طراحی و توسعه سلولهای CAR-T برای درمان سرطان

شفیعه منصوری [۱](Ph.D Student)، منیره قلیزاده [۱و۲](Ph.D Student)، شهریار عبدلی [۳](Ph.D)، سهیلا اژدری [۱](Ph.D)، محمدعلی شکرگزار [۴](Ph.D)، محسن بصیری [۵](Ph.D)، زهرا شریف‌زاده [*۱](Ph.D)

۱- گروه ایمونولوژی، انستیتوپاستور ایران، تهران، ایران

۲- گروه بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی، علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

۳- دانشکده فناوری های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران

۴- بانک سلولی ایران، انستیتوپاستور ایران، تهران، ایران

۵- پژوهشگاه رویان، پژوهشکده زیست‌شناسی و فناوری سلول‌های بنیادی جهاد دانشگاهی، مرکز تحقیقات علوم سلولی، گروه سلول‌های بنیادی و زیست‌شناسی تکوینی، تهران، ایران

* نویسنده مسئول، تلفن: ۶۴۱۱۲۱۱۴-۰۲۱ zsharifzadeh@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۷/۱۰

چکیده

هدف: امروزه درمان با سلول‌های CAR-T، به عنوان درمانی موثر برای بدخیمی‌های خونی پذیرفته شده است. سلول‌های CAR-T، سلول‌های T اتولوگ هستند که با تکنیک‌های انتقال ژن به منظور بیان یک گیرنده آنتی‌ژن کایمری (CAR) مهندسی می‌شوند. علی‌رغم نتایج امیدوارکننده و تایید شش فرآورده سلولی CAR-T، هنوز این محصولات برای تومورهای جامد تایید نشده‌اند. علاوه بر این، هزینه بالای درمان با سلول‌های CAR-T، دسترسی بیماران به این داروهای نجات‌بخش را محدود کرده است. بنابراین، بایستی ملاحظات کلیدی در طراحی و توسعه سلول‌های CAR-T تعریف شده و روش‌های کاهش هزینه این روش درمانی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه بر اساس جست‌وجوی دقیق در پایگاه‌های مطالعاتی مثل Pubmed، Scopus، Web of Science و موتور جست‌وجوگر Google Scholar و نیز وب‌سایت شرکت‌های دارویی انجام شده است.

یافته‌ها: گیرنده‌های سنتزی CAR حاوی قلمروی خارج سلولی شناسایی‌کننده آنتی‌ژن هستند که به نواحی فضاساز، تراغشائی و ناحیه پیام‌رسان داخل سلولی متصل می‌شود. هر قسمت از ساختار CAR روی بعضی عملکردهای CAR از جمله شناسایی هدف، فعال شدن و لیز سلولی اثر می‌گذارد. تاکنون پنج نسل سلول‌های CAR-T توسعه داده شده تا ظرفیت پیام‌رسانی این سلول‌ها بهبود یابد. علاوه بر این، سیستم‌های انتقال ژن مثل الکتروپوریشن، ترنسپوزون و سیستم‌های ویرایش ژنوم، به عنوان جایگزین ناقل‌های ویروسی جهت تولید سلول‌های CAR-T ایمن و مقرون به صرفه معرفی شده است. هم‌چنین توسعه‌ی محصولات به صورت آماده مصرف، تولید محصول در مکان‌هایی دورتر از محل مصرف، پلتفرم‌ها و روش‌های قیمت‌گذاری جدید و ابتکارات سیستم بیمه سلامت به‌عنوان راه‌کارهای کاهش قیمت پیشنهاد شده است.

نتیجه‌گیری: در این مقاله، به مرور چگونگی توسعه سلول‌های CAR-T، عوامل مهم در طراحی گیرنده کایمری، روش‌های مختلف انتقال ژن و راه حل‌هایی جهت کاهش هزینه این روش درمانی پرداخته شد. با به‌کارگیری این استراتژی‌ها می‌توان از پتانسیل سلول‌های CAR-T در ایمنی درمانی سرطان به صورت کامل بهره برد.

واژه‌های کلیدی: گیرنده کایمری آنتی‌ژن، ایمنی درمانی سرطان، طراحی CAR، تکنیک‌های انتقال ژن، کاهش هزینه

مقدمه

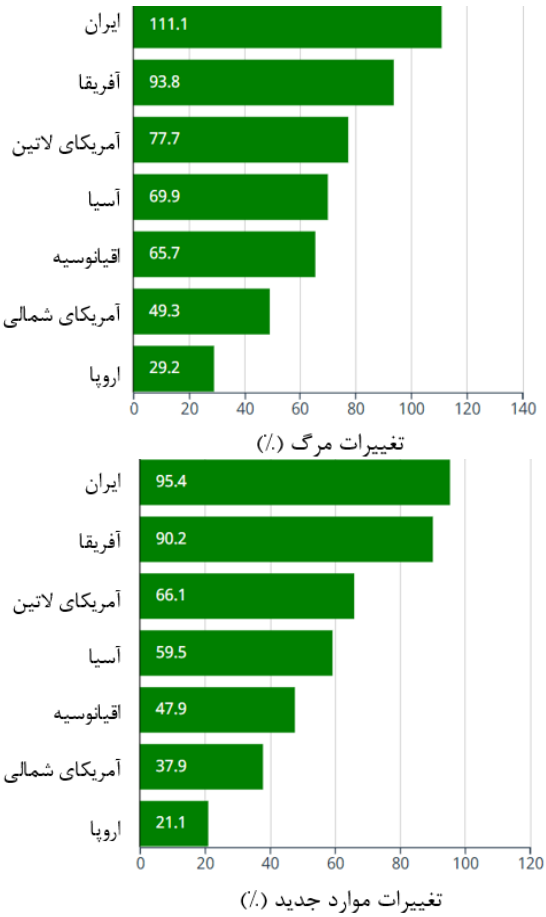
سرطان، دومین عامل اصلی مرگ و میر در همه کشورهای دنیا است و در سال ۲۰۲۰، منجر به مرگ نه میلیون و نهصد و پنجاه هزار نفر شده است [۱]. گزارش آژانس بین‌المللی تحقیقات سرطان نشان می‌دهد که میزان مرگ ومیر و ابتلا تا سال ۲۰۴۰ در ایران و سایر بخش‌های دنیا رو به افزایش است [۲]، و پیش‌بینی می‌شود میزان مرگ و میر ناشی از سرطان در ایران ۱۱۱٪ افزایش یابد (شکل ۱) [۳]. این امر، اهمیت توسعه داروهای ضد سرطان را نشان می‌دهد.

روش‌های مختلفی مثل شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، جراحی و ایمنی‌درمانی با آنتی‌بادی برای درمان سرطان وجود دارد. ولیکن، روش‌های ذکر شده یا اثر درمانی لازم را ندارند و یا

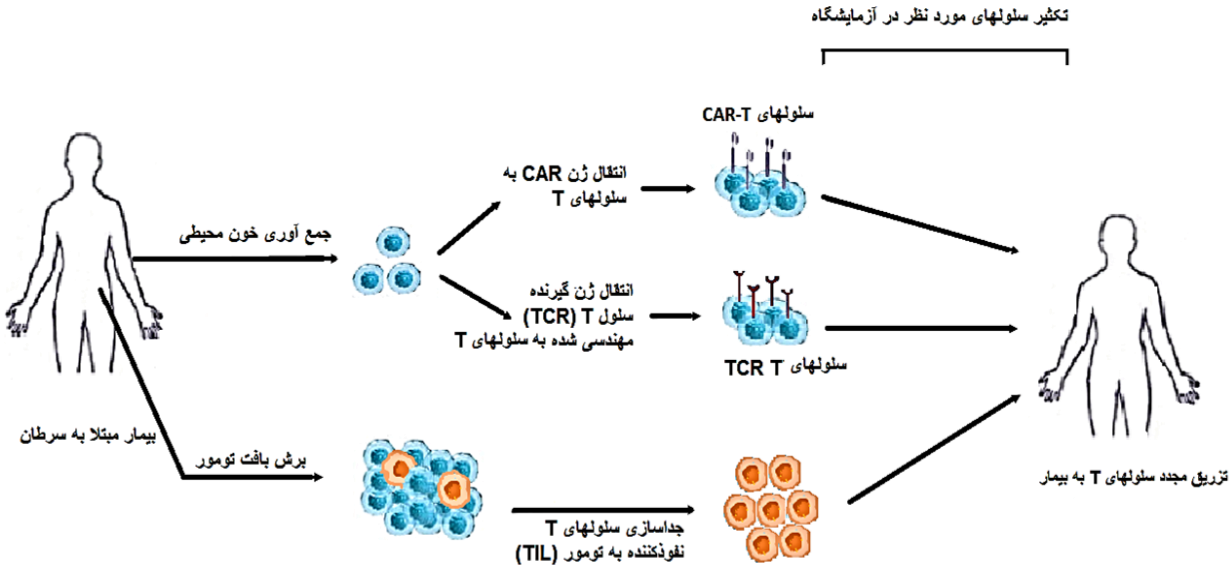
[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

این‌که عوارض جانبی زیادی به همراه دارند. به همین دلیل نیاز به توسعه روش‌های درمانی جدیدی با کارایی بیش‌تر و عوارض کم‌تر می‌باشد. یکی از روش‌های جدید که اخیراً برای درمان انواع سرطان‌ها معرفی شده است ایمنی درمانی هدفمند است که می‌تواند پاسخ‌های طولانی‌مدت سیستم ایمنی را القاء کند و سبب ایجاد محافظت طولانی‌مدت بیمار شود. علاوه بر این، این روش سمیت کم‌تری نسبت به روش‌های قدیمی مثل پرتودرمانی و شیمی‌درمانی دارد [۵،۴]. یکی از موثرترین رویکردهای ایمنی‌درمانی سرطان، انتقال انتخابی سلول (Adoptive Cell Tranfer, ACT) است که نتایج بسیار خوبی در کارآزمایی‌های بالینی نشان داده است [۷،۶]. انتقال انتخابی سلول با استفاده از سلول‌های T، سبب ایجاد روش‌های مختلف درمانی شده است (شکل ۲).

در سال ۱۹۸۶، برای اولین بار پروفسور روزنبرگ و همکارانش توانستند لنفوسیت‌های T نفوذکننده به تومور (Tumor-Iinfiltrating Lymphocytes, TILs) را از بافت تومور جدا کرده و با استفاده از IL-2 در آزمایشگاه تکثیر کنند. این مطالعه نشان داد تزریق TIL اختصاصی به مدل‌های موشی سبب کاهش بار توموری می‌شود [۸]. اما این روش محدودیت‌هایی مثل تعداد کم TIL به‌دست آمده از بافت توموری و طولانی بودن زمان لازم برای رسیدن به تعداد کافی از سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن دارد. ملانوما تنها توموری است که می‌توان به راحتی TIL دارای فعالیت ضدتوموری را از آن استخراج کرد؛ اما کارایی این روش در سایر سرطان‌ها بسیار کم می‌باشد [۹]



شکل ۱. تخمین میزان ابتلا و مرگ و میر ناشی از سرطان در مردان و زنان ۵ تا ۸۵ سال از سال ۲۰۲۰ تا ۲۰۴۰. (بالا درصد مرگ و میر و پائین درصد ابتلا [۳]



شکل ۲. روش‌های مختلف ایمنی درمانی سرطان با سلولهای T. TILها از نمونه های بیوپسی بافت توموز جدا شده و در آزمایشگاه تکثیر می شوند. برای تولید سلول های مهندسی شده با CAR و TCR ، سلولهای تک هسته ای خون محیطی از فرد بیمار جدا شده و گیرنده موردنظر از طریق روش های ویروسی یا غیرویروسی به سلول T انتقال داده می شود.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

یک روش برای رفع این مشکل، اصلاح ژنی گیرنده‌های سلولT (T Cell Receptor, TCR) و بیان TCR مهندسی شده علیه آنتی‌ژن توموری می‌باشد [۱۰]. در حالت طبیعی، گیرنده سلول T از دو زنجیره آلفا و بتا تشکیل شده که به آنتی‌ژن پپتیدی ارائه شده توسط مجموعه سازگاری بافتی (Major Histocompatibility Complex, MHC) متصل می‌شود [۱۱]. با مهندسی ژنی نواحی متغیر هر دو زنجیره این گیرنده، می‌توان اختصاصیت آن را نسبت به آنتی‌ژن مورد نظر تغییر داد. از مهم‌ترین مشکلات این روش، امکان دایمر شدن اشتباه یک زنجیره مهندسی شده با یکی از زنجیره‌های طبیعی گیرنده سلول T [۱۲]، و در نتیجه ایجاد اختصاصیت ناشناخته‌ی جدید و بیماری‌های خودایمنی است [۱۴،۱۳]. از سوی دیگر، کاهش بیان MHC، مکانیسم غالبی است که تومورها برای فرار از سیستم ایمنی استفاده می‌کنند [۱۵]. این مکانیسم کارایی این سلول‌های مهندسی شده را برای حذف تومور، کاهش می‌دهد.

