

Перспективы применения CAR-T-клеточной терапии при раке молочной железы: взгляд в будущее

Л.Е. Сорокина, А. М. Незлина, А.М. Красный, Г.Т. Сухих

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва, Российская Федерация, 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4

Адрес для корреспонденции: leva.sorokina@mail.ru

Аннотация

Клеточная иммунотерапия CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-Cell, или Т-клетки с химерным антигенным рецептором) является передовым подходом к лечению онкологических заболеваний. В настоящее время CAR-T-терапия показала высокую эффективность при лечении онкогематологических заболеваний. При этом предпринятые многочисленные попытки создания CAR-T-конструкций для терапии солидных опухолей, в частности рака молочной железы (РМЖ), не продемонстрировали выраженной клинической эффективности. Предполагается, что ключ к решению этих проблем лежит в разработке и внедрении новых генно-инженерных стратегий.

Целью данного обзора стало обобщение и систематизация существующих исследований с технологией CAR. В настоящей работе мы суммируем потенциальные мишени для лечения РМЖ, детализируем имеющиеся ограничения использования данных технологий и определяем важные будущие тенденции в данной области.

Ключевые слова: рак молочной железы, солидные опухоли, клеточная иммунотерапия, CAR-T-терапия, химерный антигенный рецептор

Конфликт интересов: Сухих Г.Т. является членом редакционного совета журнала «Регенерация органов и тканей» с 2023 года, но не имеет отношения к решению о публикации данной статьи. Статья прошла принятую в журнале процедуру рецензирования. Об иных конфликтах интересов авторы не заявляли.

Для цитирования: Сорокина Л.Е., Незлина А.М., Красный А.М., Сухих Г.Т. Перспективы применения CAR-T-клеточной терапии при раке молочной железы: взгляд в будущее. *Регенерация органов и тканей*. 2024;2(2):10–23. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2024-2-10-23>

Поступила 07.04.2024

Обработана 10.05.2024

Принята к публикации 17.05.2024

Prospects for the use of CAR-T-cell therapy in breast cancer: A look into the future

Leya E. Sorokina, Alexandra L. Nezlina, Aleksey M. Krasnyi, Gennady T. Sukhikh

Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russian Federation

Correspondence address: leya.sorokina@mail.ru

Abstract

Cellular immunotherapy CAR-T (Chimeric Antigen Receptor T-Cell, or T-cells with a chimeric antigen receptor) is an advanced approach to the treatment of oncological diseases. Currently, CAR-T-therapy has shown high efficiency in the treatment of oncohematological diseases. At the same time, numerous attempts to create CAR-T-constructs for the treatment of solid tumors, in particular breast cancer (BC), have not demonstrated significant clinical efficacy. It is assumed that the key to solving these problems lies in the development and implementation of new genetic engineering strategies. The purpose of this review was to summarize and systematize existing studies with CAR technology. In this paper, we summarize potential targets for the treatment of BC, detail the existing limitations of using these technologies and identify important future trends in this area.

Keywords: breast cancer, solid tumors, cellular immunotherapy, CAR-T-therapy, chimeric antigen receptor

Conflict of interest: Gennady T. Sukhikh is member of the editorial council of the journal “Organ and tissue regeneration” since 2023, but had no role in the decision to publish this article. The article has undergone the peer-review procedure adopted by the journal. The authors have declared no other conflicts of interest.

For citation: Sorokina L.E., Nezlina A.M., Krasny A.M., Sukhikh G.T. Prospects for the use of CAR-T-cell therapy in breast cancer: a look into the future. *Tissue and organ regeneration*. 2024;2(2):10-23. <https://doi.org/10.60043/2949-5938-2024-2-10-23>

Received 07.04.2024

Revised 10.05.2024

Accepted 17.05.2024

Введение

На протяжении последних десятилетий рак молочной железы (РМЖ) уверенно занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности среди женского населения развитых стран мира. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) ежегодно по всему миру диагностируется более 2,3 млн новых случаев заболевания [1]. Несмотря на значительные успехи современной фундаментальной медицины, а также революционные достижения в области молекулярной онкологии, число летальных исходов от заболевания по-прежнему остается высоким. Так, по состоянию на 2022 год по всему миру было зарегистрировано около 670 тыс. смертей от РМЖ [2]. Принято

считать, что ключевыми причинами, обуславливающими сохраняющуюся высокую смертность, остаются прогрессирование заболевания, а также недостаточная эффективность проводимого системного лечения.

Разнообразие особенностей и течения РМЖ объясняется различными молекулярно-биологическими характеристиками опухолевых клеток. Известно, что для РМЖ свойственна высокая гетерогенность как собственно опухолевых клеток, так и клеточного микроокружения, что, в свою очередь, может обуславливать множественную лекарственную резистентность опухоли и способствовать повышению ее метастатического потенциала [3].

На сегодняшний день, согласно мировым стандартам, выбор терапевтической стратегии и определение долгосрочного прогноза при РМЖ основывается именно на определении биологических характеристик и назначаются с учетом ее молекулярных подтипов.

В рутинной практике определение гистологического подтипа опухоли молочной железы основывается на оценке экспрессии рецепторов эстрогенов и прогестерона, статусе рецептора эпидермального фактора роста Her2/neu, а также маркера клеточной пролиферации Ki67, что позволяет выделить 5 подтипов опухолей: люминальный тип А, люминальный тип В (Her2-отрицательный), люминальный тип В (Her2-положительный), Her2-положительный и базальноподобный (трижды негативный) [4].

В последние десятилетия хирургия, лучевая терапия, химиотерапия, эндокринная терапия, таргетная терапия и иммунотерапия улучшили выживаемость и качество жизни пациентов с раком молочной железы [5]. Между тем к числу основных причин, обуславливающих недостаточную терапевтическую эффективность и высокие показатели смертности от РМЖ, относится развитие резистентности опухоли к существующим методам лечения [6].

Иммунотерапевтические подходы в лечении РМЖ

На протяжении долгого времени РМЖ считался низкоиммуногенной опухолью. Тем не менее накопленные данные о роли иммунных клеток, ассоциированных с опухолью молочной железы, а также результаты исследований эффективности иммунной терапии при некоторых формах РМЖ способствовали пересмотру этой точки зрения.

На сегодняшний день иммунотерапия РМЖ включает в себя широкий спектр методов лечения, включая моноклональные антитела, вакцины, ингибиторы иммунных контрольных точек и адаптивную клеточную терапию [7].

