

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Graduação em Farmácia

**AVANÇOS E DESAFIOS DA TERAPIA CELULAR CAR-T PARA O
TRATAMENTO DO CÂNCER DE MAMA TRIPLO-NEGATIVO**

Thaíssa Giovanna Valverde Campos

Trabalho de Conclusão do Curso de
Farmácia da Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São
Paulo.

Orientador: Roberto Parise Filho.

São Paulo
2024

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	4
RESUMO	7
ABSTRACT	8
1. INTRODUÇÃO	9
1.1. Câncer de mama triplo negativo (CMTN)	9
1.2. Tratamento atual do CMTN e o potencial da imunoterapia	10
1.3. Células CAR-T	11
1.4. Células CAR-T e tumores sólidos	15
2. OBJETIVOS	18
2.1. Objetivos gerais	18
2.2. Objetivos específicos	18
3. METODOLOGIA	18
3.1. Estratégias de pesquisa	18
3.2. Critérios de inclusão e de exclusão	19
3.3. Coleta e análise de dados	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
4.1. Receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR)	33
4.1.1. Avaliação pré-clínica de células EGFR CAR-T no CMTN	33
4.1.2. Combinação de células EGFR CAR-T com inibidor de CDK7	34
4.1.3. Combinação de células EGFR CAR-T com radioterapia	35
4.1.4. Combinação de células EGFR CAR-T com estratégias que modulam o TME imunossupressor	36
4.1.5. Células EGFR CAR-T no tratamento de MC-CMTN	36
4.1.6. Monitoramento da terapia celular pan-ErbB CAR-T via PET/CT	37
4.1.7. Células ESMA EGFR CAR-T e a maior persistência da terapia	38
4.2. Mesotelina (MSLN)	39
4.2.1. Disrupção do gene PD-1 em células MSLN CAR-T: estudos pré-clínicos e clínicos para o CMTN	40
4.2.2. Células MSLN CAR-T universais (UCAR-T) aplicadas ao CMTN	41
4.2.3. Uso de exossomas derivados de células MSLN CAR-T	42
4.3. Mucina 1 (MUC1)	43
4.3.1. Avaliação pré-clínica de células MUC1 CAR-T no CMTN	43

4.3.2. Células Supressoras Mieloide-Derivadas (MDSCs) e seus efeitos nas células MUC1 CAR-T	44
4.3.3. Estudos clínicos de células CAR-T com MUC1 como alvo	45
4.4. Receptor de tirosina quinase órfão 1 (ROR1)	45
4.4.1. Avaliação pré-clínica de células ROR1 CAR-T no CMTN	46
4.4.2. Combinação de células ROR1 CAR-T com SD-208	47
4.4.3. Secreção localizada de scFv anti-PD-1 e eficácia das células ROR1 CAR-T	47
4.4.4. Avaliação clínica de células ROR1 CAR-T em pacientes com CMTN	48
4.5. Proteína imunoregulatória B7-H3/CD276	49
4.5.1. Células B7-H3 CAR-T pluripotentes	50
4.5.2. Uso de nanocorpos na construção de células B7-H3 CAR-T	51
4.5.3. Combinação de células B7-H3 CAR-T com SAHA	51
4.5.4. Células tumorais estressadas reprogramam as células CAR-T	52
4.6. Receptor tirosina quinase cMET	53
4.6.1. Avaliação clínica da administração intratumoral ou intravenosa de células cMET CAR-T em pacientes com CMTN	54
4.7. Ligantes do receptor de células <i>natural killer</i> tipo 2D (NKG2DLs)	55
4.8. Receptor de folato alfa (FR α)	57
4.8.1. Níveis de expressão de FR α e ação das células FR α CAR-T	57
4.8.2. Fibroblastos câncer-associados (CAFs) e resistência às células FR α CAR-T	58
4.8.3. Células FR α CAR- γ δT secretoras de IL-7 e CCL19	59
4.9. Ligante da proteína de morte celular programada 1 (PD-L1)	60
4.9.1. Efeito de auto-amplificação gerado por células PD-L1 CAR-T	61
4.9.2. V _{NAR} anti-PD-L1 derivado de tubarão para construção de células CAR-T	62
4.9.3. Monocorpo direcionado ao PD-L1 com controle <i>SynNotch</i>	62
4.10. Outros antígenos potenciais para a terapia celular do CMTN	64
5. PERSPECTIVAS	65
6. CONCLUSÃO	69
7. REFERÊNCIAS	71

LISTA DE ABREVIATURAS

3D	Tridimensional
APCs	Células Apresentadoras de Antígeno
AXL	Receptor tirosina quinase AXL
B2M	Beta-2 microglobulina
BiTE	<i>Bispecific T-cell Engager</i>
BRCA	<i>Breast Cancer gene</i>
CAFs	Fibroblastos Câncer-Associados (<i>Cancer-associated fibroblasts</i>)
CAR	Receptor Quimérico de Antígeno (<i>Chimeric antigen receptor</i>)
CCL19	<i>Chemokine (C-C motif) Ligand 19</i>
CDK7	Quinase Dependente de Ciclina 7
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
cMET	<i>Cellular Mesenchymal-Epithelial Transition factor</i>
CMTN	Câncer de Mama Triplo-negativo
CR7	Receptor de IL-7 constitutivamente exposto
CRISPR/Cas9	Conjunto de Repetições Palindrômicas Regularmente Espaçadas em associação com a nuclease Cas9
CRS	Síndrome de liberação de citocinas (<i>Cytokine Release Syndrome</i>)
CSPG4	Proteoglicano de Sulfato de Condroitina 4
CTLA-4	Proteína 4 Associada ao Linfócito T citotóxico
CXCL2	Ligante de Motivo Quimiocina C-X-C 2
CXCR	<i>CXC Chemokine Receptor</i>
DAMPs	<i>Damage-associated Molecular Pattern</i>
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidermal
EphA10	Receptor de Efrinas tipo A10
ErbB	<i>Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog B</i>
ESMA	<i>Endogenous Signaling Molecule Activating</i>
FADD	<i>FAS-associated death domain</i>
FAP	Proteína de Ativação de Fibroblastos Alfa
Fas	Receptor de Morte Celular Programada-1
FasL	Ligante de Fas
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FR α	Receptor de Folato Alfa
Gb3	Globotriaosilceramida
GD2	Gangliosídeo GD2
GLOBOCAN	<i>Global Cancer Observatory</i>

GvHD	Doença do Enxerto vs Hospedeiro (<i>Graft-versus-host Disease</i>)
HER	Receptor do Fator de Crescimento Epidérmico Humano
HGF	Fator de Crescimento Hepatocitário
HGFR	Receptor do Fator de Crescimento Hepatocitário
HLA	Antígeno Leucocitário Humano (<i>Human Leukocyte Antigen</i>)
HLA-G	Antígeno Leucocitário Humano G
HVEM	Mediador de Entrada de Herpesvírus
HvGD	Doença do Hospedeiro vs Enxerto (<i>Host-versus-graft Disease</i>)
IARC	<i>International Agency for Research on Cancer</i>
ICAM1	Molécula de Adesão Intercelular 1
ICOS	<i>Inducible T-cell co-stimulator</i>
IFN- γ	Interferon gama
IL	Interleucina
IL-2R β	Subunidade Beta do Receptor de IL-2
IR	Radiação Ionizante
JAK	<i>Janus Associated Kinases</i>
LAG-3	<i>Lymphocyte Activation Gene-3</i>
LecA	Lectina A
mAb	Anticorpo Monoclonal
MC-CMTN	Metástases Cerebrais derivadas do Câncer de Mama Triplo-negativo
MDSCs	Células supressoras mieloide-derivadas (<i>Myeloid-Derived Suppressor Cells</i>)
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
MICA/B	<i>MHC class I polypeptide-related sequence A/B</i>
mRNA	RNA mensageiro
MSLN	Mesotelina
MUC1	Mucina 1
nfP2X7	Receptor de purina P2X 7 não funcional
NG2	<i>Neuron-glial antigen 2</i>
NIS	Simportador de Iodeto de Sódio humano
NK	Células <i>Natural Killers</i>
NKG2D	Grupo de Células NK 2, Membro D
NKG2DLs	Ligantes de NKG2D
NY-ESO-1/ HLA-A2	<i>New York esophageal squamous cell carcinoma 1/Human leukocyte antigen A2 complex</i>
PARP	Poli(ADP-ribose) polimerase

PD-1	Proteína de Morte Celular Programada 1
PD-L1	Ligante da Proteína de Morte Celular Programada 1
PET/CT	Tomografia Computadorizada por Emissão de Pósitrons
RE	Receptor de Estrogênio
ROR1	Receptor de Tirosina Quinase Órfão 1
RP	Receptor de Progesterona
SAHA	Suberoilânilda Hidroxâmica (vorinostate)
scFv	Fragmento Variável de Cadeia Única
SSEA-4	Antígeno Embrionário de Estágio Específico
STAT	<i>Signal Transducer and Activator of Transcription</i>
StxB	<i>Shiga toxin B-subunit</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
TALEN	Nucleases Efetoras Semelhantes a Ativadores de Transcrição (<i>Transcription activator-like effector nuclease</i>)
TAMs	Macrófagos Associados ao Tumor
TCGA	<i>The Cancer Genome Atlas</i>
TCR	Receptor de células T
TEM8/ANTXR1	Marcador Endotelial Tumoral 8/Receptor da toxina do Antraz 1
TET2	<i>Ten-Eleven Translocation 2</i>
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta
TILs	<i>Tumor-infiltrating lymphocytes</i>
TME	Microambiente Tumoral (<i>Tumor microenvironment</i>)
tmTNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa Transmembranar
TNBC	<i>Triple-negative Breast Cancer</i>
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TR2/TRAIL-R2	<i>TNF-related Apoptosis Induced Ligand-receptor 2</i>
TRAC	<i>T Cell Receptor Alpha Constant</i>
TRAC	Região Constante da Cadeia α do Receptor de Célula T
Trop2	Antígeno de Superfície Celular do Trofoblasto Humano 2
Trop2	Antígeno de Superfície Celular do Trofoblasto Humano 2
TRUCKs	<i>T-cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing</i>
UCAR-T	Células CAR-T universais
ULBP1	<i>UL16-binding protein 1</i>
V _H H	Domínio Variável Único de Cadeia Pesada
V _{NAR}	Domínio Variável de Novos Receptores de Antígenos
YRHQ	Cadeia de aminoácidos (Tirosina, arginina, Histidina e Glutamina)

RESUMO

CAMPOS, T. G. V. **Avanços e Desafios da Terapia Celular CAR-T para o Tratamento do Câncer de Mama Triplo-Negativo**. 2024. no. 91. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2024.

