новых опухолевых антигенов и препаратов для одновременного преодоления этих иммуносупрессивных эффектов, чтобы добиться уничтожения опухолевой ткани. Это также объясняет, почему терапия CAR-T-клетками неэффективна при лечении глиом за счет иммуносупрессивных эффектов и сложности генных мутаций [76]. Т-клетки разборчивы в отношении окружающей среды и умирают в течение нескольких дней без необходимых питательных веществ. Кроме того, опухолевая ткань выделяет химические вещества самозащиты, которые блокируют нормальное функционирование Т-клеток.

Исследователи из Онкологического исследовательского центра Фреда Хатчинсона использовали синтетический рецепторный «цитоскелет» для покрытия специфичных опухолевых Т-клеток и питательные вещества для них на мышинной модели [94]. Результаты показали, что покрытые цитоскелетом Т-клетки могут эффективно уменьшать размер опухоли у мышей с раком поджелудочной железы и меланомой, а инъекция только Т-клеток приводила к терапевтической эффективности [94].

9. ДРУГИЕ ОБЛАСТИ ИССЛЕДОВАНИЯ CAR-T ТЕРАПИИ

Новые области исследований направленные на улучшение способности CAR-T-клеток противостоять метастазированию опухоли и снижению иммуногенности [18, 95], включают:

1) *технологии многоцелевых CAR-T-клеток*;

2) *модернизацию производства T-клеток*, например, снижение рисков, связанных с использованием вирусных векторов, включая повреждение ДНК, а также сокращение затрат и времени производства путем замены их технологиями, не основанными на вирусах, такими как Sleeping Beauty и PiggyBac transposition, формируя производство T-клеток с высокой устойчивостью и низким уровнем повреждения ДНК [54, 95], таким образом исключая возникновения возможных мутаций;

3) *методы редактирования генов*, включая использование неинтегрированного лентивирусного вектора, рекрутирование CAR-T-клеток онколитическим вирусом, снабженным генами хемокинов, генерацию CAR-T-клеток с помощью технологии CRISPR / cas9 (сгруппированные через регулярные промежутки времени короткие палиндромные повторы / CRISPR-ассоциированный белок 9) и использование клеток CAR-NK (Natural killer, НК-натуральных киллеров) [17, 96]. Благодаря быстрому развитию этой области универсальные CAR-T-клетки могут иметь широкое применение. Ожидается, что процесс производства универсальной CAR-T клеточной терапии может позволить быстро производить доступные готовые препараты для клеточной терапии.

10. ОДОБРЕННАЯ CAR-T ТЕРАПИЯ

На сегодняшний день на законодательном уровне одобрено 11 продуктов CAR-T терапии при онкологических заболеваниях в США (FDA) и Европе (EMA) (табл. 6) и большая часть из них при орфанных заболеваниях.

19 клинических заявок на исследование CAR-T-клеток от 13 компаний были одобрены Центром оценки лекарственных средств государственного управления лекарственными средствами в Китае (CDE), большинство из которых направлены на мишень CD19. Клиническое исследование препарата CAR-T-клеток LCAR-B38M, представленного Nanjing Legend, официально одобрено CDE и он стал первым препаратом CAR-T-клеток для клинического применения в Китае. Этот препарат представляет собой продукт CAR-T-клеток, направленный на мишень BCMA при рецидивирующей или рефрактерной множественной миеломе. В клиническом исследовании LCAR-B38M приняли участие 57 пациентов с множественной миеломой [97]. Общий ответ составлял 88%, и 68% пациентов достигли полной ремиссии.

Отделение гематологии Института гематологии Цзянсу, Китай, провело первое клиническое исследование по лечению рецидивирующего / рефрактерного острого лимфобластного лейкоза путем последовательного переливания двух типов CAR-T-клеток: CD19-CAR-T-клеток и CD22-CAR-T-клеток. [98]. Показано, что инфузия комбинированной терапии против нескольких антигенов-мишеней CAR-T-клеток второго поколения эффективна и безопасна для пациентов с рефрактерным / рецидивирующим ОЛЛ.

Таблица 6

Одобренная CAR-T терапия на 2021 г. [99]

| Мишень | Международное непатентованное наименование (INN) | Заболевание | Статус одобрения | Код производителя |
|--------|--|--|---|-------------------|
| CD19 | Axicabtagene ciloleucel (117) (79) (Yescarta) | <ul style="list-style-type: none"> • R/R Первичная крупноклеточная В-клеточная лимфома средостения • В-клеточная лимфома высокой степени • Фолликулярная лимфома | <ul style="list-style-type: none"> • Одобрено FDA • Одобрено EMA | KTE-C19 |
| CD19 | Tisagenlecleucel (117) (79) (Кимрия) | <ul style="list-style-type: none"> • R/R ОЛЛ | <ul style="list-style-type: none"> • Одобрено FDA • Одобрено EMA | CTL019 CART19 |
| CD19 | Vadacabtagene leraleucel (117) (79) | <ul style="list-style-type: none"> • ОЛЛ | <ul style="list-style-type: none"> • Одобрено EMA PRIME Обозначено (отозвано), 15.09.2016 | JCAR015 |
| BCMA | Idecabtagene vicleucel (119) (81) | <ul style="list-style-type: none"> • Множественная миелома R/R | <ul style="list-style-type: none"> • Одобрено FDA Обозначение для орфанных лекарств, 28.09.2017 • Одобрено EMA Обозначение для орфанных лекарств, 20.04.2017 | bb2121 |
| CD19 | Lisocabtagene maraleucel (119) (81) | <ul style="list-style-type: none"> • R/R Агрессивная НХЛ с крупными В-кл. • R/R Первичная крупноклеточная В-клеточная лимфома средостения • В-клеточная лимфома высокой степени | <ul style="list-style-type: none"> • Одобрено FDA Обозначение для орфанных лекарств • Одобрено EMA PRIME, 15.12.2016 • Обозначение для орфанных препаратов EMA, 17.07.2017 | JCAR017 |
| CD19 | Тebroкабтаген autoleucel (121) (83) | <ul style="list-style-type: none"> • R/R ОЛЛ | - | TBI-1501 |

