دکتر مریم اسلامی

پزشک و دکتری تخصصی ژنتیک

سلول های CAR T in vivo وارد آزمایشات بالینی می شوند.

توسعه دهندگان دارو می خواهند سلول های ایمنی را مستقیماً در بدن دوباره برنامه ریزی کنند و مرزهای ژن درمانی جدیدی را در سرطان و خودایمنی باز کنند.

سلول‌های ایمنی مهندسی‌شده به نام CAR Ts که می‌توانند سلول‌های B را جستجو کرده و از بین ببرند، درمان برخی از سرطان‌های خون را تغییر داده‌اند و امیدها را برای درمان‌های احتمالی برای بیماری‌های خودایمنی افزایش می‌دهند. اما این سلول‌درمانی‌های زنده - که با برداشت سلول‌ها از بیماران، رشد و مهندسی آنها در آزمایشگاه برای بیان گیرنده آنتی‌ژن کایمریک (CAR) و سپس تزریق مجدد آن‌ها به بیماران ساخته می‌شوند، سخت است و تحویل آن به بیماران دشوار و گران قیمت است. آیا ابزارهای ژن درمانی که می‌توانند سلول‌های ایمنی را مستقیماً در بدن به حامل‌های CARتبدیل کنند، می‌توانند راه‌حل باشند؟ «زیبایی کاری که ما انجام می‌دهیم این است که سریع‌تر، بهتر و ارزان‌تر است. فیل جانسون، مدیر عامل Interius BioTherapeutics، یکی از پیشرفته‌ترین شرکت‌ها در این زمینه، می‌گوید که تولید

In vivo CAR Tبا کاست‌های برنامه‌ریزی مجدد خارج از قفسه انجام می‌شود، که باعث می‌شود هفته‌ها سریع‌تر از فرآیندهای تولید فعلی برای سابق باشد .او تخمین می‌زند که هزینه کالاهای این کاست‌ها ممکن است تا 5000 دلار آمریکا در هر دوز پایین باشد. به دو دلیل کلیدی نیز می توانند بهتر باشند. گیرندگان ex vivo CAR T باید قبل از تزریق سلول‌درمانی با رژیم‌های شیمی‌درمانی سخت درمان شوند تا فضا برای سلول‌های ایمنی مهندسی‌شده باز شود، اما تخلیه لنفاوی در طول تولیدCAR T های in vivo قابل استفاده نیست و بنابراین بیماران سیستم ایمنی سالمی را حفظ می‌کنند و از آنجایی که سلول‌های ایمنی در داخل بدن در مقایسه با همتایان ex vivo خود خسته‌تر هستند، می‌توانند فعال‌تر نیز باشند. جانسون می‌گوید: «یک احتمال واقعی و نظری وجود دارد که آن سلول‌ها به سادگی مبارزه‌کننده‌های بهتری برای سرطان باشند.» این انتظارات بر اساس داده‌های در حال ظهور از بردارهای ژن‌درمانی نوظهور است، وسایل نقلیه تحویلی که کد یک خودرو را به‌طور انتخابی به یک دستگاه انتقال می‌دهند. زیر مجموعه سلول های ایمنیInterius ، Umojaو Kelonia ناقل های لنتی ویروسی مهندسی شده ای را پذیرفته اند که تغییرات دائمی در سلول های ایمنی ایجاد می کند .Capstan ، Myeloid Therapeutics، Orbitalو Orna در عوض نانوذرات لیپیدی (LNPs) جفت شده با مولکول‌های RNA را برای القای موج‌های گذرا بیان CAR در سلول‌های

هدف، اولویت‌بندی کرده‌اند. شرکت‌های بزرگ‌تر داروسازی سانوفی سال گذشته فاش کرد که سه برنامه in vivo CAR T در توسعه پیش‌بالینی داشته است. پس از سال‌ها تلاش در تصمیم‌گیری‌ها و برنامه‌های طراحی، چندین نامزد وارد کلینیک شده و وارد درمانگاه می‌شوند. آدریان بات، CSOاز Capstan می گوید: «تا سال 2026 ما چیزهای زیادی یاد خواهیم گرفت و این نتایج می تواند نحوه طبقه بندی CAR T ها را تغییر دهد و آنها را از سلول درمانی به ژن درمانی تغییر دهد. بات می‌گوید: «تمایز بین کلاس‌های درمانی جلوی چشم ما محو می‌شود.

