

13. *Corticosteroid-induced myopathy mimicking therapy-resistant asthma* / M. Yamaguchi [et al.] // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2007. Vol. 99. N 4. P. 371–374.
14. *Branched-chain amino acids protect against dexamethasone-induced soleus muscle atrophy in rats* / D. Yamamoto [et al.] // *Muscle Nerve.* 2010. Vol. 41. N 6. P. 819–827.
15. *Полунина, А. Г. Стероидная миопатия (обзор)* / А. Г. Полунина, Ф. В. Исаев, М. А. Демьянова // *Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2012. № 10 (2). С. 60–64.
16. *Pereira, R. M. Glucocorticoid-induced myopathy* / R. M. Pereira, J. Freire de Carvalho // *Joint Bone Spine.* 2011. Vol. 78 (1). P. 41–4.
17. *Miller, M. L. Glucocorticoid-induced myopathy* / M. L. Miller // *Indian J. Endocrinol. Metab.* 2013. Vol. 17 (5). P. 913–6.
18. *Случай острой стероид-индуцированной миопатии у пациентки с аутоиммунной тромбоцитопенией* / Н. Т. Ватутин [и др.] // *Архивь внутренней медицины.* 2020. № 10 (4). С. 314–321.
19. *Ревматические проявления гипотиреоза* / Л. В. Теплова [и др.] // *Современная ревматология.* 2017. № 11 (2). С. 47–53.
20. *Functional capacity and muscular abnormalities in subclinical hypothyroidism* / V. S. Reuters [et al.] // *Am. J. Med. Sci.* 2009. Vol. 338 (4). P. 259–63.

А. К. Тушина

АНТИ CD19 CAR-T КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ

Системная красная волчанка (СКВ) — системное аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся гиперпродукцией органонеспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра и развитием иммуновоспалительного повреждения внутренних органов [1]. Считается, что в основе патогенеза СКВ лежит сложное нарушение антиген-специфической регуляции и В-клеточной реактивности, сопровождающиеся патологической активацией классического пути системы комплемента и нарушением процессов апоптоза. Особую роль в формировании воспалительного процесса при СКВ могут играть аутореактивные В-лимфоциты. При контакте с антигеном В-клетки подвергаются клональной экспансии, что в результате приводит к образованию В-клеток памяти и плазматических клеток, последние секретируют аутоантитела ко множеству (более 100) аутоантигенов, среди которых доминируют антитела к двуспиральной ДНК. В настоящее время они являются основным диагностическим маркером СКВ, их уровень в сыворотке крови коррелирует с активностью заболевания и часто ассоциируется с развитием волчаночного нефрита.

Волчаночный нефрит в свою очередь является одним из наиболее частых и тяжелых осложнений волчанки, влияющих на общий прогноз заболевания. Поражение почек, часто выступающее основной причиной смерти, отмечается почти у двух третей пациентов с СКВ [2]. Проявления волчаночного нефрита могут варьировать от бессимптомных изменений в анализах мочи до быстро прогрессирующего гломерулонефрита с полулуниями и развития терминальной стадии хронической болезни почек.

Риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, в том числе инфаркта миокарда и инсульта, и сердечно-сосудистой смерти у пациентов с СКВ в 2–3 раза выше, чем в общей популяции. Специфическим для СКВ фактором риска является персистирующее воспаление, которое приводит к нарушению липидного профиля и способствует развитию эндотелиальной дисфункции и повреждению сосудов. Еще одним фактором, способствующим ускоренному развитию атеросклероза у пациентов с СКВ, является применение глюкокортикостероидов. Несмотря на то, что эти препараты обладают выраженным противовоспалительным эффектом, они вызывают появление или нарастание традиционных сердечно-сосудистых факторов риска, таких как дислипидемия, гипергликемия, избыточная масса тела и артериальная гипертония.

К настоящему моменту в мире проведено большое количество рандомизированных контролируемых исследований, доказывающих терапевтическую эффективность применения современных лекарственных средств в лечении СКВ, улучшающих исходы заболевания. Принята концепция «лечение до достижения цели» (Treat-to-Target), в основе которой для ведения пациентов с СКВ рекомендуется разработка индивидуальных (пациенто-ориентированных — patient-centered) программ терапии, направленных на достижение ремиссии (или низкой активности) как основы для предотвращения необратимого повреждения внутренних органов и улучшения отдаленного прогноза [3–5]. В случае недостаточного контроля активности заболевания необходимо повышение дозировок и длительности приема глюкокортикоидных препаратов, а также расширению спектра применяемой иммуносупрессивной терапии, что наряду с развитием коморбидной патологии приводит к накоплению необратимых повреждений внутренних органов и, как следствие, к снижению качества жизни, инвалидизации пациентов, преждевременной летальности. Поэтому важной задачей является разработка подходов, направленных на минимизацию дозы или отмену гормональной терапии.

