

**Баньковский А.А.**

## **CRISPR-CAS9 В КОНТЕКСТЕ CAR-T-КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ**

**Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Черношей Д.А.**

*Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии*

*Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

Классическая иммунотерапия с помощью CAR-T-клеток предполагает забор Т-клеток из периферической крови пациента, их генетическую модификацию с целью экспрессии химерного рецептора антигена (CAR) и инфузию пациенту обратно. Такая стратегия определенно вошла в арсенал методов лечения гематоонкологических заболеваний и отдельных солидных опухолей. Однако существуют проблемы, ограничивающие применимость и до-ступность метода: необходимость работы с аутологическими Т-клетками; дороговизна процедуры получения, обработки и накопления CAR-T; серьезные осложнения, присущие методу; высокие требования к квалификации медицинского персонала и оснащению.

Одним из решений этих проблем может быть использование аллогенных (так называемых «off the shelf») CAR-T-клеток, полученных от здоровых доноров. Такой подход позволит расширить возможности по отбору исходных Т лимфоцитов. Снизить же их иммуно- и реактогенность можно путем нокаутирования генов TCR и бета-2-микроглобулина (HLA I). Нарушение последовательностей в константных областях  $\alpha$ - или  $\beta$ -субъединиц локуса TCR и/или HLA генного комплекса МНС достигается с помощью системы редактирования генома CRISPR-Cas9. Эффект снижения аллореактивности был показан как в экспериментах на клеточных культурах, так и на животных моделях.

К сожалению, приблизительно у 30-50% пациентов возникает рецидив заболевания после ремиссии. Механизмы, лежащие в основе невозможности поддержания долгосрочного эффекта, включают в первую очередь непродолжительную персистенцию CAR-T-клеток, что в основном является результатом действия агрессивного микроокружения опухоли. В свою очередь, одним из главных достоинств CRISPR-Cas9 по сравнению с другими технологиями редактирования генома является возможность одновременного внесения нескольких различных мутаций в клетку. Поскольку микроокружение опухоли является одним из факторов деградации CAR-лимфоцитов, крайне любопытным является не только нокаут генов TCR и HLA, но и нокаут генов контрольных иммунных точек (КИТ). Нокаутируя гены PD1, CTLA-4 и др. можно заметно повысить жизнеспособность эффекторных клеток и их устойчивость к истощению в микроокружении опухоли.

Главной проблемой применения CRISPR-Cas9 в CAR-T терапии являются возможные нецелевые ошибочные («off-target») мутации, которые могут привести к очень тяжелым осложнениям. Систематические оценки нецелевого редактирования CAR-T-клеток с использованием методов цитогенетики, методов прогнозирования *in silico*, полноэкзомного секвенирования и т.д. могут свести к минимуму шанс ошибочных мутаций и снизить вероятность токсичности после адоптивного введения клеток реципиенту.

Исследования применения технологии CRISPR-Cas9 редактирования генома лимфоцитов для оптимизации их выживаемости, пролиферативной и цитотоксической активности, снижения вероятности развития неконтролируемого синдрома выделения цитокинов и других осложнений являются весьма актуальными.