مقـالـه پـژوهشی

ایمنی درمانی با سلول‌های Tمهندسی‌شده (CAR T cell):
تحولی شگرف در فناوری‌های نوین زیستی-پزشکی

محمدرضا نوری‌دلویی* [1]، نازنین رحیمی‌راد [2]، سعیده کاوسی [3]

1. استاد، دکترای ژنتیک مولکولی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
2. کارشناس‌ارشد ژنتیک مولکولی
3. کارشناس‌ارشد ژنتیک مولکولی

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

چکیـده

درمان‌های برپایهٔ گیرنده‌های آنتی‌ژن کایمری(CAR) سلول‌های T، به‌عنوان یکی از روش‌های نوین ایمنی درمانی، تحول شگرفی را در درمان سرطان پدید آورده‌اند. ازآنجا که CAR از یک آنتی بادی ایجاد می‌شوند، سلول حاصل دارای ویژگی هدف‌گیری مطلوب یک آنتی‌بادی مانند نیازنداشتن به شناسایی توسط مجموعهٔ سازگاری بافتی (MHC) و توانایی شناسایی آنتی‌ژن‌های خودی است. این مزایای بالقوه، به شناسایی آنتی‌ژن‌های ویژهٔ سلول‌های توموری منجر می‌شود که با فراخواندن سیتوکین‌ها و مولکول‌های کمک تحریکی دیگر، سلول‌های توموری را از بین می‌برد. در مقالهٔ پیش‌رو، ساختار پایه‌ای و کارکرد CARها و چگونگی انتخاب اهداف آنتی‌ژنی آنها توصیف شده و پیشرفت و توسعهٔ 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:
ایمنـــی درمـــانی، درمـــان هدفمند، فنـــاوری زیســـتی-پزشـــکی، گیرنـــدهٔ آنتـــی‌ژن کـــایمری (CAR)، گیرنـــدهٔ سلول T(TCR).

* **نویسندهٔ مسئول: محمدرضا نوری دلویی**
نشانی: تهران، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده‌ی پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی
تلفن: 021-88953005,66491090، **دورنگار:** ؟؟؟
رایانه: nooridaloii@sina.tums.ac.ir

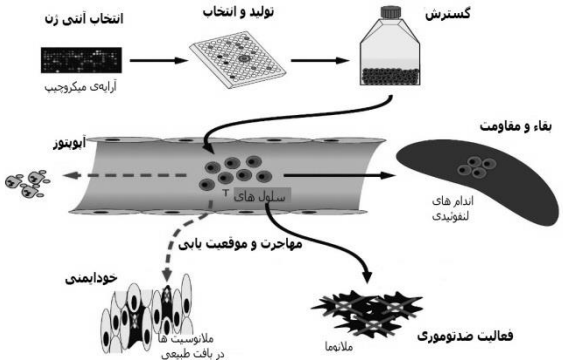
مجلهٔ علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دورهٔ 24، شمارهٔ 6، بهمن و اسفند 1396، ص 12-1.
آدرس سایت: http://jsums.medsab.ac.ir رایانامه: journal@medsab.ac.ir
شاپای چاپی: 1606-7487

مقدمه

برای دهه‌های متعدد، درمان سرطان بر جراحی، شیمی‌درمانی و پرتودرمانی مبتنی بوده است، اگرچه در خلال دو دههٔ 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 به‌تدریج 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 مهارکنندهٔ سیستم ایمنی و لکوسیت‌های فراوان چشم‌پوشی کرد. در واقع حتی سلول‌های سرطانی قادر به ایجاد «تمایز» و تغییر آنتی‌ژن‌های سطحی خود هستند و بدین‌ترتیب از شناسایی شدن توسط سلول‌های T و عوامل التهابی فرار می‌کنند [۴و۵].

در پی پیشرفت‌های در خور توجه در فناوری‌ها، تخریب هدفمند سلول‌های بدخیم به‌واسطهٔ 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 شدهٔ اکتسابی در بدن می‌شوند، استفاده از واکسن‌ها به‌عنوان روش درمانی برای سرطان‌ها، اغلب با شکست همراه است. درمان‌های ایمنی شناختی اکتسابی به‌واسطهٔ گسترش exvivo سلول‌های T با کارکرد اختصاصی، قادر به غلبه بر بسیاری از سازوکارهای ممانعت کنندهٔ پاسخ ایمنی مناسب درون بدن هستند و درواقع فرصت مغتنمی را برای پژوهشگران فراهم می‌آورند تا روی میزان کارآیی، 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 نحوهٔ 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 بافت‌ها توجه کنند.