Palavras-chave: CAR-T; Câncer de Mama; Câncer de Mama Triplo Negativo; Terapia Celular.

INTRODUÇÃO: O câncer de mama é o segundo tipo de câncer mais diagnosticado no mundo e a principal causa de morte por câncer entre mulheres. O câncer de mama triplo-negativo (CMTN), responsável por 10 a 20% dos casos, é o subtipo mais agressivo e de difícil tratamento, caracterizado pela ausência de HER2 e dos receptores de estrogênio e progesterona. O tratamento atual envolve, principalmente, quimioterapia, radioterapia e cirurgia, mas o seu prognóstico é desfavorável na maioria dos casos. Neste contexto, a imunoterapia surge como alternativa, com destaque para os anticorpos monoclonais, como o pembrolizumabe, e a terapia celular CAR-T, a última ainda em fases de investigação pré-clínicas e clínicas. No entanto, desafios como a escolha de antígenos alvo, a supressão imune do TME e a toxicidade restringem o potencial das células CAR-T em tumores sólidos. **OBJETIVOS:** Revisar a literatura sobre a aplicação de células CAR-T no tratamento do CMTN, respondendo à pergunta norteadora: "a terapia celular CAR-T pode se tornar uma alternativa terapêutica para o CMTN?". **METODOLOGIA:** Trata-se de uma revisão integrativa qualitativa da literatura, compilando os estudos pré-clínicos (*in vitro*, *in vivo* ou *ex vivo*) e clínicos de células CAR-T no tratamento do CMTN. A coleta de dados contemplou as bases *Web of Science* e *PubMed* (busca por "CAR-T", "*Chimeric antigen receptor*" ou "*Adoptive immunotherapy*" e "*Triple-negative breast cancer*" ou "TNBC", nos campos de título e de resumo) e o *ClinicalTrials.gov* ("*Triple negative breast cancer*" no campo Condição/Doença e "CAR-T" em Intervenção/Tratamento). **RESULTADOS:** Foram identificados 45 estudos pré-clínicos e 14 clínicos, investigando 27 antígenos alvo, como EGFR, MSLN, MUC1, ROR1, B7-H3, cMET, NKG2DLs, FR α , PD-L1, entre outros. No entanto, a maioria dos estudos clínicos ainda estão em andamento ou não possuem resultados publicados, refletindo o estágio inicial de desenvolvimento da terapia CAR-T para o CMTN. Mesmo assim, os resultados observados nos modelos pré-clínicos foram promissores, especialmente com o uso de estratégias de otimização, como combinações terapêuticas, células CAR-T universais e gerações avançadas de CARs (*next-generation*) com modulação de receptores e secreção de citocinas e de anticorpos. Tecnologias adicionais, como o uso de exossomas derivados de células CAR-T, vírus oncolíticos, secreção de BiTEs e a integração da expressão do CAR via *SynNotch*, também contribuíram para melhorar a resposta antitumoral, aumentando a segurança e a eficácia da terapia. **CONCLUSÃO:** A terapia celular CAR-T no contexto do CMTN constitui um campo emergente e, apesar de avanços promissores, ainda enfrenta desafios clínicos, práticos e econômicos significativos para se consolidar como opção terapêutica. Por outro lado, com a otimização e o desenvolvimento contínuo dessa abordagem, a terapia CAR-T poderá se tornar uma alternativa viável para o tratamento do CMTN no futuro, expandindo o arsenal terapêutico e melhorando os desfechos clínicos relacionados à doença.

ABSTRACT

Advances and Challenges of CAR-T Cell Therapy for the Treatment of Triple-Negative Breast Cancer

Keywords: CAR-T; Breast Cancer; Triple-Negative Breast Cancer; Cell Therapy.

INTRODUCTION: Breast cancer is the second most diagnosed type of cancer worldwide and the leading cause of cancer death among women. Triple-negative breast cancer (TNBC), responsible for 10 to 20% of cases, is the most aggressive and difficult-to-treat subtype, characterized by the absence of HER2 and estrogen and progesterone receptors. Current treatment mainly involves chemotherapy, radiotherapy, and surgery, but the prognosis remains unfavorable in most cases. In this context, immunotherapy emerges as an alternative, with emphasis on monoclonal antibodies, such as pembrolizumab, and CAR-T cell therapy, the latter still in preclinical and clinical investigative phases. However, challenges such as target antigen selection, immune suppression in the TME, and toxicity limit the potential of CAR-T cells in solid tumors. **OBJECTIVES:** To review the literature on the application of CAR-T cells in the treatment of TNBC, addressing the question: "Can CAR-T cell therapy become a therapeutic alternative for TNBC?". **METHODOLOGY:** This is a qualitative integrative literature review, compiling preclinical (*in vitro*, *in vivo*, or *ex vivo*) and clinical studies on CAR-T cells in the treatment of TNBC. Data collection covered the Web of Science and PubMed databases (searching for "CAR-T," "Chimeric antigen receptor," or "Adoptive immunotherapy" and "Triple-negative breast cancer" or "TNBC" in the title and abstract fields) and ClinicalTrials.gov ("Triple-negative breast cancer" in the Condition/Disease field and "CAR-T" in Intervention/Treatment). **RESULTS:** A total of 45 preclinical and 14 clinical studies were identified, investigating 27 target antigens, such as EGFR, MSLN, MUC1, ROR1, B7-H3, cMET, NKG2DLs, FR α , PD-L1, among others. However, most clinical studies are still ongoing or have not published results, reflecting the early development stage of CAR-T therapy for TNBC. Even so, the results observed in preclinical models were promising, especially with the use of optimization strategies, such as therapeutic combinations, universal CAR-T cells, and next-generation CARs with receptor modulation and cytokine and antibody secretion. Additional technologies, such as the use of CAR-T cell-derived exosomes, oncolytic viruses, BiTE secretion, and CAR expression integration via SynNotch, also contributed to improving the antitumor response, increasing the safety and efficacy of the therapy. **CONCLUSION:** CAR-T cell therapy in the context of TNBC is an emerging field, and despite promising advances, it still faces significant clinical, practical, and economic challenges to become a consolidated therapeutic option. On the other hand, with the optimization and continued development of this approach, CAR-T therapy could become a viable alternative for the treatment of TNBC in the future, expanding the therapeutic arsenal and improving clinical outcomes related to the disease.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Câncer de mama triplo negativo (CMTN)

De acordo com as estimativas globais de 2022 da base de dados GLOBOCAN (*Global Cancer Observatory*), disponibilizada pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (sigla IARC, em inglês) e que abrange 36 tipos de câncer em 185 países, o câncer de pulmão foi o mais diagnosticado (12,4% dos cânceres), seguido pelo câncer de mama, que ocupou a segunda posição com 2,3 milhões de novos casos, representando 11,6% de todos os cânceres registrados (IARC, c2022; Bray et al., 2024). Entre as mulheres, o câncer de mama corresponde a 30% dos casos, sendo a principal causa de morte por câncer nesse grupo, com uma taxa de mortalidade em relação à incidência de 15% (Karim et al., 2023).

Trata-se de uma síndrome heterogênea que se manifesta em diferentes subtipos moleculares com características clínicas, patológicas e prognósticas específicas. A expressão dos receptores hormonais de estrogênio (RE) e de progesterona (RP) e do receptor 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) atribui assinaturas moleculares distintas para os cânceres de mama, que são utilizadas como uma das bases de classificação desses tumores (Nasiri et al., 2022).

Ao associar essas características moleculares com o índice de proliferação tumoral (avaliado pelo nível de expressão da proteína nuclear Ki-67), quatro subtipos de câncer de mama são definidos: Luminal A, com RE e RP positivos, HER2 não amplificado e baixa proliferação; Luminal B, com RE positivo, RP negativo ou baixo positivo, HER2 positivo ou negativo e alta proliferação; HER2 superexpresso, com amplificação de HER2, receptores hormonais negativos e alta proliferação; e triplo negativo, com ausência dos três biomarcadores e elevada proliferação (Rossoni et al., 2020; Karim et al., 2023).

