

# Kimerik Antijen Reseptörü T (CAR-T) Hücresi ve Kullanım Alanları

## Chimeric Antigen Receptor T (CAR-T) Cell and its Uses

 Recep BOZKURT<sup>a</sup>,  Görkem KISMALI<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya ABD, Ankara, Türkiye

**ÖZET** Kanser, günümüzde hâlâ önemini koruyan ciddi hastalıkların başında gelmektedir. Geçmiş yıllardan günümüze gelene kadar kansere yönelik birçok tedavi yöntemi geliştirilmiştir. Son yıllarda geliştirilen tedavi yöntemlerinden biri de immünoterapi yöntemi olmuştur. İmmünoterapi yöntemi içerisinde değerlendirilen kimerik antijen reseptörü T [chimeric antigen receptor-T (CAR-T)] hücre tedavisi, kanser tedavisi üzerinde çok önemli bir yere sahiptir. Bu tedavi yöntemi, hastanın doğal bağışıklık sisteminde bulunan T hücrelerinin kullanılmasıyla geliştirilmiştir. Hastadan alından T hücrelerinin genetik olarak tasarlanmasıyla CAR-T hücreleri oluşturulur. Genetik olarak tasarlanmış bu CAR-T hücreleri, herhangi bir antijene karşı yönlendirilebilir ve hedef tümör hücrelerini öldürme yeteneği artırılabilir. CAR-T hücreleri kendi içerisinde 5 nesle ayrılmaktadır. Birinci nesilden 5. nesle doğru gidildikçe CAR-T hücrelerinin tedavi kapsamı ve etki gücü genişlemektedir. CAR-T hücre tedavisi, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından “çığır açan terapi” olarak nitelendirilmiştir. Günümüzde, özellikle kanser alanında kullanılan bir tedavi yöntemi olsa da ilerleyen yıllarda diğer birçok hastalığın tedavisi için de kullanılabileceği ön görülmektedir. Kanserler içerisinde CAR-T hücre tedavisi daha çok akut lenfoblastik lösemi, kronik lenfositik lösemi, lenfoma (lenf kanseri), multipl miyeloma (kemik iliği kanseri) dâhil olmak üzere hematolojik kanserlerin tedavisinde kullanılmıştır. Yeni gelişen bir tedavi olması ve zorlu prosedürlerinin olması sebebiyle CAR-T hücre tedavisinin maliyeti günümüzde fazladır. Gelecekte beşeri hekimlikten sonra veteriner hekimlikteki kanser tedavilerinde kendine yer bulabilecek bir tedavi yöntemidir.

**ABSTRACT** Cancer is one of the most serious diseases that still maintain its importance today. Many treatment methods for cancer have been developed from the past to the present day. One of the treatment methods developed in recent years has been the method of immunotherapy. Chimeric antigen receptor-T (CAR-T) cell therapy, which is evaluated within the immunotherapy method, has a very important place in cancer treatment. This treatment method has been developed by using T cells found in the patient's innate immune system. CAR-T cells are created by genetically designing T cells taken from the patient. These genetically engineered CAR-T cells can be directed against any antigen and increase the ability to kill target tumor cells. CAR-T cells are divided into 5 generations. As we move from the 1st generation to the 5th generation, the treatment scope and potency of CAR-T cells expand. CAR-T cell therapy has been described as a “breakthrough therapy” by the US Food and Drug Administration. Although it is a treatment method used especially in the field of cancer today, it is predicted that it can be used for the treatment of many other diseases in the coming years. Among cancers, CAR-T cell therapy has mostly been used in the treatment of hematological cancers, including acute lymphoblastic leukemia, chronic lymphocytic leukemia, lymphoma (lymph cancer), multiple myeloma (bone marrow cancer). The cost of CAR-T cell therapy is high today, as it is a newly developed treatment and has difficult procedures. It is a treatment method that can find a place in cancer treatments in veterinary medicine after human medicine in the future.

**Anahtar Kelimeler:** CAR-T; kimerik antijen reseptörü; T hücresi

**Keywords:** CAR-T; chimeric antigen receptor; T cell

Günümüzde artan kanser hastalığı vakalarına yönelik tedavilerde büyük gelişmeler yaşansa da kanser, tüm dünyada tedavisi zor bir hastalık olmaya devam ediyor. Cerrahi operasyonlar, radyoterapi ve kemoterapi gibi geleneksel kanser tedavileri hastalıkta iyileştirici etki gösterse de kanser hastalarının yaşam kalitesini düşürmektedir.<sup>1</sup> Son

yıllarda ortaya çıkan ve immünoterapi olarak adlandırılan tedavi yönteminde antikorlar, T hücreleri ve dendritik hücreler gibi bağışıklık sisteminde bulunan hücreleri kansere karşı mücadele etmek için kullanılır. Özellikle T lenfositleri, tümöre özgü antijenlerin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Hastanın kendi immün sistem hücrelerinin gücünü

**Correspondence:** Recep BOZKURT

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya ABD, Ankara, Türkiye

**E-mail:** recep.435@hotmail.com

Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences.

**Received:** 21 Feb 2023

**Received in revised form:** 04 Apr 2023

**Accepted:** 04 May 2023

**Available online:** 25 May 2023

2146-8850 / Copyright © 2023 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



kullanarak kanserli hücreleri yok etmek immünoterapinin temel hedefi arasındadır.<sup>2,3</sup> Diğer tedavi yöntemleriyle (kemoterapi, radyoterapi ve cerrahi yöntem) kıyaslandığında kansere yönelik geliştirilen immünoterapi yöntemleri, hastalar için hayatta kalma ve yaşam kalitesi açısından önemli gelişmeler sağlamıştır.<sup>4</sup>

İmmünoterapinin en önemli yöntemlerinden biri, hedef antijeni spesifik olarak tanıyabilen, hedef antijen hücrelerini yok edebilen ve genetik olarak tasarlanmış T hücresi ekspresyonu yapan kimerik antijen reseptörü T [chimeric antigen receptor-T (CAR-T)] hücresidir.<sup>5,6</sup> CAR-T hücreleri, tümör hücrelerine karşı sitotoksik etkileri yeniden oluşturması için normal T hücrelerine genetik olarak modifiye edilmiş sentetik reseptörlerdir. Bu tedavi yöntemi, hastadan alınan T hücrelerinin laboratuvar koşullarında yeniden modifiye edilip, daha sonrasında sayılarının çoğaltılarak hastaya tekrardan verilmesi esasına dayanır.<sup>7</sup>

