Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации   
  
Кафедра педиатрии ИПО

Зав. кафедрой: д.м.н., проф. Таранушенко Т.Е.

Проверил: аспирант Ваганов А.А.

Реферат

На тему: «Иммунотерапия острого лимфобластного лейкоза»

Выполнила: врач-ординатор

1 года обучения

специальности педиатрия

Алексеева Ю.В.

г. Красноярск, 2022 год

Оглавление

Список сокращений……………………………………………………………….3

Введение…………………………………………………………………………...4

Определение CAR-T-клеточной терапии………………………………………..6

История создания химерного антигенного рецептора…………………………9

Технология CAR- T-клеточной терапии ………………………………………11

Побочные эффекты терапии…………………………………………………….13

Причины преимущества CAR-T терапии перед блинатумомабом…………...14

Проблемы CAR T-клеточной терапии………………………………………….15

Заключение…………………………………………………………………….....16

Список литературы………………………………………………………………18

Список сокращений

CAR (chimeric antigen receptor) – химерный антигенный рецептор

FDA (Food and Drug Administration) - Агентство Министерства здравоохранения и социальных служб США, один из федеральных исполнительных департаментов

scFv – одноцепочечный вариабельный фрагмент антитела

scFv-CAR – химерный антигенный рецептор с антигенраспознающей областью, основанной на scFv

Тreg – Т-регуляторные лимфоциты

ОЛЛ – острый лимфобластный лейкоз

СВЦ – синдром выброса цитокинов

Введение

Острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) – это злокачественное заболевание системы кроветворения, характеризующееся неконтролируемой пролиферацией опухолевого клона из клеток ‒ кроветворных предшественников линий лимфоидной дифференцировки, составляющего не менее 25% от других ядерных клеточных элементов костного мозга, с возможным вовлечением в процесс различных органов и систем (лимфоидная ткань любой локализации)и в своем естественном течении неизбежно приводящее к фатальному исходу [1].

Актуальность темы нельзя преуменьшить, т.к. ОЛЛ составляет около 25 % от всех злокачественных опухолей у пациентов в возрасте до 18 лет и является самым частым онкологическим заболеванием детского возраста. Основной целью терапии ОЛЛ является эрадикация опухолевого клона и восстановление нормального кроветворения [1].

Совершенствование методов лечения ОЛЛ необходимо, поскольку, несмотря на успехи современной терапии, ежегодно около 200 детей, больных ОЛЛ, в России умирают, а среди пациентов, которые смогли победить болезнь, многие сталкиваются с тяжелыми осложнениями в результате терапии. Современная медицина столкнулась с тем, что возможности для уменьшения последствий традиционной химиотерапии ОЛЛ исчерпаны. В настоящее время на этапе клинического внедрения находится технология таргетной иммунотерапии ОЛЛ на основе Т-лимфоцитов с химерным антигенным рецептором (CAR-T-клетки), при которой часть клеток иммунной системы пациента начинают бороться с опухолевыми клетками [3].

Развитие молекулярной биологии, генетики и иммунологии позволяет получать новые и уточнять уже накопленные знания о функционировании иммунной системы и способах воздействия на нее. Это привело к созданию химерныx антигенныx рецепторов, как потенциальной основы для воздействия на иммунную систему с целью активации противоопухолевого ответа [2]. Иммунотерапия является одним из признанных современных методов лечения онкологических заболеваний, основанном на достижениях генетики, молекулярной биологии и иммунологии, целью которого является восстановление нормального функционирования противоопухолевого ответа. В основу данного вида терапии положено создание опухоль-специфичных цитотоксических лимфоцитов, экспрессирующих химерный антигенный рецептор [2].

Определение CAR-T-клеточной терапии

CAR-T - клеточная терапия(Chimeric Antigen Receptor T-Cell, или T-клетки с химерным антигенным рецептором) – новая парадигма, позволяющая индивидуально подобрать лечение при [ОЛЛ](https://www.sjdhospitalbarcelona.org/ru/patologii-i-metody-lecheniya/leykoz) — наиболее часто встречающемся у детей злокачественном новообразовании.

