

<https://doi.org/10.21682/2311-1267-2021-8-2-84-95>

Новейшие тенденции в совершенствовании CAR-T-клеточной терапии: от лейкозов к солидным злокачественным новообразованиям

А.В. Ершов^{1,2}, Г.В. Демьянов¹, Д.А. Насруллаева¹, Е.Р. Радкевич¹, В.Т. Долгих², Н.В. Сидорова³, Т.Т. Валиев³,
М.М. Ефимова³, Е.Б. Мачнева^{3,4}, К.И. Киргизов³, М.В. Киселевский³, З.Ш. Манасова¹

¹ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2; ²НИИ общей реаниматологии имени В.А. Неговского ФГБУН «Федеральный научно-клинический центр реаниматологии и реабилитологии» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации; Россия, 107031, Москва, ул. Петровка, 25, стр. 2; ³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23; ⁴ОСП РДКБ ФГАОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 119571, Москва, Ленинский просп., 117

Контактные данные: Антон Валерьевич Ершов salavatprof@mail.ru

Среди современных подходов к лечению онкологических заболеваний важное место занимает CAR-T-клеточная терапия с использованием цитотоксических лимфоцитов с химерными антигенными рецепторами. Данный подход зарекомендовал себя как эффективный метод лечения острого лимфобластного лейкоза с экспрессией CD19-антигена. Тем не менее нередко рецидивы заболеваний, а лечение солидных опухолей генетически модифицированными лимфоцитами демонстрирует весьма скромные результаты и сопровождается высокой токсичностью. Однако, несомненно, что CAR-T-клеточная терапия обладает большим потенциалом в лечении онкологических заболеваний и дальнейшее совершенствование структуры и функций генетически модифицированных лимфоцитов с химерными T-клеточными рецепторами может значительно увеличить эффективность противоопухолевого лечения.

В обзоре представлены современные данные о структуре химерных лимфоцитов разных поколений и освещены тенденции в совершенствовании CAR-T-клеточной терапии. Представлена также фундаментальная платформа для формирования идеологии применения CAR-T-клеток в лечении солидных злокачественных новообразований.

Ключевые слова: CAR-T-клеточная терапия, химерные лимфоциты, химерный антигенный рецептор, лейкозы, солидные злокачественные новообразования

Для цитирования: 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-T-клеточной терапии: от лейкозов к солидным злокачественным новообразованиям. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2021;8(2):84–95.

The latest trends in improving CAR-T cell therapy: from leukemia to solid malignant tumors

A.V. Ershov^{1,2}, G.V. Demyanov¹, D.A. Nasrullaeva¹, E.R. Radkevich¹, V.T. Dolgikh², N.V. Sidorova³, T.T. Valiev³,
M.M. Efimova³, E.B. Machneva^{3,4}, K.I. Kirgizov³, M.V. Kiselevsky³, Z.Sh. Manasova¹

¹I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); 8-2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia; ²V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology, Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; 25, Build. 2, Petrovka St., Moscow, 107031, Russia;

³N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology, Ministry of Health of Russia; 23 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115478, Russia;

⁴Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 117 Leninsky Prospekt, Moscow, 119571, Russia

CAR-T cell therapy with the use of cytotoxic lymphocytes with chimeric antigen receptors occupies an important place among modern approaches to the cancer treatment. This therapy has established itself as an effective method of the treatment of CD19⁺ acute lymphoblastic leukemia. Nevertheless, the recurrences of the illness are not uncommon; the treatment of solid tumors with genetically engineered lymphocytes shows modest results and it is accompanied by the high toxicity. One thing, however, is certain: CAR-T cell therapy has great potential in the treatment of cancer and further improving of the structure and functions of genetically engineered lymphocytes with chimeric T cell receptors help greatly increase the efficiency of antitumor treatment.

The review includes the current data on the structure of chimeric lymphocytes of different generations and the trends in improving CAR-T cell therapy. It includes also the fundamental platform for formation of ideology of use CAR-T cells for the treatment of solid malignant tumors.

Key words: CAR-T cell therapy, chimeric lymphocytes, chimeric antigen receptor, leukemia, solid malignant tumors

For citation: Ershov A.V., Demyanov G.V., Nasrullaeva D.A., Radkevich E.R., Dolgikh V.T., Sidorova N.V., Valiev T.T., Efimova M.M., Machneva E.B., Kirgizov K.I., Kiselevsky M.V., Manasova Z.Sh. The latest trends in improving CAR-T cell therapy: from leukemia to solid malignant tumors. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2021;8(2):84–95.

Информация об авторах

А.В. Ершов: д.м.н., профессор кафедры патофизиологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, старший научный сотрудник НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, e-mail: salavatprof@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5758-8552>, SPIN-код: 2059-3248
 Г.В. Демьянов: студент 4-го курса Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: gleb.demyanov.2017@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1584-4604>
 Д.А. Насруллаева: студентка 4-го курса Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: diana.nasrullaeva.00@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1241-0675>
 Е.Р. Радкевич: студентка 4-го курса Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: lizysha99@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0206-0114>
 В.Т. Долгих: д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского ФНКЦ РР, e-mail: prof_dolgih@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9034-4912>, SPIN-код: 2052-1445
 Н.В. Сидорова: заведующая отделением детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: valerevna25@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3797-5808>, SPIN-код: 7729-5713
 Т.Т. Валиев: д.м.н., заведующий детским отделением химиотерапии гемобластозов отдела гематологии и трансплантации костного мозга НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: timurvaliev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1469-2365>, SPIN-код: 9802-8610
 М.М. Ефимова: врач-детский онколог НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: kivi123987@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1925-2457>
 Е.Б. Мачнева: к.м.н., врач-гематолог отделения детской трансплантации костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, врач-гематолог отделения трансплантации костного мозга Российской детской клинической больницы РНИМУ им. Н.И. Пирогова, e-mail: lena.machneva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2395-4045>, SPIN-код: 6143-8644
 К.И. Киргизов: к.м.н., заместитель директора по научной и образовательной работе НИИ детской онкологии и гематологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: k.kirgizov@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2945-284X>, SPIN-код: 3803-6370
 М.В. Киселевский: д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточного иммунитета НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, e-mail: kisele@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0132-167X>, SPIN-код: 8687-2387
 З.Ш. Манасова: к.м.н., доцент кафедры патофизиологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, e-mail: zmanasova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3003-4362>, SPIN-код: 2251-6634

Information about the authors

A.V. Ershov: Dr. of Sci. (Med.), Professor at the Department of Pathophysiology I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, Senior Researcher V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology at Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, e-mail: salavatprof@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-5758-8552>, SPIN-code: 2059-3248
 G.V. Demyanov: 4th year student I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: gleb.demyanov.2017@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1584-4604>
 D.A. Nasrullaeva: 4th year student I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: diana.nasrullaeva.00@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-1241-0675>
 E.R. Radkevich: 4th year student I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: lizysha99@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0206-0114>
 V.T. Dolgikh: Dr. of Sci. (Med.), Chief Researcher Laboratory of Clinical Pathophysiology of Critical States V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology at Federal Scientific and Clinical Center of Reanimatology and Rehabilitation, Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, e-mail: prof_dolgih@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-9034-4912>, SPIN-code: 2052-1445
 N.V. Sidorova: Head of the Department of Pediatric Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: valerevna25@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0003-3797-5808>, SPIN-code: 7729-5713
 T.T. Valiev: Dr. of Sci. (Med.), Head of the Children's Department of Hemoblastosis Chemotherapy of the Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: timurvaliev@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-1469-2365>, SPIN-code: 9802-8610
 M.M. Efimova: Pediatric Oncologist Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: kivi123987@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-1925-2457>
 E.B. Machneva: Cand. of Sci. (Med.), Hematologist Department of Pediatric Bone Marrow and Hematopoietic Stem Cell Transplantation of the Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, Hematologist Department of Bone Marrow Transplantation at the Russian Children's Clinical Hospital of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: lena.machneva@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0003-2395-4045>, SPIN-code: 6143-8644
 K.I. Kirgizov: Cand. of Sci. (Med.), Deputy Director for Scientific and Educational Work of Research Institute of Pediatric Oncology and Hematology at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: k.kirgizov@ronc.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2945-284X>, SPIN-code: 3803-6370
 M.V. Kiselevsky: Dr. of Sci. (Med.), Professor, Head of the Laboratory of Cellular Immunity of N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia, e-mail: kisele@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0132-167X>, SPIN-code: 8687-2387
 Z.Sh. Manasova: Cand. of Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Pathophysiology at I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia, e-mail: zmanasova@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3003-4362>, SPIN-code: 2251-6634

Вклад авторов

А.В. Ершов, Г.В. Демьянов, Д.А. Насруллаева, Е.Р. Радкевич, З.Ш. Манасова: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи, составление резюме
 А.В. Ершов, В.Т. Долгих, Н.В. Сидорова, Т.Т. Валиев, М.М. Ефимова, Е.Б. Мачнева, К.И. Киргизов, М.В. Киселевский, З.Ш. Манасова: научное редактирование статьи