## CAR-T'NİN TARİHÇESİ VE GELİŞİMİ

CAR-T ilk olarak 1989-1993 yılları arasında Eshhar ve ark. tarafından İsrail'deki Weizmann Bilim Enstitüsünde geliştirilmiştir.<sup>8</sup> Eshhar, 1993 yılında, bir antikör molekülünden türetilmiş tek zincir değişken fragmanı (scFv) ile T hücre reseptörünün [T-cell receptor (TCR)] sabit bölge alanını birleştirmiştir. Genellikle TCR/CD3 kompleksinin  $\zeta$  zinciri üzerinde birleştirme yapılmıştır. Oluşturulan kimerik scFv $\zeta$  T hücreleri daha sonra "Birinci nesil CAR" olarak adlandırılmıştır.<sup>9</sup> CD3 zinciri, birinci nesil CAR'larda tek aktive edici alan bulundurmaktadır.<sup>10</sup> Birinci nesil CAR'lar T hücreleri üzerinde geçici bir aktivasyona sahiptirler ve bu sebeple terapötik etkinlikleri sınırlı olmaktadır.<sup>11,12</sup> CD3 ile scFv arasına aktive edici alan olarak CD28, 41BB veya OX40 proteini eklenerek "İkinci nesil CAR'lar" oluşturulmuştur.<sup>10,13</sup> "Üçüncü nesil CAR'lar" ise bir aktivasyon ve 2 uyarıcı etki alanı olacak şekilde geliştirilmiştir.<sup>14</sup> Bu jenerasyonları takiben sırasıyla "Dördüncü nesil CAR'lar" ve "Beşinci nesil CAR'lar" geliştirilmiştir.<sup>15,16</sup>

## TCR

TCR, T lenfositlerin yüzey molekülleri olup antijenlerin tanınmasını sağlamaktadır. TCR'ler 2

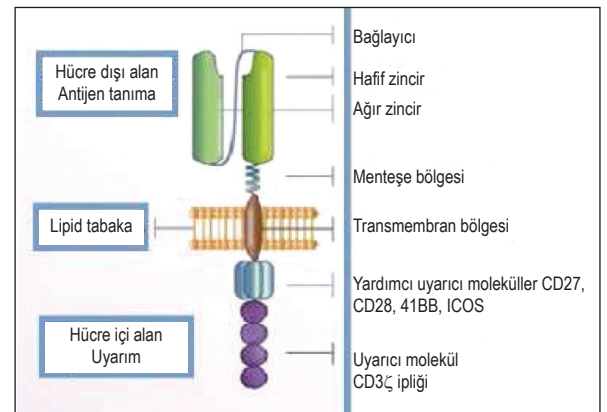
farklı polipeptid zincirinden oluşmuş heterodimer yapıdadır. Buradaki her bir polipeptid zincirinde 2 ilmek bölgesi ve 1 transmembran kısım yer almaktadır. Toplamda bir TCR'de 4 ilmek bulunmaktadır. Hücre dışındaki ilmeklerden biri değişken bölge (V), diğeri sabit bölge (C) olarak isimlendirilmektedir. Değişken bölge, 100 aminoasitten oluşmaktadır ve sonunda amino grubu bulunmaktadır. Membranın yakınında yer alan sabit bölge 150 amino asitten oluşmaktadır. Hücre membranından geçen ve 20 adet hidrofobik amino asitten oluşan transmembran bölümden sonra sitoplazma içindeki 5-15 amino asitlik bölüm karboksil grubu ile sonlanır. Sabit bölgede bulunan disülfid bağları 2 polipeptid zinciri birbirine bağlamaktadır.<sup>17-20</sup>

## CAR-T

CAR-T hücreleri, CAR üretmek için tasarlanmış hücreleri ifade etmektedir. CAR ise antijen özgüllüğünü değiştiren, T hücrelerini aktive eden ve T hücrelerinin işlevlerini daha hızlı bir duruma getiren yapay füzyon proteinini ifade etmektedir. CAR-T, kanser tedavisinde çığır açacak bir tedavi hâline gelmektedir.<sup>21</sup>

## CAR-T'NİN YAPISI

CAR'lar hibrit reseptörlerdir ve 3 ana bölgeden oluşmaktadır (Şekil 1):



ŞEKİL 1: CAR-T'nin yapısı.<sup>2</sup>

CAR-T: Kimerik antijen reseptörü T; CD: Yüzey farklılaşma antijeni; ICOS: İndüklenebilir yardımcı uyarıcı molekül; 41BB: Tümör nekrozis faktör reseptörü süper ailesine ait olan indüklenebilir bir T hücresi yüzey reseptörüdür.

## HÜCRE DIŞI ALAN (EXTRACELLULAR DOMAIN, ECTODOMAIN)

Antijen tanıma bölgesini içermektedir. Hücre dışı antijen bağlanma ipliği, çoğunlukla reaktif monoklonal türetilmiş tek zincir değişken fragmandan (scFv) oluşmaktadır. ScFv, antikorum ağır ve hafif zincirlerinin değişken bölgelerini bulundurmaktadır. Ekstraselüler kısımda yer alan scFv ipliği tümörle ilişkili antijeni tanımaktadır.<sup>22,23</sup>

## TRANSMEMBRAN BÖLGE

CAR'ı hücre membranına bağlamaktadır. CAR'ın stabilitesini sağlamaktadır.<sup>18</sup> Transmembran ipliği hücre dışı sinyalleri hücre içerisine aktarmaktadır ve hücre içi sinyalleşme ipliği de dış uyarıyı T hücresi sinyallerine çevirmektedir.<sup>24</sup>

## HÜCRE İÇİ ALAN

Antijenin bağlanmasıyla birlikte T hücre proliferasyonunu ve sitokin salınımını artıran bir CD3 sinyalizasyon alanı ve uyarıcı alanları içermektedir.<sup>2,26</sup> Aktivasyon sinyallerini T hücrelerine tirozin temelli bir yolla iletmektedir.<sup>25</sup> Antijen tanıma esnasında T hücrelerini aktive etmek için gerekli olan sinyal iletimini kolaylaştırmaktadır. CAR'da bulunan hücre içi alan, T hücrelerinin istenen antijenlerle tümör hücrelerine spesifik olarak cevap vermesini sağlamaktadır.<sup>2</sup>

