

## ایمنی درمانی با سلول‌های T مهندسی شده (CAR T cell):

### تحولی شگرف در فناوری‌های نوین زیستی-پزشکی

محمد رضا نوری دلویی<sup>1\*</sup>، نازنین رحیمی‌راد<sup>2</sup>، سعیده کاوسی<sup>3</sup>

1. استاد، دکترای ژنتیک مولکولی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
2. کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی
3. کارشناس ارشد ژنتیک مولکولی

#### چکیده

تاریخ دریافت: 1396/05/20  
تاریخ پذیرش: 1396/06/27

درمان‌های برپایه گیرنده‌های آنتی‌ژن کایمری (CAR) سلول‌های T، به‌عنوان یکی از روش‌های نوین ایمنی درمانی، تحول شگرفی را در درمان سرطان پدید آورده‌اند. از آنجا که CAR از یک آنتی‌بادی ایجاد می‌شوند، سلول حاصل دارای ویژگی هدف‌گیری مطلوب یک آنتی‌بادی مانند نیازداشتن به شناسایی توسط مجموعه سازگاری بافتی (MHC) و توانایی شناسایی آنتی‌ژن‌های خودی است. این مزایای بالقوه، به شناسایی آنتی‌ژن‌های ویژه سلول‌های توموری منجر می‌شود که با فراخواندن سیتوکین‌ها و مولکول‌های کمک‌تحریکی دیگر، سلول‌های توموری را از بین می‌برد. در مقاله پیش‌رو، ساختار پایه‌ای و کارکرد CARها و چگونگی انتخاب اهداف آنتی‌ژنی آنها توصیف شده و پیشرفت و توسعه این فن از ابتدا تاکنون برای بهبود کارکرد در ریزمحیط تومور بررسی شد. در ادامه، چندین نمونه از درمان‌های موفق با کمک این فناوری ارائه شده و در انتها، نگاه اجمالی به عوارض جانبی این روش شده است.

#### کلیدواژه‌ها:

ایمنی درمانی، درمان هدفمند، فناوری زیستی-پزشکی، گیرنده آنتی‌ژن کایمری (CAR)، گیرنده سلول (TCR).

\* نویسنده مسئول: محمد رضا نوری دلویی

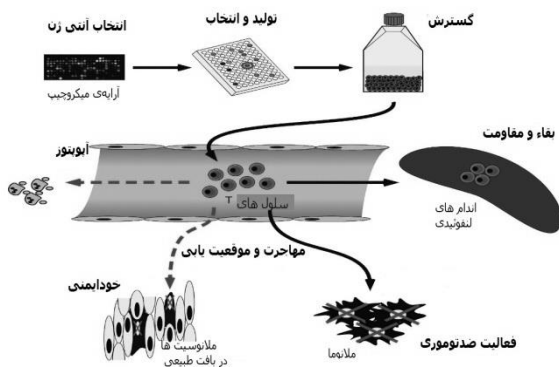
نشانی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی  
تلفن: 021-88953005, 66491090. دورنگار: ؟؟؟  
رایانه: nooridalooi@sina.tums.ac.ir

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره 24، شماره 6، بهمن و اسفند 1396، ص 1-12.  
آدرس سایت: <http://jsums.medsab.ac.ir> رایانامه: [journal@medsab.ac.ir](mailto:journal@medsab.ac.ir)

شاپای چاپی: 1606-7487

## مقدمه

کارکرد اختصاصی، قادر به غلبه بر بسیاری از سازوکارهای ممانعت کننده پاسخ ایمنی مناسب درون بدن هستند و در واقع فرصت مغتنمی را برای پژوهشگران فراهم می‌آورند تا روی میزان کارایی، کارکرد، ویژگی و هدف‌گیری سلول‌های توموری کنترل لازم را داشته باشند. افزون بر این، با این روش‌ها می‌توان میزان تناسب آنتی‌ژن توموری برای اهداف درمانی را نیز ارزیابی کرد. از سوی دیگر می‌توان سلول‌های T را پیش از انتقال به بدن بیمار مورد دست‌ورزی مناسب ژنتیکی برای کسب کارکرد جدید و ویژگی لازم که در حالت عادی فاقد آن هستند قرار داد. همچنین، با استفاده از راهکارهای مناسب پژوهشی می‌توان از سلول‌های T مهندسی شده برای درمان سرطان در انسان‌ها بهره برد (شکل ۱) [۶].



شکل ۱. نمایش ساده‌ای از نحوه انتخاب آنتی‌ژن هدف مناسب.

گسترش سلول‌های T در شرایط *in vitro* و انتقال آنها به بدن فرد بیمار، این سلول‌ها باید از پایداری، کارکرد و قرارگیری مناسب نسبت به مکان سلول‌های توموری برخوردار باشند. به طبع، عدم بقاء سلول‌های T انتقالی در محیط *in vivo* به مرگ و اختلال در کارایی آنها منجر می‌شود. از آنجا که امکان بیان این آنتی‌ژن‌ها توسط سلول‌های طبیعی نیز وجود دارد، پژوهشگران می‌بایست به اتخاذ روش‌های مناسب برای پیشگیری از آسیب رسیدن به این پافت‌ها توجه کنند.

شایان تأکید است که اندیشه شکل‌گیری فناوری CAR-T- cell به ۲۶ سال پیش باز می‌گردد. زمانی که مشخص شد مانند قطعه متغیر زنجیره سبک و سنگین آنتی بادی، عناصر پاسخ دهنده درون هتروداپمرهای  $\alpha\beta$  گیرنده لنفوسیت T آنتی‌ژن‌های اختصاصی را شناسایی می‌کنند. Eshhar برای نخستین بار به توانایی سلول‌های T که بدون محدودیت HLA اهداف متفاوتی را شناسایی می‌کردند پی برد و از واژه T-body برای نامیدن این سلول‌ها استفاده کرد. در مراحل نخستین، وجود دو ژن کایمرک و انتقال همزمان آنها به‌طور مستقیم به

برای دهه‌های متعدد، درمان سرطان بر جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی مبتنی بوده است، اگرچه در خلال دو دهه گذشته، درمان‌های هدفمندی نیز مانند داروهای ایماتینیب (Gleevec®) و تراستوزوماب (Herceptin®) (داروهایی که سلول‌های سرطانی را با استفاده از تغییرات مولکولی خاصی که در آنها دیده می‌شوند، هدف قرار می‌دهند) به‌عنوان درمان استاندارد برای شماری از سرطان‌ها شناخته شده‌اند. افزون بر این‌ها، در سال‌های اخیر، روش‌های ایمنی درمانی پدیدار شده است که موجب تقویت قدرت سیستم ایمنی بدن بیمار برای حمله به تومورها می‌شود. این رویکرد در میان سرطان‌شناسان، امروزه «ستون پنجم» درمان سرطان نامیده می‌شود [۱-۳].