| Мишень | Международное непатентованное наименование (INN) | Заболевание | Статус одобрения | Код производителя |
|--------------------|---|------------------------------------|---|--------------------------|
| BCMA | Цильтакабтаген autoleucel (122) (84) | • Множественная миелома R/R | • Одобрено EMA, Обозначение для орфанных препаратов обозначение 28.02.2020 | JNJ-68284528 JNJ-4528 |
| BCMA | Orvacabtagene autoleucel (122) (84) | • Множественная миелома R/R | • Одобрено FDA, Обозначение для орфанных лекарств, 01.02.2019 • Одобрено EMA PRIME, Обозначение 14.11.2019 | JCARH125 |
| CD19 | Azercabtagene zapreleucel (123) (85) | • R/R В-клеточная НХЛ | • Одобрено FDA, Обозначение для орфанных лекарств, 13.05.2020 | PBCAR0191 |
| MSLN | Гавокабтаген autoleucel (123) (85) | • мезотелиома | • Одобрено FDA, Обозначение орфанного препарата, 02.01.2019 | TK-210 |
| CD19 | Обекабтаген автолейцел (123) (85) | • R/R ОЛЛ | • Одобрено FDA, Обозначение орфанного препарата, 11.04.2019 | ABTO1 |
| CD19 | Relmacabtagene autoleucel(123) (85) | • R R В-клеточная НХЛ • R/R ОЛЛ | - | JWCAR029 |
| CD20 / CD19 | Замтокабтаген autoleucel (124) | • В-клеточная НХЛ | • Одобрено EMA PRIME, 17.10.2019 • Обозначение для орфанных препаратов, 21.08.2020 | MB-CART2019.1 |
| CD19 | Brexucabtagene autoleucel (Tecartus) | • R/R лимфома из мантийных клеток | • Одобрено FDA • Условное одобрение EMA | KTE-X19 |

11. БУДУЩЕЕ CAR-T ТЕРАПИИ

Помимо вышеупомянутых аспектов, необходимо сделать CAR терапию более доступной. В настоящее время в США стоимость Tige-Cel (Kymriah) фирмы Novartis составляет 475 000 долларов, а Axi-Cel (Yescarta) – 350 000 долларов, что недоступно для большинства людей в мире и ограничивает использование этой терапии. [55]. Если CAR-T терапия для пациента не эффективна в течение 1 месяца, медицинские расходы отменяются. На производство продукта CAR-T-клеток для лечения пациента необходимо от 3 недель до 1 месяца. Многие компании активно исследуют эффективные и стабильные производства CAR-T-клеток. Так, компания ThermoGenesis в США занимающаяся производством оборудования, разработала платформу CAR-TXpress™ для автоматического производства CAR-T-клеток. Поэтому стоимость производства CAR-T-клеток может быть ниже. Так как производство CAR-T-клеток будет стандартизированным, то оно будет происходить быстрее и качественнее. Таким образом, компании могут обеспечить оборудованием со стандартизированным производством клеток и контролем их качества для клинического применения, увеличить объем новых методов лечения CAR-T-клетками для широкого спектра заболеваний и добиться более быстрой коммерциализации технологий [100]. С развитием производства оборудования для CAR-T терапии и реализацией национальных медицинских программ терапия CAR-T-клетками принесет пользу большому количеству пациентов.

Успех клинических исследований ELIANA и ZUMA привел к одобрению FDA лечения CAR-T-клетками злокачественных заболеваний и прогрессу исследований, связанных с CAR-T четвертого и пятого поколения, включая новейшие технологии, которые уже находятся на различных этапах клинические исследований во всем мире [101, 102]. Оценка длительности эффективности CAR-T терапии будет оценена только после получения положительных результатов на большой выборке пациентов. Таким образом, необходимы инновационные исследования для повышения эффективности достижений в терапии CAR-T-клетками, которые продемонстрируют

медицинскому сообществу (врачам) и пациентам эффективность лечения злокачественных новообразований, так как на сегодняшний день отсутствует статистический анализ в клинических исследованиях на людях для сравнения индивидуальной эффективности при различных гематологических заболеваниях.

