

Karolina Maliszewska¹ , Izabela Oleksak¹ , Agnieszka Kaczmarzka² ,
Krystian Cholewa² , Adrianna Gorecka³ , Agata Filip⁴

Uniwersytet Medyczny w Lublinie

¹Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną

²Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Psychologii Stosowanej

³Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Epidemiologii i Metodologii Badań Klinicznych

⁴Zakład Genetyki Nowotworów z Pracownią Cytogenetyczną

e-mail: agata.filip@umlub.pl

TERAPIA CAR-T – MECHANIZM DZIAŁANIA, MOŻLIWOŚCI ZASTOSOWANIA I OGRANICZENIA NOWEGO RODZAJU IMMUNOTERAPII

CAR-T CELL THERAPY – MECHANISM OF ACTION, POTENTIAL USE
AND LIMITATIONS A NEWKIND OF IMMUNOTHERAPY

ABSTRACT

One of the greatest challenges faced by modern medicine is treating malignant tumors. Nowadays, scientists put emphasis on targeted therapy. CAR-T (chimeric antigen receptor T) is the most personalized method of treating malignant tumors. It is based on using patient's own, previously recombinant lymphocytes, which cells can identify cancer cells' antigen without MHC molecules' contribution.

CAR-T cell therapy consists of several stages. First, doctors draw blood from patient, then the patient's blood is subjected to leukapheresis to isolate T lymphocytes. In the next stage, T lymphocytes are recombinant to identify cancer cells. For this purpose, retroviruses infect T lymphocytes and build into their DNA gene coding chimeric antigen receptor specific for patient's cancer. Thanks to it, recombinant lymphocytes can identify and destroy cancer cells. Before the insert of recombinant cells, patient receive chemotherapy which reduces likelihood of adverse events, especially cytokine release syndrome. After chemotherapy treatment, recombinant T lymphocytes are being inserted to the patient. As a result, lymphocytes destroy cancer cells. For the first time CAR-T cell therapy was used in patients with Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) and the results were extremely encouraging. 60% of patients achieved complete remission, overall response rate reached 81%. Moreover, responses were durable, with a reported 80% patients with half a year relapse-free survival rate. CAR-T cell therapy is tested in therapies of lymphoma, breast, ovarian and brain cancers. CAR-T cell therapy has a number of side effects, that include cytokine release syndrome and neurotoxicity. First Polish patients are being treated with CAR-T cell therapy in Poznań, but their lymphocytes are modified in laboratory in the USA.

Forthcoming works on the therapy would try to reduce side effects, achieve more cases of complete remission and higher response rate. Further studies on CAR-T cell therapy are needed, because this therapy could be a key to success in the treatment of malignant tumors.

KEY WORDS: CAR-T cell therapy, ALL, Therapy of Leukemia.

STRESZCZENIE

Jednym z największych wyzwań współczesnej medycyny jest leczenie nowotworów złośliwych. W związku z tym, obecnie coraz większy nacisk kładziony jest na terapię celowaną. Można do niej zaliczyć technologię CAR-T (ang. chimeric antigen receptors T cells). Terapia CAR-T jest najbardziej spersonalizowaną metodą leczenia nowotworów złośliwych. Opiera się ona na wykorzystaniu własnych, wcześniej zrekombinowanych limfocytów, które potrafią rozpoznać antygen komórek nowotworowych bez udziału cząsteczek MHC.

Terapia CAR-T składa się z kilku etapów. Najpierw od pacjenta pobierana jest krew,