ایمنی درمانی تومورها، از قدیمی‌ترین کاربردهای بالینی به شمار می‌آید که به تدریج توسعه یافته و کارآمدتر شده است. هدف عمده در این روش، گسترش سازوکارهایی است که تنها بر روی سلول‌های توموری فرد اثر می‌گذارند، نه سلول‌های طبیعی فرد. اگرچه در عمل، موانع متعددی دستیابی به این هدف را با دشواری مواجه می‌کند. برای نمونه، با این که تاکنون صدها آنتی‌ژن توموری شناسایی شده‌اند، اما بیان ناچیز برخی از آنها روی سلول‌های طبیعی، روند شناسایی آنها را مشکل ساخته است. افزون بر این، گاهی میزان بیان آنتی‌ژن‌ها روی سلول‌های توموری به قدری ناچیز است که هیچ‌گونه خاصیت تحریک سیستم ایمنی را از خود نشان نمی‌دهد. همچنین، تومورها با استفاده از راهکارهای متنوعی، خود را در برابر آغاز و گسترش پاسخ ایمنی مقاوم می‌کنند. از جمله این راهکارها می‌توان به کاهش بیان مولکول‌های آنتی‌ژن لکوسیتی انسان (Human Leukocyte Antigen (HLA)) و آنتی‌ژن‌های هدف اشاره کرد. در این میان نمی‌توان از تأثیر ریزمحیط تومور حاوی سیتوکین‌های مهارکننده سیستم ایمنی و لکوسیت‌های فراوان چشم‌پوشی کرد. در واقع حتی سلول‌های سرطانی قادر به ایجاد «تمایز» و تغییر آنتی‌ژن‌های سطحی خود هستند و بدین ترتیب از شناسایی شدن توسط سلول‌های T و عوامل التهابی فرار می‌کنند [۴ و ۵].

در پی پیشرفت‌های در خور توجه در فناوری‌ها، تخریب هدفمند سلول‌های بدخیم به‌واسطه ارتقاء کارکرد لنفوسیت‌های T، روشی مناسب با دقت و توانایی بالا و به دور از ایجاد سمیت بافتی محسوب می‌شود. نظر به این که سازوکارهای سیستم ایمنی موجب تخریب و انهدام سلول‌های T فعال شده اکتسابی در بدن می‌شوند، استفاده از واکسن‌ها به‌عنوان روش درمانی برای سرطان‌ها، اغلب با شکست همراه است. درمان‌های ایمنی شناختی اکتسابی به‌واسطه گسترش *ex vivo* سلول‌های T با

بسیار کم این آنتی‌ژن‌ها در سطح سلول‌های طبیعی را نیز نادیده می‌گیرند. از پروتئین‌های آنتی‌ژنی توموری با بیان افزایش یافته می‌توان به ژن WT<sub>1</sub> در انواع لوسمی‌ها و تومورهای جامد، مانند تومور ویلمز و HER2/neu در سرطان پستان و تخمدان اشاره کرد [۷۵].

یک رویکرد ایمینی درمانی با عنوان انتقال سلول انتخابی (Adoptive cell transfer:ACT) که به سرعت در حال ظهور است، جمع‌آوری سلول‌های ایمینی فرد بیمار و استفاده از آنها برای درمان سرطان است. سلول‌های T کایمیری بیان‌کننده گیرنده (Chimeric Antigen Receptor T-cell: CAR-T cell) نمونه‌هایی از درمان‌های ایمینی سلولی انتخابی (Adoptive Cellular Immunotherapies:ACI) هستند که خود زیرمجموعه‌ای از درمان‌های زیستی پیچیده (Complex Biological therapies:CBTs) هستند. برخلاف بسیاری از داروهای مرسوم، ACI‌ها، از جمله CAR-T cell‌ها، به‌عنوان داروی درمان‌کننده و نه تسکین‌دهنده - در نظر گرفته می‌شوند، به طوری که تنها یک یا چند بار باید مصرف شوند. لازم به تأکید است که، ویژگی ACI‌ها به مفهوم آن است که تنها یک زیرمجموعه کوچک از بیماران با هر سرطانی ممکن است برای درمان مناسب باشند، و هر ACI برای هر بیمار به صورت مجزا قابل استفاده است [۸].

اگرچه انواع متفاوتی از ACT‌ها وجود دارد اما تاکنون تنها یکی از آنها توسط سازمان غذا و دارو (Food and Drug Administration:FDA) تأیید شده است که درمان CAR سلول T نامیده می‌شود. همچنین، با آنکه تفاوت‌های مهمی بین این درمان‌ها وجود دارد، همه آنها در مؤلفه‌های مشابهی باهم اشتراک دارند. CAR بر روی سطح سلول از قطعات یا قلمروهای آنتی‌بادی‌های مصنوعی تشکیل شده است. قلمروهایی که استفاده می‌شوند، می‌توانند بر امر تشخیص و اتصال گیرنده به آنتی‌ژن سلول‌های توموری تأثیر بگذارند [۹].

چنانچه از نام CAR T cell برمی‌آید، ستون فقرات درمان، سلول‌های T هستند که نقش حیاتی در سازماندهی پاسخ ایمینی و از بین بردن سلول‌های آلوده به پاتوژن‌ها (هر ویروس، باکتری یا عامل دیگری که بیماری ایجاد کند) دارند. درمان، مستلزم گرفتن خون از بیماران و جداسازی سلول‌های T آنها دارد که در پی آن، با استفاده از ویروسی خلع سلاح شده، سلول‌های T به‌طور ژنتیکی برای تولید گیرنده‌های روی سطح آنها به نام گیرنده‌های کایمیری آنتی‌ژنی یا CAR‌ها مهندسی می‌شوند. این گیرنده‌های ویژه به سلول‌های T اجازه می‌دهند تا پروتئین یا آنتی‌ژن ویژه‌ای را بر روی سلول توموری شناسایی کرده و به آن اتصال یابند. پس از آن که سلول‌های T

سوی آنتی‌ژن، هدف پیچیده شدن این فرآیند را در پی داشت. برای فائق آمدن بر این مشکل از یک توالی اتصال دهنده استفاده شد که امکان خود اتصالی را برای قطعه متغیر زنجیره سبک و سنگین فراهم می‌کرد و بدین ترتیب تک‌زنجیره متغیر با عنوان scFv (Single Chain Variable Fragment) شکل می‌گرفت. در نتیجه با استفاده از این تک‌گیرنده دایمر، ویژگی سلول‌های T در شناسایی آنتی‌ژن هدف ارتقاء یافت [۵].

به این ترتیب، CAR T-cell‌ها به‌عنوان روشی درمانی برای رفع این چالش‌ها توسط پژوهشگران مطرح شدند. CAR‌ها پروتئین‌های مصنوعی و گذرنده از غشاءاند که به‌واسطه برنامه‌ریزی دوباره سلول‌های هدف، آنتی‌ژن‌های این سلول‌های سرطانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. با استفاده از فنون انتقال ژن می‌توان با کارآیی مناسب، ژن‌های کدکننده پروتئین‌های CAR را به سلول‌های ایمینی کارکردی در خلال این فرآیند ارائه کرد. در آن صورت، سلول‌های T مهندسی شده، دارای توانایی اتصال اختصاصی به آنتی‌ژن‌های هدف در سلول‌های سرطانی بدون کمک مولکول‌های MHC (Major Histocompatibility Complex) و فارغ از HLA خواهند بود. در خلال دهه‌های اخیر درمان‌های برپایه CAR T-cell‌ها انقلابی را در حوزه درمان انواع سرطان‌ها به وجود آورده است و نیز دستاوردهای ارزشمندی در درمان بدخیمی‌های خونی مانند لوسمی‌ها و لنفوماها و تومورهای جامد مشتمل بر نوروبلاستوما و گلیوبلاستوما را به ارمغان آورده است [۷۵].