Dentre esses subtipos, destaca-se o câncer de mama triplo-negativo (CMTN), que apresenta um perfil clínico especialmente complexo. O CMTN é uma forma particularmente agressiva, responsável por 10 a 20% das neoplasias mamárias e descrito como o mais desafiador em termos de tratamento e de recorrência quando comparado aos demais cânceres de mamas. Este subtipo está associado a um prognóstico desfavorável na maioria dos casos, além de um elevado índice de recidiva nos primeiros cinco anos após o diagnóstico, alta propensão para metastizar,

sobretudo para pulmões, sistema nervoso central e fígado, menor sobrevida global em casos metastáticos e frequente resistência terapêutica (Karim et al., 2023; Rossoni et al., 2020; Vasconcelos et al. 2023; Xie et al., 2020; Xia et al., 2021).

Do ponto de vista epidemiológico, o CMTN é mais frequente em mulheres jovens (abaixo dos 50 anos) e de descendência hispânica e afro-americana, junto a forte associação com mutações na linha germinativa dos genes *BRCA1* e *BRCA2*. Além disso, a taxa de sobrevida média para a doença é de aproximadamente 10,2 meses com a terapia disponível atualmente, enquanto a taxa de sobrevida em cinco anos para casos de tumores primários e metastáticos é de, respectivamente, 65% e 11% (Rossoni et al., 2020; Almansour, 2022; Karim et al., 2023).

1.2. Tratamento atual do CMTN e o potencial da imunoterapia

A ausência da típica expressão proteica e o seu caráter heterogêneo são características do CMTN que limitam significativamente as opções terapêuticas disponíveis. Como resultado, o tratamento atual se baseia principalmente na remoção cirúrgica do tumor primário, complementada por radioterapia e quimioterapia, que pode ser administrada de forma neoadjuvante (antes da cirurgia, também chamada de citoredutora) ou adjuvante (após a remoção cirúrgica). Devido à inelegibilidade dos pacientes com CMTN para terapias hormonais ou anti-HER2, os quimioterápicos, como os antracíclicos (doxorrubicina ou epirrubicina) e taxanos (paclitaxel e docetaxel), permanecem como as principais alternativas terapêuticas sistêmicas (Karim et al., 2023; Zheng et al., 2023; Brasil, 2019; Brasil, 2024).

No entanto, mesmo que o CMTN seja sensível a quimioterapia, os desfechos gerais são inferiores quando comparados aos outros cânceres de mama, sendo que, na maioria dos casos, não se obtém uma resposta patológica completa (Kalimutho et al., 2015; Li et al., 2018). Diante deste desafio, novas abordagens têm sido investigadas, como as terapias alvo com inibidores da enzima poli(ADP-ribose) polimerase (PARP), exemplificados pelos fármacos olaparibe e talazoparibe. Esses inibidores demonstraram respostas positivas quando comparados a quimioterapia, apesar de suas limitações quanto à resistência terapêutica (Vasconcelos et al., 2023; Xie et al., 2020; Brasil, 2024).

A princípio, o CMTN não era considerado receptivo a imunoterapia. Porém, estudos recentes consolidaram este subtipo como altamente imunogênico, com maior

expressão de PD-L1 (ligante da proteína de morte celular programada 1), um importante *checkpoint* imune inibitório, e muitos linfócitos infiltrantes tumorais (TILs) (Li et al., 2018). Neste sentido, estratégias imunoterápicas se tornaram alvos de pesquisa para este câncer, com destaque para os inibidores de *checkpoint* imune.

O anticorpo monoclonal pembrolizumabe, com alvo no receptor PD-1, é um exemplo de inibidor de *checkpoint* imune e sua associação com a quimioterapia demonstrou melhoria significativa da sobrevivência livre de progressão da doença, sendo aprovado em 2021 com esta indicação nos Estados Unidos pela FDA (*Food and Drug Administration*) (Vasconcelos et al., 2023; Karim et al., 2023; Li et al., 2018). No Brasil, o pembrolizumabe foi registrado pela Anvisa com a mesma indicação, mas ainda não foi incorporado ao Sistema Único de Saúde (SUS), onde a quimioterapia convencional é a opção terapêutica para o CMTN (Brasil, 2024).

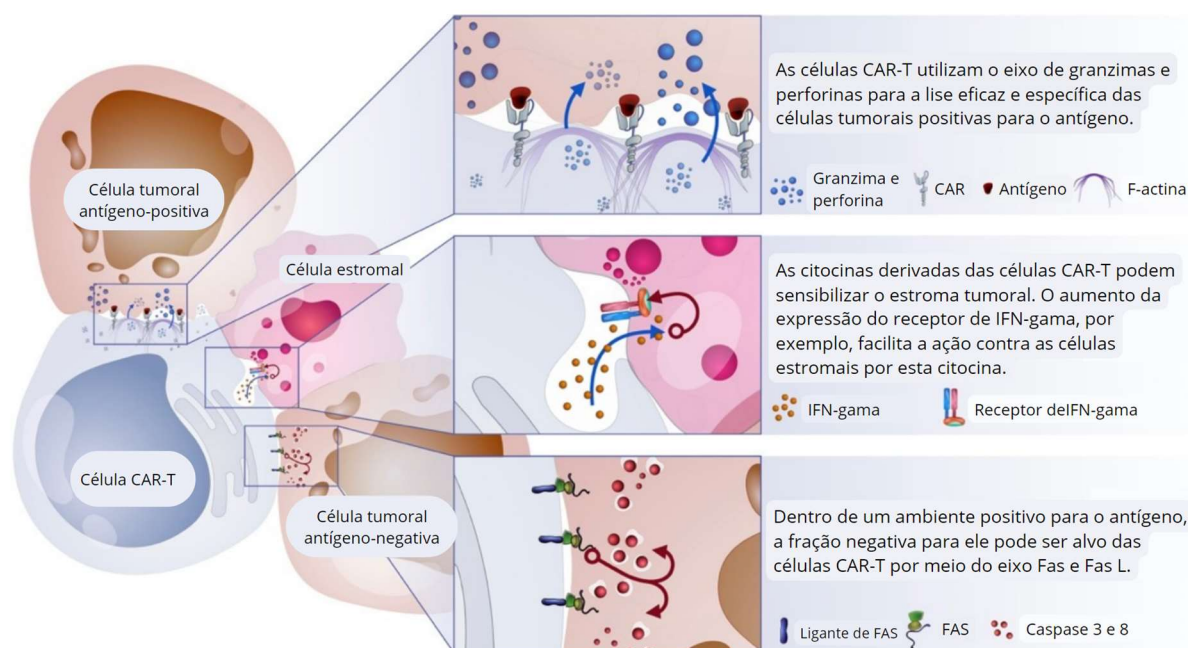
Neste cenário, o potencial da imunoterapia no tratamento do CMTN também está sendo avaliado por meio da terapia celular CAR-T (do inglês, *Chimeric Antigen Receptor T cells* ou receptor quimérico de células T) em estudos pré-clínicos e clínicos. O uso de células CAR-T é considerado um grande avanço no tratamento de tumores hematológicos, mas, como será discutido adiante, ainda apresenta muitos desafios a serem superados para se tornar uma opção terapêutica para tumores sólidos (Yang et al., 2022; Zhang et al., 2023).

1.3. Células CAR-T

As células CAR-T são linfócitos T geneticamente modificados para expressar um receptor quimérico de antígeno (CAR), que permite o reconhecimento direto de antígenos tumorais, independentemente do complexo principal de histocompatibilidade (MHC). Esse processo se inicia com a coleta e o isolamento de células T próprias do paciente (terapia autóloga) ou de um doador saudável (terapia alogênica). Essas células são, então, modificadas geneticamente em laboratório para expressar o CAR, como através de vetores virais, e expandidas até quantidades clinicamente relevantes. Por fim, as células CAR-T geradas são introduzidas no paciente, geralmente após um regime de linfodepleção para otimizar sua eficácia, e se direcionam especificamente para o tumor, onde exercem sua ação antitumoral (Urbanowicz; Bil-lula, 2022; Nasiri et al., 2022; Chen; Abila; Kamel, 2023).

A atividade antitumoral exercida pelas células CAR-T decorre, principalmente, da secreção de grânulos citotóxicos contendo granzimas e perforinas, da produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como IL-2, INF- γ e TNF- α , e da indução de apoptose nas células tumorais pela expressão de ligantes da família do fator de necrose tumoral (TNF), como o eixo Fas e seu ligante (FasL) (Figura 1) (Benmebarek et al., 2019).

Figura 1 – Mecanismo de ação das células CAR-T.



Fonte: Adaptado de Benmebarek et al., 2019. Mecanismo de ação das células CAR-T. Sua atividade antitumoral envolve a secreção de granzimas, perforinas, citocinas e outros mediadores imunes, além da indução de apoptose promovida pela expressão de ligantes da família do fator de necrose tumoral (TNF), como o eixo Fas/FasL, afetando também as células antígeno-negativas.

