

УДК 575.22:571.27:616-006.441:616-035.1
<https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-140-149>

ШИФР СПЕЦИАЛЬНОСТЬ
 03.01.06 Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)



Редактирование генома и биомедицинские клеточные продукты: современное состояние, безопасность и эффективность

А. А. Горяев^{1,*}, М. В. Савкина¹, К. М. Мефед¹, В. П. Бондарев¹, В. А. Меркулов¹, В. В. Тарасов²

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
 «Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
 Министерства здравоохранения Российской Федерации,
 Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования
 Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова
 Министерства здравоохранения Российской Федерации,
 Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

Успехи в технологиях *ex vivo* редактирования генома человека позволили разработать новые подходы в лечении генетических, онкологических, инфекционных и других заболеваний, в том числе с использованием биомедицинских клеточных продуктов. Но, несмотря на быстрое развитие данных технологий и большое количество проводимых клинических исследований во многих странах мира, только 4 препарата (Strimvelis, Zalmoxis, Kymriah и Yescarta), содержащие *ex vivo* генно-модифицированные клетки человека, разрешены к применению в странах Европейского союза и США. В данной работе рассмотрены три перспективные технологии (ZFN, TALEN и CRISPR), позволяющие легко и эффективно проводить редактирование генома в необходимых сайтах, тем самым создавая платформу для дальнейшего развития генной инженерии клеток человека. Описана технология получения химерных антигенных рецепторов (CAR). Также приведены сведения об эффективности и безопасности одобренных препаратов: Strimvelis, содержащего аутологичные CD34⁺-клетки, *ex vivo* трансдуцированные ретровирусным вектором с геном аденозиндеаминазы, Zalmoxis, содержащего модифицированные аллогенные Т-клетки, а также двух препаратов Kymriah и Yescarta, содержащих аутологичные Т-клетки с химерными антигенными рецепторами к антигену CD19, предназначенных для лечения CD19⁺ гематологических злокачественных новообразований.

Ключевые слова: биомедицинские клеточные продукты (БМКП); клеточная терапия; генная терапия; химерный антигенный рецептор; редактирование генома; ZFN; TALEN; CRISPR

Для цитирования: Горяев АА, Савкина МВ, Мефед КМ, Бондарев ВП, Меркулов ВА, Тарасов ВВ. Редактирование генома и биомедицинские клеточные продукты: современное состояние, безопасность и эффективность. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение.* 2018;18(3):140–149. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-140-149>

***Контактное лицо:** Горяев Артем Анатольевич; Goryaev@expmed.ru

Genome-Editing and Biomedical Cell Products: Current State, Safety and Efficacy

A. A. Goryaev^{1,*}, M. V. Savkina¹, K. M. Mefed¹, V. P. Bondarev¹, V. A. Merkulov¹, V. V. Tarasov²

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products
 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University,
 8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

Advances in *ex vivo* technologies of human genome editing have made it possible to develop new approaches to the treatment of genetic, oncological, infectious and other diseases, which may involve the use of biomedical cell products. However, despite the rapid development of these technologies and a large number of clinical trials conducted in many countries around the world, only 4 products (Strimvelis, Zalmoxis, Kymriah and Yescarta) containing *ex vivo* genetically modified human cells are authorised for use in the European Union and the United States of America. This paper considers three promising technologies (ZFN, TALEN and CRISPR) that allow for easy and effective editing of the genome at the sites of interest, thereby creating a platform for further development of the genetic engineering of human cells. It describes the technology of engineering chimeric antigen receptors (CARs). It also provides data on the efficacy and safety of the approved products: Strimvelis which contains autologous CD34⁺ cells transduced *ex vivo* with a retroviral vector containing adenosine deaminase gene, Zalmoxis which contains modified allogeneic T-cells, and two products: Kymriah and Yescarta which contain autologous T-cells with CARs to CD19 antigen, intended for the treatment of CD19⁺ hematological malignancies.

Key words: biomedical cell products (BMCP); cell therapy; gene therapy; chimeric antigen receptor; genome editing; ZFN; TALEN; CRISPR

For citation: Goryaev AA, Savkina MV, Mefed KM, Bondarev VP, Merkulov VA, Tarasov VV. Genome-editing and biomedical cell products: current state, safety and efficacy. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment.* 2018;18(3):140–149. <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-140-149>

***Corresponding author:** Artem A. Goryaev; Goryaev@expmed.ru

В последние десятилетия появились новые генно-инженерные методы, которые позволяют проводить коррекцию мутаций, добавление или инактивацию генов в различных организмах и отличаются высокой точностью и эффективностью. Одной из важных возможностей, которые дали такие технологии редактирования генома, является создание новых подходов в лечении наследственных, приобретенных или инфекционных заболеваний человека [1–4]. При этом редактирование генома человека может осуществляться *in vivo*, когда генно-инженерные конструкции вводятся напрямую в организм человека, или *ex vivo* — выделенные клетки подвергаются генной модификации вне организма человека. *In vivo* редактирование генома человека не рассматривается в данном обзоре, так как такие препараты относятся к геннотерапевтическим лекарственным препаратам и регулируются Федеральным законом от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств» [5]. *Ex vivo* модификации генома происходят в культивируемых клетках человека, что относит их к биомедицинским клеточным продуктам (БМКП), которые регулируются Федеральным законом от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах» [6]. Необходимо отметить, что в большинстве стран мира препараты, полученные с помощью *in vivo* и *ex vivo* редактирования генома, относятся к генной терапии [7, 8].

Цель работы — описание перспективных технологий редактирования генома ZFN, TALENs и CRISPR/Cas9, возможности их *ex vivo* применения в лечении различных заболеваний, а также оценка безопасности и эффективности разрешенных к применению препаратов, содержащих *ex vivo* генетически-модифицированные клетки человека.

Технологии редактирования генома

Для успешного редактирования генома необходимо введение сайт-специфического двухцепочечного разрыва ДНК, который репарируется клеткой с помощью гомологичной рекомбинации или негомологичным соединением концов. Гомологичная рекомбинация в присутствии «донорного» фрагмента ДНК, имеющего гомологичные последовательности к последовательностям, прилегающим к двухцепочечному разрыву ДНК, может приводить к коррекции гена или же вставке необходимого гена. При негомологичном соединении концов происходят случайные вставки или делеции («indel») на месте двухцепочечного разрыва ДНК, что приводит к сдвигу рамки считывания и нокауту гена. Также негомологичное соединение концов при наличии «донорного» фрагмента ДНК может приводить к небольшим вставкам в хромосому [1, 3, 9].

Для введения сайт-специфического двухцепочечного разрыва ДНК в клетках человека в настоящее время используются различные технологии, в том числе классические методы генной инженерии, мегануклеазы («хоуминг»-эндонуклеазы семейства LAGLIDADG) и другие, но такие подходы отличаются сложностью, малой специфичностью и низкой эффективностью. На сегодняшний день наиболее перспективными являются высоко-специфичные системы ZFN, TALEN и CRISPR [2, 10–12].