która zostaje poddana leukaferizie, aby następnie wyizolować z niej limfocyty T. W kolejnym etapie limfocyty T są modyfikowane w taki sposób, aby umożliwić limfocytom identyfikację komórek nowotworowych. W tym celu retrowirusy infekują limfocyty T i wprowadzają do ich materiału genetycznego gen kodujący chimerowy receptor antygenowy specyficzny dla nowotworu. Dzięki temu zmodyfikowany limfocyt jest w stanie rozpoznać i wyeliminować komórki nowotworowe. Przed wprowadzeniem zmodyfikowanych limfocytów do organizmu; pacjent otrzymuje chemioterapię, która zmniejsza prawdopodobieństwo wywołania ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej. Po chemioterapii zmodyfikowane limfocyty T są z powrotem przetaczane pacjentowi. W efekcie limfocyty niszczą komórki nowotworowe pacjenta. Po raz pierwszy terapię CAR-T wykorzystano u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną, uzyskując obiecujące rezultaty. U 60% pacjentów odnotowano całkowitą remisję choroby, a ogólny wskaźnik odpowiedzi na terapię wyniósł 81%. W ciągu sześciu miesięcy 80% badanych nie doświadczyło nawrotu choroby nowotworowej. Możliwość zastosowania CAR-T bada się zarówno w nowotworach krwi jak i w nowotworach piersi, jajnika i mózgu. Terapia wiąże się jednak z szeregiem działań niepożądanych, z których najczęściej występuje zespół wyrzutu cytokin oraz neurotoksyczność. Pierwsi polscy pacjenci są już leczeni terapią CAR-T w Poznaniu. Trzeba jednak zaznaczyć, że modyfikacja ich limfocytów odbywa się w laboratorium w USA.

Przyszłe prace nad terapią będą obejmowały próbę ograniczenia działań niepożądanych, zwiększenie odsetka pacjentów z całkowitą remisją choroby oraz wzrost podatności na terapię. Konieczne są dalsze badania nad technologią CAR-T, ponieważ może ona okazać się kluczem do opracowania efektywnej metody leczenia nowotworów złośliwych.

SŁOWA KLUCZOWE: CAR-T, ALL, leczenie białaczki.

WSTĘP

Jednym z największych wyzwań współczesnej medycyny jest leczenie nowotworów złośliwych. Według danych Światowej Organizacji Zdrowia (ang. WHO) nowotwory są przyczyną śmierci kilkunastu milionów osób rocznie. Szacuje się, że w ciągu najbliższego dziesięciolecia liczba ta wzrośnie do 22 milionów osób, co stanowi wyzwanie zarówno diagnostyczne jak i terapeutyczne. Obecnie do leczenia nowotworów wykorzystuje się chemioterapię, radioterapię, leczenie chirurgiczne także terapię celowaną. Mimo to wciąż brakuje metody, która będzie zapewniała zadowalające efekty terapeutyczne. W leczeniu nowotworów krwi najczęściej stosuje się chemioterapię. Badania wskazują, że korzystne rezultaty chemioterapii występują jedynie w przypadku 40-60% pacjentów. U 10-40% przypadków dochodzi do wznowy, mimo osiągnięcia regresji nowotworu (Larinova et al., 2019). Terapia cytostatykami wiąże się z szeregiem działań niepożądanych, do których należą: zmęczenie, ból, nudności i wymioty (Zhang et al., 2018). Z kolei supresja układu szpikowego często prowadzi do anemii, uszkodzenia komórek wzrostowych włosa – łysienia, a negatywny

wpływ chemioterapii na układ pokarmowy – do biegunek oraz owrzodzeń jamy ustnej (Mayor, 2015). Nowoczesne metody leczenia nowotworów opierają się na wykorzystaniu terapii celowanej, do której zaliczamy technologię CAR-T. Terapia CAR-T przynosi satysfakcjonujące rezultaty i jest to obecnie najbardziej obiecujący kierunek, w jakim powinno zmierzać leczenie nowotworów krwi. Od 30 lat pojawia się wiele doniesień na temat omawianej terapii, jednak można zaryzykować stwierdzenie, że wciąż jest to nowa metoda. Opiera się na wykorzystaniu własnych, wcześniej zrekombinowanych limfocytów, które potrafią rozpoznać antygen komórek nowotworowych pacjenta bez udziału cząsteczek MHC. Terapia przynosi najbardziej spektakularne rezultaty w leczeniu nowotworów układu krwionośnego. Prowadzone są jednak badania nad wykorzystaniem terapii CAR-T w leczeniu raka jajnika, czerniaka, glejaka wielopostaciowego i wielu innych guzów litych.

Celem pracy jest przedstawienie wyników badań na temat dotychczas stosowanego leczenia onkologicznego, opisanie mechanizmu terapii CAR-T, jej możliwości terapeutycznych, a także omówienie ograniczeń związanych

z przedstawianą metodą leczenia. W metodologii pracy została wykorzystana baza PubMed, a opisane badania pochodzą z zakresu ostatnich 15 lat (2005-2020).