برنامه ریزی مجدد لنتی ویروسی

سال‌ها قبل از ورود سلول‌های CAR T خارج از بدن به کلینیک، محققان به سختی در حال بازسازی وکتورهای لنتی ویروسی بودند تا برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های ایمنی را در داخل بدن فعال کنند. الهام اولیه 20 سال پیش به وجود آمد. تیم دیگری در سال 2005 گزارش داده بود که وقتی ویروس سرخک کشنده سرطان با قطعات آنتی بادی تک زنجیره ای پوشانده می شود، می تواند سلول های ایمنی سرطانی را هدف قرار دهد. بوکهلز، با دیدن این یافته‌ها، به این فکر کرد که آیا یک استراتژی مشابه - مهندسی یک لنتی ویروس برای بیان بخش هدف‌گیری سلولی مبتنی بر آنتی‌بادی، هدف قرار دادن نوع سلولی انتخابی و یک گلیکوپروتئین ویروس سرخک، برای هدایت جذب ناقل به

سلول‌های میزبان می‌تواند کمک کند. ناقل های لنتی ویروسی را به انواع سلول های خاص تبدیل کنید. او در سال 2008 گزارش داد که بردارهای هدفمند CD20 مهندسی سطح ترجیحاً توسط سلول های B گرفته می شدند. او در سال 2012 گزارش داد که بردارهای هدفمند CD8 در مدل های موش نیز به سلول های T وارد شدند اما برای تبدیل یک وکتور به یک دارو، یک محموله قوی مورد نیاز است. بوخهولز می گوید: «وقتی به صورت in vivo می روید، فقط به بخش بسیار کوچکی از سلول ها برخورد می کنید. "شما باید یک استراتژی درمانی داشته باشید که به آن سلول ها مزیت انتخابی در داخل بدن بدهد تا در نهایت بازخوانی دریافت کنند." با ورود CAR Tهای بالینی سلول B در سال 2010، بوکهلز فرصتی را دید. او در سال 2018 گزارش داد که یک ناقل لنتی ویروسی لود شده با CD19-CAR با هدف CD8، سلول‌های T را در داخل بدن در موش‌ها انتقال داد و سلول‌های B را از بین برد. چندین بیوتکنولوژی این استراتژی را با چند تغییر در مسیر پذیرفته‌اند. هر شرکت یک بخش ترجیحی برای هدف قرار دادن سلول را انتخاب کرده است، اتصال دهنده مبتنی بر آنتی بادی که تعیین می کند کدام زیر مجموعه از سلول ها مورد هدف قرار می گیرند. گلیکوپروتئین نیز مهم است و به عنوان کلید ورود به سلول های ایمنی درگیر عمل می کند و سپس محموله درمانی وجود دارد، CAR که سلول‌های T را قادر می‌سازد تا به دنبال دشمنان بدخیم باشند. جانسون

می‌گوید: «چالش واقعاً این بوده است، چگونه می‌توان آن را به چیزی تبدیل کرد که بتوان آن را مقیاس‌بندی کرد و به استفاده انسانی منتقل کرد.» تیم او در Interius یک آنتی‌بادی ضد CD7 را انتخاب کرده است. برای هدف قرار دادن سلول‌های CD7+در ناقل قطعه قطعه می‌شود و هدف قرار دادن سلول‌های T و سلول‌های NK را ممکن می‌سازد. او می‌افزاید: «ما در حال ایجاد یک جمعیت متنوع‌تر، اگر بخواهید، از سلول‌های مؤثر هستیم.» «ما می‌دانیم که سلول‌های CAR NK بسیار قوی هستند، بنابراین جالب است که ببینیم این تصمیم در کلینیک چگونه انجام می‌شود.» لورا اوگین، محقق CAR T در دانشگاه بریتیش کلمبیا می گوید. در مقابل، Umoja از یک راه حل چند دامنه ای برای هدف قرار دادن کارآمد زیرمجموعه های مختلف سلول های T استفاده می کند. در یک تکرار اولیه از این وکتور فقط از یک قطعه آنتی بادی در برابر نشانگر سلول CD3 T متعارف استفاده شد که نزدیک به انواع سلول هایی است که محصولات CAR T را در شرایط in vivo تشکیل می دهند. اما بازده برنامه ریزی مجدد فقط در محدوده 10-15٪ بود. دیوید فونتانا، مدیر اجرایی Umoja می‌گوید: «صادقانه بگویم، ما مجبور شدیم انرژی زیادی را صرف بازسازی آن کنیم. با آمیختن قطعه آنتی بادی CD3 به حوزه‌های هم‌تحریک CD80 و CD58، تیم در نهایت دریافتند که می‌تواند کارایی برنامه‌ریزی مجدد ناقل را به‌طور چشمگیری افزایش دهد. فونتانا می گوید رویکرد چند دامنه ای

