

iPSC-lähtöiset CAR-makrofagit kiinteiden kasvainten immunoterapiassa

Iiro Muukkonen
Luonnontieteiden kandidaatin tutkielma
Turun yliopisto
Biolääketieteen koulutusohjelma
Lääketieteellinen tiedekunta
Biolääketieteen laitos
3.5.2026

Turun yliopiston laatu järjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

Kandidutkielma

Oppiaine: Biolääketiede

Tekijä(t): Iiro Muukkonen

Otsikko: iPSC-lähtöiset CAR-makrofagit kiinteiden kasvainten immunoterapiassa

Ohjaaja(t): Dosentti Maija Hollmén

Sivumäärä: 29 sivua

Päivämäärä: 3.5.2026

Adoptiiviset soluterapiat ovat yleisnimitys syövän immunoterapiahoitoille, jossa potilaan tai luovuttajan immuunisoluja eristetään laboratoriotuotantoa varten, minkä jälkeen muokatut ja monistetut solut palautetaan potilaaseen tyyppillisesti infuusiona. Merkittävä edistysaskel tässä terapiamuodossa on kimeerisen antigeenireseptorin (CAR) suunnittelu ja pääsy hyväksytyksi terapiamuodoksi CAR-T-soluterapian muodossa. Vaikka kyseinen hoitomuoto on osoittautunut tehokkaaksi hematologisissa syövässä, hoidon soveltaminen kiinteissä kasvaimissa on silti vaillinaista. Tämä johtuu mm. T-solujen heikosta kyvystä tunkeutua kasvaimeen, kasvaimen mikroympäristön (TME) immunosuppressiivisesta luonteesta, antigeeniheterogeenisyydestä sekä hoitoihin liittyvistä vakavista sivuvaikutuksista ja korkeista tuotantokustannuksista.

Makrofagit ovat toisaalta synnynnäisen immunitetin soluja, jotka luonnostaan hakeutuvat ja infiltroivat kiinteisiin kasvaimiin. Vaikka TME:ssä esiintyvät makrofagit tyyppillisesti muovautuvat fenotyyppiin, jossa ne edistävät syövän etenemistä, niiden suuri plastisuus käytännössä mahdollistaa solujen uudelleenohjelmoinnin. CAR-makrofagit (CAR-M) ovat uusimman sukupolven adoptiivinen soluterapia, jossa makrofagit muokataan ilmentämään synteettistä CAR-rakennetta. Tämän avulla ne voidaan suunnitella tarkasti tunnistamaan haluttuja syöpäsolujen antigeenejä ja tuhoamaan solut esimerkiksi fagosytoosin avulla. Tämän lisäksi CAR-makrofagit kykenevät taltuttamaan TME:n immunosuppressiivisen ympäristön erittämällä pro-inflammatorisia sytokiineja ja esittelemällä kohdeantigeenejä MHC-välitteisesti adaptiiviselle immuunijärjestelmälle.

Vaikka CAR-makrofagit edustavat teoriassa lupaavaa lähestymistapaa kiinteiden kasvainten immunoterapiassa, niiden käyttöä rajoittavat autologisten soluterapioiden tuotantohaasteet. Potilaan omien solujen eristämiseen ja muokkaamiseen perustuvat prosessit ovat pääsääntöisesti hitaita ja kalliita. Ratkaisuja tähän rajoitteeseen on pyritty hakemaan indusoiduista pluripotentista kantasoluista (iPSC). Koska makrofagit eivät aiheuta potilaissa käänteisyljintää (GvHD), iPSC-tekniikan avulla pystyttäisiin tuottamaan ”hyllyvalmiita” (*off-the-shelf*) CAR-makrofageja.

CAR-makrofagien ainutlaatuiset kyvyt, kuten infiltroituminen TME:hen, syöpäsolujen suora tuhoaminen, kasvaimen mikroympäristön muokkaus sekä adaptiivisen immuunijärjestelmän aktivointi selkeästi erottavat ne aikaisemmista soluterapioista. Varhaiset Faasi I -kliiniset kokeet ovat jo osoittaneet CAR-makrofagien turvallisuuden ja potentiaalın tilanteissa, joissa CAR-T-solut pääasiassa epäonnistuvat. Tulevaisuudessa iPSC lähtöiset CAR-makrofagit voisivat tarjota elinaikaa pidentävän hoitovaihtoehdon kiinteistä kasvaimista kärsiville potilaille.

Avainsanat: CAR-makrofagit, immunoterapia, kiinteät kasvaimet, Indusoidut pluripotentit kantasolut

LYHENNELUETTELO

CAR	kimeerinen antigeenireseptori
ECM	soluväliaine
TME	kasvaimen mikroympäristö
iPSC	indusoitu pluripotentti kantasolu
CSF-1	makrofagikasvutekijä
TNF- α	tuumorinekroositekijä alfa
IL-12	interleukiini-12
IL-6	interleukiini-6
IL-10	interleukiini-10
MHC	kudosyhteensopivuuskompleksi
HLA	kudosyhteensopivuuskompleksi (ihmisen)
TGF- β	transformoiva kasvutekijä-beeta
TAM	kasvainassosioitunut makrofagi
VEGF	verisuonten endoteelin kasvutekijä
MMP	matriksin metalloproteinaasi
PD-L1	ohjelmoidun kuoleman ligandi 1
PD-1	ohjelmoidun solukuoleman reseptori 1
NK-solu	luonnollinen tappajasolu
scFv	yksiketjuinen variaabeli fragmentti
TCR	T-solureseptori
CRS	sytokiinioireyhtymä
ICANS	immuunisoluterapioihin liittyvä neurologinen haittavaikutus
GvHD	käänteishyljintä

Sisällysluettelo

1	JOHDANTO	6
2	MAKROFAGIEN BIOLOGIA JA ROOLI SYÖVISSÄ	7
2.1	MAKROFAGIEN ALKUPERÄ JA HOMEOSTAASI	8
2.2	MAKROFAGIEN POLARISAATIO JA PLASTISUUS	8
2.3	KASVAIMIIN LIITTYVÄT MAKROFAGIT (TAM)	10
3	KIMEERISET ANTIGEENIRESEPTORIT (CAR) JA IMMUNOTERAPIA	11
3.1	CAR-TEKNOLOGIAN PERUSPERIAATTEET	11
3.2	CAR-T-SOLUTERAPIAN RAJOITTEET	12
3.3	MAKROFAGIEN POTENTIAALI	13
4	CAR-MAKROFAGIT	13
4.1	CAR-M-TERAPIAN TAVOITTEET JA TEHON INDIKAATTORIT.....	13
4.2	CAR-M:N RAKENNE JA SIGNALOINTI.....	14
4.3	CAR-M-TERAPIAN TOIMINTAMEKANISMIT	15
5	IPSC -SOLUT CAR-MAKROFAGIEN LÄHTEENÄ	16
5.1	IPSC -TEKNOLOGIAN PERIAATTEET	16
5.2	MAKROFAGIEN ERILAISTAMINEN	17
6	TERAPIAN NYKYTILANNE JA TULEVAISUUS	18
6.1	KLIINISET TUTKIMUKSET JA TULEVAISUUS	18
6.2	CAR-M-TERAPIAN HAASTEET	19
7	YHTEENVETO	21
	LÄHTEET	22

1 JOHDANTO

Syöpäsairaudet ovat yksi merkittävimmistä maailmanlaajuisista terveyshaasteista ja niiden hoitoon on vuosikymmenien saatossa kehitetty yhä tehokkaampia hoitomenetelmiä. Yksi merkittävistä uusista menetelmistä on ollut ihmisen oman immuunijärjestelmän valjastaminen syöpäsoluja vastaan. Erityisesti potilaan omista T-soluista muokatut kimeeriset antigeenireseptorisolut (CAR-T) ovat osoittautuneet tehokkaaksi hematologisten syöpien, kuten leukemioiden ja lymfoomien hoidossa [1]. Tästä menestyksestä huolimatta CAR-T-soluterapian teho kiinteiden syöpäkasvainten hoidossa on toistaiseksi ollut heikko. Kiinteiden kasvainten hoitoa vaikeuttavat suorat fyysiset esteet, kuten tiheä soluväliaine (ECM, engl. extracellular matrix), sekä immunosuppressiivinen kasvaimen mikroympäristö (TME, engl. Tumor microenvironment), jotka yhdessä estävät T-solujen tunkeutumisen ja toiminnan kasvainkudoksessa [1].

Näiden rajoitteiden vuoksi synnynnäisen immunitetin solut, kuten makrofagit, ovat nousseet esille varteenotettavina vaihtoehtoina. Makrofagit ovat elimistön synnynnäisen immunitetin keskeisiä soluja, joilla on kyky liikkua kudoksien välillä, fagosytoida vieraita rakenteita ja soluja. Tämän lisäksi makrofagit luontaisesti hakeutuvat hapenpuutteesta kärsivään kasvainkudokseen, ja ne voivat muodostaa jopa 50% kiinteän kasvaimen kuivapainosta [2], [3].

Koska makrofagit kykenevät liikkumaan vapaasti kasvainkudoksessa, niiden geneettinen muokkaaminen CAR-teknologian avulla on noussut potentiaalisesti strategiaksi. CAR-reseptoreilla varustetut makrofagit (CAR-M) on suunniteltu tunnistamaan syöpäsoluja ja tuhoamaan niitä suoran fagosytoosin avulla. Lisäksi ne kykenevät muokkaamaan TME:tä pro-inflammatoriseen suuntaan ja esittelemään syöpäantigenejä T-soluille, mikä käynnistää adaptiivisen immuunivasteen [2]. Autologisiin CAR-M-terapiaihin liittyy toisaalta myös kriittisiä haasteita: valmistus on kallista ja hidasta ja makrofageilla on heikko jakaantumiskyky elimistössä. Näiden esteiden ylittämiseksi tutkimus on suuntautunut indusoituihin pluripotentteihin kantasoluihin (iPSC), jotka tarjoavat teoriassa rajattoman lähteen CAR-makrofagien valmistukseen.

Tässä tutkielmassa tarkastellaan CAR-makrofagien toimintamekanismeja ja arvioidaan niiden terapeuttista potentiaalia kiinteiden syöpäkasvainten hoidossa. Tutkielman tavoitteena on selvittää, kuinka makrofagien luontaisia ominaisuuksia voidaan hyödyntää TME:n esteiden ylittämässä, ja millaisia mahdollisuuksia sekä haasteita iPSC-teknologia tarjoaa CAR-M-terapian tuotannolle.