روش جالب دیگری که اخیراً توجه بسیاری از محققان را جلب کرده است، اصلاح ژنی سلول‌های T خون محیطی برای بیان یک گیرنده کایمری آنتی‌ژن (Chimeric Antigen Receptor, CAR) است که توانایی شناسایی و اتصال اختصاصی به آنتی‌ژن سطحی تومور را مستقل از مولکول MHC دارد [۹]. این روش نسبت به دو روش قبلی مزایایی زیادی دارد. از جمله این موارد می‌توان به: کاهش فرار تومور از طریق شناسایی آنتی‌ژن‌های توموری مستقل از MHC، عدم نیاز به تولید مجموعه‌ای از TCR ها برای گروه‌های مختلف HLA، شناسایی طیف گسترده‌تری از آنتی‌ژن‌های توموری شامل آنتی‌ژن‌های غیرپپتیدی (مثل کربوهیدرات‌ها و گلیکولیپیدها) [۱۶]، و عدم خطر ایجاد بیماری‌های خودایمنی (به دلیل بیان یک زنجیره مولکولی) اشاره کرد [۱۵،۹]. درمان با سلول‌های CAR-T تا به امروز، یکی از موفق‌ترین روش‌های ایمنی‌درمانی علیه سرطان خون بوده است به‌طوری‌که محصولات تایید شده آن منجر به درمان بیمارانی شد که به سایر روش‌های درمانی پاسخ نداده بودند [۱۷]. پس از تایید این محصولات و اثبات کارایی و پتانسیل درمانی آن‌ها، بسیاری از محققان به منظور تولید داروهای نوین برای درمان سایر سرطان‌ها، تحقیقات جدیدی را آغاز کردند که برخی از آن‌ها وارد کارآزمایی‌های بالینی شده‌اند [۱۹،۱۸]. از سال ۲۰۰۳ تا آوریل ۲۰۲۲، بیش از ۱۰۰۰ کارآزمایی بالینی برای سلول‌های CAR-T در سایت clinicaltrials.gov به ثبت رسیده است؛ در حالی‌که تا اکتبر سال ۲۰۲۰ فقط حدود ۷۰۰ کارآزمایی گزارش شده است [۲۰]. این افزایش سریع، نشان‌دهنده افزایش توجه و تمرکز محققان بر روی توسعه محصولات سلولی CAR-T برای به‌دست آوردن بخشی از بازار این محصول گران‌قیمت دارویی است.

با وجود این پیشرفت‌ها، هنوز هیچ سلول CAR-T برای درمان بدخیمی‌های جامد تایید نشده است. هم‌چنین حدود ۳۰٪ از بیمارانی که داروهای تایید شده را مصرف کرده‌اند، بعد از مدتی به دلیل مکانیسم‌های مختلف فرار تومور، دچار بازگشت مجدد بیماری می‌شوند [۲۲،۲۱]. از سوی دیگر یکی از مشکلات مهم در دسترسی بیماران به درمان با سلول‌های CAR-T، قیمت بالای آن‌ها است که ناشی از روند تولید پرهزینه آن‌ها می‌باشد که بار مالی سنگینی را به بیمار و سیستم سلامت هر کشور به‌ویژه کشورهای کم‌درآمد تحمیل می‌کند [۲۳]. برای تولید سلول‌های CAR-T با کارایی درمانی موثر، آشنایی با مفاهیم پایه تولید مثل نحوه توسعه گیرنده‌های CAR، شناخت اجزای مختلف CAR و روش‌های مختلف مهندسی ژنتیک سلول ضروری است. هدف از نگارش این مقاله، معرفی عوامل تاثیرگذار در کارایی این روش درمانی، روش‌های نوین در توسعه این سلول‌ها و راه‌کارهای بالقوه جهت کاهش قیمت این محصولات می‌باشد. به این منظور، ابتدا به مرور چگونگی توسعه و اصول کلی طراحی CAR و روش‌های مختلف مهندسی ژنتیک سلول‌های T می‌پردازیم. سپس بازار جهانی این داروها و روند فروش آن‌ها در آینده و نیز مشکلات اقتصادی که مانع گسترش بازار آن‌ها می‌شود را بررسی کرده و به مرور برخی از رویکردها برای کاهش قیمت این محصولات، می‌پردازیم.

این مطالعه بر اساس جست‌وجوی دقیق در مقالات منتشر شده بین سال‌های ۲۰۰۱ تا ۲۰۲۲ در پایگاه‌های مطالعاتی مثل Pubmed، Web of Science، Scopus و موتور جست‌وجوگر Google Scholar و نیز وب‌سایت شرکت‌های دارویی معتبر و فعال دنیا انجام شده است.

پیشرفت در طراحی و توسعه‌ی CAR

سلول‌های CAR-T اثراتی قابل توجه در تقویت پاسخ ایمنی بیمار علیه سرطان و بهبود بیماری نشان داده‌اند. اما برای موفقیت‌های بالینی، نیاز است تا اجزای ضروری یک CAR و تاثیر این اجزاء بر اثربخشی درمان را بشناسیم [۲۴]. گیرنده CAR یک مولکول سنتزی و ترکیبی از بخش اختصاصی متصل‌شونده به آنتی‌ژنِ توموری (مشتق از یک آنتی‌بادی) و بخش فعال‌سازی سلولِ T است. ساختار هر CAR به ترتیب از بخش خارج سلولی به داخل سلولی شامل ناحیه خارج سلولی متصل‌شونده به آنتی‌ژن، ناحیه فضاساز یا

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

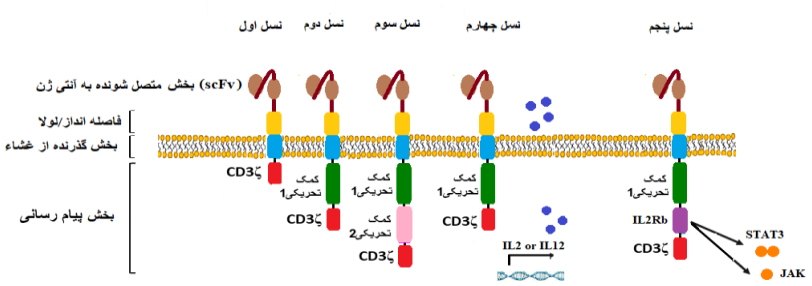
لولا (Spacer/Hinge)، ناحیه تراغشائی (Transmembrane, TM) و نواحی پیام‌رسانی داخل سلولی است.

برای هدف‌گیری یک سلول سرطانی خاص، معمولاً از بخش scFv (Single Chain Variable Fragment) یک آنتی‌بادی استفاده می‌شود. علاوه بر این، از VHH (ناحیه متغیر آنتی‌بادی‌های زنجیره سنگین شتری) [۲۵] یا ترکیبات دیگری مثل لیگاندها، پروتئین‌های طراحی شده "از نو" (de novo) و یا گیرنده‌های سطح سلولی نیز استفاده شده است [۲۶–۲۸]. بخش خارج سلولی متصل‌شونده به آنتی‌ژن، اختصاصیت سلول T نسبت به سلول هدف را تامین می‌کند. پس از اتصال به آنتی‌ژن هدف، سلول T فعال شده و کارکردهای اجرایی مثل تکثیر، تولید سایتوکاین و لیز سلول هدف را خواهد داشت. برخلاف TCR، میانکنش این بخش از CAR با آنتی‌ژن هدف، تحت تاثیر ساختار، چگالی آنتی‌ژن و مکان اپیتوپ هدف بر روی سطح سلول تومور (و نه بر اساس میانکنش فضایی سلول T و سلول هدف) است. اگر گرایش scFv در ساختار CAR، به آنتی‌ژن مورد نظر کم باشد، توانایی انتقال پیام تحریکی را نخواهد داشت و یا ممکن است منجر به انتقال ضعیف پیام شود که در هر دو حالت سلول CAR-T کارایی وجود نخواهد داشت. از سوی دیگر، سلول‌های CAR-T که گرایش بسیار بالایی به آنتی‌ژن توموری هدف دارند، می‌توانند به این آنتی‌ژن‌ها که به مقدار کمی روی سلول‌های سالم هم وجود دارند متصل شده و فعال شدن آن‌ها منجر به بروز سمیت روی بافت‌های سالم شود؛ در این حالت استفاده از scFvبا قدرت اتصالی کم‌تر می‌تواند منجر به از بین بردن تومورها، نه بافت سالم، شود [۲۹]. بنابراین، بهینه‌سازی قدرت اتصال گیرنده کایمری برای هر آنتی‌ژن، در کارایی سلول CAR-T مؤثر است و می‌تواند سمیت احتمالی این سلول‌ها را کاهش دهد. در جدول ۱، برخی از مشکلات ساختاری اجزای مختلف CAR که منجر به کاهش کارایی سلول CAR-T می‌شود و راه‌های بهبود کارایی آن‌ها به طور خلاصه ارائه شده است.

اغلب مطالعات طراحی CAR روی نواحی شناسایی و قسمت‌های داخل سلولی متمرکز شده‌اند و نقش قسمت‌های فضاساز و ناحیه تراغشائی بر روی تکثیر و کارایی سلول‌های CAR-T به خوبی بررسی نشده است. با این حال مشخص شده که انعطاف‌پذیری و طول قسمت فضاساز (ناحیه بین scFv و غشای سلول T) بر روی کارکرد سلول CAR-T تاثیرگذار است. برای مثال، مشاهده شده که سلول‌های CD19-CAR-T با طول فضاساز کوتاه‌تر و سلول‌های CD20-CAR-T با طول فضاساز بلندتر، کارکرد ضدتوموری بهتری دارند [۳۰]. در مطالعه دیگری، دو تکرار از ناحیه لولای IgG3 در ساختار TAG-72-CAR به‌کار برده شد که پاسخ‌های اجرایی قوی‌تری را نسبت به گیرنده کایمری با یک تکرار از ناحیه لولا، در سلول T القاء می‌کرد [۳۱]. اغلب از زیرکلاس‌های IgG مثل IgG4، IgG2، IgG1، و نیز قلمرو CD8 به عنوان فضاساز استفاده می‌شود که در میان آن‌ها، IgG1 کاربرد گسترده‌تری دارد.

نواحی پیام‌رسانی درون سلولی معمولاً از زیرواحدهای انتقال پیام سلول T مثل CD3ζ، CD28، 4-1-BB و یا OX40 مشتق می‌شوند و کارکرد آن‌ها، انتقال پیام از طریق فعال کردن آبشارهای مسیرهای پایین دستی، پس از اتصال بخش خارج سلولی گیرنده کایمری به هدف است. بخش درون سلولی می‌تواند شامل CD3ζ به تنهایی و یا CD3ζ در ترکیب با سایر بخش‌های کمک تحریکی باشد. بر اساس تعداد و نوع نواحی کمک تحریکی درون سلولی به‌کار رفته در ساختار CAR، آن‌ها را به پنج نسل طبقه‌بندی می‌کنند (شکل ۳)؛ نسل اول CAR، موجب آنرژی، دوام و تکثیر ضعیف، ترشح ضعیف سایتوکاین و در نهایت آپوپتوز سلول‌های T می‌شد [۳۳،۳۲]. برای رفع این محدودیت، پیام کمک تحریکی نیز در نسل دوم و سوم CAR به‌کار گرفته شد [۳۴].

شکل۳. توسعه‌ی گیرنده CAR. نسل اول CAR فقط دارای قطعه CD3ζ است. نسل دوم CAR شامل CD3ζ و یک بخش کمک تحریکی مثل CD28 است. در نسل سوم، یک بخش کمک تحریکی دیگر مانند OX40، CD27، CD28، ICOS یا CD40L اضافه می شود تا سمیت سلولی بیشتری علیه تومور القاء کند. نسل چهارم دارای یک ژن اضافی تولید کننده IL12 یا IL2 است. در نسل پنجم، بخش فعالسازی JAK-STAT که مشتق از IL2RB است، بین بخش های CD28 و CD3ζ قرار می¬گیرد. این ناحیه باعث تحریک تکثیر و جلوگیری از تمایز نهایی سلولهای T شده و سلولهای T دارای این ناحیه، دوام بهتری را نشان می دهند [۳۴].