В аспекте иммунологии опухолей молочной железы интерес ученых преимущественно обращен на субпопуляцию цитотоксических Т-лимфоцитов, которые играют ключевую роль в иммунно-опосредованном контроле рака. В мировой литературе накоплен значительный пул исследований, демонстрирующих, что цитотоксическая активность опухоль-инфильтрирующих

лимфоцитов (Tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) является ключевым фактором при определении естественного прогрессирования различных видов рака [8]. Результаты ряда исследований продемонстрировали взаимосвязь между высокими уровнями TILs при постановке диагноза и лучшим ответом на химиотерапию [9], а также лучшим прогнозом при адъювантной химиотерапии [10], особенно при трижды негативном и Her2-положительном РМЖ.

За последние два десятилетия иммунная терапия на основе Т-клеток получила всеобщее признание благодаря своему многообещающему терапевтическому потенциалу в отношении различных видов злокачественных новообразований. Современная иммунная терапия на основе Т-клеток, как правило, основана на двух методах. Первый включает в себя изоляцию противоопухолевых Т-лимфоцитов из первичных опухолевых тканей пациентов. Однако из-за трудностей изоляции и культивирования TILs данная терапия ограничена несколькими типами опухолей с большим количеством TILs. Другой способ — генерировать Т-клетки с заранее определенной противоопухолевой специфичностью с помощью подходов, основанных на генной модификации [11]. Существуют две стратегии модификации генов, включая перенос генов TCR и перенос генов химерного антигенного рецептора (CAR), которые используются для придания Т-клеткам антигенной специфичности выбора.

Несомненно, что разработка CAR-T-технологий стала настоящим прорывом в области молекулярной онкологии. Способность Т-клеток распознавать антигены независимо от главного комплекса гистосовместимости (Human leukocyte antigen, HLA) является очевидным преимуществом и создает огромное количество вариантов для подбора терапии того или иного типа рака [12]. В настоящее время CAR-T-клетки показали высокую эффективность при лечении онкогематологических заболеваний [13]. При этом предпринятые многочисленные попытки создания CAR-T-конструкций для терапии солидных опухолей, в частности РМЖ, не продемонстрировали выраженной клинической эффективности. В связи с этим возникает необходимость в поиске и более подробном изучении эффективных опухолевых антигенов-мишеней, а также выборе оптимальной конструкции CAR, что во многом

будет определять свойства и клиническую эффективность полученного продукта. Количество исследований в области терапии CAR-T-клетками, нацеленной на различные антигены, постоянно растет. В этом обзоре мы описываем текущие достижения CAR-T-терапии в рамках лечения опухолей молочной железы, суммируем данные о потенциальных мишенях РМЖ, а также рассматриваем ограничения использования данных технологий и выдвигаем собственный взгляд на проблему использования CAR-T-конструкций. Данный обзор поможет лучше понять подходящие цели для дальнейшего развития CAR-T-клеточной терапии в реальной онкологической практике.

Строение и функция CAR-T-клетки

В 1989 году было сконструировано первое поколение CAR-T-клеток [14]. Предпосылками для этих разработок послужили исследования, проведенные в 60–80-х годах XX века, где описывалась противораковая активность адаптивной иммунной системы и роль HLA.

На поверхности Т-лимфоцитов находится белковый Т-клеточный рецептор (T-cell receptor, TCR), который распознает антигены, представленные на молекулах HLA. В норме именно благодаря этим молекулам Т-лимфоцит распознает подлежащие уничтожению клетки. Особенностью раковых клеток является утеря или изменение молекул HLA, что позволяет им быть невидимыми для иммунной системы. Сконструированный CAR-T-рецептор представлял собой активирующий клетку домен рецептора (ζ) и антитела (scFv) на поверхности клетки для связывания с целевым белком. Такое строение рецептора обеспечило HLA-независимое распознавание мишени Т-клетками. Механизм действия рецептора заключается в следующем: при связывании антитела с антигеном происходит активация внутриклеточных сигнальных путей, которые инициируют пролиферацию CAR-T-клеток и запуск механизма перфорин-гранзимной цитотоксичности [15]. На текущий момент существуют 5 поколений CAR-T-клеток, различающихся по структуре эндодомена (рис. 1).