بازده برنامه ریزی مجدد را در محدوده 50 درصد ارائه می دهد. از جنبه گلیکوپروتئینی، بوخهولز نشان داده است که ناقل های اصلاح شده با سرخک گزینش پذیری «تقریباً مطلق» را بدون ویرایش غیر بافتی ارائه می دهند. Interius و Umoja هر کدام ناقل های خود را با گلیکوپروتئین هایی از خانواده های ویروس دیگر مطالعه کرده اند و اینها از مکانیسم های مختلفی برای ورود به سلول های هدف استفاده می کنند. Buchholz هشدار می دهد که این ممکن است خطر ویرایش خارج از بافت را افزایش دهد. کوین فریدمن، مدیر عامل Kelonia Therapeutics می گوید، اما هرگونه کاهش احتمالی در ویژگی باید در کنار قدرت و قابلیت تولید در نظر گرفته شود. اگر گلیکوپروتئین‌های دیگر نرخ برنامه‌ریزی مجدد بالاتر یا ذرات غیرعملکردی کمتری را ارائه دهند، دوزهای پایین‌تر قابل دستیابی هستند و به طور بالقوه مشخصات کلی ایمنی و کارایی محصول را بهبود می‌بخشند. او می افزاید: «شما واقعاً نیاز دارید که هر سه رکن – ویژگی، قدرت و ساخت – را داشته باشید تا مؤثر باشید. قدرت به خودروی مورد استفاده و نشانگر سلول B نیز بستگی دارد. همه اهداف معمول هماتولوژیک - CD19، CD20، CD22 و BCMA - مدعی هستند. فراتر از کلاهک جستجوی سلول، محققان بیش از یک دهه را صرف بهینه سازی خودروها کرده اند و در مورد اینکه چگونه حوزه های مختلف در بدن و دم CAR روی سلول آن تأثیر می گذارد، آزمایش کرده اند. ویژگی‌های CARهایی که

در محصولات ex vivo استفاده می‌شوند احتمالاً برای CAR لنتی ویروسی in vivo نیز مناسب هستند. آنها در نتیجه یک ساختار آزمایش شده و واقعی را پذیرفته اند، با یک دامنه لولای CD8، یک دامنه غشایی CD8، یک دامنه سیگنال دهی همزمان 4-BB1 و یک دم سیگنالینگ .CD3ζجانسون می‌گوید: «این یک سازه CAR بسیار تثبیت‌شده، پذیرفته‌شده و کارآمد است. اما یک فلش اضافی به لنتیویروس اضافه کرده است و سلول های T هدفمند را با پروتئین دومی به نام گیرنده سیتوکین فعال شده راپامایسین (RACR)انتقال می دهد. مولکول کوچک راپامایسین این گیرنده مصنوعی RACR را روشن می کند که به نوبه خود IL-15 را به سلول های برنامه ریزی مجدد می رساند. فونتانا می‌گوید: «اکنون به خوبی نشان داده‌ایم که این نه تنها عمر آن سلول‌های T را طولانی‌تر می‌کند، بلکه خودروهای مهندسی‌شده بیشتری را در بدن موش‌ها تولید می‌کند. داده های پیش بالینی نشان می دهد که این نامزدها در مسیر درست قرار دارند. Interius گزارش داده است که یک تزریق محصول سرب خود می تواند سلول های B را هم در موش ها و هم در ماکاک ها کاهش دهد. Umoja به طور مشابه نشان داده است که سلول‌های برنامه‌ریزی‌شده مجدد آن، بدون RACR، باعث کاهش سلول‌های B در پستانداران غیرانسان می‌شوند. Evgin می‌گوید: «داده‌های بسیار قانع‌کننده‌ای از هر دو مجموعه داده است. آنها نشان داده‌اند که می‌توانند این سلول‌ها را در داخل بدن با