MECHANIZM DZIAŁANIA CAR-T

Postęp w zrozumieniu biologii nowotworów pokazał, że progresja choroby jest nie tylko konsekwencją wewnętrznych zmian w komórce, ale także interakcji między guzem a mikrośrodowiskiem, w którym rozwija się nowotwór. Układ odpornościowy jest ważnym składnikiem mikrośrodowiska, a oddziaływanie na układ odpornościowy jest nową i atrakcyjną strategią leczenia. Jednym ze sposobów angażowania procesów immunologicznych do walki z chorobą nowotworową jest terapia CAR-T, w której zrekombinowane limfocyty wprowadza się do krwiobiegu chorego na nowotwór. Aktualnie stosuje się tę terapię w chorobach rozrostowych linii komórkowej B CD19+ tj. pre-B białaczka limfoblastyczna i rozlany chłoniak z dużych komórek B ale tylko u pacjentów opornych na chemioterapię (June, 2018; Lee, 2018).

CAR to chimeryczny receptor antygenowy. Jest to białko fuzyjne, które spełnia funkcję zarówno wiązania antygeny komórki nowotworowej jak i aktywacji limfocytów T. Terapia limfocytami T z chimerycznym receptorem antygeny (CAR) opiera się na genetycznej modyfikacji autologicznych komórek T pacjenta, w celu ekspresji CAR specyficznych dla antygeny nowotworowego. Ta modyfikacja genetyczna komórek T może nastąpić za pomocą metod transferu genów opartych na wirusach lub metod niewirusowych, takich jak transpozony oparte na DNA, technologia CRISPR / Cas9 lub bezpośredni transfer mRNA transkrybowanego in vitro przez elektroporację. Następnie namnaża się zmodyfikowane komórki *ex vivo* i z powrotem wprowadza do krwi pacjenta (Miliotou, 2018). Limfocyty cytotoksyczne z tak zaprogramowanym receptorem potrafią zlokalizować komórki zmienione nowotworowo. Po zakończeniu procesu, zrekombinowane limfocyty są zdolne do wspomagania pozostałych procesów leczniczych koniecznych do wygrania walki z nowotworem, wykorzystując klasyczne mechanizmy stworzone do uzyskania remisji choroby (Gay, 2017). Po-

bieranie limfocytów T poprzez leukaferozę jest niezbędnym etapem terapii komórkami chimerycznego receptora antygeny. U pacjentów z WBC 1-3/nl i bezwzględną liczbą limfocytów $\leq 1,0/nl$ należy przetworzyć do 12–15 l krwi a w preparatach przygotowanych do infuzji znajduje się $1,2 \times 10^6$ do 6×10^8 żywotnych limfocytów T posiadających receptor CAR. Zważając na fakt, że kryterium kwalifikacji do leczenia CAR-T jest chemiooporność pacjenci otrzymali już dawkę cytostatyków, co zmniejszyło liczbę krwinek białych, w tym także koniecznych do przeprowadzenia terapii – limfocytów T. W przypadku ALL pacjenci przed leukaferozą nie powinni przyjmować chemioterapii co najmniej 3 tygodnie przed zabiegiem aby populacje limfocytów T miały szansę się odbudować (Korell, 2020; Hutt, 2020).