Поиск и разработка новой терапии – непростая задача и зачастую очень дорогая. Juno Therapeutics в США занимается исследованиями иммунитета опухолевых клеток и является одним из пионеров в данной области. В настоящее время исследования в области терапии CAR-T-клетками направлены на CD19 для лечения гематологических опухолей. Во всем мире программа исследований и разработок CAR-T-клеток быстро расширяется, включая исследование новых мишеней (BCMA, CD123 и CD33) и новых показаний, таких как прогрессирование гематологических заболеваний и солидных опухолей. Компании во всем мире проводят свои проекты доклинических исследований и ожидается, что в будущем появятся препараты для лечения солидных опухолей CAR-T-клетками. Благодаря продвижению новых клинических исследований и совершенствованию технологии производства, третье, четвертое и пятое поколения продуктов CAR-T-клеток могут иметь лучшую эффективность. Терапия TCR-T, нацеленная на мишени солидных опухолей, таких как WT-1, L1CAM, ROR-1, MUC-16, LewisY, HPV-16 и т.д., также проходит клинические исследования. Для солидных опухолей терапия TCR-T может быть предпочтительной. Компании, такие как Kite Pharma, Juno Therapeutics, Adaptimmune Therapeutics и др., заинтересованы в развитии иммунотерапии TCR-T для лечения опухолевых заболеваний.

Производство конструкций Т-клеток по-прежнему зависит от традиционных «ручных» методик, поэтому качество и стабильность клеток трудно гарантировать. Иммунотерапия опухолевых заболеваний принесет надежду многим онкологическим пациентам. Одной из самых серьезных проблем при разработке клеточной терапии является отсутствие доклинических моделей для оценки безопасности и эффективности данных

сложных методов лечения и результатов по безопасности, выявленных в ранних клинических исследованиях.

Благодаря технологическим достижениям в производстве Т-клеток и редактирования генов в будущем возможно применение других типов клеток, таких как индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки и НК-клетки при различных заболеваниях, включая инфекционные и аутоиммунные заболевания, трансплантацию органов и тканей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, терапия CAR-T-клетками открывает большие перспективы для лечения пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями, создавая основу для стратегии нового лечения других онкологических заболеваний. На сегодняшний день CAR-T терапия еще не полностью совершенна и эффективна для лечения солидных опухолей, но демонстрирует оптимистичные прогнозы по сравнению с другими иммунотерапевтическими препаратами.

Развивающуюся токсичность при CAR-T терапии можно прогнозировать, планировать ее лечение и оптимизировать дозу CAR-T терапии с учетом клинических данных. Технология CAR-T постоянно совершенствуется и прочно входит в будущее иммунотерапии рака. Необходимо продолжать изучение потенциала противораковой CAR-T терапии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Atezolizumab plus bevacizumab and chemotherapy in nonsmall-cell lung cancer (IMpower150): key subgroup analyses of patients with EGFR mutations or baseline liver metastases in a randomised, open-label phase 3 trial / Reck M., Mok T.S.K., Nishio M. [et al.]. // *Lancet Respir Med.* – 2019. – V. 7 (5). – P. 387-401. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30084-0.
2. Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer / Frederickson A.M., Arndorfer S., Zhang I. [et al.]. // *N Engl J Med.* – 2018. – V. 378 (22). – P. 2078-2092. doi: 10.1056/NEJMoa1801005.
3. Atezolizumab for first-line treatment of metastatic nonsquamous NSCLC / Socinski M.A., Jotte R.M., Cappuzzo F. [et al.]. // *N Engl J Med.* – 2018. – V. 378 (24). – P. 2288-2301. doi: 10.1056/NEJMoa1716948.
4. Patient-reported outcomes of patients with advanced renal cell carcinoma treated with nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib (CheckMate 214): a randomised, phase 3 trial / Cella D., Grünwald V., Escudier B. [et al.]. // *Lancet Oncol.* – 2019. – V. 20 (2). – P. 297-310. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30778-2.
5. Nivolumab plus Ipilimumab versus sunitinib in advanced renal-cell carcinoma / Motzer R.J., Tannir N.M., McDermott D.F. [et al.]. // *N Engl J Med.* – 2018. – V. 378 (14). – P. 1277-1290. doi: 10.1056/NEJMoa1712126.
6. *Zhao L.* Engineered T Cell Therapy for Cancer in the Clinic / L. Zhao, Y.J. Cao. // *Fronti Immunol.* – 2019. – V. 10. – Article: 2250. doi: 10.3389/fimmu.2019.02250.
7. Combined nivolumab and ipilimumab in melanoma metastatic to the brain / Tawbi H.A., Forsyth P.A., Algazi A. [et al.]. // *New Engl J Med.* – 2018. – V. 379 (8). – P. 722-730. doi: 10.1056/NEJMoa1805453.
8. *Heyman B.* New developments in immunotherapy for lymphoma / B. Heyman, Y. Yang. // *Cancer Biol Med.* – 2018. – V. 15 (3). – P. 189-209. doi: 10.20892/j.issn.2095-3941.2018.0037.