ZFN

ZFN (от англ. Zinc-Finger Nuclease) представляют собой класс химерных белков, состоящих из ДНК-связывающих доменов и каталитической субъединицы эндонуклеазы FokI (рис. 1). ДНК-связывающий домен получил название «цинковый палец», так как третичная структура, стабилизированная ионом цинка, похожа на «палец». Один «цинковый палец» узнает определенный триплет за счет 4 аминокислотных остатков в положении 1, 2, 3 и 6 α -спирали, и, изменяя данные

аминокислотные остатки, можно создавать новые «цинковые пальцы» к новым триплетам. Комбинируя несколько «цинковых пальцев», можно создавать конструкции, которые будут с высокой специфичностью связываться с необходимой последовательностью ДНК. Нуклеаза FokI способна к внесению двухцепочечного разрыва только в составе гомодимера, поэтому подбирают специфические целевые сайты на разных цепях ДНК (рис. 1) [2, 11, 13, 14].

TALEN

TALEN (от англ. Transcription Activator-Like Effector Nucleases) основан на использовании высокоспецифичных ДНК-связывающих белков, подобных активаторам транскрипции, или TALE, и каталитического домена нуклеазы FokI. ДНК-связывающий домен TALE состоит из tandemных повторов из 33–34 аминокислотных остатков. Каждый повтор является высококонсервативным, за исключением переменных аминокислотных остатков в позициях 12 и 13, отвечающих за связывание с конкретным нуклеотидом: аспарагин и глицин с тиминем; гистидин и аспарагиновая кислота с цитозином; аспарагин и изолейцин с аденином; два аспарагина с гуанином или аденином. Таким образом, комбинируя 4 домена TALE, можно легко собрать конструкцию, распознающую необходимую последовательность ДНК (рис. 1) [2, 11, 13, 16].

CRISPR

В отличие от ZFN и TALEN, при использовании которых для каждого проекта необходимо создание сложных конструкций ДНК-связывающих доменов и нуклеазы FokI, система CRISPR (от англ. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat) состоит всего из двух элементов: CRISPR-ассоциированная нуклеаза (Cas), например Cas9, и гидовая РНК (gRNA) (рис. 1) [2, 9, 11, 13, 17]. Гидовая РНК (gRNA) представляет собой химеру из крисперной crRNA (CRISPR РНК), содержащей спейсерную последовательность, комплементарную необходимому сайту ДНК, и транс-активирующей tracrRNA (trans-activating CRISPR RNA), которые соединены с помощью олигорибонуклеотидного линкера для формирования структуры «петля-стебель». Обычно в качестве нуклеазы используют Cas9, которая содержит два эндонуклеазных домена RuvC и HNH. RuvC домен разрезает некомплементарную спейсерную нить ДНК, в то время как HNH — комплементарную, образуя двухцепочечный разрыв вблизи от PAM мотива (Protospacer adjacent motif) [9, 18]. Также в качестве нуклеазы могут использоваться и другие белки, например Cpf1 [19]. Считается, что CRISPR/Cas9 по сравнению с другими системами редактирования генома обладает повышенной нецелевой «off-target» активностью, которая выражается в возможности внесения изменений вне выбранного локуса. Тем не менее простота конструирования системы CRISPR/Cas9 и возможность множественного введения модификаций в геном [12] являются причинами ее широкого применения.

По данным Европейской базы данных клинических исследований (www.clinicaltrialsregister.eu) и сайта ClinicalTrials.gov (www.clinicaltrials.gov), в мире зарегистрировано около 1000 клинических исследований (КИ) с использованием *ex vivo* генно-модифицированных клеток человека. Анализ предварительных данных некоторых КИ позволяет предположить возможность скорой регистрации таких препаратов. Так, компанией Sangamo Therapeutics (США) были продемонстрированы значимые результаты возможности применения технологии ZFN при лечении ВИЧ [20]. В ходе КИ NCT00842634 (открытое нерандомизированное неконтролируемое) 12 ВИЧ-положительным пациентам, получавшим высокоактивную антиретровирусную терапию (ВААРТ), однократно вводились аутологичные CD4⁺-лимфоциты

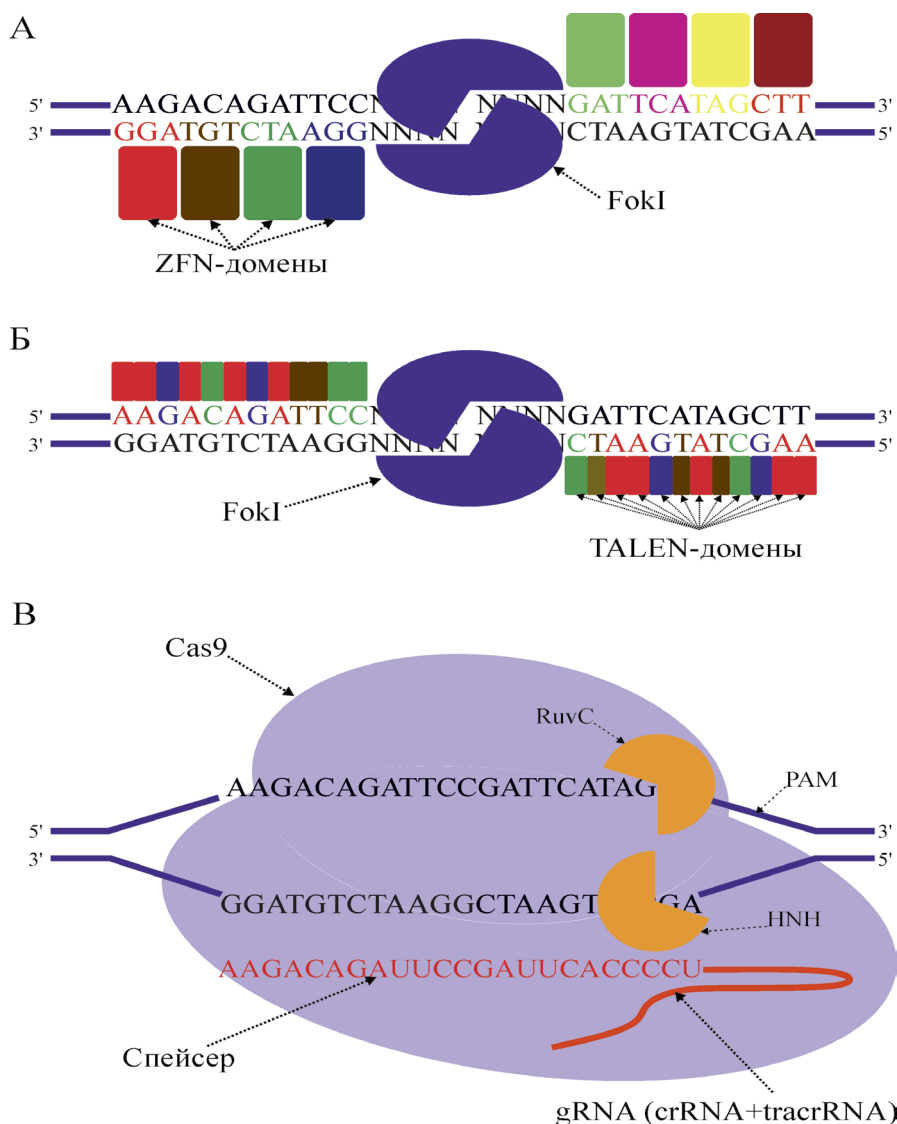


Рис. 1. Механизм действия систем редактирования генома ZFN, TALEN и CRISPR/Cas9 [14, 15]. А — ZFN. «Цинковый палец» распознает три нуклеотида, FokI при димеризации вызывает двухцепочечный разрыв ДНК; Б — TALEN. Каждый домен TALE распознает один нуклеотид, FokI при димеризации вызывает двухцепочечный разрыв ДНК; В — CRISPR/Cas9. Для распознавания «целевой» ДНК используется гидовая РНК (gRNA), состоящая из crRNA с ДНК-связывающей последовательностью (спейсер) и tracrRNA. Cas9 содержит два каталитических домена RuvC и HNH, вносящих разрывы на разных цепях ДНК. PAM — короткий NGG мотив, необходимый для связывания Cas9 и внесения двухцепочечного разрыва ДНК.