[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

قدرت و ماهیت ناحیه پیام‌رسانی درون سلولی سازه گیرنده کایمری روی فعال‌سازی، سوخت و ساز، و فرسودگی سلول CAR-T اثر می‌گذارد. برای مثال، فعال‌سازی مسیر پیام‌رسانی 4-1BB در سلول‌های T سبب افزایش تولید سایتوکاین‌های التهابی مثل IL2 و IFN-γ شده [۳۵] و در سلول‌های CAR-T نیز منجر به افزایش تکثیر، جلوگیری از آپوپتوز، بهبود فرسودگی و افزایش پایداری سلول‌های اجرایی شده است [۳۶]. در مقابل، CD28 یک فاکتور تمایزی است که منجر به تمایز سلول‌های T به فنوتیپ سلول اجرایی خاطره‌ای می‌شود. فعال شدن سلول T از طریق مسیر کمک تحریکی CD28، سبب القاء تولید IL2 و افزایش IFN-γ می‌شود [۳۷–۳۹]. مقایسه CD28 و 4-1BB در مطالعات پیش بالینی نشان داد که سلول‌های CAR-T نسل دوم دارای CD28، سرعت عملکرد بالاتری دارند [۴۱،۴۰]، اما در شرایط درون‌تنی دوام کم‌تری نسبت به سلول‌های CAR-T نسل دوم حاوی قطعه 4-1BB دارند [۴۲،۴۰]. در مقابل، سلول‌های CAR-T حاوی 4-1BB سرعت کم‌تری در حذف تومور دارند اما در نهایت با گذشت زمان، کارایی ضدتوموری قابل مقایسه‌ای نسبت به CD28 دارند [۴۰]. سلول‌های CAR-T نسل دوم دارای ناحیه پیام‌رسانی CD28 که تعداد موتیف‌های فعال تیروزین کینازی کم‌تری دارند، کارایی و دوام بیش‌تری را در شرایط درون‌تنی نشان داده‌اند [۴۳]. در طراحی‌های دیگر، مشخص شد سلول‌های T مهندسی شده‌ای که از طریق مسیر پیام‌رسانی طبیعی TCR فعال می‌شوند نسبت به سلول‌های CAR-T که با پیام‌رسانی CD28 فعال می‌شوند، در هر دو مدل تومورهای جامد و خونی بهتر عمل می‌کنند [۴۴،۴۵].

جدول ۱. مشکلات ساختاری CAR-T-cell و راه حل‌های رفع این مشکلات

ساختار	مشکل	راه حل	مرجع
ScFv	کارکرد ضدتوموری کم، دوام کم سلولهای CAR-T در بدن، شوک آنافیلاکسی و ایست قلبی ناشی از ایمنی زایی علیه بخش های غیرانسانی scFv	استفاده از نانوبادی به علت همولوژی بالای آن با VH انسان، استفاده از scFv انسانی شده	[۳۱, ۹۸, ۹۹]
	توانایی کشندگی سریالی کم و افزایش فرسودگی سلول CAR-T، کاهش تولید و دوام سلولهای T اجرایی و خاطره مرکزی، ایجاد سندرم آزادسازی سایتوکاین و ایجاد سمیت روی بافتهای نرمال بدن به دلیل قدرت اتصال بالا	کاهش قدرت اتصال CAR	[۱۰۰–۱۰۲]
فضاساز /لولا	کارکرد ضد توموری کم	تغییر طول فضاساز	[۱۰۳]
	CH2-CH3 مشتق از IgG: مرگ سلولهای T به دلیل فعالسازی آن‌ها از طریق اتصال گیرنده‌های Fc سلول‌های میلوئیدی به بخش فضاساز CAR	کوتاه کردن ناحیه فضاساز، جهش در IgG به منظور جلوگیری از اتصال گیرنده‌های Fc به فضاساز	[۱۰۴]
نواحی پیام رسانی	دوام کم و گسترش محدود سلولهای CAR-T نسل دوم حاوی CD28 در بیماران مبتلا به سرطان خون با بار توموری کم	افزودن بخش کمک تحریکی 4-1BB	[۱۰۵]
	پیام رسانی قوی و CRS* درسلولهای CAR-T نسل سوم	کاهش تعداد نواحی کمک تحریکی	[۱۰۱]
	کارآیی ضدتوموری ضعیف سلولهای CAR-T نسل سوم در بدن به دلیل مرگ سلولی ناشی از افزایش بیان FasL	کاهش تعداد نواحی کمک تحریکی	[۱۰۶]
	بیان سطحی کم CAR، کاهش تدریجی بیان CAR	ایجاد جهش در نواحی پیام رسانی CD3ζ جهت افزایش بیان سطحی و دایمرشدن CAR	[۱۰۷]
	دوام و پاسخ ضد توموری کم سلولهای CAR-T نسل دوم حاوی CD28	تغییر آسپاراژین به فنیل آلانین در بخش CD28 . جهش در زیربخش‌های YMNM و PRRP و باقی ماندن فقط زیر بخش PYAP از CD28	[۱۰۸] [۱۰۹]

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

روش‌های انتقال ژن آنتی‌ژن کایمری به سلول‌های T. تولید سلول CAR-T با جمع‌آوری سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) از بیمار آغاز می‌شود. از طریق روش‌های مهندسی سلول، ژن CAR در محیط آزمایشگاهی تهیه و به سلول T انتقال داده می‌شود تا در این سلول بیان شود. سپس این سلول‌ها در آزمایشگاه تکثیر شده و مجدداً به بیمار تزریق می‌شوند تا واسطه‌ی حذف تومور باشند. روش‌های ژنی مختلفی برای انتقال یک ژن خاص به لنفوسیت‌های T انسانی وجود دارد [۴۶]. در این‌جا روش‌های انتقال ژنی که اساس روش‌های فعلی در درمان با سلول‌های CAR-T است مورد بررسی قرار می‌گیرد. مزایا و معایب هر یک از روش‌های انتقال ژن به‌طور خلاصه در جدول ۲ آورده شده است.

وکتورهای ویروسی. وکتورهای ویروسی ابزاری ایمن، کارآ و قوی برای انتقال پایدار ژن‌ها به انواع گسترده‌ای از سلول‌های پستانداران هستند. در اکثر آزمایش‌های بالینی سلول CAR-T، وکتورهای لنتی ویروسی یا رتروویروسی برای انتقال ژن CAR به ژنوم سلول‌های T فعال استفاده شده‌اند. وکتورهای رتروویروسی به دلیل داشتن سه ویژگی مهم، به عنوان یک سیستم انتقال ژن به شدت جذاب، مطرح هستند. اولاً، توانایی درج ژن هدف در کروموزوم سلول هدف و بیان پایدار آن را دارند. ثانیاً، ظرفیت نسبتاً بالای این وکتورها، اجازه انتقال سازه‌های ژنی طویل (تا حدود ۱۰kb) را می‌دهد. سوماً، این وکتورها خطر کم‌تری دارند زیرا ژن‌های کدکننده پروتئین‌های ویروسی به سلول انتقال نمی‌یابند و خطر حمله سلول‌های T اختصاصی آنتی‌ژن ویروسی به سلول‌های دست‌کاری شده با وکتور ویروسی وجود ندارد. اما رتروویروس‌ها برخلاف لنتی‌ویروس‌ها (که در بسیاری از ویژگی‌ها با وکتورهای رتروویروس مشتق شده از رتروویروس‌های انکوژنیک مشترک هستند) و آدنوویروس‌ها، توانایی آلوده کردن سلول‌های غیرتقسیم‌شونده را ندارند [۴۷]. اگرچه وکتورهای رتروویروس در مقایسه با وکتورهای لنتی‌ویروس، با خطر افزایش جهش‌زایی در سلول‌های بنیادی خون‌ساز مرتبط هستند، اما تاکنون هیچ تفاوت بالینی بین سلول‌های CAR-T تولید شده از طریق وکتورهای رترو و لنتی ویروسی مشاهده نشده است. پیگیری طولانی‌مدت بیماران تحت درمان با سلول‌های CAR-T مهندسی شده توسط وکتورهای رتروویروسی، نشان داد استفاده از این وکتورها بی‌خطر است [۴۹،۴۸]. وکتورهای آدنوویروسی گزینه دیگری هستند که از آن‌ها به عنوان یک الگو برای وارد کردن ژن گیرنده کایمری به سلول T به همراه ویرایش ژنی استفاده شده است. برای مثال، در مطالعه‌ای از وکتور AAV6 به عنوان وکتور آدنوویروسی جهت انتقال ژن anti-CD19-CAR به سلول‌های T با استفاده از اندونوکلئاز مهندسی شده استفاده شده است [۵۰].

ترانسپوزون DNA. وکتورهای ویروسی، عوامل بیولوژیکی پیچیده و پرهزینه‌ای هستند. استفاده از DNA ترنسپوزون، یک روش غیرویروسی انتقال ژن است که هزینه کم‌تری دارد [۵۱]. سیستم "زیبای خفته" (sleeping beauty)، یکی از سیستم‌های ترنسپوزونی است که با استفاده از آن می‌توان سلول‌های T مهندسی شده با کیفیت برای بررسی‌های بالینی تولید کرد. این سیستم دارای توالی‌های هدف ترنسپوزونی است که از طریق پروتئین ترنسپوزاز می‌تواند به صورت پایدار در ژنوم میزبان درج شود. نکته مهم این است که در سیستم زیبای خفته، جهش‌زایی کم‌تری نسبت به وکتورهای رترو/لنتی ویروسی مشاهده شده است؛ زیرا سیستم درج تصادفی دارند اما وکتورهای ویروسی، تمایل بیش‌تری به سمت مکان‌های رونویسی دارند [۵۲]. کارآزمایی بالینی سلول CD19-CAR-Tبا استفاده از سیستم ترنسپوزون، کارایی و ایمن بودن این روش را نشان داده است [۵۳]. روش‌های جایگزینی مثل سیستمPiggyBac هم برای تولید چند نوع سلول T مهندسی شده مثل سلول‌های CD19-CAR-T و HER2-CAR-Tاختصاصی ویروس اپشتین بار (EBV) به‌کار رفته است [۵۵،۵۴]. مطالعات بالینی فاز یک، استفاده از سیستم PiggyBac برای تولید سلول‌های EGFR-CAR-T، بی‌خطر بودن و امکان استفاده از این سیستم برای انتقال ژن به سلول‌های T (بقای بیمار بدون پیشرفت بیماری= ۷/۳ ماه و میانگین کلی بقا= ۱۵/۶۳ ماه) را نشان داد [۵۶].

الکتروپوریشن. الکتروپوریشن mRNA، روشی ایمن بوده و از نظر تکنیکی، آماده‌سازی راحتی دارد. برخلاف الکتروپوریشنDNA ، mRNA نیازی به درج در ژنوم نداشته و می‌تواند به صورت موقت، ژن هدف را در سلول T بیان کند. این روش نگرانی‌های مربوط به سمیت ژنی و تولید یک رترو/لنتی ویروس مستعد به تکثیر و نیز جهش‌زایی درجی را ندارد. الکتروپوریشن mRNA اجازه می‌دهد تا بیان ژن مورد نظر بیش‌تر از یک هفته ادامه یابد. این روش می‌تواند برای غربالگری اولیه گیرنده‌های کایمری که می‌توانند با بافت‌های سالم بدن نیز واکنش دهند مفید باشد. بنابراین، با استفاده از بیان موقت CAR، نگرانی اصلاح ژنی پایدار سلول‌های T مهندسی شده که علاوه بر بافت تومور، سلول‌های سالم را نیز هدف قرار می‌دهند برطرف خواهد شد. در مطالعه‌ای که با استفاده از الکتروپوریشن mRNA انجام شد بیش از ۹۰٪

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

سلول‌ها ژن CAR را در سطح خود بیان کرده و توانستند پاسخ‌های ایمنی قوی علیه سلول‌های هدف نشان دهند [۵۷]. در مطالعه دیگری که در فاز بالینی روی بیماران مبتلا به مزوتلیومای بدخیم پلورال و با تزریق مکرر سلول‌های CAR-T مهندسی شده با الکتروپوریشن mRNA انجام شد مشاهده شد که سلول‌های CAR-T می‌توانند بدون ایجاد سمیت برای بافت‌های طبیعی منجر به اثرات ضد توموری قابل ملاحظه‌ای در بیماران شوند [۵۸].

در چند مطالعه از طریق الکتروپوریشن پلاسمید CAR، موفق به تولید سلول‌های CAR T شدند که توانایی بیان گیرنده کایمری روی سطح سلول T و فعال کردن آن‌ها را داشتند. طاهری و همکارانش با استفاده از الکتروپوریشن ژن VEGFR2-CAR توانستند سلول‌های CAR-T با فعالیت ضدتوموری قابل توجه علیه سلول‌های سرطانی بیان‌کننده VEGFR2 تولید کنند [۵۹]. حسنی و همکارانش نیز از طریق الکتروپوریشن پلاسمید DNA موفق به تولید سلول‌های PSMA-CAR-T شدند که در حضور آنتی‌ژن سطحی هدف، تکثیر شده و سلول‌های سرطانی هدف را از بین بردند [۶۱،۶۰]. تجربیات به‌دست آمده از تولید سلول‌های مهندسی شده با استفاده از الکتروپوریشن در این دو مطالعه، نشان داد که با وجود بهینه‌سازی الکتروپوریشن، میزان تراآلایی سلول‌ها پایین می‌باشد.