2 MAKROFAGIEN BIOLOGIA JA ROOLI SYÖVISSÄ

Makrofagit ovat keskeisiä soluja synnynnäisessä immuunijärjestelmässä, jossa niiden pääasiallisena tehtävänä on muun muassa ylläpitää kudosten homeostaasia, tunnistaa ja tuhota mahdollisia taudinaiheuttajia sekä poistaa kuolleita tai vaurioituneita soluja fagosytoosin avulla [4]. Fagosytoinnin lisäksi makrofagit pystyvät myös kohdeantigeenin esittelyyn T-soluille, jolloin makrofagit eivät toimi vain tärkeänä osana synnynnäistä immunitettä, mutta myös osana hankittua immunitettä [4]. Aikuisen henkilön makrofagit kehittyvät pääosin luuydinperäisistä monosyyteistä, kun ne siirtyvät kudoksiin. Tämä voi tapahtua esimerkiksi tulehdusvasteen tai mikrobi-infektion myötä ensisijaisesti kemiallisella viestinvälityksellä. Morfologialtaan makrofagit ovat yleisesti epäsäännöllisen muotoisia, mutta esimerkiksi *in vitro* -kokeissa on havaittu anti-inflammatoristen makrofagien suosivan pitkänomaista muotoa ja selkeitä ulokkeita, kun toisaalta pro-inflammatoriset makrofagit omaksuvat enemmän pyöreän ja litteän morfologian [5]. Myös seeprakalojen *in vivo* -kuvantamisessa on havaittu interstitiaalikudoksessa sijaitsevien makrofagien suosivan pitkänomaista morfologiaa, jossa esiintyy selkeät pseudopodit [6].

Terveissä kudoksissa makrofagit voidaan jakaa vapaisiin makrofageihin, jotka pystyvät vapaasti siirtymään kudosten välillä, sekä kudosspesifisiin makrofageihin, jotka pystyvät rajallisesti liikkumaan vain tietyn kudoksen sisällä. Kudosspesifit makrofagit, kuten maksan Kupfferin solut muodostavat arviolta jopa 80–90 % kaikkien nisäkkäiden makrofagipopulaatioista [7]. Muita tärkeitä karakterisoituja kudostyppejä ihmiskehossa ovat mm. aivokudoksissa esiintyvät mikroglia, keuhkoissa sijaitsevat keuhkorakkulamakrofagit, sidekudoksista löytyvät histiosyytit sekä luukudoksissa erilaistuneet osteoklastit.

Kiinteiden kasvainten tapauksessa makrofagit ovat selkeästi runsaslukuisin immuunisolujen ryhmä, ja ne voivat muodostaa jopa 50 prosenttia kiinteän kasvaimen kokonaismassasta [2], [3]. Vaikka makrofagien toiminta on syövän kehityksessä jatkuvan tutkimuksen kohteena, makrofageilla on kuvailtu selkeä kaksijakoinen rooli [8]. Varhaisessa syövän kehitysvaiheessa makrofagit voivat tuhota syöpäsoluja ja käynnistää immuunivasteen ylläpitääkseen kudoksen homeostaasia ja välttääkseen syövän kehityksen [9]. Toisaalta vakiintuneissa syövässä makrofagit voivat edistää syövän etenemistä ja etäpesäkkeiden muodostumista muun muassa indusoimalla angiogeneesiä, erittämällä kasvu- ja selviytymistekijöitä sekä vaimentamalla paikallista immuunivastetta [10].

2.1 MAKROFAGIEN ALKUPERÄ JA HOMEOSTAASI

Klassisesti on ajateltu, että kaikki makrofagit kehittyvät luuytimen hematopoieettisista kantasoluista verenkierron monosyyttivaiheen kautta [11]. Nykytiedon valossa toisaalta tiedetään, että suurin osa kudosspesifeistä makrofageista, kuten mikroglia-solut tai ihon Langerhansin solut, ovat peräisin sikiönkehityksen esiasteista [12], [13]. Nämä makrofagien esiasteet vaeltavat kudoksiin ruskuaispussista ja sikiön maksasta, jolloin ne pystyvät ylläpitämään kantaansa aikuisiällä jakautumalla itsenäisesti täysin erillään luuydinperäisistä monosyyteistä [13], [14].

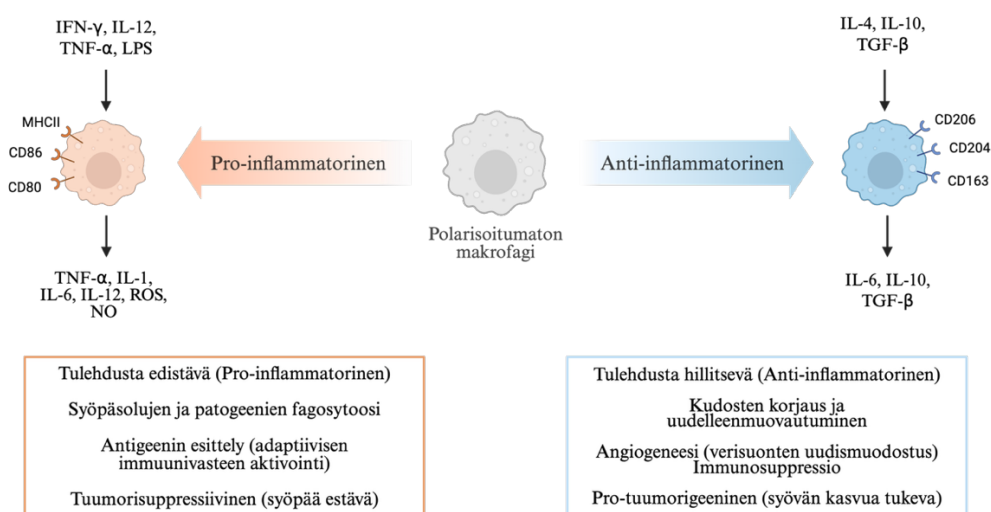
Aikuisen henkilön elimistön homeostaasissa verenkierron monosyyttien osuus kudosten makrofagipopulaatioiden ylläpidossa on merkittävä vain tietyissä kudoksissa, kuten esimerkiksi suolistossa tai sydämessä. Näissä elimissä monosyyttiperäiset makrofagit hiljalleen korvaavat sikiöperäiset kudismakrofagit iän myötä [11], [15], [16]. Makrofagilinjojen erilaistumisen, eloonjäämisen ja jakautumisen tärkeimpänä säätelijänä voidaan pitää solun pinnan reseptoria CSF1R (colony stimulating factor 1 receptor), jonka ligandina toimivat sytokiinit CSF-1 (colony stimulating factor 1) sekä IL-34 (interleukiini-34) [17], [18]. Vaikka sikiöperäiset kudismakrofagit voivat olla osallisina kasvaimen varhaisimmissa kehitysvaiheissa, vakiintuneissa syöpäkasvaimissa suurin osa makrofageista on kuitenkin monosyyttiperäisiä makrofageja, jotka vaeltavat kasvainympäristöön verenkierrosta [13].

2.2 MAKROFAGIEN POLARISAATIO JA PLASTISUUS

Makrofagit ovat erittäin muovautuvia eli plastisia soluja, jotka mukautuvat helposti ulkopuolisiin kemiallisiin viesteihin muuttamalla esimerkiksi fenotyyppiään tai geeniensä ilmentymistä [19]. Historiallisesti makrofagien aktivaatiotilat on jaoteltu kahteen ääripäähän, jotka ovat klassisesti aktivoituneet makrofagit (M1-tyyppi) ja vaihtoehtoisesti aktivoituneet makrofagit (M2-tyyppi), mutta nykytutkimuksen valossa tätä binääristä kahtiajakoa pidetään liian yksinkertaistettuna mallina [20], [21]. Erityisesti kasvainten mikroympäristössä makrofagien aktivaatiotilat muodostavat laajan spektrin, jossa makrofagit voivat ilmentää molemmille aktivaatiotiloille tyypillisiä piirteitä [22], [23], [24]. Tämän vuoksi binäärisestä luokittelusta usein pidättäytyään ja solujen toimintaa kuvataan nykyään laajalti niiden tulehdusta edistävien (pro-inflammatoristen) tai tulehdusta hillitsevien (anti-inflammatoristen) ominaisuuksien perusteella [25].

Pro-inflammatoriset makrofagit tyypillisesti indusoituvat fenotyyppeinsä tyypin 1 T-auttajasolujen erittämän interferoni gamman (IFN- γ) vaikutuksesta, mutta myös muiden tekijöiden, kuten interleukiini 12:n (IL-12), tuumorinekroositekijä alfan (TNF- α) tai bakteerien lipopolysakkaridien (LPS), stimuloimina [20]. Tässä aktivaatitilassa makrofagit erittävät runsaasti tulehdusta kiihdyttäviä sytokiineja, kuten TNF- α :a sekä interleukiineja 1, 6 ja 12 (IL-1, IL-6, IL-12) [26]. Tulehdusta edistävillä makrofageilla on ominainen kyky tarkasti fagosytoida kohdesoluja sekä tuottaa reaktiivisia happi- ja typpiyhdisteitä, joilla ne kykenevät tuhoamaan patogeenejä tai kasvainsoluja [27], [28]. Nämä makrofagit ovat myös keskeisiä antigeeniä esitteleviä soluja, sillä ne ilmentävät pinnallaan luokan II MHC-molekyylejä (major histocompatibility complex) sekä tärkeitä immuunijärjestelmän ko-stimulaatiomolekyylejä (CD80 ja CD86) [20].

Poiketen tulehdusta edistävästä makrofageista, kudosta korjaavat ja tulehdusta hillitsevät makrofagit indusoituvat muiden viestien, kuten interleukiini 4:n ja 10:n (IL-4, IL-10) tai TGF- β :n (transforming growth factor beta) vaikutuksesta [20]. Nämä makrofagit tyypillisesti erittävät tulehdusta hillitseviä sytokiineja, kuten IL-6:ta, IL-10:tä sekä TGF- β :aa, joita monet kiinteät kasvaimet käyttävät hyväkseen oman kasvunsa tukemisessa [19]. Tämän lisäksi nämä makrofagit tukevat kudosten uudelleenmuovautumista sekä vahvistavat angiogeneesiä alueella [19], [20]. Kehon normaalitilassa tulehdusta hillitsevät makrofagit edistävät kudosten normaalia korjaantumista ja toimivat immuunivasteen ”jarruna”, mutta patologisissa tiloissa ne voivat vaimentaa immuunijärjestelmän toimintaa haitallisesti [14], [29].



