

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2022-21-2-19-32>

# Современные противовирусные биомедицинские клеточные продукты и перспективы их применения в терапии COVID-19

И.О. Чикилева, И.Ж. Шубина, М.В. Киселевский

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Ирина Олеговна Чикилева [irinatchikileva@mail.ru](mailto:irinatchikileva@mail.ru)

За короткий промежуток времени было разработано несколько типов вакцин против COVID-19. Однако именно группы риска по тяжелому течению COVID-19 (пожилые люди, лица с подавленным иммунитетом, такие как онкологические пациенты или пациенты после пересадки органов) хуже всего развивают адекватный иммунный ответ на вакцинацию. Поэтому для получения защитных реакций у данных групп следует применять вакцины на основе таких биомедицинских клеточных продуктов (БМКП), как дендритные клетки (ДК), нагруженные антигенами SARS-CoV-2 *ex vivo* в оптимальных условиях. В некоторых случаях, когда вакцинация не была проведена своевременно, а риск тяжелого заболевания велик, целесообразно немедленно предпринять меры для защиты организма от вируса, инфицировавшего организм.

Для подобного протективного действия могут использоваться другие БМКП – лимфоциты с химерным рецептором антигенов (chimeric antigen receptors, CAR). Такие рецепторы распознают антигены при помощи модифицированных доменов антител, то есть вне контекста молекул главного комплекса гистосовместимости. Поэтому возможно применение для экстренных нужд донорских эффекторных CAR-лимфоцитов, которые были заготовлены заранее. CAR-лимфоциты в настоящее время используются главным образом для противоопухолевой терапии. До 2020 г. велось достаточно ограниченное количество исследований противовирусных CAR-лимфоцитов. Однако пандемия COVID-19 привела к резкой интенсификации подобных работ. ДК, которые считаются наиболее эффективными антигенпрезентирующими клетками, тоже первоначально использовались в качестве противоопухолевых вакцин. Безопасность ДК-вакцин, их высокая эффективность в случае присутствия целевого антигена достаточно быстро привели к тому, что экспериментаторы стали пытаться применять ДК также в качестве терапевтического агента при хронических вирусных заболеваниях типа гепатитов В и С, вирусе иммунодефицита человека.

В настоящем обзоре суммируются данные о противовирусных БМКП, которые были разработаны к настоящему времени, особое внимание уделяется продуктам против COVID-19. Обсуждается, каким образом результаты предыдущих исследований могут быть применены для увеличения эффективности БМКП, направленных против COVID-19.

**Ключевые слова:** COVID-19, биомедицинские клеточные продукты, химерные рецепторы антигенов, дендритные клетки

**Для цитирования:** Чикилева И.О., Шубина И.Ж., Киселевский М.В. Современные противовирусные биомедицинские клеточные продукты и перспективы их применения в терапии COVID-19. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(2):19–32. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-2-19-32

## Modern antiviral biomedical cell products and their applications for COVID-19 therapy

Irina O. Chikileva, Irina Zh. Shubina, Mikhail V. Kiselevskiy

N.N. Blokhin National Medical Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24, Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

**Contact:** Irina Olegovna Chikileva [irinatchikileva@mail.ru](mailto:irinatchikileva@mail.ru)

Several types of COVID-19 vaccines have been developed in a short period of time. However, the groups at risk of severe COVID-19 (the elderly, people with suppressed immunity, such as oncological patients, or organ transplantation patients) are the least likely to develop an adequate immune response to vaccination. Therefore, in order to obtain protective reactions in these groups, it is advisable to use such biomedical cell products (BMCP) as dendritic cell (DC) based vaccines loaded with SARS-CoV-2 antigens *ex vivo* under optimal conditions. In some cases, when vaccination has not been carried out in a timely manner and the risk of a serious disease is high, it is worthwhile to take immediate measures to protect the body from the virus that has infected the organism.

For this protective action lymphocytes with chimeric antigen receptors (CAR) may be suitable. Such receptors recognize antigens using modified antibody domains, without need for presentation within molecules of major histocompatibility complex. Therefore, it is possible to use donor effector CAR lymphocytes, which were prepared in advance, for emergency needs. CAR lymphocytes are currently used primarily for tumor therapy. Until 2020, there was limited research on antiviral CAR lymphocytes. However, the COVID-19 pandemic has led to a dramatic intensification of such activities. DCs, which are considered to be the most effective antigen-presenting cells, were also originally used as anti-tumor vaccines. The safety of DC vaccines, their high effectiveness in the presentation of target antigens quickly led researchers to try using DCs also as a therapeutic agent for chronic viral diseases such as hepatitis B and C, human immunodeficiency virus.

This review summarizes the data on antiviral BMCPs that have been developed so far, with a particular focus on products against COVID-19. It discusses how the results of previous studies can be used to increase the efficiency of anti-COVID-19 BMCP.

**Keywords:** COVID-19, biomedical cell products, chimeric antigen receptors, dendritic cells

**For citation:** Chikileva I.O., Shubina I.Zh., Kiselevskiy M.V. Modern antiviral biomedical cell products and their applications for COVID-19 Therapy. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022; 21(2):19–32. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-2-19-32

## Введение

SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, коронавирус тяжелого острого респираторного синдрома) – одноцепочечный РНК-вирус, возбудитель коронавирусного заболевания 2019 г. (COVID-19), проявления которого варьируют от бессимптомного течения до острого респираторного дистресс-синдрома с вероятностью неврологического повреждения и даже смерти [1, 2]. Современные стратегии лечения включают противовирусные препараты, такие как ремдесивир и рибавирин, плазму выздоровевших доноров, антитела к рецепторам интерлейкина (ИЛ) 6 и кортикостероиды, чтобы ослабить провоспалительный иммунный ответ, и подробно рассматриваются в ряде источников [1, 3]. Несколько эффективных вакцин против SARS-CoV-2 были быстро разработаны в ряде стран [4, 5]. Однако у некоторых пациентов после иммунизации не развивается желаемый иммунный ответ [4]. Эффективность вакцин колеблется в пределах 60–95 % в зависимости от их типа и способа введения [4]. Появление новых вирусных штаммов снижает эффективность вакцинации. Крайне важно то, что лица с иммунными расстройствами, которые подвержены наибольшему риску тяжелого течения COVID-19, имеют более низкий потенциал развития резистентности при иммунизации [6]. Риск низкой иммуногенности вакцин против COVID-19 особенно высок у реципиентов трансплантатов органов и пациентов с гематологическими злокачественными заболеваниями [6]. Вторая проблема, связанная с этим тяжелым заболе-

ванием, заключается в том, что в случае развития иммунного ответа на естественную инфекцию приобретенный защитный иммунитет сохраняется недолго – около 6 мес. Было показано, что SARS-CoV-2 подавляет функции Т-клеток и дендритных клеток (ДК) [7]. Таким образом, повышение иммунного ответа очень желательно даже в случае нормального развития иммунных реакций в ответ на инфекцию.

Дендритные клетки являются наиболее мощными антигенпрезентирующими клетками. До сих пор ДК-вакцины использовались в основном в онкологии, где была твердо доказана их безопасность [8]. Обычно ДК для противоопухолевых вакцин получают из аутологичных моноцитов в присутствии рекомбинантного гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и ИЛ-4 (мДК). Опухолеассоциированные антигены обычно обладают низким потенциалом для индуцирования иммунного ответа. Тем не менее при генерации и нагрузке ДК опухолеассоциированными антигенами *ex vivo* можно преодолеть это препятствие. Многочисленные эксперименты доказали их высокий потенциал в экспериментальных животных моделях лечения опухолей [9]. Однако их эффективность в качестве монотерапии рака все еще недостаточна [8, 10, 11]. Низкий потенциал противоопухолевых ДК-вакцин определяется рядом факторов, включая лечение вакциной на запущенных стадиях, хотя вакцинация имеет наибольший эффект в качестве профилактики. Другие факторы, влияющие на низкую эффективность ДК-вакцин, включают гетерогенность опухоли,

низкую иммуногенность опухолевых антигенов и отсутствие существенных отличий от нормальных тканей. Напротив, SARS-CoV-2 – это вирус с его собственными антигенами. Противовирусные ДК-вакцины могут быть использованы для профилактики и, следовательно, предполагается, что они обладают высокой эффективностью наряду с безопасностью. Наиболее важно и интригующе то, что ДК могут быть так обработаны *in vitro*, чтобы вызывать различные типы иммунного ответа или даже подавлять нежелательные аутоиммунные реакции (например, в присутствии 1,25-дигидроксивитамина D<sub>3</sub>, трансформирующего фактора роста β) [12, 13]. Это делает их чрезвычайно привлекательными для достижения желаемого иммунного ответа против SARS-CoV-2. Иммунный ответ должен быть сильным и одновременно достаточно умеренным, чтобы не вызывать цитокиновый шторм, который особенно опасен во время данной инфекции.