### انتخاب آنتی‌ژن هدف مناسب

تا به امروز شاخصه‌های متعددی برای یک آنتی‌ژن توموری مناسب برای هدف‌گیری، معرفی شده است که یکی از مهم‌ترین موارد، بیان اختصاصی آن تنها بر روی سلول‌های توموری و نه سلول‌های طبیعی است. به‌علاوه پروتئین آنتی‌ژن هدف باید در رشد و بقای سلول‌های توموری نقش داشته باشد. از جمله این اهداف می‌توان به اپی‌توپ‌های حاصل از جابه‌جایی BCR/ABL در CML، جهش‌های شناخته شده در پروتئین p21/ras در بدخیمی‌های چندگانه و پروتئین‌های انکوژنی ویروسی مانند پروتئین HPV (Human Papilloma Virus) در سرطان دهانه رحم اشاره کرد. در واقع، اغلب آنتی‌ژن‌های نامزد دارای همه این ویژگی‌ها نیستند. عمده این آنتی‌ژن‌ها، پروتئین‌هایی فاقد جهش هستند که توسط سلول‌های سرطانی، نابجا و به میزان زیاد بیان می‌شوند. شایان تأکید است که بیان بالای این آنتی‌ژن‌ها در سلول‌های توموری نسبت به سلول‌های طبیعی موجب به‌دست آمدن سلول‌های T مناسب با میل ترکیبی بالا می‌شود که افزون بر شناسایی و تخریب سلول‌های بدخیم، بیان

سازه‌های متفاوتی از CARها گرایش پیدا کرده‌اند. CARها از یک بخش هدف گیرنده، یک قلمرو گذرکننده از غشاء و یک ناحیه درون سلولی تشکیل شده‌اند [۱۳].

بخش متغیر تک‌رشته با عنوان scfv به‌طور اختصاصی به ناحیه لولا مانند اتصال پیدا کرده و بخش هدف گیرنده پروتئین CAR را تشکیل می‌دهد. ناحیه درون سلولی نیز دارای یک موتیف با عنوان ITAM (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif) است که می‌تواند مشتمل بر زنجیره CD3 $\zeta$  باشد. براساس تفاوت‌های موجود در قلمرو پیام‌رسان درون سلولی CART-cellها را به نسل اول، دوم، سوم و چهارم رده‌بندی می‌کنند.

الف. نسل نخست که تنها شامل scfv و ITAM بوده و فعال شدن و تکثیر سلول‌های T دارای نرخ پایینی است. از این رو کشندگی کوتاه مدت و کارایی کمی علیه سلول‌های توموری دارند.

ب. نسل دوم که برای افزایش کارآمدی ایجاد شدند که بیان کننده مولکول‌های تحریک کننده همزمان CMs (Co-stimulatory molecules) در قلمرو درون سلولی پروتئین‌های CAR هستند. این سلول‌ها دارای یکی از انواع CMها مانند CD<sub>20</sub> یا CD<sub>137</sub> هستند و میزان تکثیر و گسترش آنها افزایش یافته و افزون بر بهبود کارکرد کشندگی، پایداری بیشتری را در خود نشان می‌دهند.

ج. نسل سوم از CARها نیز به دلیل وجود CMهای متنوع در ساختارشان از توان تکثیر، پایداری و کارایی بالایی در ساختارشان برخوردارند (شکل ۲).

د. در نسل چهارم از CAR T-cellها که TRUCK (T cells redirected for universal cytokine killing) می‌شوند، دستکاری‌های ژنتیکی بیشتری شکل گرفته است که قادر به بیان لیگاند‌های سلول T تکثیرشونده با قابلیت تحریک همزمان (4-1 BBL) و یا سیتوکین‌های پیش‌التهابی (IL-2) هستند [۱۴]. بلافاصله پس از شناسایی آنتی‌ژن روی سلول‌های توموری، نسل چهارم CAR T-cellها شروع به ترشح مقدار زیادی از پرفورین‌ها، آنزیم‌ها و عوامل نکروزکننده تومور TNF (Tumor necrosis factor) می‌کند و بدین ترتیب به آپوپتوز سلول‌های توموری منجر می‌شود. سلول‌های TRUCK در مقایسه با سه نسل پیشین، دارای مزایای بیشتری در اعمال اثر بر سلول‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی در ریزمحیط پیرامون تومور هستند و بنابراین، از قدرت تخریب بالاتری برخوردارند [۱۵].

جمع آوری شده برای بیان آنتی‌ژن ویژه CAR مهندسی شدند، در آزمایشگاه به صدها میلیون نسخه تکثیر می‌شوند. مرحله نهایی تزریق سلول‌های CAR T به بیمار است. چنانچه همه چیز به درستی و به نحو برنامه‌ریزی شده پیش رود، سلول‌های مهندسی شده در بدن بیمار چند برابر می‌شوند و با هدایت گیرنده‌های مهندسی شده خود، سلول‌های سرطانی که آنتی‌ژن را روی سطح خود حمل می‌کنند شناسایی کرده و از بین می‌برند [۱۰].

گیرنده‌های کایمری مورد اشاره در بالا، ابتدا به شکل cdDNAهای کایمری ساخته شده و دست‌ورزی مناسب می‌شوند، به گونه‌ای که قادر به شناسایی مولکول‌های ویژه در سطح سلول‌های توموری بوده و با ایجاد پیام مشخصی به فعال شدن سلول‌های T مرتبط منجر شوند. از جمله مزایای این فناوری آن است که برخلاف گیرنده‌های  $\alpha\beta$  سلول‌های T (TC Cell Receptor: TCR) گیرنده‌های از نوع CAR به صورت مستقیم و بدون ایجاد محدودیت توسط عوامل چندشکل (Polymorphic) ارائه دهنده آنتی‌ژن مانند HLA قادر به شناسایی آنتی‌ژن‌ها هستند [۱۱].

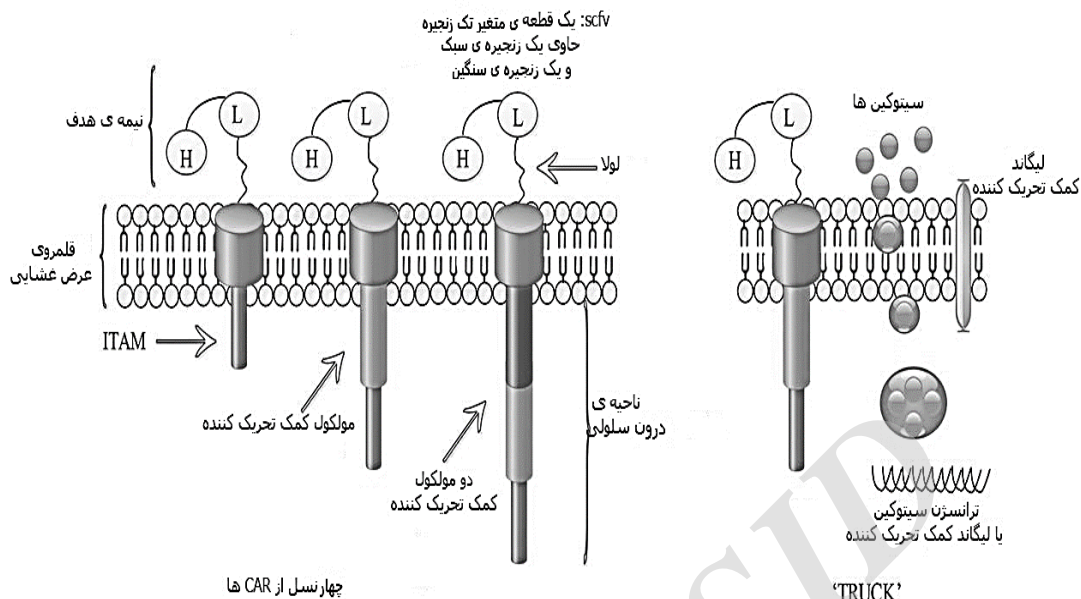
گیرنده‌ها برای کارکرد خود به پیام‌های تحریک کننده از درون سلول وابسته هستند. بنابراین هر CAR T cell دارای قلمروهای پیام‌رسانی و «کمک- تحریکی» درون سلول است که پیام را از گیرنده سطحی دریافت می‌کند. قلمروهای متفاوتی که استفاده می‌شوند می‌توانند کارکرد کلی سلول را تحت تأثیر قرار دهند.