ZASTOSOWANIE TERAPII CAR-T

Innowacyjność metody CAR-T sprawia, że trwają badania nad skutecznością terapii zarówno w przypadku nowotworów krwi jak i w nowotworów piersi, glejakach, czerniaku i wielu innych guzach litych (Harrer et al., 2019). Najbardziej pomyślne wyniki terapii CAR-T uzyskano u pacjentów chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną z komórek linii B (B-ALL), chłoniaka nieziarnicznego (NHL) i chłoniaka Hodgkina. Terapię ukierunkowano wówczas na specyficzne antygeny, które są obecne na limfocytach tych pacjentów tj. CD19, CD20 i CD30. Odsetek całkowitej remisji u pacjentów z ostrą białaczką limfoblastyczną (ALL) wyniósł 90% (Wang et al., 2017). Dlatego Terapia CAR-T wydaje się być szczególnie obiecująca u dorosłych chorych na ALL, gdzie powszechnie uważa się że do około 31-44 % pacjentów osiągnie całkowitą remisję po leczeniu schematem drugiego rzutu, a 18-23% pacjentów po leczeniu schematem trzeciego rzutu (O'brien et al., 2008). Ostra białaczka limfoblastyczna z komórek B jest najczęstszym nowotworem złośliwym wieku dziecięcego (Swerdlow et al., 2017). Obecne pięcioletnie wskaźniki całkowitego przeżycia ALL/BLL u dzieci wynoszą 85%, co jest ogromnym postępowaniem w porównaniu z statystykami z lat 80. XX wieku (wskaźnik pięcioletniego przeżycia < 80%) (Gatta et al., 2005). Nadal jednak

trwają badania, aby odkryć jeszcze skuteczniejsze terapie. Jedno z pierwszych badań gdzie zastosowano Tisagenlecleucel - terapię limfocytami T anty-CD-19 z chimerycznym receptorem CAR-Tu dzieci z nawrotową lub oporną na leczenie ALL było badanie Uniwersytetu Pensylwanii, gdzie wskaźnik całkowitej remisji wyniósł 93% (Maudesl et al., 2016). Przeprowadzono wtedy wielośrodkowe badanie, w którym zastosowano terapię CAR-T w leczeniu nawrotowej lub odpornej na leczenie ALL z komórek u dzieci i młodych dorosłych. Na początku badania jako główny punkt końcowy ustalono wskaźnik remisji wyższy niż 20%. W jego wyniku uzyskano 81% wskaźnik remisji w ciągu 3 miesięcy tzn. 4 razy więcej niż początkowe założenia (Maude et al., 2018). Metoda CAR-T niesie nadzieję nie tylko dla pacjentów hematologicznych, ale także pacjentów onkologicznych z guzami litymi (Ma et al., 2019). Komórki CAR-T celujące w receptor alfa-folianu z powodzeniem infiltrowały wstępnie ustalone ksenoprzeszczepowe guzy, ale nie wywoływały pełnej odpowiedzi. Prawdopodobnie związane to było z obecnością komórek rakowych ujemnych pod względem antygenu. Zastosowanie dwóch nowoczesnych terapii: połączenie wirusa onkolitycznego z ekspresją BiTE z adaptacyjną terapią komórkową CAR-T przewyższa kluczowe ograniczenia komórek CAR-T i BiTE jako monoterapii w guzach litych (Jung, 2014). Po analizie opublikowanych badań można dojść do wniosku, że najlepszy efekt terapeutyczny spośród guzów litych uzyskano w leczeniu glioblastomy (O’rourke et al., 2017). Oprócz antygenów CD19, CD20 oraz CD30 znajdujących się na limfocytach, trwają badania nad wykorzystaniem proteoglikanu siarczanu chondroityny 4 (CSPG4).

CSPG4 wykazuje szeroką ekspresję w czerniaku, białaczce, glejaku wielopostaciowym oraz w nowotworach głowy i szyi. Na powierzchni tylko niektórych komórek nowotworowych znajdują się antygeny CD20 i CD70, natomiast CSPG4 występuje na większości komórek nowotworowych, także tych, które wykazują potencjał do tworzenia przerzutów. CSPG4 przyczynia się do rozwoju choroby nowotworowej ponieważ determinuje wzrost i przeżycie komórek czerniaka. Uważa się więc, że CSPG4 mógłby być anty-