Authors' contributions

A.V. Ershov, G.V. Demyanov, D.A. Nasrullaeva, E.R. Radkevich, Z.Sh. Manasova: review of publications on the topic of the article, writing the text of the article, composing a resume
 A.V. Ershov, V.T. Dolgikh, N.V. Sidorova, T.T. Valiev, M.M. Efimova, E.B. Machneva, K.I. Kirgizov, M.V. Kiselevsky, Z.Sh. Manasova: scientific edition of the article

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Введение

Онкологические заболевания уверенно занимают 2-е место не только в структуре смертности населения планеты, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям [1], но и в структуре все чаще применяемого показателя лет жизни, скорректированных по нетрудоспособности (Disability-adjusted life years; DALY). По данным Всемирной организации здравоохранения, DALY от онкозаболеваний в 2017 г. оценено в 233,5 млн лет [2]. Увеличение общей заболеваемости новообразованиями свидетельствует о том, что применяемые традиционно методы лечения опухолей — лучевая терапия, хирургическое лечение и даже химиотерапия (ХТ) — являются недостаточно эффективными, поскольку, например, было признано, что ХТ приближается к пределу в способности воздействовать на онкологические заболевания [3]. Будущее в этой отрасли медицины принадлежит иммунотерапии, важнейшим направлением которой на данный момент является CAR-T-клеточная терапия с использованием особых химерных лимфоцитов.

Наиболее эффективной CAR-T-клеточная терапия оказалась в лечении гемобластозов: В-линейного острого лимфобластного лейкоза, лимфомы Ходжкина, а также В-клеточных лимфом, хронического лимфолейкоза и миеломной болезни [4, 5]. Солидные опухоли, к сожалению, проявили куда более выраженную устойчивость к применению химерных лимфоцитов [6]. Однако совершенствование CAR-T-клеточной терапии не стоит на месте. Так, новейшие разработки в данной области сегодня проводятся в основном в США [7]. В 2017 г. Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA) одобрило первые препараты для CAR-T-клеточной терапии:

1. Тисагенлектисел (Kymriah®), используемый для лечения пациентов в возрасте до 25 лет с рецидивирующими или рефрактерными формами В-линейного острого лимфобластного лейкоза и для лечения взрослых пациентов с рецидивирующими или рефрактерными формами диффузной В-крупноклеточной лимфомы.

2. Аксикабтаген силотисел (Yescarta®), используемый для лечения взрослых пациентов с рецидивирующими или рефрактерными формами диффузной В-крупноклеточной лимфомы [8].

По общему же числу проводимых клинических испытаний 1-е место в мире занимает Китай. В России проходит всего лишь 1 клиническое исследование в ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России [9, 10].

Основой CAR-T-клеточной терапии является получение опухоль-специфичных цитотоксических химерных Т-лимфоцитов, которые создаются благодаря введению в лимфоцит трансгена, кодирующего химерный антигенный рецептор (Chimeric antigen receptor, CAR). Обычный цитотоксический Т-лимфоцит обладает Т-клеточным рецептором (T-cell

receptor, TCR), способным распознавать только те антигены, детерминанты которых находятся в соединении с молекулой главного комплекса гистосовместимости класса I (Major histocompatibility complex class I, MHC I) на поверхности узнаваемых клеток. В силу того, что антиген, прежде чем соединиться с главным комплексом гистосовместимости, подвергается процессингу, цитотоксические лимфоциты узнают не только наружные, но и внутренние антигены (это очень важное преимущество Т-клеточных рецепторов). Антитела в отличие от TCR для распознавания опухолевой мишени не требуют процессинга антигена и его связывания с MHC I, но различают только те молекулы, которые находятся на поверхности клеток [11]. В связи с тем, что Т-клеточные рецепторы и антитела относятся к одному суперсемейству иммуноглобулинов, они очень похожи по своему строению. На основании этого ученые объединили антигенсвязывающий вариабельный фрагмент антитела и константную часть Т-клеточного рецептора. Получился химерный рецептор, способный распознавать антигены на поверхности опухолевых клеток независимо от соединения эпитопа с MHC I. При этом все внутриклеточные сигнальные пути, характерные для Т-лимфоцитов, такой рецептор точно так же, как и TCR, способен активировать [1].

Строение химерных рецепторов CAR-T-лимфоцитов различных поколений

Строение химерного антигенного рецептора довольно сложно. Молекула CAR имеет 3 части; при этом каждая из них выполняет свои специфические функции.

I. Эктодомен (внеклеточная часть) состоит из 2 участков:

а) таргетный домен, представленный одноцепочечным вариабельным фрагментом антитела (Single-chain variable fragment, scFv), состоящим из VH-домена и VL-домена; поэтому функция таргетного домена заключается в узнавании опухолевого антигена, специфичности связывания с ним;

б) шарнирная область, объединяющая таргетный и трансмембранный домены (ТМД) и придающая рецептору подвижность; идентификация опухолевой мишени с помощью шарнирной области происходит быстрее [1, 7].

II. ТМД — с его помощью рецептор прикрепляется к клеточной мембране лимфоцита.

III. Эндодомен (внутриклеточная сигнальная часть) представлен 2 элементами:

а) ζ-цепь (дзета-цепь) CD3 (CD3ζ) — присутствует у химерных лимфоцитов всех поколений, отвечает за активацию CD8⁺ Т-лимфоцитов, их пролиферацию и синтез перфоринов и гранзимов, участвующих в уничтожении опухолевых клеток;

б) ко-стимулирующий домен — создает повторный сигнал и таким образом дополнительно активирует химерные лимфоциты [1, 7].

К настоящему времени известны 4 поколения CAR-T-лимфоцитов, которые изучаются в доклинических и текущих клинических исследованиях. Разделение химерных лимфоцитов на поколения определяется составом внутриклеточных сигнальных доменов, включенных в молекулу химерного рецептора. У CAR-T-клеток 1-го поколения в качестве эндо-домена CAR используется только CD3 ζ [1]. Химерные лимфоциты 2-го поколения включают в дополнение к CD3 ζ 1 ко-стимулирующий домен таких иммунных рецепторов, как CD28, 4-1BB (CD137), CD27 или OX40 [12]. Третье поколение CAR-T-лимфоцитов в составе химерного рецептора содержит CD3 ζ и 2 ко-стимулирующих домена, например от рецепторов CD28 и 4-1BB [13]. Также химерные лимфоциты могут быть модифицированы путем введения дополнительных генов, в том числе кодирующих цитокины (например, IL-12 и IL-15) или ко-стимулирующие лиганды (например, 4-1BBL), – 4-е поколение CAR-T-клеток [14] (рис. 1).

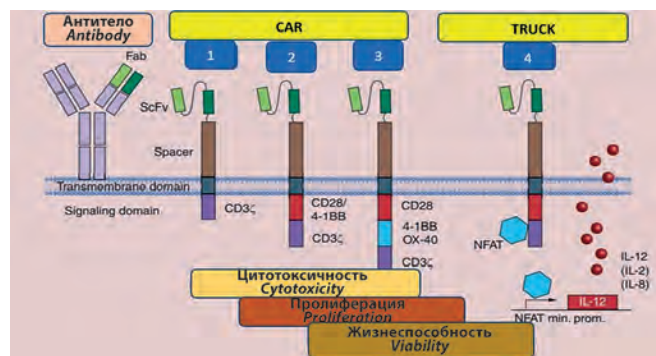


Рис. 1. Структура химерных рецепторов CAR-T-лимфоцитов 1–4-го поколения (адаптировано из [15])

Fig. 1. The structure of chimeric receptors CAR-T lymphocytes of 1–4 generations (adapted from [15])

За годы исследования химерных рецепторов сильнее всего эволюционировали именно их внутриклеточные сигнальные домены. На их модификации сосредоточено большинство попыток усилить противоопухолевый эффект CAR-T-клеточной терапии. CAR-T-клетки 1-го поколения, чьи химерные рецепторы содержали лишь внутриклеточный сигнальный домен CD3 ζ , быстро сменили химерные лимфоциты 2-го поколения, содержащие, кроме CD3 ζ , ко-стимулирующий домен: чаще всего это внутриклеточный домен CD28 [16]. Однако было показано, что в зависимости от антигена использование CD28-сигнального домена может вызывать явление, известное как истощение лимфоцитов. Истощение происходит во время экспансии клеток в культуре и выражается в снижении их пролиферативной активности и снижении экспрессии цитокинов. Истощенные клетки после адоптивного переноса демонстрируют сниженную противоопухолевую активность. На молекулярном уровне при этом обнаруживается, что химерные рецепторы не распределены равномерно

по поверхности клетки, а кластеризуются в нескольких местах [17, 18]. При замене в сигнальном домене CD28-последовательностей на последовательности CD8 и 4-1BB образования кластеров не наблюдается, и истощения клеток не происходит [19–21]. Кроме CD28, в качестве ко-стимулирующего домена могут использоваться внутриклеточные домены 4-1BB, OX40, CD27 [22]. CAR-T-клетки 3-го поколения содержат по 2 ко-стимулирующих домена. К 4-му поколению химерных лимфоцитов относят системы экспрессии, которые кроме собственно химерного рецептора экспрессируют дополнительные молекулы, усиливающие противоопухолевую активность.