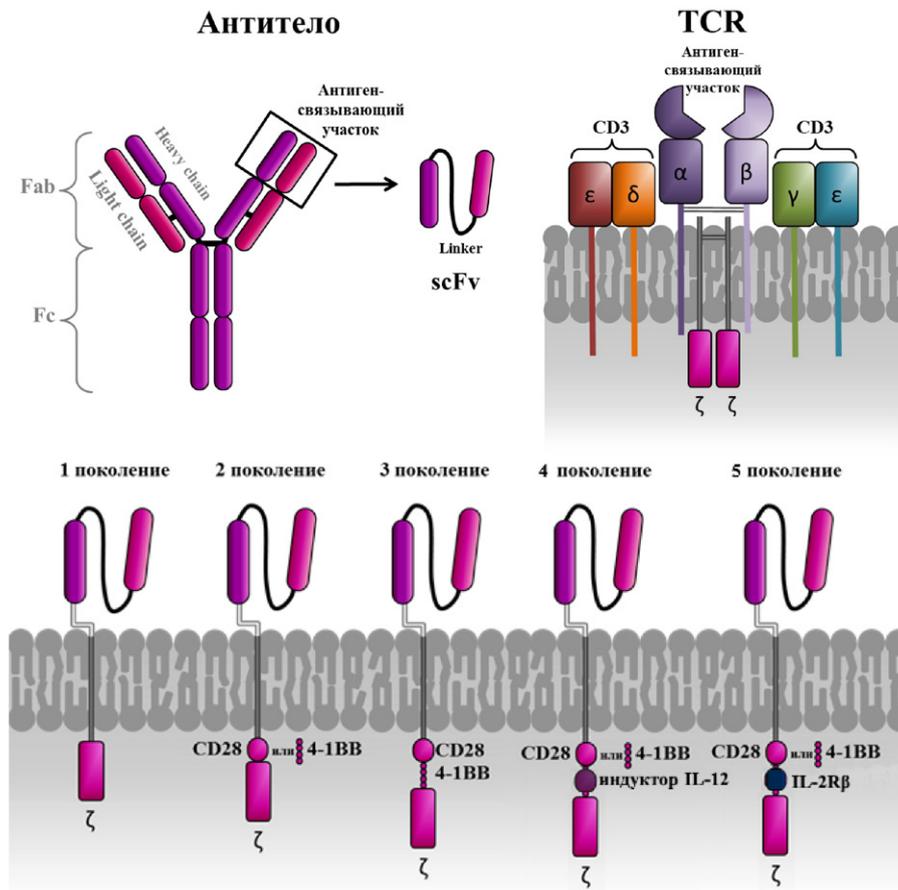


Рис. 1. Строение антител, TCR и CAR разных поколений

CAR-T-клетки первого поколения включали в себя лишь сигнальный домен на основе структуры TCR. По причине отсутствия костимулирующих сигналов CAR данного поколения демонстрировали ограниченную устойчивость, слабую пролиферацию и низкую противоопухолевую цитотоксичность [16]. Учитывая наличие двухэтапного процесса активации у Т-лимфоцитов в физиологических условиях, CAR-T-клеток второго поколения имели уже в своем составе костимулирующий домен, его наличие способствовало значительному улучшению передачи сигналов, экспансии и устойчивости [17]. Наиболее широко используемыми костимулирующими доменами являются CD28, 4-1BB, OX40 и CD27, которые увеличивают выработку CAR-клетками интерлейкина-2 (Interleukin-2, IL-2) [18]. Третье поколение содержит уже два костимулирующих домена, которые повышают пролиферацию и функциональную активность CAR-T-клеток. Разработка четвертого поколения CAR-клеток (бронированные CAR (TRUCK)) была направлена на антигеннеограниченную цитокин-иницируемую элиминацию опухолевых клеток. Появление группы дополнительных генов, индуцирующих экспрессию цитокинов (например, IL-2, IL-12 или IL-15), позволило обеспечить более мощный противоопухолевый потенциал указанным CAR-T-конструкциям [19]. Последующее, пятое поколение CAR-T-клеток основано на модификации и добавлении в структуру внутриклеточного домена второго поколения CAR-фрагментов цепи, отвечающих за активацию дополнительных сигнальных путей. В качестве такового используют укороченные внутриклеточные домены цитокиновых рецепторов (например, фрагмент цепи рецептора IL-2 — IL-2Rb) с мотивом для связывания факторов транскрипции, таких как STAT3/5, JAK. Таким образом, секретлируемый сигнал не только заставляет CAR-T-клетки оставаться активными в течение длительного времени и генерировать Т-клетки памяти, но также реактивирует и стимулирует иммунную систему в целом. Считается, что CAR-T-конструкции пятого поколения также имеют лучший профиль безопасности и более широкое «терапевтическое окно» [20]. Сегодня на основе технологии CAR продолжают разрабатываться новые перспективные терапевтические подходы, которые мы подробнее обсудим в следующих разделах.

Несмотря на большое количество работ, проводимых в данном направлении, наибольшие успехи CAR-T-терапии на текущий момент до-

стигнуты лишь в лечении онкогематологических заболеваний. Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration, FDA) зарегистрировано 7 коммерческих препаратов на основе анти-CD19- и анти-BCMA-CAR-T-клеток, которые успешно применяются в мировой медицинской практике для лечения В-клеточного лимфобластного лейкоза и В-клеточной лимфомы [21]. При этом, несмотря на совершенствование технологий и положительные клинические результаты использования CAR-T-конструкций в онкогематологии, этот вид терапии при солидных опухолях все еще остается малоэффективным [22].

Целевые антигены для CAR-T-лимфоцитов при РМЖ

Критически важным аспектом для клеточной инженерной терапии является выбор целевых антигенов. Идеальная мишень должна в достаточном количестве экспрессироваться на поверхности опухолевых клеток и отсутствовать в здоровых тканях. Как указывалось ранее, для В-клеточных злокачественных новообразований в свое время была найдена своя идеальная мишень — CD19. Ни один антиген с эквивалентными характеристиками для солидных опухолей пока что не идентифицирован [23]. В отношении РМЖ на сегодняшний день накоплен значительный список антигенов, которые могут представлять потенциальные мишени для CAR-T-лимфоцитов, однако важным лимитирующим фактором для применения большинства из них остается факт экспрессированности на поверхности нормальных клетках.

Традиционно рассматривают 3 типа антигенов, экспрессируемых клетками злокачественных новообразований (ЗНО): опухоль-ассоциированные (Tumor-associated antigens, TAA), раково-зародышевые (Cancer germline antigen, CGA) и опухоль-специфичные (Tumor-specific antigens, TSA) [24]. Первая группа включает специфические пептиды из внутриклеточных белков, экспрессируемые на поверхности как опухолевых, так и здоровых клеток в составе HLA. Соответственно стратегия нацеливания на TAA несет риск развития системных иммуноопосредованных побочных эффектов в связи с потенциально возможной атакой CAR-T-лимфоцитами нормальных тканей. Выделяют дифференцировочные и гиперэкспрессируемые TAA. Дифференцировочные антигены характеризуются широкой представленностью на здоровых

клетках. Напротив, присутствие гиперэкспрессируемых антигенов более типично для клеток ЗНО, что делает их более привлекательными мишенями в контексте создания противоопухолевых клеточно-инженерных конструкций. Соответственно, можно минимизировать риски нежелательных явлений с помощью правильного выбора ТАА с наиболее высокой плотностью антигена для CAR-T-клеток.

Уникальной группой антигенов являются CGA, что обусловлено особенностями экспрессии данной группы антигенов. CGA определяются в опухолях различного гистологического происхождения и практически не экспрессируются в нормальных тканях (за исключением половых клеток и клеток трофобласта) [25]. Вполне вероятно, что связанная с aberrантной экспрессией генов представленность CGA на клетках ЗНО обусловлена феноменом гипометилирования ДНК. Анергия иммунной системы к этим клеткам объясняется отсутстви-

ем у них молекул HLA класса I, соответственно, зародышевые клетки не могут вызвать Т-клеточный ответ. Таким образом, будучи чужеродными для аутологичной иммунной системы, CGA делают опухолевые клетки, в которых они экспрессируются, специфичными мишенями для CAR-T-лимфоцитов.

Антигенные молекулы TSA являются наиболее перспективными мишенями с точки зрения эффективности и безопасности CAR-T-терапии. К TSA относятся антигены, являющиеся продуктом специфичной мутации (неоантигены) или экспрессии вирусных частиц. Такие антигены есть только в опухоли и не встречаются в нормальных тканях. Перечень наиболее перспективных антигенов, исследуемых для CAR-T-терапии РМЖ, представлен в таблице. Стоит отметить, что указанные антигены относятся к типу ТАА, что накладывает некоторые ограничения на использование CAR-T-конструкций для лечения данной онкопатологии.