سیستم‌های ویرایش ژنوم. علاوه بر سیستم‌های وکتوری، اخیراً فناوری‌های ویرایش ژنوم نیز برای ایمنی‌درمانی موفقیت‌آمیز CAR-T cell مورد استفاده قرار گرفته‌اند. چهار روش اصلی برای ویرایش نواحی خاصی از ژنوم شامل مگانوکلئازها، نوکلئازهای انگشت روی(ZFN) ، نوکلئاز افکتور شبه فعال‌کننده رونویسی (TALENs) و سیستم Crisper-Cas9هستند [۶۲]. اگرچه TALENs وZFNs در کارآزمایی‌های بالینی مهندسی سلول T به‌کار رفته‌اند اما طراحی پروتئین برای آن‌ها پیچیده است. در حال حاضر، قدرتمندترین و جدیدترین مدل از این ابزارها، سیستم Crisper-Cas9 است. تکنیک‌های ویرایش ژن، برای تولید سلول‌های CAR-T آماده مصرف (off-the-shelf) مثل سلول‌های CAR-T فراگیر (universal) یا آلوژن به‌کار رفته‌اند. این روش‌ها، برای مختل کردن و حذف ژن‌های TCR و سایر ژن‌ها (به عنوان مثال PD-1، HLA) در سلول‌های T اولیه، استفاده شده‌اند [۶۵-۶۳].

در اولین مطالعه TALENs اختصاصی برای حذف گیرنده سلول T جهت جلوگیری از GVHD (Graft versus host disease) و حذف CD52، مارکر لنفوسیتی که بر روی سلول‌های B بیماران وجود دارد، استفاده شد. این روش امکان تولید سلول‌های CAR-T را به صورت off-the-shelf از سلول‌های T یک فرد اهداکننده، برای افراد مختلف فراهم می‌کند [۶۶]. تولید چنین محصولاتی که مشتق از یک فرد اهداکننده سلول هستند اما می‌توان آن‌ها را برای بسیاری از بیماران استفاده نمود، انقلابی در تولید محصولات سلول‌درمانی ایجاد کرده است. تعداد کم سلول‌های T، کیفیت پایین آن‌ها و یا بار توموری بالا در بعضی از بیماران، منجر به عدم امکان تولید سلول مهندسی شده کارا شده و یا تولید سلول را با شکست مواجه می‌کند [۶۷]. علاوه بر این، حتی بیمارانی که جمع‌آوری سلول از آن‌ها با موفقیت انجام شده بایستی چند هفته تا چند ماه منتظر تولید محصول و کنترل کیفی آن بمانند (این زمان برای بیماران با بدخیمی‌های تهاجمی غیرقابل تحمل است). به همین دلیل تحقیقات زیادی روی تولید سلول‌های CAR-T آماده مصرف با استفاده از سلول‌های T آلوژن در حال انجام است تا بتوان موانع موجود در درمان با سلول CAR-T را به حداقل رساند. به هر حال، برای ایمنی و کاربرد موثرتر سلول‌های CAR-T آلوژن، ممکن است نیاز به ویرایش مولکول‌های بیش‌تری (مثل HLA) در سلول T باشد. علاوه بر این، دانشمندان با وارد کردن ژن CD19-CAR به لوکوس TRAC با استفاده از فناوری Crisper-Cas9، نه تنها بیان یک‌دست و بالای گیرنده را روی سطح سلول T نشان دادند، بلکه پیام‌رسانی بهتر، تمایز کم‌تر سلول‌های CAR-T و در نتیجه فعالیت ضدتوموری بهتری نیز نسبت به سلول‌های CAR-T که با رتروویروس ترنسدیوس شده بودند، مشاهده کردند [۶۸].

اهمیت و بازار درمان‌های CAR-T-cell . شیوع سرطان با افزایش تقاضا برای داروهای ضد سرطان همراه است که منجر به رشد بازار این داروها می‌شود. علاوه بر این، پیشرفت فناوری در حوزه ژن‌درمانی و سلول‌درمانی برای درمان‌های قابل اعتماد و پیشرفته سرطان، سرعت رشد بازار را بیش‌تر می‌کند. پیش‌بینی شده است که بازار سلول و ژن‌درمانی با سرعت رشد سالانه ۲۱٪، در سال ۲۰۲۵ به ۱۷/۳۲ میلیارد دلار خواهد رسید. درمان‌های مبتنی بر سلولCAR-T ترکیبی از ژن‌درمانی و سلول‌درمانی بوده و قسمت اصلی بازار سلول و ژن‌درمانی را شکل می‌دهد [۶۹].

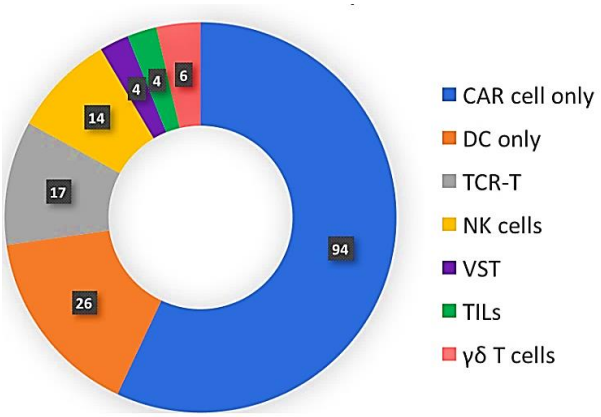
با توجه به داده‌های ارائه شده در سال ۲۰۱۸، در حوزه‌ی ایمنی‌درمانی سلولی نیز تمرکز اکثر شرکت‌های دارویی در دنیا که در زمینه توسعه محصولات سلول‌درمانی مشغول به فعالیت هستند، روی مهندسی سلول‌های T با گیرنده کایمری بوده است (شکل ۴).

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

جدول ۲. مزایا و معایب روش های مختلف در انتقال ژن هدف به سلول های T

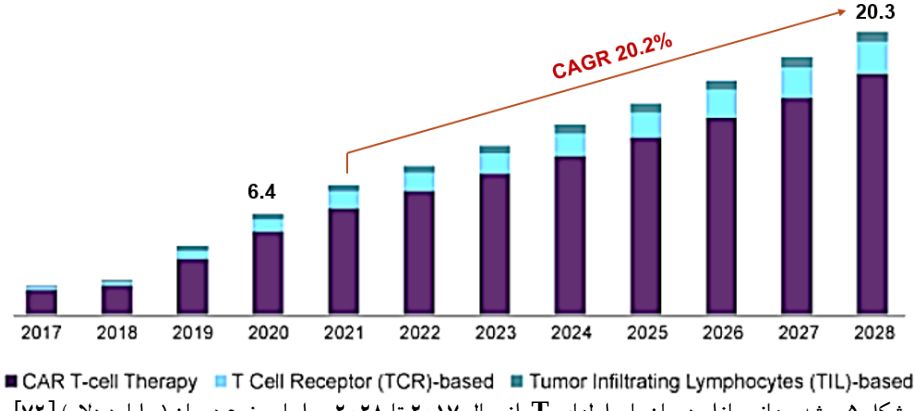
روش	مزایا	معایب	مرجع
الکتروپوریشن mRNA	ایمن، راحت، کم هزینه، بیان سریع ژن خارجی	میزان کم ترنسداکشن، بیان موقت CAR	[۴۶، ۵۱]
وکتورهای ویروسی	بیان دائمی و درمان پایدار، ظرفیت انتقال سازه‌های ژنی طویل، میزان بالای ترنسداکشن	پر هزینه، احتمال جهش زایی درجی به دلیل درج تصادفی، بیان غیر همگن ترنسژن، خاموش کردن رونویسی	[۴۶، ۱۱۰]
سیستم‌های ویرایش ژن	بیان بالاتر و همگن ترنسژن روی سطح سلول هدف، درج یا حذف اختصاصی ژن هدف و درنتیجه احتمال عوارض جانبی کمتر، کارایی بالا، امکان ویرایش چند ژن	طراحی پیچیده	[۱۱۱]
DNA ترنسپوزون	کم هزینه، روش تولید ساده، آزمایش رهاسازی ساده، بیان دائمی	خطر جهش زایی درجی به دلیل درج تصادفی ژن در ژنوم سلول هدف	[۳۷، ۵۱]

* CRS: سندرم آزادسازی سایتوکاین؛ این سندرم در اثر انتشار مقدار زیاد و سریع سایتوکاین ها توسط سلولهای ایمنی به داخل خون ایجاد می شود.



شکل۴. تعداد کل شرکت ها در دنیا که در سال ۲۰۱۸ روشهای مختلف سلول درمانی را در برنامه توسعه خود داشته‌اند [۱۱۲].

تجزیه و تحلیل اندازه بازار جهانی درمان با سلول‌های T نشان می‌دهد که تا سال ۲۰۲۸ این بازار رشد صعودی خواهد داشت و به ۲۰/۳ میلیارد دلار خواهد رسید (شکل ۵). هم‌چنین، بیش‌ترین بازار این روش‌های درمانی را سلول‌های CAR-T تشکیل می‌دهد و انتظار می‌رود با توجه به تاثیر محدودیت‌های مربوط به پاندمی کووید ۱۹، شامل رعایت فاصله اجتماعی، دورکاری و تعطیلی فعالیت‌های تجاری، ارزش بازار جهانی درمان با سلول CAR-T، تا سال ۲۰۲۵، با سرعت رشد سالانه ۲۲٪ به ۱۵/۳ میلیارد دلار برسد [۷۰].



شکل ۵. رشد جهانی بازار درمان با سلولهای T از سال ۲۰۱۷ تا ۲۰۲۸ بر اساس نوع درمان (میلیارد دلار) [۷۲]

درمان با سلول CAR-T، کارایی خارق‌العاده‌ای را در کارآزمایی‌های بالینی نشان داده است به‌طوری‌که در برخی از بیماران، باعث بهبودی طولانی‌مدت بیمار و درمان سرطان شده است [۷۱]. با تایید چهار فرآورده سلول CAR-T برای درمان بیماران مبتلا به انواع خاصی از سرطان خون، چندین شرکت دارویی مدل تجاری خود را از توسعه مولکول‌های

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

کوچک و پروتئین‌های دارویی به درمان‌های سلولی تغییر دادند [۷۲]. در آگوست و اکتبر سال ۲۰۱۷، به ترتیب داروی kymriahو سپس YESCARTA و در سال ۲۰۲۰ داروهای Tecartus وLiso-cel توسط سازمان غذا و داروی آمریکا به عنوان درمان‌های ضدسرطان قوی تایید شدند. هر چهار دارو آنتی‌ژنCD19 را هدف قرار می‌دهند [۷۳]. Kymriah توسط شرکت نوارتیس برای درمان کودکان و جوانان تا ۲۵ سال که دچار مقاومت یا عود B-cell Acute) B-ALL lymphoblastic leukemia) هستند، تولید شد. کارایی این درمان، بعد از گذشت سه ماه از تزریق دارو ۸۳٪ بهبودی کامل (Complete Response, CR) و در کوتاه‌مدت میزان کلی پاسخ ۸۳٪ (overal response rate, ORR) بود، در حالی‌که قبلاً لوکمی مقاوم با هیچ داروی دیگری قابل درمان نبود [۷۴].

YESCARTA و Tecartus توسط شرکت Kite Pharma/Gilead Sciences تولید شدند [۷۵،۷۶]. Yescarta برای درمان بزرگسالان مبتلا به لمفومای سلول B از جمله DLBCL و زیرگروه‌های لمفومای غیرهوچکینی بدخیم (NHL) تولید شد. میزان کلی پاسخ و میزان بهبودی کامل بیماران درمان شده با این دارو به ترتیب ۷۲٪ و ۵۸٪ گزارش شده است [۷۵]. Tecartus نیز برای درمان بیماران مبتلا به mantle-cell lymphoma (MCL) که دچار عود بیماری شده‌اند و یا نسبت به درمان‌های رایج مقاوم شده‌اند، به‌کار رفته است. پس از ۷ ماه، میزان پاسخ عینی (objective responce rate, ORR) و میزان پاسخ کامل بیماران، به ترتیب ۹۳٪ و ۶۷٪ بود [۷۸،۷۷]. تایید این دارو با تاخیر در دسامبر سال ۲۰۲۰، برای درمان مبتلایان به LBCL و لوکمی لمفوبلاستیک مزمن (CLL) انجام شد [۸۰،۷۹]. میزان کلی پاسخ و بهبودی کامل Liso-cel، نیز به ترتیب ۷۳٪ و ۵۳٪ بود و بر اساس داده‌های موجود، این دارو از نظر سمیت عصبی و تولید سایتوکاین‌های التهابی، پروفایل بی‌خطر مطلوبی دارد [۸۲،۸۱].