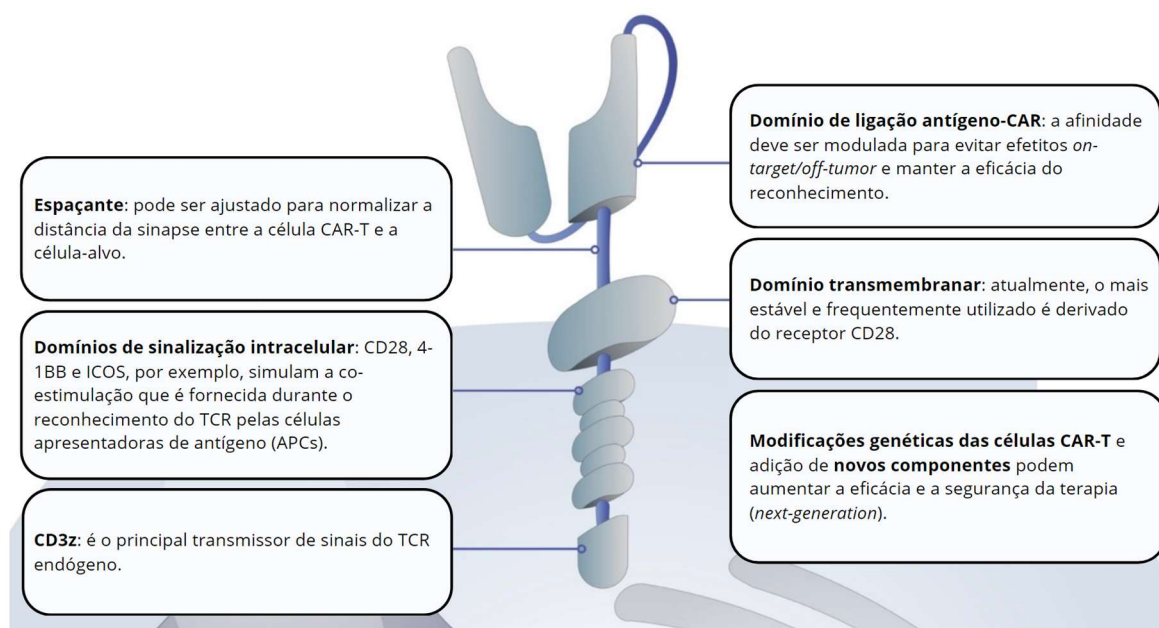
A construção do CAR contém três principais domínios: extracelular, transmembranar e intracelular (Figura 2). O domínio extracelular é a região de ligação entre o antígeno e o CAR, geralmente derivada do fragmento scFv (fragmento variável de cadeia única) de um anticorpo monoclonal específico. Devido aos problemas estruturais e de agregação associados aos scFvs, mais recentemente alguns CARs foram desenhados com nanocorpos derivados de camelos, VNARS (domínio variável de novos receptores de antígenos) de tubarões e outros ligantes naturais ou artificiais, ainda restritos a pesquisa (Benmebarek et al., 2019; Larson; Maus, 2021; Nasiri et al., 2022).

O domínio extracelular é conectado à região transmembranar por meio de um espaçante flexível, que pode influenciar tanto a eficiência do transporte dos CARs até

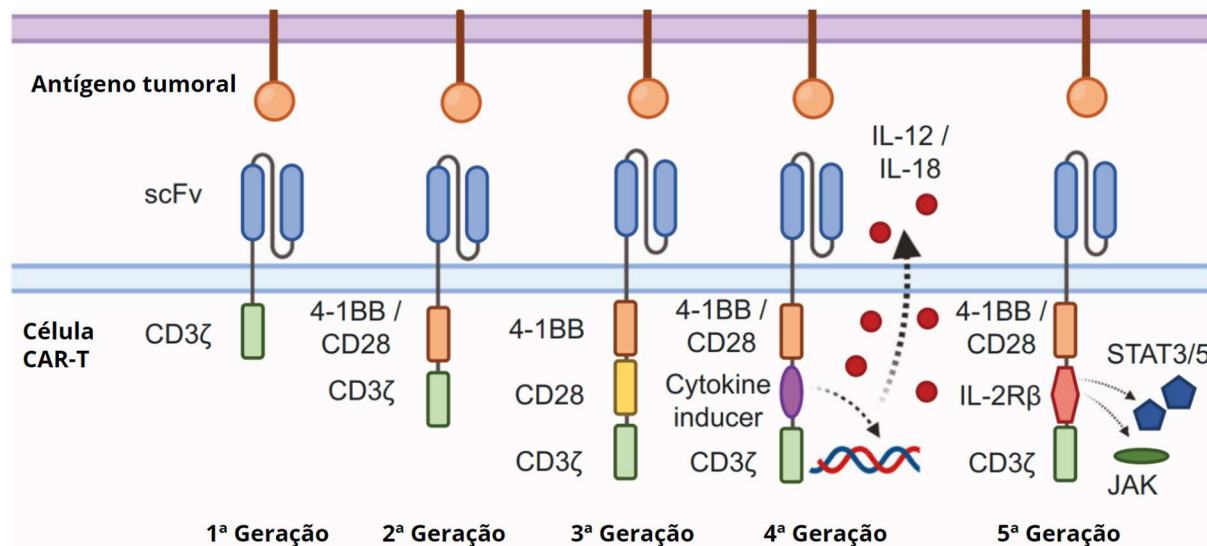
a membrana celular quanto a forma como são expressos na superfície. O componente transmembranar mais comum e estável é a proteína CD28, que desempenha um papel crucial no controle da extensão do sinal do CAR e na formação de heterodímeros com a mesma proteína endógena das células T humanas, resultando em uma transdução de sinal mais robusta. Finalmente, o domínio intracelular é o responsável por ativar a célula CAR-T após interação com o antígeno tumoral, sendo geralmente representado pelo domínio de sinalização CD3 ζ , que faz parte do complexo CD3 do receptor de células T (TCR) (Figura 2) (Benmebarek et al., 2019; Nasiri et al., 2022).

A construção de um CAR contendo apenas o domínio CD3 ζ para sinalização intracelular constitui a forma mais simples do receptor, denominada de primeira geração (Figura 3). Os CARs de segunda e terceira geração, por outro lado, incorporam um e dois domínios coestimulatórios intracelulares, respectivamente, como CD27, CD28, 4-1BB (CD137), OX40 e ICOS, simulando a coestimulação fornecida durante o reconhecimento do TCR pelas células apresentadoras de antígeno (APCs). A inclusão desses domínios coestimulatórios melhora expansão das células CAR-T após a infusão, aumenta sua persistência no organismo e, conseqüentemente, eleva a eficácia clínica, permitindo uma resposta antitumoral mais duradoura e efetiva (Benmebarek et al., 2019; Hong; Clubb; Chen, 2020; Urbanowicz; Bil-lula, 2022; Nasiri et al., 2022).

Recentemente, novas gerações de CARs foram desenvolvidas (*Next-Generation*), marcando avanços significativos na eficácia e na funcionalidade das células CAR-T. As células de quarta geração, conhecidas como TRUCKs (do inglês *T-cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing*), são um grupo diversificado de células “armadas” com a capacidade de secretar quimiocinas ou citocinas, como IL-12 e IL-18, diretamente no sítio tumoral. Já as células de quinta geração expressam um domínio intracelular de um receptor de citocina, como a subunidade beta do receptor de IL-2 (IL-2R β), ativando sua via de sinalização após a interação com o antígeno alvo. Componentes adicionais, como controles *on-off switches*, sistemas para ligar ou desligar a atividade de células CAR-T de forma controlada, e genes suicidas também podem estar presentes nestas gerações de receptores, proporcionando maior segurança ao tratamento (Zhao et al., 2018; Nasiri et al., 2022). A seguir, a Figura 2 ilustra os componentes do CAR, enquanto a Figura 3 destaca as diferentes gerações de células e seus respectivos constituintes.

Figura 2 – Componentes do CAR.

Fonte: Adaptado de Benmeharek et al., 2019. O CAR contém três principais domínios: extracelular (ligação antígeno-CAR, conectado a região transmembranar por um espaçante flexível), transmembranar (geralmente, derivado do CD28) e intracelular (sinalização). Além disso, novos componentes, como domínio intracelular de um receptor de citocina (IL-2R β , por exemplo), constituem células CAR-T de geração avançada (*next-generation*), com funcionalidade superior.

Figura 3 – As diferentes gerações de células CAR-T.

Fonte: Adaptado de Peng et al., 2024. Representação das cinco gerações de CARs. A primeira geração contém apenas o domínio CD3 ζ para sinalização intracelular; a segunda e a terceira possuem, respectivamente, um e dois domínios coestimulatórios (como CD28 e 4-1BB); a quarta geração é caracterizada como TRUCK (*T-cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killing*), por serem capazes de secretar quimiocinas ou citocinas, como IL-12 e IL-18; as células de quinta geração, por fim, possuem um domínio intracelular de um receptor de citocina, como IL-2R β , ativando sua via de sinalização após a interação com o antígeno alvo.

1.4. Células CAR-T e tumores sólidos

Atualmente, as células CAR-T comercialmente disponíveis são direcionadas para o tratamento de tumores hematológicos. Desde 2017, seis terapias CAR-T foram aprovadas pela FDA, com as principais indicações sendo leucemia linfoblástica aguda de células B, linfoma difuso de grandes células B e mieloma múltiplo refratários ou recidivantes. Exemplos incluem as terapias Kymriah® e Yescarta®, as primeiras células CAR-T aprovadas e com alvo no antígeno CD19 (Chen; Abila; Kamel, 2023). No Brasil, quatro produtos de terapia avançada do tipo CAR-T foram registrados pela Anvisa (Carvykti®, Kymriah®, Yescarta® e Tecartus®) para o tratamento de leucemias, linfomas e mielomas (Brasil, 2020).