9. CTL019 (tisagenlecleucel): CAR-T therapy for relapsed and refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia / S. Vairy, J.L. Garcia, P. Teira, H. Bittencourt. // *Drug Des Devel Ther.* – 2018. – V. 12. – P. 3885-3898. doi: 10.2147/DDDT.S138765.
10. Osimertinib as first-line treatment of EGFR mutation–positive advanced non–small-cell lung cancer // Ramalingam S.S., Yang J.C., Lee C.K. [et al.]. // *J Clin Oncol.* – 2018. – V. 36(9). – P. 841-849. doi: 10.1200/JCO.2017.74.7576.
11. Osimertinib in untreated EGFR-mutated advanced non-small-cell lung cancer / Soria J.C., Ohe Y., Vansteenkiste J. [et al.]. // *N Engl J Med.* – 2018. – V. 378 (2). – P. 113-125. doi: 10.1056/NEJMoa1713137.
12. Trastuzumab, but not pertuzumab, dysregulates HER2 signaling to mediate inhibition of autophagy and increase in reactive oxygen species production in human cardiomyocytes / Mohan N., Shen Y., Endo Y. [et al.]. // *Mol Cancer Ther.* – 2016. – V. 15(6). – P. 1321-1331. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-15-0741.
13. *Sammons S.L.* HR+, HER2- advanced breast cancer and CDK4/6 inhibitors: Mode of action, clinical activity, and safety profiles / S.L. Sammons, D.L. Topping, K.L. Blackwell. // *Curr Cancer Drug Targets.* – 2017. – V. 17(7). – P. 637-649. doi: 10.2174/15680096176666170330120452.
14. *McCain J.* First-in-class CDK4/6 inhibitor palbociclib could usher in a new wave of combination therapies for HR+, HER2- breast cancer / J. McCain. // *P T.* – 2015. – V. 40(8). – P. 511-520.
15. MONARCH 2: abemaciclib in combination with fulvestrant in women with HR+/HER2-advanced breast cancer who had progressed while receiving endocrine therapy / Sledge G.W. Jr., Toi M., Neven P. [et al.]. // *J Clin Oncol.* – 2017. – V. 35(25). – P. 2875-2884. doi: 10.1200/JCO.2017.73.7585.
16. *Liu D.* CAR-T "the living drugs," immune checkpoint inhibitors, and precision medicine: a new era of cancer therapy / D. Liu. // *J Hematol Oncol.* – 2019. – V. 12(1). – P. 113. doi: 10.1186/s13045-019-0819-1.

17. The application of CAR-T cell therapy in hematological malignancies: advantages and challenges / Zhao Z., Chen Y., Francisco N.M. [et al.]. // *Acta Pharm Sin B.* – 2018. – V. 8(4). – P. 539-551. doi: 10.1016/j.apsb.2018.03.001.
18. CAR-T cell therapy in cancer: tribulations and road ahead / Zhang Q., Ping J., Huang Z. [et al.]. // *J Immunol Res.* – 2020. – Article: 1924379. doi: 10.1155/2020/1924379.
19. *Davila M.L.* CD19-Targeted CAR-T cells as novel cancer immunotherapy for relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia / M.L. Davila., R.J. Brentjens. // *Clin Adv Hematol Oncol.* – 2016. – V. 14(10). – P. 802-808.
20. *Fujiwara H.* Adoptive immunotherapy for hematological malignancies using T cells gene-modified to express tumor antigen-specific receptors / H. Fujiwara. // *Pharmaceuticals (Basel).* – 2014. – V. 7(12). – P. 1049-1068. doi: 10.3390/ph7121049.
21. Chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy // *Leukemia and lymphoma society* [сайт]. – URL: <https://www.lls.org/treatment/types-of-treatment/immunotherapy/chimeric-antigen-receptor-car-t-cell-therapy> (Accessed: December 10, 2020).
22. *June C.H.* Chimeric antigen receptor therapy // C.H. June, M. Sadelain. // *N Engl J Med.* – 2018. – V. 379(1). – P. 64-73. doi: 10.1056/NEJMra1706169.
23. Advantages of CAR-T cell therapy // *Rutgers Cancer Institute of New Jersey* [сайт]. – URL: <https://www.cinj.org/patient-care/advantages-car-t-cell-therapy> (Accessed: December 15, 2020).
24. *Ren Y.B.* Safety strategies of genetically engineered T cells in cancer immunotherapy / Y.B. Ren, S.J. Sun, S.Y. Han. // *Curr Pharm Des.* – 2018. – V. 24(1). – P. 78-83. doi: 10.2174/1381612824666171227222624.
25. *Almåsbaek H.* CAR-T cell therapy: a game changer in cancer treatment / H. Almåsbaek, T. Aarvak, M.C. Vemuri. // *J Immunol Res.* – 2016. – Article: 5474602. doi: 10.1155/2016/5474602.
26. *Nair R.* CAR-T-cells / R. Nair, J. Westin. // *Adv Exp Med Biol.* – 2020. – V. 1244. – P. 215-233. doi: 10.1007/978-3-030-41008-7_10.