مزایای راهکار درمانی ایمنی شناختی را می‌توان در سه مورد زیر خلاصه کرد [۱۲]:

1. عدم وابستگی CAR T-cellها به مولکول‌های HLA. این رو می‌توان از یک نوع CAR برای همه بیماران با بیان یک نوع آنتی‌ژن خاص بهره برد.
2. توانایی سلول‌های بدخیم در ایجاد اختلال در بیان آنتی‌ژن‌ها در سطح سلول‌هایشان و گریز از پاسخ سیستم ایمنی. بدین ترتیب که CAR T-cellها بدون توجه به این فرآیند همچنان قادر به شناسایی سلول‌های توموری هستند.
3. امکان هدف‌گیری طیف وسیعی از ماکرومولکول‌ها مانند پروتئین، کربوهیدرات‌ها و گلیکولیپیدها توسط CAR T-cellها.

### ساختار، مزایا و معایب هر یک از نسل‌های CAR

در خلال سال‌های اخیر، بسیاری از پژوهشگران به ساخت



شکل ۲. CAR T cell ها بر اساس قلمروهای پیام‌رسان

امروزه شمار آنتی‌ژن‌های شناسایی شده، هدفی برای CAR T cell‌های در حال افزایش است که از جمله آن‌ها می‌توان به MUC1 (Mucin antigen) و CEA (Carcinoembryonic antigen) اشاره کرد که در طیف گسترده‌ای از کارسینوماها دست‌خوش افزایش بیان می‌شوند. از دیگر آنتی‌ژن‌هایی که تحت هدف CAR T cell‌ها قرار می‌گیرند، گیرنده عامل رشد اندوتلیال عروق VEGFR<sub>2</sub> است که میزان بیان آن در عروق تومور افزایش می‌یابد. سیاهه شماری از درمان‌های بدخیمی‌های خونی با استفاده از CAR T cell‌ها در جدول ۱ خلاصه شده است [16].

درون سلولی به چهار نسل رده‌بندی می‌شوند: نسل اول CARها تنها شامل یک قلمرو پیام‌رسانی هستند که برای رفع این کمبود از دو گیرنده که همزمان تحریک می‌شوند مانند CD28 یا 4-1BB در نسل دوم CARها استفاده شده است. نسل سوم CARها شامل دو قلمرواند که همزمان تحریک می‌شوند که معمولاً هر دو CD28 و 4-1BB یا CD134(OX40) تحریک می‌شوند. نسل چهارم CAR T cell‌ها با عنوان TRUCK نیز ارائه شده است که با افزودن ژن‌های جدید شامل ژن‌های کدکننده 4-1BBL و با سیتوکین‌های پیش التهابی مانند IL-12 طراحی شده‌اند.

جدول ۱. درمان بدخیمی‌های خونی توسط CAR T cell‌ها

منابع	کارآزمایی‌های بالینی یا پیش‌بالینی (در شرایط <i>in vivo</i> یا <i>in vitro</i> )	بیماری	آنتی‌ژن‌ها
NCT00679439	<i>in vitro</i>	لنفوما	TRAIL receptor 1
NCT00881920	کارآزمایی بالینی	Lymphoma	Kappa
NCT02315612	کارآزمایی بالینی	FL, لوکمی لنفوبلاستی حاد NHL,	CD22
NCT02267453	<i>in vitro</i>	لوکمی	HA-1 H
NCT02203825	کارآزمایی بالینی	لوکمی	NKG2D
NCT01722149	کارآزمایی بالینی	B-cell لوکمی لنفوبلاستی مزمن	FAP
NCT02194374	کارآزمایی بالینی	لوکمی لنفوبلاستی مزمن	ROR1
NCT01764535	<i>in vitro</i>	MM	CD138
NCT01886976	کارآزمایی بالینی	MM	
NCT01738673	<i>in vivo</i>	MM	NY-ESO-1
NCT01716364	کارآزمایی بالینی	MM	Lewis Y

FAP, fibroblast activation protein; NY-ESO-1, New York-oesophageal-1; ROR1, receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 1; TRAIL receptor 1, TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor 1.



تخلیص گروه ویژه‌ای از لنفوسیت‌های T و طراحی مناسب آنها ارائه شده است [۱۹].

سلول‌های بنیادی خاطره T، سلول‌های قطبی کمک تحریکی (Th17 polarized cells) Th17 (co-stimulated) سلول‌های T خاطره ویژه و ویروس نیز به‌عنوان جمعیت‌های مطلوب دارای قدرت تکثیر بالا برای مطالعات معرفی می‌شوند. یکی از عوامل تأثیرگذار در پیوند، انتقال و تکثیر CAR T cellها در بدن میزبان، استفاده از شیمی درمانی و تخلیه لنفها پیش از عمل ادغام CAR T cellها است. این وضعیت، در واقع فضای مناسبی برای تکثیر و گسترش سلول‌های T منتقل شده ایجاد می‌کند و میزان رقابت برای زنجیره گامای سیتوکین‌های IL-7، IL-15 را محدود کرده، بدن میزبان را از سلول‌های تنظیمی تخلیه کرده و سیستم ایمنی ذاتی را فعال می‌کند. با این وجود، عود دوباره سلول‌های توموری که فاقد بیان آنتی‌ژن CD19 هستند به‌عنوان چالشی بزرگ باقی مانده است [۱۹].

هدف‌گیری چندین آنتی‌ژن بر روی تومورها می‌تواند به افزایش شانس موفقیت روش درمانی مربوطه منجر شود. به عبارت دیگر، به نظر می‌رسد ترکیب انواع CARها با ویژگی‌های متفاوت یا استفاده از CARهای متنوع به شکل متوالی که قادر به شناسایی ۲ آنتی‌ژن هستند، می‌تواند عود دوباره را سرکوب کند. اگرچه اثبات این فرضیه مطالعه بیشتری را می‌طلبد.

با این که تومورهای جامد اهداف مناسبی برای درمان‌های برپایه CAR T cellها محسوب نمی‌شوند اما گزارش‌های حاصل از آزمون‌های بالینی و پیش‌بالینی از پیشرفت‌هایی در این زمینه پشتیبانی می‌کند (جدول ۲).