شایان تأکید است که اندیشهٔ شکل‌گیری فناوری CAR T-cell به ۲۶ سال پیش باز می‌گردد. زمانی که مشخص شد مانند قطعهٔ متغیر زنجیرهٔ سبک و سنگین آنتی بادی، عناصر پاسخ دهندهٔ درون هترودایمرهای αβ گیرندهٔ 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 واژهٔ T-body برای نامیدن این سلول‌ها استفاده کرد. در مراحل نخستین، وجود دو ژن کایمرک و انتقال همزمان آن‌ها به‌طور مستقیم به

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 قطعهٔ متغیر زنجیرهٔ سبک وسنگین فراهم می‌کرد و بدین‌ترتیب تک‌زنجیرهٔ متغیر با عنوان scFv (Single Chain Variable Fragment) شکل می‌گرفت. در نتیجه با استفاده از این تک‌گیرندهٔ 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 به‌واسطهٔ برنامه‌ریزی دوبارهٔ سلول‌های هدف، آنتی‌ژن‌های این سلول‌های سرطانی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. با استفاده از فنون انتقال ژن می‌توان با کارآیی مناسب، ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین‌های CAR را به سلول‌های ایمنی 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 برپایهٔ CAR T-cellها انقلابی را در حوزهٔ 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 [۵و۷].

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 بقاء 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 دهانهٔ رحم اشاره کرد. در واقع، اغلب آنتی‌ژن‌های نامزد دارای همهٔ این ویژگی‌ها نیستند. عمدهٔ 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 بسیارکم این آنتی‌ژن‌ها در سطح سلول‌های طبیعی را نیز نادیده می‌گیرند. از پروتئین‌های آنتی‌ژنی توموری با بیان افزایش یافته می‌توان به ژن WT_1 در انواع لوسمی‌ها و تومورهای جامد، مانند تومور ویلمز و HER2/neu در سرطان پستان و تخمدان اشاره کرد [۵و۷].

یک رویکرد ایمنی درمانی با عنوان انتقال سلول انتخابی (Adoptive cell transfer:ACT) که به سرعت در حال ظهور است، جمع‌آوری سلول‌های ایمنی فرد بیمار و استفاده از آنها برای درمان سرطان است. سلول‌های T کایمری بیان‌کنندهٔ گیرنده (Chimeric Antigen Receptor T-cell: CAR-T cell) نمونه‌هایی از درمان‌های ایمنی 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 درمان کننده —و نه تسکین دهنده- در نظر گرفته می‌شوند، به‌طوری‌که تنها یک یا چند بار باید مصرف شوند. لازم به تأکید است که، ویژگی ACIها به مفهوم آن است که تنها یک زیر مجموعهٔ 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، همهٔ 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 ایمنی 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 کایمری 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

جمع آوری شده برای بیان آنتی‌ژن ویژهٔ CAR مهندسی شدند، در آزمایشگاه به صدها میلیون نسخه تکثیر می‌شوند. مرحلهٔ 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 شدهٔ خود، سلول‌های سرطانی که آنتی‌ژن را روی سطح خود حمل می‌کنند شناسایی کرده و ازبین می‌برند [۱۰].

گیرنده‌های کایمری مورد اشاره در بالا، ابتدا به شکلcDNAهای 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 αβ سلول‌های T(**TC**ell **R**eceptor: TCR) گیرنده‌های از نوع CAR به صورت مستقیم و بدون ایجاد محدودیت توسط عوامل چندشکل (Polymorphic)ارائه دهندهٔ 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 گیرندهٔ 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. از این رو می‌توان از یک نوع CAR برای همهٔ 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 سازه‌های متفاوتی از CARها گرایش پیدا کرده‌اند. CARها از یک بخش هدف گیرنده، یک قلمرو گذرکننده از غشاء و یک ناحیهٔ درون سلولی تشکیل شده‌اند [۱۳].