Новейшие тенденции в совершенствовании CAR-T-клеточной терапии

1. Изменения в производстве химерных лимфоцитов

1. Источниками для получения химерных лимфоцитов в большинстве случаев являются Т-клетки периферической крови самих пациентов. Однако при аферезе врачи сталкиваются с определенной проблемой: у больных с Т-клеточными злокачественными новообразованиями наблюдается дефицит Т-лимфоцитов вследствие проведенной или проводимой ХТ [23, 24]. Поэтому все большее значение приобретает аллогенная трансплантация CAR-T-клеток (аферез лейкоцитов производят у подходящего по гистосовместимости донора). В таком случае пациент должен ждать, пока появится подходящий донор, а времени у него очень мало. Спасением в данном случае являются так называемые универсальные CAR-T-клетки (U-CAR-T cells), приготовленные из лейкоцитов любого здорового донора [18, 25, 26].

Но как же тогда избежать реакции отторжения, которая неминуемо последует за введением подобных клеток? Традиционно для этого применяют ХТ [1]; также недавно были выделены особые подтипы Т-клеток, способные избегать иммунного ответа со стороны хозяина, причем механизм подобного ускользания пока еще неизвестен. К таким подтипам относятся Т-лимфоциты, экспрессирующие EBV-специфичный Т-клеточный рецептор (Epstein–Barr virus-specific T cell receptor), и $\gamma\delta$ -Т-клетки. При этом противоопухолевая активность данных химерных лимфоцитов не снижается [27]. Однако персистенция любых алло-CAR-T-клеток будет менее продолжительной, чем у ауто-CAR-T-клеток, в связи с экспрессией большего количества эпитопов белков, ответственных за отторжение. Поэтому существуют методы редактирования генома (с помощью цинк-пальцевых нуклеаз (Zinc finger nuclease, ZFN), системы TALEN (Transcription activator-like effector nuclease), системы CRISPR/CAS9), позволяющие устранять из ДНК химерных лимфоцитов гены подобных эпитопов [18].

2. Иммунная система пациента, столкнувшись с химерными лимфоцитами, вырабатывает особые анти-CAR-антитела. Антитела специфичны, как правило, к антигенным детерминантам scFv мыши

в составе химерного рецептора [28]. В таких условиях CAR-T-клеточная терапия становится неэффективной, поэтому сегодня химерные рецепторы стараются гуманизировать, применяя переменные фрагменты антител человеческого организма. Такая гуманизованная CAR-T-клеточная терапия (Humanized CAR-T cell therapy) уже показала очень обнадеживающие результаты: скорость развития ответа по сравнению с обычной CAR-T-клеточной терапией примерно та же, однако персистенция значительно длительнее и, соответственно, противоопухолевый эффект длительнее и более выражен [29].

II. Модификация эктодомена

1. CAR-T-клеточная терапия с использованием биотинилированных антител (AT-CARs). Существует особый белок, вырабатываемый бактериями *Streptomyces avidinii*, — стрептавидин. Этот белок обладает высоким сродством к биотину (имеет 4 сайта связывания с ним). При этом образующийся комплекс стрептавидин-биотин очень устойчив, в том числе к воздействию протеолитических ферментов, что объясняет использование стрептавидина в современных методах визуализации биомолекул. Однако этим применение стрептавидина не ограничивается. Созданы новые химерные рецепторы, внеклеточная часть которых дополнена особым биотин-связывающим доменом — мономерным стрептавидином 2 (mSA2) [30]. Опухолевые клетки при этом покрывают биотинилированными антителами. В результате взаимодействия стрептавидина и биотина аффинность между опухолевыми антигенами и химерными рецепторами увеличивается [31].

2. Изменение шарнирной области. Шарнирная область внеклеточной части химерного рецептора представляет собой Fc-фрагмент иммуноглобулина. Fc-фрагмент состоит из 2 константных доменов — CH2 и CH3. В норме этот фрагмент опосредует реакцию антиген-антитело, в последующем способствуя элиминации антител. Однако доказано, что эффективность CAR-T-клеточной терапии значительно страдает из-за наличия в химерных рецепторах Fc-фрагмента. Происходит это от того, что иммунные клетки хозяина связываются с химерными лимфоцитами именно через Fc-фрагмент (появляется Fc-FcγR-взаимодействие), что приводит к усилению тонических сигналов со стороны организма и дальнейшему апоптозу CAR-T-клеток [32]. Но оказывается, что не весь Fc-фрагмент участвует в данном взаимодействии, а лишь его часть — CH2-домен. Поэтому варианты решения проблемы могут быть следующими:

- удалить (knock out) CH2-домен из Fc-фрагмента уже готовых химерных рецепторов;
- изначально не включать CH2-домен в состав химерных рецепторов;
- использовать Fc-фрагмент не от IgG1 (как это делается сегодня), а от IgG2; Fc-фрагмент IgG2 имеет низкое сродство к FcγR.

Что касается тактики удаления всей шарнирной области, то это нецелесообразно, поскольку шарнирная область не только придает химерному рецептору подвижность, но и ускоряет идентификацию опухолевой мишени [7].

III. Модификация трансмембранного домена

Поскольку ТМД связывает внеклеточную и внутриклеточную части химерного рецептора, то изменение его длины или структуры может в значительной степени повлиять на передачу сигнала внутрь лейкоцита. Так, например, ТМД способен замедлить пролиферацию CAR-T-клеток с сохранением их цитотоксической активности. Сдерживание темпов пролиферации лимфоцитов поможет успешнее бороться с цитокиновым штормом, так как организм пациента в данных условиях успевает адаптироваться к постепенно увеличивающемуся уровню провоспалительных цитокинов [33]. Сегодня наиболее часто используются ТМД CD8 и ТМД 4-1BB. Химерные рецепторы с данными ТМД показывают одинаковую умеренную противоопухолевую активность. Однако CAR-T-клетки с ТМД ICOS (Inducible T-cell CO-stimulator) или с ТМД семейства TNFRs (Tumor necrosis factor receptors) — например TNFRs19 — демонстрируют куда более высокую противоопухолевую активность и персистенцию [18].

IV. Модификация эндодомена у химерных рецепторов CAR-T-лимфоцитов 3-го поколения

Как уже было отмечено, 3-е поколение CAR-T-клеток имеет 2 ко-стимулирующих домена в составе химерного рецептора. Сегодня они представлены сочетанием CD28 и 4-1BB [1, 13]. Однако комбинация других ко-стимулирующих доменов была бы более эффективна. Так, например, объединяют ICOS и 4-1 BB, CD28 и TLR2 (Toll-like receptor), 4-1BB и OX40 (рецептор из надсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNFRs)) [34]. К сожалению, недостатки, характерные для химерных рецепторов CAR-T-клеток 3-го поколения, присущи и этим комбинациям — все так же вероятность развития синдрома цитокинового шторма выше, все так же количество особых сигналов со стороны организма, ведущих к истощению CAR-T-клеточной популяции, увеличено.

V. Особенности химерных лимфоцитов 4-го поколения

1. CAR-T-клетки, «вооруженные биспецифическим активатором Т-клеток» (BiTE-armed CAR-T cells). Существуют молекулы, которые состоят из 2 одноцепочечных переменных фрагментов (scFv) моноклональных антител. Поскольку в таких молекулах 2 связывающих участка, их называли биспецифическими моноклональными антителами (Bispecific monoclonal antibodies, BsMAb). Один их связывающий участок специфичен к опухоли-ассоциированному антигену (Tumor-associated antigen, TAA); другой участок — к цепи CD3ζ, имеющейся в составе Т-клеточных рецепторов. Так, например, для лечения В-линейного острого лимфобластного лейко-

за применяется препарат блинатумомаб, который специфичен к антигену CD19, экспрессируемому на поверхности всех В-лимфоцитов, в том числе опухолевых [28]. Таким образом, блинатумомаб соединяет CD3 в составе Т-клеточного рецептора и CD19 на поверхности В-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 ликвидация (лизис) CD19⁺-клеток. Блинатумомаб и молекулы, функционирующие подобно ему, были названы биспецифическими активаторами Т-клеток (Bispecific T cell engager, BiTE) [28].

Долгое время блинатумомаб считался альтернативой CAR-T-клеточной терапии в лечении гемобластозов. Однако сегодня клеточная терапия считается более эффективной, поскольку персистенция CAR-T-клеток продолжительна и устойчива, а период полувыведения блинатумомаба очень короткий и составляет всего 2 ч [35]. Помимо этого, при лечении блинатумомабом необходима еще и инфузия аутологичных лимфоцитов, если уровень иммунных клеток в организме недостаточен для лизиса опухоли [28]. Большим недостатком блинатумомаба является тот факт, что он способен рекрутировать вместе с эффекторными Т-клетками хозяина еще и Т-регуляторные лимфоциты (Treg), которые обладают иммуносупрессивным действием за счет выделения IL-10 и TGF- β (Transforming growth factor beta) [36]. Поэтому перед курсом лечения блинатумомабом в некоторых случаях, наоборот, необходимо проведение деплеции Т-клеток пациента с помощью ХТ с использованием циклофосфида и флударабина [28].