В некоторых ситуациях требуется немедленная помощь организму, который не способен справиться с вирусом своими силами. Антитела от иммунных организмов, такие как противотоксинные сыворотки, могут спасти от потенциально смертельной угрозы, например столбняка или укуса змеи. На самом деле антитела к SARS-CoV-2 являются основными действующими веществами плазмы, полученной от пациентов, выздоровевших от SARS-CoV-2. Их плазма используется в качестве последнего средства лечения тяжелобольных пациентов с COVID-19 [3, 14]. В начале заболевания SARS-CoV-2 индуцирует антитела, которые только нейтрализуют вирус (иммуноглобулины (Ig M)). Затем тип антител переключается на IgG, которые способны вдобавок запускать реакции антителозависимой клеточной цитотоксичности и антителозависимого эндоцитоза. Натуральные киллеры (НК) имеют низкоаффинный рецептор к IgG (FcγRIII) CD16, что позволяет им обнаруживать через антитела и разрушать клетки с вирусными компонентами на их мембранах. Этот процесс называется антителозависимой клеточной цитотоксичностью. Антителозависимый эндоцитоз выполняется макрофагами, моноцитами и нейтрофилами, которые распознают через рецепторы к Fcγ, такие как CD16 и CD64 (FcγRI), вирусные частицы в комплексах с IgG и эндоцитируют их. Примечательно, что хотя устойчивые реакции IgM и IgA развивались как у выживших, так и у погибших пациентов с тяжелой формой COVID-19, у невыживших были отмечены ослабленные реакции IgG, сопровождаемые пониженным связыванием рецепторов к Fcγ и эффекторной активностью Fc [15, 16]. Это четко указывает на важную роль антителозависимой клеточной цитотоксичности в ликвидации вируса. Химерный рецептор антигенов (chimeric antigen receptors, CAR) сочетает свойства антител и Т-клеточных рецепторов. Его рецепторная часть состоит из моди-

фицированного антигенсвязывающего фрагмента антитела, так называемого одноцепочечного вариабельного фрагмента (scFv). scFv соединяется через петлю и трансмембранный домен с сигнальными доменами Т-клеточных рецепторов (CD3ζ) и костимуляторов типа CD28, OX40, 4-1BB и др. [17]. CAR 1-го поколения содержали только CD3ζ [18]. Однако их потенциал активации не был оптимальным. М.А. Pule и соавт. улучшили CAR-конструкцию, заменив трансмембранный домен CD3ζ на аналогичный от CD28 и добавив стимуляторный участок CD28 к CD3ζ [19]. Существенно то, что костимуляция CD28 увеличивает ИЛ-2-независимую пролиферацию и увеличивает сопротивление CAR-Т-клеток к регуляторным Т-клеткам [20]. CAR 3-го поколения включают 3 активационных домена. Кроме CD28 добавлены другие домены, такие как 4-1BB и OX40, которые дополнительно поддерживают выживание и активацию CAR-Т-клеток [21, 22]. Механизм действия CAR-лимфоцитов напоминает антителозависимую клеточную цитотоксичность. CAR-Т-клетки очень эффективны при лечении гематологических новообразований, особенно при остром лимфобластном лейкозе, с достижением полной ремиссии у 90 % пациентов [23]. Около 10 лет назад был разработан еще один тип CAR, называемый универсальным [24]. Такие CAR основаны на молекулах, которые связывают естественные или модифицированные специфические антитела к опухолеассоциированным антигенам. Рецепторная часть таких CAR может состоять из Fc-рецепторов (CD16 или CD64), авидина, который связывается с биотинилированными антителами, и т.д. Такие CAR-лимфоциты обеспечивают антителозависимую клеточную цитотоксичность к опухолевым клеткам, опсонизированным антителами, подобно НК. Тем не менее CD16 на НК строго регулируется протеолитическим процессом, который быстро снижает его экспрессию при активации [25]. В генно-инженерных CAR можно удалить этот цикл негативной обратной связи путем замещения участка протеазы ADAM17 на последовательность, непригодную для протеолиза, для пролонгирования действия [26]. В ходе интенсивных исследований начали внедрять технологию CAR для лечения COVID-19, хотя ранее она использовалась в основном в онкологии.

Данный обзор посвящен различным биомедицинским клеточным продуктам (БМКП), которые могут быть нацелены на SARS-CoV-2, а именно ДК-вакцинам и CAR-лимфоцитам.

#### **ДК-вакцины против COVID-19 и других инфекционных заболеваний**

На данный момент есть информация о 2 клинических испытаниях ДК-вакцин против SARS-CoV-2.

Биофармацевтическая компания Aivita Biomedical (США) планирует провести фазы I–II клинических

испытаний ДК-вакцины для профилактики COVID-19 на основе аутологичных моДК, нагруженных рекомбинантным спайковым (spike, S) белком COVID-19 без вспомогательных веществ, или в присутствии ГМ-КСФ в качестве адъюванта [27]. Иммунизацией предполагается охватить население пожилого возраста и группы риска по тяжелому течению заболевания. После регистрации на скрининг испытуемые пройдут тест (носовой мазок), чтобы исключить активную инфекцию COVID-19, и быстрый тест на антикоронавирусные антитела, чтобы исключить наличие уже выработанных антител к SARS-CoV-2. Всего будет собрано 50 мл крови. Моноциты аутологичной периферической крови будут изолированы и дифференцированы в ДК перед инкубацией с S-белком SARS-CoV-2. Предполагается вакцинация только одной дозой вакцины.

В похожее китайское клиническое исследование уже набирают пациентов для иммунизации вакциной LV-SMENP-DC, которая производится путем модификации ДК лентивирусными векторами (ЛВ), экспрессирующими мини-ген COVID-19 SMENP и иммуномодулирующие гены [28]. Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) будут активированы *ex vivo* в присутствии ЛВ-ДК, представляющих вирусные антигены. Участник получит вакцину ЛВ-ДК ( $5 \times 10^6$  клеток) и антигенспецифичные ЦТЛ ( $10^8$  клеток) путем подкожной инъекции и внутривенного вливания соответственно. Это исследование охватывает как здоровых добровольцев, так и инфицированных COVID-19 пациентов. ЛВ являются модифицированными вирусами и, следовательно, обладают своими собственными адъювантными свойствами, поскольку ДК легко активируются различными вирусными патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (поверхностными гликопротеинами, ДНК и РНК) через toll-подобные и другие рецепторы.

Q. Zhou и соавт. провели исследования потенциальных новых адъювантов (крупноразмерные наночастицы оксида графена (L-GO)) в модели ДК-вакцины к SARS-CoV-2 у мышей [29]. Для нагрузки был использован S-белок. L-GO облегчает агрегацию кластеров ДК-Т-клеток для получения стабильного микроокружения для активации Т-клеток. Мышам вводили 2 дозы вакцины (при дозировке  $2 \times 10^6$  ДК на мышь) с интервалом в 1 нед, и через 3 дня после последней вакцинации все иммунизированные мыши были подвергнуты экспериментальному заражению с помощью адаптированного штамма SARS-CoV-2. Важно отметить, что в присутствии L-GO ДК вызывают устойчивый иммунный ответ ЦТЛ против SARS-CoV-2, что приводит к удалению  $>99,7\%$  вирусной РНК у иммунизированных мышей.

М.К. Saadeldin предложил интересный подход, который одновременно нацелен на опухоль и SARS-CoV-2

[11]. Больные раком особенно выиграли бы от такой вакцины, поскольку они являются группой риска по тяжелому течению COVID-19 и нуждаются в эффективной терапии злокачественной опухоли.

Важную информацию можно почерпнуть из уже существующих исследований по противои инфекционным ДК-вакцинам. ДК-вакцины для лечения опасных вирусных инфекций изучаются по крайней мере с 2004 г., когда T. Reuter и соавт. показали, что вакцинация с помощью ДК, нагруженных *ex vivo* вирусным антигеном, может защитить мышей от последующего заражения ретровирусом Friend (FV) [30]. У всех контрольных мышей, которые получили ДК без антигена, развился прогрессирующий лейкоз после инфицирования FV. В отличие от этого, 5 из 14 вакцинированных животных были защищены от инфекции, 3 выздоровели, заболев FV, и только 6 животных погибли от смертельной лейкемии.

Многочисленные исследования продемонстрировали безопасность и индукцию противовирусной реакции в терапевтической модели ДК-вакцины у пациентов с вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). Однако следует еще раз подчеркнуть преимущество ДК-вакцин для профилактики заболеваний, а не лечения [31, 32]. Были проведены как доклинические исследования, так и несколько клинических испытаний. Данные тщательно обобщены в прекрасном обзоре Н. Mohamed и соавт. [32]. Большинство исследовательских групп сообщают об активизации Т-клеточного ответа на ВИЧ-инфекцию после иммунизации. Тем не менее некоторые группы указывают на отсутствие противовирусного эффекта и корреляции между Т-клеточной реакцией и снижением вирусной нагрузки. Проведены исследования различных типов вирусных антигенов (пептиды, инактивированные вирусы, РНК) и маршрутов их доставки в ДК. Электропорация является эффективным способом нагрузки ДК РНК, кодирующей вирусные белки. Однако вирусные векторы (аденовирус, поксвирус, лентивирус), по-видимому, более эффективны в индукции провоспалительных цитокинов и реакции ЦТЛ [32]. Для обеспечения эффективности терапевтических ДК-вакцин применяются сложные методы. В работе T.D. Norton и соавт. исследуется эффект от одновременной экспрессии ДК антигена ВИЧ-1 с CD40-лигандом (CD40L) и растворимым димером белка программируемой смерти 1 (programmed death 1, PD-1) [33]. CD40L активирует ДК, в то время как димер PD-1 связывается со своим лигандом (PD-L1) на поверхности ДК для предотвращения активации данной контрольной точки иммунитета и усиления реакции ЦТЛ. После инфицирования ВИЧ-1 в экспериментальной модели у вакцинированных мышей вирусная нагрузка была значительно снижена по сравнению с контрольной группой.

Полиинозиновая-полицитидиловая кислота-поли-L-лизин карбоксилцеллюлоза (Poly-ICLC) считается имитацией вирусных патогенассоциированных молекулярных паттернов. Ее предлагается использовать как мощный адъювант для активации ДК при нагрузке вирусными антигенами [34].

Кроме того, проводятся исследования по созданию ДК-вакцин против вируса гепатита С (ВГС) [35–37]. В. Hong и соавт. разработали суперстимулятор ДК, который состоит из модифицированного лиганда toll-подобного рецептора 5 на основе бактериального флагеллина и ингибитора негативного регулятора иммунных реакций, супрессора сигналов цитокинов-1 (SOCS1) [35]. Они обнаружили, что экспрессия суперстимулятора прямо в ДК является значительно более мощной и стойкой, чем использование обычных стимуляторов ДК для повышения уровня и продолжительности производства воспалительных цитокинов как у мышей, так и у людей. Более того, ДК, экспрессирующие суперстимулятор, мощнее запускали как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ против антигена ВГС *in vivo* в мышинной модели. Авторы другого исследования стремились разработать ДК-вакцину, кодирующую множественные эпитопы ВГС, которые могут стимулировать реакцию Т-клеток *in vitro*, и могут быть использованы для иммунизации *in vivo* [36]. ДК были заражены рекомбинантными аденовирусами с дефектами репликации, несущими 2 последовательности ВГС. Такая ДК-вакцина эффективно запускала антивирусные иммунные реакции Т-лимфоцитов *in vitro*, судя по специфическому лизису клеток гепатомы человека Huh7,5. Z.A. Mekonnen и соавт. разработали другой подход для повышения эффективности ДК-вакцины против ВГС [37]. Они предполагают использовать некротические ДК, экспрессирующие антиген ВГС для иммунизации.