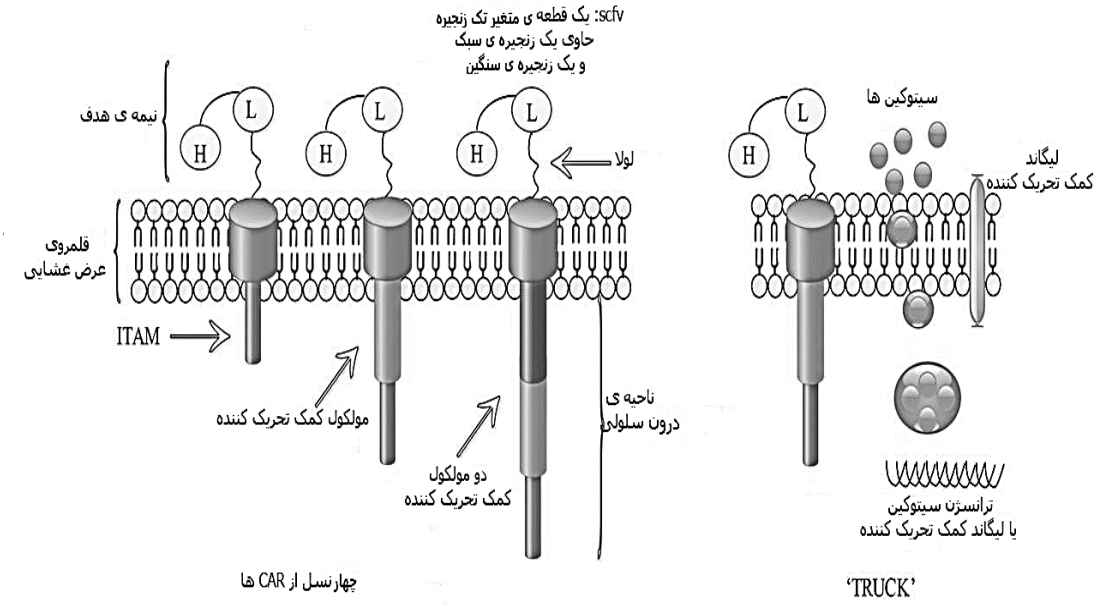
بخش متغیر تک‌رشته با عنوان scfv به‌طور اختصاصی به ناحیهٔ لولا مانند اتصال پیدا کرده و بخش هدف گیرندهٔ پروتئین CAR را تشکیل می‌دهد. ناحیهٔ درون‌سلولی نیز دارای یک موتیف با عنوان ITAM (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif) است که می‌تواند مشتمل بر زنجیرهٔ CD3ζ باشد. براساس تفاوت‌های موجود در 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 کارآیی کمی علیه سلول‌های توموری دارند.

ب. نسل دوم که برای افزایش کارآمدی ایجاد شدند که بیان کنندهٔ مولکول‌های تحریک کنندهٔ همزمان (Co-stimulatory molecules) CMs در قلمرودرون سلولی پروتئین‌هایCAR هستند. این سلول‌ها دارای یکی از انواع CMها مانند CD_{20} یا CD_{137} 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 (شکل۲).

د. در نسل چهارم از CAR T-cellها که TRUCK (T cells redirected for universal cytokine killing) نیز خوانده 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-cell ها شروع به ترشح مقدار زیادی از پرفورین‌ها، آنزیم‌ها وعوامل نکروزکنندهٔ تومور (Tumor necrosis factor)TNF می‌کند و بدین‌ترتیب به آپوپتوز سلول‌های توموری منجر می‌شود. سلول‌هایTRUCK در مقایسه با سه نسل پیشین، دارای مزایای بیشتری در اِعمال اثر بر سلول‌های سرکوب‌کنندهٔ سیستم ایمنی در ریزمحیط پیرامون تومور هستند و بنابراین، از قدرت تخریب بالاتری برخوردارند [۱۵].



شکل ۲. CAR T cellها بر اساس قلمروهای پیام‌رسان درون سلولی به چهار نسل رده‌بندی می‌شوند: نسل اولCARها 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 CD28و 4-1BB یا CD134(OX40) تحریک می‌شوند. نسل چهارم CAR T cell ها 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.