27. The biological basis and clinical symptoms of CAR-T therapy-associated toxicities / Titov A., Petukhov A., Staliarova A. [et al.]. // *Cell Death Dis.* – 2018. – V. 9(9). – P. 897. doi: 10.1038/s41419-018-0918-x.
28. *Rafiq S.* Engineering strategies to overcome the current roadblocks in CAR-T cell therapy / S. Rafiq, C.S. Hackett, R.J. Brentjens. // *Nat Rev Clin Oncol.* – 2020. – V. 17(3). – P. 147-167. doi: 10.1038/s41571-019-0297-y.
29. Chimeric antigen receptor (CAR) T therapies for the treatment of hematologic malignancies: clinical perspective and significance / Boyiadzis M.M., Dhodapkar M.V., Brentjens R.J. [et al.]. // *J Immunother Cancer.* – 2018. – V. 6(1). – P. 137. doi: 10.1186/s40425-018-0460-5.
30. Chimeric antigen receptor T Cells in hematologic malignancies / Shank B.R., Do B., Sevin A. [et al.]. // *Pharmacotherapy.* – 2017. – V. 37(3). – P. 334-345. doi: 10.1002/phar.1900.
31. Killing mechanisms of chimeric antigen receptor (CAR) T cells / Benmebarek M.R., Karches C.H., Cadilha B.L. [et al.]. // *Int J Mol Sci.* – 2019. – V. 20(6). – P. 1283. doi: 10.3390/ijms20061283.
32. CAR-T-cell therapy: a healthcare professional's guide – the top questions answered // Health & medication slideshows [сайт]. – URL: <https://www.drugs.com/slideshow/car-t-cell-therapy-top-10-questions-answered-1288> (Accessed: December 20, 2020).
33. CAR-T treatment for hematological malignancies / S. Atrash, K. Bano, B. Harrison, A.O. Abdallah. // *J Investig Med.* – 2020. – V. 68(5). – P. 956-964. doi: 10.1136/jim-2020-001290.
34. *Song M.K.* Resistance mechanisms to CAR-T-cell therapy and overcoming strategy in B-cell hematologic malignancies / M.K. Song, B.B. Park, J.E. Uhm. // *Int J Mol Sci.* – 2019. – V. 20(20). – P. 5010. doi: 10.3390/ijms20205010.
35. The Role of Chimeric Antigen Receptor-T Cell Therapy in the Treatment of Hematological Malignancies: Advantages, Trials, and Tribulations, and the Road Ahead / Reddy S.R., Llukmani A., Hashim A. [et al.]. // *Cureus.* – 2021. – V. 13(2). – Article: e13552. doi: 10.7759/cureus.13552.

36. FDA approval brings the first gene therapy to the United States // FDA [сайт], 2017. – URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approval-brings-first-gene-therapy-united-states> (Accessed: December 20, 2020).
37. FDA approves CAR-T cell therapy to treat adults with certain types of large B-cell lymphoma // FDA [сайт], 2017. – URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-car-t-cell-therapy-treat-adults-certain-types-large-b-cell-lymphoma> (Accessed: December 25, 2020).
38. FDA approves first cell-based gene therapy for adult patients with relapsed or refractory MCL // FDA [сайт], 2020. – URL: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-first-cell-based-gene-therapy-adult-patients-relapsed-or-refractory-mcl> (Accessed: December 25, 2020).
39. Risks and benefits of chimeric antigen receptor T-cell (CAR-T) therapy in cancer: a systematic review and meta-analysis / Grigor E.J.M., Fergusson D., Kekre N. [et al.]. // *Transfus Med Rev.* – 2019. – V. 33(2). – P. 98-110. doi: 10.1016/j.tmr.2019.01.005.
40. *Bonini C.* Adoptive T-cell therapy for cancer: the era of engineered T cells / C. Bonini, A. Mondino. // *Eur J Immunol.* – 2015. – V. 45(9). – P. 2457-2469. doi: 10.1002/eji.201545552.
41. *Yáñez L.* CAR-T cell toxicity: current management and future directions / L. Yáñez, M. Sánchez-Escamilla, M.A. Perales. // *Hemisphere.* – 2019. – V. 3(2). – Article: e186. doi: 10.1097/HS9.000000000000186.
42. Design and development of therapies using chimeric antigen receptor-expressing T cells / G. Dotti, S. Gottschalk, B. Savoldo, M.K. Brenner. // *Immunol Rev.* – 2014. – V. 257(1). – P. 107-126. doi: 10.1111/imr.12131.
43. *Chmielewski M.* TRUCKS, the fourth-generation CAR-T cells: current developments and clinical translation / M. Chmielewski, H. Abken. // *Adv Cell Gene Ther.* – 2020. – V. 3(3). – Article: e84. doi: 10.1002/acg2.84.
44. Next-generation chimeric antigen receptor T cells: safety strategies to overcome toxicity / S. Yu, M. Yi, S. Qin, K. Wu. // *Mol Cancer.* – 2019. – V. 18(1). – P. 125. doi: 10.1186/s12943-019-1057-4.