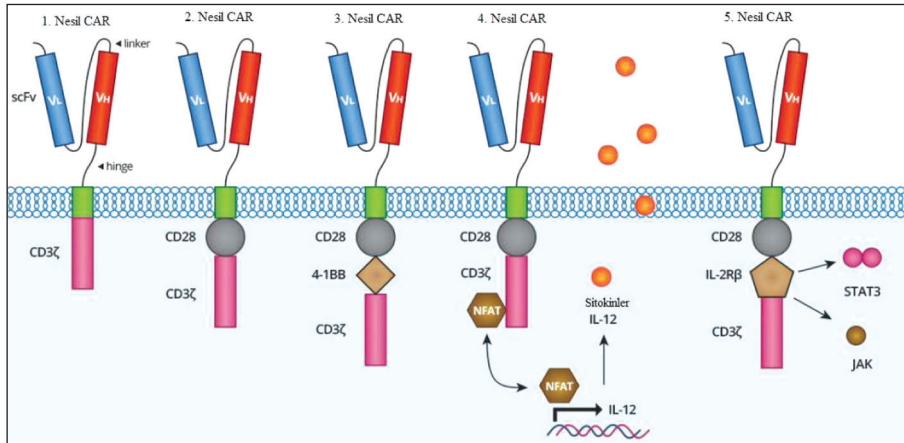
## CAR-T'NİN NESİLLERİ

### BİRİNCİ NESİL

Birinci nesil CAR'lar bir monoklonal antikordan oluşmaktadır ve tek zincirli bir değişken bölge içermektedir (Şekil 2). Birinci nesil CAR'ların tek aktive edici alanı bulunmaktadır ve bu aktive edici alan CD3 $\zeta$  zincirinden oluşmaktadır.<sup>25,27</sup> Birinci nesil CAR'ların aktivasyon gücü düşük olduğundan vücutta kalıcı etkileri de zayıf olmaktadır.<sup>14,28</sup> Bu nesil CAR'ların antitümoral etkileri ve terapötik etkileri sınırlı olmakla beraber, geçici bir sistemik etki veya lokal etki göstermektedir.<sup>25,29</sup> Yapılan klinik çalışmalarda, 1. nesil CAR'ların kanser tedavisinde sınırlı etki gösterdiği ortaya konulmuş ve CAR ile modifiye edilmiş hücrelerin aylarca düşük seviyede bulunduğu sonucuna varılmıştır.<sup>26</sup> Birinci nesil CAR'lar yeterli seviyede interlökin (IL)-2 üretmediğinden, tümör hücrelerini zayıflatmak için vücuda dışarıdan IL-2 uygulama gereksinimi ortaya çıkmaktadır.<sup>1,26</sup>

### İKİNCİ NESİL

Birinci nesil CAR'lara bir ko-stimülasyon (ortak uyarıcı etki alanı) molekülünden türetilen sinyal alanı eklenerek 2. nesil CAR'lar oluşturulmaktadır. Bazı bilim insanlarına göre bu moleküller CD28, 4-1BB (CD137), ICOS veya OX40'dan (CD134) oluşurken bazılarına göre de CD28 veya 4-1BB molekülünden



ŞEKİL 2: CAR-T'nin nesilleri.<sup>41</sup>

CAR-T: Kimerik antijen reseptörü T; IL: İnterlökin; NFAT: Aktive edilmiş T hücrelerinin nükleer faktörü; STAT: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü; JAK: Janus kinaz.

oluşmaktadır.<sup>2,27,28,30</sup> Genellikle 2. nesil CAR'lar CD3 $\zeta$  zincirine CD28 veya 4-1BB eklenerek, CD3 ile beraber 2 aktivasyon bölgesi oluşturulmaktadır.<sup>1</sup> CD28 eklenirse hücrede T hücreleri aerobik glikolizisi artırırken, 4-1BB eklendiği zaman mitokondriyal biyogeneze ve oksidatif metabolizmaya etki etmektedir.<sup>31</sup> İkinci nesil CAR'lar 3 tip reseptör bulundurmaktadır. Bunlar: (1) T hücre antijen reseptörleri, (2) sitokin reseptörleri ve (3) ko-stimülasyon reseptörleridir. İkinci nesil CAR'ların oluşturduğu 1. sinyaller, TCR tarafından üretilen spesifik sinyallerdir ve antijen peptid-MHC kompleksini tanımaktadır. İkinci sinyaller ko-stimülasyon sinyalleridir ve CD28 gibi ko-stimülasyon molekülünden üretilmektedir. İkinci sinyaller IL-2 sentezini teşvik ederek T hücre aktivasyonunu sağlamaktadır. Yalnızca CD3 $\zeta$  içeren CAR'lar ko-stimülatör sinyal olmadan CAR-T hücrelerini aktive edememektedir.<sup>2</sup> İkinci nesil CAR'lar, klinik kullanımda kullanılacak olan CAR-T hücre tedavilerinin temelini oluşturmuştur.<sup>14</sup>

İkinci nesil CAR'larda, T hücresine ek sinyaller sağlamak için sitoplazmik kuyruğundaki protein reseptörlerine çeşitli ko-stimülatörlerden elde edilen hücre içi sinyalleşme alanları eklenmiştir.<sup>26</sup> CD28 aracılı ko-stimülasyon, lenfositlerin proliferasyonuna ve hayatta kalmasına katkı sağlamasından dolayı önemli bir yer tutmaktadır. Buna ilaveten, hafıza ve efektör hücrelerin oluşturulmasında da rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalara göre 4-1BB-CAR-T hücrelerinin hücrede kalıcılığı CD28-CAR-T hücrelerine göre daha uzun olmaktadır.<sup>1</sup> CD28-CAR-T hücreleri uyarılmaya, çoğalmaya ve büyümeye katkı sağlamaktadır. 4-1BB-CAR-T hücreleri ise erken tükenmeye neden olabilmektedir ve bu nedenle antitümöral etkinliği sınırlayabilmektedir.<sup>26</sup>

### ÜÇÜNCÜ NESİL

Üçüncü nesil CAR'lar bir CD3 $\zeta$  zincirinden ve 2 adet ortak uyarıcı etki alanından (ko-stimülatörden) oluşmaktadır. Bu sebeple 3. nesil CAR'ların 3 aktive edici alanı bulunmaktadır.<sup>32,33</sup> Aktive edici alanları (çoklu sinyal etki alanı) genellikle CD3 $\zeta$ -CD28-OX40 veya CD3 $\zeta$ -CD28-4-1BB şeklinde olmaktadır. Çoklu aktive edici alanların bulunması 3. nesil

CAR'ların sitokin üretiminin ve öldürme yeteneğinin daha güçlü olmasını sağlamaktadır.<sup>26,35</sup> Yapılan bazı klinik öncesi çalışmalarda, 3. nesil CAR-T hücrelerinin antitümöral etkinliğinin, 2. nesil CAR-T hücreleri ile kıyaslandığında daha üstün özellikte olduğu sonucuna varılmıştır.<sup>22,36</sup> Lösemi ve pankreas kanseri modeli çalışmada, 3. nesil CAR'lar 2. nesil CAR'lara kıyasla daha iyi etki göstermemiştir.<sup>26</sup>

### DÖRDÜNCÜ NESİL

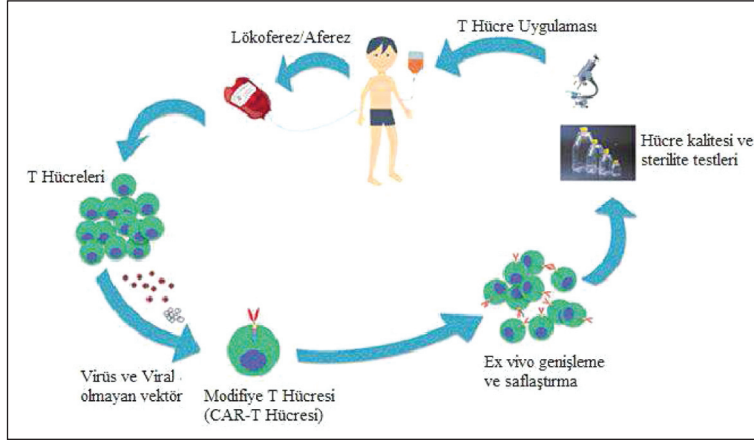
Dördüncü nesil CAR'lar, 2. nesil CAR'lara IL-12 eklenerek oluşturulmaktadır. Bu nesil CAR'lar silahlandırılmış 2. nesil CAR-T hücreleri olup, antitümöral aktivitesini (sitokin ekspresyonu vb.) geliştirmek için ilave genetik modifikasyonlara sahiptir. Dördüncü nesil CAR'lar TRUCK (T cell Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing) olarak da isimlendirilmektedir.<sup>29,30,37,38</sup> Bu nesil hücreler T hücre aktivasyonunu artırır ve hedef lezyondaki antijeni (negatif kanser hücrelerini) ortadan kaldırmak için doğuştan gelen bağışıklık hücrelerini ortama çekmektedir.<sup>38</sup> Dördüncü nesil CAR-T hücreleri viral enfeksiyonları, metabolik hastalıkları ve otoimmün hastalıkları da tedavi edebilmektedir.<sup>26</sup>