امروزه شمار آنتی‌ژن‌های شناسایی شده، هدفی برای CAR T cellهای در حال افزایش است که از جملهٔ آن‌ها می‌توان به MUCI(Mucin antigen) و (Carcinoembryonic antigen) CEA اشاره کرد که در طیف گسترده‌ای از کارسینوماها دست‌خوش افزایش بیان می‌شوند. از دیگر آنتی‌ژن‌هایی که تحت هدف CAR T cellها قرار می‌گیرند، گیرندهٔ عامل رشد اندوتلیال عروق $VEGFR_2$ است که میزان بیان آن در عروق تومور افزایش می‌یابد. سیاههٔ شماری از درمان‌های بدخیمی‌های خونی با استفاده از CAR T cellها در جدول ۱ خلاصه شده است [16].

جدول ۱. درمان بدخیمی‌های خونی توسط CAR T cellها

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

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.

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 cell ها نیز اثر می‌گذارد. سیتوکین‌های سرکوب کنندۀ تومور مانندTGF-β و IL-10 نه تنها از سلول‌های توموری بلکه از سلول‌های سرکوب کنندۀ سیستم ایمنی در ریز محیط 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 لنفوسیت‌هایT ویژه‌ای مانندسلول‌هایT «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 ریز محیط پیرامون تومور بهتر عمل می‌کنند. به طور اختصاصی بیان هم‌زمان تک‌زنجیرۀ IL-12 و CAR T cell به عقب‌نشینی تومورها به واسطۀ اختلال در ریز محیط پیرامون تومور می‌انجامد[17].

عوامل تأثیرگذار بر میزان کارآیی درمان‌های برپایۀ CAR T cellها

با وجودی که هر یک از روش‌های درمانی بر پایۀ CAR T cellها دارای مزایا و معایب ویژۀ 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، نحوۀ طراحی CARها است.

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

ظرفیت تکثیری CAR T cellها در شرایطin vivo به اجزای تشکیل‌دهندۀ لنفوسیت T ادغام شونده در میزبان وابسته است.

لنفوسیت‌های T دارای فنوتیپ خاطره که دارای تلومراز بلندتر و نرخ تقسیم بالاتر نسبت به سلول‌هایT تمایزیافته هستند، از پایداری و کارکرد دراز مدت برخوردارند. به‌منظور کنترل بهتر فنوتیپ سلول T منتقل شده، روش‌هایی برای تخلیص گروه ویژه‌ای از لنفوسیت‌هایT و طراحی مناسب آنها ارائه شده است [۱۹].

سلول‌های بنیادی خاطرۀ T، سلول‌های قطبی کمک تحریکی Th17(co-stimulated Th17 polarized cells) سلول‌هایT خاطرۀ ویژۀ 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 تخلیۀ لنف‌ها پیش از عمل ادغام CAR T cellها است. این وضعیت، در واقع فضای مناسبی برای تکثیر و گسترش سلول‌هایT منتقل شده ایجاد می‌کند و میزان رقابت برای زنجیرۀ گامای سیتوکین‌های IL-15, IL-7 را محدود کرده، بدن میزبان را از سلول‌هایT تنظیمی تخلیه کرده و سیستم ایمنی ذاتی را فعال می‌کند. با این وجود، عود دوبارۀ 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 مطالعۀ 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 ازپیشرفت‌هایی در این زمینه پشتیبانی می‌کند (جدول۲).

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 لنفوسیت‌هایT منجر می‌شود. پیشرفت‌های فنی برای ارتقاء کارکرد نفوذ و بقای لنفوسیت‌های T درون تومورهای جامد مورد نیاز است که شامل راهکارهایی برای افزایش شمارسلول‌های T نفوذ کننده، افزایش مقاومت سلول‌هایT به خصوصیت سرکوب کنندۀ ایمنی ریزمحیط پیرامون تومور و استفاده از سایر عوامل ایمنی کمک کننده به سلول‌هایT 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 سلول‌هایTمانند افزایش بیان گیرنده‌های مهاری، پایداری خود را درون بدن میزبان حفظ کنند.

چالش‌های اشاره‌شده در بالا، پژوهشگران را بر آن داشت

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 cellها در برابر تنش اکسیداتیو و هپاراناز برای ارتقاء نفوذ سلول‌های T به استرومای تومور هستند [۲۰].