Возможна комбинированная терапия CAR-T-лимфоцитами и блинатумомабом, но по-настоящему важным открытием стало изобретение химерных лимфоцитов с биспецифическим активатором Т-клеток (BiTE-armed CAR-T cells). Генетическая последовательность BiTE попросту транслируется в цитотоксический лимфоцит вместе с генетической последовательностью химерного рецептора. Когда биспецифический активатор секретируется во внеклеточную среду и связывается с опухолевым антигеном, он рекрутирует не только обычные иммунные клетки хозяина, но и введенные CAR-T-клетки. Химерные лимфоциты получают дополнительный сигнал активации — инфильтрация опухоли CAR-T-клетками происходит быстрее и полнее [18]. Привлеченные биспецифическим активатором иммунные клетки пациента также увеличивают противоопухолевую эффективность терапии. Химерные лимфоциты с биспецифическим активатором зарекомендовали себя как действенное средство для лечения нейробластомы, экспрессирующей антиген *EGFR/III* (Epidermal growth factor receptor III) [37]. Однако терапия подобными химерными лимфоцита-

ми демонстрирует, к сожалению, довольно высокую вероятность развития таких побочных эффектов, как синдром цитокинового шторма и неврологические нарушения (например, CAR-T-клеточно-опосредованный энцефалопатический синдром) [38].

2. «Цитокин-вооруженные» CAR-T-клетки (Cytokine-armed CAR-T cells). CAR-T-клетки, секретирующие особые молекулы, которые изменяют микроокружение опухоли (Tumor microenvironment, TME), относятся к химерным лимфоцитам 4-го поколения. В результате действия секретируемых веществ опухолевое микроокружение теряет способность снижать цитотоксическую и пролиферативную активность CAR-T-лимфоцитов. Наиболее часто в настоящее время используются провоспалительные цитокины: IL-15, IL-7, IL-12 (особенно IL-15) [39]. Генетическая последовательность данных веществ добавляется к последовательности химерного рецептора и транслируется в цитотоксический лимфоцит. Когда же химерные клетки в организме пациента активируются, происходит транскрипция и затем трансляция нуклеотидной последовательности интерлейкина. Интерлейкину остается лишь секретироваться во внеклеточную среду [18]. Следует учитывать, что концентрация и, соответственно, эффективность цитокинов зависит от распределения CAR-T-лимфоцитов в организме, их числа и уровня активации. Под воздействием цитокинов:

а) происходит более длительная стимуляция CAR-T-клеток с поддержанием и усилением их противоопухолевой активности;

б) осуществляется индукция образования Т-клеток памяти, благодаря чему персистенция химерных лимфоцитов увеличивается;

в) реактивируется иммунная система хозяина [39].

3. «Агонист-вооруженные» CAR-T-клетки (Agonist-armed CAR-T cells). В составе внутриклеточной части большинства химерных рецепторов присутствует один или несколько (если это химерные лимфоциты 3-го поколения) ко-стимулирующих доменов, создающих повторный сигнал и таким образом дополнительно усиливающих противоопухолевую деятельность CAR-T-лимфоцитов [1]. Однако для активации ко-стимулирующего домена необходима строго определенная молекула — его лиганд. В настоящее время чаще всего применяется 4-1BBL, т. е. лиганд для ко-стимулирующего домена 4-1BB. Так же, как и в случае с цитокинами, нуклеотидная последовательность лиганда может быть присоединена к последовательности химерного рецептора, и в дальнейшем CAR-T-лимфоциты будут выделять его, активируя сами себя (аутокринная регуляция) или же активируя рядом расположенные химерные клетки (паракринная регуляция). Помимо этого, существует метод введения лиганда в организм пациента незадолго перед началом CAR-T-клеточной терапии [40]. В результате действия лиганда и возбуждения ко-стимулирующего домена происходит

активация химерных лимфоцитов, увеличивается пролиферация CAR-T-клеток.

4. Ингибиторы контрольных точек. На поверхности Т-лимфоцитов находятся особые рецепторы — так называемые иммунные контрольные точки. Они представлены молекулами PD-1, LAG3, TIM3, CTLA-4 и др. [28]. Наиболее изученной контрольной точкой является PD-1. Стимуляция контрольных точек приводит не только к ингибированию противоопухолевой активности химерных лимфоцитов, но и к их апоптозу и дальнейшему истощению CAR-T-клеточной популяции [18]. В свою очередь, микроокружению опухоли выгодно активировать контрольные точки — для этого ТМЕ выделяет особые лиганды (например, PD-L1 и PD-L2). Усилить цитотоксический эффект в данном случае можно 2 способами — либо заблокировать рецептор, либо связать лиганд к этому рецептору (но в любом случае контрольная точка ингибируется). Чаще всего для этой цели используются моноклональные антитела (mAb) — например, mAb против PD-1/PD-L1 представлены ниволумабом и пембролизумабом [28]. Моноклональные антитела вводят в дополнение к CAR-T-клеточной терапии, хотя существуют и секретируемые самими химерными лимфоцитами PD-1-блокаторы [41]. Интересно то, что выделяемые CAR-T-клетками анти-PD-L1-антитела по неясным пока причинам способствуют инфильтрации опухоли естественными киллерами. NK-клетки при этом проявляют цитотоксичность и секретируют интерферон- γ , стимулирующий CD8⁺ Т-лимфоциты пациента. Таким образом, противоопухолевая эффективность CAR-T-клеточной терапии значительно возрастает [6].

Секретируемые агонисты ко-стимуляторных доменов и ингибиторы контрольных точек, в отличие от цитокинов, направлены на специфический рецептор. Поэтому вероятность неконтролируемых воспалительных побочных эффектов (например, синдрома цитокинового шторма) снижается. Однако и невосприимчивость организма к такого вида веществам остается достаточно высокой [42].

Также для устранения ингибирующего действия PD-1 применяются методы редактирования генома (например, CRISPR/CAS9). Ген, кодирующий PD-1, либо блокируется, либо вырезается из ДНК химерных лимфоцитов. Помимо этого, применяется метод нарушения N-гликозилирования молекулы PD-1, что приводит к снижению экспрессии данной контрольной точки на поверхности CAR-T-лимфоцитов [43]. Казалось бы, должно произойти усиление их цитотоксической активности. Но возникает парадокс: полное устранение эффекта PD-1 не только приводит к ингибированию пролиферации Т-клеток и нарушению их дифференцировки, но и препятствует превращению лейкоцитов в клетки памяти [44]. Во избежание данных последствий очень важно лишь частично подавлять сигнальный путь PD-1 [45]. Поэтому полное блокирование гена *PD-1* или вовсе его иссечение является нецелесообразным.

5. Химерные лимфоциты с хемокиновыми рецепторами (CXCRs). Те опухолевые клетки, которые экспрессируют лиганды к хемокиновым рецепторам, быстрее и эффективнее привлекают к себе лейкоциты [6, 46]. Так, например, на поверхности клеток гепатоцеллюлярной карциномы содержатся лиганды к CXCR2. Однако Т-лимфоциты не имеют хемокиновых рецепторов, поэтому приходится дополнять генетическую последовательность химерного рецептора генетической последовательностью хемокинового рецептора. В результате эффективность CAR-T-клеточной терапии против гепатоцеллюлярной карциномы увеличивается [47]. Для опухолевых клеток острого лимфобластного лейкоза, хронического лимфолейкоза, множественной миеломы характерен лиганд к CXCR4 [48]. Создать химерные лимфоциты с рецептором CXCR4 возможно, но гарантировать, что лиганда к данному хемокиновому рецептору нет на здоровых клетках (стволовых клетках костного мозга, клетках периферических органов лимфопоеза) пока нельзя, и, значит, применять подобные химерные лимфоциты потенциально опасно [18].

6. Химерные лимфоциты с «переключающимися» рецепторами (Switch receptors). Для того, чтобы управлять побочными эффектами CAR-T-клеточной терапии, необходимо сначала научиться работать с самими химерными лимфоцитами. Большим достижением в этом направлении стало изобретение «переключающихся» рецепторов [49]. Данные рецепторы представляют собой соединение активирующей лейкоциты части и их ингибирующей. Наиболее часто сегодня встречаются PD-1/CD28-рецепторы, где PD-1 — ингибирует, а CD28 — активирует CAR-T-лимфоциты. В зависимости от того, какой эффект необходим на данный момент, стимулируют ту или иную часть рецептора, вводя в организм пациента определенные лиганды (т. е. переключают рецептор с одной функции на противоположную). Помимо PD-1/CD28-рецептора существуют и интерлейкиновые Switch-рецепторы, где IL-4 ингибирует, а IL-7 или IL-21 активируют CAR-T-лимфоциты [50]. Данный метод демонстрирует многообещающую эффективность против микроокружения опухоли, однако требует еще многих и многих клинических исследований, а также дальнейшего изучения механизмов ТМЕ [18].