### BEŞİNCİ NESİL

Beşinci nesil CAR'lar, 2. nesil CAR'lara IL-2 reseptörü  $\beta$  (IL-2R $\beta$ ) fragmanı eklenmesiyle oluşturulmaktadır. Bu fragman transkripsiyon faktörü STAT3 için bağlanma bölgesi içermektedir. IL-2R $\beta$  parçası janus kinaz (JAKs) ve STAT 3/5 üretimini teşvik edebilmektedir.<sup>39,40</sup>

### CAR-T'NİN ÜRETİMİ

CAR-T hücrelerinin üretimi için birkaç adım gereklidir (Şekil 3). Tüm üretim aşamaları boyunca kalite kontrol testi yapmak da önem teşkil etmektedir. İlk olarak hastanın veya donörün vücudundan lökoferez yolu ile lökositler alınmaktadır ve ardından alınan kan tekrardan dolaşıma verilmektedir.<sup>26,42</sup> Bu süreçte hastadan T hücrelerinin sadece %1 çıkarıldığı için immün sistem tehlikeye girmemektedir.<sup>44</sup> İkinci adımda, T hücreleri çoğaltılıp zenginleştirilmektedir ve T hücrelerini lökositlerden ayırmak için yıkama işlemi yapılmaktadır. Yıkama işlemi antikoagülanlar



**ŞEKİL 3:** CAR-T'nin üretim süreci.<sup>2</sup>  
CAR-T: Kimerik antijen reseptörü T.

(fosfat tampon en çok kullanılmaktadır) içeren lökoferez tampon solüsyonuyla yapılmaktadır. Lenfositlerin zenginleştirilmesinden sonra hücreler ters akışlı santrifüj elüsyon tekniğiyle canlılıklarını koruyarak boyutlarına ve yoğunluklarına göre ayrılabilir. T hücreleri CD4/CD8 düzeyinde, spesifik antikor varlığında, konjugatlar veya belirteçler ile alt tiplerine ayrılmaktadır. Daha sonra T hücrelerinin aktive edilmesi gerekmektedir. Bunun için de hücre kültürü kullanılmalıdır. Bu işlem hastadan veya donörden olog antijen sunan hücrelerin (APC'ler) veya anti-CD3/anti-CD28 monoklonal antikorları ile kaplanmış hâlde ya da tek başına veya besleyici hücreler ve büyüme faktörleri (IL-2 gibi) ile kombinasyon hâlinde bulunan anti-CD3 antikorlarının saflaştırılmasını gerektirmektedir. IL-2, hızlı T hücre büyümesini sağladığı için en yaygın kullanılan ajandır.

CAR'lar, RNA'yı DNA'ya ters transkripsiyona yönlendiren ve hasta hücrelerinin genomuna kalıcı olarak entegre olan viral vektörlerle kodlanmaktadır. Böylece CAR'ın yapısı hücreler bölünürken veya biyoreaktörde çok sayıda büyütülürken korunmaktadır. Viral vektör, aktivasyon işlemi sırasında ortam değişimi veya seyreltme yoluyla kültürden yıkanmaktadır. Viral vektörlerden olan lentiviral vektörler daha güvenli entegrasyon profiline sahip olması nedeniyle klinik çalışmalarda gama retroviral vektörlere göre daha yaygın

kullanılmaktadır. Diğer gen transfer yöntemleri Sleeping Beauty transpozon sistemi veya mRNA transfeksiyon işlemleridir. CAR-T hücreleri geçici mRNA transfeksiyon yöntemiyle oluşturulup klinikte kullanılmıştır. Fakat bu yöntem birkaç defa CAR-T hücre infüzyonu gerektirmektedir.

CAR-T hücrelerini kültürlemek için 3 biyoreaktör kültür sistemi kullanılmaktadır: (1) Wave Bioreactor, (2) G-Rex ve (3) CliniMACS Prodigy. Wave Bioreactor ve G-Rex sistemlerinin en büyük dezavantajı, hücre inokülasyonu sırasında flaskın açılmasının gerekmesidir. Bununla birlikte, CliniMACS Prodigy sistemi hücreleri etkin bir şekilde zenginleştirebilen ve genişletebilen tek cihazdır.

En son işlem olarak da klinik kullanım için gerekli sayılara ulaşan hücreler toplanır ve hastalara transfüze edilir.<sup>44,45</sup>

## CAR-T ÜRETİMİNDE KULLANILAN TRANSDÜKSİYON ARAÇLARI

CAR-T hücrelerinin insan hücrelerine ulaştırılması için bir araca ihtiyaç vardır. Bunun için de vektörler genlerle birleştirilerek kullanılmaktadır. Vektörlerle gen birleştirilmesinin 2 yolu vardır. Bunlardan biri viral sistemler, diğeri de viral olmayan sistemlerdir.

Temel araştırmalarda ve klinik çalışmalarda çoğunlukla vektörler virüslerdir. Viral vektörler

arasında retrovirüsler (lentivirüs dâhil), adenovirüs ve adeno-ilişkili virüsler bulunmaktadır. Bu virüsler arasında gen aktarımı için en uygun olanları lentiviral ve gama-retroviral vektörlerdir. Her iki vektör de geni kalıcı olarak sabitler ve uzun süreli gen ekspresyonuna izin verirler.<sup>45</sup> İlâveten, virüs vektörleri potansiyel bir güvenlik tehlikesi oluşturmaktadır. Bağışıklık reaksiyonunu indüklemek için kullanılan yerleştirme mutasyonu, tümör oluşumuna ve toksisiteye yol açabilir, taşıyıcı kapasitesi sınırlıdır ve elde edilen titre yeterince yüksek değildir.<sup>26,46,47</sup> Viral olmayan gen tedavisi daha yüksek etkinliği, hedef özgülüğü, bulaşıcı olmaması, sınırsız taşıyıcı kapasitesi, kontrollü kimyasal yapısı ve fazla üretimi nedeniyle kanser tedavisi için bir yaklaşım olarak yerini korumaktadır.<sup>26,48</sup> Viral olmayan vektörler arasında lipozomlar, polimerizatörler ve moleküler konjugatları yer almaktadır.<sup>26</sup>