جدول۲. هدف‌گیری آنتی‌ژن‌های تومورهای جامد توسط CAR T cellها

آنتی‌ژن‌ها	بیماری‌ها	کارآزمایی‌های پیش‌بالینی یا بالینی (در شرایط *in vitro* یا *in vivo*)	منابع
HER2	Osteosarcoma	*in vitro*	NCT00976565
	Breast cancer	*in vitro*	NCT00978678
	Sarcoma	کارآزمایی بالینی	NCT00902044
	Metastatic cancer	کارآزمایی بالینی	NCT00924287
	Glioblastoma	کارآزمایی بالینی	NCT01109095
	Solid tumours	کارآزمایی بالینی	NCT01935843
CEA	Colorectal cancer	*in vivo*	NCT00635284
	Colorectal cancer	کارآزمایی بالینی	NCT00673322
	Breast cancer	کارآزمایی بالینی	NCT00673829
	Liver metastases	کارآزمایی بالینی	NCT01373047
	Metastatic cancers	کارآزمایی بالینی	NCT01723306
CSPG4	Melanoma, breast carcinoma	*in vivo*	NCT02336468
EphA2	Glioblastoma	*in vivo*	NCT02338473
FR	Ovarian cancer	*in vivo*	NCT00954645
IL-11Rα	Osteosarcoma	*in vivo*	NCT00977783
IL-13Rα2	Glioblastoma	کارآزمایی پیش‌بالینی	NCT02337584
	Malignant blioma	کارآزمایی بالینی	NCT02208362
	Refractory brain neoplasm		
	Recurrent brain neoplasm		
IL-13R	Glioma	کارآزمایی پیش‌بالینی	NCT02337893
CD171	Neuroblastoma	کارآزمایی بالینی	NCT02311621
EGFR	Advanced EGFR-positive solid tumours	کارآزمایی بالینی	NCT01869166
	Advanced glioma	کارآزمایی بالینی	NCT02331693

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

عوارض جانبی درمان با CAR T cell

مانند عموم درمان‌های سرطانی، درمان با CAR T cell می‌تواند موجب بروز چند عارضهٔ 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.

در مورد CRS، انتشار سریع و گستردهٔ 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 تجربهٔ بیشتر توسط پژوهشگران در درمان CAR T cell، آنان آموخته‌اند که چگونه موارد جدی‌تر CRS را مدیریت کنند.

یکی دیگر از عوارض جانبی بالقوۀ درمان CAR T cellها 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 cellهای 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 [۲۱].

به تازگی در سال ۲۰۱۷، یکی دیگر از عوارض جانبی جدی و بالقوه کشنده که در برخی از آزمون‌های انجام گرفته برای حمایت از تأیید بالینی FDA در درمان‌های برپایۀ CAR T cellها 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 [۲۲].

توسعۀ فناوری CAR T cell

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

در سالیان گذشته، مشاهدۀ عود دوبارۀ 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 ویژۀ تومور شناسایی کنند، می‌توان روند پیشروی تومور را به‌عنوان عوارض جانبی حاصل از GVHD کنترل کرد [۲۳].

بدین‌ترتیب 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 قطعۀ آنتی‌بادی مونوکلونال به قلمرو پیام‌رسانی درون سلولی لنفوسیت‌های T، توانایی شناسایی آنتی‌ژن‌های اختصاصی تومور را در این سلول‌ها ایجاد می‌کنند. سرانجام، این لنفوسیت‌های T اتولوگ دارای مجموعۀ گیرندۀ آنتی‌ژنی تغییریافته با عنوان CAR ساخته می‌شوند. سپس لازم است که CAR T cellها 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 cellها ممانعت شود. سلول‌های T مهندسی شده بیان کنندۀ این پروتئین‌های CAR، به واسطۀ قلمرو آنتی‌بادی برون سلولی خود علیه آنتی‌ژن‌های سطح سلول‌های توموری وارد عمل می‌شوند و بدین ترتیب موجب فعال شدن سلول‌های T بدون وابستگی به مجموعۀ MHC می‌شوند. سرانجام می‌توان گفت که CAR T cellها قادر به تحریک پاسخ ایمنی بدون عوارض جانبی منفی حاصل از GVHD هستند [۲۴].