A alta taxa de resposta atingida para tumores hematológicos representou um sucesso considerável da terapia celular CAR-T. Porém, o elevado índice de recidiva após remissão e os possíveis efeitos tóxicos potencialmente letais, como a síndrome de liberação de citocinas (CRS) e a toxicidade neurológica, são grandes preocupações (Chen; Abila; Kamel, 2023). O custo elevado e o longo tempo de produção das células T modificadas, geralmente de três semanas, também são considerações que devem ser avaliadas para a disseminação desta terapia (Lin et al., 2021; Chen; Abila; Kamel, 2023).

A partir dos resultados descritos para tumores hematológicos, direcionaram-se investigações pré-clínicas e clínicas quanto à aplicação das células CAR-T no tratamento de tumores sólidos. No entanto, obstáculos consideráveis foram observados, limitando a eficácia clínica desta abordagem (Peng et al., 2024).

Uma das principais barreiras envolve a escolha do antígeno ideal, visto que a maioria dos potenciais alvos em tumores sólidos são co-expressos em tecidos não malignos, o que aumenta as chances de efeitos *on-target/off-tumor*, isto é, quando a célula CAR-T reconhece o antígeno alvo fora do tecido tumoral. O alvo é, então, determinante tanto para a segurança quanto para a eficácia da terapia celular. Ainda, devido a heterogeneidade do tumor, a expressão dos antígenos é dinamicamente regulada, o que pode promover o escape e a resistência terapêutica (Zhang et al., 2023; Flugel et al., 2023; Peng et al., 2024).

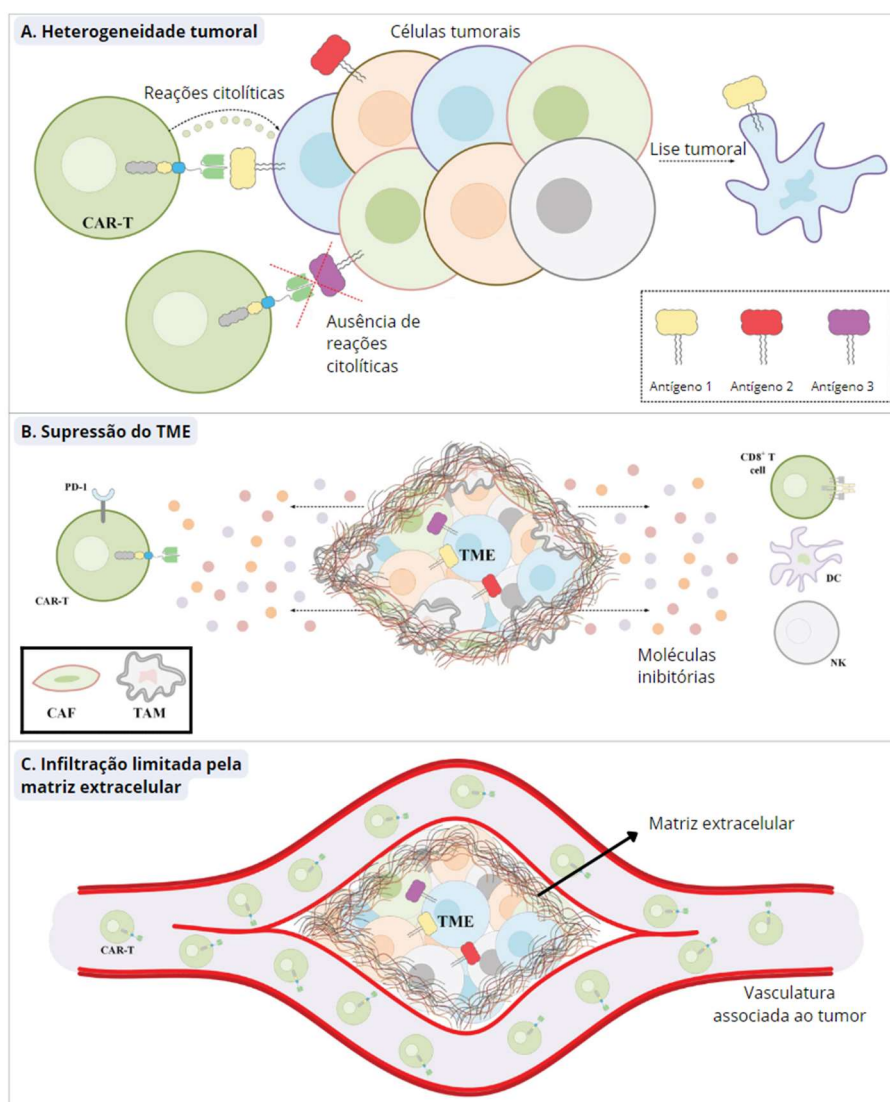
Além disso, diferentemente de tumores hematológicos, as células de um tumor sólido se encontram em um microambiente tumoral (TME, do inglês *Tumor Microenvironment*), composto por células imunossupressoras, como células T

regulatórias, macrófagos associados ao tumor (TAMs), células supressoras mieloide-derivadas (MDSCs) e fibroblastos câncer-associados (CAFs), que, junto com as células tumorais, produzem citocinas que facilitam a progressão do tumor, como TGF- β , IL-10 e IL-4 (Zhang et al., 2023; Peng et al., 2024). Este microambiente hostil é capaz de inibir a atividade das células CAR-T, além de restringir a infiltração do tumor e de promover a exaustão prematura de células T, como pela interação de *checkpoints* imunes PD-L1/PD-1 e CTLA-4 (proteína 4 associada ao linfócito T citotóxico) (Zhang et al., 2023; Peng et al., 2024). Ainda, a própria matriz extracelular dos tumores sólidos, formada principalmente pela ação dos CAFs, atua como uma importante barreira física entre as células tumorais e as células CAR-T (Nasiri et al., 2022)

Por fim, a toxicidade inerente das células CAR-T, como já descrito para o tratamento de tumores hematológicos, é um dos principais limitantes. Essa toxicidade é principalmente atribuída à ativação massiva das células CAR-T, à secreção exacerbada de citocinas e à interação *on-target/off-tumor*. Um dos efeitos adversos mais significativos associado ao tratamento é a CRS, que ocorre devido à ativação intensa das células T, resultando na liberação de altos níveis de citocinas, como IL-6, IL-10 e INF- γ . Os sintomas dessa síndrome podem variar desde febre, dores de cabeça e mal-estar até outras complicações mais graves, como a coagulação intravascular disseminada (CID) (Lin et al., 2021; Chen; Abila; Kamel, 2023).

A Figura 4 exemplifica alguns destes obstáculos e, como será discutido no decorrer do trabalho, diversas estratégias podem ser aplicadas para transpor as barreiras citadas. Alguns exemplos incluem a construção de CARs biespecíficos que reconheçam antígenos distintos, o bloqueio da expressão de PD-1 pela célula CAR-T, a administração de anticorpos monoclonais direcionados aos *checkpoints* imunes, a construção de células “armadas” com a secreção de citocinas e a expressão de controles *on-off switches* para regular a ativação das células terapêuticas *in vivo* (Peng et al., 2024).

Figura 4 – Exemplos de obstáculos que limitam a eficácia das células CAR-T no tratamento de tumores sólidos.



Fonte: Adaptado de Nasiri et al., 2022. A. Heterogeneidade tumoral, refletindo na dificuldade da escolha do antígeno alvo ideal; B. Supressão imune do TME; C. Matriz extracelular como barreira física para a infiltração tumoral. Outros obstáculos incluem os efeitos *on-target/off-tumor* e a toxicidade inerente da terapia, como a secreção exacerbada de citocinas que pode levar a CRS, que prejudicam a segurança do tratamento.

O uso de células CAR-T para tumores sólidos é, então, um campo de pesquisa emergente. Atualmente, a avaliação desta abordagem para o CMTN abrange desde pesquisas básicas até ensaios clínicos e envolve diferentes alvos potenciais, descritos como antígenos tumorais. No entanto, muito estudo ainda é necessário para aprimorar a terapia CAR-T em termos de especificidade, de segurança e de eficácia, com o objetivo de torná-la uma alternativa viável para o tratamento do CMTN no futuro. Neste contexto, este trabalho explora os avanços mais recentes em estudos pré-clínicos e

clínicos com células CAR-T, focando nos principais desafios e oportunidades para a aplicação dessa terapia no tratamento do CMTN.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

Este trabalho objetiva revisar a literatura no que se refere à aplicação da terapia CAR-T para o tratamento CMTN, respondendo à pergunta norteadora: “a terapia celular CAR-T pode se tornar uma alternativa terapêutica para o tratamento do câncer de mama triplo-negativo?”.

2.2. Objetivos específicos

Fornecer o estado da arte da terapia celular CAR-T aplicada para o tratamento do CMTN, determinando quais os estudos em andamento (*in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* e ensaios clínicos), as limitações da terapia, as estratégias existentes e as perspectivas. Objetiva-se, também, contextualizar tanto a terapia de células CAR-T quanto a doença CMTN, fundamentando o estudo, a aplicabilidade e a relevância do tema.

3. METODOLOGIA

3.1. Estratégias de pesquisa

O trabalho se trata de uma revisão integrativa qualitativa da literatura sobre estudos pré-clínicos e clínicos que aplicam a terapia celular CAR-T no CMTN. Esta abordagem permite evidenciar o conhecimento atual sobre o tópico em questão, caracterizando-a como uma ferramenta capaz de sintetizar os estudos sobre o tema e direcionar a prática clínica fundamentada no conhecimento científico (Souza; Silva; Carvalho, 2010). Sua elaboração é feita através das seguintes etapas: elaboração da pergunta norteadora; amostragem na literatura; coleta de dados; análise dos artigos incluídos; discussão dos resultados obtidos; e apresentação da revisão integrativa (Souza; Silva; Carvalho, 2010). O levantamento, então, considerou a pergunta

norteadora: “a terapia celular CAR-T pode se tornar uma alternativa terapêutica para o tratamento do câncer de mama triplo-negativo?”.

