

## Co jsou CAR T-lymfocyty?

CAR T-lymfocyty jsou in vitro modifikované autologní T-lymfocyty pacienta, do kterých je vpraven gen pro chimérický antigenní receptor se specificitou proti definovanému povrchovému antigenu nádorové buňky. Oba v současnosti schválené preparáty CAR T-lymfocytů jsou cílené proti antigenu CD19. Ten je exprimován na povrchu všech vývojových stadií B-lymfocytů i na převážně většině malignit z B-lymfocytů vycházejících (14). V klinických studiích jsou již zkoušeny CAR T-lymfocyty cílené na nejrůznější další povrchové antigeny hematologických i solidních malignit, např. CD22, CD30, CD138, BCMA, EGFR, CEA, HER2, mezotelin, PD-L1 a řadu dalších (11). Dosavadní výsledky léčby CAR T-lymfocyty jsou velmi motivující. Již několik studií I. a II. fáze prokázalo 70–85 % navozených kompletních remisí u těžce předléčených pacientů s R/R ALL a 40–55 % u pacientů s R/R DLBCL (13, 15–17).

### Samotný chimérický antigenní receptor první generace je proteinový konstrukt skládající se ze 4 částí:

- domény rozeznávající antigen odvozené z variabilní části imunoglobulinu,
- spojovacího hinge regionu,
- transmembránové domény,
- intracelulární domény odvozené z T-buněčného receptoru (T-cell receptor – TCR) (Obr. 2).

Cytotoxický CAR T-lymfocyt s takto složeným receptorem je přímo aktivován navázáním na cílový antigen nádorové buňky a dokáže zničit postupně i stovky nádorových buněk. Oproti přirozeným cytotoxickým T-lymfocytům nepotřebuje ke své aktivaci rozpoznání lidského leukocytárního antigenu I. třídy (human leukocyte antigen – HLA) cílové buňky ani spolupráci jiných imunitních buněk (10).

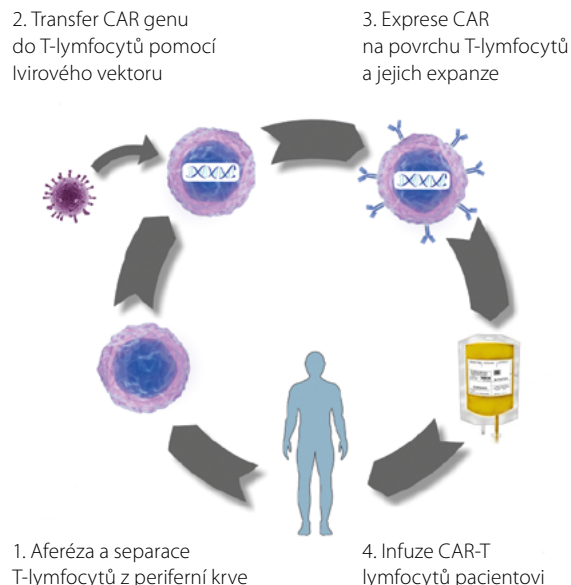
Tisagenlecleucel i axikabtagen ciloleucel jsou léčivé přípravky obsahující CAR T-lymfocyty 2. generace, které mají v intracelulární doméně přidánu kostimulační doménu zlepšující expanzi buněk a jejich přetrvávání v hostitelském organismu.

## Výroba CAR T-lymfocytů

Výroba CAR T-lymfocytů je velmi komplikovaná a organizačně i časově náročná. Od indikace pacienta k léčbě do podání infuze trvá celý proces 2–6 týdnů (Obr. 3). Právě časová náročnost může být u pacientů s agresivními lymfoproliferacemi hlavním faktorem limitujícím použitelnost této léčby. Prvním krokem výroby je odběr mononukleárních buněk z periferní krve pacienta pomocí přístrojové leukaferézy. Tyto buňky jsou odeslány do „továrny“ na CAR T-lymfocyty. Tato výrobní zařízení jsou v USA, Německu, Nizozemsku a Francii.

Ve výrobním zařízení jsou z mononukleárních buněk separací odděleny T-lymfocyty, do kterých je vpraven gen pro CAR. Vektorem přenosu genu je nejčastěji modifikovaný lentivirus nebo gamaretrovirus, zkoušeny jsou ale i další postupy jako přenesení genu syntetickým transpozonom (technologie Sleeping Beauty) nebo přímá elektroporace mRNA do T-lymfocytů (18, 19). Takto modifikované T-lymfocyty jsou poté aktivovány a namnoženy za přítomnosti směsi

**Obr. 3.** Proces výroby CAR T-lymfocytů



**Obr. 4.** Automatický buněčný procesor Miltenyi CliniMACS Prodigy®, jedna z platforem používaných k výrobě CAR T-lymfocytů



cytokinů a živin. Celý proces probíhá v jedné z automatických platforem, tzv. buněčných procesorů (Obr. 4). Hotový produkt je opět zmrazen na teplotu kapalného dusíku a odeslán na klinické pracoviště. Pacientovi je v mezidobí podána lymfodepleční chemoterapie, která prodlužuje následné přežívání CAR T-lymfocytů v hostitelském organismu. Samotné CAR T-lymfocyty jsou poté rozmrazeny a formou intravenózní infuze aplikovány pacientovi.