Прогресс фундаментальных исследований, способствующих лучшему пониманию механизмов иммунопатологии СКВ, послужил теоретическим обоснованием для разработки новых подходов к фармакотерапии СКВ, в первую

очередь генно-инженерных биологических препаратов, направленных на блокирование широкого спектра молекулярных и клеточных биологических «мишеней», участвующих в развитии воспаления и аутоиммунитета: цитокины и интерфероны типа I, компоненты комплемента, внутриклеточные сигнальные пути и факторы транскрипции, модулирующие активность цитокинов и иммунометаболических процессов в клетках иммунной системы, патологическую активацию В-клеток и плазматических клеток. Однако полностью контролировать иммуновоспалительные процессы при СКВ эти препараты не способны.

Специальные исследования посвящены изучению возможностей трансплантации аутологичных и мезенхимальных стволовых клеток, активации Т-регуляторных клеток. Новое направление лечения СКВ связано с использованием CAR-T-клеточной терапии (chimeric antigen receptor T cells). Израильский иммунолог Zelig Eshhar первым выработал концепцию и получил первую Т-клетку с химерным рецептором, который впоследствии стал известен как рецептор химерного антигена [6]. CAR-T-терапия была впервые разработана более десяти лет назад для лечения некоторых лейкозов и лимфом, при этом Т-клетки поражают трансформированные В-клетки, вызывающие рак. CAR-T-терапию давно рассматривали как потенциальную стратегию борьбы с аутоиммунными состояниями. Химерный антигенный рецептор (CAR) является рекомбинантной белковой молекулой, конструируемой с помощью методов генной инженерии. Базовая структура рецептора включает: эктодомен, чаще однонителевой вариабельный фрагмент (scFv), полученный из моноклонального антитела, нацеленного на выбранный антиген (т. е. CD19); шарнирный регион (пептидный линкер, фрагмент белков CD8 или IgG), который связывает эктодомен с трансмембранным доменом (соответствующий домен молекул CD8 или CD28), закоренным в мембране; и, наконец, эндодомен, расположенный во внутриклеточном пространстве и отвечающий за передачу сигнала (минимальный эндодомен включает ζ -цепь CD3). Молекулы CAR второго поколения содержат, помимо сигнального домена (CD3 ζ), ко-стимулирующие домены, например, цитозольные домены CD28 или 4-1BB, обеспечивающие полноценную активацию и пролиферацию Т-клеток. CD19 — это трансмембранный белок массой 95 кД, который экспрессируется только в линии В-клеток, начиная со стадии пре-В-клеток до конечной стадии дифференцировки и не экспрессируется в плюрипотентных гемопоэтических стволовых клетках или большинстве плазматических клеток. В исследованиях, посвященных лечению лимфом показано устойчивое истощение В-клеток, превышающее таковое при использовании моноклональных анти-CD 19 антител [7].

Инженерная аутологичная клеточная терапия — это процесс, при котором из крови пациента извлекаются Т-лимфоциты. Затем в хромосомы Т-лимфоцитов встраивают ДНК, кодирующую CAR, и клетка начинает продуцировать на своей поверхности те самые химерные, то есть искусственно созданные рецепторы [8]. Эти клетки направляются на модификацию и последующую криоконсервацию. Перед инфузией CAR-T-клеток проводится лимфодеплеция путем введения реципиенту циклофосфида и флударабина.

Эффективность CD19 CAR-T-клеточной терапии продемонстрирована на экспериментальных моделях СКВ — мышах линий MRL и (NZBxNZW) F1. Согласно этим данным, хотя лечение CAR-T-клетками может эффективно индуцировать деплецию В-клеток и тем самым увеличивать продолжительность жизни мышей с СКВ [9]. Модифицированные CAR Т-лимфоциты были введены 41 животному. У 26 мышей терапия успешно уничтожила практически все В-лимфоциты, несущие CD19. CAR Т-лимфоциты были активны как минимум в течение одного года *in vivo*. Большинство пролеченных животных прожили более года после переноса CAR Т-лимфоцитов. Продолжительность жизни мышей в контрольной группе составила максимум 10 месяцев.

Zhang и соавторы описали случай успешного применения CAR-T-клеточной терапии при сочетании СКВ и диффузной крупной В-клеточной лимфомы IV стадии [10]. Перед введением CAR-T-содержащего препарата проводилась инфузия флударабина, циклофосфида и гормональная терапия с целью деплеции собственных лимфоцитов пациента. Семь недель спустя отмечалось стабильное течение СКВ с контролируемыми симптомами. Через полгода после CAR-T-терапии собственные В-клетки пациента восстановились. В течение 23 месяцев наблюдения СКВ и В-клеточная лимфома оставались в стабильной ремиссии.