CAR-T 19 - это метод лечения, основанный на использовании собственных клеток пациента для разрушения лейкемических клеток изаключается в извлечении T-лимфоцитовиз организма пациента посредством афереза — технологии, позволяющей разделить кровь на компоненты и получить определенное количество лимфоцитов. Затем в Т-лимфоциты пациента в лабораторных условиях встраивают химерные рецепторы, способные распознать специфичный антиген опухоли и уничтожать ее так же, как они это обычно делают с чужеродными патогенами [5].

Часть СAR в модифицированной клетке CAR-T — это рекомбинантный рецептор, обеспечивающий как специфичность взаимодействия, так и активацию Т-лимфоцитов. CAR распознает мишень с по- мощью внеклеточного домена — одноцепочечного вариабельного фрагмента антитела (single-chain variable fragment, scFv), отвечающего за специфичность узнавания антигена, в частности опухолевой клетки (Рис. 1) [5].

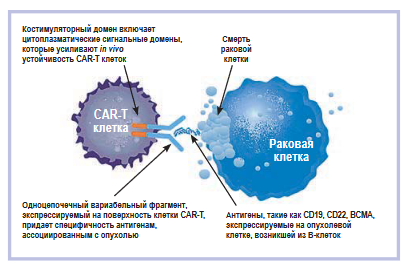


Рис. 1 Клетка CAR-T и процесс ее взаимодействия с клеткой опухоли (схема).

Лейкозы и лимфомы, возникающие вследствие патологического изменения или злокачественного перерождения B-лимфоцитов, имеют общий признак — они экспрессируют на своей поверхности белок или антиген под названием CD19. Когда развивается онкология, лимфоциты не могут распознавать антиген и, вследствие этого, не могут атаковать и препятствовать размножению раковых клеток. Благодаря генной инженерии можно перепрограммировать лимфоциты и ввести в них генную информацию, чтобы эти клетки экспрессировали на поверхности химерный рецептор, или CAR-T, который будет распознавать опухолевый антиген (CD19) и разрушать злокачественные клетки [4].

Терапия CAR-T 19 объединяет три типа прогрессивной терапии: клеточной, иммунотерапии и генной терапии. Она считается клеточной терапией, поскольку пациенту вводится не лекарственное вещество, а «живой» препарат. Также она является иммунотерапией, так как сами клетки иммунной системы ребенка или подростка борются против раковых клеток. Наконец, это метод генной терапии (один из первых, одобренный FDA), так как проводится генетическая модификация лимфоцитов для борьбы с заболеванием [4].

История создания химерного антигенного рецептора

Концепция создания химерного антигенного рецептора принадлежит G. Gross и его коллегам, которые в 1989 г. обнаружили возможность перенаправлять Т-клеточный ответ с помощью сконструированного искусственного рецептора. Это исследование заложило основу для разработки CAR первого поколения клеток. Годы последовательных и масштабных испытаний ознаменовались первым успешным клиническим применением CAR T-клеток 1-го поколения (α-GD2 CAR), о котором в 2008 г. сообщили M. Brenner et al.: у трех из 11 пациентов с нейробластомой была достигнута полная ремиссия заболевания. С этого момента началось бурное развитие данной биотехнологии.

CAR первого поколения, содержащий внеклеточный домен CD4 и внутриклеточный домен CD3z, был использован в первом клиническом исследовании химерных Т-клеток с рецептором антигена биотехнологической компанией [Cell Genesys](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/w/index.php?title=Cell_Genesys&action=edit&redlink=1) в середине 1990-х годов, что позволило адоптивно переносимым Т-клеткам нацеливаться на [ВИЧ](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/HIV)-инфицированные клетки, хотя и не показало какого-либо клинического улучшения. Аналогичные ранние клинические испытания CAR T-клеток в солидных опухолях в 1990-х годах с использованием CARs первого поколения, нацеленных на солидные опухолевые антигены, такие как MUC1[,](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/MUC1) не показали долговременной персистенции перенесенных Т-клеток или не привели к значительным ремиссиям.