در مارس سال ۲۰۲۱، داروی Ide-cel که آنتی‌ژن BCMAرا هدف قرار می‌دهد برای درمان مالتیپل میلومای مقاوم یا عودکننده تایید شد [۸۳]. ۱۰ ماه پس از درمان با Ide-cel، میزان پاسخ کلی و پاسخ کامل بیماران، ۷۲٪ و ۲۸٪ گزارش شد در حالی‌که در اکثر بیماران، عوارض جانبی جدی مثل سندرم آزادسازی سایتوکاین (Cytokine release syndrome; CRS) درجه ۳ و بیش‌تر، سمیت عصبی، کاهش سلول‌های خون و سندرم فعال‌سازی ماکروفاژ/هموفاگوسیتیک لنفوهیستوسیتوز مشاهده شده است. Cilta-cel، یک سلول CAR-T دیگر علیه BCMA است که در فوریه ۲۰۲۲، تایید شد و کارایی و پروفایل خطر بهتری نسبت به Ide-cel نشان داد (۶۷٪ پاسخ کامل بدون CRS≤۳) [۸۴].

محدودیت‌ها و موانع رشد بازار داروهای CAR-T Cell

علی‌رغم موفقیت درمان‌های CAR-T cell، عوارض سمیت عصبی و CRS در بعضی از بیماران، از جمله نگرانی‌های این درمان است که می‌تواند سبب افزایش هزینه‌های درمان و مانع رشد بازار شود. تجویز داروهای CAR-T cell تحت برنامه REMS (استراتژی ارزیابی و کاهش ریسک) انجام می‌شود تا بتوان عوارض جانبی شدید و مخاطره‌آمیز آن‌ها را پایش و کنترل نمود [۸۵]. برای مثال، انجام تست‌های فارماکوژنتیک هنگام تجویز دارو، می‌تواند از طریق افزایش اثربخشی درمان و پیشگیری از عوارض ناخواسته آن، هزینه دارودرمانی را به حداقل برساند [۸۶]. هم‌چنین مطالعات پس از ورود به بازار باید انجام شود تا ایمنی طولانی‌مدت بیمار و خطر بدخیمی‌های ثانویه مورد بررسی قرار بگیرد [۸۵]. یکی از مهم‌ترین مشکلات این محصولات، قیمت بسیار بالای آن‌ها است که دسترسی بیماران به این داروها و رشد بازار آن‌ها را محدود می‌کند؛ هزینه یک بار تجویز محصول Kymriah ۴۷۵ هزار دلار، YESCARTA و Tecartus ۳۷۳ هزار دلار و قیمتLiso-cel در حدود ۴۱۰ هزار دلار می‌باشد [۸۷]. هزینه پایین‌تر محصول شرکت کایت فارما احتمالاً به دلیل تقسیم شدن هزینه تحقیق و توسعه، بین بخش خصوصی و دولتی است [۸۸]. هزینه یک دوره درمان با سلول‌های CAR-T بیش‌تر از قیمت محصول به تنهایی است؛ چرا که هزینه‌های جمع‌آوری سلول، تزریق و مدیریت عوارض آن (از جمله بستری شدن‌های مکرر، بخش مراقبت‌های ویژه و تجویز IL-6) به آن اضافه می‌شود. به همین دلیل، برای کاهش قیمت Kymriah، مراکز خدمات بهداشتی و دارویی با شرکت نوارتیس در حال مذاکره برای بستن قرارداد "قیمت‌گذاری بر اساس عوارض دارو" هستند تا بر اساس این قرارداد، فقط زمانی که بیمار در عرض یک ماه به درمان پاسخ دهد، این مراکز هزینه درمان را پرداخت نمایند [۸۹]. در حال حاضر، بیمارانی که در ماه اول به درمان پاسخ می‌دهند اما بعداً دچار عود بیماری می‌شوند متحمل پرداخت این هزینه هستند. اگر شرکت نوارتیس هزینه درمان را به بیمارانی که پس از ۱۲ ماه مجدداً مبتلا می‌شوند بازگرداند، هزینه تزریق دارو به ازای هر بیمار فقط ۲۰۰ هزار دلار خواهد بود [۸۸]. از سوی دیگر، گرچه گاهی CAR-T-cell می‌تواند جایگزین پیوند سلول‌های بنیادی در بیماران مبتلا به ALL شود اما در واقع این درمان پلی برای پیوند سلول است و بیمار متحمل پرداخت هزینه هر

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

دو درمان خواهد شد [۹۰]. با پیشرفت در فرایند تولید و کاهش هزینه کلی تولید محصول، پیش‌بینی می‌شود قیمت این داروها در آینده کاهش یابد.

یک استراتژی برای کاهش هزینه این روش درمانی، تولید محصولات CAR-T-cell به صورت آماده مصرف است که اخیراً وارد فاز اول کارآزمایی‌های بالینی شده است [۹۲،۹۱]. برای تولید این محصول از یک فرد اهداکننده سالم، مقادیر زیادی گلبول سفید جمع‌آوری شده و با حذف ژن‌های واکنش‌دهنده مثل HLA، امکان استفاده از این سلول‌ها برای بسیاری از بیماران امکان‌پذیر خواهد بود. ایجاد یک بانک سلولی اصلی (Master bank) و تهیه‌ی چندین دوز درمانی از یک بچ تولیدی، موجب کاهش چشمگیر هزینه کلی محصول خواهد شد. این کاهش به دلیل تقسیم هزینه بالای مواد اولیه، مراحل غنی‌سازی، انتخاب سلول و نیز کنترل کیفی بچ مربوطه در میان تعداد زیادی از دوزهای تهیه شده است. دو فاکتور کلیدی پرهزینه در طی تولید محصول، هزینه پرسنل و دفتر کار است که با روش‌هایی می‌توان این هزینه‌ها را نیز کاهش داد. برای مثال، تولید محصول در کشورها و مکان‌های ارزان‌تر، منجر به کاهش مستقیم در حقوق و دستمزد نیروی کار شده و نیز هزینه مکان و امکانات، مقرون به صرفه‌تر خواهد بود [۹۲]. هم‌چنین، برون‌سپاری تولید سلول CAR-T به مراکز دانشگاهی که دارای تجهیزات و فن‌آوری‌های واجد الزامات GMP (مثل انکوباتور Cocoon یا سیستم Miltenyi Prodigmy) هستند سبب دسترسی سریع‌تر و ارزان‌تر به این روش درمانی می‌شود [۹۳]. محصولات سلولی ماهیت پایداری دارند چرا که کارایی آن‌ها بعد از انجماد تغییر قابل ملاحظه‌ای نمی‌کند و می‌توان درصد زیادی از سلول‌ها را بعد از ذوب شدن بازیابی نمود. بنابراین امکان تولید این محصولات در محلی دور از محل مصرف امکان‌پذیر می‌باشد؛ اما ممکن است منجر به بالا رفتن هزینه‌های حمل و نقل و تأخیر در ارسال از گذرگاه‌های مرزی شود [۹۲]. با ادغام فرایندهای کلیدی تولید و ایجاد برخی تغییرات در فرایند تولید سلول‌های CAR-T، هزینه کلی محصول را می‌توان از ۶۰۰۰ تا ۲۰،۰۰۰ دلار کاهش داد [۹۲]. علاوه بر این روش‌ها، ایجاد سیستم‌های بیمه سلامت نیز در کاهش بار مالی درمان بیماران موثر است. در سال ۲۰۱۹، مراکز خدمات بیمه درمانی به منظور پر کردن شکاف بین هزینه درمان‌های CAR-T cell و پرداخت‌های بیمه سلامت، سیستم پرداخت آینده‌نگر را برای بیماران بستری راه‌اندازی کردند.

بحث و نتیجه‌گیری

درمان با سلول‌های CAR-T حوزه‌ی جدیدی از درمان سرطان به‌وسیله مهندسی سلول‌های ایمنی بیمار است. برای تولید محصولی که در بالین کارایی مؤثری داشته باشد بایستی شناخت کافی نسبت به اجزاء مختلف یک گیرنده کایمری و کارکرد آن‌ها داشت. برای مثال، چندین مطالعه بالینی نشان داد که استفاده از CAR با منشاء موشی، پاسخ‌های ایمنی را تحریک کرده و منجر به کاهش دوام و عملکرد ضد توموری سلول‌های CAR-T در بیماران می‌شود، در صورتی‌که استفاده از گیرنده‌های کایمری انسانی شده، ایمنی‌زایی را کاهش می‌دهند [۹۵،۹۴]. علاوه بر این، اگرچه قدرت بسیار پایین اتصال CAR برای هدف قرار دادن آنتی‌ژن‌های تومور که بیان کمی روی سلول‌های سالم هم دارند، روشی برای مهار اثرات on-target/off-tumor است، اما عملکردهای ضدتوموری سلول‌های CAR-T را کاهش می‌دهد. کاهش قدرت اتصال CAR در سازه‌های نسل دوم دارای 4-1BB، تولید سایتوکاین و لیز سلول‌های تومور را کاهش می‌دهد، در حالی‌که در سازه‌های نسل دوم حاوی CD28، تاثیر چندانی ندارد. افزودن قلمرو کمک تحریکی CD28 به سلول‌های CD38CAR-T دارای 4-1BB که قدرت اتصال بسیار پایین ($K_d<1.9 \times 10^{-6}$ M) دارند، تولید سایتوکاین، کنترل رشد تومور و ماندگاری این سلول‌ها را در بدن به میزان زیادی ارتقاء می‌دهد [۹۶]. سلول‌های CD19CAR-T که ناحیه فضاساز کوتاه‌تری دارند، کارکرد ضدتوموری بهتری دارند، در حالی‌که طول کوتاه‌تر فضاساز در سلول‌های CD20CAR-T عملکرد ضدتوموری آن‌ها را کاهش می‌دهد. بنابراین، بهینه‌سازی قدرت اتصال آنتی‌بادی تک‌زنجیره‌ای برای هدف قرار دادن آنتی‌ژن توموری، استفاده از ناحیه فضاساز با طول و انعطاف‌پذیری مناسب و نیز استفاده از نواحی خارج سلولی کاملاً انسانی در ترکیب با بخش‌های پیام‌رسان درون سلولی که قادر به انتقال پیام از طریق مسیر طبیعی TCR باشند می‌تواند موجب تقویت کارکرد ضدتوموری سلول CAR-T، کاهش عوارض جانبی روی سلول‌های نرمال و در نتیجه بهبود شاخص درمانی شوند.

روش‌های مختلف انتقال ژن، امکان ایجاد هر نوع تغییر ژنی در سلول T را فراهم می‌کند. در مطالعات پیش بالینی و بالینی تولید سلول‌های CAR-T، اغلب از وکتورهای ویروسی برای انتقال ژن به سلول T استفاده می‌شود زیرا میزان ترنسداکشن بالایی داشته و قادر به انتقال ژن‌های طویل می‌باشند. علاوه بر این، سیستم‌های دیگری نیز برای بیان افزایش یافته و پایدار CAR در نواحی اختصاصی از ژنوم سلول T استفاده شده است. به عنوان مثال، ترنسفکشن

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

همزمان آنزیم اینتگراز PhiC31 با پلاسمید CAR نشان داد که بیان CAR، پس از ۳۰ روز، ۳۰ برابر بیش‌تر از بیان CAR بدون استفاده از این آنزیم بوده است [۹۷]. اخیراً استفاده از سیستم ویرایش ژن Crisper-cas9 نیز به دلیل تولید سلول‌های CAR-T آماده مصرف مورد توجه قرار گرفته است. در گذشته، قابلیت انتقال سیستم‌های ویرایش ژن به‌ویژه Crisper-Cas9 به بیماران بررسی شده و اختصاصیت و حساسیت بالای آن نشان داده شده است [۶۳].

بخشی از عدم دسترسی به درمان CAR-T-cell، به دلیل بار اقتصادی سنگینی است که به بیمار تحمیل می‌شود و کاربرد آن را محدود می‌کند. برون‌سپاری و تولید این محصولات در مکان‌های ارزان‌تر و تمرکز بر روی تولید محصولات آماده مصرف می‌تواند تاثیر عمده‌ای بر کاهش هزینه این درمان و دسترسی بیش‌تر بیماران داشته باشد. با ایجاد ابتکار در خدمات سیستم‌های بیمه، انتظار می‌رود نهادهای بازپرداخت، تاثیر عمده‌ای در تغییر مسیر رشد بازار داشته باشند. با توجه به تایید شش داروی CAR-T-cell و نتایج بالینی امیدوارکننده آن‌ها، اشتیاق صنایع دارویی به تولید محصولات ژن و سلول درمانی و نیز روند رو به رشد بازار فروش آن، انتظار می‌رود نسل بعدی محصولات دارویی ضدسرطان، فرآورده‌های CAR-T-cell باشند که به آن‌ها "داروهای زنده" نیز گفته می‌شود. اگرچه درمان‌های سلولی بر اساس CAR-T-cell یکی از موفق‌ترین درمان‌ها در بیماران مبتلا به انواع خاصی از سرطان‌های خونی بوده است اما تحقیقات برای تولید چنین محصولاتی جهت درمان سایر سرطان‌ها به‌ویژه سرطان‌های جامد ادامه دارد. تلاش محققان در جهت کاهش هزینه‌های تولید از طریق فناوری‌های نوین، در کنار ابتکار سیستم‌های بیمه سلامت می‌تواند چالش‌های مربوط به بار اقتصادی پرهزینه و عدم دسترسی بیماران به این درمان را مرتفع سازد.