Два клинических испытания I/II фаз терапевтических ДК-вакцин для лечения хронического гепатита С перечислены в базах данных ClinicalTrials.gov. В первом использовали аутологичные ДК, сгенерированные из моноцитов в присутствии интерферона  $\alpha$ /ГМ-КСФ и пульсированных рекомбинантными белками ВГС Core (1–120) и NS3 (1192–1457) [38, 39]. Исследование проводилось в Новосибирске (Российская Федерация), в нем участвовало 10 пациентов в возрасте от 18 до 65 лет. Пациентов вакцинировали несколько раз с помощью подкожной инъекции аутологичных ДК ( $5 \times 10^6$ ) в сочетании с подкожной адъювантной инъекцией рекомбинантного ИЛ-2 (250 000 МЕ). Не было участников с тяжелыми побочными реакциями и/или не соответствующими норме клиническими лабораторными показателями, обусловленными лечением. У 4 из 10 участников было отмечено снижение вирусной нагрузки. Другое исследование,

проведенное в Наварре (Испания), было направлено на оценку эффективности терапевтической вакцинации пациентов с генотипом ВГС-1 с использованием аутологичных ДК-вакцин, инфицированных рекомбинантным аденовирусом, кодирующим NS3 [40]. К сожалению, результаты не были опубликованы.

Хронический гепатит В является еще одним инфекционным заболеванием, которое требует улучшения естественного иммунного ответа. М. Chen и соавт. показали, что аутологичная ДК-вакцина может эффективно подавлять репликацию вируса гепатита В (ВГВ), уменьшая вирусную нагрузку в сыворотке крови пациентов [41]. В китайском клиническом исследовании I/II фазы, указанном в базе данных ClinicalTrials.gov, пытаются предоставить дополнительную помощь пациентам с хроническим гепатитом В через ДК-вакцину, нагруженную обычным вакцинным препаратом против ВГВ [42]. Предварительные результаты исследования показали, что такая вакцинация эффективно восстановила иммунитет и выявила снижение вирусных показателей, а также серологические и биохимические улучшения у некоторых пациентов с хроническим ВГВ [43, 44]. В другом клиническом испытании пытаются сочетать противовирусный препарат энтекавир с ДК-вакциной [45]. Так как ВГВ является основной причиной развития гепатокарциномы, ДК-вакцины против него могут выступать в качестве противораковой терапии. Эффективность данного подхода была показана в исследованиях *in vitro*, а также на мышинной модели [46, 47].

Реактивация цитомегаловируса (ЦМВ) остается одной из основных причин заболеваемости у пациентов с аллогенной трансплантацией гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), и происходит более чем у 60 % пациентов без противовирусной профилактики [48]. А.Н. Van Craenenbroeck и соавт. в успешном экспериментальном клиническом испытании показали индукцию ЦМВ-специфичных Т-клеток при помощи ДК, которые были трансфицированы РНК, кодирующей вирусные белки [49]. Вакцина активировала наивные Т-клетки против вируса у серонегативных лиц и Т-клетки памяти у ЦМВ-положительных лиц. С.К.К. Ма и соавт. получали аллогенную донорскую ДК-вакцину на основе пептидов ЦМВ для пациентов с ТГСК в присутствии провоспалительного коктейля цитокинов (фактор некроза опухоли (ФНО)  $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , простагландин E2 и ИЛ-6) для созревания мДК при нагрузке антигенным материалом [50]. ДК вводились одновременно с ЦМВ-специфичными Т-клетками. Никаких немедленных побочных реакций не было замечено при вакцинации ДК или инфузии Т-клеток. У всех пациентов, получивших данную терапию, были выявлены иммунные реакции против ЦМВ. Недавно в США была завершена I стадия клинического исследования ДК-вакцины

против ЦМВ [51]. ДК, нагруженные РНК, кодирующей вирусные белки, были введены одновременно со столбнячным анатоксином и адьювантом (ГМ-КСФ) детям и молодым людям до 35 лет с IV стадией глиомы по классификации Всемирной организации здравоохранения, рецидивирующей злокачественной глиомой или рецидивирующей медуллобластомой. Это исследование включало 10 пациентов. Не наблюдалось никаких тяжелых побочных эффектов лечения.

Некоторые исследователи изучают противогрибковые ДК-вакцины против высоковирулентных грибов, таких как *Cryptococcus gattii*, которые могут вызвать смертельную инфекцию у людей с нормальным иммунитетом [52–55]. Важно, что ДК, пульсированные пептидом от *Paracoccidioides brasiliensis*, оказались эффективны в борьбе с уже развившимся заболеванием в модели терапевтического применения ДК у иммунокомпрометированных мышей [55].

Таким образом, в настоящее время разрабатывается ряд противинфекционных ДК-вакцин для лечения опасных и трудноизлечимых хронических заболеваний. Терапевтические ДК-вакцины дают преимущества даже при хронических инфекционных заболеваниях и даже у иммунокомпрометированных индивидуумов, что подчеркивает их высочайшую эффективность. Именно поэтому, как ожидается, ДК-вакцины будут полезны для иммунизации против SARS-CoV-2 пациентов с нарушениями иммунитета. Различные стимулы созревания ДК и адьюванты для иммунизации все еще изучаются в целях разработки наиболее эффективных и безопасных ДК-вакцин. Использование различных вариантов активаторов позволяет тонко настраивать функциональную активность ДК (презентация антигенов и секреция цитокинов). К сожалению, нет четких и систематизированных данных в плане того, какие именно стимуляторы наиболее целесообразны при получении противовирусных ДК, каким именно образом следует обработать ДК, чтобы далее они вызвали длительный, адекватный, но не избыточный ответ Т-лимфоцитов. В клиническом исследовании NCT04386252 предполагается использовать S-белок SARS-CoV-2 для нагрузки ДК [27]. Однако авторы не предоставляют никакой информации о стимулах созревания, особенно необходимых, если белковые антигены используются для этой цели. Poly-ICLC, провоспалительный коктейль цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , простагландин E2 и ИЛ-6), L-GO [29] или другие факторы, описанные выше для различных противовирусных ДК-вакцин, могут быть добавлены вместе с пептидными или белковыми антигенами для индуцирования созревания ДК и повышения их антигенпредставляющего потенциала. Тем не менее вирусные векторы, по-видимому, эффективнее белковых, пептидных

и РНК-антигенов (судя по урокам, которые были извлечены из исследований ДК-вакцин против ВИЧ-инфекции). Таким образом, ДК-вакцина из клинического испытания NCT04276896, основанная на ЛВ, экспрессирующих мини-ген COVID-19, не нуждается в дополнительных факторах созревания [28]. Кроме того, можно надеяться, что антигены на основе вирусных векторов, будут стимулировать наиболее подходящий для индукции противовирусного иммунитета фенотип у ДК. Помимо этого, авторы исследования включили иммунные модулирующие гены в конструкцию для повышения потенциала ДК вакцины (что должно повысить ее эффективность), основываясь на опыте предыдущих исследователей. Такой подход использовался в ДК-вакцинах против ВИЧ-инфекции [33]. Вместе с тем необходимо тщательно рассмотреть вопросы безопасности вирусных векторов. Важно проверить другие вирусные векторы, такие как аденовирус и поксвирус и т.д., для производства ДК-вакцин против SARS-CoV-2. Примечательно, что в исследованиях ДК-вакцин против ЦМВ предлагается привлекательный подход, который может быть использован для противовирусной защиты пациентов после ТГСК, особенно чувствительных к любой инфекции, не говоря уже о высокозаразном SARS-CoV-2. Донорские моноциты, с подобранными вариантами главного комплекса гистосовместимости, могут быть использованы для производства любой противовирусной ДК-вакцины, включая SARS-CoV-2, ЦМВ и т.д., и обеспечивают защиту пациентов через активацию противовирусной реакции донорских Т-клеток.

Остается интригующей и полностью неисследованной возможность использования толерогенной ДК-вакцины для облегчения неадекватных и чрезмерных иммунных реакций в виде синдрома высвобождения цитокинов (СВЦ) во время COVID-19 [12, 13].

Таким образом, ДК-вакцины могут быть адаптированы для профилактики SARS-CoV-2 и любых инфекционных заболеваний для иммунокомпрометированных пациентов.

### Противовирусные CAR-эффекторы в терапии вирусных заболеваний, включая COVID-19

Технология CAR интенсивно используется для разработки новых методов лечения SARS-CoV-2. Большинство из подходов направлено на поверхностный S-белок вируса. Это гликозилированный белок, который обеспечивает проникновение вируса в клетки и играет важную роль в получении иммунного ответа хозяина [56, 57]. Он связывается с ангиотензинпревращающим ферментом 2 (ACE2) [58, 59]. Белок S состоит из тримера, где каждый мономер имеет 2 субъединицы (S1 и S2), разделенные сайтом

расщепления, который распознается белками клеток хозяина [60]. Субъединица S1 состоит из сигнального пептида (SP), терминального домена N (NTD) и рецепторсвязывающего домена (RBD), в то время как субъединица S2 опосредует слияние мембраны с частицами вируса. S-белок служит мишенью нейтрализующих антител [61, 62].

В настоящее время проводится ряд исследований с использованием традиционных CAR на основе scFv, полученных на базе противовирусных антител к S-белку SARS-CoV-2. CAR-T-клетки к S1-белку показали мощную цитотоксическую активность *in vitro* против целевых клеток, нагруженных RBD, пептидом S1 или самим белком S1 [63]. Данные CAR относятся ко 2-му поколению и включают scFv от CR3022 антител с последующей последовательностью Flag-Tag (DYKDDDDK), различными областями шарниров, трансмембранным и внутриклеточным доменами CD28 и внутриклеточным доменом CD3 $\zeta$ . Нейтрализующее антитело от выздоровевшего пациента с SARS, называемое CR3022, связывается с областью RBD S-белка как в SARS-CoV-1, так и в SARS-CoV-2 [64]. Таким образом, S1-эпитоп, связанный с CR3022, по-видимому, консервативный и может оказаться стабильным во время эволюции вируса. Распознавание CAR-лимфоцитами целевого пептида в RBD SARS-CoV-2 ведет к увеличению экспрессии активационного антигена T-клеток CD69 и интерферона  $\gamma$ , гранзима B, перфорина и Fas-лиганда на CAR-T-клетках. Эффективность лизиса варьировала в зависимости от состава шарнирной области. Замедленная микроскопия показала формирование кластера CAR-T-клеток вокруг RBD-экспрессирующих целей. Цитолиз мишеней был опосредован в первую очередь гранзим-B/перфоринным путем. Более того, авторы показали *in vivo* лизис S1-экспрессирующих клеток CAR-T-лимфоцитами у мышей.