Таблица. Целевые антигены для CAR T-лимфоцитов при РМЖ

Целевой антиген	Класс антигена	Функциональный и прогностический потенциал при РМЖ
Рецептор-2 эпидермального фактора роста человека HER2 (ERBB2)	Рецепторная тирозинкиназа (RTK)	Регуляция процессов роста и пролиферации клеток. Амплификация гена HER2 (ERBB2) и гиперэкспрессия белка у пациентов с РМЖ связана с прогрессированием заболевания, а также негативными клиническими исходами и неблагоприятным прогнозом [26]
Рецептор фактора роста гепатоцитов HGFR (сMET)	Рецепторная тирозинкиназа (RTK)	Активация каскадов сигналов фосфоинозитид-3-киназы (PI3K), активатора транскрипции Stat3, белков β-катенина и RAS. Гиперэкспрессия белка у пациентов с РМЖ связана с неблагоприятным прогнозом [27]
Трансмембранная рецепторная протеинтирозинкиназа ROR1	Рецепторная тирозинкиназа (RTK)	Гиперэкспрессия ROR1 индуцирует экспрессию переносчиков АТФ-связывающих кассет, таких как насос оттока Р-гликопротеина (также называемый белком множественной лекарственной устойчивости 1 (MDR1)). Обуславливает развитие химиорезистентности РМЖ и повышает риск рецидивирования опухоли [28]
Рецептор тирозинкиназы AXL	Рецепторная тирозинкиназа (RTK)	Участвует в активации некоторых сигнальных каскадов, включая пути PI3K, митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) и транскрипционного ядерного фактора (NF-κβ). Гиперэкспрессия AXL является предиктором неблагоприятных клинических исходов и низкой выживаемости [29]
Муцин MUC1	Поверхностный гликопротеин	Участвует в защите слизистых оболочек, передаче внутриклеточных сигналов и модуляции иммунной системы. Аберрантная гиперэкспрессия MUC1 связана с ангиогенезом и химиорезистентностью при РМЖ [30]
Мезотелин MSLN	Поверхностный гликопротеиновый антиген	Участвует в активации некоторых сигнальных каскадов, включая пути PI3K, MAPK и NF-κβ. Гиперэкспрессия MSLN обуславливает развитие химиорезистентности РМЖ и связана с неблагоприятным прогнозом [31]

Продолжение таблицы

Целевой антиген	Класс антигена	Функциональный и прогностический потенциал при РМЖ
Проминин 1 PROM1 (CD133)	Поверхностный гликопротеин	Участвует в клеточной дифференцировке, эпителиально-мезенхимальном переходе, модулирует эффекты широкого спектра цитокинов. Гиперэкспрессия CD133 связана с прогрессированием РМЖ и негативными клиническими исходами [32]
Изоформа интегрального клеточного гликопротеина CD44v6	Поверхностный гликопротеин	Участвует в межклеточных взаимодействиях и ремоделировании внеклеточного матрикса, выступает как корецептор для активации различных цитокинов и ростовых факторов. Является маркером опухолевого прогрессирования при РМЖ. Повышение регуляции CD44v6 было обнаружено преимущественно в клеточных линиях инвазивного РМЖ [33].
Молекула адгезии эпителиальных клеток EPCAM	Поверхностный гликопротеин	Участвует в процессах клеточной миграции, пролиферации и дифференцировки. Гиперэкспрессия EPCAM способствует росту опухоли, метастазированию и развитию химиорезистентности, что приводит к более короткой безрецидивной и общей выживаемости у пациентов с РМЖ [34]
Хондроитин-сульфат протеогликан 4 CSPG4	Поверхностный гликопротеин	Регулирует миграцию клеток и передачу пролиферативных сигналов. Гиперэкспрессия CSPG4 связана с прогрессированием и неоангиогенезом опухолей, что приводит к более короткой безрецидивной и общей выживаемости у пациентов с РМЖ [35]
Внутриклеточная молекула адгезии-1 ICAM1	Поверхностный гликопротеин	Облегчение эндотелиальной трансмиграции лейкоцитов и стабилизация межклеточных взаимодействий. Низкая экспрессия ICAM1 может быть связана с уходом от иммунного надзора, что приводит к развитию химиорезистентности [36]
Опухолевый эндотелиальный маркер 8 TEM8	Поверхностный гликопротеин	Способствует миграции эндотелиальных клеток. Гиперэкспрессия TEM8 связана с более высоким риском рецидива РМЖ [37]
Поверхностный антиген клеток трофобласта 2 TROP2	Поверхностный гликопротеин	Участвует в клеточной пролиферации и злокачественной трансформации клеток. Гиперэкспрессия TROP2 коррелирует с более короткой безрецидивной и общей выживаемостью у пациентов с РМЖ [38]
Рецептор фолиевой кислоты альфа FR α	Поверхностный гликопротеин	Участвует во внутриклеточном транспорте фолата, необходим для биосинтеза ДНК и облегчения метаболических реакций в процессе пролиферации клеток. При РМЖ гиперэкспрессия FR α коррелирует с более короткой безрецидивной и общей выживаемостью пациентов [39]
Дисиаialogанглиозид GD2	Поверхностный гликофинголипид	Опосредует связь опухолевых клеток с белками внеклеточного матрикса. Гиперэкспрессия GD2 является предиктором прогрессирования заболевания и метастазирования РМЖ [40]
Активирующий рецептор NK-клеток и цитотоксических лимфоцитов NGK2D	Трансмембранный белок	Участвует в распознавании «стрессовых» лигандов на инфицированных или трансформированных клетках с последующим устранением этих клеток посредством цитотоксических механизмов. В образцах ткани молочной железы пациентов с РМЖ оценка экспрессии лиганда NKG2D показала, что он экспрессируется только на опухолевых клетках [41]

Ограничения использования CAR-T-клеток при РМЖ

Ключевой особенностью РМЖ как солидной опухоли является наличие опухолевого очага, который имеет определенную форму, границы и может быть представлен различными типами клеток. При этом стоит отметить, что для опу-

холевых клеток характерен выраженный полиморфизм и генетический атипизм [42]. Эти особенности отличают солидные опухоли от гематологических и тем самым создают существенные трудности для создания эффективной таргетной терапии.