علاوه بر محدودیت‌های مطرح شده برای دسترسی بیماران به این داروها، چالش‌های دیگری از جمله شناسایی و انتخاب آنتی‌ژن اختصاصی تومور، چالش‌های مربوط به ریزمحیط پیچیده تومورهای جامد، مکانیسم‌های فرار تومور، جداسازی و تزریق فنوتیپ خاصی از سلول‌های T مهندسی شده و عوارض جانبی این داروها وجود دارد که نیاز است در مطالعات بعدی به بررسی بیش‌تر آن‌ها پرداخته شود.

تشکر و قدردانی

این مطالعه تحت حمایت مالی انستیتوپاستور ایران و در بخش ایمونولوژی این مؤسسه انجام گردید. از زحمات تمام دوستانی که در انجام این مطالعه همکاری داشته‌اند کمال تشکر را داریم.

مشارکت و نقش نویسندگان

زهرا شریف‌زاده و شفیعه منصوری: ایده و طراحی مطالعه، شفیعه منصوری: نگارش نسخه اولیه مقاله، منیره قلیزاده: جمع‌آوری داده‌ها، شهریار عبدلی و محمدعلی شکرگزار: نگارش قسمت بحث، سهیلا اژدری و محسن بصیری: آنالیز نتایج، زهرا شریف‌زاده: ویرایش مقاله نهایی، همه نویسندگان نسخه نهایی مقاله را تایید نمودند.

منابع

[1] Global Cancer Observatory [cited 2021 Feb 26]. Available from: https://gco.iarc.fr/.

[2] Zamani F, Oraee-Yazdani S, Langroudi L, Hashemi SM. Role of mesenchymal stem cells in growth and progression of cancer and prospective potentials in cancer therapy. Koomesh 2022; 24: 1-25. (Persian).

[3] Global Cancer Observatory. Available from: https://gco.iarc.fr/.

[4] Jiang X, Xu J, Liu M, Xing H, Wang Z, Huang L, et al. Adoptive CD8+ T cell therapy against cancer: Challenges and opportunities. Cancer Lett 2019; 462: 23-32. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.07.017 PMid:31356845

[5] Hartmann J, Schüßler-Lenz M, Bondanza A, Buchholz CJ. Clinical development of CAR T cells-challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. EMBO Mol Med 2017; 9: 1183-1197. https://doi.org/10.15252/emmm.201607485 PMid:28765140 PMCid:PMC5582407

[6] Wang M, Yin B, Wang HY, Wang RF. Current advances in T-cell-based cancer immunotherapy. Immunotherapy 2014; 6: 1265-1278. https://doi.org/10.2217/imt.14.86 PMid:25524383 PMCid:PMC4372895

[7] Sarkar I, Pati S, Dutta A, Basak U, Sa G. T-memory cells against cancer: remembering the enemy. Cell Immunol 2019; 338: 27-31. https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2019.03.002 PMid:30928016

[8] Rosenberg SA, Spiess P, Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. Science 1986; 233: 1318-1321. https://doi.org/10.1126/science.3489291 PMid:3489291

[9] June C, Rosenberg SA, Sadelain M, Weber JS. T-cell therapy at the threshold. Nat Biotechnol 2012; 30: 611-614. https://doi.org/10.1038/nbt.2305 PMid:22781680 PMCid:PMC6332500

[10] Robbins PF, Kassim SH, Tran TL, Crystal JS, Morgan RA, Feldman SA, et al. A pilot trial using lymphocytes genetically engineered with an NY-ESO-1-reactive T-cell receptor: long-term follow-up and correlates with response. Clin Cancer Res 2015; 21: 1019-1027. https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-2708 PMid:25538264 PMCid:PMC4361810

[11] Eckle SB, Turner SJ, Rossjohn J, McCluskey J. Predisposed αβ T cell antigen receptor recognition of MHC and MHC-I like molecules? Curr Opin Immunol 2013; 25: 653-659. https://doi.org/10.1016/j.coi.2013.07.010 PMid:23993410

[12] Shao H, Zhang W, Hu Q, Wu F, Shen H, Huang S. TCR mispairing in genetically modified T cells was detected by fluorescence resonance energy transfer. Mol Biol Rep 2010; 37: 3951-3956.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[26] Plückthun A. Designed ankyrin repeat proteins (DARPins): binding proteins for research, diagnostics, and therapy. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2015; 55: 489-511. https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010611-134654 PMid:25562645

[27] Wagner DL, Fritsche E, Pulsipher MA, Ahmed N, Hamieh M, Hegde M, et al. Immunogenicity of CAR T cells in cancer therapy. Nat Rev Clin Oncol 2021; 18: 379-393. https://doi.org/10.1038/s41571-021-00476-2 PMid:33633361 PMCid:PMC8923136

[28] Davies DM, Foster J, Van Der Stegen SJ, Parente-Pereira AC, Chiapero-Stanke L, Delinassios GJ, et al. Flexible targeting of ErbB dimers that drive tumorigenesis by using genetically engineered T cells. Mol Med 2012; 18: 565-576. https://doi.org/10.2119/molmed.2011.00493 PMid:22354215 PMCid:PMC3388141

[29] Liu X, Jiang S, Fang C, Yang S, Olalere D, Pequignot EC, et al. Affinity-tuned ErbB2 or EGFR chimeric antigen receptor T cells exhibit an increased therapeutic index against tumors in mice. Cancer Res 2015; 75: 3596-3607. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0159 PMid:26330166 PMCid:PMC4560113

[30] Zah E, Lin M-Y, Silva-Benedict A, Jensen MC, Chen YY. ADDENDUM: T cells expressing CD19/CD20 bispecific chimeric antigen receptors prevent antigen escape by malignant B cells. Cancer Immunol Res 2016; 4: 639-641. https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-16-0108 https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-15-0231 PMCid:PMC4933590

[31] Sharifzadeh Z, Rahbarizadeh F, Shokrgozar MA, Ahmadvand D, Mahboudi F, Jamnani FR, et al. Genetically engineered T cells bearing chimeric nanoconstructed receptors harboring TAG-72-specific camelid single domain antibodies as targeting agents. Cancer Lett 2013; 334: 237-244. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.08.010 PMid:22902507

[32] Cheadle E, Rothwell D, Bridgeman J, Sheard V, Hawkins R, Gilham D. Ligation of the CD2 co-stimulatory receptor enhances IL-2 production from first-generation chimeric antigen receptor T cells. Gene Ther 2012; 19: 1114-1120. https://doi.org/10.1038/gt.2011.192 PMid:22130449

[33] Lanitis E, Poussin M, Klattenhoff AW, Song D, Sandaltzopoulos R, June CH, et al. Chimeric antigen receptor T Cells with dissociated signaling domains exhibit focused antitumor activity with reduced potential for toxicity in vivo. Cancer Immunol Res 2013; 1: 43-53. https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0008 PMid:24409448 PMCid:PMC3881605

[34] Kim DW, Cho JY. Recent advances in allogeneic CAR-T cells. Biomolecules 2020; 10: 263. https://doi.org/10.3390/biom10020263 PMid:32050611 PMCid:PMC7072190

[35] Bagheri S, Safaie Qamsari E, Yousefi M, Riazi-Rad F, Sharifzadeh Z. Targeting the 4-1BB costimulatory molecule through single chain antibodies promotes the human T-cell response. Cell Mol Biol Lett 2020; 25: 1-13. https://doi.org/10.1186/s11658-020-00219-8 PMid:32336974 PMCid:PMC7178758

[36] Sukumaran S, Watanabe N, Bajgain P, Raja K, Mohammed S, Fisher WE, et al. Enhancing the potency and specificity of engineered T cells for cancer treatment. Cancer Discover 2018; 8: 972-987. https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-17-1298 PMid:29880586 PMCid:PMC6428579

[37] Mir MA. editor T-Cell Costimulation and Its Applications in Diseases 2015. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802585-7.00006-6

[38] Hombach A, Wieczarkowiecz A, Marquardt T, Heuser C, Usai L, Pohl C, et al. Tumor-specific T cell activation by recombinant immunoreceptors: CD3ζ signaling and CD28 costimulation are simultaneously required for efficient IL-2 secretion and can be integrated into one combined CD28/CD3ζ signaling receptor molecule. J Immunol 2001; 167: 6123-6131. https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.11.6123 PMid:11714771

[39] Stoiber S, Cadilha BL, Benmebarek MR, Lesch S, Endres S, Kobold S. Limitations in the design of chimeric antigen receptors for cancer therapy. Cells 2019; 8: 472. https://doi.org/10.1007/s11033-010-0053-y PMid:20373027

[13] Bendle GM, Linnemann C, Hooijkaas AI, Bies L, de Witte MA, Jorritsma A, et al. Lethal graft-versus-host disease in mouse models of T cell receptor gene therapy. Nat Med 2010; 16: 565-570. https://doi.org/10.1038/nm.2128 PMid:20400962

[14] van Loenen MM, de Boer R, Amir AL, Hagedoorn RS, Volbeda GL, Willemze R, et al. Mixed T cell receptor dimers harbor potentially harmful neoreactivity. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107: 10972-10977. https://doi.org/10.1073/pnas.1005802107 PMid:20534461 PMCid:PMC2890759

[15] Gomes-Silva D, Ramos CA. Cancer immunotherapy using CAR-T cells: from the research bench to the assembly line. Biotechnology 2018; 13: 1700097. https://doi.org/10.1002/biot.201700097 PMid:28960810 PMCid:PMC5966018

[16] Rohaan MW, Wilgenhof S, Haanen JB. Adoptive cellular therapies: the current landscape. Virchows Arch 2019; 474: 449-461. https://doi.org/10.1007/s00428-018-2484-0 PMid:30470934 PMCid:PMC6447513

[17] Kansagra A, Farnia S, Majhail N. Expanding access to chimeric antigen receptor T-cell therapies: challenges and opportunities. Am Soc Clin Oncol Educ Book 2020; 40: e27-e34. https://doi.org/10.1200/EDBK_279151 PMid:32347759

[18] Guo Y, Feng K, Tong C, Jia H, Liu Y, Wang Y, et al. Efficiency and side effects of anti-CD38 CAR T cells in an adult patient with relapsed B-ALL after failure of bi-specific CD19/CD22 CAR T cell treatment. Cell Mol Immunol 2020; 17: 430-432. https://doi.org/10.1038/s41423-019-0355-5 PMid:31900459 PMCid:PMC7109086

[19] Castelletti L, Yeo D, van Zandwijk N, Rasko JE. Anti-Mesothelin CAR T cell therapy for malignant mesothelioma. Biomark Res 2021; 9: 1-13. https://doi.org/10.1186/s40364-021-00264-1 PMid:33588928 PMCid:PMC7885509

[20] Nukala U, Rodriguez Messan M, Yogurtcu ON, Wang X, Yang H. A systematic review of the efforts and hindrances of modeling and simulation of CAR T-cell therapy. AAPS J 2021; 23: 1-20. https://doi.org/10.1208/s12248-021-00579-9 PMid:33835308

[21] Chong EA, Alanio C, Svoboda J, Nasta SD, Landsburg DJ, Lacey SF, et al. Pembrolizumab for B-cell lymphomas relapsing after or refractory to CD19-directed CAR T-cell therapy. Blood 2022; 139: 1026-1038. https://doi.org/10.1182/blood.2021012634 PMid:34496014 PMCid:PMC9211527

[22] Baird JH, Frank MJ, Craig J, Patel S, Spiegel JY, Sahaf B, et al. CD22-Directed CAR T-cell therapy mediates durable complete responses in adults with relapsed or refractory large B-cell lymphoma after failure of CD19-directed CAR T-cell therapy and high response rates in adults with relapsed or refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia. Blood 2020; 136: 28-29. https://doi.org/10.1182/blood-2020-139087

[23] Bastos-Oreiro M, de las Heras A, Presa M, Casado MA, Pardo C, Martín-Escudero V, et al. Cost-Effectiveness analysis of axicabtagene ciloleucel vs. tisagenlecleucel for the management of relapsed/refractory diffuse large B-Cell lymphoma in spain. Cancers 2022; 14: 538. https://doi.org/10.3390/cancers14030538 PMid:35158805 PMCid:PMC8833685