3.2. Critérios de inclusão e de exclusão

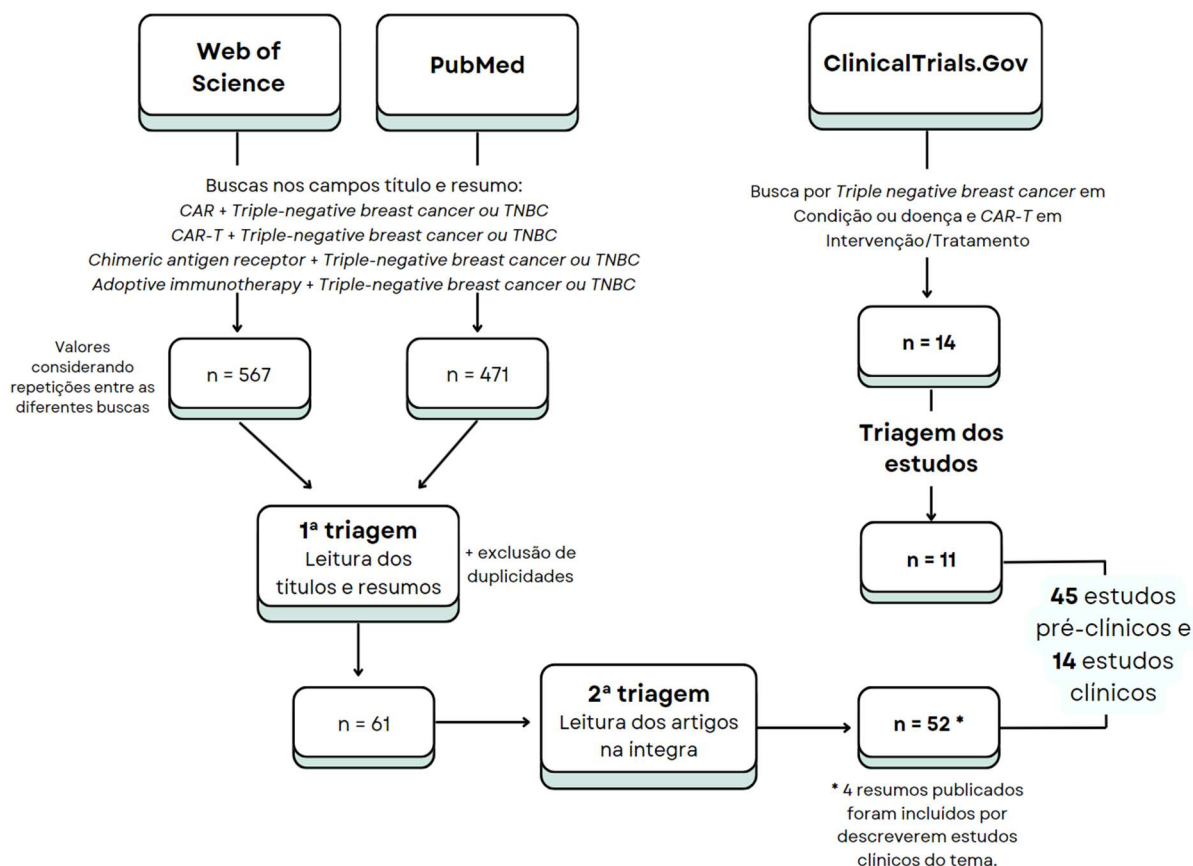
Quanto aos critérios de inclusão, têm-se: (1) artigos disponíveis na íntegra e na língua portuguesa ou inglesa; (2) presença dos termos de busca no título, no resumo e/ou nas palavras-chave; (3) não ser um texto de revisão; e (4) apresentar um estudo de aplicação da terapia CAR-T no CMTN, seja por modelos *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo*, ou por ensaios clínicos. Os estudos foram triados em duas etapas principais: 1) leitura dos títulos e dos resumos e 2) leitura dos artigos científicos na íntegra; após esta triagem, aqueles que atenderam aos critérios de inclusão foram analisados detalhadamente. Ademais, foram excluídos os trabalhos duplicados entre as bases de dados e os artigos de revisão, além de não serem incluídos aqueles disponibilizados nas bases de dados após o período de busca (entre março e junho de 2024).

3.3. Coleta e análise de dados

As buscas para coleta de dados contemplaram as bases de dados *Web of Science* e *PubMed*, sendo os termos pesquisados combinações de: “CAR-T”, “Chimeric antigen receptor” ou “Adoptive immunotherapy” e “Triple negative breast cancer” ou “TNBC”, nos campos de título e de resumo (Figura 5). A base *ClinicalTrials.gov* também foi explorada por meio da busca por “Triple negative breast cancer” no campo Condição ou Doença e “CAR-T” em Intervenção/Tratamento para avaliação dos estudos clínicos.

Os materiais considerados pertinentes após as etapas de triagem foram detalhadamente analisados por meio do fichamento de seus conteúdos, considerando o(s) tipo(s) de estudo(s) realizado(s) pelos autores, o(s) antígeno(s) alvo e a justificativa para a sua escolha como modelo no CMTN, as características das células CAR-T desenvolvidas, os resultados obtidos e os possíveis desafios encontrados. Após, as informações e as considerações observadas foram discutidas e exploradas no decorrer do trabalho.

A Figura 5 apresenta o diagrama de fluxo de seleção de artigos que resume as buscas realizadas e os artigos incluídos no levantamento.

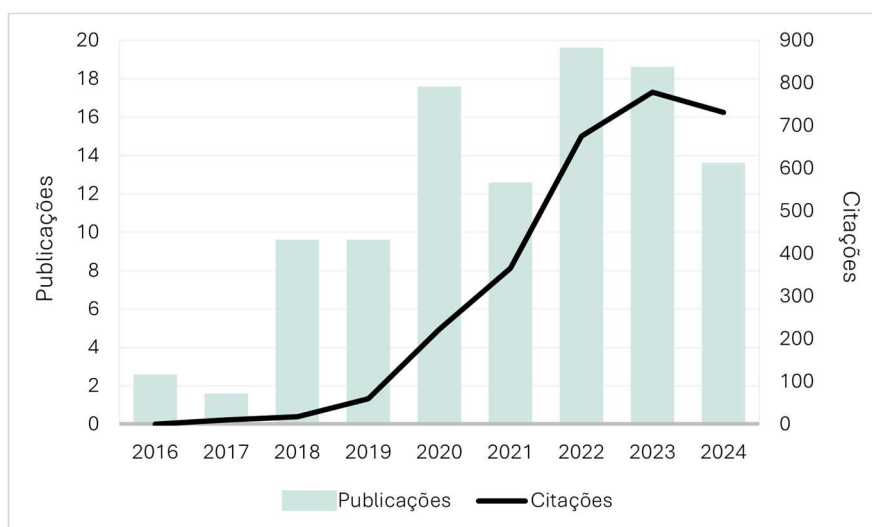
Figura 5 - Diagrama de fluxo de seleção dos materiais científicos para o levantamento.

Fonte: Autoria própria, 2024.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, diferentes abordagens utilizando células CAR-T estão sendo investigadas e tratadas como opções terapêuticas promissoras para o CMTN, considerando o aumento do número de potenciais alvos terapêuticos altamente expressos neste tipo de tumor, comparativamente com outros tumores (Li et al, 2018). Conforme identificado na Figura 6, um crescente número de estudos está sendo produzido nesta área ao longo dos anos.

Figura 6 – Publicações e citações ao longo dos anos considerando a busca por “CAR-T” e “*Triple-Negative Breast Cancer*” em todos os campos na plataforma *Web Of Science*.



Fonte: *Web Of Science*, 2024.

Dentre os alvos em estudo, têm-se: o receptor de fator de crescimento epidermal (EGFR), mesotelina (MSLN), mucina 1 (MUC1), receptor de tirosina quinase órfão 1 (ROR1), proteína B7-H3, receptor cMET, ligantes de NKG2D (NKG2DLs), receptor de folato alfa (FR α), PD-L1, entre outros. Cada um destes antígenos possui um papel importante na fisiopatologia da doença e na tumorigênese, podendo sua superexpressão estar relacionada com a agressividade do tumor e com o consequente prognóstico desfavorável.

Seguindo a metodologia estabelecida, 45 estudos pré-clínicos foram identificados na literatura, conforme mostra a Tabela 1. Quanto aos estudos clínicos, 14 foram descritos, evidenciados na Tabela 2. No total, 27 antígenos foram avaliados como alvos da terapia celular CAR-T para o CMTN. Serão detalhados, nos próximos subtópicos, os antígenos alvo estudados para o CMTN por estudos pré-clínicos e clínicos de terapia celular CAR-T, destacando seus resultados e suas respectivas estratégias para tornar a aplicação desta terapia celular possível para tumores sólidos.