В начале 2000-х годов к внутриклеточному домену CD3z CAR первого поколения были добавлены костимулирующие домены, такие как [CD28](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/CD28) или [4-1BB](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/CD137). Названные CARs второго поколения, эти конструкции показали большую стойкость и улучшили клиренс опухоли в доклинических моделях. Клинические испытания в начале 2010-х годов с использованием CARs второго поколения, нацеленных на CD19, белок, экспрессируемый нормальными [В-клетками](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/B_cell), а также [В-клеточными лейкозами](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/B-cell_leukemia) и [лимфомами](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/B-cell_lymphoma), проведенные исследователями из [NCI](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/National_Cancer_Institute), [Университета Пенсильвании](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/University_of_Pennsylvania) и [онкологического центра Memorial Sloan Kettering](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/Memorial_Sloan_Kettering_Cancer_Center), продемонстрировали клиническую эффективность CAR T-клеточной терапии и показали, что у многих пациентов, прошедших интенсивное предварительное лечение, наблюдается полная ремиссия. Эти испытания в конечном итоге привели к первым одобрениям [FDA](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/Food_and_Drug_Administration) CAR T-cells в 2017 году для [tisagenlecleucel](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/Tisagenlecleucel) (Kymriah), первоначально продаваемого [Novartis](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/Novartis) для лечения [острого лимфобластного лейкоза](https://translated.turbopages.org/proxy_u/en-ru.ru.db0ad4d3-636cb83b-d8adfc7f-74722d776562/https/en.wikipedia.org/wiki/Acute_lymphoblastic_leukemia)-предшественника В-клеток (B-ALL) [5].

Технология CAR-T-клеточной терапии

CAR-Т-клеточная терапия представляет собой новый, быстро развивающийся иммунотерапевтический подход, который выводит лечение онкологических заболеваний на новый уровень. Клетки CAR-T представляют собой генетически модифицированные Т-лимфоциты, взятые у пациента с помощью афереза — технологии, которая позволяет разделить кровь  
на компоненты и получить определенное количество лимфоцитов. В Т-лимфоциты пациента в лабораторных условиях встраивают химерные рецепторы, способные распознать специфичный антиген опухоли  
и уничтожать ее так же, как они это обычно делают с чужеродными патогенами [5]. Часть СAR в модифицированной клетке CAR-T —  
это рекомбинантный рецептор, обеспечивающий как специфичность взаимодействия, так и активацию Т-лимфоцитов. CAR распознает мишень с помощью внеклеточного домена — одноцепочечного вариабельного фрагмента антитела (single-chain variable fragment, scFv), отвечающего за специфичность узнавания антигена, в частности опухолевой клетки.  
Выбор подходящих антигенов (мишеней) для клеток CAR-T имеет решающее значение для снижения риска развития нежелательных явлений, в частности высокой токсичности данной терапии. Многие потенциальные мишени экспрессируются и на здоровых клетках и тканях организма. Гамма-ретровирусные векторы первыми использовали для создания клеток CAR-Т с мишенью CD19. Ленти-вирусные векторные системы широко используются для трансдукции неделящихся клеток и теоретически более безопасны с точки зрения риска развития инсерционного мутагенеза и злокачественной трансформации [2].

Существует два возможных способа получения CAR T-клеток:  
in vivo (in situ) (в кровь пациента вводятся наночастицы, превращающие Т-клетки пациента в CAR T-клетки) и ex vivo (производство состоит из нескольких этапов). Этапы производства CAR T-клеток ex vivo:

1) аферез лейкоцитов пациента;  
2) генетическая модификация Т-лимфоцитов в лаборатории (часто место производства CAR-T-клеток находится на значительном расстоянии от места проведения афереза)

3) размножение модифицированных Т-клеток (экспансия в среде, обогащенной цитокинами);  
4) контроль качества клеточного препарата;  
5) криоконсервация;  
6) подготовка пациента (предварительная химиотерапия, чтобы предупредить возможное отторжение организмом и способствовать сохранению и пролиферации CAR-T-клеток);  
7) инфузия;  
8) мониторинг.