Fig. 1. The mechanism of ZFN, TALEN and CRISPR/Cas9 genome editing systems [14, 15]. А — ZFN. A zinc finger recognizes three nucleotides, FokI dimerization causes DNA double strand break; Б — TALEN. Each TALE domain recognizes one nucleotide, FokI dimerization causes DNA double strand break; В — CRISPR/Cas9. A guide RNA (gRNA), consisting of crRNA with a DNA-binding sequence (spacer) and tracrRNA, is used for recognition of target DNA. Cas9 contains two catalytic domains RuvC and HNH, which cleave different DNA strands. PAM — is a short NGG motif, which is essential for Cas9 binding and DNA double strand break.

с «редактированным» геном CCR5. Внесение делеции в транс-мембранный домен гена CCR5 приводит к нарушению проникновения ВИЧ в Т-клетки. После введения генно-модифицированных клеток у всех пациентов повышалось количество CD4⁺-клеток в крови, а средний период полувыведения модифицированных Т-клеток составлял 48 недель, что позволило части пациентов отказаться от ВААРТ [21].

Также одним из перспективных направлений применения технологий редактирования генома является создание генно-инженерных Т-лимфоцитов, кодирующих химерный антигенный рецептор, или CAR (от англ. Chimeric Antigen Receptor) [1]. Введение CAR в Т-лимфоциты позволяет «нацеливать» их на выбранные антигены клеток, например, антигены раковых клеток, а специфическое рецепторное взаимодействие CAR

с опухолевыми антигенами приводит к активации, пролиферации лимфоцитов и к гибели раковой клетки [22, 23].

CAR состоит из нескольких доменов (рис. 2). Антигенра-спознающий элемент (scFv) состоит из вариабельных областей L и H цепей иммуноглобулина и необходим для связывания со специфичным антигеном на поверхности клеток-мишеней. Для облегчения связывания с антигеном и возможности отклонения в различные стороны scFv связан со спейсером, обычно представляющим собой иммуноглобулиноподобные CH2-CH3 (Fc) домены IgG, либо спейсерным доменом CD4 или CD8. Для закрепления CAR на поверхности лимфоцита используется трансмембранный домен, состоящий из одного трансмембранного участка CD3ζ, CD4, CD8, OX40 или H2-Kb. Внутриклеточная часть CAR состоит из костимулирующего домена (один

или несколько доменов CD28, CD27, 4-1BB), необходимого для обеспечения пролиферации и выживания Т-лимфоцитов, продукции цитокинов, а также сигнального домена (CD3 ζ), активирующего лимфоцит [23–26].

В последние годы для создания CAR Т-клеток активно используют технологии TALEN и CRISPR. В 2017 г. в США были начаты два КИ (UCART123) с использованием аллогенных CAR Т-клеток, направленных против CD¹²³⁺-клеток, для лечения бластического плазмоцитоидного дендритного клеточного новообразования и острого миелоидного лейкоза. В Китае проходят несколько КИ, в которых оценивается безопасность и эффективность CAR, направленных против PD-1 солидных опухолей. В Российской Федерации, по данным сайта ClinicalTrials.gov, зарегистрировано только одно КИ I/II фазы (NCT03467256), которое будет проводиться ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России. В ходе КИ планируется оценить безопасность и эффективность применения аутологичных CAR Т-клеток для лечения рефрактерного и рецидивирующего В-клеточного острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) на 18 пациентах в возрасте от 3 месяцев до 25 лет [27].

Зарегистрированные препараты, содержащие *ex vivo* генно-модифицированные клетки человека

Несмотря на большое количество проводимых КИ, на сегодняшний день в мире ни один препарат, полученный с помощью технологий ZFN, TALEN и CRISPR, не разрешен к применению. Вместе с тем в странах Европейского союза и США разрешены к применению 4 препарата: Strimvelis, Zalmoxis, Kymriah, Yescarta, содержащие *ex vivo* генно-модифицированные клетки человека.

Strimvelis

В 2016 г. Европейское агентство по лекарственным препаратам (European Medicines Agency, EMA) разрешило к применению лекарственный препарат Strimvelis, содержащий аутологичные CD34⁺ клетки, *ex vivo* трансдуцированные ретровирусным вектором, кодирующим аденозиндезаминазу (АДА). Strimvelis показан для лечения пациентов с тяжелой комбинированной иммунной недостаточностью (ТКИН), обусловленной дефицитом аденозиндезаминазы, для которых не найден совместимый донор [28].

Наиболее эффективным способом лечения АДА-ТКИН является трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) от полностью совместимого по HLA (от англ. Human Leucocyte Antigens) донора, однако вероятность найти такого донора среди родных братьев или сестер составляет менее 25 %. При использовании ТГСК от частично совместимого неродственного донора выживаемость пациента составляет менее 68 %. Остальным пациентам обычно назначаются заместительная ферментная терапия, внутривенное введение иммуноглобулинов, интенсивная антибактериальная, противогрибковая и противовирусная терапии [29, 30].

Применение Strimvelis дает возможность обходить ограничение в доступности совместимых доноров, при этом он противопоказан людям, которые болеют или болели лейкемией или миелодисплазией, инфицированным ВИЧ, гепатитами В и С, а также пациентам, которым ранее проводилась генная терапия. Безопасность и эффективность Strimvelis была изучена в трех КИ (AD1115611, n = 12; AD1117054/AD1117056, n = 3; AD1117064, n = 3) на 18 детях с АДА-ТКИН в возрасте от 0,5 до 6,1 года (медианный возраст 1,7 года). Из 18 пациентов,

включенных в КИ, 15 ранее получали лечение аденозиндезаминазой, конъюгированной с ПЭГ, четверым была проведена неудачная ТГСК. Всем пациентам в течение двух дней перед применением Strimvelis проводили кондиционирование бусульфаном, обладающим цитостатическим действием на миелоидные клетки, после которого они получали однократную внутривенную инфузию в диапазоне доз (0,9–18,2)·10⁶ CD34⁺ клеток на 1 кг массы тела [28, 31, 32].

Средняя продолжительность наблюдения составила 6,9 года (от 2,3 до 13,4 года), в течение которого выжили 100 % пациентов. Применение Strimvelis приводило к восстановлению иммунитета: уменьшалась степень инфицирования, увеличивалась продукция иммуноглобулинов, 58 % испытуемых прекращали внутривенное введение иммуноглобулина, появлялся гуморальный ответ на вакцинацию, нормализовались популяция Т-клеток (CD3⁺, CD4⁺ и CD8⁺ клеток) и тимопоз с устойчивой способностью к пролиферации Т-клеток [32].