## CAR-T HÜCRE TEDAVİSİ VE YAPILAN ÇALIŞMALAR

CAR-T hücre tedavisi, hem hematolojik hem de hematolojik olmayan kanser tedavilerinde umut verici yeni bir tedavi olarak ortaya çıkmaktadır. Özellikle hematolojik kanserler için umut ışığı olmaktadır.<sup>2,50,51</sup>

CD19, B hücrelerinde yüksek oranlarda ifade olması ve diğer dokularda ifade olmaması sebebiyle ideal bir hedefdir. CD20 ve BCMA (B hücresi olgunlaşma antijeni) da hematolojik kökenli kanserler için onaylanmış CAR-T hücre tedavisi hedefleridir.<sup>44,50</sup> CAR-T hücrelerinin çoğunluğu genellikle CD19'u hedefleyen çalışmalarda kullanılmaktadır. CAR-T hücreleri akut lenfoblastik lösemi (ALL), kronik lenfositik lösemi [chronic lymphocytic leukemia (CLL)], multipl miyelom (MM) gibi hematolojik kanserler üzerine yapılan çalışmalarda başarılı sonuçlar vermiştir. Hematolojik olmayan kanserlerde henüz etkili sonuçlar alınamamıştır. Bunun sebepleri, hematolojik olmayan kanserlerin CAR-T hücre immünoterapisi üzerine tek tek tümör hedef antijenlerinin tanımlanması ve CAR-T hücresi enjeksiyonunun tümör alanında gelişmesi gibi olumsuz sonuçları bulunmasıdır.

ABD Gıda ve İlaç İdaresi [Food and Drug Administration (FDA)], 2017 yılında Tisagenlecleucel (Kymriah) ve Axicabtagene ciloleucel (Yescarta) olarak bilinen, sentetik olarak tasarlanmış reseptörleri kullanan, kimerik antijen reseptörleri adındaki ilk 2 yeni hücresele immünoterapiyi onaylamıştır. Kymriah, pediatrik ALL'de ve Yescarta, erişkin Hodgkin olmayan lenfomada kullanılmıştır. Kymriah, 4-1BB uyarıcı alan olan 2. nesil CAR'ı kullanmaktadır. Yescarta ise tek zincir değişken CD19 bağlanma ipliğini kullanır ve Kymriah'tan farklı olarak CD28 uyarıcı sinyalleşme alanı içermektedir.<sup>2</sup> Bunlara ilâveten, FDA tarafından 2021 yılı Ekim ayı itibarıyla tekrarlayan veya dirençli B hücre maligniteleri olan hastalar için 5 CAR-T hücresi ürün onaylanmıştır.<sup>52</sup>

CLL hastalığına yönelik, hastalığın prognozuna bağlı olarak monoklonal antikorlar, kemoterapi ve immünoterapi yöntemleri kullanılmaktadır. Birçok yeni terapötik tedavi yöntemleri kullanılsa da CLL hâlen tam anlamıyla tedavi edilememektedir.<sup>53</sup> Geyer ve ark. tarafından CAR-T ile yapılan bir çalışmada, tedaviye genel yanıt oranı %38 ve tam yanıt oranı %25'tir.<sup>54</sup> Frey ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise tedaviye %44 genel yanıt oranı ve %28 tam yanıt oranı bulunmuştur.<sup>55</sup> Fakat birden çok hastalığı bulunan yaşlı hastalarda daha az yan etki göstermesinden dolayı CAR-T hücre tedavisi tercih edilebilir.

Richter sendromu, genellikle bir CLL'nin kötü prognozlu malign bir forma dönüşmesidir.<sup>53</sup> Richter sendromunda tedavi seçenekleri sınırlıdır. Genç hastalarda tedavi seçeneği genellikle allojenik hematopoetik kök hücre nakli iken, erişkin hastalarda immünoterapi yöntemleri tavsiye edilmektedir.<sup>57</sup> CAR-T hücre tedavisi, Richter sendromu bulunan hastalara yardımcı olabilir. Rochester, 2021 yılında Minnesota'da bulunan Mayo Kliniği'nde Richter sendromuna karşı CAR-T hücre tedavisi çalışmalarını başlattı.<sup>56</sup>

ZUMA tarafından diffüz büyük B hücreli lenfomalara olan hastalarda CAR-T hücre tedavisi yapılmıştır. Hastaların %58'i tedaviye tam yanıt verirken, %25'i kısmi yanıt vermiştir. Mart 2021 tarihinde FDA tarafından diffüz büyük B hücreli lenfomalara karşı yeni bir CAR-T hücre tedavisi olan

Breyanzi (Lisocabtagene maraleucel) onayladı. İlaveten, FDA manto hücreli lenfomaların tedavisi için başka bir CAR-T hücre tedavisi olan Tecartus'u (Brexucabtagene autoleucel) onayladı.

MM'de, malign plazma hücreleri kemik iliğinde birikerek hematopoetik hücre üretimi ve osteoblast aktivitesi baskılanır. Şimdiye kadar hastalığın tedavisi için kemoterapi, immünomodülatör ilaçlar gibi çeşitli tedavi yöntemleri denenmiştir. Fakat bu tedavi yöntemleri hastalığı belirli bir zaman için sabit tutabilir veya semptomlarını hafifletebilir. Faz I CRB-402 klinik denemesinde, CAR-T hücre tedavisi denenmiş ve %86'lık bir yanıt oranı ortaya çıkmıştır.<sup>53</sup>

Özkızılıcık Koçyiğit ve Pirim tarafından 2020 yılında yapılan bir araştırmada, CAR-T hücre tedavisinde virüs-spesifik T hücreleri kullanılarak enfeksiyon etkisinin sınırlandırılabilceği ve ağır seyreden hastalarda sitokin fırtınasının engellenerek ölüm oranının azalabileceği bildirilmiştir.<sup>37</sup>

## CAR-T HÜCRE TEDAVİSİNİN ZORLUKLARI (SINIRLAMALARI)

CAR-T hücre tedavisi, etkinliğini kısıtlayan ve güvenliğini zorlayan çeşitli engeller nedeniyle sınırlı kalabilmektedir.<sup>2</sup>

### ANTİJEN KAYBI

CAR-T hücre tedavisini engelleyen en önemli sınırlamalardan biridir. CAR yapılarını hedefleyen tek antijene karşı tümör direnci gelişebilmektedir. Başlangıçta CAR-T hücrelerini hedefleyen tek antijen yüksek yanıt oranları sunabilmektedir. Fakat CAR-T hücreleri ile tedavi edilen hastaların önemli bir bölümünün malignan hücreleri, hedef antijen ekspresyonunda ya kısmi ya da tam kayba neden olabilmektedir. Bu durum antijen kaybıyla sonuçlanmaktadır. Antijen kaybına örnek olarak, glioblastom hastalığının tedavisinde IL13Ra2'yi hedef alan bir CAR-T hücre tedavisi vaka raporuna göre tümör nükslerinin IL13Ra2 ekspresyonunu azalttığı görülmüştür.<sup>6</sup>