45. Clinical development of CAR-T cell therapy in China: 2020 update / Wei J., Guo Y., Wang Y. [et al.]. // *Cell Mol Immunol.* – 2020. – V. 18(4). – P. 792-804. doi: 10.1038/s41423-020-00555-x.
46. FDA approval summary: tocilizumab for treatment of chimeric antigen receptor T cell-induced severe or life-threatening cytokine release syndrome / Le R.Q., Li L., Yuan W. [et al.]. // *Oncologist.* – 2018. – V. 23(8). – P. 943-947. doi: 10.1634/theoncologist.2018-0028.
47. Toxicity and management in CAR-T-cell therapy / C.L. Bonifant, H.J. Jackson, R.J. Brentjens, K.J. Curran. // *Mol Ther Oncolytics.* – 2016. – V. 3. – Article: 16011. doi: 10.1038/mto.2016.11.
48. *Brudno J.N.* Recent advances in CAR-T-cell toxicity: mechanisms, manifestations, and management / J.N. Brudno, J.N. Kochenderfer // *Blood Rev.* – 2019. – V. 34. – P. 45-55. doi: 10.1016/j.blre.2018.11.002.
49. Chimeric antigen receptor T-cell therapy / C. Zhang, S. Durer, K.C. Thandra, A. Kasi. // *StatPearls*, [сайт], 2020. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537294/> (Accessed: December 30, 2020).
50. Cytokine release syndrome / Shimabukuro-Vornhagen A., Gödel P., Subklewe M. [et al.]. // *J Immunother Cancer.* – 2018. – V. 6(1). – P. 56. doi: 10.1186/s40425-018-0343-9.
51. *Siegler E.L.* Neurotoxicity and cytokine release syndrome after chimeric antigen receptor T cell therapy: insights into mechanisms and novel therapies / E.L. Siegler, S.S. Kenderian. // *Front Immunol.* – 2020. – V. 11. – Article: 1973. doi: 10.3389/fimmu.2020.01973.
52. Immunotherapy with CAR-modified T Cells: toxicities and overcoming strategies / Sun S., Hao H., Yang G. [et al.]. // *J Immunol Res.* – 2018. – Article: 2386187. doi: 10.1155/2018/2386187.
53. *Schroeder T.* Treatment of graft-versus-host disease with monoclonal antibodies and related fusion proteins / T. Schroeder, R. Haas, G. Kobbe. // *Expert Rev Hematol.* – 2010. – V. 3(5). – P. 633-651. doi: 10.1586/ehm.10.46.

54. Induction of resistance to chimeric antigen receptor T cell therapy by transduction of a single leukemic B cell / Ruella M., Xu J., Barrett D.M. [et al.]. // *Nat Med.* – 2018. – V. 24(10). – P. 1499-1503. doi: 10.1038/s41591-018-0201-9.
55. Understanding the mechanisms of resistance to CAR-T-cell therapy in malignancies / Cheng J., Zhao L., Zhang Y. [et al.]. // *Front Oncol.* – 2019. – V. 9. – Article: 1237. doi: 10.3389/fonc.2019.01237.
56. *Charrot S.* CAR-T cells: future perspectives / S. Charrot, S. Hallam. // *Hemisphere.* – 2019. – V. 3(2). – Article: e188. doi: 10.1097/HS9.000000000000188.
57. Third-generation CD28/4-1BB chimeric antigen receptor T cells for chemotherapy relapsed or refractory acute lymphoblastic leukaemia: A non-randomised, open-label phase I trial protocol / Tang X.Y., Sun Y., Zhang A. [et al.]. // *BMJ Open.* – 2016. – V. 6(12). – Article: e013904. doi: 10.1136/bmjopen-2016-013904.
58. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia / Maude S.L., Laetsch T.W., Buechner J. [et al.]. // *N Engl J Med.* – 2018. – V. 378(5). – P. 439-448. doi: 10.1056/NEJMoa1709866.
59. Axicabtagene ciloleucel CAR-T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma / Neelapu S.S., Locke F.L., Bartlett N.L. [et al.]. // *N Engl J Med.* – 2017. – V. 377(26). – P. 2531-2544. doi: 10.1056/NEJMoa1707447.
60. *Mullard A.* FDA approves first CAR-T therapy / A/ Mullard. // *Nat Rev Drug Discov.* – 2017. – V. 16(10). – P. 669. doi: 10.1038/nrd.2017.196.
61. *Wang Z.* Biomarkers of cytokine release syndrome and neurotoxicity related to CAR-T cell therapy / Z. Wang, W. Han. // *Biomark Res.* – 2018. – V 6. – Article: 4. doi: 10.1186/s40364-018-0116-0.
62. Adoptive T cell immunotherapy for cancer / K. Perica, J.C. Varela, M. Oelke, J. Schneck. // *Rambam Maimonides Med J.* – 2015. – V. 6(1). – Article: 6:e0004. doi: 10.5041/RMMJ.10179.