genem niezbędnym do aktywacji limfocytów T w terapii CAR-T (Price et al., 2011). W badaniach nad technologią CAR-T wykorzystuje się także antygen EGFR, który wykazuje ekspresję na komórkach potrójnie ujemnego raka piersi, niedrobnego komórkowego raka płuc czy płaskonabłonkowego raka gardła (Liu et al., 2019; Li et al., 2018, Dong et al., 2018). Połączenie dotychczasowych metod leczenia guzów litych z terapią CAR-T brzmi obiecująco, jednak na rutynowe zastosowanie ich w praktyce klinicznej należy jeszcze poczekać (Hou et al., 2019). Innowacyjność metody CAR-T pozwala na zastosowanie jej razem z powszechnie stosowanym leczeniem, aby zwiększyć szanse na sukces terapeutyczny. Obecnie trwają prace nad zastosowaniem terapii skojarzonej; czyli wykorzystaniem CAR-T w połączeniu z radioterapią, chemioterapią, zabiegiem operacyjnym lub podaniem przeciwciał anty-PD-1. Jednak stosowanie terapii skojarzonych prowadzone jest obecnie tylko na etapie badań klinicznych (Xu et al., 2018). Zostały opublikowane już pierwsze badania, gdzie połączono terapię (CAR-T) z allogenicznym przeszczepem krwiotwórczych komórek macierzystych (allo-HSCT) u pacjentów z oporną na leczenie ostrą białaczką limfoblastyczną z komórek B. Nie odnotowano jednak różnicy w liczbie całkowitych przeżyć w porównaniu z pacjentami poddanymi tylko terapii CAR-T. Jednak czas przeżycia wolny od objawów (EFS) i czas przeżycia wolny od nawrotów (RFS) znacząco się wydłużył w grupie pacjentów, gdzie zastosowano obie terapie (Jiang et al., 2019).

OGRANICZENIA TERAPII CAR-T

Dotychczas największe sukcesy dotyczące zastosowania terapii CAR-T osiągnano w leczeniu nowotworów hematologicznych, mimo to odnotowano przypadki nawrotów choroby spowodowanych utratą antygenu, głównie w anty-CD19 komórkach CAR-T w leczeniu BLL, ale też w CLL i PMBCL (Wang et al., 2017). Utrata antygenu odbywa się na drodze 2 mechanizmów: ucieczki antygenowej lub „*lineageswitch*”. W ucieczce antygenowej po osiągnięciu remisji w odpowiedzi na CD19 CAR pacjent zapada na fenotypowo podobną chorobę, w której brak jest ekspresji powierzchniowej CD19 mogącej

wiązać przeciwciała anti-CD19 włączone do CAR-ów. „Lineageswitch” występuje, gdy u pacjenta następuje nawrót choroby podobnej genetycznie, ale nie fenotypowo (Majzner et al., 2018). Ucieczkę antygenową powodują różne mechanizmy: CD19 może być obecny, lecz niewykrywalny lub zachodzi ekspresja cytoplazmatycznego CD19, lecz brak jej na powierzchni komórek (Wang et al., 2017). Znaczenie tego mechanizmu podkreśla fakt, że komórki CAR-T potrzebują większego zagęszczenia antygenów, by w pełni rozwinąć funkcje efektorowe (Song et al., 2019). Badanie poświęcone chłoniakowi wykazało, że komórki CAR-T rozpoznawały wyłącznie nienaruszone antygeny, których ekspresja zachodziła bezpośrednio na powierzchni komórek, natomiast zawodziły w wykrywaniu peptydowych fragmentów prezentowanych przez cząsteczki MHC. Hamuje to zdolność komórek CAR-T do wykrycia najbardziej specyficznych dla nowotworów antygenowych epitopów. Ponadto, zwykle komórki B lub T również wykazują ekspresję większości antygenów związanych z chłoniakiem i jednocześnie wykrywanych przez komórki T CAR (Ramos et al., 2016). Warto nadmienić, że wcześniej stosowane leki mogą obniżać efektywność terapii, co wykazało badanie z blinatumomabem dla chłoniaka CD19 B (Pillai et al., 2019).

Większe trudności przysparza terapia guzów litych, gdzie, w przeciwieństwie do nowotworów hematologicznych, ekspresja najbardziej przydatnych dla terapii antygenów jest na niskim poziomie i jest bardziej heterogeniczna (Majzner et al., 2018). W badaniu nad neuroblastoma wykazano, że trwałość komórek CAR-T zmniejsza się wraz z wyczerpaniem limfocytów T. Innym wyzwaniem jest zjawisko zwane immunosupresyjnym mikrośrodowiskiem guza. Nowotwory typu neuroblastoma są wymieszane z populacją komórek supresyjnych (m.in. makrofagi związane z nowotworem czy komórki regulatorowe T), których obecność prognozuje niezadawalające wyniki terapii (Richards et al., 2018). Budowa histopatologiczna guza (naczynia krwionośne, macierz zewnętrzna, fibroblasty związane z guzem) oraz bariery chemiczne utrudniają przenikanie komórek CAR-T do guzów litych (Ma et al., 2019; Schepisi et