Tabela 1 – Estudos pré-clínicos com células CAR-T em modelos de CMTN.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
EGFR	Células CAR-T isoladas	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Citotoxicidade potente e específica, similar para os dois CARs (mas maior expansão para a 3ª geração); - Diminuição do crescimento tumoral no modelo animal (2 de 6 animais curados); - Mínima toxicidade <i>on-target/off-tumor</i>.	Xia et al., 2020.
	Células CAR-T isoladas	3ª Geração scFv CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Elevada secreção de citocinas após cocultura com células de CMTN EGFR positivas; - Redução dos tumores xenogênicos tratados.	Liu et al., 2019.
	Combinação entre células CAR-T e o inibidor de CDK7 (THZ1)	3ª Geração scFv CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Resistência terapêutica em 1/3 dos tumores xenogênicos após 30 dias de tratamento; - Com THZ1, aumento da eficácia e ressensibilização das células tumorais, mas exibiu pequena citotoxicidade sobre as células CAR-T.	Xia et al., 2021.
	Células CAR-T no tratamento de MCs derivadas de CMTN	2ª Geração mAb806 (scFv) 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Expressão de EGFR em 6 das 13 MCs derivadas de CMTN; - Administração intracraniana promoveu a erradicação das MCs em modelo animal; - Uma limitação é a presença de EGFR citoplasmático, não acessível.	Subham et al., 2023.
	Combinação entre células CAR-T e a modulação do TME	N/I	<i>In vivo</i>	Combinadas aos microrreatores de coloidossomas com catalase e carbonato de cálcio, as células CAR-T apresentaram aumento da eficácia antitumoral, com maior infiltração e secreção de citocinas.	Dong et al., 2024.
	Combinação entre células CAR-T e radioterapia	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Aumento da eficácia da atividade antitumoral e infiltração das células CAR-T quando combinadas a radioterapia, elevando a sobrevida dos animais, sem maiores riscos de CRS.	Zhou et al., 2022.
	Uso de PET/CT para monitoramento das células CAR-T	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ NIS	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- Tumores com maior expressão de <i>checkpoints</i> imunes tiveram menor retenção das células CAR-T, observada através da expressão do gene repórter NIS; - As células se mostraram ativas, mas não infiltram na massa tumoral adjacente e não houve redução dos tumores.	Volpe et al., 2020.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
EGFR	Células ESMA CAR-T	ESMA scFv 4-1BB	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	Comparado com o CAR de 2ª Geração, as células ESMA apresentaram ação antitumoral mais lenta e sustentada, com menor expressão de marcadores de exaustão, menor secreção de citocinas, infiltração robusta e redução do crescimento tumoral.	Ebbinghaus et al., 2024.
MSLN	Disrupção de PD-1 em células CAR-T	<i>Next-Generation</i> scFv 4-1BB CD3ζ com disrupção de PD-1	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Via CRISPR/Cas9, a disrupção de PD-1, comparado ao CAR de 2ª geração, gerou maior citotoxicidade e secreção de citocinas, melhor controle tumoral e prevenção de recorrência no modelo animal; - Foi superior à combinação com anticorpos anti-PD-1.	Hu et al., 2019.
	Uso de exossomas derivados de células CAR-T	2ª Geração scFv 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Topologia membranar similar às células, com a expressão do CAR nas vesículas, e carregamento de moléculas efetoras; - Inibição do crescimento tumoral e redução do volume e do peso dos tumores, sem sinais de toxicidade.	Yang et al., 2021.
MSLN e FAP	Células CAR-T universais	<i>Next-Generation</i> scFv* 4-1BB CD3ζ *Duas células CAR-T: hF1 ou mF3 para FAP e MN-1 para MSLN	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Células FAP UCAR-T reduziram significativamente o crescimento tumoral e sensibilizaram o tumor à ação das células MSLN UCAR-T, permitindo a infiltração tumoral; - Os animais sucumbiram a doença por metástases secundárias.	Das et al., 2023.
MUC1	Células CAR-T isoladas	2ª Geração TAB004 (scFv) CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Citotoxicidade alvo-específica, mínima ação <i>off-target</i>, elevada produção de citocinas e redução do crescimento do tumor; - Expressão de PD-1 indica exaustão celular e houve progressão acelerada do tumor após 60 dias da administração.	Zhou et al., 2019.
	Células CAR-T capazes de promover a apoptose de MDSCs	<i>Next-Generation</i> scFv CD28 CD3ζ com expressão de TR2.4-1BB	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- MDSCs reduziram a citotoxicidade das células CAR-T em 25%; - Com a expressão de TR2.4-1BB, houve indução de apoptose das MDSCs e aumento da atividade, resultando em redução do tumor, maior proliferação e persistência e prevenção de metástases.	Nalawade et al., 2021.
ROR1	Células CAR-T isoladas	2ª Geração scFv 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i>	- Efeitos antitumorais potentes e dose-dependentes; - Infiltração e eliminação de múltiplas camadas em modelos 3D; - Exaustão celular observada e células residuais no final da cultura.	Wallstabe et al., 2019.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
ROR1	Combinação de células CAR-T com inibidor de TGF- β I (SD-208)	2ª Geração R12 (scFv) 4-1BB CD3 ζ	<i>In vitro</i>	- Exposição a TGF-β reduz a atividade das células CAR-T e prejudica sua viabilidade; - A terapia combinada protegeu as células, prevenindo a exaustão.	Stüber et al., 2020.
	Células CAR-T com secreção localizada de scFv anti-PD-1	<i>Next-Generation</i> scFv 4-1BB CD3 ζ com expressão induzida de scFv anti-PD-1	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Maior eficiência das células CAR-T "armadas", comparado com as de 2ª geração; - Redução do crescimento tumoral e aumento da sobrevida para 71 dias (49 dias para 2ª geração), ainda superior ao uso de anticorpos anti-PD-1 sistêmicos (57 dias).	Harrasser et al., 2022
B7-H3 /CD276	Células CAR-T pluripotentes	<i>Next-Generation</i> scFv 4-1BB IL2RB CD3 ζ YRHQ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Proliferação elevada, infiltração tumoral e marcadores de menores níveis de diferenciação; - Controle efetivo do CMTN em baixas doses, superior ao CAR de 2ª geração sem os domínios de ativação.	Zhang et al., 2023.
	Células CAR-T a partir de nanocorpos derivados de camelo	2ª Geração Nanocorpo 4-1BB CD3 ζ	<i>In vitro</i>	- Citotoxicidade antígeno-dependente e maior liberação de citocinas quando comparado ao uso de scFv, mas pode ser mais imunogênico; - Resultados promissores para outros tumores <i>in vivo</i>.	Li et al., 2023.
	Combinação de células CAR-T com terapia epigenética (SAHA)	3ª Geração 8H9 (scFv) CD28 4-1BB CD3 ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- Aumento da atividade antitumoral das células CAR-T; - Inibição significativa do crescimento tumoral, maior sobrevida, maior infiltração e ausência de toxicidade aos animais; - Erradicação não foi completa.	Lei et al., 2021.
B7-H3 /CD276 e CSPG4/NG2	Reprogramação das células CAR-T por células tumorais estressadas	2ª Geração scFv* CD28 CD3 ζ *Duas células CAR-T: anti-B7-H3 e anti-CSPG4.	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- O protocolo de estresse com dissulfiram/cobre e radiação ionizante, favoreceu a atividade citotóxica de ambos os CARs; - Para as células B7-H3 CAR-T, houve forte citotoxicidade tempo-dependente, com aumento de IFN-γ, 100% de regressão em modelo animal, sobrevida duradoura, menor exaustão celular, etc.	Wang et al., 2023.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
CSPG4/NG2	Células CAR-T isoladas	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i>	- Liberação de IFN-γ em coculturas com células de CMTN CSPG4 positivas e função citolítica; - Risco de toxicidade <i>on-target/off-tumor</i> pela detecção de baixos níveis do antígeno em 2 de 94 tecidos normais, ambos de intestino delgado; - Estudos mais detalhados para melanoma e glioblastoma.	Beard et al., 2014.
NKG2DLs	Células CAR-T auto-enriquecidas	1ª Geração NKG2D CD3ζ	<i>In vitro</i>	- Auto-enriquecimento <i>in vitro</i> através de IL-2; - Células de 1ª geração com maior exaustão do que as de 2ª geração; - Atividade citotóxica e antitumoral superior para o CAR de 2ª geração, impactando na persistência, sobrevida e redução do crescimento tumoral; - Não se observou erradicação do tumor nos animais.	Han et al., 2018.
		2ª Geração NKG2D 4-1BB ou CD27 CD3ζ	<i>In vivo</i>		
FRα	Células CAR-T isoladas	2ª Geração Mov19 (scFv) CD27 CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Maiores efeitos quando a linhagem de CMTN possuía superexpressão induzida do antígeno, com redução do tamanho do tumor no camundongo; - Linhagem parental com expressão moderada sofreu aumento do tumor.	Song et al., 2016.
	Células CAR-T isoladas e o efeito dos CAFs	<i>Next-Generation</i> scFv CD28 4-1BB CD27 CD3ζ	<i>In vitro</i>	A exposição das células tumorais ao meio de CAFs, com alta concentração de IL-6, induziu resistência tanto à terapia CAR-T quanto à doxorrubicina, promovendo aumento de PD-L1 nas células tumorais.	Chuangchot et al., 2023.
	Células CAR-γδT com secreção de IL-7 e CCL19 (7 x 19 CAR-γδT)	<i>Next-Generation</i> Mov19 (scFv) CD28 CD3ζ IL-7 CCL19	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Maior migração de células T, dendríticas e células B e maior secreção de IFN-γ do que as células convencionais, mas citotoxicidade semelhante; - Apenas a combinação de 7 x 19 CAR-γδT com células mononucleares derivadas de sangue periférico proporcionou redução efetiva do crescimento tumoral do CMTN de expressão moderada do antígeno.	Ye et al., 2022.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
PD-L1	Células CAR-T auto-amplificadas	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Especificidade, atividade antitumoral robusta, inibição do crescimento do tumor e sobrevida prolongada do animal; - Efeito de auto-amplificação (estímulo à expressão de PD-L1 após a exposição às células CAR-T); - Citotoxicidade potente contra células não malignas que expressam PD-L1.	Bajor et al., 2022.
	Células CAR-T a partir de V _{NAR} derivados de tubarão	2ª Geração B2 (V _{NAR}) 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- Lise e secreção de citocinas eficientes; - Redução dos tumores, sem perda de peso corporal no animal e ausência de metástase, mas recorrência modesta observada após 5 semanas; - Alta persistência no baço dos animais, com atividade citotóxica mantida; - Uma limitação é a imunogenicidade.	Li et al., 2022.
	Células CAR-T a partir de monocorpos e controle <i>SynNotch</i>	3ª Geração <i>PDbody</i> CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	Especificidade da ação das células CAR-T, sem auto-toxicidade quando acopladas ao <i>SynNotch</i> (direcionada via transdução de CD19 nas células tumorais), o que promoveu segurança e significativa supressão tumoral.	Zhu et al., 2024.
AXL	Células CAR-T isoladas	3ª Geração scFv CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Especificidade e lise direta e eficiente das células tumorais; - Maior secreção de citocinas, associado positivamente com os níveis de antígeno, e inibição significativa do crescimento do tumor, sem afetar o peso do animal.	Wei et al., 2018.
	Células CAR-T com receptor de IL-7 constitutivamente expresso (CR7)	<i>Next-Generation</i> scFv 4-1BB CD3ζ C7R	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Expressão de CR7 aumentou a ativação e a expansão das células CAR-T; - Redução efetiva do tamanho dos tumores, sem alterações significativas no peso corporal do animal; - Maiores concentrações de citocinas séricas e infiltração tumoral comparado com células CAR-T de 2ª geração, porém os efeitos terapêuticos foram comparáveis.	Zhao et al., 2020.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
SSEA-4	Células CAR-T isoladas	2ª Geração REA101 (scFv) 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- Diferentes espaçantes foram testados e apenas a construção com o espaçante classificado como pequeno gerou certo decréscimo no crescimento tumoral; - Toxicidade severa por reconhecimento <i>on-target/off-tumor</i>.	Pfeifer et al., 2023.
CD24	Células CAR-T isoladas	2ª Geração scFv 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Superexpressão detectada em cânceres de mama, sobretudo no CMTN; - Redução dos tumores xenogênicos, sem sinais de toxicidade; - Maior persistência do que as células controle, mas exaustão identificada.	Yang et al., 2023.
EphA10	Células CAR-T isoladas	3ª Geração scFv CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	Ativação específica frente ao antígeno e redução significativa do crescimento tumoral, mas houve diminuição do peso dos animais comparado ao controle, sem mudanças patológicas observadas.	Cha et al., 2022.
tmTNF-α	Combinação de células CAR-T com mAb anti-PD-1	2ª Geração scFv 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Redução significativa do tumor, mas progrediu gradualmente após 1 mês; - Aumento da sobrevivência dos animais com tumor; - Maior citotoxicidade das células CAR-T quando combinadas com mAb anti-PD-1, inclusive no controle do modelo metastático.	Ba et al., 2023.
TEM8/ ANTXR1	Células CAR-T isoladas	2ª Geração L2 (scFv) CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i>	- Ambos os CARs com citotoxicidade <i>in vitro</i> similar, mas 3ª geração com maior liberação de citocinas e superior <i>in vivo</i>, com maior persistência, regressão tumoral e melhora significativa da sobrevivência; - Recorrência dos tumores, mas de menor volume e vascularização; - Sem efeitos tóxicos; - Isoformas citoplasmáticas de TEM8 podem não ser acessíveis.	Byrd et al., 2018.
		3ª Geração L2 (scFv) CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vivo</i>		
ICAM1	Células CAR-T isoladas	3ª Geração mG2 (scFv) CD28 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Citotoxicidade potente e específica; - Redução do tamanho dos tumores xenogênicos e aumento da sobrevivência; - Decréscimo de ICAM1 e infiltrados de células T na análise histológica.	Wei et al., 2020.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
GD2	Células CAR-T isoladas	2ª Geração ch14.18 (scFv) 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- Elevada lise celular alvo-específica; - Redução do crescimento tumoral, sem sinais de toxicidade e de formação de metástases como no controle.	Seitz et al., 2020.
Gb3	Células CAR-T a partir de lectinas	2ª Geração Lectina* 4-1BB CD3ζ *StxB, LecA ou Mitsuba.	<i>In vitro</i>	- As células StxB CAR-T apresentaram maior atividade antitumoral, com potente e específica citotoxicidade; - Atividade de 60% contra as células de CMTN em cultura; - Em geral, citotoxicidade proporcional à abundância de Gb3.	Meléndez et al., 2022.
Complexo NY-ESO-1/HLA-A2	Células CAR-T isoladas	2ª Geração 2D2 (scFv) 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Efeito comparado com células TCR-T, que liberou 10 vezes mais IFN-γ; - Sobrevida prolongada dos animais e única dose reduziu significativamente o tumor, com infiltração robusta de células T. - Sem toxicidade evidente e menor atividade citolítica associada com menor densidade antigênica.	Liu et al., 2022.
nfP2X7	Células CAR-T isoladas	2ª Geração scFv 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo e ex vivo</i>	- Citotoxicidade significativa com espaçante intermediário; - Acúmulo das células CAR-T preferencialmente nos tumores, com inibição significativa do crescimento tumoral nos animais; - Associação da eficácia do modelo pela perda de antígeno.	Bandara et al., 2023.
Integrina αvβ3	Células CAR-T isoladas	2ª Geração hLM609 (scFv) CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i>	- Variou-se o grau de afinidade do scFv e o tamanho do espaçante, sendo que o CAR de maior afinidade e menor espaçante foi mais reativo; - Reconhecimento e eliminação específicos; - Estudos mais detalhados para melanoma.	Wallstabe et al., 2018.
Integrina αvβ6	Células CAR-T com coexpressão do receptor de IL-8 (CXCR1 ou CXCR2)	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i>	- Citotoxicidade específica com secreção de citocinas; - Co-expressão de CXCR (1 < 2) induziu a migração eficiente para IL-8 expressa pelas células de CMTN; - Estudos mais detalhados para outros tipos de tumores, como de ovário e pancreático, com aumento da eficácia terapêutica e direcionamento das células CAR-T pela inclusão do receptor, sem toxicidade evidente.	Whilding et al., 2019.