Безрецидивная выживаемость, определяемая как выживание без необходимости повторного введения ПЭГ-АДА или ТГСК, составила 86 %. Три пациента возобновили долгосрочное лечение ПЭГ-АДА из-за плохого восстановления иммунитета, один из них получил вторую дозу Strimvelis (лечение не было успешным), а двум другим была проведена успешная ТГСК от братьев и сестер, родившихся после начала КИ.

Учитывая небольшую выборку пациентов, участвовавших в КИ, выявленные нежелательные реакции (НР) не могут дать полной перспективы в отношении характера и частоты таких событий. Наиболее частыми НР были лихорадка, инфекции

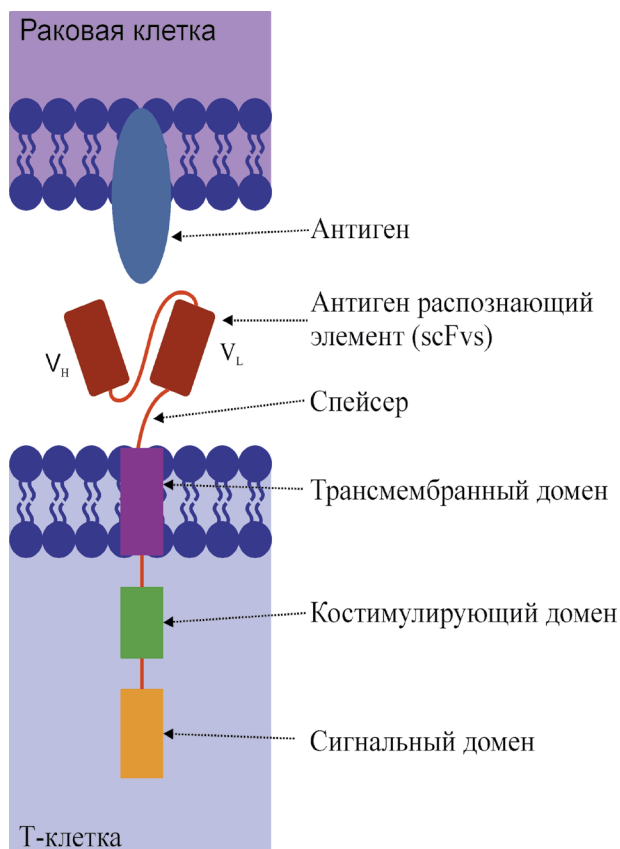


Рис. 2. Структура химерного антигенного рецептора (CAR) [25, 26]. Пояснения указаны в тексте.
Fig. 2. The structure of a chimeric antigen receptor (CAR) [25, 26]. Explanations are provided in the text.

верхних дыхательных путей, гастроэнтерит и диарея. Часть НР (анемия, нейтропения, повышенное давление и др.) были связаны с применением бусульфана. Пятнадцать пациентов сообщили о 39 серьезных нежелательных реакциях (СНР), среди которых были пневмония, инфекции мочевыводящих путей, гастроэнтерит. Никакие СНР не были смертельными или связаны с Strimvelis. Также в период проведения КИ сообщалось о различных аутоиммунных реакциях (наличие антинуклеарных антител, аутоиммунная гемолитическая анемия, аутоиммунная апластическая анемия, аутоиммунный гепатит, аутоиммунная тромбоцитопения и синдром Гийена — Барре). Помимо одного сообщения об аутоиммунной апластической анемии, все НР регистрировались в период от 3 месяцев до 3 лет после введения Strimvelis. Считается, что часть выявленных побочных реакций связана с восстановлением иммунитета в силу их характера и сроков. Также за все время наблюдений не зарегистрированы случаи онкологических заболеваний [28, 32].

Zalmoxis

Zalmoxis состоит из генетически модифицированных аллогенных Т-клеток, экспрессирующих «суицидный» ген тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV-TK) и усеченный ген низкоаффинного рецептора фактора роста нервов (Δ LNGFR). Тимидинкиназа вируса простого герпеса фосфорилирует ганцикловир в трифосфатное соединение, которое конкурентно ингибирует встраивание дезоксирибонуклеотида трифосфата в ДНК, что приводит к гибели клетки. Ген Δ LNGFR используется для идентификации трансдуцированных клеток [33].

Zalmoxis предназначен в качестве дополнительной терапии при гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (гаплогТГСК) взрослым с высоким риском гематологических злокачественных новообразований. Введение *ex vivo* генетически модифицированных Т-клеток пациентам, перенесшим гаплогТГСК, должно помочь организму восстановить иммунитет, повысить успех трансплантации и поддержать долгосрочный противораковый эффект. Восстановление иммунитета вызвано необходимостью снижения заболеваемости бактериальными, грибковыми и вирусными инфекциями пациентов после гаплогТГСК, так как полная регенерация Т- и В-клеток происходит в течение 2 лет (в зависимости от возраста и предшествующего лечения), также на восстановление влияет иммуносупрессивная терапия для профилактики реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [34, 35].

Введение аллогенных Т-клеток также может вызывать РТПХ, но за счет введенного «суицидного» гена HSV-TK и применения ганцикловира/валганцикловира реакцию можно контролировать или избегать [36].

Zalmoxis получил условное разрешение EMA на продажу в 2016 г. (Conditional Marketing Authorisation) на основании завершенного КИ ТК007 (I/II фаза, NCT00423124) и продолжающегося ТК008 (III фаза, NCT00914628), окончательный отчет о котором будет представлен к концу 2022 г. В качестве контрольной группы сравнения использовали данные 140 пациентов из базы Европейской группы по трансплантации крови и костного мозга (European Group for Blood and Marrow Transplantation, EBMT), которым была проведена гаплогТГСК [33].

Эффективность оценивалась по восстановлению иммунитета (первичная) и определялась как число (%) пациентов, у которых количество Т-клеток ($CD3^+$) было равно или больше $10^8/л$ (и/или $CD4^+$ -клеток $\geq 5 \cdot 10^8/л$ и/или $CD8^+$ -клеток $\geq 5 \cdot 10^8/л$). Также оценивались общая и безрецидивная выживаемость, инфекционная заболеваемость, острая и долгосрочная токсичность, связанные с инфузиями Zalmoxis [33].

