

## Nežádoucí účinky a komplikace

Léčba CAR T-lymfocyty s sebou nese riziko některých specifických a potenciálně velmi závažných komplikací. Prvním z nežádoucích účinků je syndrom z uvolnění cytokinů (cytokine release syndrome – CRS). Je způsoben suprafyziologickou odpovědí hostitelského organismu na imunoterapii, která vyústí v aktivaci endogenních i infundovaných imunitních efektorových buněk a produkci prozánětlivých cytokinů. Projeví se několik dní po infuzi CAR T-lymfocytů horečkou, v závažnějších případech hypotenzí, respiračním selháním a selháváním dalších orgánů. Těžká forma CRS připomíná v mnoha aspektech septický šok. Základní terapií jsou kortikoidy, tocilizumab a podpůrná léčba selhávajících orgánových funkcí. Tocilizumab je monoklonální protilátka proti receptoru pro interleukin 6 (IL-6R), který hraje ústřední roli v patogenezi CRS.

Další specifickou komplikací je syndrom neurotoxicity asociovaný s imunitními efektorovými buňkami (immune effector cell-associated neurotoxicity syndrome – ICANS, nebo CAR T-related encephalopathy syndrome – CRES). Projevuje se také většinou v prvních dnech po infuzi CAR T-lymfocytů, příznaky mohou být velmi různorodé, typická je expresivní afazie, apraxie a tremor, může nastat dezorientace, paréza, kvantitativní porucha vědomí nebo epileptický záchvat. Hlavní léčbou jsou opět kortikoidy, případně antiepileptika, při souběhu s CRS se podává tocilizumab.

Mezi další komplikace patří aplazie zdravých B-lymfocytů, které jsou při léčbě anti-CD19 CAR T-lymfocyty zničeny spolu s maligními buňkami. Při chybění B-lymfocytů dochází ke hypogamaglobulinemii a zvýšenému riziku infekčních komplikací s nutností dlouhodobé substituce intravenózními imunoglobuliny (20, 21).

## Budoucnost CAR T-lymfocytů

Nyní dostupné CAR T-lymfocyty jsou označovány jako 2. generace. Ve stadiu klinických studií jsou 3. generace CAR T-lymfocytů s kombinací více kostimulačních domén a 4. generace, tzv. TRUCK (T-cell Redirected Universal Cytokine Killing), které jsou schopny pomocí sekrece vlastního transgenního IL-12 zvýšit migraci naivních imunitních buněk do oblasti nádoru s cílem posílení imunitní reakce namířené proti nádorovým buňkám (22, 23). Pátá generace CAR T-lymfocytů má v intracelulární doméně  $\beta$  řetězec receptoru pro interleukin 2 (IL-2) s vazebným místem pro transkripční faktor STAT3. Tyto buňky jsou aktivovány třemi cestami prostřednictvím svého CD3, kostimulační domény i cytokinové signalizace dráhy JAK-STAT3/5 (24).

Jsou zkoušeny CAR T-lymfocyty se specifitou proti nejrůznějším povrchovým antigenům exprimovaným na hematologických i solidních tumorech. V budoucnu se tedy možná dočkáme účinných CAR T-lymfocytů proti mnohočetnému myelomu, akutní myeloidní leukemii, glioblastomu, mezoteliomu, karcinomu střeva, prostaty, prsu, plic, pankreatu i dalších (11, 25).

Stejně jako při léčbě monoklonálními protilátkami, i u CAR T-lymfocytů může dojít k imunitnímu úniku tumoru a vzniku rezistence k léčbě. Nejčastěji je to způsobeno down-regulací nebo úplnou ztrátou cílového antigenu maligní buňky. Klonální selekcí pak dojde k nahrazení původního citlivého klonu klonem rezistentním. Riziko

vzniku rezistentního klonu lze snížit např. použitím CAR T-lymfocytů se 2 nebo více různými CAR namířenými proti různým antigenům přítomným na maligní buňce, nebo T-lymfocytů s jedním bispecifickým CAR, který se dokáže vázat na 2 různé antigeny, anebo podáním dvou samostatných populací CAR T-lymfocytů cílených na různé antigeny tumoru (10, 25–28). Ve vývoji jsou i CAR NK buňky (natural killer), které kromě aktivace CAR receptorem mohou být v tumoru aktivovány i přirozeně prostřednictvím svého Fc-receptoru mechanismem cytotoxicity závislé na protilátce (antibody-dependent cellular cytotoxicity – ADCC) (10, 29, 30).

Dalším problémem léčby CAR T-lymfocyty bývá toxicita mimo lokalitu tumoru. Zvýšení selektivity CAR T-lymfocytů lze dosáhnout rovněž jejich vybavením dvěma různými CAR, kdy je potřeba k aktivaci T-lymfocytu navázání obou CAR na maligní buňku. Jiným zkoumaným přístupem je zabudování buněčného aktivačního nebo sebevražedného genového „vypínače“ do CAR T-lymfocytu. Exprese tohoto genu a tím i aktivita CAR T-lymfocytů je pak regulována jinou, jinak v organismu neškodnou, exogenně podanou látkou (25, 31).

Zajímavým konceptem jsou univerzální CAR T-lymfocyty využívající silnou vazbu biotinu a avidinu. Pacientovi se tak podá jedna nebo více monoklonálních protilátek značených biotinem namířených proti antigenům daného tumoru a univerzální CAR T-lymfocyty, jejichž CAR obsahuje sekvenci avidinu vázající biotin (biotin-binding immunoreceptor – BBIR). Tato metoda výroby CAR T-lymfocytů je flexibilnější a ekonomicky výhodnější pro plošné využití (32).

Časová náročnost výroby CAR T-lymfocytů může výrazně limitovat možnost jejich použití u pacientů s agresivními malignitami. Možným řešením je vývoj alogenních CAR T-lymfocytů s deficitem svého původního TCR, které tak nezpůsobují reakci štěpu proti hostiteli a mohou být podány bez ohledu na neshodu v HLA systému. Takové CAR T-lymfocyty mohou být rovněž vyrobeny předem z krve zdravých dárců a pro pacienta dostupné v podstatě ihned (33).

CAR technologie by mohla být účinná i v léčbě neonkologických onemocnění, především autoimunitních. Treg lymfocyty (regulatory T-cells) hrají důležitou roli při regulaci imunitní reakce. Pomocí CAR Treg lymfocytů by mohlo být dosaženo účinné cílené imunotolerance v místě autoimunitního zánětu, např. při diabetu I. typu, roztroušené skleróze či nespecifických střevních zánětech (34).

## Závěr

CAR T-lymfocyty nyní v hematologii a onkologii jsou, a jistě i v dalších letech až desetiletích budou, velmi skloňovaným pojmem. S registrací nových CAR T-lymfocytárních produktů, rozšířením jejich indikací na další typy malignit a snížením jejich zatím extrémní finanční nákladnosti lze očekávat jejich použití u stále většího množství pacientů. Skutečnou účinnost a uplatnitelnost této léčebné metody v reálných klinických podmínkách však bezesporu odhalí až čas.

*Tato publikace vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu číslo MUNI/A/1395/2019, podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2020.*