al., 2019). Terapia jest zarejestrowana do leczenia nowotworów hematologicznych zgodnie z charakterystyką produktu leczniczego wiąże się z (w większości odwracalnymi) objawami jakimi są: gorączka, zmęczenie, tachykardia zatokowa, zmniejszenie frakcji wyrzutowej lewej komory i inne. Można zauważyć również występowanie skutków neurotoksyczności takich jak, m.in.: delirium, halucynacje, drżenia, ataksje, napady padaczkowe. Te objawy mogą występować samodzielnie lub z CRS (cytokine release syndrome), będącą najbardziej niebezpieczną dla życia pacjenta sytuacją występującą po tej terapii (Brudno et al., 2019). CAR-T jest wysoce spersonalizowaną terapią produkowaną indywidualnie dla konkretnego pacjenta. Dlatego kolejnym ograniczeniem jest koszt terapii, szacowany w USA na około 400 tys. dolarów dla jednej osoby. Dodatkowo cały proces modyfikacji limfocytów T wymaga zaawansowanego zaplecza technologicznego, co dla wielu krajów może stanowić wyzwanie.

WNIOSKI

Przedstawione wyniki badań potwierdzają skuteczność terapii CAR-T. W przeciwieństwie do chemioterapii, która oddziałuje na wszystkie mnożące się komórki w organizmie; terapia CAR-T należy do najbardziej spersonalizowanych metod leczenia nowotworów złośliwych. W opisanej terapii do eliminacji komórek nowotworowych wykorzystuje się własne krwinki pacjenta. Nowa metoda leczenia ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) może przynieść wieloaspektową poprawę dotyczącą między innymi wzrostu wskaźnika odpowiedzi na terapię oraz wskaźnika całkowitej remisji choroby. Dzięki wykorzystaniu CSPG4 jako punktu uchwytu dla nowoczesnej terapii, może dojść do zwiększenia ilości nowotworów podatnych na leczenie CAR-T. Terapia może okazać się skuteczna nie tylko w leczeniu nowotworów krwi, ale także w leczeniu raka piersi, jajnika, czerniaka, glejaka wielopostaciowego i innych nowotworów. Przyszłe prace nad terapią będą obejmowały próbę ograniczenia działań niepożądanych, w szczególności potencjalnie śmiertelnego zespołu wyrzutu cytokin. Równie dużym wyzwaniem będzie ograniczenie występowania neurotoksyczności u pacjentów

poddanych tej terapii. Jednak w dalszym ciągu trwają prace nad nową, udoskonaloną wersją receptorów wykorzystywanych w leczeniu. Nowe receptory będą angażowały większą grupę komórek układu odpornościowego do walki z nowotworem, jak również będą zwiększały potencjał proliferacyjny białych krwinek pacjenta. Dzięki temu nie tylko wydłuży się okres remisji choroby, ale także zwiększy się efekt terapeutyczny stosowanego leczenia. Konieczne są dalsze badania nad opisaną technologią, gdyż prawdopodobne jest, że okaże się ona kluczem do opracowania efektywnej metody leczenia nowotworów złośliwych. Należy jednak pamiętać, że obecne doniesienia muszą być poparte większą liczbą badań, których wyniki ukażą się w najbliższych latach.