### HEDEF DIŞI TÜMÖR ETKİLERİ

Katı tümör antijenleri sıklıkla normal dokularda da değişen seviyelerde eksprese edildiğinden katı tümör

antijenlerini CAR-T ile hedeflemek zor olmaktadır.<sup>26,57</sup> Bu nedenle CAR oluşturulurken yapılan antijen seçiminde hedef dışı tümör toksisitesini de sınırlandırmak gerekmektedir. Antijenleri tanımlamak için çoklu antijen kompleksi CAR yapıları tasarlanabilir. Ciddi toksisite durumunda CAR-T hücrelerine eliminasyon genleri eklenebilmektedir. Böylece hedefte ve tümörde toksisite etkin bir şekilde önenebilir.<sup>6</sup>

### CAR-T HÜCRELERİNİN TÜKENMESİ

CAR-T hücrelerinin tükenmesi nedeniyle katı tümörlere giren T hücrelerinin görevleri de durmaktadır.<sup>26</sup> Ko-stimülatör alan bulduran bir CAR (ICOS-CAR) ile yapılan fare deneylerinde, T hücrelerinin kalıcılığını sürdürmek için bir yetenek göstermiştir. Araştırmacılar, farklı CAR'lara CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin karışımını farelere 1:1 oranında enjekte etmişlerdir. ICOS-CAR bulduran CD4+ T hücrelerinin yalnızca kendi kalıcılıklarını artırmakla kalmayıp, aynı zamanda CD8+ T hücrelerinin kalıcılığını da artırdığı sonucuna varmışlardır. Bu kombinasyon en güçlü etkiyi akciğer kanseri olan farelerde göstermiştir.<sup>59</sup>

### TÜMÖRDEN KAÇINMA

CAR-T ile yapılan bazı tedavilerde hastalığın daha sonradan tekrarlanma durumu olabilmektedir. Bu tekrarlanma, tümör hücrelerinde aşağı regülasyonu veya düşük antijen seviyeleri gibi birçok sebepten kaynaklanmaktadır. Kanserden kaçınma mekanizması TME ile yakından ilişkilidir. Tümör mikro çevresi, tümörlerin heterojenliğini etkileyebilir ve tümörün metastazında rol oynayabilir. İmmün kaçışlar G1 düzenleyici proteinlerin ekspresyonunun değiştirilmesine; IL-10, dönüştürücü büyüme faktörü-beta ve indoleamin 2,3-dioksijenaz gibi inhibitörlerin üretimine; PD-L1 gibi immüsupresif reseptörlerin aşırı ekspresyonuna bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle immünolojik kontrol noktası inhibitörleri (PD-1/PDL1 antikoru gibi) ile kombinasyon tedavileri benimsenmelidir.<sup>26</sup>

### CAR-T HÜCRE TEDAVİSİNİN YAN ETKİLERİ

CAR-T hücre tedavisinin olumlu sonuçları bulunsa da ciddi toksisite durumları ve hayatı tehdit

edebilecek sonuçları da bulunmaktadır.<sup>2,60</sup> CAR-T tedavisinin 2 önemli akut toksisitesi bulunmaktadır. Bu toksisiteler: Sitokin salınım sendromu [cytokine release syndrome (CRS)] ve CAR-T hücre ilişkili ensefalopati sendromudur [cell-related encephalopathy syndrome (CRES)].<sup>2,61</sup>

## CRS

CAR-T hücre tedavisinde en sık karşılaşılan yan etkilerden biridir. CAR-T hücre tedavisine bağlı olarak yüksek oranda inflamatuvar sitokinlerin salınımına yol açmaktadır. Semptomlar arasında yüksek ateş, bulantı, hâlsizlik, anoreksi ve miyalji yer almaktadır. Bunların yanında kalp fonksiyon bozukluğu, solunum, karaciğer, böbrek ve sinir sistemlerinde ciddi bozukluklar görülebilmektedir. CRS toksisitesi genellikle CAR-T hücre tedavisinden sonraki ilk hafta içerisinde başlamaktadır.<sup>2,25,51</sup>

## CRES

CAR-T ile ilişkili ensefalopati eendromu (CRES), çoğunlukla baş ağrısı, konuşmada bozukluk ve bozulmuş el yazısı ile kendi göstermektedir. Bu belirtilere ilaveten yönelim bozukluğu, uyuklama ve titreme gibi semptomlar da ortaya çıkmaktadır. CRES'nin belirtileri 2-4 gün sürebildiği gibi birkaç saat ile 1 hafta arasında da değişebilir. Genellikle CRS ile birlikte ortaya çıkmaktadır. Fakat CRS'ye kıyasla daha kısa sürer ve daha düşük derecede seyretmektedir.<sup>2,51</sup>

## SONUÇ

Son yıllarda artan kanser hastalığına yönelik olarak immünoterapi yöntemlerine eğilim artmıştır. Bu alanda CAR-T hücre tedavisi önemli bir yer tutmaktadır. Yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi vücutta oluşmuş kanser türüne yönelik kodlanan T hücreleri ilgili kanser türüyle savaşmaktadır. Diğer tedavi yöntemleriyle cevap alınmayan çoğu kanser

türü CAR-T hücre tedavisine olumlu sonuç vermiştir. Bunun en büyük kanıtı son yıllarda yapılan çalışmalardır. CAR-T hücre tedavisi sadece kansere karşı değil diğer hastalıklara karşı da etkili bir tedavi yöntemi olmaktadır. Koronavirüs hastalığı-2019 hastalığında bile CAR-T hücre tedavisinin kullanılabilmesine dair görüşler mevcuttur. CAR-T hücre tedavisi gelecekte birçok hastalığa karşı kullanılan bir tedavi yöntemi olarak karşımıza çıkacaktır. 2017 yılında FDA'nın nitelendirdiği gibi CAR-T hücre tedavisi "çığır açan terapi" olacaktır. 2020 yılında Nobel Kimya Ödülü CRISPR/Cas9 gen düzenleme yöntemine verilmiştir. CAR-T hücre tedavisi CRISPR yönteminin bir koludur ve ilerleyen zamanlarda birçok bilim insanının ilgi odağı olmaya devam edecektir.

## Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

## Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

## Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Tasarım:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Denetleme/Danışmanlık:** Görkem Kısmalı; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Analiz ve/veya Yorum:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Kaynak Taraması:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Makalenin Yazımı:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Eleştirel İnceleme:** Görkem Kısmalı, Recep Bozkurt; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Görkem Kısmalı; **Malzemeler:** Görkem Kısmalı.