Kuva 1 Makrofagien polarisaatioreitit ja niiden vaikutukset kasvainmikroympäristössä. Kuvassa esitetään pro-inflammatorisen (vasen) ja anti-inflammatorisen (oikea) makrofagin stimulaatioon tarvittavat tekijät, pintamarkerit (esim. CD80, CD206), eritettävät välittäjäaineet sekä

niiden keskeiset biologiset tehtävät. Pro-inflammatoriset makrofagit toimivat pääasiassa tuumorisuppressiivisesti, kun taas anti-inflammatoriset makrofagit edistävät angiogeneesiä sekä syövän etenemistä. Kuva luotu BioRender-sovelluksella.

2.3 KASVAIMIIN LIITTYVÄT MAKROFAGIT (TAM)

Kasvaimen mikroympäristöön vaeltavia makrofageja kutsutaan niiden polarisaatiosta riippumatta kasvaimen assosioituneiksi makrofageiksi (TAM, engl. Tumor-associated macrophages) [9]. TAM-solut ovat monimuotoinen ja heterogeeninen solupopulaatio, jonka lukumäärä kasvainkudoksessa yhdistetään kliinisesti huonoon ennusteeseen monissa syöpätyypeissä, kuten rintasyövässä, kilpirauhassyövässä, kohdunkaulan syövässä sekä eturauhassyövässä [3], [30], [31], [32]. Toisaalta ei-pienisoluisessa keuhkosityövässä (NSCLC) on havaittu selkeä positiivinen korrelaatio kasvaimen makrofagien lukumäärän ja potilaan ennusteen välillä [33]. Kasvainkudoksen erittämät kemokiinit CCL2 (chemokine ligand 2) sekä kasvutekijät CSF-1 ja VEGF (vascular endothelial growth factor) ovat keskeisiä monosyyttien houkuttelussa kasvainten mikroympäristöön ennen niiden erilaistumista TAM-soluiksi [8], [12], [20].

Syöpäkasvaimen solukon erittämät sytokiinit, kuten IL-6 ja TGF- β , sekä alueella vallitseva hapenpuute tavallisesti ohjaavat paikalle asettautuneita TAM-soluja muovautumaan immuunivastetta vaimentavaksi sekä kudosta korjaavaksi fenotyypiksi. Näin nämä kyseiset makrofagit tukevat alueen uudissuonittumista VEGF-kasvutekijävälitteisesti sekä muita fysiologisia korjausprosesseja mahdollistaen syövän kehittymisen [12], [29]. Tämän lisäksi TAM-solut edesauttavat syöpäkasvaimien etäpesäkkeiden muodostumista erittämällä epidermaalista kasvutekijää (EGF), joka edistää syöpäsolujen irtoamista, sekä metalloproteinaaseja (MMP), jotka tehostavat ECM:n ja tyvikalvon hajoamista [4], [34].

Erityisen huomionarvoinen ja yksilöllinen piirre TAM-soluissa on niiden kyky vaimentaa paikallista immuunivastetta. TAM-solut erittävät immunosuppressiivisia tekijöitä, kuten IL-10:tä, TGF- β :ta sekä ne ilmentävät pinnallaan kohonneita määriä PD-L1-proteiinia (programmed death-ligand 1) [12], [35]. Tämän seurauksena TAM-solut estävät sytotoksisten T-solujen ja luonnollisten tappajasolujen (NK-solu) toimintaa syöpäympäristössä sekä edistävät säätelijä-T-solujen kertymistä kasvaimen suojaten syöpäsoluja elimistön immuunivasteelta [4], [12], [36]. Koska makrofagit ovat hyvin muovautuvia fenotyypiltään ja niiden polarisaatio on kääntyvä prosessi, solujen uudelleenohjelmointi on noussut varteenotettavaksi strategiaksi kliinisessä syöpäimmunoterapiassa [37].

3 KIMEERISET ANTIGEEENIRESEPTORIT (CAR) JA IMMUNOTERAPIA

Immunoterapian tutkimuksen kehittyessä adoptiivinen soluterapia (ACT, engl. adoptive cell therapy) on noussut tärkeäksi strategiaksi taistelussa syöpää vastaan. Adoptiivisiin syöpäterapioihin lukeutuvat terapiat, joissa potilaan omia soluja eristetään, muokataan ja palautetaan kehoon [38]. Yhtenä tämän terapia-alan merkittävimpinä kehitysaskelina pidetään kimeeristen antigeenireseptorien (CAR, engl. chimeric antigen receptor) kehittämistä [39]. CAR-molekyylit ovat synteettisiä solukalvon reseptoreita, jotka yhdistävät solun ulkopuolella vasta-aineiden spesifisyyden ja antigeenintunnistuskyvyn sekä solunsisäisesti immuunisolujen luontaisen sytotoksisuuteen ohjaavan signaalin [39], [40]. CAR-teknologialla voidaan siis ohjata immuunisoluja tunnistamaan ja tuhoamaan syöpäsoluja välittämättä MHC-välitteisestä antigeenin esittelystä, mikä merkittävästi laajentaa mahdollisten terapeuttisten kohteiden määrää [40].

3.1 CAR-TEKNOLOGIAN PERUSPERIAATTEET

CAR-reseptori koostuu tavallisesti neljästä pääosasta: solunulkoisesta antigeeniä sitovasta domeenista, saranaosasta, solukalvon läpäisevästä osasta sekä solunsisäisestä signaalinvälitysdomeenista [20]. Reseptorin ulkoinen osa muodostuu pääsääntöisesti vasta-aineperäisestä yksiketjuisesta variaabelista fragmentista (scFv, engl. single-chain variable fragment), joka mahdollistaa kohdeantigeenin spesifisen tunnistuksen [41]. Saranaosa ja transmembraanidomeeni yhdistävät antigeeniä sitovan osan solunsisäisiin rakenteisiin, ja ne voivat erilaisilla ominaisuuksillaan vaikuttaa mm. reseptorin ilmentymiseen, vakauteen ja kykyyn välittää signaaleja [20].

CAR-rakenteet voidaan jakaa eri sukupolviin niiden solunsisäisen signaalinvälitysdomeenin rakenteen perusteella. Ensimmäisen sukupolven CAR-rakenteissa on ainoastaan yksi solunsisäinen signaalinvälitysdomeeni CD3 ζ , joka luonnollisessa muodossaan säätelee T-solujen antigeenireseptorin (TCR, engl. T-cell receptor) ilmentymistä ja siten T-solujen aktivaatiota [42], [43]. Koska pelkkä CD3 ζ -aktivaatiodomeeni ei usein riitä ylläpitämään CAR-solun jakautumista ja eloonjäämistä, toisen ja kolmannen sukupolven solunsisäisiin signaalinvälitysdomeeneihin on lisätty yksi tai kaksi ko-stimulatorista domeenia (CD28, 4-1BB tai OX40) [44], [45]. Neljännen sukupolven CAR-solut (TRUCKS, engl. T cells redirected for antigen-unrestricted cytokine-initiated killing) on muokattu erittämään transgeenisia sytokiineja, kuten IL-12:ta, jonka myötä TME:tä pyritään muokkaamaan immuunivasteelle suotuisammaksi [46], [47]. Viidennen sukupolven CAR-soluihin on

lisätty sytokiinireseptorien (esimerkiksi IL-2R β) solunsisäisiä signaalinvälitysosia. Nämä rakenteet rekrytoivat ja aktivoivat viestimolekyylejä, kuten JAK-kinaaseja ja STAT-transkriptiotekijöitä, mikä johtaa CAR-solujen parantuneeseen aktivaatioon ja proliferaatioon. [48], [49].

3.2 CAR-T-SOLUTERAPIAN RAJOITTEET

Vaikka CAR-T-soluterapia on osoittautunut kliinisesti tehokkaaksi terapiamuodoksi hematologisissa syövässä niittäen 7 hyväksyttyä CAR-T-solutuotetta Yhdysvaltojen elintarvike- ja lääkevirastolta (FDA), yhtäkään CAR-T-soluterapiaa ei ole toistaiseksi hyväksytty kiinteiden kasvainten hoidossa [1], [50], [51]. Merkittäviä syitä tälle ovat: T-solujen heikko kyky tunkeutua TME:hen, heterogeeninen antigeenien ilmentyminen, antigeenipako sekä TME:n immuunivastetta hillitsevä luonne [9].

Kiinteissä kasvaimissa useimmiten esiintyy vahvoja fyysisiä esteitä, jotka estävät CAR-T-solujen normaalin poistumisen verenkierrosta ja kudokseen tunkeutumisen. Kasvaimen normaalista kudoksesta poikkeava verisuonitus, stromasolupopulaatiot sekä fibroottinen ECM ovat tärkeimpiä havainnoituja tekijöitä tässä [39]. Lisäksi TME:ssä esiintyy runsaasti immunosuppressiivisia komponentteja, kuten säätelijä-T-soluja, myeloidisukuisia vaimentajasoluja (MDSC) sekä tulehdusta hillitseviä sytokiineja (TGF- β ja IL-10). Nämä tekijät yhdessä taukoamattoman antigeenialtistuksen kanssa johtavat useimmiten CAR-T-solujen nopeaan uupumiseen [49].

Biologisten esteiden tai tehokkuusvaikeuksien lisäksi CAR-T-soluterapiaan liittyy huomattavia turvallisuus- ja tuotanto-ongelmia. Hoidossa on karakterisoitu kaksi keskeistä hengenvaarallista sivuvaikutusta: sytokiinioireyhtymä (CRS) ja immuunisoluihin liittyvä hermostomyrkyllisyys (ICANS) [52], [53]. Nykyiset 7 FDA:n hyväksymää CAR-T-solutuotetta perustuvat kaikki autologiseen prosessiin, jossa käytetään potilaan omia soluja johtaen yksilöllisesti valmistettuihin hoitoihin. Koska CAR-terapioiden valmistusprosessia ei ole standardisoitu, CAR-T-solujen valmistus on hidasta ja erittäin kallista kestäen vähintään 2–4 viikkoa [54]. Raskaasti esilääkittyjen syöpäpotilaiden T-solut voivat myös olla niin heikkolaatuisia, ettei niistä kyetä tuottamaan tarpeellisia määriä toimivia CAR-T-soluja [55].