Тем не менее CAR-T-клетки – мощные индукторы СВЦ, который является одним из основных факторов патогенеза COVID-19 [65]. Таким образом, активно исследуются другие источники эффекторных клеток, которые могут служить эффективными носителями CAR. НК являются высокоперспективными антивирусными эффекторами. НК распознают SARS-CoV-2-инфицированные клетки через свои собственные врожденные рецепторы и убивают инфицированные клетки на ранней стадии иммунного ответа [66]. Модифицированные CAR-НК не могут вызывать реакции трансплантата против хозяина, как CAR-T-клетки [67, 68]. НК реже вызывают СВЦ, который потенциально может усилить симптомы COVID-19 [69]. Важно отметить, что CAR-трансфицированные НК можно заранее подготовить, т. е. сделать их готовым к использованию универсальным клеточным продуктом [70]. Однако следует подчер-

кнуть, что использование НК в клеточной терапии не исключает развития реакций хозяина против трансплантата, ограничивающих время жизни в реципиенте и потенциал БМКП. Более того, T-клетки могут также подготавливаться, чтобы их можно было использовать в качестве готового универсального продукта, хотя это и требует дополнительных стадий генетической модификации для удаления локуса  $\alpha\beta$ -T-клеточных рецепторов либо удаления T-лимфоцитов с  $\alpha\beta$ -T-клеточных рецепторов [71].

Из этих соображений M. Ma и соавт. хотя и выбрали антитела CR3022 для своего scFv, но НК служили в качестве эффекторных клеток [72]. CR3022-CAR-НК могут специфически связываться с RBD S-белка SARS-CoV-2 и с целым S-белком SARS-CoV-2 и активируются псевдотипированными вирусными частицами SARS-CoV-2-S *in vitro*. Псевдотипированные SARS-CoV-2-S вирусные частицы – это частицы вируса, который допустимо использовать в обычной биологической лаборатории, в отличие от опасного SARS-CoV-2, но с включением S-белка SARS-CoV-2. CR3022-CAR-НК могут специфически убивать целевые клетки, зараженные псевдо-SARS-CoV-2. В последующей работе авторы усовершенствовали свой подход к генерации CAR-НК для нацеливания на исходный SARS-CoV-2 и его мутантный штамм D614G [73, 74]. CAR-НК были сформированы с использованием домена scFv S309 (далее S309-CAR-НК) антител, нейтрализующих и SARS-CoV, и SARS-CoV-2. Антитела S309 нацелены на высококонсервативный регион S гликопротеина SARS-CoV-2, поэтому, скорее всего, способны распознать различные варианты изолятов SARS-CoV-2 [75]. S309-CAR-НК могут специфически связываться с псевдотипированным вирусом SARS-CoV-2 и его мутантами D614G, N501Y и E484K. Кроме того, S309-CAR-НК специфически лизировали целевые клетки, несущие S-белок *in vitro*, и демонстрировали превосходящую цитотоксическую активность и продукцию цитокинов по сравнению с клетками CR3022-CAR-НК.

Интересный подход был предложен W. Fu и соавт. [76]. Их команда генетически перепрограммировала человеческие макрофаги рецепторами CAR для направления их фагоцитарной активности против SARS-CoV-2. После исследования конструкций CAR с различными внутриклеточными доменами рецепторов они обнаружили, что цитозольные домены из протоонкогена тирозинкиназы MER (*MERTK*) (CAR-*MERTK*) не вызывали антигенспецифичный клеточный фагоцитоз или цитотоксический эффект, в отличие от MEGF10, Fc $\gamma$  и CD3 $\zeta$ . Однако CAR с любыми доменами, включая *MERTK*, приводили к схожему обезвреживанию SARS-CoV-2 *in vitro*. Самое примечательное, что в присутствии на макрофагах CAR-*MERTK* они осуществляли свои

функции по антигенспецифичному удалению вирионов SARS-CoV-2 без секреции провоспалительных цитокинов. Таким образом, подобные эффекторные макрофаги с CAR-MERTK могут иметь преимущества для лечения COVID-19, в особенности у лиц с повышенным риском гиперовоспаления.

Лектин банана (BanLec) предлагается в качестве перспективного CAR рецептора для SARS-CoV-2 [77]. Он связывает протеогликаны с высоким содержанием маннозы на вирусных оболочках, оказывая противовирусное действие. Точечная мутация (H84T) позволяет получить вариант BanLec с противовирусной активностью при отсутствии митогенной. SARS-CoV-2 содержит значительное количество подобных маннозосодержащих олигосахаридов в непосредственной близости к RBD-домену S-белка. Рецепторный домен BanLec был включен в CAR 2-го поколения с сигнальными доменами костимулятора 4-1BB и CD3 $\zeta$ . H84T-BanLec CAR-НК снижали уровень инфекции псевдотипированными лентивирусами, содержащими S-белок, у 293T-клеток с рецептором ACE2. НК активировались и секретировали провоспалительные цитокины при культивировании в присутствии зараженных клеток.

В настоящее время в Китае проводится фаза I/II клинического испытания NCT04324996 по лечению COVID-19 с использованием аллогенных CAR-НК [78]. Авторы тестируют генетически модифицированные первичные человеческие НК в качестве терапевтического БМКП. НК модифицировали ACE2 для распознавания вируса и инфицированных клеток. Кроме того, клетки НК были модифицированы для секреции суперагониста ИЛ-15 (химерный растворимый белок, состоящий из ИЛ-15 и  $\alpha$ -цепи его рецептора sИЛ-15/ИЛ-15R $\alpha$ ). По мнению авторов, эта модификация способствует увеличению срока службы генетически модифицированных НК в организме хозяина. Для сокращения СВЦ в исследовании была внесена еще одна модификация: клетки CAR-НК секретируют scFv к ГМ-КСФ.

Математические модели показывают потенциальную эффективность COVID-19-специфичных CAR-T-клеток в антивирусной терапии [79, 80].

T. Zhu и соавт. исследуют антивирусный потенциал нановезикул (NV), полученных из биспецифических CAR-T-клеток, экспрессирующих 2 scFv, названных CR3022 и B38, против целевого SARS-CoV-2 [81]. NV, которые экспрессируют как CR3022, так и B38 (CR3022/B38 NV), имеют более сильную способность нейтрализовать инфекцию псевдовиромом с S-белком SARS-CoV-2, чем NV лишь с одним из них. Примечательно, что коэкспрессия CR3022 и B38, которые нацелены на различные эпитопы S-белка, может уменьшить случаи вирусной резистентности за счет мутации одного из эпитопов. Ремдесивир был

инкапсулирован в CR3022/B38 NV с помощью электропорации, а затем доставлен в инфекционные места SARS-CoV-2 на основе нацеливания рецепторами CR3022/B38. Авторы предполагают, что CR3022/B38 NV обладают потенциальной способностью направлять и доставлять противовирусный препарат в главный участок вирусной инфекции, тем самым значительнее ингибируя внутриклеточную репликацию вируса и снижая побочные реакции от препарата.

CAR-T-клетки были успешно протестированы для лечения нескольких вирусных заболеваний, таких как ЦМВ человека, ВИЧ, вирус Эпштейна–Барр (ЭБВ), ВГВ и ВГС [82, 83]. Применение CAR для терапии ЦМВ было рассмотрено в обзоре С. Bednar и А. Ensser [82]. CAR-T-клетки, направленные против ЦМВ, оказались эффективны при лизисе инфицированных клеток *in vitro*, выделяли провоспалительные цитокины при контакте с их целями (ФНО и интерферон  $\gamma$ ). Эффективность CAR, ориентированных на ЦМВ, была продемонстрирована также в мышечной модели. Тем не менее некоторые исследователи сообщают о низкой цитолитической активности CAR-лимфоцитов. Было замечено, что инфицированные ЦМВ клетки могут сопротивляться цитотоксическому лизису CAR<sup>+</sup>-Т-клетками с помощью ингибиторных вирусных белков.

Помимо ЦМВ, другим клинически значимым членом герпесвирусов является ЭБВ. Это латентный и онкогенный вирус человека. ЭБВ обильно экспрессирует на поверхности зараженных клеток вирусный гликопротеин gp350 во время литической инфекции, что делает этот гликопротеин потенциальной мишенью для CAR-T-клеточной терапии. CAR 2-го поколения был создан С. Slabik и соавт. на основе 2 нейтрализующих антител, нацеленных на gp350 (7A1 и 6G4) [84]. scFv были слиты с сигнальными доменами CD28/CD3 $\zeta$ . gp350CAR-T-клетки специфически распознавали и убивали gp350<sup>+</sup>293T-клетки *in vitro*. Наиболее эффективные из полученных 7A1-gp350CAR-T-клетки проявляли цитотоксичность против ЭБВ<sup>+</sup>-клеточной линии B95-8. Полностью гуманизированным мышам Nod.Rag.Gamma пересаживали CD34<sup>+</sup>-клетки пуповинной крови и инфицировали литическим штаммом EBV/M81/fLuc. Далее проводился динамический мониторинг на предмет вирусного распространения. У зараженных мышей воспроизводились ЭБВ-индуцированная лимфопролиферация, развитие опухоли и системное воспаление. Авторы тестировали эффект от введения аутологичных CD8<sup>+</sup>gp350CAR-T-клеток в протективном (до инфицирования) или терапевтическом режимах. После терапии gp350CAR-T-клетками 75 % мышей контролировали или уменьшали распространение ЭБВ, у них с меньшей частотой наблюдалась злокачественная лимфолиферация зараженных В-лимфоцитов, не развивались опухоли

и было снижено воспаление. CAR-T-клетки, нацеленные на латентный мембранный белок 1 (latent membrane protein-1, LMP-1) ЭБВ, показали противовирусный потенциал *in vitro* и у мышей с ксенотрансплантатом с ЭБВ-отрицательной линией карциномы носоглотки (SUNE1), генетически модифицированной для сверхэкспрессии LMP-1 [85]. Вирусный LMP-1 экспрессируется в большинстве связанных с ЭБВ лимфопролиферативных заболеваний и злокачественных опухолей, и он критически способствует патогенезу болезни [86]. В ранней фазе I клинических испытаний NCT04657965 (Китай, пока не набирает пациентов) намерены вводить LMP-1-специфические CAR-T-клетки для лечения инфекции ЭБВ и гематологических злокачественных образований, им вызванных [87].