[24] Kalos M, June CH. Adoptive T cell transfer for cancer immunotherapy in the era of synthetic biology. Immunity 2013; 39: 49-60. https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.002 PMid:23890063 PMCid:PMC3809038

[25] Rahimi Jamnani F, Shokrgozar MA, Mahboudi F, Ahmadvand D, Sharifzadeh Z, Parhamifar L, Moghimi SM. T cells expressing VHH-directed oligoclonal chimeric HER2 antigen receptors: towards tumor-directed oligoclonal T cell therapy. Biochim Biophys Acta 2014; 1840: 378-386. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.09.029 PMid:24076235

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

[53] Singh H, Huls H, Kebriaei P, Cooper LJ. A new approach to gene therapy using Sleeping Beauty to genetically modify clinical-grade T cells to target CD 19. Immunol Rev 2014; 257: 181-190.
https://doi.org/10.1111/imr.12137
PMid:24329797 PMCid:PMC4109051
[54] Manuri PV, Wilson MH, Maiti SN, Mi T, Singh H, Olivares S, et al. piggyBac transposon/transposase system to generate CD19-specific T cells for the treatment of B-lineage malignancies. Human Gene Ther 2010; 21: 427-437.
https://doi.org/10.1089/hum.2009.114
PMid:19905893 PMCid:PMC2938363
[55] Nakazawa Y, Huye LE, Salsman VS, Leen AM, Ahmed N, Rollins L, et al. PiggyBac-mediated cancer immunotherapy using EBV-specific cytotoxic T-cells expressing HER2-specific chimeric antigen receptor. Mol Ther 2011; 19: 2133-2143.
https://doi.org/10.1038/mt.2011.131
PMid:21772253 PMCid:PMC3242651
[56] Zhang Y, Zhang Z, Ding Y, Fang Y, Wang P, Chu W, et al. Phase I clinical trial of EGFR-specific CAR-T cells generated by the piggyBac transposon system in advanced relapsed/refractory non-small cell lung cancer patients. J Cancer Res Clin Oncol 2021; 147: 3725-3734.
https://doi.org/10.1007/s00432-021-03613-7
PMid:34032893
[57] Yoon S, Lee J, Cho H, Kim E, Kim H, Park M, et al. Adoptive immunotherapy using human peripheral blood lymphocytes transferred with RNA encoding Her-2/neu-specific chimeric immune receptor in ovarian cancer xenograft model. Cancer Gene Ther 2009; 16: 489-497.
https://doi.org/10.1038/cgt.2008.98
PMid:19096447
[58] Beatty GL, Haas AR, Maus MV, Torigian DA, Soulen MC, Plesa G, et al. Mesothelin-specific chimeric antigen receptor mRNA-engineered T cells induce antitumor activity in solid malignancies. Cancer Immunol Res 2014; 2: 112-120.
https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0170
PMid:24579088 PMCid:PMC3932715
[59] Hajari Taheri F, Hassani M, Sharifzadeh Z, Behdani M, Arashkia A, Abolhassani M. T cell engineered with a novel nanobody-based chimeric antigen receptor against VEGFR2 as a candidate for tumor immunotherapy. IUBMB Life 2019; 71: 1259-1267.
https://doi.org/10.1002/iub.2019
PMid:30724452
[60] Hassani M, Hajari Taheri F, Sharifzadeh Z, Arashkia A, Hadjati J, van Weerden WM, et al. Construction of a chimeric antigen receptor bearing a nanobody against prostate a specific membrane antigen in prostate cancer. J Cell Biochem 2019; 120: 10787-10795.
https://doi.org/10.1002/jcb.28370
PMid:30672018
[61] Hassani M, Taheri FH, Sharifzadeh Z, Arashkia A, Hadjati J, van Weerden WM, et al. Engineered jurkat cells for targeting prostate-specific membrane antigen on prostate cancer cells by nanobody-based chimeric antigen receptor. Iran Biomed J 2020; 24: 81.
https://doi.org/10.29252/ibj.24.2.81
PMid:31677604 PMCid:PMC6984713
[62] Delhove JM, Qasim W. Genome-edited T cell therapies. Curr Stem Cell Rep 2017; 3: 124-136.
https://doi.org/10.1007/s40778-017-0077-5
PMid:28596938 PMCid:PMC5445182
[63] Ren J, Zhao Y. Advancing chimeric antigen receptor T cell therapy with CRISPR/Cas9. Protein Cell 2017; 8: 634-643.
https://doi.org/10.1007/s13238-017-0410-x
PMid:28434148 PMCid:PMC5563282
[64] Schumann K, Lin S, Boyer E, Simeonov DR, Subramaniam M, Gate RE, et al. Generation of knock-in primary human T cells using Cas9 ribonucleoproteins. Proc Natl Acad Sci U S A 2015; 112: 10437-10442.
https://doi.org/10.1073/pnas.1512503112
PMid:26216948 PMCid:PMC4547290
[65] Poirot L, Philip B, Schiffer-Mannioui C, Le Clerre D, Chion-Sotinel I, Derniame S, et al. Multiplex genome-edited T-cell manufacturing platform for "off-the-shelf" adoptive T-cell immunotherapies. Cancer Res 2015; 75: 3853-3864.
https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3321
PMid:26183927
https://doi.org/10.3390/cells8050472
PMid:31108883 PMCid:PMC6562702
[40] Zhao Z, Condomines M, van der Stegen SJ, Perna F, Kloss CC, Gunset G, et al. Structural design of engineered costimulation determines tumor rejection kinetics and persistence of CAR T cells. Cancer Cell 2015; 28: 415-428.
https://doi.org/10.1016/j.ccell.2015.09.004
PMid:26461090 PMCid:PMC5003056
[41] Carpenito C, Milone MC, Hassan R, Simonet JC, Lakhal M, Suhoski MM, et al. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains. Proc Nat Acad Sci 2009; 106: 3360-3365.
https://doi.org/10.1073/pnas.0813101106
PMid:19211796 PMCid:PMC2651342
[42] Milone MC, Fish JD, Carpenito C, Carroll RG, Binder GK, Teachey D, et al. Chimeric receptors containing CD137 signal transduction domains mediate enhanced survival of T cells and increased antileukemic efficacy in vivo. Mol Ther 2009; 17: 1453-1464.
https://doi.org/10.1038/mt.2009.83
PMid:19384291 PMCid:PMC2805264
[43] Feucht J, Sun J, Eyquem J, Ho YJ, Zhao Z, Leibold J, et al. Calibration of CAR activation potential directs alternative T cell fates and therapeutic potency. Nat Med 2019; 25: 82-88.
https://doi.org/10.1038/s41591-019-0360-3
https://doi.org/10.1038/s41591-018-0290-5
PMid:30559421 PMCid:PMC6532069
[44] Helsen CW, Hammill JA, Lau VW, Mwawasi KA, Afsahi A, Bezverbnaya K, et al. The chimeric TAC receptor co-opts the T cell receptor yielding robust anti-tumor activity without toxicity. Nat Commun 2018; 9: 1-13.
https://doi.org/10.1038/s41467-018-05395-y
PMid:30076299 PMCid:PMC6076291
[45] Xu Y, Yang Z, Horan LH, Zhang P, Liu L, Zimdahl B, et al. A novel antibody-TCR (AbTCR) platform combines Fab-based antigen recognition with gamma/delta-TCR signaling to facilitate T-cell cytotoxicity with low cytokine release. Cell Discov 2018; 4: 1-13.
https://doi.org/10.1038/s41421-018-0066-6
PMid:30479831 PMCid:PMC6242878
[46] Han S, Latchoumanin O, Wu G, Zhou G, Hebbard L, George J, et al. Recent clinical trials utilizing chimeric antigen receptor T cells therapies against solid tumors. Cancer Lett 2017; 390: 188-200.
https://doi.org/10.1016/j.canlet.2016.12.037
PMid:28089834
[47] Barde I, Salmon P, Trono D. Production and titration of lentiviral vectors. Curr Protoc Neurosci 2010; 53.
https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0421s53
[48] Scholler J, Brady TL, Binder-Scholl G, Hwang WT, Plesa G, Hege KM, et al. Decade-long safety and function of retroviral-modified chimeric antigen receptor T cells. Sci Transl Med 2012; 4: 132ra53.
https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3003761
PMid:22553251 PMCid:PMC4368443
[49] Montini E, Cesana D, Schmidt M, Sanvito F, Ponzoni M, Bartholomae C, et al. Hematopoietic stem cell gene transfer in a tumor-prone mouse model uncovers low genotoxicity of lentiviral vector integration. Nat Biotechnol 2006; 24: 687-696.
https://doi.org/10.1038/nbt1216
PMid:16732270
[50] MacLeod DT, Antony J, Martin AJ, Moser RJ, Hekele A, Wetzel KJ, et al. Integration of a CD19 CAR into the TCR alpha chain locus streamlines production of allogeneic gene-edited CAR T cells. Mol Ther 2017; 25: 949-961.
https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.02.005
PMid:28237835 PMCid:PMC5383629
[51] Hackett PB, Largaespada DA, Switzer KC, Cooper LJ. Evaluating risks of insertional mutagenesis by DNA transposons in gene therapy. Translat Res 2013; 161: 265-283.
https://doi.org/10.1016/j.trsl.2012.12.005
PMid:23313630 PMCid:PMC3602164
[52] Yant SR, Wu X, Huang Y, Garrison B, Burgess SM, Kay MA. High-resolution genome-wide mapping of transposon integration in mammals. Mol Cell Biol 2005; 25: 2085-2094.
https://doi.org/10.1128/MCB.25.6.2085-2094.2005
PMid:15743807 PMCid:PMC1061620