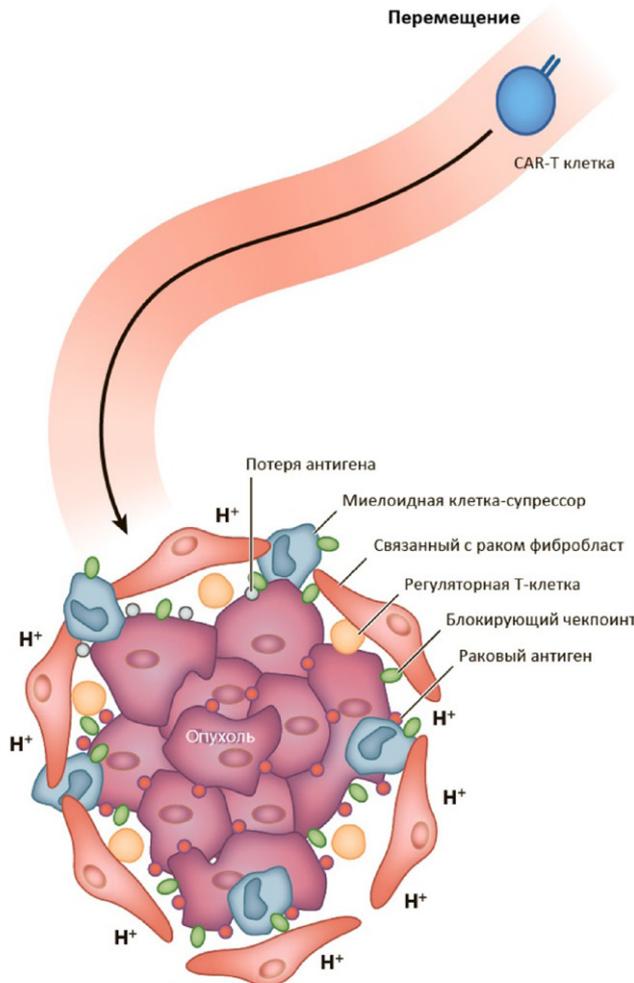
На ранних этапах канцерогенеза между раковыми клетками и компонентами опухолевого микроокружения развиваются динамические взаимоотношения, которые способствуют выживанию раковых клеток, локальной инвазии и метастатическому распространению. По мере прогрессирования внутри опухоли нарушаются трофика и оксигенация, что приводит к гипоксии и некрозу клеток в центре очага. Поэтому даже после успешного перемещения и инфильтрации Т-клетки быстро становятся дисфункциональными из-за враждебного микроокружения опухоли, которое под воздействием гипоксии начинает выделять факторы роста, стимулирующие рост сосудов вблизи опухоли и усиливающие поступление к ней питательных веществ, а также стимулирующие приток различных растворимых факторов и цитокинов, ингибирующих активность иммунных клеток [43]. Уста-

новлено, что сами онкобелки, продуцируемые опухолью, могут выполнять роль сигнальных молекул, стимулирующих неоангиогенез и оказывающих влияние на клетки опухолевого микроокружения, перепрограммируя их для ухода опухолевых клеток от иммунного надзора [44]. Все эти факторы приводят к созданию в опухоли иммуносупрессивного окружения, привлечению пула Т-регуляторных клеток (Treg) и перепрограммированию цитотоксических Т-лимфоцитов (рис. 2) [45].

Кроме того, критичным моментом, препятствующим активности CAR-T-клеточной терапии в очаге солидной опухоли, может быть наличие растворимых форм целевого антигена, способного связываться с CAR. Растворимые формы антигенов образуются в результате шеддинга — процесса, приводящий к отщеплению экстраклеточного домена трансмембранных полипептидов [46]. Шеддинг антигена может быть результатом активности протеаз, факторов микроокружения опухоли или клеточных процессов внутри раковых клеток.

Другими механизмами ухода опухолевых клеток от иммунного контроля являются генетические изменения и эпигенетические модификации антигена, иммунное редактирование и клональный отбор. Каждый из этих механизмов может способствовать снижению или потере экспрессии целевого антигена в опухолевых клетках, что приводит к развитию лекарственной резистентности и рецидиву заболевания. Указанные механизмы потери антигена не являются взаимоисключающими и могут происходить одновременно или последовательно [47]. Сложное взаимодействие между генетическими изменениями, эпигенетическими модификациями, иммунным редактированием, клональным отбором и шеддингом антигена усугубляет проблемы поддержания эффективности CAR-T-клеток с течением времени.

Стоит отметить, что указанные ограничения также не являются единственно возможными. Ряд авторов сходятся во мнении, что недостаточная экспансия или персистенция CAR-T-клеток является ключевой проблемой в повышении эффективности терапии солидных опухолей. Показано, что низкая устойчивость инфузионных CAR-T-лимфоцитов обратно коррелирует с длительностью клинической ремиссии у пациентов онкологического профиля [48].



Низкий pH/низкая концентрация кислорода/
низкое содержание питательных веществ

Рис. 2. Иммуносупрессивное микроокружение опухоли

Согласно литературным данным сами CAR-T-клетки также могут быть большой опасностью для организма, учитывая их потенциальную иммунореактивность и токсичность. Потенциальными осложнениями CAR-T-клеточной терапии являются синдром высвобождения цитокинов и синдромом нейротоксичности. Также есть и менее распространенные побочные эффекты: токсичность on-target/off-tumor, синдром лизиса опухоли, реакция «трансплантат против хозяина», аллергические реакции [49, 50].

Таким образом, понимание механизмов формирования указанных ограничений и разработка новых стратегий для их преодоления имеют решающее значение для повышения эффективности и безопасности терапии CAR-T-клетками.

Стратегии для повышения эффективности и безопасности использования CAR-T-конструкций в терапии солидных опухолей

Для каждой из вышеописанных проблем существуют различные решения, подбором комбинаций из которых и предстоит заниматься исследователям, направляющим CAR-T-клетки на борьбу с солидными опухолями. Ключ к решению этих проблем лежит в разработке и внедрении новых генно-инженерных стратегий.