Недавно представлены данные об успешном применении CD19 CAR-T-клеточной терапии у пациентки с тяжелым рефрактерным волчаночным нефритом (класс IIIA), получавшей терапию гидроксихлорохином, высокими дозами глюкокортикоидов, циклофосфида, мофетила микофенолата, ритуксимаба и белимумаба [11]. Однократная инфузия CD19 CAR-T-клеток ассоциировалась со снижением концентрации антител к двуспиральной ДНК, нормализацией концентрации С3- и С4-компонентов комплемента, снижением протеинурии и индекса SELENA-SLEDAI (Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment — Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index). Отмечалось также снижение уровня и других аутоантител — Sm-антител и антител к одноцепочечной ДНК. Предполагается, что эффективность CAR-T-клеточной терапии сохраняется и после восстановления собственного пула В-клеток. Так имеющи-

еся наблюдения указывают на возможность ремиссии СКФ без сопутствующей медикаментозной терапии.

Получив впечатляющий положительный результат, ученые решили расширить группу пациентов. В дальнейшее исследование были включены уже 5 пациентов с СКВ (4 женщины и 1 мужчина) в возрасте от 18 до 24 лет. Все они имели рефрактерное течение СКВ с вовлечением почек и других внутренних органов. Ремиссии удалось достичь у всех 5 участников через 3 месяца после лечения. Безмедикаментозная ремиссия поддерживалась через 8–12 месяцев после введения CAR-T-клеток [12].

Из проведенных исследований становится очевидна обоснованность и безопасность проведения CAR-T-клеточной терапии. Это важно, так как у пациентов с аутоиммунными заболеваниями наблюдается внутренняя активация.

T-клеточного звена иммунитета, с чем и связано применение препаратов, которые истощают T-клетки и/или модулируют их функцию. В то же время отмечается быстрое подавление B-клеточного ответа со стабильным снижением продукции аутоантител. Глубокая деплеция B-клеток памяти может быть обусловлена тем, что CAR-T-клетки воздействуют и на тканевые B-лимфоциты, содержащиеся, например, в лимфатических узлах и костном мозге. Эту способность можно отнести к значимым преимуществам CAR-T-клеточной терапии, поскольку считается, что применение биологической терапии не приводит к столь глубокой деплеции B-клеток. Так, анти CD-20-моноклональные антитела не воздействуют на тканевую популяцию B-клеток. Такая концепция объясняет также и эффективность CAR-T-клеточной терапии при неуспешном применении ритуксимаба и других моноклональных антител, направленных против CD20+ B-лимфоцитов.

При применении CAR-T-клеточной терапии описано развитие синдрома высвобождения цитокинов, синдрома нейротоксичности, связанные с иммунными эффекторными клетками, а также цитопении в течение недель и месяцев после лимфодеплеции. Синдром высвобождения цитокинов является наиболее распространенным нежелательным явлением, наблюдаемым во всех исследованиях, включающих терапию клетками CAR-T. Считается, что это осложнение возникает вследствие экспансии и активации клеток CAR-T, что приводит к чрезмерной выработке цитокинов рядом иммунных клеток и усилению системного воспалительного ответа. Первым событием, стимулирующим развитие синдрома высвобождения цитокинов, является целенаправленная активация клеток CAR-T, которые высвобождают эффекторные цитокины, такие как γ -интерферон, α -фактор некроза опухоли и интерлейкин-2. Эти молекулы, в свою очередь, способны активировать макрофаги, которые продуцируют

широкий спектр провоспалительных цитокинов, что приводит к гиперцитокинемии и прогрессированию синдрома высвобождения цитокинов. В процессе развития синдрома высвобождения цитокинов наиболее значимо повышаются интерлейкин-6, γ -интерферон и интерлейкин-10. Повышенные уровни интерлейкина-6 связаны с ключевыми клиническими особенностями синдрома высвобождения цитокинов (который включает гипоксию, гипотензию, нарушение свертываемости крови и полиорганную недостаточность). У большинства пациентов клинические признаки синдрома выброса цитокинов возникают через 1–14 дней после инфузии CAR-T клеток.

Нейротоксичность, также известная как синдром CAR-T-связанной энцефалопатии (CRES), является наиболее тяжелым нежелательным явлением, наблюдаемым в исследованиях, включающих терапию клетками CAR-T. На сегодняшний день основная причина развития нейротоксичности, обусловленной проведением CAR-T неизвестна.