تومورهای جامد بسیار چالش برانگیز هستند، ریزمحیط پیرامون آنها نسبت به پذیرش سلول‌های دیگر بسیار مقاوم است و به کاهش کارکرد چشمگیر و ممانعت از نفوذ لنفوسیت‌های T منجر می‌شود. پیشرفت‌های فنی برای ارتقاء کارکرد نفوذ و بقای لنفوسیت‌های T درون تومورهای جامد مورد نیاز است که شامل راهکارهایی برای افزایش شمار سلول‌های T نفوذ کننده، افزایش مقاومت سلول‌های T به خصوصیت سرکوب کننده ایمنی ریزمحیط پیرامون تومور و استفاده از سایر عوامل ایمنی کمک کننده به سلول‌های T است. به‌عبارت دیگر، لازم است که سلول‌های T دارای توانایی در غلبه بر خصوصیات محیطی مانند تنش اکسیداتیو و هیپوکسی باشند و از سوی دیگر بتوانند با استفاده از سلول‌های سرکوبگر ایمنی و عوامل و سازوکارهای درونی تنظیم منفی سلول‌های T مانند افزایش بیان گیرنده‌های مهاری، پایداری خود را درون بدن میزبان حفظ کنند.

چالش‌های اشاره‌شده در بالا، پژوهشگران را بر آن داشت

## مبارزه با سرکوب سیستم ایمنی

ریزمحیط تومور (Tumor Microenvironment: TME) از اجزاء سلولی و مولکولی متفاوتی تشکیل شده است که به کاهش قدرت سیستم ایمنی علیه تومور منجر می‌شود و بر روی فعالیت CAR T cellها نیز اثر می‌گذارد. سیتوکین‌های سرکوب کننده تومور مانند TGF- $\beta$  و IL-10 نه تنها از سلول‌های توموری بلکه از سلول‌های سرکوب کننده سیستم ایمنی در ریزمحیط پیرامون تومور نیز ترشح می‌شوند و قادر به منحرف ساختن سیستم ایمنی و جلوگیری از یک پاسخ ایمنی قوی هستند. برای غلبه بر این امر، در ریزمحیط پیرامون تومور از لنفوسیت‌های T ویژه‌ای مانند سلول‌های T «زره پوش» (Armored T cells) یا TRUCKs استفاده می‌شود. این CAR T cellها به گونه‌ای طراحی شده‌اند که سیتوکین‌های پیش‌التهابی را ترشح کنند که در ریزمحیط پیرامون تومور بهتر عمل می‌کنند. به طور اختصاصی بیان هم‌زمان تک‌زنجیره IL-12 و CAR T cell به عقب‌نشینی تومورها به واسطه اختلال در ریزمحیط پیرامون تومور می‌انجامد [17].

## عوامل تأثیرگذار بر میزان کارایی درمان‌های برپایه CAR T cellها

با وجودی که هر یک از روش‌های درمانی بر پایه CAR T cellها دارای مزایا و معایب ویژه خود هستند، گزارش‌های بالینی اشاره بر آن دارند که میزان گسترش و تکثیر CAR T cellها در بدن میزبان و پایداری آنها پس از انتقال، عوامل اصلی برای پاکسازی کارآمد سرطان مربوطه است. میزان کارکرد CAR T cellها به شکل *in vivo* به عوامل متعددی وابسته است که مهم‌ترین آنها، نحوه طراحی CARها است.

نوع تومور و ریزمحیط پیرامون آن، رژیم غذایی و شرایط فرد پذیرنده از عوامل دیگر اجزای تشکیل دهنده سلول‌های T منتقل شونده هستند. نسل سوم CAR T cellها شامل قلمروهای فعال کننده CD28-4-1BB یا CD28-OX40 به شکل ترکیبی بوده و فعال شدن مداوم لنفوسیت‌های T را نشان می‌دهند، اگرچه لازم است میزان تأثیرگذاری آنها توسط آزمون‌های بالینی سنجیده شود [۱۸].

ظرفیت تکثیری CAR T cellها در شرایط *in vivo* به اجزای تشکیل دهنده لنفوسیت T ادغام شونده در میزبان وابسته است.

لنفوسیت‌های T دارای فنوتیپ خاطره که دارای تلومراز بلندتر و نرخ تقسیم بالاتر نسبت به سلول‌های T تمایز یافته هستند، از پایداری و کارکرد دراز مدت برخوردارند. به‌منظور کنترل بهتر فنوتیپ سلول T منتقل شده، روش‌هایی برای

تا در سال ۲۰۱۴، نوعی CAR تحت عنوان TRUCK و Armored CAR ابداع کنند که قادر به بیان گیرنده‌های سیتوکین و کموکاین هستند. این سلول‌ها قادر به بیان کاتالاز برای محافظت CAR T cell در برابر تنش اکسیداتیو و هیپراناز برای ارتقاء نفوذ سلول‌های T به استرومای تومور هستند [۲۰].

جدول ۲. هدف‌گیری آنتی‌ژن‌های تومورهای جامد توسط CAR T cellها

منابع	کارآزمایی‌های پیش‌بالینی یا بالینی (در شرایط <i>in vivo</i> یا <i>in vitro</i> )	بیماری‌ها	آنتی‌ژن‌ها
NCT00976565	<i>in vitro</i>	Osteosarcoma	HER2
NCT00978678	<i>in vitro</i>	Breast cancer	
NCT00902044	کارآزمایی بالینی	Sarcoma	
NCT00924287	کارآزمایی بالینی	Metastatic cancer	
NCT01109095	کارآزمایی بالینی	Glioblastoma	
NCT01935843	کارآزمایی بالینی	Solid tumours	
NCT00635284	<i>in vivo</i>	Colorectal cancer	CEA
NCT00673322	کارآزمایی بالینی	Colorectal cancer	
NCT00673829	کارآزمایی بالینی	Breast cancer	
NCT01373047	کارآزمایی بالینی	Liver metastases	
NCT01723306	کارآزمایی بالینی	Metastatic cancers	
NCT02336468	<i>in vivo</i>	Melanoma, breast carcinoma	CSPG4
NCT02338473	<i>in vivo</i>	Glioblastoma	EphA2
NCT00954645	<i>in vivo</i>	Ovarian cancer	FR
NCT00977783	<i>in vivo</i>	Osteosarcoma	IL-11R $\alpha$
NCT02337584	کارآزمایی پیش‌بالینی	Glioblastoma	IL-13R $\alpha$ 2
NCT02208362	کارآزمایی بالینی	Malignant glioma	
		Refractory brain neoplasm	
		Recurrent brain neoplasm	
NCT02337893	کارآزمایی پیش‌بالینی	Glioma	IL-13R
NCT02311621	کارآزمایی بالینی	Neuroblastoma	CD171
NCT01869166	کارآزمایی بالینی	Advanced EGFR-positive solid tumours	EGFR
NCT02331693	کارآزمایی بالینی	Advanced glioma	

CSPG-4, chondroitin sulfate proteoglycan-4; EGFR, epidermal growth factor receptor; EphA2, Eph tyrosine kinase receptor A2; FR, folate receptor; HER2, human epidermal growth factor receptor 2

در مورد CRS، انتشار سریع و گسترده سیتوکین‌ها به جریان خون رخ می‌دهد که می‌تواند به تب خطرناک بالا و کاهش شدید فشار خون منجر شود. در بسیاری از بیماران اعم از کودک یا بزرگسال، CRS را می‌توان با درمان‌های حمایتی استاندارد، از جمله استروئیدها مدیریت کرد. به موازات کسب تجربه بیشتر توسط پژوهشگران در درمان CAR T cell، آنان آموخته‌اند که چگونه موارد جدی تر CRS را مدیریت کنند.