3.3 MAKROFAGIEN POTENTIAALI

CAR-T-soluterapian rajoitteiden takia tutkimukset koskien kiinteiden kasvainten hoitoa ovat etenevissä määrin suuntautuneet synnynnäisen immunitetin soluihin, kuten NK-soluihin sekä makrofageihin. Näistä jälkimmäiset ovat tunnettuja niiden suuresta lukumäärästään syöpäkasvaimissa sekä kyvystään hakeutua ja tunkeutua TME:hen. Näiden luontaisten kykyjen ansiosta makrofageilla on edellytykset ohittaa melkein kaikki fysiologiset esteet, jotka estävät T-solujen toimintaa kiinteissä kasvaimissa.

Makrofagit kykenevät syöpäsolujen tuhoamiseen esimerkiksi suoran fagosytoosin avulla, kun toisaalta CAR-T-solujen vaikutukset perustuvat pääasiassa syöpäsoluja hajottavien proteiinien, kuten perforiinin ja grantysyymien eritykseen [56], [57]. Lisäksi poiketen T-soluista makrofagit kykenevät MMP:iden eritykseen sekä antigeenin esittelyyn, jolloin ne tarjoavat vahvan alustan geneettiselle muokkaukselle kiinteiden syöpien immunoterapiassa.

4 CAR-MAKROFAGIT

Kimeerisillä antigeenireseptoreilla varustetut makrofagit (CAR-M) todennäköisesti edustavat uusimman sukupolven adoptiivista soluterapiaa, jossa yhdistyvät synnynnäinen immunitetti sekä vasta-aineperäinen kohdennus. Viemällä makrofagien perimään kimeeristä reseptoria koodaava geeni ne voidaan suunnitella tunnistamaan spesifisesti syöpäsolujen pinnalla olevia antigeenejä [58].

Vaikka makrofageja esiintyy runsain määrin TME:ssä, ne ovat suurimmalta osalta muovautuneet tulehdusta hillitsevään tilaan, joka edistää kasvaimen kasvua. Tässä tilanteessa makrofagien luonnollinen kyky tuhota syöpäsoluja on heikentynyt [12], [29]. CAR-tekniikan ensisijaisena tarkoituksena onkin saada makrofagit tunnistamaan syöpäsoluja sekä toisena tarkoituksena ohjata niiden polarisaatiota tulehdusta edistävään ja kasvainta tuhoavaan aktivaatiotilaan [59]. Teoriassa nämä ”täydelliset” makrofagit kykenisivät hyvin aktiiviseen toimintaan kiinteiden kasvainten tuhoamisessa.

4.1 CAR-M-TERAPIAN TAVOITTEET JA TEHON INDIKAATTORIT

CAR-M-terapian päätavoitteena on tarjota kliinisessä onkologiassa yksi hoitomuoto lisää, joka pystyisi tulevaisuudessa parantamaan syöpään sairastuneen potilaan. Fysiologisessa kontekstissa

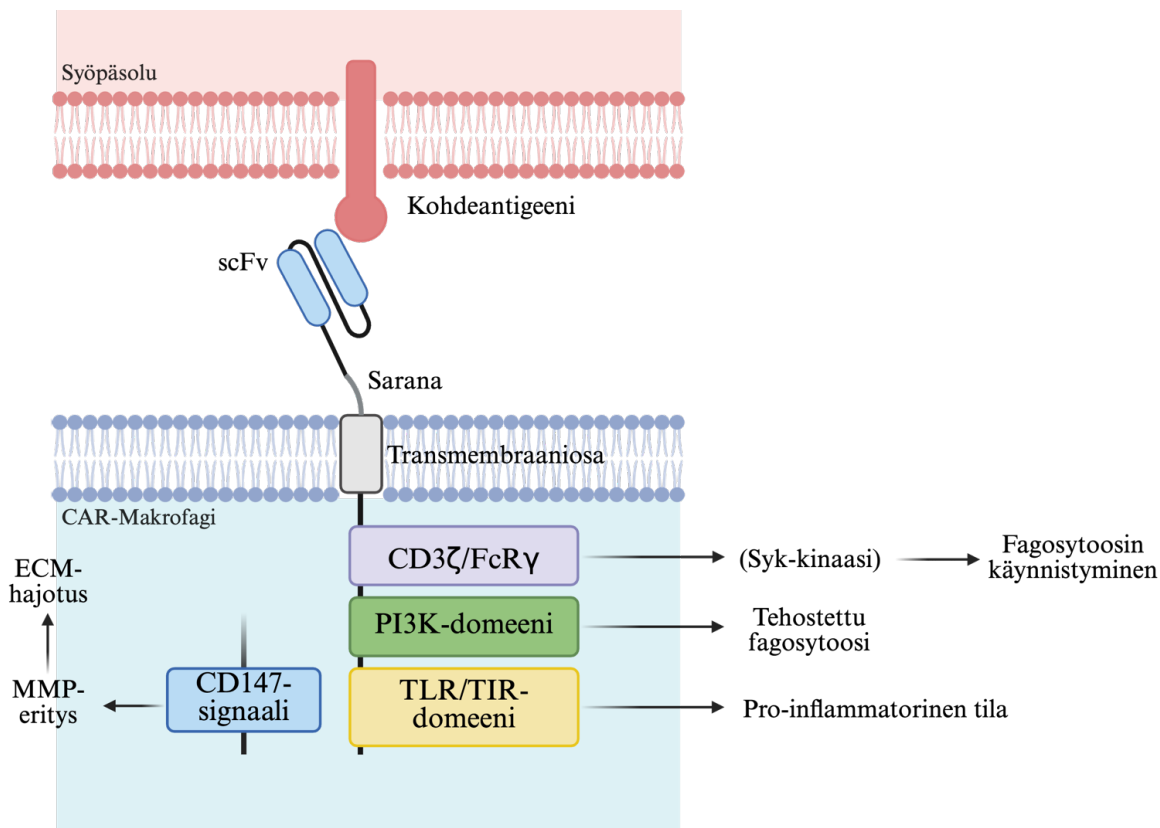
tämä tavoite tarkoittaa usein kasvainkudoksen spesifistä tuhoamista ja TME:n kokonaista uudelleenmuovausta terveeseen tilaan. Hoidon onnistumista voidaan arvioida mm. elävissä elimistössä kliinisissä kokeissa useilla erilaisilla indikaattoreilla. Tärkeimpinä kliinisinä mittareina toimivat kuitenkin kasvaimen massan pieneminen ja elinajanodotteen piteneminen [60].

Solu- ja molekyyli-tason indikaattoreina toisaalta voidaan käyttää CAR-makrofagien hakeutumista ja rikastumista TME:ssä sekä niiden kykyä pysyä tulehdusta edistävässä fenotyypissä [61]. Samaisessa Faasi 1 -kliinisessä kokeessa TME:n muuttumista arvioitiin myös TNF- α :n sekä IL-6 pitoisuuksien perusteella. Hoidon kannalta tärkeä indikaattori on myös adaptiivisen immuunijärjestelmän aktivoituminen, joka voidaan mitata sytotoksisten CD8⁺ T-solujen infiltraationa kasvaimen [61]. Näiden kaikkien tekijöiden perusteella voidaan arvioida ovatko CAR-makrofagit onnistuneet läpäisemään kasvaimen fyysiset ja immunologiset esteet.

4.2 CAR-M:n RAKENNE JA SIGNALOINTI

CAR-makrofageissa käytettävä kimeerinen antigeenireseptori koostuu samoista perusrakenteista kuin CAR-T-soluissa: solunulkoisesta antigeeniä tunnistavasta scFv:stä, saranaosasta, solukalvon läpäisevästä osasta sekä solunsisäisestä signaalinvälitysdomeenista [39]. Oikeiden signaalinvälitysdomeenien valinta on kuitenkin tärkeää, sillä makrofagien sisäiset signaalintireitit poikkeavat huomattavasti lymfosyyteistä. Esimerkiksi CAR-T-soluilla usein käytettävän CD3 ζ -domeenin välittämä signaali perustuu solunsisäiseen ZAP-70-kinaasiin, joka puuttuu makrofageilta. Kuitenkin saman CD3 ζ -domeenin sisällyttäminen CAR-makrofageihin aiheuttaa syk-kinaasivälitteisen signaalin, joka ohjaa makrofagin käynnistämään fagosytoosin [62].

Ensimmäisen sukupolven CAR-makrofageissa signaalinvälitykseen on käytetty joko edellä mainittua CD3 ζ -domeenia tai jäljennöksiä luonnollisista fagosytoosireseptorien domeeneista, kuten Fc-reseptorin gamma-ketjusta (FcR γ) [63]. Toisen sekä kolmannen sukupolven rakenteisiin on yhdistetty fagosytoosia tehostavia elementtejä, kuten PI3-kinaasia aktivoivia domeeneja, jotka edistävät kokonaisten solujen fagosytoointia [9]. Tämän lisäksi uusimpien sukupolvien CAR-makrofagien reseptoreihin on sisällytetty Tollin kaltaisten reseptoreiden (esim. TLR4 tai TIR) osia, jotka pyrkivät lukitsemaan makrofagin pro-inflammatoriseen tilaan ja estää sen muuttumisen kasvainta tukevaan anti-inflammatoriseen tilaan [9], [64]. Vaihtoehtona fagosytoosin ja polaarisuuden tukemiselle on kokeiltu myös CD147-molekyylin signaalialuetta, joka ohjaa makrofageja tuottamaan kasvaimen soluvälialuetta hajottavia entsyymejä (MMP) [65].



Kuva 2 CAR-makrofagin rakenne ja signalointireitit syöpäsolun tunnistuksessa. Kimeerinen antigeenireseptori (CAR) koostuu solunulkoisesta scFv-osasta, joka tunnistaa syöpäsolun kohdeantigeenin, sekä solunsisäisistä signalointidomeeneista. CD3 ζ - tai FcR γ -yksiköt käynnistävät fagosytoosin Syk-kinaasin välityksellä, mitä PI3K-domeeni tehostaa. TLR/TIR-domeeni ohjaa makrofagia kohti pro-inflammatorista tilaa. Lisäksi kuvassa esitetään CD147-signaaliväylä, joka stimuloi matriksin metalloproteiinaasien (MMP) eritystä ja siten solunulkoisen matriisin (ECM) hajotusta. Kuva luotu BioRender-sovelluksella.