کارایی نسبتاً بالایی تولید کنند و این سلول‌ها بسیار کاربردی هستند و می‌توانند سلول‌های B را در مدل‌های موش و در مدل‌های پستانداران غیرانسانی تخلیه کنند.» او می افزاید که برنامه نویسان مجدد لنتیویروسی نیازی به رسیدن به سطوح بسیار بالایی از انتقال درون تنی ندارند، زیرا سلول های T دوباره آموزش دیده متعاقباً توسط تحریک آنتی ژن بمباران می شوند که باعث گسترش آنها می شود. بوخهولز نیز محتاطانه خوش بین است. این خبر خوبی است که برنامه‌ریزی مجدد در یک مدل حیوانی بزرگ کار می‌کند. این باعث امیدواری می شود. اما البته، نخستی‌های غیر انسانی، بیماران بیمار نیستند.» برای به دست آوردن اطلاعات انسانی، هر دو شرکت اکنون بیماران را در مرحله اول آزمایشات سرطان ثبت نام می کنند. آنها با مناظر شلوغ سرطان خون روبرو هستند. نه تنها CAR T های ex vivo بسیار موثر هستند، بلکه انکولوژیست ها اشتهای کمی برای تکرار استراتژی درمانی مشابه در بیمارانی که به اولین CAR T پاسخ نمی دهند، ندارند. جانسون می‌گوید، بیمارانی را که در CD19 CAR T عود کرده‌اند، با یک محصول دیگر CAR19 CAR T عقب‌نشینی کنید. تیم او در نتیجه برنامه اصلی خود را CD20، یکی دیگر از نشانگرهای متعارف سلول‌های B و سرطان‌های سلول B، هدف قرار داده است. این کارآزمایی در حال حاضر در حال استخدام بیماران است. Umoja نسبت به مسیر یک CAR T in vivo هدف‌گیری شده با CD19 خوش‌بین‌تر است و یک محصول

سرب را برای بیماران CAR-T ساده و در معرض CAR-T مبتلا به سرطان خون توسعه می‌دهد. اما برای دور زدن مشکل درمان مجدد، یک دستگاه in vivo CAR T با هدف CD22 را نیز توسعه می‌دهد. هر دو کاست برنامه‌ریزی مجدد سرب Umoja دارای ژن RACR هستند و فرصتی را برای آزمایش تأثیر این درمان‌ها با و بدون تقویت راپامایسین فراهم می‌کنند. برای بیمارانی که پاسخ نسبی دارند، ما دو گزینه داریم: می‌توانیم آنها را با وکتور برنامه‌ریزی مجدد دوز کنیم، یا می‌توانیم راپامایسین را به آنها بدهیم که آن سلول‌ها را برای کشتن تومورها تحریک کند. این فقط اهرم دیگری را به ما می‌دهد که رقبای ما آن را ندارند." سوال بزرگ در کلینیک این خواهد بود که آیا گزینش پذیری این بردارها حفظ می شود؟" او می‌گوید سازندگان دارو و تنظیم‌کننده‌ها باید برنامه‌ریزی مجدد خارج از بافت را زیر نظر داشته باشند. در طی یک آزمایش بالینی از Tisagenlecleucel (Kymriah) که اکنون توسط Novartis تأیید شده است، یک اتفاق ناگوار در تولید منجر به انتقال ناخواسته خودرو به یک سلول B لوسمیک شد. این یک کلون لوسمیک مقاوم به CAR-T ایجاد کرد که منجر به مرگ بیمار شد، که بدترین نتیجه برای برنامه‌ریزی مجدد خارج از بافت است. برنامه ریزی مجدد روی بافت نیز ممکن است باعث سرطان شود. در نوامبر گذشته، FDA شروع به بررسی این موضوع کرد که آیا CAR T های ex vivo خطر ابتلا به سرطان را افزایش می دهند، با این نگرانی