Побочные эффекты терапии

Аутологичная CAR T-клеточная терапия имеет серьезные побочные эффекты и различный профиль токсичности. Наиболее распространенными побочными эффектами являются:  
- синдром выброса цитокинов («цитокиновый шторм», СВЦ);  
- нейротоксичность;  
- синдром лизиса опухоли;  
- аллергические реакции;  
- В-клеточная аплазия.

СВЦ является клиническим ответом на повышение уровня цитокинов и включает такие симптомы, как гипотензия, лихорадка, неврологические изменения и гипоксия [3].

Причины преимущества CAR T-клеточной терапии перед блинатумомабом

Для лечения В-линейного острого лимфобластного лейкоза применяется препарат блинатумомаб, который специфичен к антигену CD19, экспрессируемому на поверхности всех B-лимфоцитов, в том числе опухолевых. Таким образом, блинатумомаб соединяет CD3 в составе Т-клеточного рецептора и CD19 на поверхности B-клеток. Это приводит к «рекрутированию» обычных Т-клеток организма пациента: увеличивается экспрессия молекул клеточной адгезии на их поверхности; Т-лимфоциты начинают интенсивно пролиферировать и вырабатывать цитолитические белки и провоспалительные цитокины. В результате происходит лизис CD19+ - клеток. Блинатумомаб и молекулы, функционирующие подобно ему, были названы биспецифическими активаторами Т-клеток (Bispecific Т-cell engager, BiTE)

Долгое время блинатумомаб считался альтернативой CAR-Т-клеточной терапии в лечении гемобластозов. Однако сегодня клеточная терапия  
считается более эффективной, поскольку персистенция CAR-Т-клеток продолжительна и устойчива, а период полувыведения блинатумомаба очень короток и составляет всего 2 ч. Помимо этого, при лечении блинатумомабом необходима инфузия аутологичных лимфоцитов, если уровень иммунных  
клеток в организме недостаточен для лизиса опухоли. Большим недостатком блинатумомаба является тот факт, что он способен рекрутировать вместе  
с эффекторными Т-клетками хозяина еще и Т-регуляторные лимфоциты (Тreg), которые обладают иммуносупрессивным действием за счет выделения IL-10 и TGF-β (Transforming growth factor beta). Поэтому перед курсом лечения блинатумомабом в некоторых случаях, наоборот, необходимо проведение деплеции Т-клеток пациента с помощью ХТ с использованием  
циклофосфамида и флударабина.

Проблемы CAR T-клеточной терапии

Несмотря на очевидные клинические преимущества CAR-T терапии в лечении онкологических заболеваний, существует ряд проблем при ее регистрации и регулировании в связи с инновационным характером [5]. Затратоемкость производства и стоимость препаратов, контроль качества продукта, высокие требования соответствия надлежащей клинической и производственной практике, законодательство стран в области генно-модифицированных организмов, сложные логистические конструкции при производстве и реализации и инновационный характер данной медицинской технологии обусловливают гибкость подходов регуляторов и производителей в организации доступа на рынок. На сегодняшний день в мире официально зарегистрировано для обращения две CAR-T технологии — Kymriah (tisagenlecleucel) и Yescarta (axicabtagene ciloleucel). Kymriah и Yescarta  
относятся к новому поколению препаратов для индивидуальной противоопухолевой иммунотерапии, которая позволяет «перепрограммировать» собственные иммунные клетки пациента так, чтобы они распознавали злокачественные клетки и боролись с ними [5].

Возникновение рецидивов заболевания связано со снижением  
количества CD19 CAR T-клеток в крови пациента, либо обусловлено потерей экспрессии CD19 на поверхности опухолевых клеток [2].

Причины потери эффективности CAR T-клеточной терапии:

1. Потеря активных CAR T-клеток связана с их истощением;
2. CAR T-клеткам требуется более высокая плотность таргетного антигена, чем естественным Т-клеткам;
3. Опухолевые клетки имеют низкую плотность CD19 [2].