4.3 CAR-M-TERAPIAN TOIMINTAMEKANISMIT

CAR-makrofagien kyky vaikuttaa kiinteisiin kasvaimiin perustuu useaan samanaikaiseen mekanismiin. Kun CAR-reseptorin solunulkoisen osa tunnistaa syöpäsolun antigeenin, makrofagin proteiinisäikeinen tukiranka järjestyy uudelleen ja solu käynnistää kohdesolun fagosytoosin [66]. Kokonaisten solujen nielaisemisen lisäksi CAR-makrofagien on havaittu hyödyntävän myös trogositytoosia, jossa ne näykkivät syöpäsolun solukalvosta pieniä paloja kerrallaan [67]. Fagosytoosin ja trogositytoosin lisäksi CAR-makrofagit kykenevät erittämään kasvainympäristöön reaktiivisia happi- ja typpiyhdisteitä (ROS ja NO), jotka vaurioittavat syöpäsoluja [4].

Suoran vaikuttamisen lisäksi CAR-makrofagit muokkaavat myös koko kasvaimen mikroympäristöä. Ne erittävät tulehdusta edistäviä sytokiineja ja kemokiineja, jotka pystyvät lievittämään TME:n immunosuppressiivista luonnetta [4]. Tällainen sytokiiniinien erityis kykenee uudelleenohjelmoimaan kasvaimessa jo olevia TAM-soluja takaisin pro-inflammatoriseen tilaan. Tärkeänä epäsuorana vaikutusreittinä CAR-makrofagit pilkkovat myös kasvaimen tiheää ECM:ää erittämällä MMP:illä, mikä mahdollistaa muiden tulehdussolujen infiltraation kasvaimeen [65].

Viimeisenä toimintamekanismina CAR-makrofagit pystyvät toimimaan liitoksena synnynnäisen ja hankitun immunitetin välillä. Syöpäsolujen tuhoamisen jälkeen makrofagit pystyvät prosessoimaan niiden pintarakenteita ja esittelemään syöpäantigenejä MHC-molekyylien avulla T-soluille [68]. Tämä antigeenin ristiinsittely käynnistää immuunivasteen myös sellaisia kasvainsolujen antigenejä vastaan, joihin CAR-reseptoria ei kohdennettu. Tästä ilmiöstä käytetään nimeä epitoopin leviäminen, ja se on erittäin tärkeä mekanismi estämään syöpäsolujen pakenemista hoidolta antigeenien ilmentymistä muuttamalla [19].

5 iPSC -SOLUT CAR-MAKROFAGIEN LÄHTEENÄ

Potilaan omista soluista valmistetuilla, eli autologisilla soluterapioilla on selkeitä tuotannollisia rajoitteita. Primaaristen monosyyttien tapauksessa niiden löytäminen ääreisverestä on harvinaista, niiden kyky jakautua koeputkissa on rajallinen sekä luovuttajien välinen vaihtelu on suurta [62]. Tämän lisäksi primaariset immuunisolut ovat alttiita menettämään toimintakykynsä viljelyprosessin aikana. Ratkaisuna autologisten valmisteiden tuotantoon on noussut indusoitujen pluripotenttien kantasolujen (iPSC, engl. induced pluripotent stem cell) käyttö [69]. iPSC -solut tarjoavat teoriassa loputtoman ja standardisoitavan solulähteen, joka mahdollistaa allogeenisten CAR-M-hoitojen tuotannon.

5.1 iPSC -TEKNOLOGIAN PERIAATTEET

Indusoidut pluripotentit kantasolut valmistetaan ohjelmoimalla jo erilaistuneita somaattisia soluja, kuten ihon fibroblasteja tai ääreisveren yksitumaisia soluja, takaisin pluripotentiin tilaan. Tähän prosessiin tyypillisesti käytetään solujen uudelleenohjelmoinnista vastaavia transkriptiotekijöitä, kuten Oct3/4, Sox2, c-Myc ja Klf4 [62]. Kliinisissä sovelluksissa transkriptiotekijät viedään nykyään

usein episomaalisina vektoreina, jotka eivät integroidu isäntäsolun perimään. Tämä pienentää merkittävästi mahdollisuutta insertionaaliselle onkogeneesille [70].

Pluripotentissa tilassa iPSC-solut kykenevät jakautumaan rajattomasti sekä ne pystyvät erilaistumaan miksi tahansa elimistön solutyypiksi. Soluterapioiden kannalta on merkittävää, että iPSC-solut ovat hyvin alttiita geneettiselle muokkaukselle. Esimerkiksi CRISPR/Cas9-menetelmällä voidaan muokata solut ilmentämään CAR-reseptoria sekä poistamaan immuunihyljintään herkkiä rakenteita [62], [71]. Monimutkaisen muokkauksen jälkeen jopa yksi onnistuneesti editoitu iPSC-solu voidaan kloonata täysin homogeeniseksi solupankiksi (engl. Master Cell Bank), joka toimii standardoituna solulähteenä terapian linkkaaren ajan [72].

5.2 MAKROFAGIEN ERILAISTAMINEN

iPSC-solujen erilaistaminen makrofageiksi mukailee päävaiheiltaan sikiönkehityksen aikaista hematopoiesia [62]. Ensin iPSC-soluista muodostetaan kaksiulotteisessa viljelmässä tai suspensiossa alkiokantasolukasumia (EB, engl. embryoid body), joiden annetaan muovautua mesodermiksi ja sitten homogeeniseksi endoteeliksi (HE). Tämän jälkeen viljelyliuokseen lisätään kasvutekijöitä, jolloin alkaa muodostua hematopoieettisia soluja ja esisoluja [62]. Näiden esiasteiden kypsymistä iPSC-peräisiksi makrofageiksi (iMac) ohjataan usein makrofageja stimuloivalla tekijällä (CSF-1) sekä interleukiini 3:lla (IL-3) [62], [73].

Koko makrofagien erilaistamisprotokolla iPSC-soluista on mahdollista skaalata teollisesti nykypäivän teknologialla. Maljaviljelmien sijaan soluja voidaan kasvattaa kolmiulotteisissa suspensiobioreaktoreissa, jossa hematopoieettiset organoidit vapauttavat myelaisia esiasteita. Nämä esiasteet voidaan kerätä talteen viikoittain jopa useiden kuukausien ajan ja onnistuneesti pakastaa ennen kypsytystä makrofageiksi [73], [74]. Sulatuksen jälkeen ne säilyttävän runsaan CAR-rakenteiden ilmentymisen, ja ne kykenevät erilaistumaan täysin toimintakykyisiksi makrofageiksi [69]. Tämä pakastusmahdollisuus on tärkeä edellytys, jotta CAR-makrofageja olisi nopeasti potilaiden saatavilla kustannustehokkaasti.

6 TERAPIAN NYKYTILANNE JA TULEVAISUUS

Vaikka CAR-makrofagien tutkimus on edennyt prekliinisistä malleista jo ensimmäisiin ihmisillä tehtäviin kokeisiin, terapian laaja soveltaminen vaatii vielä tuotannollisten, fysiologisten ja turvallisuuteen liittyvien esteiden ylittämistä. Kuitenkin Faasi 1 -kliinisissä tutkimuksissa on hiljattain alettu arvioida CAR-makrofagien alustavaa turvallisuutta ja tehoa [61]. CAR-makrofagien tulevaisuus nojaa vahvasti uusimpiin geenimuokkausteknologioihin, yhdistelmähoitoihin ja täysin uusiin annostelustrategioihin.

6.1 KLIINISET TUTKIMUKSET JA TULEVAISUUS

Edellä mainitussa kliinisessä tutkimuksessa hyödynnettiin HER2-reseptoriin kohdennettua autologista CT-0508-solutuotetta potilailla, joilla on pitkälle edennyt ja muille hoidoille resistentti kiinteä kasvain [61]. Tutkimuksen pääasiallisena löydöksenä CT-0508 todettiin turvalliseksi hoitomuodoksi, sillä CAR-T-terapialle tyypillisiä haittavaikutuksia, kuten CRS:ää tai ICANS:ia ei raportoitu annosrajoittavina tekijöinä.

Kliinisen tutkimuksen koepaloista on voitu havaita, että infuusiona annetut CAR-makrofagit kykenevät fyysisesti tunkeutumaan kasvainkudokseen ja muokkaamaan TME:tä suotuisammaksi immuunivasteelle [61]. Autologisen hoidon kliinistä tehoa kuitenkin rajoittaa pitkät tuotantoajat ja makrofagien rajallinen kyky jakautua elävässä elimistössä. Näiden rajoitteiden takia kliininen kehitys suuntautuu yhä etenevissä määrin iPSC-peräisiin CAR-makrofagiterapioihin [55].

Tulevaisuudessa CAR-makrofagiterapian tehokkuutta voidaan teoriassa parantaa yhdistämällä se esimerkiksi immuunivasteen tarkistuspisteen estäjiin (PD-1- tai PD-L1-vasta-aineisiin) [4]. Yhdistämällä CAR-makrofagien kyvyn esitellä syöpäantigeenejä endogeenisille T-soluille ja parantamalla T-solujen aktivaatiota voidaan saavuttaa tehokas immunologinen vaste syöpäkasvainta vastaan. Toinen tutkimuskohteena oleva yhdistelmästrategia on CD-47SIRP α -viestintäreitin salpaaminen, jolloin CAR-makrofagit kykenevät fagosytoimaan CD47 -proteiinia ilmentäviä syöpäsoluja, jotka tyypillisesti välttäisivät fagosytoosin [75].