## KAYNAKLAR

1. Zhang Q, Ping J, Huang Z, Zhang X, Zhou J, Wang G, et al. CAR-T cell therapy in cancer: tribulations and road ahead. *J Immunol Res*. 2020;2020:1924379. PMID: 32411789; PMCID: PMC7201836
2. Gök Ö, Aslan A. Kişiye özgü geliştirilen antijen reseptörü ile hücre tedavisi (CAR-T) [Personalized antigen receptor with cell therapy (CAR-T)]. *Journal of the Institute of Science and Technology*. 2019;9(4):2235-45. doi: 10.21597/jist.591578
3. Mollanoori H, Shahraki H, Rahmati Y, Teimourian S. CRISPR/Cas9 and CAR-T cell, collaboration of two revolutionary technologies in cancer immunotherapy, an instruction for successful cancer treatment. *Hum Immunol*. 2018;79(12):876-82. PMID: 30261221
4. Esfahani K, Roudaia L, Buhlaiga N, Del Rincon SV, Papneja N, Miller WH Jr. A review of cancer immunotherapy: from the past, to the present, to the future. *Curr Oncol*. 2020;27(Suppl 2):S87-S97. PMID: 32368178; PMCID: PMC7194005
5. Mirzaei HR, Pourghadamyari H, Rahmati M, Mohammadi A, Nahand JS, Rezaei A, et al. Gene-knocked out chimeric antigen receptor (CAR) T cells: Tuning up for the next generation cancer immunotherapy. *Cancer Lett*. 2018;423:95-104. PMID: 29544719
6. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021;11(4):69. PMID: 33824268; PMCID: PMC8024391
7. Sayın Kasar K, Yıldırım Y. CAR-T hücre tedavisinde hemşirelik yönetimi [Nursing management in CAR-T cell therapy]. *Türkiye Klinikleri Journal of Nursing Sciences*. 2020;12(2):272-9. doi: 10.5336/nurses.2019-72274
8. Styczyński J. A brief history of CAR-T cells: from laboratory to the bedside. *Acta Haematologica Polonica*. 2020;51(1):2-5. doi: 10.2478/ahp-2020-0002
9. Pang Y, Hou X, Yang C, Liu Y, Jiang G. Advances on chimeric antigen receptor-modified T-cell therapy for oncotherapy. *Mol Cancer*. 2018;17(1):91. PMID: 29769134; PMCID: PMC5956614
10. Ghobadi A. Chimeric antigen receptor T cell therapy for non-Hodgkin lymphoma. *Curr Res Transl Med*. 2018;66(2):43-9. PMID: 29655961; PMCID: PMC5990429
11. Kershaw MH, Westwood JA, Parker LL, Wang G, Eshhar Z, Mavroukakis SA, et al. A phase I study on adoptive immunotherapy using gene-modified T cells for ovarian cancer. *Clin Cancer Res*. 2006;12(20 Pt 1):6106-15. PMID: 17062687; PMCID: PMC2154351
12. Büning H, Uckert W, Cichutek K, Hawkins RE, Abken H. Do CARs need a driver's license? Adoptive cell therapy with chimeric antigen receptor-redirected T cells has caused serious adverse events. *Hum Gene Ther*. 2010;21(9):1039-42. PMID: 20626322
13. Luksik AS, Yazigi E, Shah P, Jackson CM. CAR T cell therapy in glioblastoma: overcoming challenges related to antigen expression. *Cancers (Basel)*. 2023;15(5):1414. PMID: 36900205; PMCID: PMC10000604
14. Asokan S, Cullin N, Stein-Thoeringer CK, Elinav E. CAR-T cell therapy and the gut microbiota. *Cancers (Basel)*. 2023;15(3):794. PMID: 36765752; PMCID: PMC9913364
15. Zhao J, Lin Q, Song Y, Liu D. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):132. PMID: 30482221; PMCID: PMC6257951
16. Zhao L, Cao YJ. Engineered T cell therapy for cancer in the clinic. *Front Immunol*. 2019;10:2250. PMID: 31681259; PMCID: PMC6798078
17. Abbas AK, Lichtman A, Pillai S. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. Sae-E-Book. 6th ed. India: Elsevier; 2019.
18. Diker KS. *İmmunoloji.2. Baskı*. Ankara. Medisan Yayınevi; 2005.
19. Doan T, Melvold R, Viselli S, Valtenbaugh C. *Immunology*. 2nd ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
20. Lydyard P, Whelan A, Fanger M. *BIOS Instant Notes in Immunology*. 3rd ed. London: Taylor & Francis; 2011.
21. Bao F, Wan W, He T, Qi F, Liu G, Hu K, et al. Autologous CD19-directed chimeric antigen receptor-T cell is an effective and safe treatment to refractory or relapsed diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Gene Ther*. 2019;26(7-8):248-55. PMID: 30622321
22. Zhai X, Mao L, Wu M, Liu J, Yu S. Challenges of anti-mesothelin CAR-T-cell therapy. *Cancers (Basel)*. 2023;15(5):1357. PMID: 36900151; PMCID: PMC10000068
23. Zhang X, Zhu L, Zhang H, Chen S, Xiao Y. CAR-T cell therapy in hematological malignancies: current opportunities and challenges. *Front Immunol*. 2022;13:927153. PMID: 35757715; PMCID: PMC9226391
24. Huang R, Li X, He Y, Zhu W, Gao L, Liu Y, et al. Recent advances in CAR-T cell engineering. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):86. PMID: 32616000; PMCID: PMC7333410
25. Tariq SM, Haider SA, Hasan M, Tahir A, Khan M, Rehan A, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy: a beacon of hope in the fight against cancer. *Cureus*. 2018;10(10):e3486. PMID: 30613448; PMCID: PMC6314790
26. Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res*. 2017;5:22. PMID: 28652918; PMCID: PMC5482931
27. Chen YJ, Abila B, Mostafa Kamel Y. CAR-T: what is next? *Cancers (Basel)*. 2023;15(3):663. PMID: 36765623; PMCID: PMC9913679
28. Li H, Zhao Y. Increasing the safety and efficacy of chimeric antigen receptor T cell therapy. *Protein Cell*. 2017;8(8):573-89. PMID: 28434147; PMCID: PMC5546931
29. Zhang K, Chen H, Li F, Huang S, Chen F, Li Y. Bright future or blind alley? CAR-T cell therapy for solid tumors. *Front Immunol*. 2023;14:1045024. PMID: 36761757; PMCID: PMC9902507
30. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021;11(4):69. PMID: 33824268; PMCID: PMC8024391
31. Kawalekar OU, O'Connor RS, Fraietta JA, Guo L, McGettigan SE, Posey AD Jr, et al. Distinct signaling of coreceptors regulates specific metabolism pathways and impacts memory development in CAR T cells. *Immunity*. 2016;44(2):380-90. Erratum in: *Immunity*. 2016;44(3):712. Snyder, Nathaniel [corrected to Snyder, Nathaniel W]; Blair, Ian [corrected to Blair, Ian A]. Erratum in: *Immunity*. 2016;44(3):712. PMID: 26885860
32. Pan K, Farrukh H, Chitpepu VCSR, Xu H, Pan CX, Zhu Z. CAR race to cancer immunotherapy: from CAR T, CAR NK to CAR macrophage therapy. *J Exp Clin Cancer Res*. 2022;41(1):119. PMID: 35361234; PMCID: PMC8969382
33. Huang R, Li X, He Y, Zhu W, Gao L, Liu Y, et al. Recent advances in CAR-T cell engineering. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):86. PMID: 32616000; PMCID: PMC7333410
34. Guzman G, Pellot K, Reed MR, Rodriguez A. CAR T-cells to treat brain tumors. *Brain Res Bull*. 2023;196:76-98. PMID: 36841424
35. Marin V, Pizzitola I, Agostoni V, Attianese GM, Finney H, Lawson A, et al. Cytokine-induced killer cells for cell therapy of acute myeloid leukemia: improvement of their immune activity by expression of CD33-specific chimeric receptors. *Haematologica*. 2010;95(12):2144-52. PMID: 20713459; PMCID: PMC2995574
36. Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. Driving CAR T-cells forward. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(6):370-83. PMID: 27000958; PMCID: PMC5529102
37. Özkılcık Koçyiğit A, Pirim İ. COVID-19 enfeksiyonu ve CAR T hücreleri [COVID-19 infection and CAR T cells]. *Izmir Tepecik Eğitim Hastanesi Dergisi*. 2020;30:90-3. doi: 10.5222/terh.2020.39205
38. Chan LY, Dass SA, Tye GJ, Imran SAM, Wan Kamarul Zaman WS, Nordin F.