### عوارض جانبی درمان با CAR T cell

مانند عموم درمان‌های سرطانی، درمان با CAR T cell می‌تواند موجب بروز چند عارضه جانبی نگران‌کننده یا حتی مرگبار شود که یکی از رایج‌ترین آنها نشانگان انتشار سیتوکین (-Cytokine release Syndrome: CRS) است. سلول‌های T به‌عنوان بخشی از وظایف مربوط به ایمنی، سیتوکین (پیام‌های شیمیایی که به تحریک و هدایت پاسخ ایمنی کمک می‌کنند) ترشح می‌کنند.

را در این سلول‌ها ایجاد می‌کنند. سرانجام، این لنفوسیت‌های T اتولوگ دارای مجموعه گیرنده آنتی‌ژنی تغییر یافته با عنوان CAR ساخته می‌شوند. سپس لازم است که CAR T cell ها در محیط آزمایشگاه انکوبه (گرمخانه‌گذاری) شوند و پس از تکثیر، آن‌ها را دوباره به بدن بیمار بازگرداند. اگرچه باید توجه داشت که این فرآیند مستلزم آن است که فرد پذیرنده، پیش از آن در خلال دریافت درمان‌های شیمیایی، لنفوسیت‌های طبیعی خود را از دست داده باشد تا از کاهش تأثیرگذاری و کارایی CAR T cell ها ممانعت شود. سلول‌های T مهندسی شده بیان کننده این پروتئین‌های CAR، به واسطه قلمرو آنتی‌بادی برون سلولی خود علیه آنتی‌ژن‌های سطح سلول‌های توموری وارد عمل می‌شوند و بدین ترتیب موجب فعال شدن سلول‌های T بدون وابستگی به مجموعه MHC می‌شوند. سرانجام می‌توان گفت که CAR T cell ها قادر به تحریک پاسخ ایمنی بدون عوارض جانبی منفی حاصل از GVHD هستند [24].

سایر اصلاحات CAR T cell ها نیز نیازمند بررسی است. یک رویکرد، توسعه درمان‌هایی بر پایه CAR T cell ها است که از سلول‌های ایمنی جمع آوری شده از اهدا کنندگان سالم - و نه بیماران - استفاده می‌کند. از مزیت‌های این نوع درمان می‌توان به در دسترس بودن سریع آن برای استفاده اشاره کرد و اینکه نیازی به ساخت دوباره برای هر بیمار ندارد.

روش‌های متعدد دیگری نیز بررسی شده‌اند. برای نمونه، پژوهشگران از فناوری نانو برای انتقال CAR T cell ها به درون بدن استفاده می‌کنند، رویکردی که CAR T cell های دارای «سوئیچ خاموش» را به‌عنوان وسیله‌ای برای جلوگیری یا محدود کردن عوارض جانبی، از جمله نشانگان انتشار سیتوکین (CRS) و استفاده از فناوری ویرایش ژنوم CRISPR / Cas9 برای سلول‌های T که به صورت دقیق‌تری مهندسی شده‌اند فراهم می‌کند [25].

### ارتباط CAR T cell و CRISPR/Cas9

ایجاد تغییرات چندگانه ژنوم یکی از جذاب‌ترین کاربردهای سیستم CAR T cell است که به‌عنوان فنی کارآمد برای ارتقاء ایمنی درمان‌های بر پایه سلول‌های T به حساب می‌آید. با این وجود کارایی پایین فرآیند ترانسفکشن DNA در هدف‌گیری ژن‌ها کارکرد فناوری‌های ایجاد کننده تغییرات چندگانه در سلول‌های T اولیه را محدود کرده است [26].

بر اساس مطالعات بالینی در سال 2017، برای تخلیص با نرخ 99 درصد ژن‌های کدکننده CAR T cell ها، به راحتی می‌توان از گوی‌های مغناطیسی استفاده کرد. سلول‌های T مهندسی ژنتیک شده هیچ گاه GVHD را بروز نمی‌دهند و به همین علت می‌توان از آنها به‌عنوان CAR T cell های آلوتنیک استفاده کرد. نکته قابل توجه توانایی لنفوسیت‌های T تغییر یافته هم در حالت *vitroin* و هم در الگوهای موشی مبتلا، برابر

یکی دیگر از عوارض جانبی بالقوه درمان CAR T cell مرگ بسیاری از سلول‌های B است که به نام آپلازیسلول B (B-cell aplasia) شناخته می‌شود. CD19 بر روی سلول‌های B طبیعی که مسئول تولید آنتی‌بادی‌هایی هستند که پاتوژن‌ها را از بین می‌برند نیز بیان می‌شود. این سلول‌های طبیعی B اغلب توسط CAR T cell های القا شده از بین می‌روند. برای جبران، بسیاری از بیماران باید درمان ایمونوگلوبولین را دریافت کنند، که آنتی‌بادی لازم برای مبارزه با عفونت را فراهم می‌کند [21].

به تازگی در سال 2017، یکی دیگر از عوارض جانبی جدی و بالقوه کشنده که در برخی از آزمون‌های انجام گرفته برای حمایت از تأیید بالینی FDA در درمان‌های بر پایه CAR T cell ها در مورد بیماران مبتلا به لوکمی پیشرفته مشاهده شده است، تورم در مغز و یا ادم مغزی است. با این حال، به نظر می‌رسد این مشکل تا حد زیادی برطرف شده است [22].

### توسعه فناوری CAR T cell

بر اساس اغلب مطالعات انجام گرفته می‌توان گفت که CAR T cell ها به‌عنوان یک دارو بلکه مانند یک فرآیند پیچیده درمانی عمل می‌کنند. با این که اغلب عوامل تعریف شده پیشین در حوزه ایمنی شناختی انکولوژی مانند اینترفرون‌ها، اینترلوکین‌ها و مهارکننده‌های نقاط بازرسی چرخه سلولی را می‌توان تحت عنوان داروهای اختصاصی درمان اطلاق کرد؛ اما CAR T cell ها از لحاظ کارکردی شباهت بسیاری با فرآیند پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز (Hematopoietic Stem Cell Transplantation: HSCT) دارند. در واقع منشأ مفهوم CAR T cell ها از پیوند آلوتنیک مغز استخوان (Bone Marrow Transplantation: BMT) در لوکمی لنفوبلاستی حاد گرفته شده است.

در سالیان گذشته، مشاهده عود دوباره بیماران پس از پیوند مغزاستخوان و ابتلای آن‌ها به بیماری رد پیوند (Graft Versus Host Disease: GVHD)، پژوهشگران را نسبت به این موضوع آگاه ساخت که سلول‌های T پیوند زده شده برای شناسایی لنفوبلاست‌های بدخیم میزبان قادر به کنترل دراز مدت بیماری هستند. بر این اساس فرضیه‌ای ارائه شد که اگر بتوان سلول‌های T اتولوگ را به گونه‌ای برنامه‌ریزی و دستکاری کرد تا سلول‌های سرطانی و بدخیم را از طریق آنتی‌ژن‌های ویژه تومور شناسایی کنند، می‌توان روند پیشروی تومور را به‌عنوان عوارض جانبی حاصل از GVHD کنترل کرد [23].