Заключение

Адоптивная иммунотерапия с использованием генно-модифицированных Т-лимфоцитов, безусловно, стала прорывным направлением в медицине и квинтэссенцией современной парадигмы онкологии и не только ведет к персонализированной медицине, но и дает надежду на значительное улучшение результатов лечения. Данные биотехнологии требуют высоких материальных (автоматизация технологического процесса), интеллектуальных и организационных ресурсов, что предполагает их возможную реализацию лишь в крупных научных центрах. Необходимо повышение как эффективности, так и безопасности применения CAR T-клеток. В то же время, предстоит решить один из немаловажных вопросов: управляемость CAR T-клетками во временных, пространственных и функциональных измерениях. Нельзя отрицать, что адоптивная Т-клеточная иммунотерапия обладает потенциально высокой эффективностью. К сожалению, несмотря на то, что появление CAR T-клеточной терапии открывает новые возможности лечения пациентов с онкологическими заболеваниями, частота достижения ответа ограничена, а появление рецидивов не редко. В терапии солидных опухолей успехи менее впечатляющие, чем в онкогематологии, что связано с особенностями биологии солидных опухолей и нерешенными вопросами стимулирования инфильтрации и персистирования CAR T-клеток в опухолевом микроокружении. Тем не менее, адоптивная иммунотерапия находится в начале своего пути, и, возможно, пришло время для более тщательной оценки способов влияния на иммунную систему, которые позволят повысить эффективность и минимизировать неблагоприятные явления связанные с CAR T-клеточной терапией в будущем. Вероятно, дальнейшие клинические исследования терапии CAR T-клетками будут направлены не столько на преодоление рефрактерности опухоли к стандартным программам лечения, сколько на решение проблемы эрадикации остаточного опухолевого клона на ранних этапах терапии, что откроет перспективы к излечению онкологических заболеваний в условиях реальной клинической практики [2].

Эта технология позволяет достичь ремиссий у 90% пациентов с трудноизлечимыми формами ОЛЛ и в ряде случаев обеспечить их излечение без использования трансплантации костного мозга. В перспективе эта технология может заменить интенсивную химиотерапию при тяжелых формах ОЛЛ и обеспечить выздоровление пациентов, избежав тяжелых побочных эффектов [2].

CAR-Т-клеточная терапия сегодня сталкивается со множеством проблем как при лечении гемобластозов, так и при получении химерных лимфоцитов. Именно эти препятствия являются стимулом для развития данной терапии, служат ориентиром для новых разработок ученых по всему миру. Современные тенденции в модификации CAR-Т-клеток не ограничиваются одним только изменением структуры химерного рецептора, но и включают использование большого спектра веществ, выделяемых химерными лимфоцитами, дополнение иммунных клеток особыми мембранными рецепторами и многое другое.  
В заключение следует отметить, что новейшие тенденции по увеличению эффективности и повышению безопасности химерных лимфоцитов должны вывести CAR-Т-клеточную терапию на более значимый уровень доверия в медицинском сообществе, определив ее как современное и результативное направление лечения больных онкологическими заболеваниями, в частности, ОЛЛ [5].

Список литературы

1. Клинические рекомендации «Острый лимфобластный лейкоз», 2020 г.
2. Кувшинов А. Ю., Волошин С. В., Кузяева А. А., Шуваев В. А.,  
   Михалева М. А., Мартынкевич И. С., Чечеткин А. В., Бессмельцев С. С. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О CAR T-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ. Вестник гематологии 2019, том XV, № 2. Г.Санкт-Петербург
3. Павлова В.Ю., Ливадный Е.С. Биотехнология CAR-T и новые возможности лечения опухолевых заболеваний. Клиническая онкогематология. 2021;14(1):149–56.
4. Ершов А.В., Демьянов Г.В., Насруллаева Д.А., Радкевич Е.Р., Долгих В.Т., Сидорова Н.В., Валиев Т.Т., Ефимова М.М., Мачнева Е.Б., Киргизов К.И., Киселевский М.В., Манасова З.Ш. Новейшие тенденции в совершенствовании CAR-Т-клеточной терапии: от лейкозов к солидным злокачественным новообразованиям. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2021;8(2):84–95.
5. Омельяновский В.В., Безденежных Т.П., Тепцова Т.С., Мусина Н.З., Мельникова Л.С. Регистрация первых CAR-T технологий в мире: уроки для России. Медицинские технологии. Оценка и выбор. 2020;40(2):18-25