Ряд авторов в своем исследовании сосредоточен на модификации методологических подходов культивирования и генетического редактирования Т-лимфоцитов. Рассматриваются различные стратегии повышения устойчивости инфузионных CAR-T-клеток, включая оптимизацию процедуры отбора и условий культивирования Т-клеток *ex vivo* с использованием широкого профиля цитокинов и костимулирующих молекул; редактирование про- и противоапоптотических генов, участвующих в контроле жизненного цикла Т-лимфоцитов; регуляцию окислительно-восстановительного баланса клеток; модуляцию основных внутриклеточных сигнальных доменов (например, 4-1BB, CD28, TLR или CD40) в указанных генно-инженерных конструкциях [48]. Кроме того, возможно включение в геном CAR-T-лимфоцитов так называемых «суицидальных» генов (suicidal genes), продукты которых под действием специфических малых молекул запускают апоптоз Т-клеток [51, 52].

Одной из стратегий преодоления иммуносупрессивного воздействия является комбинированная терапия CAR-T-конструкциями с ингибиторами

контрольных точек иммунного ответа, например PD-1, для предотвращения «истощения» Т-клеток [53].

Для решения проблемы потери таргетируемого антигена ряд авторов указывают на необходимость создания биспецифичных CAR-T-клеток [54].

Одним из наиболее удачных решений, на наш взгляд, в проблеме повышения эффективности клеточной иммунотерапии было предложение использовать несколько вариантов CAR-T-клеток, нацеленных на разные антигены. Ученые из США предложили использовать универсальный CAR, имеющий биотин-связывающий домен мономерного стрептавидина 2 (mSA2), который при экспрессии на Т-клетках может нацеливаться на раковые клетки, покрытые биотинилированными антителами [55]. Такой способ дает возможность применять различные комбинации антител без необходимости повторной модификации Т-клеток, а также делает возможным создание универсальных CAR-T-клеток, благодаря чему сложный и дорогой метод CAR-T-клеточной терапии может стать более доступным и распространенным.

Широкие перспективы в области иммунотерапии ЗНО представляют субпопуляции инвариантных Т-лимфоцитов, экспрессирующих ограниченный репертуар TCR-рецепторов, которые рестриктируют спектр распознаваемых антигенов, что позволяет позиционировать эти клетки как промежуточные между врожденным и адаптивным иммунитетом. В 2020 году британскими учеными при проведении полногеномного скрининга CRISPR — Cas9 был описан новый высококонсервативный тип рецепторов в Т-клетках, подобный HLA — MR1 (MHC class I-related protein), экспрессирующийся всеми типами клеток человеческого организма [56]. В первоначальных исследованиях MR1 был описан на поверхности рестриктированных Т-клеток, ассоциированных со слизистой (Mucosal-associated invariant T-cells, MAIT).

Установлено, что репертуар MR1 является высоковариабельным, а функциональный потенциал TCR MR1-Т-клеток широко варьирует в зависимости от экспонируемого антигена [57]. В ряде работ было продемонстрировано возможность распознавания комплекса MR1 с антигеном некоторыми клонами MR1-рестриктированных Т-клеток в случае

развития онкопатологии [56, 58]. Клетки MR1-T используют структуру TCR для обнаружения опухолей и активируют внутренний сигнал, который организует сигнализацию рецептора антигена для усиления и координации изменений в функции Т-лимфоцитов и индуцирует секрецию цитокинов [59]. В отличие от клеток CAR-T, клетки MR1-T могут инициировать нисходящую сигнализацию через нековалентный комплекс с гомодимером CD3 $\zeta\zeta$, гетеродимерами CD3 $\delta\epsilon$ и CD3 $\gamma\epsilon$ и в общей сложности десятью мотивами активации иммунорецепторов на основе тирозина (ITAM) [60].

Учитывая высокий профиль безопасности MR1-рестриктированных Т-клеток, данная стратегия открывает широкие перспективы для развития иммунотерапии солидных опухолей.

Для уменьшения токсичности и профилактики развития резистентности было предложено использовать комбинированные подходы, включающие в себя использование наряду с новыми методами CAR-T-терапии схем химио- и/или лучевой терапии [61, 62]. Результаты ряда исследований демонстрируют, что комбинированное лечение повышает эффективность CAR-T-терапии и способно уменьшить побочные эффекты [63]. Основными звеньями комбинированного подхода являются модификация опухолевого микроокружения, повышение экспрессии опухолевых антигенов, улучшение выживаемости иммунных клеток внутри опухоли и снижение токсичности терапии.

Заключение

Социально-медицинская значимость проблемы РМЖ, а также недостаточная результативность применяемых методов лечения побуждает к поиску и разработке новых терапевтических стратегий в отношении злокачественных новообразований молочной железы. CAR-T-клеточная терапия представляет собой новый, быстро развивающийся иммунотерапевтический подход, продемонстрировавший мощный потенциал в отношении гематологических злокачественных новообразований.

Учитывая иммуногенность РМЖ и наличие значительного количества потенциальных целевых антигенов на опухолевых клетках молочной железы, CAR-T-клеточная терапия в настоящее время рассматривается как перспективное направление в лечении пациентов с новообразованиями молочной железы.

При этом имеющиеся на сегодня CAR-T-конструкции при солидных опухолях оказалась малоэффективными. Актуальными остаются ряд проблем, такие как антигенная гетерогенность данных опухолей, иммуносупрессивное микроокружение, слабая инфильтрация опухоли иммунными клетками, истощение и снижение пролиферативной активности и цитотоксичности CAR-T-клеток внутри опухоли, ускользание целевого антигена опухоли, токсичность терапии. В связи с этим возникает необходимость в продолжении исследований, направленных на совершенствование и улучшение методики CAR-T-технологий для лечения солидных опухолей.

Литература

1. Рак молочной железы. <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/breast-cancer>
2. Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2024;74(3):229–263. DOI: 10.3322/caac.21834
3. Caswell-Jin JL, Lorenz C, Curtis C. Molecular heterogeneity and evolution in breast cancer. *Ann Rev Cancer Biol.* 2021;5(1):79–94. DOI: 10.1146/annurev-cancerbio-060220-014137
4. Harbeck N, Gnant M. Breast cancer. *Lancet.* 2017;389(10074):1134–1150. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)31891-8
5. Barzaman K, Karami J, Zarei Z, Hosseinzadeh A, Kazemi MH, Moradi-Kalbolandi S. et al. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *Int Immunopharmacol.* 2020;84:106535.
6. Palomer S, Ruiz-Martínez S, Puig T. Targeting Breast Cancer Stem Cells to Overcome Treatment Resistance. *Molecules.* 2018;23(9):2193. DOI: 10.3390/molecules23092193
7. Anuvab D, Subhrojyoti G, Shreya J, et al. Recent advancement in breast cancer treatment using CAR T cell therapy:-A review. 2023;7:100090. DOI: 10.1016/j.adcanc.2023.100090