که ادغام محموله CAR در ژنوم سلول T ممکن است در موارد نادر یک رویداد سرطانی باشد. داده‌های بعدی از آن زمان به کاهش این نگرانی در مورد CAR های خارج از بدن کمک کرده است، اما هنوز آن را کاملاً از بین نبرده است. Evgin می‌افزاید: «خطرات مرتبط با درمان ازمایشگاهی و درمان in vivo باید به طور مستقل ارزیابی شوند.» بوخهولز می‌افزاید، TS می‌تواند باعث سرطان‌های ثانویه شود، ممکن است سال‌ها طول بکشد تا این سرطان‌ها ظاهر شوند. فوراً، محققان به دنبال سندرم آزادسازی سیتوکین (CRS)، نوعی واکنش بیش از حد ایمنی سیستمیک، و سندرم سمیت عصبی مرتبط با سلول‌های ایمنی (ICANS)خواهند بود. ، مجموعه ای از عوارض جانبی عصبی که همچنین از فراوانی بیش از حد سیتوکین های التهابی با درمان CAR T ناشی می شود. CRS، به‌ویژه، بخشی از درمان با سلول‌های CAR T است و در هشدارهای جعبه سیاه تمام CARهای خارج از بدن تأیید شده توسط FDA ذکر شده است. اما جامعه پروتکل های استاندارد شده ای را برای کنترل این خطرات ایجاد کرده است. Evgin می‌گوید: «تجربه‌های بالینی زیادی و ابزارهای زیادی وجود دارد که می‌توان برای مدیریت آن نوع سمیت‌ها استفاده کرد.» بوکهلز اضافه می‌کند که مشخصات ایمنی زایی CAR Ts in vivo نیز مورد توجه قرار می‌گیرد. بیمارانی که CAR T های خارج از بدن دریافت می کنند، قبل از درمان، لنفاوی تخلیه می شوند و بنابراین سیستم ایمنی آنها توانایی

محدودی برای پاسخ به سلول های مهندسی شده و پروتئین های کایمریکی که حمل می کنند، دارد. در مقابل، in vivo CAR T ها را نمی توان با تخلیه لنفاوی جفت کرد زیرا این امر سلول هایی را که نیاز به اصلاح دارند تخلیه می کند. اما یک سیستم ایمنی کاملاً کارآمد ممکن است ناقل یا خودروی رمزگذاری شده را رد کند. بوخهولز می‌گوید: «من بسیار هیجان‌زده هستم که این آزمایش‌ها در راه است، اما نگرانی‌هایی وجود دارد و خواهیم دید که چه اتفاقی می‌افتد. همچنین نشانه های اولیه اثربخشی باشد. Fontana می‌گوید: «سطوح و عمق کاهش سلول‌های B برای ما مهم خواهد بود. امیدها در اینجا مبتنی بر شواهد اولیه است که کشتن سلول‌های B توسط CAR Ts خارج از بدن می‌تواند باعث بازنشانی سیستم ایمنی و درمان احتمالی در لوپوس شود. در حالی که هزینه های بالا، رژیم های تخلیه لنفاوی و عوارض جانبی CAR T خارج از بدن بار سنگینی در محیط انکولوژی است، آنها حتی برای بیماران مبتلا به بیماری های خودایمنی مشکل سازتر هستند. بنابراین Interius یک CAR T در داخل بدن با CD19 را برای ورود به کلینیک بیماری‌های خودایمنی در سال 2025 در اولویت قرار داده است. Umoja و شریک IASO Biotherapeutics قصد دارند سال آینده آزمایش یک نامزد هدفمند CD22 را in vivo CAR T در چین در بیماران مبتلا به بیماری‌های خود ایمنی آغاز کنند.

فونتانا می‌گوید: «ما در مورد فضای خودایمنی، برای خودمان و برای کل حوزه in vivo، بسیار هیجان‌زده هستیم.»

https://www.nature.com/articles/d41573-024-00150-z