بدین ترتیب ابتدا توسط آفرزیس (Apheresis) سلول‌های T را از بدن فرد بیمار جدا می‌کنند. سپس در محیط *in vitro* تحت تیمار مواد شیمیایی ویژه قرار می‌دهند و در پی آن توسط اتصال قلمرو برون سلولی شناساگر آنتی‌ژن به دست آمده از قطعه آنتی‌بادی مونوکلونال به قلمرو پیام‌رسانی درون سلولی لنفوسیت‌های T، توانایی شناسایی آنتی‌ژن‌های اختصاصی تومور

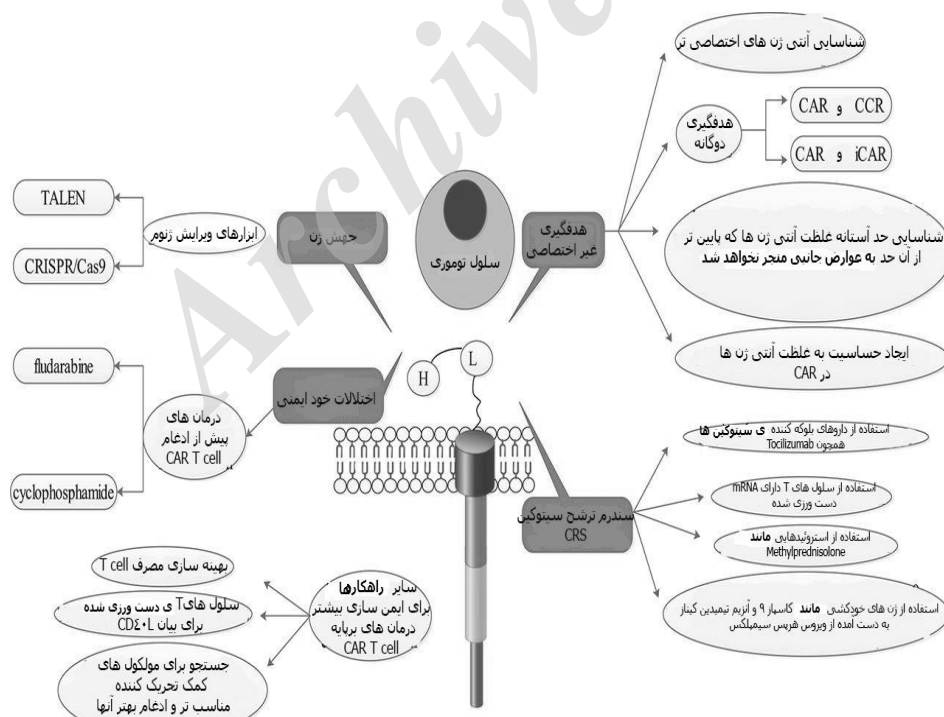


cellهای تغییر یافته توسط CRISPR/Cas9 در مرحله بالینی و درمان بیماران می‌توان توسط فنون توالی‌یابی گسترده از تغییرات و عدم وجود جهش‌های ناخواسته اطمینان حاصل کرد. به عبارت دیگر، لازم است که یکپارچگی ژنوم CAR T cellها را پیش از استفاده از آنها در درمان‌های بالینی انسان بررسی و تأیید کرد. برای نمونه، نوعی CAR T cell عمومی با عنوان Universal (U CAR T cell) توسط فن TALEN به وسیله جایجایی کروموزومی در این نوع CAR T cell گرفته شده از سه فرد دهنده متفاوت ابداع شده است که هیچ گونه بازآرایی کروموزومی را نشان نمی‌دهد [28].

ارزش درمانی مهار کردن سرکوب‌کننده سیستم ایمنی با عنوان PD-1 به واسطه مهار آن در CAR T cellهای نفوذکننده به تومورهای جامد و سرکوب ژن‌های سه گانه TCR, B2M, PD-1 در تومورهای لوکمی مشخص شده است. یکی از محدودیت‌های بالقوه در رابطه با غیرفعال کردن این سه ژن در CAR T cellها امکان تحریک سلول‌های کشنده طبیعی و پس زدن سلول‌های T تغییر یافته است. می‌توان با استفاده از شیمی درمانی پیش از این فرآیند برای تخلیه بدن میزبان از لنفوسیت‌ها یا با استفاده از آنتی‌بادی‌هایی علیه سلول‌های کشنده طبیعی برای از بین رفتن این سلول‌ها از میزان پس زده شدن CAR T cellهای منتقل شونده به بدن میزبان توسط این عامل کاست (شکل 3) [29].

سلول‌های T طبیعی است. در مطالعات پیشین گزارش شده است که می‌توان لنفوسیت‌های T را توسط فناوری‌های تغییر دهنده ژنوم مانند CRISPR/Cas9 از لحاظ ژنتیکی مهندسی کرد. این فنون، در واقع بیان گیرنده‌های درونی لنفوسیت‌های T را توسط هدف گرفتن زنجیره‌های  $\alpha$  و  $\beta$  آن‌ها تحت تأثیر قرار داده و مانع بروز GVHD می‌شوند [27 و 28].

از آنجا که ایجاد اختلال در ژن‌های سلول‌های T توسط ناقلین لنتی‌ویروسی و آدنوویروسی از کارایی کافی برخوردار نیست، پژوهشگران با استفاده از روش آلوده‌سازی هسته توسط اجزاء CRISPR در سلول‌های CD4 T میزان کارایی تغییر ایجاد شده را افزایش دادند. اگرچه سمیت ایجاد شده حاصل از این فرآیند، استفاده از آن را محدود ساخته است. پژوهش‌ها نشان داده است که از کار افتادن ژن HLA-1 به کاهش چشمگیر حساسیت سیستم ایمنی به سلول‌های T آلوژنیک منجر می‌شود و از پس زدن سریع CAR T cellهای منتقل شده توسط میزبان ممانعت می‌کند. با این وجود، بررسی GVHD و پاسخ ایمنی میزبان توسط الگوهای موشی با نقص ایمنی در لنفوسیت‌های T انسانی را نمی‌توان به طور قطع به رخدادهای حاصل از پیوند آلوژنیک در انسان بسط داد. به همین دلیل در آینده می‌توان آزمون‌های دقیق‌تری بر روی پرمات‌های غیرانسان انجام داد تا بتوان میزان امنیت کاربرد این سلول‌ها را برای مهار سیستم ایمنی بدن فرد پذیرنده تأیید کرد. پیش از استفاده از CAR T



شکل 3. راهکارهایی برای غلبه بر انواع چالش‌های پیش رو در استفاده از CAR T cellها: ایجاد سمیت نابجا، CRS، جهش ژنی، اختلالات

خودایمنی که می‌تواند به ساخت CAR T cellهایی با کارایی بیشتر بیانجامد.

همه، شایان تأکید است که برای دستیابی به پاسخ ایمینی مؤثر در برابر بدخیمی و با عنایت به امکان ایجاد تغییرات و دستکاری‌های مناسب ژنتیکی، بسیاری از این نیازها را برطرف ساخته است. بدین ترتیب تمرکز پژوهش‌های آتی بر روی این دست‌ورزی‌های ژنتیکی خواهد بود. سرانجام، این پیشرفت‌ها تأثیر بسزایی بر روی کیفیت زندگی افراد مبتلا خواهد گذاشت. بدون تردید درمان‌های برپایه CAR T cell پیشاپیش، نه تنها افق‌های جدیدی را در درمان انواع بدخیمی‌ها گشوده است، بلکه به عنوان نقطه آغاز درمان‌های فردی مانند سلول درمانی افراد براساس ویژگی‌های هدف درمان می‌توان روی آن حساب ویژه‌ای باز کرد.