- CAR-T cells/-NK cells in cancer immunotherapy and the potential of MSC to enhance its efficacy: a review. *Biomedicines*. 2022;10(4):804. PMID: 35453554; PMCID: PMC9024487
39. Tokarew N, Ogonek J, Endres S, von Bergwelt-Baildon M, Kobold S. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells. *Br J Cancer*. 2019;120(1):26-37. PMID: 30413825; PMCID: PMC6325111
40. Qu J, Mei Q, Chen L, Zhou J. Chimeric antigen receptor (CAR)-T-cell therapy in non-small-cell lung cancer (NSCLC): current status and future perspectives. *Cancer Immunol Immunother*. 2021;70(3):619-31. PMID: 33025047; PMCID: PMC7907037
41. AllCells [Internet]. © 2023 AllCells® (AllCells, LLC). [Cited: March 21, 2023]. Chimeric Antigen Receptor (CAR) T-Cell Therapy. Available from: <https://all-cells.com/chimeric-antigen-receptor-car-t-cell-therapy/>
42. Levine BL, Miskin J, Wonnacott K, Keir C. Global manufacturing of CAR T cell therapy. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016;4:92-101. PMID: 28344995; PMCID: PMC5363291
43. Morrison F. Nursing management for adult recipients of CAR T-19 therapy. *Nursing* 2020 *Critical Care*. 2019;14(2):31-6. doi: 10.1097/01.CCN.0000553079.71775.62
44. Arabi F, Torabi-Rahvar M, Shariati A, Ahmadbeigi N, Naderi M. Antigenic targets of CAR T cell therapy. A retrospective view on clinical trials. *Exp Cell Res*. 2018;369(1):1-10. PMID: 29758187
45. Abou-El-Enin M, Elsallab M, Feldman SA, Fesnak AD, Heslop HE, Marks P, et al. Scalable manufacturing of CAR T cells for cancer immunotherapy. *Blood Cancer Discov*. 2021;2(5):408-22. PMID: 34568831; PMCID: PMC8462122
46. Hu WS, Pathak VK. Design of retroviral vectors and helper cells for gene therapy. *Pharmacol Rev*. 2000;52(4):493-511. PMID: 11121508
47. Wang GP, Garrigue A, Ciuffi A, Ronen K, Leipzig J, Berry C, et al. DNA bar coding and pyrosequencing to analyze adverse events in therapeutic gene transfer. *Nucleic Acids Res*. 2008;36(9):e49. PMID: 18411205; PMCID: PMC2396413
48. Pahle J, Walther W. Vectors and strategies for nonviral cancer gene therapy. *Expert Opin Biol Ther*. 2016;16(4):443-61. PMID: 26761200
49. El-Anead A. An overview of current delivery systems in cancer gene therapy. *J Control Release*. 2004;94(1):1-14. PMID: 14684267
50. Labanieh L, Majzner RG, Mackall CL. Programming CAR-T cells to kill cancer. *Nat Biomed Eng*. 2018;2(6):377-91. PMID: 31011197
51. Neelapu SS, Tummala S, Kebriaei P, Wierda W, Gutierrez C, Locke FL, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy - assessment and management of toxicities. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(1):47-62. PMID: 28925994; PMCID: PMC6733403
52. Amini L, Silbert SK, Maude SL, Nastoupil LJ, Ramos CA, Brentjens RJ, et al. Preparing for CAR T cell therapy: patient selection, bridging therapies and lymphodepletion. *Nat Rev Clin Oncol*. 2022;19(5):342-55. PMID: 35318469
53. Haslauer T, Greil R, Zaborsky N, Geisberger R. CAR T-cell therapy in hematological malignancies. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16):8996. PMID: 34445701; PMCID: PMC8396650
54. Geyer MB, Rivière I, Sénéchal B, Wang X, Wang Y, Purdon TJ, et al. Safety and tolerability of conditioning chemotherapy followed by CD19-targeted CAR T cells for relapsed/refractory CLL. *JCI Insight*. 2019;5(9):e122627. PMID: 30938714; PMCID: PMC6538317
55. Frey NV, Gill S, Hexner EO, Schuster S, Nasta S, Loren A, et al. Long-term outcomes from a randomized dose optimization study of chimeric antigen receptor modified T cells in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2020;38(25):2862-71. PMID: 32298202; PMCID: PMC8265376
56. Kittai AS, Bond DA, William B, Saad A, Penza S, Efebera Y, et al. Clinical activity of axicabtagene ciloleucel in adult patients with Richter syndrome. *Blood Adv*. 2020;4(19):4648-52. PMID: 33002129; PMCID: PMC7556158
57. Parikh SA, Kay NE, Shanafelt TD. How we treat Richter syndrome. *Blood*. 2014;123(11):1647-57. PMID: 24421328; PMCID: PMC3954047
58. Hartmann J, Schüßler-Lenz M, Bondanza A, Buchholz CJ. Clinical development of CAR T cells-challenges and opportunities in translating innovative treatment concepts. *EMBO Mol Med*. 2017;9(9):1183-97. PMID: 28765140; PMCID: PMC5582407
59. Guedan S, Posey AD Jr, Shaw C, Wing A, Da T, Patel PR, et al. Enhancing CAR T cell persistence through ICOS and 4-1BB costimulation. *JCI Insight*. 2018;3(1):e96976. PMID: 29321369; PMCID: PMC5821198
60. Brudno JN, Kochenderfer JN. Recent advances in CAR T-cell toxicity: Mechanisms, manifestations and management. *Blood Rev*. 2019;34:45-55. PMID: 30528964; PMCID: PMC6628697
61. Nair R, Neelapu SS. The promise of CAR T-cell therapy in aggressive B-cell lymphoma. *Best Pract Res Clin Haematol*. 2018;31(3):293-8. PMID: 30213399; PMCID: PMC6594830