63. *Sadelain M.* Therapeutic T cell engineering / M. Sadelain, I. Riviere, S. Riddell. // *Nature*. – 2017. – V. 545(7655). – P. 423-431. doi: 10.1038/nature22395.
64. Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR-T cells of defined formulation and dose in children and young adults / Gardner R.A., Finney O., Annesley C. [et al.]. // *Blood*. – 2017. – V. 129(25). – P. 3322-3331. doi: 10.1182/blood-2017-02-769208.
65. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia / Kalos M., Levine B.L., Porter D.L. [et al.]. // *Sci Transl Med*. – 2011. – V. 3(95). – Article: 95ra73. doi: 10.1126/scitranslmed.3002842.
66. *Wang Z.* Current status and perspectives of chimeric antigen receptor modified T cells for cancer treatment / Z. Wang, Y. Guo, W. Han. // *Protein Cell*. – 2017. – V. 8(12). – P. 896-925. doi: 10.1007/s13238-017-0400-z.
67. *Maus M.V.* Making better chimeric antigen receptors for adoptive T-cell therapy / M.V. Maus, C.H. June. // *Clin Cancer Res*. – 2016. – V. 22(8). – P. 1875-1884. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1433.
68. *Kenderian S.S.* Chimeric antigen receptor T cells and hematopoietic cell transplantation: how not to put the CART before the horse / S.S. Kenderian, D.L. Porter, S. Gill. // *Biol Blood Marrow Transplant*. – 2017. – V. 23(2). – P. 235-246. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.09.002.
69. Engineering CAR-T cells / C. Zhang, J. Liu, J.F. Zhong, X. Zhang. // *Biomark Res*. – 2017. – V. 5. – P. 22. doi: 10.1186/s40364-017-0102-y.
70. *Sadelain M.* The basic principles of chimeric antigen receptor design / M. Sadelain, R. Brentjens, I. Rivière. // *Cancer Discov*. – 2013. – V. 3(4). – P. 388-398. doi: 10.1158/2159-8290.CD-12-0548.
71. T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: A phase 1 dose-escalation trial / Lee D.W., Kochenderfer J.N., Stetler-Stevenson M. [et al.]. // *Lancet*. – 2015. – V. 385(9967). – P. 517-528. doi: 10.1016/S0140-6736(14)61403-3.

72. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR-T cells / J. Zhao, Q. Lin, Y. Song, D. Liu. // *J Hematol Oncol.* – 2018. – V. 11(1). – P. 132. doi: 10.1186/s13045-018-0677-2.
73. The clinical efficacy of first-generation carcinoembryonic antigen (CEACAM5)-specific CAR-T cells is limited by poor persistence and transient pre-conditioning-dependent respiratory toxicity / Thistlethwaite F.C., Gilham D.E., Guest R.D. [et al.]. // *Cancer Immunol Immunother.* – 2017. – V. 66(11). – P. 1425-1436. doi: 10.1007/s00262-017-2034-7.
74. *Kandalafit L.E.* A phase I clinical trial of adoptive transfer of folate receptor-alpha redirected autologous T cells for recurrent ovarian cancer / L.E. Kandalafit, D.J. Powell, G. Coukos. // *J Transl Med.* – 2012. – V. 10. – P. 157. doi: 10.1186/1479-5876-10-157.
75. A pilot trial of the combination of vemurafenib with adoptive cell therapy in patients with metastatic melanoma / Deniger D.C., Kwong M.L., Pasetto A. [et al.]. // *Clin Cancer Res.* – 2017. – V. 23(2). – P. 351-362. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0906.
76. A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR-T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma / O'Rourke D.M., Nasrallah M.P., Desai A. [et al.]. // *Sci Transl Med.* – 2017. – V. 9(399). – Article: eaaa0984. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa0984.
77. Phase I escalating-dose trial of CAR-T therapy targeting CEA(+) metastatic colorectal cancers / Zhang C., Wang Z., Yang Z. [et al.]. // *Mol Ther.* – 2017. – V. 25(5). – P. 1248-1258. doi: 10.1016/j.ymthe.2017.03.010.
78. Disruption of TET2 promotes the therapeutic efficacy of CD19-targeted T cells / Fraietta J.A., Nobles C.L., Sammons M.A. [et al.]. // *Nature.* – 2018. – V. 558(7709). – P. 307-312. doi: 10.1038/s41586-018-0178-z.
79. *Ruella M.* Next-generation chimeric antigen receptor T-cell therapy: going off the shelf / M. Ruella, S.S. Kenderian. // *Bio Drugs.* – 2017. – V. 31(6). – P. 473-481. doi: 10.1007/s40259-017-0247-0.

80. *Cohen A.D.* CAR-T cells and other cellular therapies for multiple myeloma: 2018 update / A.D. Cohen. // *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. – 2018. – V. 38. – Article: e6-e15. doi: 10.1200/EDBK_200889.
81. *Johnson L.A.* Driving gene-engineered T cell immunotherapy of cancer / L.A. Johnson, C.H. June. // *Cell Res*. – 2016. – V. 27(1). – P. 38-58. doi: 10.1038/cr.2016.154.
82. Monocyte-derived IL-1 and IL-6 are differentially required for cytokinerelease syndrome and neurotoxicity due to CAR-T cells / Norelli M., Camisa B., Barbiera G. [et al.]. // *Nat Med*. – 2018. – V. 24(6). – P. 739-748. doi: 10.1038/s41591-018-0036-4.
83. CAR-T cell-induced cytokine release syndrome is mediated by macrophages and abated by IL-1 blockade / Giavridis T., van der Stegen S.J.C., Eyquem J. [et al.]. // *Nat Med*. – 2018. – V. 24(6). – P. 731-738. doi: 10.1038/s41591-18-0041-7.
84. Kinetics and biomarkers of severe cytokine release syndrome after CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy / Hay K.A., Hanafi L.A., Li D. [et al.]. // *Blood*. – 2017. – V. 130(21). – P. 2295-2306. doi: 10.1182/blood-2017-06-793141.
85. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia / Maude S.L., Frey N., Shaw P.A. [et al.]. // *N Engl J Med*. – 2014. – V. 371(16). – P. 1507-1517. doi: 10.1056/NEJMoa1407222.
86. *Barrett D.M.* Chimeric antigen receptor- and TCRmodified T cells enter main street and wall street / D.M. Barrett, S.A. Grupp, C.H. June. // *J Immunol*. – 2015. – V. 195(3). – P. 755-761. doi: 10.4049/jimmunol.1500751.
87. Transgenic expression of IL15 improves antiglioma activity of IL13Ralpha2-CAR-T cells but results in antigen-loss variants / Krenciute G., Prinzing B.L., Yi Z. [et al.]. // *Cancer Immunol Res*. – 2017. – V. 5(7). – P. 571-581. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0376.