Для проведения КИ ТК007 (NCT00423124) были отобраны 52 пациента с различными злокачественными заболеваниями кровяной системы, из которых 22 были исключены по причине ранней смерти, отторжения трансплантата или длительного введения ганцикловира или иммуносупрессивной терапии [37]. Остальным 30 пациентам были проведены от одной до четырех инфузий Zalmoxis в рекомендуемой дозе $1 \cdot 10^7$ клеток/кг. Восстановление иммунитета наблюдалось у 23 из 30 пациентов, или 77 % (95 % ДИ: 59–88), в течение первых 23 сут (диапазон 13–42 сут) от даты проведения инфузии. Концентрация Т-клеток ($CD3^+$) не достигла установившегося уровня у пациентов, которым вводились по 3 или 4 инфузии. Также наблюдалась тенденция более медленного восстановления уровня $CD4^+$ -клеток по сравнению с $CD8^+$ -клетками. Общая выживаемость в течение первого года составляла 40 %, 2 лет — 30 % и 5 лет — 27 %. Частота смертности без рецидивов составила 50 % (± 7 %) через 1 год и 5 лет. Кумулятивная смертность без рецидивов у 23 пациентов с восстановленным иммунитетом составила 17 % (4 % связаны с инфекционными заболеваниями), по сравнению с 76 % смертностью (38 % от инфекций) у 29 пациентов из группы сравнения. Количество инфекционных заболеваний было ниже у пациентов с восстановленным иммунитетом ($n = 23$) по сравнению с пациентами, у которых не было зарегистрировано восстановление иммунитета ($n = 7$), что также приводило к снижению смертности — 17 и 71 % соответственно [33, 37].

В ходе КИ было зарегистрировано 603 НР, из которых по степени тяжести 8,6 % были умеренными, 23,9 % — средней тяжести, 34,5 % — тяжелыми и 14,3 % — опасными для жизни. Считается, что только 24 (3,9 %) НР связаны с введением *ex vivo* генно-модифицированных клеток. Наиболее частые НР (249 из 603) были вызваны инфекционными заболеваниями, 35 % из которых связаны с реактивацией цитомегаловируса. Из получавших лечение, у 10 пациентов развилась острая и у 1 — хроническая РТПХ, которые не привели к гибели. Десяти пациентам проводили лечение ганцикловиром, что приводило к значительному сокращению количества циркулирующих Δ LNGFR Т-клеток. СНР были связаны с цитомегаловирусной инфекцией (42 %), рецидивирующими лейкозами (21 %) и пневмонией (12 %).

22 (73 %) из 30 пациентов, получавшие генетически модифицированные Т-клетки, умерли во время исследования по сравнению с 21 (95 %) из 22 пациентов контрольной группы. Необходимо отметить, что высокая частота смертности связана с тем, что у пациентов, участвующих в КИ, были опасные для жизни гематологические злокачественные новообразования, для которых отсутствуют методы лечения [33].

Kymriah

Kymriah является первым препаратом аутологичной Т-клеточной иммунотерапии, одобренным Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США (Food and Drug Administration, FDA). Препарат состоит из аутологичных генно-модифицированных Т-клеток, в геном которых введен ген, кодирующий CAR к CD19 злокачественных и нормальных В-лимфоцитов (табл. 1). При связывании антиген распознающего элемента, представляющего собой одноцепочечный фрагмент мышинового антитела, с антигеном CAR передает сигнал для стимулирования Т-клеток, их экспансии, активации, цитотоксической и цитолитической активности, что приводит к гибели $CD19^+$ -клеток [38].

Kymriah показан пациентам в возрасте до 25 лет с острым лимфобластным лейкозом из В-линейных предшественников (ВП-ОЛЛ) с повторными рецидивами или рефрактерной

Таблица 1. Одобренные препараты, содержащие *ex vivo* генно-модифицированные клетки человека
Table 1. Authorised products containing *ex vivo* genetically modified human cells

Наименование	Характеристика препаратов			
	Strimvelis	Zalmoxis	Kymriah	Yescarta
Производитель	GlaxoSmithKline plc*, Италия	MolMed SpA, Италия	Novartis, США	Kite Pharma, США
Тип продукта	Аутологичный	Аллогенный	Аутологичный	Аутологичный
Клетки	CD34 ⁺ -клетки	Т-клетки	Т-клетки	Т-клетки
Векторная система	Ретровирус	Ретровирус	Лентивирус	Ретровирус
Экспрессируемый ген	Аденозиндезаминаза	Низкоаффинный рецептор фактора роста нервов (ΔLNGFR) и тимидинкиназа вируса простого герпеса (HSV-TK)	CAR к CD19	CAR к CD19
Доза	от 2·10 ⁶ до 20·10 ⁶ клеток/кг	1·10 ⁷ клеток/кг	от 0,2·10 ⁶ до 5·10 ⁶ клеток/кг пациентам с массой до 50 кг; от 0,1·10 ⁶ до 2,5·10 ⁶ клеток/кг пациентам с массой более 50 кг	2·10 ⁶ клеток/кг, максимальная доза 2·10 ⁸ клеток/кг в 68 мл
Показания	Лечение пациентов с тяжелым комбинированным иммунодефицитом, вызванным недостаточностью аденозиндезаминазы	Дополнительная терапия при гаплогТГСК у взрослых с высоким риском гематологических злокачественных новообразований	До 25 лет: лечение острого лимфобластного лейкоза из В-линейных предшественников, который является рефрактерным или во втором или более позднем рецидиве; Взрослые пациенты: лечение рецидивирующей или рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфомы после двух или более линий терапии	Лечение рецидивирующей или рефрактерной диффузной В-крупноклеточной лимфомы после двух или более линий терапии
Страна (год регистрации)	ЕС (2016)	ЕС (2016)	США (2017); ЕС (2018)	США (2017); ЕС (2018)

*С 2018 г. права переданы компании Orchard Therapeutics, Великобритания.

формой (r/r), а также взрослым пациентам с r/r диффузной В-крупноклеточной лимфомой (ДБККЛ), получавшим две или более линий терапий [39].

В открытом неконтролируемом КИ NCT02228096, проведенном на 63 пациентах, средний возраст которых составил 12 лет (3–23 года), оценивалась эффективность Kymriah при ВП-ОЛЛ по достижению полной ремиссии (ПР) в течение 3 месяцев после инфузии препарата, продолжительности ПР и доле пациентов с ПР с минимальной остаточной болезнью (МОБ). Среди 63 пациентов, все из которых были МОБ-негативными, ПР достигли 40 (63 %), частичной ремиссии (ЧР) — 12 (19 %) (табл. 2). Вторичная конечная точка по продолжительности ответа не была достигнута (диапазон от 1,2 до 14,1 месяца). Среди 52 пациентов, достигших ПР или ЧР, у 13 отмечалось развитие рецидива, из них трое впоследствии умерли после лечения Kymriah, и двое — после начала другой терапии. Таким образом, коэффициент развития рецидива составил 75,4 % (95 % ДИ: 57,2–86,7) через 6 месяцев и 63,8 % (95 % ДИ: 41,5–79,4) через 12 месяцев [38, 40].

Оценку эффективности Т-клеточной иммунотерапии у пациентов с ДБККЛ, которые ранее получали более двух линий химиотерапии, включая ритуксимаб и антрациклин, или с рецидивами после аутологичной ТГСК, осуществляли в ходе открытого неконтролируемого КИ NCT02445248. Исследование проводили в 10 странах Северной Америки, Европы, Австралии и Японии на 106 пациентах, получивших Kymriah [41]. Эффективность оценивалась по частоте объективного ответа (ЧОО) и длительности ответа (ДО) (табл. 3). Из 68 пациентов 50 % имели полный или частичный ответ, при этом среднее время до первого ответа на Kymriah со-

ставило 0,9 месяца (0,7–3,3 месяца). Средняя ДО не была достигнута [38, 39, 42].