LITERATURA

- BRUDNO, J. N. AND KOCHENDERFER, J. N. (2019) 'Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management', *Blood Rev.*, 34, pp. 45-55.
- DONG, Y. H., DING, Y. M., GUO, W., HUANG, J. W., YANG Z., ZHANG Y., ET AL. (2018) 'The functional verification of EGFR-CAR-T-cell targeted to hypopharyngeal squamous cell carcinoma', *OncoTargetsTher*, 11, pp. 7053-7059.
- GATTA, G., CAPOCACCIA, R., STILLER, C., KAATSCH, P., BERRINO, F., TEREZIANIM. ET AL. (2005) 'Childhood cancer survival trends in Europe: a EURO CARE Working Group study', *J Clin Oncol.*, 23(16), pp. 3742-51.
- GAY, F., D'AGOSTINO, M., GIACCONE, L., GENUARDI, M., FESTUCCIA, M., BOCCADORO, M. ET AL. (2017) 'CAR-T Cells and Checkpoint Inhibitors. Clin Lymphoma Myeloma Leuk.' *Immuno-oncologic Approaches*, 17(8), pp. 471-478.
- HARRER, D. C., DÖRRIE, J., SCHAFT, N. (2019) 'CSPG4 as Target for CAR-T-Cell Therapy of Various Tumor Entities—Merits and Challenges', *Int. J. Mol. Sci.*, 20, pp. 5942.
- HOU, B., TANG, Y., LI, W., ZENG, Q., CHANG, D. (2019) 'Efficiency of CAR-T Therapy for Treatment of Solid Tumor in Clinical Trials: A Meta-Analysis', *Dis Markers*, pp. 3425291.
- HUTT, D., BIELORAI, B., BATUROV, B., Z'ORBINSKI, I., ILIN, N., ADAM, E. ET AL. (2020) 'Feasibility of leukapheresis for CAR T-cell production in heavily pre-treated pediatric patients', *TransfusApher.*, 59(4), pp. 102-169.
- JIANG, H., LI, C., YIN, P., GUO, T., LIU, L., XIA, L. ET AL. (2019) 'Anti-CD19 chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy bridging to allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for relapsed/refractory B-cell acute lymphoblastic leukemia: An open-label pragmatic clinical trial', *Am J Hematol.*, 94(10), pp. 1113-1122.
- JUNE, C. H., O'CONNOR, R. S., KAWALEKAR, O. U., GHASSEMI, S., MILONE, M. C. (2018) 'CAR T cell immunotherapy for human cancer', *Science*, 359(6382), pp. 1361-1365.
- JUNG, J. (2014) 'Human tumor xenograft models for preclinical assessment of anticancer drug development', *Toxicol Res.*, 30(1), pp. 1-5.
- KORELL, F., LAIER, S., SAUER, S., VEELKEN, K., HENNEMANN, H., SCHUBERT, M. L., ET AL. (2020) 'Current Challenges in Providing Good Leukapheresis Products for Manufacturing of CAR-T Cells for Patients with Relapsed/Refractory NHL or ALL', *Cells*, 9(5), pp. 1225.
- LARINOVA, I., CHERDYNTSEVA, N., LIU, T., PATYSHEVA, M., RAKINA, M., KZHYSHKOWSKA, J. (2019) 'Interaction of tumor-associated macrophages and cancer chemotherapy', *Oncoimmunology*, 8(7), pp. 1596004.
- LEE, Y. T., TAN, Y. J., OON, C. E. (2018) 'Molecular targeted therapy: Treating cancer with specificity', *Eur J Pharmacol.*, 5(834), pp. 188-196.
- LI, H., HUANG, Y., JIANG, D. Q., CIU, L. Z., HE, Z., WANG, C., ET AL. (2018) 'Antitumor activity of EGFR-specific CAR T cells against non-small-cell lung cancer cells *in vitro* and in mice',

CellDeathDis., 9(2), pp. 177.

LIU, Y., ZHOU, Y., HUANG, KH., LI, Y., FANG, X., AN, L. ET AL. (2019) 'EGFR-specific CAR-T cell trigger cell lysis in EGFR-positive TNBC', *Anging* (Albany NY), 11(23), pp. 11054-11072.

M, S., LI, X., WANG, X., CHENG, L., LI, Z., ZHANG, C. ET AL. (2019) 'Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Solid Tumors', *Int J Biol Sci.*, 15(12), pp. 2548-2560.

MA, S., LI, X., WANG, X., CHENG, L., LI, Z., ZHANG, C. ET AL. (2019) 'Current Progress in CAR-T Cell Therapy for Solid Tumors', *Int J Biol Sci.*, 15(12), pp. 2548-2560.

MAJZNER, R. G., MACKALL, C. L. (2018) 'Tumor Antigen Escape from CAR T-cell Therapy', *Cancer Discov.*, 8(10), pp. 1219-1226.