Nykyajan geenitekniikan avulla allogeenisiin kantasolupohjaisiin terapiamenetelmiin usein sisällytetään itsemurhageeni, jonka avulla siirretyt solut voidaan tarvittaessa tuhota, jos potilaalle kehittyy vakavia haittavaikutuksia. Esimerkiksi iPSC-soluihin transfektoitu indusoitu kaspasi 9

(iCasp9) voidaan aktivoida kemiallisella dimerisaatiolla, jolloin solu etenee kontrolloidusti apoptoosiin [76]. Kyseisellä itsemurhageenillä on myös onnistuneesti tutkittu CAR-monosyyttien apoptoosia *in vivo* -malleissa [77]. Lisäksi geenitekniikka tarjoaa mahdollisuuden luoda Boolean logiikkaan (JA-, TAI ja EI-portit) perustuvia CAR-makrofageja, joiden aktivaatiota voidaan säädellä operaattorien mukaisesti. Tämä mahdollistaa ratkaisun syöpäsolujen antigeenien heterogeenisyyteen, antigeenipakoon sekä vähentää haitallisia vaikutuksia terveisiin kudoksiin [4], [39].

Koska CAR-makrofagit eivät aiheuta allogeenisenä terapiamuotona TCR-välitteistä käänteishyljintää (GvHD, engl. Graft-versus-host disease), tulevaisuudessa CAR-M-terapia voi kehittyä ”hyllyvalmisteksi” (engl. off-the-shelf). Jotta CAR-M-solut välttäisivät myös potilaan oman immuunijärjestelmän aiheuttaman hyljinnän (HvG, engl. Host-versus-Graft), indusoituja pluripotentteja kantasoluja (iPSC) voidaan muokata geneettisesti hypoimmunogeenisiksi [62]. Tämä tapahtuu poistamalla solujen perimästä MHC/HLA luokkien I ja II proteiineja koodaavia genejä, jotta saavutetaan yleissoluja, jotka soveltuvat immunologisesti jopa yli 90 prosentille maailman väestöstä [71], [78].

6.2 CAR-M-TERAPIAN HAASTEET

CAR-makrofagit kohtaavat useita haasteita tuotantoon, teknologiaan ja biologiaan liittyen. Autologisten CAR-M-solujen tuotanto on aikaa vievää, kallista ja usein riippuvaista raskaasti esihoidettujen potilaiden soluista [79]. iPSC-solulähtöisten CAR-makrofagien tapauksessa eräs merkittävimmistä huolenaiheista on kantasolujen genominen epävakaus, koska valmistusolosuhteet altistavat ne mutaatioille sekä kromosomipoikkeavuuksille [55].

Biologisesta kulmasta yksi CAR-makrofagiterapian suurimmista rajoitteista on siirrettyjen solujen rajallinen elinikä elävässä elimistössä [2]. Koska makrofagit ovat erilaistuneita soluja, niiden kyky jakautua ja lisääntyä infuusion jälkeen on vähäinen. Infusoidut CAR-makrofagit säilyvät siis kasvainkudoksessa tyypillisesti vain päiviä tai viikkoja, jonka takia potilaille vaaditaan toistuvia annosteluja terapeuttisen tehon ylläpitämiseksi [29].

Kasvainkudoksen tapauksessa on olevassa merkittävä riski, että TME:n erittämät immunosuppressiiviset viestimolekyylit, kuten TGF- β ja IL-10, muokkaavat infiltroituneet CAR-makrofagit anti-inflammatoriseen sekä syöpää tukevaan fenotyyppiin [2]. Tämän seurauksena

infuusiosta olisi potilaalle enemmän haittaa kuin hyötyä. Pysyvän ja tulehdusta edistävän makrofagien aktivaatiotilan ylläpitäminen kasvainympäristössä on yksi alan suurimmista haasteista.

Lisäksi haasteita aiheuttavat syövän kohdeantigeenien valinta sekä kasvainten sisäinen heterogeenisyys. Kiinteiden kasvainten epäyhtenäinen antigeenien ilmentyminen luo riskin syöpäsolujen karkaamiselle CAR-pohjaiselta hoidolta antigeenipaon kautta, jolloin kohdeantigeenia ilmentämättömät solut jatkavat kasvuaan [80]. Samanaikaisesti CAR-makrofagien hoitovaikutukseen liittyy riski, jossa muokatut solut hyökkäävät erehdyksessä samaa kohdeantigeenia ilmentäviä terveitä kudoksia vastaan [66].

Kantasolupohjaisessa CAR-makrofagiterapiassa suuren esteen muodostaa isännän immuunijärjestelmän aiheuttama siirteen hylkimisreaktio [71]. Vaikka siirretyt makrofagit eivät aiheuta GvHD -hyljintää, potilaan T-solut tunnistavat allogeenisten CAR-makrofagien vieraat MHC/HLA-rakenteet ja tuhoavat infusoidut makrofagit nopeasti [71]. Hylkimisen estämiseksi CAR-makrofagien esiasteiden perimästä voidaan poistaa MHC/HLA-rakenteita koodaavia geenejä, mutta näiden molekyylien puuttuminen puolestaan laukaisee herkästi potilaan NK-solujen hyökkäyksen [71]. Tämän lisäksi MHC/HLA-rakenteiden puuttuminen vakavasti haittaa CAR-makrofagien kykyä esitellä antigeenejä.

7 YHTEENVETO

CAR-T-solupohjaiset adoptiiviset soluterapiat ovat mullistaneet hematologisten syöpien hoidon, mutta niiden teho kiinteiden kasvainten hoidossa on jäänyt vaatimattomaksi. Syynä tähän ovat T-solujen heikko kyky tunkeutua kasvainkudokseen, syöpäsolujen antigeenien heterogeenisyys sekä TME:n immunosuppressiivinen luonne [9]. Tämän tutkielman tarkoituksena oli tarkastella erityisesti makrofageja sekä niiden mahdollisuuksia CAR-reseptoreihin perustuvassa immunoterapiassa sekä arvioida iPSC-solujen roolia CAR-M-terapian tuotannollisten haasteiden ratkaisemisessa.

CAR-makrofagit tarjoavat ainutlaatuisen mekanismin kiinteiden kasvainten hoitoon. Makrofagit luonnostaan hakeutuvat hypoksiseen kasvainympäristöön sekä kykenevät vieraiden rakenteiden tai solujen fagosytoosiin [4]. Terapiakehityksen kannalta makrofagien tärkein ominaisuus on fagosytoitujen rakenteiden esittely T-soluille. Tämä ristiinesittely laajentaa immuunivastetta uusiin kohteisiin, ehkäisten näin antigeenipakoa ja syövän uusiutumista [68]. Koska autologisten makrofagien eristäminen ja muokkaaminen on hidasta ja kallista, iPSC-teknologia on noussut ratkaisuksi tähän. iPSC-soluista voidaan bioreaktoreissa tuottaa teoriassa rajattomasti tasalaatuisia ja skaalattavia allogeenisia CAR-makrofagiesiasteita ”off-the-shelf” -terapiaksi [66], [81].

Kliinisissä kokeissa (Faasi 1) on todistettu, että CAR-makrofagit ovat potilaille turvallinen terapiamuoto, sillä niillä on alhaisempi riski aiheuttaa CRS:ää tai ICANS:ia verrattuna CAR-T-soluterapiaan. Tämän lisäksi CAR-makrofagien on todettu muokkaavan TME:tä suotuisammaksi immuunireaktion käynnistämiseksi syöpäkasvainta vastaan [61]. Kuitenkin CAR-M-terapian laajempi kliininen läpimurto edellyttää vielä useiden fysiologisten ja teknologisten haasteiden ratkaisemista. Esimerkiksi infusoitujen makrofagien kyky jakautua ja selviytyä itsenäisesti elimistössä on puutteellinen, ja TME pyrkii jatkuvasti ohjelmoimaan makrofageja takaisin anti-inflammatoriseen ja kasvainta tukevaan tilaan.

Tulevaisuudessa CAR-M-terapian keskeisimpiä haasteita ovat, kuinka niiden elinikää ja pro-inflammatorista fenotyyppiä voidaan paremmin ylläpitää potilaan elimistössä. Prekliinisissä malleissa on kokeiltu ratkaisuna yhdistelmäterapiaa PD-1- tai PD-L1-inhibiittorien tai CD47-viestintäreitin salpaajien kanssa [4]. Lisäksi geenitekniikan avulla voidaan luoda Boolean logiikkaan perustuvia CAR-rakenteita, jotka mahdollistavat aktivaation vain kohdekudoksessa. Kaiken kaikkiaan iPSC-pohjaiset CAR-makrofagit edustavat lupaavaa immunoterapian rintamaa kiinteiden kasvainten hoidossa, mikä voi muuttaa tulevaisuudessa kiinteiden syöpien hoitokäytäntöjä.

LÄHTEET

- [1] G. Escobar, T. R. Berger, and M. V. Maus, “CAR-T cells in solid tumors: Challenges and breakthroughs,” *Cell Rep. Med.*, vol. 6, no. 11, p. 102353, Nov. 2025, doi: 10.1016/j.xcrm.2025.102353.
- [2] A. Morva, A. B. Arroyo, L. Andreeva, A. Tapia-Abellán, and G. Luengo-Gil, “Unleashing the power of CAR-M therapy in solid tumors: a comprehensive review,” *Front. Immunol.*, vol. 16, p. 1615760, Jun. 2025, doi: 10.3389/fimmu.2025.1615760.
- [3] M. Ryder, R. A. Ghossein, J. C. M. Ricarte-Filho, J. A. Knauf, and J. A. Fagin, “Increased density of tumor-associated macrophages is associated with decreased survival in advanced thyroid cancer,” *Endocr. Relat. Cancer*, vol. 15, no. 4, pp. 1069–1074, Sep. 2008, doi: 10.1677/ERC-08-0036.
- [4] V. Nadella and A. Sharma, “Targeting Macrophages in Immunotherapy: The Ascent of CAR-Macrophages,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 27, no. 3, p. 1292, Jan. 2026, doi: 10.3390/ijms27031292.
- [5] F. Y. McWhorter, T. Wang, P. Nguyen, T. Chung, and W. F. Liu, “Modulation of macrophage phenotype by cell shape,” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 110, no. 43, pp. 17253–17258, Oct. 2013, doi: 10.1073/pnas.1308887110.
- [6] F. Barros-Becker, P.-Y. Lam, R. Fisher, and A. Huttenlocher, “Live imaging reveals distinct modes of neutrophil and macrophage migration within interstitial tissues,” *J. Cell Sci.*, vol. 130, no. 22, pp. 3801–3808, Nov. 2017, doi: 10.1242/jcs.206128.
- [7] L. Hellman, “Phenotypic and Functional Heterogeneity of Monocytes and Macrophages,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 24, no. 19, p. 14525, Sep. 2023, doi: 10.3390/ijms241914525.
- [8] A. Mantovani, “Macrophage diversity in cancer dissemination and metastasis,” *Mol. Immunol.*, 2024.
- [9] J. Lu, Y. Ma, Q. Li, Y. Xu, Y. Xue, and S. Xu, “CAR Macrophages: a promising novel immunotherapy for solid tumors and beyond,” *Biomark. Res.*, vol. 12, no. 1, p. 86, Aug. 2024, doi: 10.1186/s40364-024-00637-2.
- [10] J. Condeelis and J. W. Pollard, “Macrophages: Obligate Partners for Tumor Cell Migration, Invasion, and Metastasis,” *Cell*, vol. 124, no. 2, pp. 263–266, Jan. 2006, doi: 10.1016/j.cell.2006.01.007.
- [11] T. Nenasheva *et al.*, “Macrophages Derived From Human Induced Pluripotent Stem Cells Are Low-Activated ‘Naïve-Like’ Cells Capable of Restricting Mycobacteria Growth,” *Front. Immunol.*, vol. 11, p. 1016, Jun. 2020, doi: 10.3389/fimmu.2020.01016.