VI. Повышение безопасности CAR-T-клеточной терапии

1. Суицидальные гены. Помимо повышения эффективности CAR-T-клеточной терапии, необходимо помнить и о ее безопасности. Теоретически «переключающиеся» рецепторы на химерных лимфоцитах способны обеспечить безопасность при условии стимуляции сигнального пути PD-1 [49]. Однако более надежным методом является интеграция в геном CAR-T-клеток суицидальных генов (например, ген системы Caspase-9 или ген тимидинкиназы герпес-вируса человека типа 1 (*HSV1-TK*)) [51–53]. При необходимости суицидальные гены можно будет

активировать, и те вещества, которые при этом начнет синтезировать клетка, запустят ее апоптоз [54, 55].

2. Химерные лимфоциты, дополненные HIF1 α -фактором. Клетки солидных опухолей, интенсивно делясь, находятся в состоянии постоянной гипоксии, поскольку ангиогенез не успевает за их пролиферацией. Этот давно известный факт был использован учеными для повышения безопасности CAR-T-клеточной терапии. Так, в структуру CAR-T-клеток добавляют активируемую гипоксией субъединицу HIF1 α -фактора (Hypoxia-inducible factor 1-alpha), от которого зависит экспрессия химерного рецептора [6]. Данный рецептор у таких клеток появляется только в случае гипоксии, т. е. когда химерные лимфоциты уже проинфильтрировали опухоль [56]. Здоровым тканям, нормально обеспеченным кислородом, нечего бояться on-target/off-tumor-эффекта.

Перспективы применения CAR-T-клеток в лечении солидных опухолей

Лечение поздних стадий солидных опухолей является одной из нерешенных проблем современной онкологии. Стандартные методы консервативного лечения, включая химиолучевую терапию, показали ограниченную эффективность. Одной из перспективных стратегий в клинической онкологии являются методы иммунотерапии на основе клеточных технологий. Наибольший интерес представляют генетически модифицированные лимфоциты с химерным T-клеточным рецептором, полученные с использованием методов биоинженерии.

Ряд экспериментальных исследований и клинические испытания, проведенные пока в небольшом количестве, свидетельствуют о перспективности применения анти-HER2-CAR-T-клеток и анти-HER2-CAR-NK-клеток для лечения пациентов с HER2⁺-новообразованиями (HER2 – human epidermal growth factor receptor 2; человеческий рецептор эпидермального фактора роста 2), такими как рак молочной железы, рак желудка, глиобластома, рак яичников и остеосаркома. Поскольку противоопухолевой цитотоксической активностью обладают не только T-лимфоциты, но и NK-клетки, была разработана методология получения анти-HER2-CAR-T-NK-клеток, позволяющая использовать потенциал активированных эффекторов врожденного и приобретенного иммунитета [6].

Основная проблема применения CAR-T-клеток в лечении солидных опухолей заключается в том, что, в отличие от онкогематологических заболеваний, у солидных новообразований сложно обнаружить идеальную антиген-мишень. При онкогематологических заболеваниях опухолевые клетки обычно экспрессируют дифференцировочные маркеры, в то время как солидные опухоли, как правило, не экспрессируют опухолеспецифических антигенов [57, 58]. При отсутствии же специфичности опухолевого антигена значительно увеличивается токсичность

CAR-T-клеточной терапии, связанная с развитием on-target/off-tumor-эффекта.

Помимо гетерогенности опухолевых антигенов, значительным препятствием на пути к эффективности CAR-T-клеточной терапии солидных опухолей является сложность доставки к ним химерных лимфоцитов [59]. Образование фиброзного матрикса, снижение секреции сосудистых факторов и экспрессии хемокинов, необходимых для миграции CAR-T-клеток в солидных опухолях, – эти механизмы препятствуют доставке химерных лимфоцитов к опухоли [60]. Было высказано предположение, что региональное введение CAR-T-клеток более эффективно, чем их системное введение. Так, в отдельных исследованиях внутримозговое введение химерных лимфоцитов было безопасным и показало приемлемый противоопухолевый эффект при глиобластоме [61], а интраплевральное введение CAR-T-клеток оказалось более эффективным, чем их системное введение в доклинических исследованиях при опухолевом поражении плевры [62]. Более глубокое понимание процессов, которые улучшают или нарушают доставку химерных лимфоцитов к опухоли, сделает возможным увеличение эффективности CAR-T-клеточной терапии за счет дополнительных генетических вариаций CAR-T-клеток, использования химерных лимфоцитов в сочетании с онколитическими вирусами или же за счет других, не менее перспективных подходов [63, 64].

Еще одной важной проблемой для эффективного воздействия на солидные опухоли с помощью CAR-T-клеточной терапии является иммуносупрессивная опухолевая среда. В отличие от многих гематологических злокачественных новообразований, в которых отсутствуют локальные пути подавления иммунитета, солидные опухоли могут быть значимо инфильтрированы различными типами клеток, поддерживающими рост опухоли, ангиогенез и метастазирование [65]. Регуляторные T-клетки, миелоидные супрессорные клетки и опухолевые макрофаги являются наиболее заметными типами иммуносупрессорных клеток в микроокружении опухоли, которые ограничивают эффекты химерных лимфоцитов [66]. Использование супрессорных антител в сочетании с генно-инженерными технологиями, направленными на истощение регуляторных T-клеток, а также супрессорных клеток миелоидного происхождения, приводит к повышению эффективности CAR-T-клеточной терапии на животных моделях [67, 68].

Несмотря на большое количество проблем, возникающих при лечении солидных опухолей, число перспективных современных методов клеточной инженерии и комбинированной терапии, которые можно исследовать в клинике, в настоящее время очень велико, а механизмы противоопухолевого действия CAR-T-клеток весьма перспективны (рис. 2).

Об этом свидетельствует большое число проводимых сейчас во всем мире исследований по

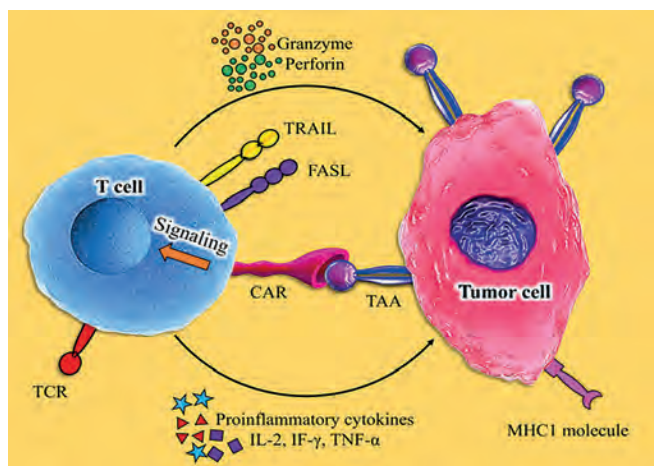


Рис. 2. Противоопухолевые эффекты CAR-T-клеток (адаптировано из [57])

Fig. 2. Antitumor effects of CAR-T cells (adapted from [57])

CAR-T-клеточной терапии солидных опухолей, акцентированных на поиске разнообразных поверхностных опухолевых маркеров (таблица).

Заключение

В заключение следует отметить, что CAR-T-клеточная терапия сегодня сталкивается со множеством проблем как при лечении гемобластозов или солидных опухолей, 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-T-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. Новейшие тенденции по увеличению эффективности и повышению безопасности химерных лимфоцитов должны вывести CAR-T-клеточную терапию на более значимый уровень доверия в медицинском сообществе, определив ее как современное и результативное направление лечения больных онкологическими заболеваниями.

Целевые антигены, исследуемые в настоящее время в CAR-T-клеточной терапии солидных опухолей (адаптировано из [57])
Targeted antigens in clinical trials in solid tumor CAR-T cell therapy (adapted from [57])