CAR-T-клетки с умеренной эффективностью используются при лечении серьезного вирусного заболевания – ВИЧ [82, 88]. В период между 1995 и 2005 г. в нескольких клинических испытаниях исследовали безопасность и эффективность использования CD4 $\zeta$ -CAR-T-клеток у ВИЧ-инфицированных лиц (обзор исследований составлен С.Р. Maldini и соавт.) [88]. Результаты этих исследований доказали безопасность и целесообразность генной терапии *ex vivo* с использованием Т-лимфоцитов, но в конечном итоге лечение не смогло окончательно уменьшить вирусную нагрузку в кровеносных и тканевых резервуарах. Первые анти-ВИЧ-CAR были основаны на CD4-домене, который связывает ВИЧ, и представляли собой CAR 1-го поколения только с CD3-активационным доменом. Для повышения активности и стойкости CAR-T-клеток были разработаны 2-е и 3-е поколения анти-ВИЧ-CAR. По сравнению с 1-м поколением CAR-T-клеток CAR-T-клетки 2-го поколения были более мощными в подавлении репликации ВИЧ *in vitro*. Кроме того, в гуманизированной мышинной модели ВИЧ-инфекции они сохраняли количество CD4 $^{+}$ -Т-клеток, уменьшали ВИЧ-нагрузку и расширили защиту в большей степени, чем 1-е поколение CAR-T-клеток. Тем не менее рецепторы CAR, построенные на CD4-элементах, как было показано, делают сами CAR-T-клетки восприимчивыми к ВИЧ-инфекции. Разработано несколько способов защиты таких CAR-T-клеток от вирусного проникновения. Например, создан биспецифический CAR, в котором сегмент CD4 связан с scFv моноклональных антител человека 17b, которые распознают высококонсервативный CD4-индуцированный эпитоп на вирусном gp120, участвующий в связывании корцептора, и защищает CD8-позитивные CAR-T-клетки от вирусного проникновения, делает их еще более эффективными при лизисе инфицированных клеток [89]. Другой способ преодолеть эту потенциально опасную ситуацию – оснастить CD4 $\zeta$ CAR-систему ингибитором

слияния с вирусом (пептид C46) или небольшими шпилечными РНК для разрушения корцептора ВИЧ (CCR5) и деградации вирусной РНК [90]. Ингибитор слияния вируса с клетками С34, связанный с CXCR4, оказывается достаточно мощным и препятствует проникновению различных штаммов ВИЧ независимо от их тропизма [91]. Недавно данный ингибитор был использован для создания ВИЧ-устойчивых ВИЧ-специфических CAR-модифицированных CD4 $^{+}$ -Т-клеток (CAR4) [92]. Авторы продемонстрировали, что CAR4-T-клетки напрямую подавляют репликацию ВИЧ *in vitro* и уничтожают клетки, зараженные вирусом.

Несколько групп исследовали альтернативную возможность нацеливания CAR 2-го поколения на ВИЧ-инфицированные клетки [88]. Были разработаны CAR, содержащие scFv, которые нацелены на консервативные участки вирусных белков. Несмотря на значительную противовирусную способность клеток на основе scFv *in vitro*, несколько факторов могут ограничивать их терапевтический потенциал у человека. Чтобы стать широкоприменимой терапией, CAR-T-клетки на основе scFv должны преодолеть вероятность ускользания ВИЧ из-под иммунологического надзора за счет мутаций, быть эффективными против разнообразных штаммов ВИЧ и неиммунными, чтобы они могли сохраняться в течение десятилетий.

В настоящее время проводится оценка нескольких подходов для повышения эффективности CAR по борьбе с ВИЧ. Блокада иммунной точки PD-1 оказалась эффективным способом повышения активности CAR против ВИЧ *in vitro* и в мышинной модели, так как анти-ВИЧ-CAR-лимфоциты подвергаются значительному истощению из-за хронического течения инфекции [93]. Во время хронической инфекции ВИЧ или вируса обезьяньего иммунодефицита до прогрессирования СПИД подавляющее большинство вирусной репликации концентрируется в фолликулах В-клеток вторичных лимфоидных тканей. Таким образом, M.S. Ramprusch и соавт. исследовали, могут ли Т-клетки, экспрессирующие специфичный к вирусу обезьяньего иммунодефицита CAR и рецептор хоуминга в фолликулы CXCR5, успешно лизировать инфицированные клетки в целевых фолликулах у зараженных макаков [94]. В целом CAR/CXCR5-T-клетки животных поддерживали более низкую вирусную нагрузку и уровень вирусных РНК в фолликулах макаков после инфузии клеток, чем у контрольных животных, и не было отмечено никаких серьезных побочных реакций. Эти результаты показывают, что лечение CAR/CXCR5-T-клетками является безопасным и обещает стать будущим лечением для достижения прочной ремиссии ВИЧ. Стратегия универсальных CAR была также протестирована для лечения

ВИЧ [95]. R. M. Lim и соавт. сообщили о разработке универсальных CAR-НК, которые распознавали 2,4-динитрофенил (DNP) и впоследствии могли быть перенаправлены на различные эпитопы gp160 ВИЧ, используя DNP-конъюгированные антитела в качестве молекул адаптеров. Они показали, что такие CAR-НК могут распознавать и убивать псевдоинфицированные ВИЧ клеточные линии с gp160 подтипов В и С. Подтверждено, что ВИЧ-инфицированные первичные CD4<sup>+</sup>-Т-клетки человека могут быть эффективно уничтожены с помощью того же подхода. Учитывая, что многочисленные антитела против gp160 с различной специфичностью легкодоступны, эта модульная универсальная клеточная платформа CAR-НК может потенциально преодолеть разнообразие ВИЧ, тем самым обеспечивая многообещающую стратегию по искоренению ВИЧ.

Проходящее в данный момент клиническое исследование фазы I анти-ВИЧ-CAR-T-клеток NCT03617198 (США) основано на CAR 2-го поколения (41В-В-, CD3ζ-внутриклеточные домены) с CD4-рецепторной частью [96, 97]. Противовирусная защита CAR-T-клеток обеспечивается системой, описанной L. Liu и соавт. [89]. В настоящее время проводится еще несколько клинических испытаний анти-ВИЧ-CAR: NCT04648046 (США) [98], NCT04863066 (Китай, планируется) [99], NCT03240328 (Китай) [100].

Кроме того, предпринимаются попытки восстановить/усилить специфические иммунные реакции при хроническом гепатите В [101]. CAR, направленный против поверхностных белков ВГВ, позволил Т-клеткам человека убить инфицированные гепатоциты человека и устранить ковалентно замкнутую круговую ДНК вируса (cccDNA) *in vitro* [102]. CAR-T-клетки сохраняли свою функцию *in vivo* и контролировали репликацию вируса без существенной цитотоксичности, связанной с Т-клетками, в модели хронической инфекции ВГВ у трансгенных мышей (HBVtg) с функциональной иммунной системой [103]. Схожие результаты были получены R. L. Kruse и соавт. Научный коллектив создал CAR, ориентированный на поверхностный антиген ВГВ (HBsAg), и оценил его способность распознавать клеточные линии, положительные по ВГВ, и частицы HBsAg *in vitro* и проверил, будут ли человеческие HBsAg-CAR-T-клетки эффективны против инфицированных гепатоцитов в печени химерных мышей [104]. HBsAg-CAR-T-клетки распознали ВГВ-положительные клеточные линии и частицы HBsAg *in vitro*, судя по производству цитокинов. Однако HBsAg-CAR-T-клетки не убивали ВГВ-положительные клеточные линии в цитотоксических тестах *in vitro*, так же как в исследовании K. Krebs и соавт. [103]. Адоптивный перенос HBsAg-CAR-T-клеток зараженным гуманизированным мышам привел к накоплению их в печени и значи-

тельному снижению уровней HBsAg и ДНК вируса в плазме по сравнению с контрольными мышами. Примечательно, что доля инфицированных гепатоцитов человека была значительно уменьшена после лечения HBsAg-CAR-T-клетками, что указывает на нецитопатический клиренс вируса. Противовирусная терапия CAR-T-клетками является перспективным терапевтическим подходом для лечения хронического гепатита В и ассоциированного с ним рака. Однако из-за большого количества целевых клеток побочные эффекты, такие как СБЦ или гепатотоксичность, могут ограничивать ее безопасность. A. Kloor и соавт. разработали анти-ВГВ-CAR-T-клетки с защитным механизмом, который обеспечивает уничтожение введенных Т-клеток при необходимости [105]. В этом исследовании Т-клетки были модифицированы путем ретровирусной трансдукции для экспрессии ВГВ-специфичных CAR и, кроме того, индуцируемой каспазы-9 или тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV-TK) в качестве выключателей. M. M. Festag и соавт. спроектировали полностью человеческие HBsAg-специфичные CAR-T-клетки 2-го поколения и протестировали их в модели мышей AAV-HBV с переносимостью человеческих HBsAg-CAR [106]. В этой системе были продемонстрированы долгосрочные противовирусные эффекты с уменьшением HBsAg в 2 раза и уменьшением вирусной ДНК на 60 % в течение 110 дней после переливания CAR-лимфоцитов. Однако HBsAg-CAR-T-клетки не смогли полностью очистить организм животных от ВГВ.