8. Ciarka A, Piątek M, Pęksa R, Kunc M, Senkus E. Tumor-Infiltrating Lymphocytes (TILs) in Breast Cancer: Prognostic and Predictive Significance across Molecular Subtypes. *Bio-medicines*. 2024;12(4):763. DOI: 10.3390/biomedicines12040763
9. Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J. Clin. Oncol*. 2010;28(1):105–113.
10. Dieci MV, Mathieu MC, Guarneri V, et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. *Ann. Oncol*. 2015;26(8):1698–1704
11. Кузнецова М.С., Шику Х., Караулов А.В., Сенников С.В. Современные Т-клеточные технологии иммунотерапии солидных опухолей. *Медицинская иммунология*. 2023;25(2):271–286. DOI: 10.15789/10.15789/1563-0625-MTC-2444
12. Elahi R., Khosh E., Tahmasebi S., Esmaeilzadeh A. Immune cell hacking: challenges and clinical approaches to create smarter generations of chimeric antigen receptor T cells. *Front Immunol*. 2018;9:1717. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01717
13. Fischer JW, Bhattarai N. CAR-T cell therapy: mechanism, management, and mitigation of inflammatory toxicities. *Front Immunol* 2021;12:693016. DOI: 10.3389/fimmu.2021.693016
14. Gross G, Waks T, Eshhar Z. Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1989;24(86):10024–10028.
15. Land CA, Musich PR, Haydar D, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy in glioblastoma: charging the T cells to fight. *J Transl Med*. 2020;18(1):428. DOI: 10.1186/s12967-020-02598-0
16. Brocker T, Karjalainen K. Signals through T cell receptor- ζ chain alone are insufficient to prime resting T lymphocytes. *Journal of Experimental Medicine*. 1995;181(5):1653–1659.
17. Savoldo B, Ramos CA, Liu E, et al. CD28 costimulation improves expansion and persistence of chimeric antigen receptor-modified T cells in lymphoma patients. *J Clin Invest*. 2011;121(5):1822–1826. DOI: 10.1172/JCI46110
18. Chavez JC, Bachmeier C, Kharfan-Dabaja MA. CAR T-cell therapy for B-cell lymphomas: clinical trial results of available products. *Ther Adv Hematol*. 2019;10:2040620719841581. DOI: 10.1177/2040620719841581
19. Poorebrahim M, Melief J, Pico de Coana Y, et al. Counteracting CAR T cell dysfunction. *Oncogene* 2021;40(2):421–435. DOI: 10.1038/s41388-020-01501-x
20. Tokarew N, Ogonek J, Endres S, et al. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells. *Br J Cancer* 2019;120(1):26–37. DOI: 10.1038/s41416-018-0325-1
21. Fischer JW, Bhattarai N. CAR-T cell therapy: mechanism, management, and mitigation of inflammatory toxicities. *Front Immunol* 2021;12:693016. DOI: 10.3389/fimmu.2021.693016
22. Tahmasebi S, Elahi R, Esmaeilzadeh A. Solid tumors challenges and new insights of CAR T cell engineering. *Stem Cell Rev Rep*. 2019;15(5):619–636. DOI: 10.1007/s12015-019-09901-7
23. Morello A, Sadelain M, Adusumilli PS. Mesothelin-Targeted CARs: Driving T Cells to Solid Tumors. *Cancer Discov*. 2016;6(2):133–146. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-15-0583
24. Abbott RC, Cross RS, Jenkins MR. Finding the Keys to the CAR: Identifying Novel Target Antigens for T Cell Redirection Immunotherapies. *Int J Mol Sci*. 2020;21(2):515. DOI: 10.3390/ijms21020515
25. Scanlan MJ, Gure AO, Jungbluth AA, Old LJ, Chen YT. Cancer/testis antigens: an expanding family of targets for cancer immunotherapy. *Immunol Rev*. 2002;188:22–32. DOI: 10.1034/j.1600-065x.2002.18803.x
26. Pegram M, Slamon D. Biological rationale for HER2/neu (c-erbB2) as a target for monoclonal antibody therapy. *Semin Oncol*. 2000;27:13–19.
27. Ho-Yen CM, Jones JL, Kermorgant S. The clinical and functional significance of c-Met in breast cancer: a review. *Breast Cancer Res*. 2015;17:52.
28. Fultang N, Illendula A, Lin J, et al. ROR1 regulates chemoresistance in Breast Cancer via modulation of drug efflux pump ABCB1. *Sci Rep*. 2020;10:1821.