سایر اصلاحات CAR T cellها نیز نیازمند بررسی است. یک رویکرد، توسعۀ درمان‌هایی بر پایۀ CAR T cellهاست که از سلول‌های ایمنی جمع آوری شده از اهدا کنندگان سالم ـ و نه بیماران ـ استفاده می‌کند. از مزیت‌های این نوع درمان می‌توان به دردسترس 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 cellها به درون بدن استفاده می‌کنند، رویکردی که CAR T cellهای 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 [۲۵].

ارتباط CAR T cell و CRISPR/Cas9

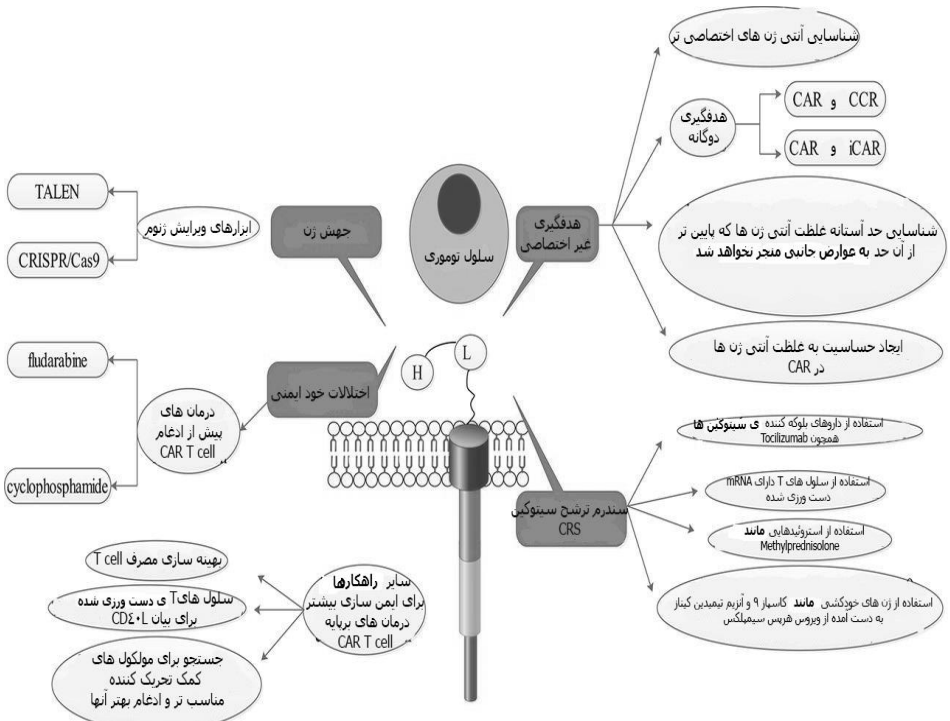
ایجاد تغییرات چندگانۀ ژنوم یکی از جذاب‌ترین کاربردهای سیستم CAR T cellاست که به‌عنوان فنی کارآمد برای ارتقاء ایمنی درمان‌های بر پایۀ سلول‌های T به حساب می‌آید. با این وجود کارایی پایین فرآیند ترانسفکشن DNA در هدف‌گیری ژن‌ها کارکرد فناوری‌های ایجاد کنندۀ تغییرات چندگانه در سلول‌های T اولیه را محدود کرده است [۲۶].

بر اساس مطالعات بالینی در سال ۲۰۱۷، برای تخلیص با نرخ ۹۹ درصد ژن‌های کدکننده CAR T cellها، به راحتی می‌توان از گوی‌های مغناطیسی استفاده کرد. سلول‌های T مهندسی ژنتیک شده هیچ گاه GVHDرا بروز نمی‌دهند و به همین علت می‌توان از آنها به‌عنوان CAR T cellهای آلوژنیک استفاده کرد. نکته قابل توجه توانایی لنفوسیت‌های T تغییریافته هم در حالت*vitroو* هم در الگوهای موشی مبتلا، برابر

سلول‌های T طبیعی است. در مطالعات پیشین گزارش شده است که می‌توان لنفوسیت‌های T را توسط فناوری‌های تغییردهندهٔ ژنوم مانند CRISPR/Cas9 از لحاظ ژنتیکی مهندسی کرد. این فنون، در واقع بیان گیرنده‌های درونی لنفوسیت‌های T را توسط هدف گرفتن زنجیره‌های α و β آن‌ها تحت تأثیر قرار داده و مانع بروز GVHD می‌شوند [۵و۲۷].