Учитывая эффективность Т-клеток, модифицированных CAR, применение Kymriah связано с высокими рисками развития СНР, в том числе жизнеугрожающих состояний, среди которых синдром высвобождения цитокинов (Cytokine release syndrome, CRS), нейротоксичность, нейтропения, цитопения, продолжающаяся более 28 сут, инфекции и гипогаммаглобулинемия.

Таблица 2. Данные эффективности лечения r/r ВП-ОЛЛ препаратом Kymriah [38]

Table 2. Data on the efficacy of treatment of refractory or relapsed (r/r) B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BP-ALL) by Kymriah [38]

Показатель эффективности	Количество пациентов (n = 63)
ПР/ЧР (95 % ДИ)	52 (83 %) (71–91)
ПР	40 (63 %)
ЧР	12 (19 %)
ПР или ЧР с МОБ (95 % ДИ)	52 (83 %) (71–91)
Медиана (месяцы) продолжительности ремиссии (95 % ДИ)	Не достигнута (7,6–НО)

Примечание. ПР — полная ремиссия; ЧР — полная ремиссия с неполным восстановлением показателей крови; МОБ — минимальная остаточная болезнь (негативная); НО — невозможно оценить.

Таблица 3. Сравнение частоты и длительности ответов при лечении r/r ДБККЛ препаратами Kymriah и Yescarta [38, 43]
Table 3. Comparison of the frequency and duration of responses in the treatment of refractory or relapsed (r/r) diffuse large B-cell lymphoma by Kymriah and Yescarta [38, 43]

Частота ответа	Препарат	
	Kymriah	Yescarta
	Количество пациентов	
	[n = 68]	[n = 101]
ЧОО (ПО+ЧО) (95 % ДИ)	34 (50 %) (37,6–62,4)	73 (72 %) (62–81)
Частота полного ответа (ПО) (95 % ДИ)	22 (32 %) (21,5–44,8)	52 (51 %) (41–62)
Частота частичного ответа (ЧО) (95 % ДИ)	12 (18 %) (9,5–28,8)	21 (21 %) (13–30)
ДО (в месяцах)	Количество пациентов	
	[n = 34]	[n = 73]
Медиана ДО (95 % ДИ)	НО (5,1–НО)	9,2 (5,4–НО)
ДО, если лучший ответ это ПО (95 % ДИ)	НО (10,0–НО)	НО (8,1–НО)
ДО, если лучший ответ это ЧО (95 % ДИ)	3,4 (1,0–НО)	2,1 (1,3–5,3)

Примечание. 95 % ДИ — 95 % доверительный интервал; НО — невозможно оценить; ЧОО — частота объективного ответа; ПО — полный ответ; ЧО — частичный ответ; ДО — длительность ответа.

CRS, включая смертельные или опасные для жизни реакции, развивался у 54 (79 %) пациентов с r/r ОЛЛ и 78 (74 %) с r/r ДБККЛ. Лечение CRS проводилось тоцилизумабом и/или кортикостероидами (например, метилпреднизолон). Среднее время до разрешения CRS составляло 8 сут (диапазон 1–36). В двух КИ было зафиксировано пять смертей в течение 30 сут после инфузии Kymriah: два пациента с r/r ОЛЛ умерли с CRS и прогрессирующей лейкемией или внутричерепным кровоизлиянием, у 3 пациентов с r/r ДБККЛ был CRS в условиях стабильного прогрессирующего заболевания. Основными проявлениями CRS были лихорадка (92 %), гипотония (67 %), гипоксия (20 % ОЛЛ, 35 % ДБККЛ) и тахикардия (30 % ОЛЛ, 14 % ДБККЛ), также CRS был связан с печеночной, почечной и сердечной недостаточностью и коагулопатией [38, 39].

У 49 (72 %) пациентов с ОЛЛ и 62 (58 %) с ДБККЛ наблюдалась неврологическая токсичность, выражавшаяся в головной боли (37 и 21 %), энцефалопатии (34 и 16 %), делирии (21 и 6 %), тревожности (13 и 9 %), нарушении сна (10 и 9 %), головокружении (6 и 11 %), треморе (9 и 7 %) и периферической невропатии (4 и 8 %), а также единичными случаями судорог, мутизма и афазии [38]. Также СНР были связаны с развитием инфекционных заболеваний (55 %), которые привели к смерти 3 пациентов, фебрильной нейтропении или вирусной реактивации гепатита В [38, 39].

Yescarta

Препарат Yescarta также является препаратом аутологичной Т-клеточной иммунотерапии, содержащим CAR к CD19 антигену. Он предназначен для лечения пациентов с r/r ДБККЛ, включая первичную медиастинальную В-крупноклеточную лимфому (ПМВКЛ) и фолликулярную лимфому, после двух или более линий терапии [43, 44].

В открытом неконтролируемом КИ NCT02348216 из 111 пациентов, подвергшихся лейкаферезу, 101 была проведена инфузия Yescarta, девяти другим пациентам не проводилось

лечение из-за прогрессирующего заболевания или серьезных побочных реакций после лейкафереза. Средний возраст пациентов составил 58 лет (23–76), 76 % которых были с ДБККЛ, 16 % — с фолликулярной лимфомой и 8 % — с ПМВКЛ. Среднее количество предшествующих методов лечения составляло 3 (1–10), 77 % пациентов имели рефрактерность, а у 21 % был рецидив в течение 1 года после аутологичной ТГСК. После инфузии Yescarta ЧОО составила 72 %, а среднее время ответа — 0,9 месяца (0,8–6,2 мес). Из 52 пациентов, достигших ПО, 14 изначально имели стабильное заболевание. Медиана длительности ответа составила 9,2 месяца (табл. 3) [44]. Длительность ответа была значительно больше у пациентов с полной ремиссией по сравнению с пациентами с частичной ремиссией. Среди пациентов, достигших ПО, ДО не была достигнута (8,1–НО), тогда как оценочная медиана ДИ среди пациентов с ЧО составила всего 2,1 месяца (1,3–5,3 мес) [43, 45].

У 108 пациентов (7 из фазы I КИ и 101 из фазы II КИ), которых лечили Yescarta, СНР наблюдались у 56 (52 %), выражавшиеся CRS, неврологической токсичностью, серьезными инфекционными заболеваниями, фебрильной нейтропенией, длительной цитопенией и гипогаммаглобулинемией. В КИ было зарегистрировано 34 случая смерти пациентов, из которых 30 — от прогрессирующего заболевания, а 4 были связаны с применением препарата (в соответствии с анализом FDA). Среднее время начала CRS составляло 2 сут (1–12), а среднее время до его разрешения — 7 сут (2–58). CRS проявлялся лихорадкой, гипотонией, тахикардией, гипоксией и ознобом. СНР включали сердечную аритмию (включая фибрилляцию предсердий и желудочковую тахикардию), остановку сердца, сердечную и почечную недостаточность, синдром капиллярной утечки, гипотензию, гипоксию и синдром активации макрофагов и гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз. Тоцилизумаб получали 45 % пациентов с CRS. Среднее время возникновения неврологической токсичности составляло 4 сут (1–43), которая продолжалась в среднем 17 сут. У одного пациента была от-

мечена длительная энцефалопатия продолжительностью до 173 сут. Наиболее распространенные проявления неврологической токсичности включали энцефалопатию, головную боль, тремор, головокружение, афазию, делирий, бессонницу и беспокойство. Проявления неврологической токсичности компенсировали поддерживающей терапией и/или кортикостероидами. Также в связи с тем, что Yescarta активна в отношении нормальных В-клеток, пациентам с гипогаммаглобулинемией внутривенно вводился препарат гамма-глобулина [43, 44].