اگرچه به نظر می‌رسد که درمان‌های برپایه CAR T cell به‌عنوان روش درمانی بسیار قدرتمند در آینده‌ای نه چندان دور، روش‌های درمانی سرطان را متحول خواهد کرد، اما بسیاری از جنبه‌های زیستی این حوزه مانند بهینه‌سازی طراحی پروتئین‌های CAR، هدف‌گیری دقیق آنتی‌ژن، روش‌های ساخت سلول و افزایش امنیت درمان‌های برپایه CAR T cell به پژوهش و مطالعه بیشتری نیازمند است. در این راستا، چندین مانع در برابر کارایی حداکثری این روش درمانی باقی مانده است که از جمله می‌توان بر درمان تومورهای جامد، هتروژنی سلول‌های توموری، از بین رفتن و اختلال در بیان آنتی‌ژن‌های سطح تومور و ریزمحیط سرکوب‌کننده سیستم ایمینی پیرامون تومور اشاره کرد. با این

## References

- [1]. Ruella M, Kalos M. Adoptive immunotherapy for cancer. *Immunological reviews*. 2014; 257(1): 14-38.
  - [2]. Noori-Dalooi MR, Tabarestani S. Molecular Genetics and gene therapy in breast cancer. *The Journal of Faculty of Medicine, Sabzevar University of Medical Science*. 2010; 17: 74-87. [in Persian]
  - [3]. Noori-Dalooi MR, Zekri A. Aurora kinase family roles in cancer diagnosis and treatment. *Medical Science Journal of Islamic Azad University*. 2011; 21: 17-81. [in Persian]
  - [4]. Noori-Dalooi MR. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran, Iran: Samer Publication; 2012. (in Persian)
  - [5]. Noori-Dalooi MR, ed. Emery's elements of medical genetics. 8th ed. Tehran, Iran: Jame-e-negar and Salemi Publication; 2017. (in Persian)
  - [6]. Immunotherapy. *Experimental biology and medicine*. 2015; 240(8): 1087-1098.
  - [7]. Noori-Dalooi MR, Ebrahimzadeh-Vesal R. Telomerase and its inhibition in cancer, prevention and gene therapy in prostate cancer. *Razzi J* 1999; 11: 11-112. [in Persian]
  - [8]. Suryadevara, Carter M, et al. Are BiTEs the "missing link" in cancer therapy? *Oncoimmunology*. 2015; 4(6): e1008339.
  - [9]. Miao, Hongsheng, et al. EGFRvIII-specific chimeric antigen receptor T cells migrate to and kill tumor deposits infiltrating the brain parenchyma in an invasive xenograft model of glioblastoma. *PLoS One*. 2014; 9(4): e94281.
  - [10]. Firor A.E, Jares A, Ma Y. From humble beginnings to success in the clinic: chimeric antigen receptor-modified T-cells and implications for immunotherapy. *Experimental biology and medicine*. 2015; 240(8) 1087-1098.
  - [11]. Pircher M, Schirrmann T, Petrusch U. T cell engineering. *Immuno-Oncology*. Vol. 42. Karger Publishers. 2015; 110-135.
  - [12]. Dai H, et al. Chimeric antigen receptors modified T-cells for cancer therapy. *Journal of the National Cancer Institute*. 2016; 108(7): djv439.
  - [13]. Beatty G.L, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce antitumor activity in solid malignancies. *Cancer immunology research*. 2014; 2(2): 112-120.
  - [14]. Smith A.J, et al. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for malignant cancers: Summary and perspective. *Journal of Cellular Immunotherapy*. 2016; 2(2): 59-68.
  - [15]. Gargett T, et al. GD2-specific CAR T cells undergo potent activation and deletion following antigen encounter but can be protected from activation-induced cell death by PD-1 blockade. *Molecular Therapy*. 2016; 24(6): 1135-1149.
  - [16]. Van Der Stegen SJ, Hamieh M, Sadelain M. The pharmacology of second-generation chimeric antigen receptors. *Nature reviews. Drug discovery*. 2015; 14(7): 499.
  - [17]. Noori-Dalooi MR, Fazilaty H, Tabrizi M. Cancer metastasis, genetic and microenvironmental factors of distant tissue: A review article. Tehran University of Medical Science. 2013; 70(11).
  - [18]. Grada Z, et al. TanCAR: a novel bispecific chimeric antigen receptor for cancer immunotherapy. *Molecular Therapy-Nucleic Acids*. 2013; 2.
  - [19]. Neelapu SS, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy – assessment and management of toxicities. *Nature Reviews Clinical Oncology*; 2017: nrclinonc-2017.
- APA
- [20]. Chmielewski M, Hombach A.A, Abken H. Of CARs and TRUCKS: chimeric antigen receptor (CAR) T cells engineered with an inducible cytokine to modulate the tumor stroma." *Immunological reviews*. 2014; 257(1): 83-90.
  - [21]. Philip B, et al. A highly compact epitope-based marker/suicide gene for easier and safer T-cell therapy. *Blood*. 2014; 124(8): 1277-1287.
  - [22]. Ren J, et al. Multiplex genome editing to generate universal CAR T cells resistant to PD1 inhibition. *Clinical Cancer Research*. 2017; 23(9): 2255-2266.
  - [23]. Whilding L.M, et al. Targeting of Aberrant  $\alpha\beta 6$  Integrin Expression in Solid Tumors Using Chimeric Antigen Receptor-Engineered T Cells. *Molecular Therapy*. 2017; 25(1): 259-273.
  - [24]. Rupp L.J, et al. CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances anti-tumor efficacy of human chimeric antigen receptor T cells. *Scientific Reports*. 2017; 7(1): 737.
  - [25]. Eyquem J, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection. *Nature*. 2017; 543(7643): 113-117.

- [26]. Jacoby E, et al. Murine allogeneic CD19 CAR T cells harbor potent antileukemic activity but have the potential to mediate lethal GVHD. *Blood*. 2016; 127(10): 1361-1370.
- [27]. Feinberg B.A, et al. CAR-T cells: the next era in immunology. *The American journal of managed care*. 2017; 23(2) Spec No: SP48.
- [28]. Harris D.T, Kranz D.M. Adoptive T cell therapies: a comparison of T cell receptors and chimeric antigen receptors. *Trends in pharmacological sciences*. 2016; 37(3): 220-230.
- [29]. Huang, A.C, et al. T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response. *Nature*. 2017; 545(7652): 60-65.

Archive of SID

## Immunotherapy using engineered T-cells (CARs): A significant evolution in modern medical biotechnology

Mohammad Reza Noori-Dalooi<sup>1\*</sup>, Nazanin Rahimi Rad<sup>2</sup>, Saeedeh Kavosi<sup>2</sup>

1. Professor, PhD of Medical Molecular Genetics, Department of Medical Genetics, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. MSc in Molecular Genetics

### Abstract

Chimeric antigen receptor- (CAR-) based immunotherapies (CARs), as one of the newest methods for immunotherapy, have heralded a new era of treating cancer. When the CAR is derived from an antibody, the resultant cell should combine the desirable targeting features of an antibody (e.g. lack of requirement for major histocompatibility complex recognition, ability to recognize self antigens). These potential benefits result in the identification of tumor-specific antigens which in turn eliminates tumor cells by summoning cytokines and co-stimulatory molecules that kill other tumor cells.

This review briefly describes basic CAR structure and function, how their antigenic targets are selected, and the development and advancements of this technology to improve their function in tumor micro-environment. Afterwards, several examples of successful treatments with the help of this technology are presented and finally, we take a glance at the side effects of this method.

Received: 2017/08/11  
Accepted: 2017/09/18

**Keywords:** Chimeric Antigen Receptor (CAR), immunotherapy, medical biotechnology, targeted therapy, T-cell receptor (TCR).