G. A. Sautto и соавт. разработали первые CAR против ВГС, направленные на гликопротеин ВГС/E2 [107]. Анти-ВГС/E2 CAR 2-го поколения состояли из scFv, полученных из перекрестно-реактивного и перекрестно-нейтрализующего моноклонального антитела человека, e137, слитого с внутриклеточными сигнальными мотивами CD28 и CD3ζ. Активность пересаженных CAR-T-клеток была оценена *in vitro* по отношению к ВГС/E2-трансфектным клеткам, а также гепатоцитам, зараженным ВГС, полученным из клеточной культуры (HCVcc). CAR-T-лимфоциты специфически распознавали антигены, что сопровождалось дегрануляцией и секрецией провоспалительных и противовирусных цитокинов (интерферон γ, ИЛ-2 и ФНО-α). Кроме того, CAR-T-клетки были способны лизировать целевые клетки как печеночного, так и непеченочного происхождения, которые экспрессировали ВГС/E2 наиболее клинически значимых генотипов вируса, включая 1a, 1b, 2a, 3a, 4 и 5. Наконец, что более важно, они были способны убивать гепатоциты, зараженные вирусом HCVcc.

Таким образом, большинство исследований противовирусных CAR находятся на доклинических стадиях. Все они, за исключением работ по SARS-CoV-2, посвящены хроническим заболеваниям. Поэтому

многие ученые сталкиваются с вирусными механизмами, которые позволяют вирусам избежать естественного человеческого иммунитета. Такие вирусные свойства также могут снижать эффективность CAR-лимфоцитов. К сожалению, большинство из этих механизмов еще только предстоит прояснить. COVID-19 является острой инфекцией, однако SARS-CoV-2, безусловно, обладает определенными свойствами, позволяющими ослабить естественный адаптивный иммунитет. Эти особенности еще предстоит обнаружить, и они могут иметь решающее значение для успешного противовирусного лечения.

Существует несколько устоявшихся стратегий разработки противовирусных CAR, которые могут быть адаптированы для создания эффективных CAR против SARS-CoV-2. Наиболее подробная информация доступна из обширной и хорошо развитой области исследований CAR против ВИЧ. Эти исследования четко указывают на то, что CAR 2-го поколения превосходят по антивирусной защите CAR 1-го поколения [82, 88]. Кроме того, активационные домены семейства TNFR (CD27, OX40 и 4-1BB), по-видимому, важны для эффективного функционирования в естественных условиях модифицированных клеток, обеспечивая экспансию клеток [92]. Тогда как активирующие домены, производные от семейства рецепторов CD28 (ICOS и CD28), важны для эффекторных функций CAR-лимфоцитов. Таким образом, CAR 3-го поколения против SARS-CoV-2, содержащие CD28-, 4-1BB- и CD3 $\zeta$ -активирующие домены, как ожидается, будут очень эффективны в очистке от вируса [72–74]. Нацеливание CAR на отдельные вирусные эпитопы при помощи scFv имеет недостаток, связанный с возможным ускользанием вируса от действия CAR в силу его быстрых мутаций. По-

этому CAR, в которых используются другие рецепторные области с более широкой специфичностью, такие как ACE2 или VanLec, представляются в этом отношении предпочтительными. Однако возможная перекрестная реакция таких CAR с другими лигандами может оказаться проблемой. ACE2 – рецептор для ангиотензина, неотъемлемая часть ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, которая существует для того, чтобы поддерживать кровяное давление тела. Таким образом, ACE2-несущие CAR-лимфоциты могут изменить естественный контроль кровяного давления. Для выбора наилучших вариантов необходимо проводить прямое сопоставление эффективности и безопасности различных CAR. Как и в случае с ВИЧ, нельзя исключить вероятность того, что может потребоваться защита анти-COVID-19-CAR-лимфоцитов от проникновения в них вируса и инфицирования. Необходимо изучить данный вопрос. Потенциально такие методы могут быть разработаны на основе предыдущих исследований анти-ВИЧ-CAR-лимфоцитов. Дополнительные механизмы для уменьшения или выключения нежелательных реакций СВЦ (суицидальные гены, scFv для нейтрализации воспалительных цитокинов) крайне желательны по соображениям безопасности во время CAR-терапии COVID-19 [78, 105].

### Заключение

Противовирусные БМКП, такие как ДК-вакцины и противовирусные CAR-эффекторы, перспективны в проблемных случаях терапии и профилактики SARS-CoV-2. Современные исследования противовирусных ДК-вакцин и CAR против других инфекций доказывают, что этот подход является осуществимым, достаточно безопасным и эффективным.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Li C.X., Noreen S., Zhang L.X. et al. A critical analysis of SARS-CoV-2 (COVID-19) complexities, emerging variants, and therapeutic interventions and vaccination strategies. *Biomed Pharmacother* 2022;146:112550. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112550
- Sarubbo F., El Haji K., Vidal-Balle A., Bargay Lleonart J. Neurological consequences of COVID-19 and brain related pathogenic mechanisms: a new challenge for neuroscience. *Brain Behav Immun Health* 2022;19:100399. DOI: 10.1016/j.bbih.2021.100399
- Jean S.S., Lee P.I., Hsueh P.R. Treatment options for COVID-19: the reality and challenges. *J Microbiol Immunol Infect* 2020;53(3):436–43. DOI: 10.1016/j.jmii.2020.03.034
- Zinatizadeh M.R., Zarandi P.K., Zinatizadeh M. et al. Efficacy of mRNA, adenoviral vector, and perfusion protein COVID-19 vaccines. *Biomed Pharmacother* 2022;146:112527. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112527
- Logunov D.Y., Dolzhikova I.V., Shcheblyakov D.V. et al. Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. *Lancet* 2021;397(10275):671–81. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00234-8
- Galmiche S., Luong Nguyen L.B., Tartour E. et al. Immunological and clinical efficacy of COVID-19 vaccines in immunocompromised populations: a systematic review. *Clin Microbiol Infect* 2022;28(2):163–77. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.09.036
- Zhou R., To K.K., Wong Y.C. et al. Acute SARS-CoV-2 infection impairs dendritic cell and T cell responses. *Immunity* 2020;53(4):864–77.e.5. DOI: 10.1016/j.immuni.2020.07.026
- Filin I.Y., Kitaeva K.V., Rutland C.S. et al. Recent advances in experimental dendritic cell vaccines for cancer. *Front Oncol* 2021;11:730824. DOI: 10.3389/fonc.2021.730824
- Zhang X., Gordon J.R., Xiang J. Advances in dendritic cell-based vaccine of cancer. *Cancer Biother Radiopharm* 2002;17(6):601–19. DOI: 10.1089/108497802320970217