88. TOX and TOX2 transcription factors cooperate with NR4A transcription factors to impose CD8+ T cell exhaustion / Seo H., Chen J., González-Avalos E. [et al.]. // *Proc Natl Acad Sci.* – 2019. – V. 116(25). – P. 12410-12415. doi: 10.1073/pnas.1905675116.
89. NR4A transcription factors limit CAR-T cell function in solid tumours / Chen J., López-Moyado I.F., Seo H. [et al.]. // *Nature.* – 2019. – V. 567(7749). – P. 530-534. doi: 10.1038/s41586-019-0985-x.
90. Enhancing CAR-T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation / Guedan S., Posey A.D., Shaw C. [et al.]. // *JCI Insight.* – 2018. – V. 3(1). – Article: e96976. doi: 10.1172/jci.insight.96976.
91. *Brodt P.* Role of the microenvironment in liver metastasis: From pre- to prometastatic niches / P. Brodt. // *Clin Cancer Res.* – 2016. – V. 22(24). – P. 5971-5982. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0460.
92. *Kasakovski D.* T cell senescence and CAR-T cell exhaustion in hematological malignancies / D. Kasakovski, L. Xu, Y. Li. // *J Hematol Oncol.* – 2018. – V. 11(1). – P. 91. doi: 10.1186/s13045-018-0629-x.
93. *Newick K.* Chimeric antigen receptor T-cell therapy for solid tumors / K. Newick, E. Moon, S.M. Albelda. // *Mol Ther Oncol.* – 2016. – V. 3. – P. 16006. doi: 10.1038/mto.2016.6.
94. Biopolymers codelivering engineered T cells and STING agonists can eliminate heterogeneous tumors / Smith T.T., Moffett H.F., Stephan S.B. [et al.]. // *J Clin Investig.* – 2017. – V. 127(6). – P. 2176-2191. doi: 10.1172/JCI87624.
95. Recent advances in CAR-T cell engineering / Huang R., Li X., He Y. [et al.]. // *J Hematol Oncol.* – 2020. – V. 13(1). – P. 86. doi: 10.1186/s13045-020-00910-5.
96. Natural killer cells in immunotherapy: are we nearly there? / M. Bachiller, A.M. Battram, L. Perez-Amill, B. Martín-Antonio. // *Cancers (Basel).* – 2020. – V. 12(11). – P. 3139. doi: 10.3390/cancers12113139.

97. A phase 1, open-label study of LCAR-B38M, a chimeric antigen receptor T cell therapy directed against B cell maturation antigen, in patients with relapsed or refractory multiple myeloma / Zhao W.H., Liu J., Wang B.Y. [et al.]. // *J Hematol Oncol.* – 2018. – V. 11(1). – P. 141. doi: 10.1186/s13045-018-0681-6.
98. Delayed remission following sequential infusion of humanized CD19- and CD22-modified CAR-T cells in a patient with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia and prior exposure to murine-derived CD19-directed CAR-T cells / Yang F., Zhang J., Zhang X. [et al.]. // *Onco Targets Ther.* – 2019. – V. 12. – P. 2187-2191. doi: 10.2147/OTT.S189103.
99. The harmonization of World Health Organization International Nonproprietary Names definitions for cell and cell-based gene therapy substances: when a name is not enough / Loizides U., Dominici M., Manderson T. [et al.]. // *Cytherapy.* – 2021. – V. 23(5). – P. 357-366. doi:10.1016/j.jcyt.2021.02.114.
100. *Calmels B.* From clinical proof-of-concept to commercialization of CAR-T cells / B. Calmels, B. Mfarrej, C. Chabannon. // *Drug Discov Today.* – 2018. – V. 23(4). – P. 758-762. doi: 10.1016/j.drudis.2018.01.024.
101. Chimeric antigen receptor T-cell therapy: a beacon of hope in the fight against cancer / Tariq S., Haider S., Hasan M. [et al.]. // *Cureus.* – 2018. – V. 10(10). – Article: e3486. doi. 10.7759/cureus.3486.
102. U.S. FDA approves kite's tecartus™, the first and only CAR-T treatment for relapsed or refractory mantle cell lymphoma // Gilead [сайт]. – URL: <https://www.gilead.com/news-and-press/press-room/press-releases/2020/7/us-fda-approves-kites-tecartus-the-first-and-only-car-t-treatment-for-relapsed-or-refractory-mantle-cell-lymphoma> (Accessed: December 30, 2020).