از آنجا که ایجاد اختلال در ژن‌های سلول‌های T توسط ناقلین لنتی‌ویروسی و آدنوویروسی از کارآیی کافی برخوردار نیست، پژوهشگران با استفاده از روش آلوده‌سازی هسته توسط اجزاء CRISPR در سلول‌های CD4 T میزان کارآیی تغییر ایجاد شده را افزایش دادند. اگرچه سمیت ایجاد شدهٔ 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 به‌طور قطع به رخدادهای حاصل از پیوند آلوژنیک در انسان بسط داد. به همین دلیل در آینده می‌توان آزمون‌های دقیق‌تری بر روی پریمات‌های 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 cellهای تغییریافته توسط CRISPR/Cas9 در مرحلهٔ بالینی و درمان بیماران می‌توان توسط فنون توالی‌یابی گسترده از تغییرات و عدم‌وجود 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 CAR T cell)U CAR T cellتوسط فن TALEN به‌وسیلهٔ جابجایی کروموزومی در این نوع CAR T cell گرفته شده از سه فرد دهندهٔ متفاوت ابداع شده است که هیچ گونه بازآرایی کروموزومی را نشان نمی‌دهد [۲۸].

ارزش درمانی مهارکردن سرکوب‌کنندهٔ سیستم ایمنی با عنوان PD-1 به واسطهٔ مهار آن در CAR T cellهای نفوذکننده به تومورهای جامد و سرکوب ژن‌های سه گانهٔ 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 کشندهٔ طبیعی و پس زدن سلول‌های T تغییریافته است. می‌توان با استفاده از شیمی‌درمانی پیش از این فرآیند برای تخلیه بدن میزبان از لنفوسیت‌ها یا با استفاده از آنتی‌بادی‌هایی علیه سلول‌های کشندهٔ طبیعی برای از بین رفتن این سلول‌ها از میزان پس زده شدن CAR T cellهای منتقل شونده به بدن میزبان توسط این عامل کاست (شکل۳) [۲۹].



شکل ۳. 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.

جمع‌بندی

اگرچه به نظر می‌رسد که درمان‌های برپایهٔ 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 برپایهٔ CAR T cell به پژوهش و مطالعهٔ بیشتری نیازمند است. در این راستا، چندین مانع در برابر کارآیی 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 سرکوب‌کنندهٔ سیستم ایمنی پیرامون تومور اشاره کرد. با این همه، شایان تأکید است که برای دستیابی به پاسخ ایمنی مؤثر در برابر بدخیمی و با عنایت به امکان ایجاد تغییرات و دستکاری‌های مناسب ژنتیکی، بسیاری از این نیازها را برطرف ساخته است. بدین‌ترتیب 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 برپایهٔ CAR T cell پیشاپیش، نه تنها افق‌های جدیدی را در درمان انواع بدخیمی‌ها گشوده است، بلکه به عنوان نقطهٔ آغاز درمان‌های فردی مانند سلول درمانی افراد براساس ویژگی‌های هدف درمان می‌توان روی آن حساب ویژه‌ای باز کرد.

References

[1].Ruella M, Kalos M. Adoptive immunotherapy for cancer. *Immunological reviews*. 2014; 257(1): 14-38.

[2].Noori-Daloii 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-Daloii 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-Daloii MR. Medical molecular genetics in the third millennium. Tehran, Iran: Samer Publication; 2012. (in Persian)

[5].Noori-Daloii 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-Daloii 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, Petrausch 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-Daloii 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 αvβ6 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 immuno-oncology. *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.

Immunotherapy usingengineered T-cells (CARs): A significantevolution in modern medical biotechnology

Mohammad Reza Noori-Daloii[1*], Nazanin Rahimi Rad[2], Saeedeh Kavoosi[2]

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-sprcific antigens which in turneliminates 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 intumor 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).