10. Sadeghzadeh M., Bornehdeli S., Mohahammadrezakhani H. et al. Dendritic cell therapy in cancer treatment; the state-of-the-art. *Life Sci* 2020;254:117580. DOI: 10.1016/j.lfs.2020.117580
11. Saadeldin M.K., Abdel-Aziz A.K., Abdellatif A. Dendritic cell vaccine immunotherapy; the beginning of the end of cancer and COVID-19. A hypothesis. *Med Hypotheses* 2021;146:110365. DOI: 10.1016/j.mehy.2020.110365
12. Brusko M.A., Stewart J.M., Posgai A.L. et al. Immunomodulatory dual-sized microparticle system conditions human antigen presenting cells into a tolerogenic phenotype *in vitro* and inhibits type 1 diabetes-specific autoreactive T cell responses. *Front Immunol* 2020;11:574447. DOI: 10.3389/fimmu.2020.574447
13. Adorini L., Penna G., Giarratana N., Uskokovic M. Tolerogenic dendritic cells induced by vitamin D receptor ligands enhance regulatory T cells inhibiting allograft rejection and autoimmune diseases. *J Cell Biochem* 2003;88(2):227–33. DOI: 10.1002/jcb.10340
14. Shen C., Wang Z., Zhao F. et al. Treatment of 5 critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. *JAMA* 2020;323(16):1582–9. DOI: 10.1001/jama.2020.4783
15. Tosta E. The protective immunity induced by SARS-CoV-2 infection and vaccination: a critical appraisal. *Explor Immunol* 2021;1:199–225. DOI: 10.37349/ei.2021.00014
16. Zohar T., Loos C., Fischinger S. et al. Compromised humoral functional evolution tracks with SARS-CoV-2 mortality. *Cell* 2020;183(6):1508–19.e12. DOI: 10.1016/j.cell.2020.10.052
17. Wu Y., Huang Z., Harrison R. et al. Engineering CAR T cells for enhanced efficacy and safety. *APL Bioeng* 2022;6(1):011502. DOI: 10.1063/5.0073746
18. Maus M.V., Grupp S.A., Porter D.L., June C.H. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood* 2014;123(17):2625–35. DOI: 10.1182/blood-2013-11-492231
19. Pule M.A., Savoldo B., Myers G.D. et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma. *Nat Med* 2008;14(11):1264–70. DOI: 10.1038/nm.1882
20. Loskog A., Giandomenico V., Rossig C. et al. Addition of the CD28 signaling domain to chimeric T-cell receptors enhances chimeric T-cell resistance to T regulatory cells. *Leukemia* 2006;20(10):1819–28. DOI: 10.1038/sj.leu.2404366
21. Hombach A.A., Abken H. Costimulation by chimeric antigen receptors revisited: the T cell antitumor response benefits from combined CD28–OX40 signalling. *Int J Cancer* 2011;129(12):2935–44. DOI: 10.1002/ijc.25960
22. Finney H.M., Akbar A.N., Lawson A.D. Activation of resting human primary T cells with chimeric receptors: costimulation from CD28, inducible costimulator, CD134, and CD137 in series with signals from the TCR $\zeta$  chain. *J Immunol* 2004;172(1):104–13. DOI: 10.4049/jimmunol.172.1.104
23. Maude S.L., Frey N., Shaw P.A. et al. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014;371(16):1507–17. DOI: 10.1056/NEJMoa1407222
24. Zhang Y., Li P., Fang H. et al. Paving the way towards universal chimeric antigen receptor therapy in cancer treatment: current landscape and progress. *Front Immunol* 2020;11:604915. DOI: 10.3389/fimmu.2020.604915
25. Wu J., Mishra H.K., Walcheck B. Role of ADAM17 as a regulatory checkpoint of CD16A in NK cells and as a potential target for cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol* 2019;105(6):1297–303. DOI: 10.1002/JLB.2MR1218-501R
26. Walcheck B., Wu J. iNK-CD64/16A cells: a promising approach for ADCC? *Expert Opin Biol Ther* 2019;19(12):1229–32. DOI: 10.1080/14712598.2019.1667974.
27. Phase I–II Trial of dendritic cell vaccine to prevent COVID-19 in adults. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04386252>.
28. Immunity and safety of Covid-19 synthetic minigene vaccine. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04276896?term=DC&cond=SARS+CoV+2+Infection&draw=2&rank=1>.
29. Zhou Q., Gu H., Sun S. et al. Large-sized graphene oxide nanosheets increase DC-T-cell synaptic contact and the efficacy of DC vaccines against SARS-CoV-2. *Adv Mater* 2021;33(40):e2102528. DOI: 10.1002/adma.202102528
30. Reuter T., Heldmann M., Schimmer S. et al. Protection of mice against Friend retrovirus infection by vaccination with antigen-loaded, spleen-derived dendritic cells. *Vaccine* 2004;22(21–22):2686–9. DOI: 10.1016/j.vaccine.2004.01.005
31. Norton T.D., Miller E.A. Recent advances in lentiviral vaccines for HIV-1 infection. *Front Immunol* 2016;7:243. DOI: 10.3389/fimmu.2016.00243
32. Mohamed H., Miller V., Jennings S.R. et al. The evolution of dendritic cell immunotherapy against HIV-1 infection: improvements and outlook. *J Immunol Res* 2020;2020:9470102. DOI: 10.1155/2020/9470102
33. Norton T.D., Zhen A., Tada T. et al. Lentiviral vector-based dendritic cell vaccine suppresses HIV replication in humanized mice. *Mol Ther* 2019;27(5):960–73. DOI: 10.1016/j.jymthe.2019.03.008
34. Miller E., Spadaccia M., Sabado R. et al. Autologous aldrithiol-2-inactivated HIV-1 combined with polyinosinic-polycytidylic acid-poly-L-lysine carboxymethylcellulose as a vaccine platform for therapeutic dendritic cell immunotherapy. *Vaccine* 2015;33(2):388–95. DOI: 10.1016/j.vaccine.2014.10.054
35. Hong B., Lee S.H., Song X.T. et al. A super TLR agonist to improve efficacy of dendritic cell vaccine in induction of anti-HCV immunity. *PLoS One* 2012;7(11):e48614. DOI: 10.1371/journal.pone.0048614
36. Zhou Y., Zhao F., Chen L. et al. Development of a dendritic cell vaccine encoding multiple cytotoxic T lymphocyte epitopes targeting hepatitis C virus. *Int J Mol Med* 2013;32(4):901–9. DOI: 10.3892/ijmm.2013.1466
37. Mekonnen Z.A., Masavuli M.G., Yu W. et al. Enhanced T cell responses induced by a necrotic dendritic cell vaccine, expressing HCV NS3. *Front Microbiol* 2020;11:559105. DOI: 10.3389/fmicb.2020.559105
38. Ostanin A.A., Chernykh E.R. Autologous dendritic cell vaccine for treatment of patients with chronic HCV-infection. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03119025?term=DC+vaccine&cond=Hepatitis+C&draw=2&rank=1>.
39. Chernykh E., Leplina O., Oleynik E. et al. Immunotherapy with interferon- $\alpha$ -induced dendritic cells for chronic HCV infection (the results of pilot clinical trial). *Immunol Res* 2018;66(1):31–43. DOI: 10.1007/s12026-017-8967-2
40. Phase I–II vaccination of autologous dendritic cells transduced with adenoviral vector encoding NS3 in hepatitis C encoding NS3 in hepatitis C. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02309086?term=DC+vaccine&cond=Hepatitis+C&draw=2&rank=2>.
41. Chen M., Li Y.G., Zhang D.Z. et al. Therapeutic effect of autologous dendritic cell vaccine on patients with chronic hepatitis B: a clinical study. *World J Gastroenterol* 2005;11(12):1806–8. DOI: 10.3748/wjg.v11.i12.1806
42. A Clinical Trial on Hepatitis B Vaccine Activated-Dendritic Cells Combined With Anti-HBV Drugs in CHB (CTHBVACADCHB). Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02615639?term=DC+vaccine&cond=Hepatitis+B&draw=2&rank=1>.
43. Luo J., Li J., Chen R.L. et al. Autologous dendritic cell vaccine for chronic hepatitis B carriers: a pilot, open label, clinical trial in human volunteers. *Vaccine* 2010;28(13):2497–504. DOI: 10.1016/j.vaccine.2010.01.038
44. Akbar S.M., Furukawa S., Horiike N. et al. Safety and immunogenicity of hepatitis B surface antigen-pulsed dendritic cells in patients with chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2011;18(6):408–14. DOI: 10.1111/j.1365-2893.2010.01320.x
45. Wei M.J., Pan X.N., Wei K.P. et al. Efficacy of HBV-pulsed DCs in combination with entecavir in patients with chronic hepatitis B infection. *Int Immunopharmacol* 2015;27(2):238–43. DOI: 10.1016/j.intimp.2015.06.019

46. Yang J.Y., Cao D.Y., Liu W.C. et al. Dendritic cell generated from CD34<sup>+</sup> hematopoietic progenitors can be transfected with adenovirus containing gene of HBsAg and induce antigen-specific cytotoxic T cell responses. *Cell Immunol* 2006;240(1):14–21. DOI: 10.1016/j.cellimm.2006.06.005
47. Long J., Zhou B., Li H. et al. Improvement of HBsAg gene-modified dendritic cell-based vaccine efficacy by optimizing immunization method or the application of  $\beta$ -glucosylceramide. *Immunol Invest* 2013;42(2):137–55. DOI: 10.3109/08820139.2012.744418
48. Chemaly R.F., Ullmann A.J., Stoelben S. et al. Letemovir for cytomegalovirus prophylaxis in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 2014;370(19):1781–9. DOI: 10.1056/NEJMoa1309533
49. Van Craenenbroeck A.H., Smits E.L., Anguille S. et al. Induction of cytomegalovirus-specific T cell responses in healthy volunteers and allogeneic stem cell recipients using vaccination with messenger RNA-transfected dendritic cells. *Transplantation* 2015;99(1):120–7. DOI: 10.1097/TP.0000000000000272
50. Ma C.K.K., Clancy L., Simms R. et al. Adjuvant peptide pulsed dendritic cell vaccination in addition to T cell adoptive immunotherapy for cytomegalovirus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2018;24(1):71–7. DOI: 10.1016/j.bbmt.2017.08.028
51. Cytomegalovirus (CMV) RNA-pulsed dendritic cells for pediatric patients and young adults with WHO grade IV glioma, recurrent malignant glioma, or recurrent medulloblastoma (ATTAC-P). Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03615404?term=DC&cond=CMV&draw=2&rank=1>.
52. Ueno K., Kinjo Y., Okubo Y. et al. Dendritic cell-based immunization ameliorates pulmonary infection with highly virulent *Cryptococcus gattii*. *Infect Immun* 2015;83(4):1577–86. DOI: 10.1128/IAI.02827-14
53. Ueno K., Urai M., Ohkouchi K. et al. Dendritic cell-based vaccine against fungal infection. *Methods Mol Biol* 2016;1403:537–49. DOI: 10.1007/978-1-4939-3387-7\_30
54. Ueno K., Urai M., Takatsuka S. et al. Immunization with antigen-pulsed dendritic cells against highly virulent *Cryptococcus gattii* infection: analysis of cytokine-producing T cells. *Methods Mol Biol* 2017;1625:327–39. DOI: 10.1007/978-1-4939-7104-6\_22
55. Silva L.B.R., Dias L.S., Rittner G.M.G. et al. Dendritic cells primed with *Paracoccidioides brasiliensis* peptide P10 are therapeutic in immunosuppressed mice with paracoccidioidomycosis. *Front Microbiol* 2017;8:1057. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01057
56. Grifoni A., Weiskopf D., Ramirez S.I. et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. *Cell* 2020;181(7):1489–501.e15. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.015
57. Premkumar L., Segovia-Chumbez B., Jadi R. et al. The receptor binding domain of the viral spike protein is an immunodominant and highly specific target of antibodies in SARS-CoV-2 patients. *Sci Immunol* 2020;5(48):eabc8413. DOI: 10.1126/sciimmunol.abc8413
58. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020;181(2):271–80.e8. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052
59. Letko M., Marzi A., Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol* 2020;5(4):562–9. DOI: 10.1038/s41564-020-0688-y
60. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Pöhlmann S. A Multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells. *Mol Cell* 2020;78(4):779–84.e5. DOI: 10.1016/j.molcel.2020.04.022
61. Cao Y., Su B., Guo X. et al. Potent neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 identified by high-throughput single-cell sequencing of convalescent patients' B cells. *Cell* 2020;182(1):73–84.e16. DOI: 10.1016/j.cell.2020.05.025
62. Shi R., Shan C., Duan X. et al. A human neutralizing antibody targets the receptor-binding site of SARS-CoV-2. *Nature* 2020;584(7819):120–4. DOI: 10.1038/s41586-020-2381-y
63. Guo X., Kazanova A., Thurmond S. et al. Effective chimeric antigen receptor T cells against SARS-CoV-2. *iScience* 2021;24(11):103295. DOI: 10.1016/j.isci.2021.103295
64. Tian X., Li C., Huang A. et al. Potent binding of 2019 novel coronavirus spike protein by a SARS coronavirus-specific human monoclonal antibody. *Emerg Microbes Infect* 2020;9(1):382–5. DOI: 10.1080/22221751.2020.1729069
65. Mehrabadi A.Z., Ranjbar R., Farzanehpour M. et al. Therapeutic potential of CAR T cell in malignancies: a scoping review. *Biomed Pharmacother* 2022;146:112512. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.112512
66. Björkström N.K., Strunz B., Ljunggren H.G. Natural killer cells in antiviral immunity. *Nat Rev Immunol* 2022;22(2):112–23. DOI: 10.1038/s41577-021-00558-3
67. Carlsten M., Childs R.W. Genetic manipulations of NK cells for cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2015;6:266. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00266
68. Simonetta F., Alvarez M., Negrin R.S. Natural killer cells in graft-versus-host-disease after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Front Immunol* 2017;8:465. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00465
69. Shah N., Li L., McCarty J. et al. Phase I study of cord blood-derived natural killer cells combined with autologous stem cell transplantation in multiple myeloma. *Br J Haematol* 2017;177(3):457–66. DOI: 10.1111/bjh.14570
70. Heipertz E.L., Zynda E.R., Stav-Noraas T.E. et al. Current perspectives on “off-the-shelf” allogeneic NK and CAR-NK cell therapies. *Front Immunol* 2021;12:732135. DOI: 10.3389/fimmu.2021.732135
71. Mo F., Mamonkin M., Brenner M.K., Heslop H.E. Taking T-cell oncotherapy off-the-shelf. *Trends Immunol* 2021;42(3):261–72. DOI: 10.1016/j.it.2021.01.004
72. Ma M., Badeti S., Geng K., Liu D. Efficacy of targeting SARS-CoV-2 by CAR-NK cells. *bioRxiv* 2020;2020.08.11:247320. Preprint. DOI: 10.1101/2020.08.11.247320
73. Ma M., Badeti S., Chen C.H. et al. CAR-NK cells effectively target the D614 and G614 SARS-CoV-2-infected cells. *bioRxiv* 2021;2021.01.14:426742. Preprint. DOI: 10.1101/2021.01.14.426742
74. Ma M.T., Badeti S., Chen C.H. et al. CAR-NK cells effectively target SARS-CoV-2-spike-expressing cell lines *in vitro*. *Front Immunol* 2021;12:652223. DOI: 10.3389/fimmu.2021.652223
75. Pinto D., Park Y.J., Beltramello M. et al. Cross-neutralization of SARS-CoV-2 by a human monoclonal SARS-CoV antibody. *Nature* 2020;583(7815):290–5. DOI: 10.1038/s41586-020-2349-y
76. Fu W., Lei C., Ma Z. et al. CAR macrophages for SARS-CoV-2 immunotherapy. *Front Immunol* 2021;12:669103. DOI: 10.3389/fimmu.2021.669103
77. Christodoulou I., Rahnama R., Ravich J.W. et al. Glycoprotein targeted CAR-NK cells for the treatment of SARS-CoV-2 infection. *Front Immunol* 2021;12:763460. DOI: 10.3389/fimmu.2021.763460
78. A phase I/II study of universal off-the-shelf NKG2D-ACE2 CAR-NK cells for therapy of COVID-19. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04324996?term=CAR&cond=COVID-19&draw=2&rank=1>.
79. Sohail A., Yu Z., Arif R. et al. Piecewise differentiation of the fractional order CAR-T cells-SARS-2 virus model. *Results Phys* 2022;33:105046. DOI: 10.1016/j.rinp.2021.105046
80. Al-Utaibi K.A., Nutini A., Sohail A. et al. Forecasting the action of CAR-T cells against SARS-corona virus-II infection with branching process. *Model Earth Syst Environ* 2021:1–9. Online ahead of print. DOI: 10.1007/s40808-021-01312-3