MAUDE, S. L., LAETSCH, T. W., BUECHNER, J. ET AL. (2018) 'Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lymphoblastic leukemia', *N Engl JMed.*, 378(5), pp. 439-448.

MAUDE, S. L., TEACHEY, D. T., RHEINGOLD, S. R., SHAW, P. A., APLENC, R., BARRETT, M. ET AL. (2016) 'Sustained remissions with CD19-specific chimeric antigen receptor (CAR)-modified T cells in children with relapsed/refractory ALL', *J ClinOncol.*, 34:Suppl 15, pp. 3011-3011.

MAYOR, S. (2015) 'Side-effects of cancer drugs are under-reported in trials', *Lancet Oncol.*, 16(3), pp. 107.

MILIOTOU, A. N., PAPADOPOULOU, L. C. (2018) 'CAR T-cell Therapy: A New Era in Cancer Immunotherapy', *Curr Pharm Biotechnol.*, 19(1), pp. 5-18.

O'ROURKE, D. M., NASRALLAH, M. L. P., DESAI, A., MELENHORST, J.J., MANSFIELD, K., MORRISSETTE, J. J. D. ET AL. (2017) 'A single dose of peripherally infused EGFRvIII-directed CAR T cells mediates antigen loss and induces adaptive resistance in patients with recurrent glioblastoma', *Science Translational Medi-*

cine, 9(399), eaaa0984.

O'BRIEN, S., THOMAS, D., RAVANDI, F., FADERL, S., CORTES, J., BORTHAKUR, G. ET AL. (2008) 'Outcome of adults with acute lymphocytic leukemia after second salvage therapy', *Cancer*, 113(11), pp. 3186-91.

PILLAI, V., MURALIDHARAN, K., MENG, W., BAGASHEV, A., OLDRIDGE, D. A., ROSENTHAL, J. ET AL. (2019) 'CAR T-cell therapy is effective for CD19-dim B-lymphoblastic leukemia but is impacted by prior blinatumomab therapy', *Blood Adv.*, 3(22), pp. 3539-3549.

PRICE, MA., COLVIN WANSHURA, L. E., YANG, J., CARLSON, J., XIANG, B., LI, G. ET AL. (2011) 'CSPG4, a potentialtherapeutic target, facilitates malignant progression of melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res.*', 24(6), pp. 1148-57.

RAMOS, C. A., HESLOP, H. E., BRENNER, M. K. (2016) 'CAR-T Cell Therapy for Lymphoma', *Annu Rev Med.*, 67, pp. 165-83.

RICHARDS, R. M., SOTILLO, E., MAJZNER, R. G. (2018) 'CAR T Cell Therapy for Neuroblastoma', *Front Immunol.*, 9, pp. 2380.

SCHEPISI, G., CURSANO, M. C., CASADEI, C., MENNA, C., ALTAVILLA, A., LOLLI, C. ET AL. (2019) 'CAR-T cell therapy: a potential new strategy against prostate cancer', *J Immunother Cancer*, 7(1), pp. 258.

SONG, M. K., PARK, B. B., UHM, J. E. (2019) 'Resistance Mechanisms to CAR T-Cell Therapy and Overcoming Strategy in B-Cell Hematologic Malignancies', *Int J Mol Sci.*, 20(20), pp. 5010.

WANG, Z., WU, Z., LIU, Y., HAN, W. (2017) 'New development I CAR-T cell therapy', *J Hematol Oncol.*, 10(1), pp. 5.

WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, revised 4th edition, SWERDLOW, S. H., CAMPO, E., HARRIS, N. L. ET AL. (2017), International Agency for Re-

search on Cancer (IARC).

XU, J., WANG, Y., SHI, J., LIU, J., LI, Q., CHEN, L. (2018) 'Combination therapy: A feasibility-strategy for CAR-T celltherapy in the treatment of solid tumors', *OncolLett.*, 16(2), pp. 2063–2070.

ZHANG, H.W., LIN, Z. X., CHEUNG, F., CHO, W. C., TANG, J. L. (2018) 'Moxibustion for alleviating side effects of chemotherapy or radiotherapy in people with cancer', *Cochrane Database Syst Rev.*, (11), CD010559.

§ Praca wpłynęła do redakcji: 30.09.2020 r.