Антиген* Antigen*	Локализация/происхождение опухоли Cancer	Фаза исследования Phase	ID исследования ID
Рецептор эпидермального фактора роста EGFR (epidermal growth factor receptor)	Легкие, печень, желудок Lung, liver, stomach	Фаза 1/2 Phase 1/2	NCT03179007, NCT03525782
HER2	Опухоль центральной нервной системы, глиома у детей Central nervous system tumor, pediatric glioma	Фаза 1 Phase 1	NCT03500991
EGFR806	Опухоль центральной нервной системы, глиома у детей Central nervous system tumor, pediatric glioma	Фаза 1 Phase 1	NCT03179012
Мезотелин Mesothelin	Яичники, шейка матки, поджелудочная железа, легкие Ovarian, cervical, pancreatic, lung	Фаза 1/2 Phase 1/2	NCT01583686
Антиген стволовых клеток простаты PSCA (prostate stem cell antigen)	Легкие Lung	Фаза 1 Phase 1	NCT03198052
Муцин 1, мембранный белок, протеогликан из группы муцинов MUC1 (mucin 1)	Распространенные солидные опухоли, легкие Advanced solid tumors, lung	Фаза 1/2 Phase 1/2	NCT03179007, NCT03525782
Клаудин 18.2 Claudin 18.2	Распространенные солидные опухоли Advanced solid tumors	Фаза 1 Phase 1	NCT03874897
Молекула адгезии эпителиальных клеток EpCAM (epithelial cell adhesion molecule)	Толстая кишка, поджелудочная железа, простата, желудок, печень Colon, pancreatic, prostate, gastric, liver	Фаза 1/2 Phase 1/2	NCT03013
GD2	Головной мозг Brain	Фаза 1 Phase 1	NCT04099797
Рецептор сосудистого эндотелиального фактора роста 2 VEGFR2 (Vascular endothelial growth factor 2)	Меланома, головной мозг Melanoma, brain	Фаза 1 Phase 1	NCT01218867
Альфа-фетопроtein AFP (alpha-fetoprotein)	Гепатоцеллюлярная карцинома, рак печени Hepatocellular carcinoma, liver cancer	Фаза 1 Phase 1	NCT03349255
Нектин4/FAP Nectin4/FAP	Нектин-4-позитивная злокачественная солидная опухоль Nectin4-positive advanced malignant solid tumor	Фаза 1 Phase 1	NCT03932565
Раково-эмбриональный антиген CEA (carcino embryonic antigen)	Рак легких, толстой кишки, желудка, молочной железы, поджелудочной железы Lung, colorectal, gastric, breast, pancreatic cancer	Фаза 1 Phase 1	NCT02349724
Маркер рака Льюиса Lewis Y	Распространенный рак Advanced cancer	Фаза 1 Phase 1	NCT03851146
Глипикан-3 Glypican-3	Печень Liver	Фаза 1 Phase 1	NCT02932956
EGFRIII	Глиобластома и опухоли головного мозга Glioblastoma and brain tumor	Фаза 1 Phase 1	NCT01454596
IL-13Rα2	Глиобластома Glioblastoma	Фаза 1 Phase 1	NCT02208362
CD171	Нейробластома Neuroblastoma	Фаза 1 Phase 1	NCT02311621
Муцин 16, мембранный белок, протеогликан из группы муцинов MUC16 (mucin 16)	Яичники Ovarian	Фаза 1 Phase 1	NCT02311621
Простатспецифический мембранный антиген PSMA (prostate-specific membrane antigen)	Предстательная железа Prostate	Фаза 1 Phase 1	NCT01140373
AFP	Гепатоцеллюлярная карцинома, печень Hepatocellular carcinoma, liver	Фаза 1 Phase 1	NCT03349255
AXL-тирозинкиназовый рецептор AXL (receptor tyrosine kinase)	Почки Renal	Фаза 1 Phase 1	NCT03393936
CD20	Меланома Melanoma	Фаза 1 Phase 1	NCT03893019
CD80/86	Легкие Lung	Фаза 1 Phase 1	NCT03198052
c-MET	Рак молочной железы, гепатоцеллюлярный рак Breast, hepatocellular	Фаза 1 Phase 1	NCT03060356, NCT03638206
Дельта-лайк 3 лиганд DLL-3 (delta-like 3)	Легкие Lung	Фаза 1 Phase 1	NCT03392064
Рецептор смерти 5 DR5 (death receptor 5)	Гепатома Hepatoma	Фаза 1 Phase 1	NCT03638206
Рецептор 2 эфрина типа A EPHA2 (EPH receptor A2)	Глиома Glioma	Фаза 1 Phase 1	NCT02575261
Рецептор фолиевой кислоты альфа FR-α (folate receptor alpha)	Яичники Ovarian	Фаза 1 Phase 1	NCT00019136
gp100	Меланома Melanoma	Фаза 1 Phase 1	NCT03649529
Гены, ассоциированные с меланомой MAGE-A1/3/4 (melanoma associated gene)	Легкие Lung	Фаза 1 Phase 1	NCT03356808, NCT03352446
Латентный мембранный белок 1 вируса Эпштейна–Барр LMP1 (Epstein–Barr virus latent membrane protein 1)	Нозофарингеальный рак Nasopharyngeal	Фаза 1 Phase 1	NCT02980315