Несмотря на высокую эффективность лечения Kymriah и Yescarta, существуют опасения относительно долгосрочной эффективности в связи со снижением терапевтических эффектов после 6 месяцев и возможностью развития устойчивости раковых клеток к CAR T-клеткам. Поэтому для данных препаратов необходимо продолжение долгосрочных исследований эффективности и безопасности.

Заключение

Таким образом, показана возможность, безопасность и эффективность лечения с использованием клеток человека с *ex vivo* отредактированным геномом. Тем не менее некоторые вопросы остаются нерешенными, в том числе долгосрочная эффективность и безопасность, наличие серьезных и жизнеугрожающих побочных эффектов, наличие нецелевой («off-target») активности. Одним из способов повышения безопасности применения могло бы быть добавление механизмов, контролирующих экспрессию генов или жизнеспособность модифицированных клеток. Например, компания Bellco разработала технологии GoCAR-T и CaspaCIDE®. В GoCAR-T двойной ко-стимулирующий домен разделен на два домена, один из которых (MyD88/CD40) перенесен на отдельно располагающийся «молекулярный переключатель», регулируемый римидуцидом. За счет такого разделения ко-стимулирующего домена можно контролировать активацию и пролиферацию T-клеток путем введения пациенту различного количества римидуцида [46]. В технологии CaspaCIDE® домен связывания химического индуктора димеризации связан с сигнальным доменом каспазы-9, которая активируется при связывании с римидуцидом, что приводит к апоптозу клетки [47]. Контролирование активности T-клеток, содержащих CAR, позволит не только повысить безопасность терапии, но и, возможно, повысить ее эффективность за счет увеличения времени циркулирования модифицированных клеток.

Также важным фактором широкого распространения терапии с использованием технологий редактирования генома является экономическая составляющая, связанная со сложностью технологического процесса производства, высокой стоимостью препаратов (Strimvelis — € 594 000, Yescarta — \$ 350 000, Kymriah — \$ 475 000), возможностью проведения лечения только в медицинских учреждениях, обладающих специально обученным персоналом.

Несмотря на существующие проблемы, быстрый прогресс в технологиях редактирования генома и культивирования клеток человека, в том числе и возможность появления новых технологий генной инженерии, а также успехи в КИ являются источником оптимизма для будущего этой области и широкого распространения новых методов лечения заболеваний человека.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590045-2).

Acknowledgments. The study reported in this publication was carried out as part of a publicly funded research project No. 056-00023-18-02 and was supported by the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia (R&D public accounting No. АААА-А18-118021590045-2).

Информация об отсутствии конфликта интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература / References

1. Maeder ML, Gersbach CA. Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Mol Ther.* 2016;24(3):430–46. <https://doi.org/10.1038/mt.2016.10>
2. Cai M, Yang Y. Targeted genome editing tools for disease modeling and gene therapy. *Curr Gene Ther.* 2014;14(1):2–9. <https://doi.org/10.2174/156652321402140318165450>
3. Perez-Pinera P, Ousterout DG, Gersbach CA. Advances in targeted genome editing. *Curr Opin Chem Biol.* 2012;16(3–4):268–77. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.06.007>
4. Wirth T, Parker N, Ylä-Herttuala S. History of gene therapy. *Gene.* 2013;525(2):162–9. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.03.137>
5. Федеральный закон Российской Федерации от 12 апреля 2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal Law of the Russian Federation of April, 12, 2010, No. 61-FZ «On Circulation of Medicines» (In Russ.)]
6. Федеральный закон Российской Федерации от 23 июня 2016 г. № 180-ФЗ «О биомедицинских клеточных продуктах». [Federal Law of the Russian Federation of June, 23, 2016, No. 180-FZ «On Biomedical Cell Product» (In Russ.)]
7. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community Code Relating to Medicinal Products for Human Use.
8. US Food and Drug Administration. Application of Current Statutory Authorities to Human Somatic Cell Therapy Products and Gene Therapy. *Federal Register.* 1993;58(197):53248–51. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/SafetyAvailability/UCM148113.pdf>
9. Nemudryi AA, Valetdinova KR, Medvedev SP, Zakian SM. TALEN and CRISPR/Cas genome editing systems: tools of discovery. *Acta Naturae.* 2014;6(3):19–40.
10. He Z, Proudfoot C, Whitelaw CB, Lillico SG. Comparison of CRISPR/Cas9 and TALENs on editing an integrated EGFP gene in the genome of HEK293FT cells. *Springerplus.* 2016;5(1):814. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2536-3>
11. Germini D, Tsfasman T, Zakharova VV, Sjakste N, Lipinski M, Vassetzky Y. A comparison of techniques to evaluate the effectiveness of genome editing. *Trends Biotechnol.* 2018;36(2):147–59. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.10.008>
12. Guha TK, Wai A, Hausner G. Programmable genome editing tools and their regulation for efficient genome engineering. *Comput Struct Biotechnol J.* 2017;15:146–60. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2016.12.006>
13. Gaj T, Gersbach CA, Barbas III CF. ZFN, TALEN and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. *Trends Biotechnol.* 2013;31(7):397–405. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.04.004>
14. Carroll D. Genome engineering with zinc-finger nucleases. *Genetics.* 2011;188(4):773–82. <https://doi.org/10.1534/genetics.111.131433>
15. Chen KY, Knoepfler PS. To CRISPR and beyond: the evolution of genome editing in stem cells. *Regen Med.* 2016;11(8):801–16. <https://doi.org/10.2217/rme-2016-0107>
16. Li T, Huang S, Jiang WZ, Wright D, Spalding MH, Weeks DP, Yang B. TAL nucleases (TALNs): hybrid proteins composed of TAL effectors and FokI DNA-cleavage domain. *Nucleic Acids Res.* 2011;39(1):359–72. <https://doi.org/10.1093/nar/gkq704>

17. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012;337(6096):816–21. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
18. Jiang F, Doudna JA. CRISPR-Cas9 structures and mechanisms. *Annu Rev Biophys*. 2017;46:505–29. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-062215-010822>
19. Kleinstiver BP, Tsai SQ, Prew MS, Nguyen NT, Welch MM, Lopez JM, et al. Genome-wide specificities of CRISPR-Cas Cpf1 nucleases in human cells. *Nat Biotechnol*. 2016;34(8):869–74. <https://doi.org/10.1038/nbt.3620>
20. Kwarteng A, Ahuno ST, Kwakye-Nuako G. The therapeutic landscape of HIV-1 via genome editing. *AIDS Res Ther*. 2017;14:32. <https://doi.org/10.1186/s12981-017-0157-8>
21. Tebas P, Stein D, Tang WW, Frank I, Wang SQ, Lee G, et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N Engl J Med*. 2014;370(10):901–10. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1300662>
22. Ghobadi A. Chimeric antigen receptor T cell therapy for Non-Hodgkin Lymphoma. *Curr Res Transl Med*. 2018;66(2):43–9. <https://doi.org/10.1016/j.retram.2018.03.005>
23. Kulemzin SV, Kuznetsova VV, Mamonkin M, Taranin AV, Gorchakov AA. Engineering chimeric antigen receptors. *Acta Naturae*. 2017;9(1):6–14.
24. Harris DT, Kranz DM. Adoptive T Cell Therapies: A comparison of T cell receptors and chimeric antigen receptors. *Trends Pharmacol Sci*. 2016;37(3):220–30. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2015.11.004>
25. Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. Driving CAR T-cells forward. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(6):370–83. <https://dx.doi.org/10.1038%2Fnrclinonc.2016.36>
26. Fesnak AD, June CH, Levine BL. Engineered T Cells: The promise and challenges of cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16(9):566–81. <https://doi.org/10.1038/nrc.2016.97>
27. CD19 T-CAR for treatment of children and young adults with r/r B-ALL (NCT03467256). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03467256?term=NCT03467256&rank=1>
28. Annex I — summary of product characteristics. In: Strimvelis: EPAR — product information. EMA. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/003854/WC500208199.pdf
29. Booth C, Gaspar HB, Thrasher AJ. Treating immunodeficiency through HSC gene therapy. *Trends Mol Med*. 2016;22(4):317–27. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2016.02.002>
30. Aiuti A, Ficara F, Cattaneo F, Bordignon C, Roncarolo MG. Gene therapy for adenosine deaminase deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2003;3(6):461–6.
31. Cicalese MP, Ferrua F, Castagnaro L, Pajno R, Barzagli F, Giannelli S, et al. Update on the safety and efficacy of retroviral gene therapy for immunodeficiency due to adenosine deaminase deficiency. *Blood*. 2016;128(1):45–54. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-688226>
32. Cicalese MP, Ferrua F, Castagnaro L, Rolfe K, De Boever E, Reinhardt RR, et al. Gene therapy for adenosine deaminase deficiency: a comprehensive evaluation of short- and medium-term safety. *Mol Ther*. 2018;26(3):917–31. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2017.12.022>
33. Assessment report. Zalmoxis (EMA/CHMP/589978/2016). EMA; 2016.
34. Li HW, Sykes M. Emerging concepts in haematopoietic cell transplantation. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(6):403–16. <https://doi.org/10.1038/nri3226>
35. Atilla E, Atilla PA, Bozdağ SC, Demirer T. A review of infectious complications after haploidentical hematopoietic stem cell transplantations. *Infection*. 2017;45(4):403–11. <https://doi.org/10.1007/s15010-017-1016-1>
36. Greco R, Oliveira G, Stanghellini MT, Vago L, Bondanza A, Peccatori J, et al. Improving the safety of cell therapy with the TK-suicide gene. *Front Pharmacol*. 2015;6:95. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00095>
37. Ciceri F, Bonini C, Stanghellini MT, Bondanza A, Traversari C, Salomoni M, et al. Infusion of suicide-gene-engineered donor lymphocytes after family haploidentical haemopoietic stem-cell transplantation for leukaemia (the TK007 trial): a non-randomised phase I-II study. *Lancet Oncol*. 2009;10(5):489–500. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70074-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70074-9)
38. Summary basis for regulatory action — KYMRIA. FDA; 2018. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM606836.pdf>
39. Package insert — KYMRIA. FDA. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM573941.pdf>
40. Maude SL, Pulsipher MA, Boyer MW, Grupp SA, Davies SM, Phillips CL, et al. Efficacy and safety of CTL019 in the first US phase II multicenter trial in pediatric relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia: results of an interim analysis. *Blood*. 2016;128(22):2801. Available from: <http://www.bloodjournal.org/content/128/22/2801/tab-figures-only>
41. Study of Efficacy and Safety of CTL019 in Adult DLBCL Patients (JULIET) (NCT02445248). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02445248>
42. Schuster SJ, Bishop MR, Tam C, Waller EK, Borchmann P, McGuirk J, et al. Global pivotal phase 2 trial of the CD19-targeted therapy CTL019 in adult patients with relapsed or refractory (r/r) diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) — an interim analysis. *Hematological Oncology*. 2017;35(S2):27. https://doi.org/10.1002/hon.2437_6
43. Summary basis for regulatory action — YESCARTA. FDA; 2017. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM584335.pdf>
44. Package insert — YESCARTA. FDA. Available from: <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapyProducts/ApprovedProducts/UCM581226.pdf>
45. Neelapu SS, Locke FL, Bartlett NL, Lekakis LJ, Miklos DB, Jacobson CA, et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-cell therapy in refractory large B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2017;377(26):2531–44. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1707447>
46. Wilkins O, Keeler AM, Flotte TR. CAR T-cell therapy: progress and prospects. *Hum Gene Ther Methods*. 2017;28(2):61–6. <https://doi.org/10.1089/hgtb.2016.153>
47. Zhou X, Di Stasi A, Tey S-K, Krance RA, Martinez C, Leung KS, et al. Long-term outcome and immune reconstitution after haploidentical stem cell transplant in recipients of allodepleted-T-cells expressing the inducible Caspase-9 safety transgene. *Blood*. 2014;123(25):3895–905. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-01-551671>

Об авторах

Горяев Артем Анатольевич, канд. биол. наук, заместитель начальника управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1620-6233>

Савкина Мария Владимировна, канд. биол. наук, эксперт 1 категории управления экспертизы противобактериальных МИБП Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8527-2157>

Мефед Кирилл Михайлович, канд. биол. наук, главный эксперт лаборатории вирусных вакцин Испытательного центра экспертизы качества МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1755-6649>

Бондарев Владимир Петрович, д-р мед. наук, профессор, директор Центра экспертизы и контроля МИБП ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6472-6386>

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, профессор, заместитель генерального директора по экспертизе лекарственных средств ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Тарасов Вадим Владимирович, канд. фарм. наук, доцент, директор Института фармации и трансляционной медицины ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)

Поступила 29.05.2018

Принята к публикации 09.08.2018

Authors

Artem A. Goryaev, Candidate of Biological Sciences, Deputy Head of the Division for Expert Evaluation of Antibacterial Medicinal Immunobiological Products of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1620-6233>

Maria V. Savkina, Candidate of Biological Sciences, 1st Professional Category Expert of the Division for Expert Evaluation of Antibacterial Medicinal Immunobiological Products of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0002-8527-2157>

Kirill M. Mefed, Candidate of Biological Sciences, Chief Expert of the Laboratory of Viral Vaccines of the Testing Centre for Evaluation of Medicinal Immunobiological Products' Quality of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-1755-6649>

Vladimir P. Bondarev, Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the Centre for Evaluation and Control of Medicinal Immunobiological Products of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-6472-6386>

Vadim A. Merkulov, Doctor of Medical Sciences, Professor, Deputy Director-General for Medicinal Products' Evaluation of the FSBI «SCEEMP» of the Ministry of Health of Russia, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

Vadim V. Tarasov, Candidate of Pharmaceutical Sciences, Assistant Professor, Director of the Institute of Pharmacy and Translational Medicine of FSAEI HE I.M. Sechenov First MSMU MOH Russia (Sechenovskiy University)

Received 29 May 2018

Accepted 9 August 2018