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-21-3803
PMid:35046063 PMCid:PMC9064878
[84] VICLEUCEL I. BCMA-Directed CAR T cells in relapsed refractory multiple myeloma: highlights from SOHO 2021. J Adv Pract Oncol 2022; 13: 23-25.
https://doi.org/10.6004/jadpro.2022.13.1.15
PMid:35186406 PMCid:PMC8824281
[85] Yip A, Webster RM. The market for chimeric antigen receptor T cell therapies. Nat Rev Drug Discov 2018; 17: 161-162.
https://doi.org/10.1038/nrd.2017.266
PMid:29375140
[86] Nosrati M, Hasanzad M, Nikfar S. A review on precision medicine and conducting pharmacogenetics tests of drugs. Koomesh 2022; 24: 230-236. (Persian).
[87] Bristol Myers finally wins FDA approval for cancer cell therapy BiopharmaDive [cited 2021 Mar 29]. Available from: https://www.biopharmadive.com/news/bristol-myers-liso-cel-fda-approval-car-t/594660/.
[88] Prasad V. Tisagenlecleucel-the first approved CAR-T-cell therapy: implications for payers and policy makers. Nat Rev Clin Oncol 2018; 15: 11-12.
https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.156
PMid:28975930
[89] Court E. Novartis' CAR-T gene therapy, the first approved by FDA, to cost $475,000 MarketWatch [cited 2020 July 11]. Available from: https://www.marketwatch.com/story/novartis-car-t-gene-therapy-the-first-approved-by-fda-to-be-priced-based-on-cancer-patients-outcomes-2017-08-30.
[90] Lin JK, Muffly LS, Spinner MA, Barnes JI, Owens DK, Goldhaber-Fiebert JD. Cost effectiveness of chimeric antigen receptor T-cell therapy in multiply relapsed or refractory adult large B-cell lymphoma. J Clin Oncol 2019; 37: 2105-2119.
https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.15_suppl.7561
https://doi.org/10.1200/JCO.18.02079
PMid:31157579
[91] Schultz L, Mackall C. Driving CAR T cell translation forward. Sci Translat Med 2019; 11: eaaw2127.
https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaw2127
PMid:30814337
[92] Harrison RP, Zylberberg E, Ellison S, Levine BL. Chimeric antigen receptor-T cell therapy manufacturing: modelling the effect of offshore production on aggregate cost of goods. Cytotherapy 2019; 21: 224-233.
https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2019.01.003
PMid:30770285
[93] Geethakumari PR, Dhakal B, Ramasamy DP, Kansagra AJ. CAR T-Cell therapy: current practice and future solutions to optimize patient access. J Clin Pathways 2021; 7: 54-62.
https://doi.org/10.25270/jcp.2021.03.00002
[94] Cao J, Wang G, Cheng H, Wei C, Qi K, Sang W, et al. Potent anti-leukemia activities of humanized CD19-targeted Chimeric antigen receptor T (CAR-T) cells in patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia. Am J Hematol 2018; 93: 851-858.
https://doi.org/10.1002/ajh.25108
PMid:29633386
[95] Turtle CJ, Hanafi LA, Berger C, Gooley TA, Cherian S, Hudecek M, et al. CD19 CAR-T cells of defined CD4+: CD8+ composition in adult B cell ALL patients. J Clin Invest 2016; 126: 2123-2138.
https://doi.org/10.1172/JCI85309
PMid:27111235 PMCid:PMC4887159
[96] Drent E, Poels R, Ruiter R, van de Donk NW, Zweegman S, Yuan H, et al. Combined CD28 and 4-1BB costimulation potentiates affinity-tuned chimeric antigen receptor-engineered T cells. Clin Cancer Res 2019; 25: 4014-4025.
https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-2559
PMid:30979735 PMCid:PMC7477921
[97] Iri-Sofla FJ, Rahbarizadeh F, Ahmadvand D, Rasaee MJ. Nanobody-based chimeric receptor gene integration in Jurkat cells mediated by PhiC31 integrase. Exp Cell Res 2011; 317: 2630-2641.
https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2011.08.015
PMid:21906589
[98] Maus MV, Haas AR, Beatty GL, Albelda SM, Levine BL, Liu X, et al. T cells expressing chimeric antigen receptors can cause anaphylaxis in humans. Cancer Immunol Res 2013; 1: 26-31.
[66] Qasim W, Zhan H, Samarasinghe S, Adams S, Amrolia P, Stafford S, et al. Molecular remission of infant B-ALL after infusion of universal TALEN gene-edited CAR T cells. Sci Translat Med 2017; 9: 2013.
https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaj2013
PMid:28123068
[67] Singh N, Perazzelli J, Grupp SA, Barrett DM. Early memory phenotypes drive T cell proliferation in patients with pediatric malignancies. Sci Translat Med 2016; 8: 320ra3.
https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aad5222
[68] Eyquem J, Mansilla-Soto J, Giavridis T, van der Stegen SJ, Hamieh M, Cunanan KM, et al. Targeting a CAR to the TRAC locus with CRISPR/Cas9 enhances tumour rejection. Nature 2017; 543: 113-117.
https://doi.org/10.1038/nature21405
PMid:28225754 PMCid:PMC5558614
[69] Global Cell And Gene Therapy Market [cited 2021 Mar 28]. Available from: https://www.thebusinessresearchcompany.com/report/cell-and-gene-therapy-global-market-report-2020-30-covid-19-growth-and-change.
[70] Global Car-T Therapy Pipeline Analysis Market Data And Industry Growth Analysis [cited 2021 March 28]. Available from: https://www.thebusinessresearchcompany.com/report/car-t-therapy-pipeline-analysis-global-market-report.
[71] Morrison C. Fresh from the biotech pipeline--2017. Nat Biotechnol 2018; 36: 131-137.
https://doi.org/10.1038/nbt.4068
PMid:29355851
[72] T-cell Therapy Market Size & Share Report, 2021-2028 [cited 2021 April 7]. Available from: https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/t-cell-therapy-market.
[73] Mullard A. FDA approves fourth CAR-T cell therapy. Nat Rev Drug Discov 2021; 20: 166-167.
https://doi.org/10.1038/d41573-021-00029-3
https://doi.org/10.1038/d41573-021-00030-w
https://doi.org/10.1038/d41573-021-00031-9
[74] Highlights of prescribing Information, Kymriah [cited 2020 July 7]. Available from: https://www.pharma.us.novartis.com/sites/www.pharma.us.novartis.com/files/kymriah.pdf.
[75] Highlights of prescribing information, Yescarta [cited 2020 July 7]. Available from: https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM581226.pdf.
[76] U.S. FDA Approves Kite's Tecartus™, the First and Only CAR T Treatment for Relapsed or Refractory Mantle Cell Lymphoma [press release]. July 24 2020.
[77] Wang M, Munoz J, Goy A, Locke FL, Jacobson CA, Hill BT, et al. KTE-X19 CAR T-cell therapy in relapsed or refractory mantle-cell lymphoma. N Engl J Med 2020; 382: 1331-1342.
https://doi.org/10.1056/NEJMoa1914347
PMid:32242358 PMCid:PMC7731441
[78] Romero D. KTE-X19 active in MCL. Nat Rev Clin Oncol
[79] Slater H. FDA Will Not Complete Review of BLA for Lisocabtagene Maraleucel By PDUFA Date 2020 [cited 2021 Feb 26]. Available from: https://www.cancernetwork.com/view/fda-will-not-complete-review-of-bla-for-lisocabtagene-maraleucel-by-pdufa-date.
[80] Sternberg A. Liso-cel Receives FDA Approval for the Treatment of R/R Large B-Cell Lymphoma cancer network [cited 2021 Feb 26]. Available from: https://www.cancernetwork.com/view/liso-cel-receives-fda-approval-for-the-treatment-of-r-r-large-b-cell-lymphoma.
[81] Romero D. Initial results with liso-cel. Nat Rev Clin Oncol 2020; 17: 654.
https://doi.org/10.1038/s41571-020-00435-3
https://doi.org/10.1038/s41571-020-00436-2
[82] Roex G, Feys T, Beguin Y, Kerre T, Poiré X, Lewalle P, et al. Chimeric antigen receptor-T-cell therapy for B-cell hematological malignancies: an update of the pivotal clinical trial data. Pharmaceutics 2020; 12: 194.
https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12020194
PMid:32102267 PMCid:PMC7076393
[83] Sharma P, Kanapuru B, George B, Lin X, Xu Z, Bryan WW, et al. FDA approval summary: idecabtagene vicleucel for relapsed or refractory multiple myeloma. Clin Cancer Res 2022.

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

potency is attenuated due to cell Fas-FasL-dependent AICD. Cancer Immunol Res 2015; 3: 368-379.
https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0200
PMid:25576337

[107] Zhao Y, Wang QJ, Yang S, Kochenderfer JN, Zheng Z, Zhong X, et al. A herceptin-based chimeric antigen receptor with modified signaling domains leads to enhanced survival of transduced T lymphocytes and antitumor activity. J Immunol 2009; 183: 5563-5574.
https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900447
PMid:19843940 PMCid:PMC6292203

[108] Guedan S, Madar A, Casado-Medrano V, Shaw C, Wing A, Liu F, et al. Single residue in CD28-costimulated CAR-T cells limits long-term persistence and antitumor durability. J Clin Invest 2020; 130: 3087-3097.
https://doi.org/10.1172/JCI133215
PMid:32069268 PMCid:PMC7260017

[109] Boucher JC, Li G, Shrestha B, Cabral M, Morrissey D, Guan L, et al. Mutation of the CD28 costimulatory domain confers decreased CAR T cell exhaustion. Blood 2018; 132: 966.
https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-110645

[110] Ellis J. Silencing and variegation of gammaretrovirus and lentivirus vectors. Human Gene Ther 2005; 16: 1241-1246.
https://doi.org/10.1089/hum.2005.16.1241
PMid:16259557

[111] Liu J, Zhou G, Zhang L, Zhao Q. Building potent chimeric antigen receptor T cells with CRISPR genome editing. Front Immunol 2019; 10: 456.
https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00456
PMid:30941126 PMCid:PMC6433930

[74] Highlights of prescribing Information, Kymriah [cited 2020 July 7]. Available from: https://www.pharma.us.novartis.com/sites/www.pharma.us.novartis.com/files/kymriah.pdf.

[75] Highlights of prescribing information, Yescarta [cited 2020 July 7]. Available from: https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM581226.pdf.

[78] Romero D. KTE-X19 active in MCL. Nat Rev Clin Oncol 2020; 17: 336.
https://doi.org/10.1038/s41571-020-0373-3
PMid:32317773

[112] cell trial data [cited 2020 July 12]. Available from: https://celltrials.org/maps-cell-and-gene-therapy/cellular-immunotherapy-companies.

https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-13-0006
PMCid:PMC3888798

[99] Lamers CH, Willemsen R, van Elzakker P, van Steenbergen-Langeveld S, Broertjes M, Oosterwijk-Wakka J, et al. Immune responses to transgene and retroviral vector in patients treated with ex vivo-engineered T cells. Blood 2011; 117: 72-82.
https://doi.org/10.1182/blood-2010-07-294520
PMid:20889925

[100] Caserta S, Kleczkowska J, Mondino A, Zamoyska R. Reduced functional avidity promotes central and effector memory CD4 T cell responses to tumor-associated antigens. J Immunol 2010; 185: 6545-6554.
https://doi.org/10.4049/jimmunol.1001867
PMid:21048115

[101] Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM, Rosenberg SA. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. Mol Ther 2010; 18: 843-851.
https://doi.org/10.1038/mt.2010.24
PMid:20179677 PMCid:PMC2862534

[102] Drent E, Themeli M, Poels R, de Jong-Korlaar R, Yuan H, de Bruijn J, et al. A rational strategy for reducing on-target off-tumor effects of CD38-chimeric antigen receptors by affinity optimization. Mol Ther 2017; 25: 1946-1958.
https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.04.024
PMid:28506593 PMCid:PMC5542711

[103] Hudecek M, Lupo-Stanghellini MT, Kosasih PL, Sommermeyer D, Jensen MC, Rader C, et al. Receptor affinity and extracellular domain modifications affect tumor recognition by ROR1-specific chimeric antigen receptor T cells. Clin Cancer Res 2013; 19: 3153-3164.
https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-0330
PMid:23620405 PMCid:PMC3804130

[104] Chang ZL, Lorenzini MH, Chen X, Tran U, Bangayan NJ, Chen YY. Rewiring T-cell responses to soluble factors with chimeric antigen receptors. Nat Chem Biol 2018; 14: 317-324.
https://doi.org/10.1038/nchembio.2565
PMid:29377003 PMCid:PMC6035732

[105] Ramos CA, Rouce R, Robertson CS, Reyna A, Narala N, Vyas G, et al. In vivo fate and activity of second-versus third-generation CD19-specific CAR-T cells in B cell non-Hodgkin's lymphomas. Mol Ther 2018; 26: 2727-2737.
https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.09.009
PMid:30309819 PMCid:PMC6277484

[106] Künkele A, Johnson AJ, Rolczynski LS, Chang CA, Hoglund V, Kelly-Spratt KS, et al. Functional tuning of CARs reveals signaling threshold above which CD8+ CTL antitumor

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]

Koomesh -Volume 25, Issue 1 (January and February 2023), 1-15

Design and development of CAR-T cells for cancer therapy

Shafieeh Mansoori (Ph.D Student)[1], Monireh Gholizadeh (Ph.D Student)[2,1], Shahriyar Abdoli (Ph.D)[3], Soheila Ajdary (Ph.D)[1], Mohammad Ali Shokrgozar (Ph.D)[4], Mohsen Basiri (Ph.D) [5], Zahra Sharifzadeh (Ph.D) [*1]

1- Department of Immunology, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
2 - Department of Medical Biotechnology, Faculty of Advanced Medical sciences, Tabriz University of Medical sciences, Tabriz, Iran,
3- School of Advanced Medical Technologies, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran
4- National Cell Bank of Iran, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
5- Department of Stem Cells and Developmental Biology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

* Corresponding author. +98 21 64112114 zsharifzadeh@gmail.com
Received: 17 Aug 2021 ; Accepted: 2 Oct 2022

Introduction: Today, treatment with CAR-T cells is accepted as an effective treatment for blood malignancies. CAR-T cells are autologous T cells that are engineered by gene transfer techniques to express a chimeric antigen receptor (CAR). Despite the promising results and the approval of six CAR-T cell products; these products have not yet been approved for solid tumors. In addition, the high cost of treatment with CAR-T cells has limited patients' access to these life-saving drugs. Therefore, key considerations in the design and development of CAR-T cells should be defined and methods of reducing the cost of this treatment method should be investigated.

Materials and Methods: This study was performed based on an accurate bibliography through research databases such as PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar search engine, as well as the websites of pharmaceutical companies.

Results: CAR synthetic receptors contain an antigen-recognizing extracellular region that connects to the space-forming, transmembrane and intracellular messenger regions. Each part of the CAR structure affects some functions of CAR, including target recognition, activation and cell lysis. So far, five generations of CAR-T cells have been developed to improve the messaging capacity of these cells. In addition, gene transfer systems such as electroporation, transposon and genome editing systems have been introduced as an alternative to viral vectors to produce safe and affordable CAR-T cells. Also, the development of ready-to-use products, product production in places far from the place of consumption, new pricing platforms and methods, and health insurance system initiatives have been suggested as ways to reduce prices.

Conclusion: In this article, an overview of how to develop CAR-T cells, important factors in the design of chimeric receptors, different methods of gene transfer and solutions to reduce the cost of this treatment were discussed. By using these strategies, the potential of CAR-T cells in cancer immunotherapy can be fully utilized.

Keywords: Chimeric antigen receptor, Cancer Immunotherapy, CAR design, Gene Transfer techniques, Cost reduction

[Downloaded from koomeshjournal.semums.ac.ir on 2024-08-05]