- [12] R. Noy and J. W. Pollard, “Tumor-Associated Macrophages: From Mechanisms to Therapy,” *Immunity*, vol. 41, no. 1, pp. 49–61, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.010.
- [13] A. Mantovani, P. Allavena, F. Marchesi, and C. Garlanda, “Macrophages as tools and targets in cancer therapy,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 21, no. 11, pp. 799–820, Nov. 2022, doi: 10.1038/s41573-022-00520-5.
- [14] T. A. Wynn, A. Chawla, and J. W. Pollard, “Macrophage biology in development, homeostasis and disease,” *Nature*, vol. 496, no. 7446, pp. 445–455, Apr. 2013, doi: 10.1038/nature12034.
- [15] C. C. Bain *et al.*, “Constant replenishment from circulating monocytes maintains the macrophage pool in the intestine of adult mice,” *Nat. Immunol.*, vol. 15, no. 10, pp. 929–937, Oct. 2014, doi: 10.1038/ni.2967.
- [16] K. Molawi *et al.*, “Progressive replacement of embryo-derived cardiac macrophages with age,” *J. Exp. Med.*, vol. 211, no. 11, pp. 2151–2158, Oct. 2014, doi: 10.1084/jem.20140639.
- [17] F. Geissmann, M. G. Manz, S. Jung, M. H. Sieweke, M. Merad, and K. Ley, “Development of Monocytes, Macrophages, and Dendritic Cells,” *Science*, vol. 327, no. 5966, pp. 656–661, Feb. 2010, doi: 10.1126/science.1178331.
- [18] X.-M. Dai *et al.*, “Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects,” *Blood*, vol. 99, no. 1, pp. 111–120, Jan. 2002, doi: 10.1182/blood.V99.1.111.
- [19] C. Sloas, S. Gill, and M. Klichinsky, “Engineered CAR-Macrophages as Adoptive Immunotherapies for Solid Tumors,” *Front. Immunol.*, vol. 12, p. 783305, Nov. 2021, doi: 10.3389/fimmu.2021.783305.
- [20] K. Hadiloo, S. Taremi, M. Heidari, and A. Esmailzadeh, “The CAR macrophage cells, a novel generation of chimeric antigen-based approach against solid tumors,” *Biomark. Res.*, vol. 11, no. 1, p. 103, Nov. 2023, doi: 10.1186/s40364-023-00537-x.
- [21] A. J. Boutilier and S. F. Elswa, “Macrophage Polarization States in the Tumor Microenvironment,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 13, p. 6995, Jun. 2021, doi: 10.3390/ijms22136995.
- [22] L. S. Ojalvo, W. King, D. Cox, and J. W. Pollard, “High-Density Gene Expression Analysis of Tumor-Associated Macrophages from Mouse Mammary Tumors,” *Am. J. Pathol.*, vol. 174, no. 3, pp. 1048–1064, Mar. 2009, doi: 10.2353/ajpath.2009.080676.
- [23] B.-Z. Qian and J. W. Pollard, “Macrophage Diversity Enhances Tumor Progression and Metastasis,” *Cell*, vol. 141, no. 1, pp. 39–51, Apr. 2010, doi: 10.1016/j.cell.2010.03.014.

- [24] M. Hollmén, F. Roudnicky, S. Karaman, and M. Detmar, “Characterization of macrophage - cancer cell crosstalk in estrogen receptor positive and triple-negative breast cancer,” *Sci. Rep.*, vol. 5, no. 1, p. 9188, Mar. 2015, doi: 10.1038/srep09188.
- [25] P. J. Murray *et al.*, “Macrophage Activation and Polarization: Nomenclature and Experimental Guidelines,” *Immunity*, vol. 41, no. 1, pp. 14–20, Jul. 2014, doi: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
- [26] G. Arango Duque and A. Descoteaux, “Macrophage Cytokines: Involvement in Immunity and Infectious Diseases,” *Front. Immunol.*, vol. 5, Oct. 2014, doi: 10.3389/fimmu.2014.00491.
- [27] M. Nahrendorf and F. K. Swirski, “Abandoning M1/M2 for a Network Model of Macrophage Function,” *Circ. Res.*, vol. 119, no. 3, pp. 414–417, Jul. 2016, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309194.
- [28] X.-L. Cheng *et al.*, “Activation of AMPA receptor promotes TNF- α release via the ROS-cSrc-NF κ B signaling cascade in RAW264.7 macrophages,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 461, no. 2, pp. 275–280, May 2015, doi: 10.1016/j.bbrc.2015.04.015.
- [29] Y. Hou *et al.*, “Beyond CAR-T Cells: exploring CAR-NK, CAR-M, and CAR- $\gamma\delta$ T strategies in solid tumor immunotherapy,” *Front. Immunol.*, vol. 16, p. 1675807, Oct. 2025, doi: 10.3389/fimmu.2025.1675807.
- [30] S. F. Schoppmann *et al.*, “Tumor-Associated Macrophages Express Lymphatic Endothelial Growth Factors and Are Related to Peritumoral Lymphangiogenesis,” *Am. J. Pathol.*, vol. 161, no. 3, pp. 947–956, Sep. 2002, doi: 10.1016/S0002-9440(10)64255-1.
- [31] I. F. Lissbrant, P. Stattin, P. Wikstrom, J. E. Damber, L. Egevad, and A. Bergh, “Tumor associated macrophages in human prostate cancer: relation to clinicopathological variables and survival,” *Int. J. Oncol.*, Sep. 2000, doi: 10.3892/ijco.17.3.445.
- [32] Y. Zhang *et al.*, “High-Infiltration of Tumor-Associated Macrophages Predicts Unfavorable Clinical Outcome for Node-Negative Breast Cancer,” *PLoS ONE*, vol. 8, no. 9, p. e76147, Sep. 2013, doi: 10.1371/journal.pone.0076147.
- [33] D.-W. Kim *et al.*, “High tumour islet macrophage infiltration correlates with improved patient survival but not with EGFR mutations, gene copy number or protein expression in resected non-small cell lung cancer,” *Br. J. Cancer*, vol. 98, no. 6, pp. 1118–1124, Mar. 2008, doi: 10.1038/sj.bjc.6604256.
- [34] Z. Yuan *et al.*, “Extracellular matrix remodeling in tumor progression and immune escape: from mechanisms to treatments,” *Mol. Cancer*, vol. 22, no. 1, p. 48, Mar. 2023, doi: 10.1186/s12943-023-01744-8.

- [35] M. Z. Noman *et al.*, “PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation,” *J. Exp. Med.*, vol. 211, no. 5, pp. 781–790, May 2014, doi: 10.1084/jem.20131916.
- [36] Y. Sato, “The Role of Tregs in the Tumor Microenvironment,” *Biomedicines*, vol. 13, no. 5, p. 1173, May 2025, doi: 10.3390/biomedicines13051173.
- [37] G. Genard, S. Lucas, and C. Michiels, “Reprogramming of Tumor-Associated Macrophages with Anticancer Therapies: Radiotherapy versus Chemo- and Immunotherapies,” *Front. Immunol.*, vol. 8, p. 828, Jul. 2017, doi: 10.3389/fimmu.2017.00828.
- [38] S. Du, J. Yan, Y. Xue, Y. Zhong, and Y. Dong, “Adoptive cell therapy for cancer treatment,” *Exploration*, vol. 3, no. 4, p. 20210058, Aug. 2023, doi: 10.1002/EXP.20210058.
- [39] Y. Liu *et al.*, “CAR-armored-cell therapy in solid tumor treatment,” *J. Transl. Med.*, vol. 22, no. 1, p. 1076, Nov. 2024, doi: 10.1186/s12967-024-05903-3.
- [40] R. G. Majzner and C. L. Mackall, “Clinical lessons learned from the first leg of the CAR T cell journey,” *Nat. Med.*, vol. 25, no. 9, pp. 1341–1355, Sep. 2019, doi: 10.1038/s41591-019-0564-6.
- [41] D. Sommermeyer *et al.*, “Fully human CD19-specific chimeric antigen receptors for T-cell therapy,” *Leukemia*, vol. 31, no. 10, pp. 2191–2199, Oct. 2017, doi: 10.1038/leu.2017.57.
- [42] M. P. Diop and S. J. C. Van Der Stegen, “The Pluripotent Path to Immunotherapy,” *Exp. Hematol.*, vol. 139, p. 104648, Nov. 2024, doi: 10.1016/j.exphem.2024.104648.
- [43] A. Degirmencay, S. Thomas, A. Holler, S. Burgess, E. C. Morris, and H. J. Stauss, “Exploitation of CD3 ζ to enhance TCR expression levels and antigen-specific T cell function,” *Front. Immunol.*, vol. 15, p. 1386132, May 2024, doi: 10.3389/fimmu.2024.1386132.
- [44] X.-S. Zhong, M. Matsushita, J. Plotkin, I. Riviere, and M. Sadelain, “Chimeric Antigen Receptors Combining 4-1BB and CD28 Signaling Domains Augment PI3kinase/AKT/Bcl-XL Activation and CD8⁺ T Cell-mediated Tumor Eradication,” *Mol. Ther.*, vol. 18, no. 2, pp. 413–420, Feb. 2010, doi: 10.1038/mt.2009.210.
- [45] S. Wilkie *et al.*, “Retargeting of Human T Cells to Tumor-Associated MUC1: The Evolution of a Chimeric Antigen Receptor,” *J. Immunol.*, vol. 180, no. 7, pp. 4901–4909, Apr. 2008, doi: 10.4049/jimmunol.180.7.4901.
- [46] M. Chmielewski and H. Abken, “TRUCKS, the fourth-generation CAR T cells: Current developments and clinical translation,” *Adv. CELL GENE Ther.*, vol. 3, no. 3, Jul. 2020, doi: 10.1002/acg2.84.