К наиболее распространенным неврологическим нежелательным явлениям относятся энцефалопатия, головная боль, тремор, головокружение, афазия, бред, бессонница, беспокойство/тревога и автономная (вегетативная) невропатия. Также могут выявляться ажитация, гиперактивность или признаки психоза. Описаны эпизоды судорожной активности, а также смертельные и серьезные случаи отека головного мозга.

В то же время применение CAR-T-клеточной терапии не приводило к изменению биохимических параметров крови. Наряду с этим уровень общего иммуноглобулина G также существенно не изменялся, поэтому после применения CAR-T-препаратов не требуется заместительная терапия внутривенным иммуноглобулином.

Следует отметить, что данные, подтверждающие эффективность лечения CAR-T-клетками, основаны на совсем небольших выборках. Именно поэтому идеальный профиль пациента для лечения CAR-T-клетками при СКВ не установлен: симптомы и степень тяжести волчанки варьируются от человека к человеку. Одним из ключевых преимуществ данного подхода является тропность к рецептору CD19, который экспрессируется как В-клетками, так и плазмобластами. Однако есть пациенты, у которых продукция аутоантител обусловлена долгоживущими плазматическими клетками, которые обычно CD19-отрицательны. Такие пациенты могут хуже воспринимать или не реагировать на подобную терапию CAR-T-клетками [13].

Тем не менее, учитывая случаи множественной рефрактерности при СКВ к применению различных групп иммуносупрессивных препаратов, применение CAR-T-клеточной терапии может явиться ключом к контролю имеющегося

аутоиммунного воспаления. Особенно этот вариант терапии актуален для пациентов с вовлечением внутренних органов — нефритом, кардитом и др.

FDA одобрила использование CAR-T-клеток в 2017 г. С тех пор идет постоянный поиск способов повышения эффективности метода, пробы расширить спектр заболеваний, которые можно было бы вылечить с помощью CAR-T-клеток. В том числе обсуждается возможность применения CAR-T-клеточной терапии и при других вариантах аутоиммунных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Tsokos, G. Systemic lupus erythematosus / G. Tsokos // N. Engl. J. Med. 2011. Vol. 365 (22). P. 2110–2121.*
2. *Cameron, J. S. Lupus nephritis / J. S. Cameron // J. Am. Soc. Nephrol. 1999. Vol. 10 (2). P. 413–424.*
3. *Parra Sánchez, A. R. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: advancing towards its implementation / A. R. Parra Sánchez, A. E. Voskuyl, R. F. van Vollenhoven // Nat. Rev. Rheumatol. 2022. Vol. 18 (3). P. 146–157.*
4. *Achieving remission or low disease activity is associated with better outcomes in patients with systemic lupus erythematosus: a systematic literature review / M. F. Ugarte-Gil [et al.] // Lupus Sci. Med. 2021. Vol. 8 (1). e000542.*
5. *Проблемы низкой активности и ремиссии при системной красной волчанке / С. К. Соловьев [и др.] // Научно-практическая ревматология. 2019. № 57 (2). С. 218–221.*
6. *Eshhar, Z. The Emergence of T-Bodies/CAR T Cells / Z. Eshhar, T. Waks, G. Gross // The Cancer Journal. 2014. Vol. 20. P. 123–126.*
7. *Geldres, C. Chimeric antigen receptor-redirected T cells return to the bench / C. Geldres, B. Savoldo, G. Dotti // Semin. Immunol. 2016. Vol. 28 (1). P. 3–9.*
8. *Sustained B cell depletion by CD19-targeted CAR T cells is a highly effective treatment for murine lupus / R. Kansal [et al.] // Sci. Transl. Med. 2019. Vol. 11. eaav1648.*
9. *Mei, H. E. Rationale of anti-CD19 immunotherapy: an option to target autoreactive plasma cells in autoimmunity / H. E. Mei, S. Schmidt, T. Dorner // Arthritis Res. Ther. 2012. Vol. 14 (Suppl. 5). S1.*
10. *Treatment of systemic lupus erythematosus using BCMA-CD19 compound CAR / W. Zhang [et al.] // Stem. Cell Rev. Rep. 2021. Vol. 17 (6). P. 2120–2123.*
11. *CD19-targeted CAR T cells in refractory systemic lupus erythematosus / D. Mougiakakos [et al.] // N. Engl. J. Med. 2021. Vol. 385 (6). P. 567–569.*
12. *Anti-CD19 CAR T cell therapy for refractory systemic lupus erythematosus / A. Mackensen [et al.] // Nat. Med. 2022. Vol. 28. P. 2124–2132.*
13. *Kambayana, G. Autologous CD19-Targeted Chimeric Antigen Receptor (CAR)T-Cells as the Future of Systemic Lupus Erythematosus Treatment Curr Rheumatol Rev. / G. Kambayana, S. Surya Rini 2023. Feb 14. Epub ahead of print.*