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Павлова А.А., Масчан М.А., Пономарев В.Б. Адоптивная иммунотерапия генетически модифицированными Т-лимфоцитами, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы. Онкогематология 2017;12(1):17–32. doi: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32. [Pavlova A.A., Maschan M.A., Ponomarev V.B. Adoptive immunotherapy with genetically engineered T lymphocytes modified to express chimeric antigen receptors. Oncohematology 2017;12(1):17–32. (In Russ.)].
2. Fitzmaurice C., Abate D., Abdulle A.S.M. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-Years for 29 Cancer Groups, 1990 to 2017. A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. JAMA Oncol 2019;5(12):1749–69. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.5688.
3. Паина О.В., Семенова Е.В., Маркова И.В., Зубаровская Л.С., Афанасьев Б.В. Современные представления о терапии острого лейкоза у детей до 1 года. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2019;6(2):11–9. doi: 10.21682/2311-1267-2019-6-2-11-19. [Paina O.V., Semenova E.V., Markova I.V., Zubarovskaya L.S., Afanasyev B.V. Modern views on the treatment of acute leukemia in children under 1 year. Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology. 2019;6(2):11–9. (In Russ.)].
4. Maher J., Wilkie S. CAR mechanics: driving T cells into the MUC of cancer. Cancer Res 2009;69(11):4559–62. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-0564.
5. Gan H.K., Burgess A.W., Clayton A.H., Scott A.M. Targeting of a conformationally exposed, tumor-specific epitope of EGFR as a strategy for cancer therapy. Cancer Res 2012;72(12):2924–30. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3898.
6. Киселевский М.В., Чикилева И.О., Ситдикова С.М., Власенко Р.Я., Караулов А.В. Перспективы применения генетически модифицированных лимфоцитов с химерным Т-клеточным рецептором (CAR-T-клеток) для терапии солидных опухолей. Иммунология 2019;40(4):48–55. doi: 10.24411/0206-4952-2019-14006. [Kiselevsky M.V., Chikileva I.O., Sitydikova S.M., Vlasenko R.Ya., Karaulov A.V. Prospectives of application of the genetically modified lymphocytes with chimeric T-cell receptor (CAR-T-cells) for the therapy of solid tumors. Immunologiya 2019;40(4):48–55. (In Russ.)].
7. Штыров Е.М., Зотов Р.А., Лапштаева А.В. CAR-T-клеточная терапия как современный метод лечения онкологических заболеваний. Бюллетень науки и практики 2019;5(5):121–7. doi: 10.33619/2414-2948/42/16. [Shtyrov E., Zotov R., Lapshataeva A.V. CAR T-cell therapy as a modern method for the treatment of oncological diseases. Byulleten' nauki i praktiki = Bulletin of Science and Practice 2019;5(5):121–7. (In Russ.)].
8. Кувшинов А.Ю., Волошин С.В., Кузьева 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;15(2):4–13. [Kuvshinov A.Yu., Voloshin S.V., Kuzyaeva A.A., Shuvaev V.A., Mikhaleva M.A., Martynkevich I.S., Chechetkin A.V., Bessmeltsev S.S. Modern representation of CAR T-cell therapy. Vestnik gematologii = Bulletin of Hematology 2019;15(2):4–13. (In Russ.)].
9. Gill S., Maus M.V., Porter D.L. Chimeric antigen receptor T cell therapy: 25 years in the making. Blood Rev 2015;30(3):157–67. doi: 10.1016/j.blre.2015.10.003.
10. Brentjens R.J., Davila M.L., Riviere I., Park J., Wang X., Cowell L.G., Bartido Sh., Stefanski J., Taylor C., Olszewska M., Borquez-Ojeda O., Qu J., Wsieielewska T., He Q., Bernal Y., Rijo I.V., Hedvat C., Kobos R., Curran K., Vastineher P., Jurcic J., Rosenblatt T., Maslak P., Frattini M., Sadelain M. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. Sci Transl Med 2013;5(177):177ra38. doi: 10.1126/scitranslmed.3005930.
11. Eshhar Z., Waks T., Gross G., Schindler D.G. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. Proc Natl Acad Sci USA 1993;90(2):720–4. doi: 10.1073/pnas.90.2.720.
12. Wang J., Jensen M., Lin Y., Chen E., Lindgren C.G., Till B., Raubitschek A., Forman S.J., Qian X., James S., Greenberg P., Riddell S., Press O.W. Optimizing adoptive polyclonal T cell immunotherapy of lymphomas, using a chimeric T cell receptor possessing CD28 and CD137 costimulatory domains. Hum Gene Ther 2007;18(8):712–25. doi: 10.1089/hum.2007.028.
13. Pule M.A., Straathof K.C., Dotti G., Heslop H.E., Rooney C.M., Brenner M.K. A chimeric T cell antigen receptor that augments cytokine release and supports clonal expansion of primary human T cells. Mol Ther 2005;12:933–41. doi: 10.1016/j.jymthe.2005.04.016.
14. Chmielewski M., Abken H. TRUCKs: the fourth generation of CARs. Expert Opin Biol Ther 2015;15:1145–54. doi: 10.1517/14712598.2015.1046430.
15. Maus M.V., Grupp S.A., Porter D.L., June C.H. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. Blood 2014;123(17):2625–35. doi: 10.1182/blood-2013-11-492231.
16. Gong M.C., Latouche J.B., Krause A., Heston W.D., Bander N.H., Sadelain M. Cancer patient T cells genetically targeted to prostate-specific membrane antigen specifically lyse prostate cancer cells and release cytokines in response to prostate-specific membrane antigen. Neoplasia 1999;1(2):123–7. doi: 10.1038/sj.neo.7900018.
17. Lu P., Lu X., Zhang X., Xiong M., Zhang J., Zhou X., Qi F., Yang J., He T. Which is better in CD19 CAR-T treatment of r/r B-ALL, CD28 or 4-1BB.A parallel trial under the same manufacturing process. J Clin Oncol 2018;36:3041. doi: 10.1200/jco.2018.36.15_suppl.3041.
18. Huang R., Li X., He Y., Zhu W., Gao L., Liu Y., Gao L., Wen Q., Zhong J.F., Zhang C., Zhang X. Recent advances in CAR-T cell engineering. J Hematol Oncol 2020;13(1):86. doi: 10.1186/s13045-020-00910-5.
19. Long A.H., Haso W.M., Shern J.F., Wanhainen K.M., Murgai M., Ingaramo M., Smith J.P., Walker A.J., Kohler M.E., Venkateshwara V.R., Kaplan R.N., Patterson G.H., Fry T.J., Orentas R.J., Mackall C.L. 4-1BB costimulation ameliorates T cell exhaustion induced by tonic signaling of chimeric antigen receptors. Nat Med 2015;21:581–90. doi: 10.1038/nm.3838.
20. Gomes-Silva D., Mukherjee M., Srinivasan M., Krenciute G., Dakhova O., Zheng Y., Cabral J.M.S., Rooney C.M., Orange J.S., Brenner M.K., Mamonkin M. Tonic 4-1BB costimulation in chimeric antigen receptors impedes T cell survival and is vector-dependent. Cell Rep 2017;21:17–26. doi: 10.1016/j.celrep.2017.09.015.
21. Quintarelli C., Orlando D., Boffa I., Guercio M., Polito V.A., Petretto A., Lavarello C., Sinibaldi M., Weber G., Bufalo F.D., Giorda E., Scarsella M., Petrini S., Pagliara D., Locatelli F., Angelis B.D., Caruana I. Choice of costimulatory domains and of cytokines determines CAR T-cell activity in neuroblastoma. Oncoimmunology 2018;7(6):e1433518. doi: 10.1080/2162402X.2018.1433518.
22. Kawalekar O.U., O'Connor R.S., Fraietta J.A., Guo L., McGettigan S.H., Posey A.D., Patel P.R., Guedan S., Scholler J., Keith B., Snyder N.W., Blair I.A., Milone M.C., June C.H. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells. Immunity 2016;44:380–90. doi: 10.1016/j.immuni.2016.01.021.
23. Chen Y., Cheng Y., Suo P., Yan C., Wang Y., Chen Y., Han W., Xu L., Zhang X., Liu K., Chang L., Xiao L., Huang X. Donor-derived CD19-targeted T cell infusion induces minimal residual disease-negative remission in relapsed B-cell acute lymphoblastic leukaemia with no response to donor lymphocyte infusions after haploidentical haematopoietic stem cell transplantation. Br J Haematol 2017;179(4):598–605. doi: 10.1111/bjh.14923.
24. Cai B., Guo M., Wang Y., Zhang Y., Yang J., Guo Y., Dai H., Yu C., Sun Q., Qiao J., Hu K., Zuo H., Dong Z., Zhang Z., Feng M., Li B., Sun Y., Liu T., Liu Z., Wang Y., Huang Y., Yao B., Han W., Ai H. Co-infusion of haplo-identical CD19-chimeric antigen receptor T cells and stem cells achieved full donor engraftment in refractory acute lymphoblastic leukemia. J Hematol Oncol 2016;9(1):131. doi: 10.1186/s13045-016-0357-z.
25. Liu J., Zhong J.F., Zhang X., Zhang C. Allogeneic CD19-CAR-T cell infusion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in B cell malignancies. J Hematol Oncol 2017;10(1):35. doi: 10.1186/s13045-017-0405-3.
26. Wen S., Niu Z., Xing L., Wang Y., Li H., Kuang N., Luo J., Zhang X., Wang F. CAR-T bridging to Allo-HSCT as a treatment strategy for relapsed adult acute B-lymphoblastic leukemia: a case report. BMC Cancer 2018;18(1):1143. doi: 10.1186/s12885-018-5037-7.
27. Shen R.R., Pham C.D., Wu M., Munson D.J., Aftab B.T. CD19 chimeric antigen receptor (CAR) engineered epstein-barr virus (EBV) specific T cells – an off-the-shelf, allogeneic CAR T-cell immunotherapy platform. Cytotherapy 2019;21:S11. doi: 10.1016/j.jcyt.2019.03.569.
28. Глуханюк Е.В., Степанов А.В., Попов А.М., Масчан М.А. Механизмы резистентности В-линейного острого лимфобластного лейкоза при применении CD19-направленной иммунотерапии. Онкогематология 2018;13(4):27–36. doi: 10.17650/1818-8346-2019-13-4-27-36. [Glukhanyuk E.V., Stepanov A.V., Popov A.M., Maschan M.A. CD-19-directed immunotherapy resistance mechanisms of B-precursor acute lymphoblastic leukemia. Oncohematology = Oncohematology 2018;13(4):27–36. (In Russ.)].
29. Hucks G.E., Barrett D., Rheingold S.R., Aplenc R., Teachey D.T., Callahan C., Baniewicz D., White C., Talekar M., Shaw P., Brogdon J.L., Young R., Scholler J., Marcucci K., Chew A., Levine B.L., Frey N., Porter D., Lacey S., Melenhorst J., June C., Grupp S., Maude S. Humanized chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells targeting CD19 induce remissions in children and young adults with relapsed/refractory lymphoblastic leukemia/lymphoma. Cytotherapy 2017;19:59–10. doi: 10.1016/j.jcyt.2017.02.011.
30. Lohmueller J.J., Ham J.D., Kvorjak M., Finn O.J. mSA2 affinity-enhanced biotin-binding CAR T cells for universal tumor targeting. Oncoimmunology 2018;7(1):e1368604. doi: 10.1080/2162402X.2017.1368604.