81. Zhu T., Xiao Y., Meng X. et al. Nanovesicles derived from bispecific CAR-T cells targeting the spike protein of SARS-CoV-2 for treating COVID-19. *J Nanobiotechnology* 2021;19(1):391. DOI: 10.1186/s12951-021-01148-0
82. Bednar C., Ensser A. CARs – a new perspective to HCMV treatment. *Viruses* 2021;13(8):1563. DOI: 10.3390/v13081563
83. Seif M., Einsele H., Löffler J. CAR T cells beyond cancer: hope for immunomodulatory therapy of infectious diseases. *Front Immunol* 2019;10:2711. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02711
84. Slabik C., Kalbarczyk M., Danisch S. et al. CAR-T cells targeting Epstein-Barr virus gp350 validated in a humanized mouse model of EBV Infection and lymphoproliferative disease. *Mol Ther Oncolytics* 2020;18:504–24. DOI: 10.1016/j.omto.2020.08.005
85. Tang X., Zhou Y., Li W. et al. T cells expressing a LMP1-specific chimeric antigen receptor mediate antitumor effects against LMP1-positive nasopharyngeal carcinoma cells *in vitro* and *in vivo*. *J Biomed Res* 2014;28(6):468–75. DOI: 10.7555/JBR.28.20140066
86. Kieser A., Sterz K.R. The latent membrane protein 1 (LMP1). *Curr Top Microbiol Immunol* 2015;391:119–49. DOI: 10.1007/978-3-319-22834-1\_4
87. LMP1 CAR-T for Patients With LMP1 positive infectious diseases and hematological malignancies. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04657965?term=CAR&cond=Infections&draw=2&rank=3>.
88. Maldini C.R., Ellis G.I., Riley J.L. CAR T cells for infection, autoimmunity and allotransplantation. *Nat Rev Immunol* 2018;18(10):605–16. DOI: 10.1038/s41577-018-0042-2
89. Liu L., Patel B., Ghanem M.H. et al. Novel CD4-based bispecific chimeric antigen receptor designed for enhanced anti-HIV potency and absence of HIV entry receptor activity. *J Virol* 2015;89(13):6685–94. DOI: 10.1128/JVI.00474-15
90. Zhen A., Peterson C.W., Carrillo M.A. et al. Long-term persistence and function of hematopoietic stem cell-derived chimeric antigen receptor T cells in a nonhuman primate model of HIV/AIDS. *PLoS Pathog* 2017;13(12):e1006753. DOI: 10.1371/journal.ppat.1006753
91. Leslie G.J., Wang J., Richardson M.W. et al. Potent and broad inhibition of HIV-1 by a peptide from the gp41 heptad repeat-2 domain conjugated to the CXCR4 amino terminus. *PLoS Pathog* 2016;12(1):e1005983. DOI: 10.1371/journal.ppat.1005983
92. Maldini C.R., Gayout K., Leibman R.S. et al. HIV-resistant and HIV-specific CAR-modified CD4+ T cells mitigate HIV disease progression and confer CD4+ T cell help *in vivo*. *Mol Ther* 2020;28(7):1585–99. DOI: 10.1016/j.ymthe.2020.05.012
93. Jiang Z., Liang H., Pan H. et al. HIV-1-specific CAR-T cells with cell-intrinsic PD-1 checkpoint blockade enhance anti-HIV efficacy *in vivo*. *Front Microbiol* 2021;12:684016. DOI: 10.3389/fmicb.2021.684016
94. Pampusch M.S., Abdelaal H.M., Cartwright E.K. et al. CAR/CXCR5-T cell immunotherapy is safe and potentially efficacious in promoting sustained remission of SIV infection. *PLoS Pathog* 2022;18(2):e1009831. DOI: 10.1371/journal.ppat.1009831
95. Lim R.M., Rong L., Zhen A., Xie J. A universal CAR-NK cell targeting various epitopes of HIV-1 gp160. *ACS Chem Biol* 2020;15(8):2299–310. DOI: 10.1021/acscchembio.0c00537
96. Kim G.B., Hege K., Riley J.L. CAR talk: how cancer-specific CAR T cells can instruct how to build CAR T cells to cure HIV. *Front Immunol* 2019;10:2310. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02310
97. CD4 CAR+ ZFN-modified T cells in HIV therapy. Available at: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03617198>.
98. CAR-T cells for HIV infection. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04648046?term=CAR&cond=Infections&draw=2&rank=1>.
99. Third-Generation CAR-T-cell Therapy in Individuals With HIV-1 Infection (TCTIWHI). Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04863066?term=CAR&cond=Infections&draw=2&rank=2>.
100. The effect of chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy on the reconstitution of HIV-specific immune function. Available at: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03240328?term=CAR&cond=Infections&draw=2&rank=10>.
101. Meng Z., Chen Y., Lu M. Advances in targeting the innate and adaptive immune systems to cure chronic hepatitis B virus infection. *Front Immunol* 2020;10:3127. DOI: 10.3389/fimmu.2019.03127
102. Bohne F., Chmielewski M., Ebert G. et al. T cells redirected against hepatitis B virus surface proteins eliminate infected hepatocytes. *Gastroenterology* 2008;134(1):239–47. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.002
103. Krebs K., Böttinger N., Huang L.R. et al. T cells expressing a chimeric antigen receptor that binds hepatitis B virus envelope proteins control virus replication in mice. *Gastroenterology* 2013;145(2):456–65. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.04.047
104. Kruse R.L., Shum T., Tashiro H. et al. HBsAg-redirection T cells exhibit antiviral activity in HBV-infected human liver chimeric mice. *Cytherapy* 2018;20(5):697–705. DOI: 10.1016/j.jcyt.2018.02.002
105. Klopp A., Schreiber S., Kosinska A.D. et al. Depletion of T cells *via* inducible caspase 9 increases safety of adoptive T-Cell therapy against chronic hepatitis B. *Front Immunol* 2021;12:734246. DOI: 10.3389/fimmu.2021.734246
106. Festag M.M., Festag J., Fräßle S.P. et al. Evaluation of a fully human, hepatitis B virus-specific chimeric antigen receptor in an immunocompetent mouse model. *Mol Ther* 2019;27(5):947–59. DOI: 10.1016/j.ymthe.2019.02.001
107. Sautto G.A., Wisskirchen K., Clementi N. et al. Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered T cells redirected against hepatitis C virus (HCV) E2 glycoprotein. *Gut* 2016;65(3):512–23. DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308316

**Вклад авторов**

И.О. Чикилева, И.Ж. Шубина, М.В. Киселевский: анализ данных литературы, написание текста статьи и ее обсуждение.

**Authors' contributions**

I.O. Chikileva, I.Zh. Shubina, M.V. Kiselevskiy: analysis of the literature data, writing the text of the review and its discussion.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

И.О. Чикилева / I.O. Chikileva: <https://orcid.org/0000-0003-0769-1695>

И.Ж. Шубина / I.Zh. Shubina: <https://orcid.org/0000-0002-9374-3158>

М.В. Киселевский / M.V. Kiselevskiy: <https://orcid.org/0000-0002-0132-167X>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Funding.** The work was performed without external funding.

**Статья поступила:** 29.04.2022. **Принята к публикации:** 16.05.2022.

**Article submitted:** 29.04.2022. **Accepted for publication:** 16.05.2022.