29. Goyette MA, Duhamel S, Aubert L, et al. The Receptor Tyrosine Kinase AXL Is Required at Multiple Steps of the Metastatic Cascade during HER2-Positive Breast Cancer Progression. *Cell Rep*. 2018;23:1476–1490.
30. Jing X, Liang H, Hao C, et al. Overexpression of MUC1 predicts poor prognosis in patients with breast cancer. *Oncol Rep*. 2019;41(2):801–810. DOI: 10.3892/or.2018.6887
31. Tang Z, Qian M, Ho M. The role of mesothelin in tumor progression and targeted therapy. *Anticancer Agents Med Chem*. 2013;13:276–280.
32. Joseph C, Arshad M, Kurozomi S, et al. Overexpression of the cancer stem cell marker CD133 confers a poor prognosis in invasive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2019;174:387–399.
33. Hu S, Cao M, He Y, et al. CD44v6 Targeted by miR-193b-5p in the Coding Region Modulates the Migration and Invasion of Breast Cancer Cells. *J Cancer*. 2020;11:260–271.
34. Mal A, Bukhari AB, Singh RK, et al. EpCAM-Mediated Cellular Plasticity Promotes Radiation Resistance and Metastasis in Breast Cancer. *Front Cell Dev Biol*. 2020;8:597673.
35. Wang X, Wang Y, Yu L, et al. CSPG4 in cancer: multiple roles. *Curr Mol Med*. 2010;10:419–429.
36. Zhou Q, Xu J, Xu Y, Sun S, Chen J. Role of ICAM1 in tumor immunity and prognosis of triple-negative breast cancer. *Front Immunol*. 2023;14:1176647. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1176647
37. Byrd TT, Fousek K, Pignata A, et al. TEM8/ANTXR1-Specific CAR T Cells as a Targeted Therapy for Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res*. 2018;78:489–500.
38. Chen H, Wei F, Yin M, et al. CD27 enhances the killing effect of CAR T cells targeting trophoblast cell surface antigen 2 in the treatment of solid tumors. *Cancer Immunol Immunother*. 2021;70(7):2059–2071. DOI: 10.1007/s00262-020-02838-8
39. Ginter PS, McIntire PJ, Cui X, et al. Folate Receptor Alpha Expression Is Associated With Increased Risk of Recurrence in Triple-negative Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2017;17:544–549.
40. Ahmed M, Cheung NK. Engineering anti-GD2 monoclonal antibodies for cancer immunotherapy. *FEBS Lett*. 2014;588(2):288–297. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.11.030
41. Groh V, Rhinehart R, Secrist H, Bauer S, Grabstein KH, Spies T. Broad tumor-associated expression and recognition by tumor-derived gamma delta T cells of MICA and MICB. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:6879–6884.
42. Caswell-Jin JL, Lorenz C, Curtis C. Molecular heterogeneity and evolution in breast cancer. *Ann Rev Cancer Biol*. 2021;5(1):79–94. DOI: 10.1146/annurev-cancerbio-060220-014137
43. Newick K, O'Brien S, Moon E, Albelda SM. CAR T Cell Therapy for Solid Tumors. *Annu Rev Med*. 2017;68:139–152. DOI: 10.1146/annurev-med-062315-120245
44. Henke E., Nandigama R., Ergun S. Extracellular matrix in the tumor microenvironment and its impact on cancer therapy. *Front Mol Biosci* 2019;6:160. DOI: 10.3389/fmolb.2019.00160
45. Quail DF, Joyce JA. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis. *Nat Med* 2013;19(11):1423–1437. DOI: 10.1038/nm.3394
46. Sun L, Gao F, Gao Z, et al. Shed antigen-induced blocking effect on CAR-T cells targeting Glypican-3 in Hepatocellular Carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2021;9(4):e001875. DOI: 10.1136/jitc-2020-001875
47. Mishra A, Maiti R, Mohan P, Gupta P. Antigen loss following CAR-T cell therapy: Mechanisms, implications, and potential solutions. *Eur J Haematol*. 2024;112(2):211–222. DOI: 10.1111/ejh.14101
48. Jafarzadeh L, Masoumi E, Fallah-Mehrjardi K, Mirzaei HR, Hadjati J. Prolonged Persistence of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cell in Adoptive Cancer Immunotherapy: Challenges and Ways Forward. *Front Immunol*. 2020;11:702. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00702
49. Schubert ML, Schmitt M, Wang L, et al. Side-effect management of chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy. *Ann Oncol* 2021;32(1):34–48. DOI: 10.1016/j.annonc.2020.10.478
50. Huang M., Deng J., Gao L., Zhou J. Innovative strategies to advance CAR T cell therapy for solid tumors. *Am J Cancer Res* 2020;10(7):1979–1992.
51. Li H, Zhao Y. Increasing the safety and efficacy of chimeric antigen receptor T cell therapy. *Protein Cell*. 2017;8(8):573–589. DOI: 10.1007/s13238-017-0411-9

52. 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
53. Zhang H, Ye ZL, Yuan ZG, et al. New Strategies for the Treatment of Solid Tumors with CAR-T Cells. Int J Biol Sci 2016;12(6):718–729. DOI: 10.7150/ijbs.14405
54. Zah E, Lin MY, Silva-Benedict A, et al. T Cells Expressing CD19/CD20 Bispecific Chimeric Antigen Receptors Prevent Anti- gen Escape by Malignant B Cells. Cancer Immunol Res 2016;4(6):498–508. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0231
55. Lohmueller JJ, Ham JD, Kvorjak M, Finn OJ. mSA2 affinity-enhanced biotin-binding CAR T cells for universal tumor targeting. Oncoimmunology. 2017;7(1):e1368604. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1368604
56. Crowther MD, Dolton G, Legut M, et al. Genome-wide CRISPR–Cas9 screening reveals ubiquitous T cell cancer targeting via the monomorphic MHC class I-related protein MR1. Nat Immunol. 2020;21:178–185. DOI: 10.1038/s41590-019-0578-8
57. Gherardin NA, McCluskey J, Rossjohn J, Godfrey DI. The diverse family of MR1-restricted T cells. J. Immunol. 2018;201:2862–2871. DOI: 10.4049/jimmunol.1801091
58. Lepore M, Kalinichenko A, Calogero S, et al. Functionally diverse human T cells recognize non-microbial antigens presented by MR1. Elife. 2017;6:e24476. DOI: 10.7554/eLife.24476
59. Chandran SS, Klebanoff CA. T cell receptor-based cancer immunotherapy: emerging efficacy and pathways of resistance. Immunol. Rev. 2019;290:127–147. DOI: 10.1111/imr.12772
60. Wang Z, Wang M, Chen J, et al. MR1-restricted T cells: the new dawn of cancer immunotherapy. Biosci Rep. 2020;40(11):BSR20202962. DOI: 10.1042/BSR20202962
61. Reits EA, Hodge JW, Herberts CA, et al. Radiation modulates the peptide repertoire, enhances MHC class I expression, and induces successful antitumor immunotherapy. J Exp Med. 2006;203(5):1259–1271. DOI: 10.1084/jem.20052494
62. Laplagne C, Domagala M, Le Naour A, et al. Latest advances in targeting the tumor microenvironment for tumor suppression. Int J Mol Sci 2019;20(19):4719. DOI: 10.3390/ijms20194719
63. Murad JP, Tilakawardane D, Park AK, et al. Pre-conditioning modifies the TME to enhance solid tumor CAR T cell efficacy and endogenous protective immunity. Mol Ther. 2021;29(7):2335–2349. DOI:10.1016/j.ymthe.2021.02.024

Об авторах

Сорокина Лея Евгеньевна — м.н.с. лаборатории цитологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Незлина Александра Леонидовна — м.н.с. лаборатории цитологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Красный Алексей Михайлович — к.б.н., заведующий лабораторией цитологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Сухих Геннадий Тихонович — академик РАН, д.м.н., профессор, директор, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Authors

Leya E. Sorokina — Junior Researcher at the Cytology Laboratory, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation.

Alexandra L. Nezlina — Junior Researcher at the Cytology Laboratory, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation.

Aleksey M. Krasnyi — Cand. Sci. (Biology), Head of the Cytology Laboratory, Academician V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia.

Gennady T. Sukhikh — Academician of the RAS, Dr. Sci. (Medicine), Professor, Director, V.I. Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of Russia.