31. Cho J.H., Collins J.J., Wong W.W. Universal chimeric antigen receptors for multiplexed and logical control of T cell responses. *Cell* 2018;173(6):1426–38. doi: 10.1016/j.cell.2018.03.038.
32. Watanabe N., Bajgain P., Sukumaran S., Ansari S., Heslop H.E., Rooney C.M., Brenner M.K., Leen A.M., Vera J.F. Fine-tuning the CAR spacer improves T-cell potency. *Oncotarget* 2016;5(12):e1253656. doi: 10.1080/2162402X.2016.1253656.
33. Ying Z., Huang X.F., Xiang X. A safe and potent anti-CD19 CAR T cell therapy. *Nat Med* 2019;25(6):947–53. doi: 10.1038/s41591-019-0421-7.
34. Konstorum A., Vella A.T., Adler A.J., Laubenbacher R.C. A mathematical model of combined CD8 T cell costimulation by 4-1BB (CD137) and OX40 (CD134) receptors. *Sci Rep* 2019;9(1):10862. doi: 10.1038/s41598-019-47333-y.
35. Wang X., Sénéchal B., Curran K.J. Long-term follow-up of CD19 CAR therapy in acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 2018;378(5):449–59. doi: 10.1056/NEJMoa1709919.
36. Duell J., Dittich M., Bedke T., Mueller T., Eisele F., Rosenwald A., Rasche L., Hartmann E., Dandekar T., Einsele H., Topp M.S. Frequency of regulatory T-cells determines the outcome of the T-cell-engaging antibody blinatumomab in patients with B-precursor ALL. *Leukemia* 2017;31(10):2181–90. doi: 10.1038/leu.2017.41.
37. Choi B.D., Yu X., Castano A.P. CAR-T cells secreting BiTEs circumvent antigen escape without detectable toxicity. *Nat Biotechnol* 2019;37(9):1049–58. doi: 10.1038/s41587-019-0192-1.
38. Yu J., Wang W., Huang H. Efficacy and safety of bispecific T-cell engager (BiTE) antibody blinatumomab for the treatment of relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia and non-Hodgkin's lymphoma: a systemic review and meta-analysis. *Hematology* 2019;24(1):199–207. doi: 10.1080/16078454.2018.1549802.
39. Singh N., Perazzelli J., Grupp S.A., Barrett D.M. Early memory phenotypes drive T cell proliferation in patients with pediatric malignancies. *Sci Transl Med* 2016;8(320):320ra3. doi: 10.1126/scitranslmed.aad5222.
40. Ragonnaud E., Andersson A.-M.C., Pedersen A.E., Laursen H., Holst P.J. An adenoviral cancer vaccine co-encoding a tumor associated antigen together with secreted 4-1BBL leads to delayed tumor progression. *Vaccine* 2016;34(18):2147–56. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.08.
41. Linot C., Saini J., Adusumilli P.S. Sustained, cell-intrinsic versus intermittent, cell-extrinsic checkpoint blockade in solid tumor CAR T-cell therapy. *J Clin Oncol* 2020;38:16. doi: 10.1200/jco.2020.38.5_suppl.16.
42. Wei J., Han X., Bo J., Han W. Target selection for CAR-T therapy. *J Hematol Oncol* 2019;12(1):62. doi: 10.1186/s13045-019-0758-x.
43. Shi X., Zhang D., Li F., Zhang Z., Wang S., Xuan Y., Ping Y., Zhang Y. Targeting glycosylation of PD-1 to enhance CAR-T cell cytotoxicity. *J Hematol Oncol* 2019;12(1):127. doi: 10.1186/s13045-019-0831-5.
44. Wei J., Luo C., Wang Y., Guo Y., Dai H., Tong C., Ti D., Wu Z., Han W. PD-1 silencing impairs the anti-tumor function of chimeric antigen receptor modified T cells by inhibiting proliferation activity. *J Immuno Therapy Cancer* 2019;7(1):209. doi: 10.1186/s40425-019-0685-y.
45. Chen J., López-Moyado I.F., Seo H., Lio C.W.J., Hempleman L.J., Sekiya T., Yoshimura A., Scott-Browne J.P., Rao A. NR4A transcription factors limit CAR T cell function in solid tumours. *Nature* 2019;567(7749):530–4. doi: 10.1038/s41586-019-0985-x.
46. Peng W., Ye Y., Rabinovich B.A., Liu C., Lou Y., Zhang M., Whittington M., Yang Y., Overwijk W.W., Lizee G., Hwu P. Transduction of tumor-specific T cells with CXCR2 chemokine receptor improves migration to tumor and antitumor immune responses. *Clin Cancer Res* 2010;16(22):5458–68. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0712.
47. Liu G., Rui W., Zheng H., Huang D., Yu F., Zhang Y., Dong J., Zhao X., Lin X. CXCR2-modified CAR-T cells have enhanced trafficking ability that improves treatment of hepatocellular carcinoma. *Eur J Immunol* 2020;50(5):712–24. doi: 10.1002/eji.201948457.
48. Perera L.P., Zhang M., Nakagawa M., Petrus M.N., Maeda M., Kadin M.E., Waldmann T.A., Perera P.Y. Chimeric antigen receptor modified T cells that target chemokine receptor CCR4 as a therapeutic modality for T-cell malignancies. *Am J Hematol* 2017;92(9):892–901. doi: 10.1002/ajh.24794.
49. Liu H., Lei W., Zhang C., Yang C., Wei J., Guo Q., Guo X., Chen Z., Lu Y., Lu Z., Qian W. A phase I trial using CD19 CAR-T expressing PD-1/CD28 chimeric switch-receptor for refractory or relapsed B-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2019;37:7557. doi: 10.1200/jco.2019.37.15_suppl.7557.
50. Wang Y., Jiang H., Luo H., Sun Y., Shi B., Sun R., Li Z. An IL-4/21 inverted cytokine receptor improving CAR-T cell potency in immunosuppressive solid-tumor microenvironment. *Front Immunol* 2019;10:1691. doi: 10.3389/fimmu.2019.01691.
51. Zhang H., Ye Z.L., Yuan Z.G., Luo Z.Q., Jin H.J., Qian Q.J. New Strategies for the Treatment of Solid Tumors with CAR-T Cells. *Int J Biol Sci* 2016;12(6):718–29. doi: 10.7150/ijbs.14405.
52. Gargett T., Brown M.P. The inducible caspase-9 suicide gene system as a “safety switch” to limit on-target, off-tumor toxicities of chimeric antigen receptor T cells. *Front Pharmacol* 2014;5:235. doi: 10.3389/fphar.2014.00235.
53. Sadelain M. CD19 CAR T Cells. *Cell* 2017;171(7):1471. doi: 10.1016/j.cell.2017.12.002.
54. Jones B.S., Lamb L.S., Goldman F., Stasi A.D. Improving the safety of cell therapy products by suicide gene transfer. *Front Pharmacol* 2014;5:254. doi: 10.3389/fphar.2014.00254.
55. Калинин П.С., Петухов А.В., Кнорре В.Д., Масчан М.А., Степанов А.В., Габиев А.Г. Молекулярные подходы к безопасной и контролируемой Т-клеточной терапии. *Acta Naturae* 2018;10(2):16–23. [Kalinin R.S., Petukhov A.V., Knorre V.D., Maschan M.A., Stepanov A.V., Gabibov A.G. Molecular Approaches to Safe and Controlled Engineered T-cell Therapy. *Acta Naturae* 2018;10(2):16–23. (In Russ.)]. PMID: 30116611.
56. Juillerat A., Marechal A., Filhol J.M., Valogne Y., Valton J., Duclert A., Duchateau P., Poirat L. An oxygen sensitive self-decision making engineered CAR T-cell. *Sci Rep* 2017;7:39833. doi: 10.1038/srep39833.
57. Marofi F., Motavalli R., Safonov V.A., Thangavelu L., Yumashev A.V., Markov A., Shomali N., Chartrand M.S., Pathak Y., Jarahian M., Izadi S., Hassanzadeh A., Shirafkan N., Tahmasebi S., Khiavi F.M. CAR T cells in solid tumors: challenges and opportunities. *Stem Cell Res Ther* 2021;12(1):81. doi: 10.1186/s13287-020-02128-1.
58. Newick K., O'Brien S., Moon E., Albelda S.M. CAR T Cell Therapy for Solid Tumors. *Annu Rev Med* 2017;68:139–52. doi: 10.1146/annurev-med-062315-120245.
59. Salmon H., Franciszewicz K., Damotte D., Dieu-Nosjean M.C., Validire P., Trautmann A., Mami-Chouaib F., Donnadieu E. Matrix architecture defines the preferential localization and migration of T cells into the stroma of human lung tumors. *J Clin Invest* 2012;122(3):899–910. doi: 10.1172/JCI45817.
60. Poznansky M.C., Olszak I.T., Evans R.H., Wang Z., Foxall R.B., Olson D.P., Weibrecht K., Luster A.D., Scadden D.S. Thymocyte emigration is mediated by active movement away from stroma-derived factors. *J Clin Invest* 2002;109(8):1101–10. doi: 10.1172/JCI13853.
61. Brown C.E., Alizadeh D., Starr R. Regression of Glioblastoma after Chimeric Antigen Receptor T-Cell Therapy. *N Engl J Med* 2016;375(26):2561–9. doi: 10.1056/NEJMoa1610497.
62. Adusumilli P.S., Cherkassky L., Villena-Vargas J. Regional delivery of mesothelin-targeted CAR T cell therapy generates potent and long-lasting CD4-dependent tumor immunity. *Sci Transl Med* 2014;6(261):261ra151. doi: 10.1126/scitranslmed.3010162.
63. Newick K., O'Brien S., Sun J., Kapoor V., Maceyko S., Lo A., Puré E., Moon E., Albelda S.M. Augmentation of CAR T-cell Trafficking and Antitumor Efficacy by Blocking Protein Kinase A Localization. *Cancer Immunol Res* 2016;4(6):541–51. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0263.
64. Nishio N., Diaconu I., Liu H., Cerullo V., Caruana I., Hoyos V., Bouchier-Hayes L., Savoldo B., Dotti G. Armed oncolytic virus enhances immune functions of chimeric antigen receptor-modified T cells in solid tumors. *Cancer Res* 2014;74(18):5195–205. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0697.
65. Hanahan D., Coussens L.M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012;21(3):309–22. doi: 10.1016/j.ccr.2012.02.022.
66. Quail D.F., Joyce J.A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med* 2013;19(11):1423–37. doi: 10.1038/nm.3394.
67. Burga R.A., Thorn M., Point G.R., Guha P., Nguyen C.T., Licata L.A., DeMatteo R.P., Ayala A., Epat N.J., Junghans R.P., Katz S.C. Liver myeloid-derived suppressor cells expand in response to liver metastases in mice and inhibit the anti-tumor efficacy of anti-CEA CAR-T. *Cancer Immunol Immunother* 2015;64(7):817–29. doi: 10.1007/s00262-015-1692-6.
68. Zhou Q., Munger M.E., Highfill S.L., Tolar J., Weigel B.J., Riddle M., Sharpe A.H., Vallera D.A., Azuma M., Levine B.L., June C.H., Murphy W.J., Munn D.H., Blazar B.R. Program death-1 signaling and regulatory T cells collaborate to resist the function of adoptively transferred cytotoxic T lymphocytes in advanced acute myeloid leukemia. *Blood* 2010;116(14):2484–93. doi: 10.1182/blood-2010-03-275446.