- [47] M. Chmielewski and H. Abken, “TRUCKs: the fourth generation of CARs,” *Expert Opin. Biol. Ther.*, vol. 15, no. 8, pp. 1145–1154, Aug. 2015, doi: 10.1517/14712598.2015.1046430.
- [48] Y. Kagoya *et al.*, “A novel chimeric antigen receptor containing a JAK–STAT signaling domain mediates superior antitumor effects,” *Nat. Med.*, vol. 24, no. 3, pp. 352–359, Mar. 2018, doi: 10.1038/nm.4478.
- [49] M. H. Shin *et al.*, “Recent Advances in CAR-Based Solid Tumor Immunotherapy,” *Cells*, vol. 12, no. 12, p. 1606, Jun. 2023, doi: 10.3390/cells12121606.
- [50] J. Westin and L. H. Sehn, “CAR T cells as a second-line therapy for large B-cell lymphoma: a paradigm shift?,” *Blood*, vol. 139, no. 18, pp. 2737–2746, May 2022, doi: 10.1182/blood.2022015789.
- [51] S. L. Maude *et al.*, “Tisagenlecleucel in Children and Young Adults with B-Cell Lymphoblastic Leukemia,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 378, no. 5, pp. 439–448, Feb. 2018, doi: 10.1056/NEJMoa1709866.
- [52] M. L. Davila *et al.*, “Efficacy and Toxicity Management of 19-28z CAR T Cell Therapy in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia”.
- [53] R. C. Sterner and R. M. Sterner, “Immune effector cell associated neurotoxicity syndrome in chimeric antigen receptor-T cell therapy,” *Front. Immunol.*, vol. 13, p. 879608, Aug. 2022, doi: 10.3389/fimmu.2022.879608.
- [54] F. Syed, R. El Fakih, A. D. Alahmari, A. S. O. Ali, and M. Aljurf, “Chimeric Antigen Receptor Structure and Manufacturing of Clinical Grade CAR Engineered Cells using Different Bioreactors,” *Hematol. Oncol. Stem Cell Ther.*, vol. 15, no. 3, pp. 137–152, Jul. 2022, doi: 10.56875/2589-0646.1048.
- [55] M. Alidadi *et al.*, “Combining the induced pluripotent stem cell (iPSC) technology with chimeric antigen receptor (CAR)-based immunotherapy: recent advances, challenges, and future prospects,” *Front. Cell Dev. Biol.*, vol. 12, p. 1491282, Nov. 2024, doi: 10.3389/fcell.2024.1491282.
- [56] M. J. Montalvo *et al.*, “Decoding the mechanisms of chimeric antigen receptor (CAR) T cell-mediated killing of tumors: insights from granzyme and Fas inhibition,” *Cell Death Dis.*, vol. 15, no. 2, p. 109, Feb. 2024, doi: 10.1038/s41419-024-06461-8.
- [57] X. Zhou, X. Liu, and L. Huang, “Macrophage-Mediated Tumor Cell Phagocytosis: Opportunity for Nanomedicine Intervention,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 31, no. 5, p. 2006220, Jan. 2021, doi: 10.1002/adfm.202006220.

- [58] Z. Yang *et al.*, “Dual mRNA co-delivery for in situ generation of phagocytosis-enhanced CAR macrophages augments hepatocellular carcinoma immunotherapy,” *J. Controlled Release*, vol. 360, pp. 718–733, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.jconrel.2023.07.021.
- [59] M. Klichinsky *et al.*, “Human chimeric antigen receptor macrophages for cancer immunotherapy,” *Nat. Biotechnol.*, vol. 38, no. 8, pp. 947–953, Aug. 2020, doi: 10.1038/s41587-020-0462-y.
- [60] L. Ollivier and A. R. Padhani, “International criteria for measurement of tumour response”.
- [61] K. A. Reiss *et al.*, “CAR-macrophage therapy for HER2-overexpressing advanced solid tumors: a phase 1 trial,” *Nat. Med.*, vol. 31, no. 4, pp. 1171–1182, Apr. 2025, doi: 10.1038/s41591-025-03495-z.
- [62] M. Alrehaili, P. S. Couto, R. Khalife, and Q. A. Rafiq, “CAR-macrophages in solid tumors: promise, progress, and prospects,” *Npj Precis. Oncol.*, vol. 9, no. 1, p. 382, Nov. 2025, doi: 10.1038/s41698-025-01170-7.
- [63] B. Amoozgar *et al.*, “Engineering Innate Immunity: Recent Advances and Future Directions for CAR-NK and CAR-Macrophage Therapies in Solid Tumors,” *Cancers*, vol. 17, no. 14, p. 2397, Jul. 2025, doi: 10.3390/cancers17142397.
- [64] A. Lei *et al.*, “A second-generation M1-polarized CAR macrophage with antitumor efficacy,” *Nat. Immunol.*, vol. 25, no. 1, pp. 102–116, Jan. 2024, doi: 10.1038/s41590-023-01687-8.
- [65] W. Zhang *et al.*, “Chimeric antigen receptor macrophage therapy for breast tumours mediated by targeting the tumour extracellular matrix,” *Br. J. Cancer*, vol. 121, no. 10, pp. 837–845, Nov. 2019, doi: 10.1038/s41416-019-0578-3.
- [66] Y.-M. Yang, Y.-F. Ding, Y.-Y. Hu, F. Fan, and J.-L. Zhao, “CAR-M therapy in the era of tumor immunotherapy: current research progress and engineering strategies,” *Front. Immunol.*, vol. 16, p. 1723270, Jan. 2026, doi: 10.3389/fimmu.2025.1723270.
- [67] K. Rollins, S. Fiaz, and M. Morrissey, “Target cell adhesion limits macrophage phagocytosis and promotes trogocytosis,” Feb. 08, 2025, *Cell Biology*. doi: 10.1101/2025.02.06.636906.
- [68] J. Li, P. Chen, and W. Ma, “The next frontier in immunotherapy: potential and challenges of CAR-macrophages,” *Exp. Hematol. Oncol.*, vol. 13, no. 1, p. 76, Aug. 2024, doi: 10.1186/s40164-024-00549-9.
- [69] Z. Shah *et al.*, “Human anti-PSCA CAR macrophages possess potent antitumor activity against pancreatic cancer,” *Cell Stem Cell*, vol. 31, no. 6, pp. 803-817.e6, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.stem.2024.03.018.

- [70] A. Moy, A. Kamath, S. Ternes, and J. Kamath, "The Challenges to Advancing Induced Pluripotent Stem Cell-Dependent Cell Replacement Therapy," *Med. Res. Arch.*, vol. 11, no. 11, 2023, doi: 10.18103/mra.v11i11.4784.
- [71] H. Xu *et al.*, "Targeted Disruption of HLA Genes via CRISPR-Cas9 Generates iPSCs with Enhanced Immune Compatibility," *Cell Stem Cell*, vol. 24, no. 4, pp. 566-578.e7, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.stem.2019.02.005.
- [72] R. Mazza and J. Maher, "Prospects for Development of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived CAR-Targeted Immunotherapies," *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)*, vol. 70, no. 1, p. 2, Dec. 2022, doi: 10.1007/s00005-021-00640-7.
- [73] M. Schinke *et al.*, "Polarization of human iPSC-derived macrophages directs their immunological response to secondary pro-inflammatory stimuli," *J. Immunol. Regen. Med.*, vol. 17, p. 100061, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.regen.2022.100061.
- [74] M. Ackermann *et al.*, "Standardized generation of human iPSC-derived hematopoietic organoids and macrophages utilizing a benchtop bioreactor platform under fully defined conditions," *Stem Cell Res. Ther.*, vol. 15, no. 1, p. 171, Jun. 2024, doi: 10.1186/s13287-024-03785-2.
- [75] H. Zhang *et al.*, "Silencing of SIRP α enhances the antitumor efficacy of CAR-M in solid tumors," *Cell. Mol. Immunol.*, vol. 21, no. 11, pp. 1335–1349, Oct. 2024, doi: 10.1038/s41423-024-01220-3.
- [76] M. Ando *et al.*, "A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Rejuvenated T Cell Therapy," *Stem Cell Rep.*, vol. 5, no. 4, pp. 597–608, Oct. 2015, doi: 10.1016/j.stemcr.2015.07.011.
- [77] B. Yang, X. Wang, X. Wei, and J. Ma, "Development of a novel HER2-CAR monocyte cell therapy with controllable proliferation and enhanced anti-tumor efficacy," *Chin. Med. J. (Engl.)*, vol. 137, no. 21, pp. 2590–2602, Nov. 2024, doi: 10.1097/CM9.0000000000002944.
- [78] T. Deuse *et al.*, "Hypoimmunogenic derivatives of induced pluripotent stem cells evade immune rejection in fully immunocompetent allogeneic recipients," *Nat. Biotechnol.*, vol. 37, no. 3, pp. 252–258, Mar. 2019, doi: 10.1038/s41587-019-0016-3.
- [79] D. Paasch and N. Lachmann, "CAR macrophages tuning the immune symphony of anti-cancer therapies," *Cell Stem Cell*, vol. 31, no. 6, pp. 791–793, Jun. 2024, doi: 10.1016/j.stem.2024.05.006.

- [80] D. Chettri, B. P. Satapathy, R. Yadav, V. Uttam, A. Jain, and H. Prakash, “CAR-macrophages: tailoring cancer immunotherapy,” *Front. Immunol.*, vol. 15, p. 1532833, Jan. 2025, doi: 10.3389/fimmu.2024.1532833.
- [81] S. M. Abdin *et al.*, “Scalable generation of functional human iPSC-derived CAR-macrophages that efficiently eradicate CD19-positive leukemia,” *J. Immunother. Cancer*, vol. 11, no. 12, p. e007705, Dec. 2023, doi: 10.1136/jitc-2023-007705.