Antígeno	Abordagem	Design do CAR	Modelo	Principais resultados observados	Referência
HLA-G	Células CAR-γδT secretoras de PD-L1/CD3 BiTE	<i>Next-Generation</i> Nanocorpo* 4-1BB CD3ζ com secreção induzida de BiTE *Bi-epitópico.	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Promoção da interação entre as células efetoras e alvo via BiTE, o que aumentou a resposta citotóxica; - Ação efetiva contra as células tumorais, superior às células parentais (sem o CAR e sem secreção de BiTE); - Supressão significativa dos tumores e maior sobrevida, além de redirecionamento, infiltração tumoral e ausência de efeitos tóxicos.	Huang et al., 2023.
Trop2	Células CAR-T com variações dos domínios coestimulatórios	2ª Geração scFv CD28 ou CD27 ou ICOS ou 4-1BB CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Todos os CARs gerados apresentaram citotoxicidade eficiente; - No geral, células CAR-T com CD27 performaram melhor em termos de produção de moléculas efetoras; <i>In vivo</i>, com CD28 e CD27 os efeitos contra os tumores foram similares; - Associação do receptor de IL-7 alfa e da menor expressão de PD-1 com a maior efetividade das células com CD27.	Chen et al., 2021.
CD19	CAR-T combinado ao uso de vírus oncolíticos para entrega de alvos nas células tumorais	2ª Geração scFv CD28 CD3ζ	<i>In vitro</i> <i>In vivo</i>	- Com a infecção das células tumorais e expressão de CD19, houve maior atividade das células CAR-T, com consistente perda de células tumorais; - A combinação gerou infiltração celular e regressão tumoral marcante; - Morte celular mediada pelas células CAR-T induziu liberação de partículas oncolíticas virais, possivelmente propagando a expressão de CD19 no tumor; - Riscos incluem a infecção de células saudáveis, expressão de CD19 em células B (mas aplasia possível) e imunogenicidade do vírus.	Park et al., 2020.

Obs.: todos os estudos *in vivo* foram realizados com camundongos/ratos, utilizando modelos de linhagens celulares de CMTN ou xenoinxertos derivados de pacientes para inoculação nos animais.

N/I: não identificado; *Next-Generation*: inclusão de melhorias genéticas na construção das células CAR-T, além dos domínios de interação, coestimulatórios e de sinalização.

Tabela 2 – Estudos clínicos com células CAR-T em pacientes com CMTN.

Antígeno	Identificador <i>ClinicalTrials.gov</i>	Descrição do estudo	Fase	Participantes	Período	Status	Resultados
ROR1	NCT02706392	<i>Phase I Study of Adoptive Immunotherapy for Advanced ROR1+ Malignancies With Defined Subsets of Autologous T Cells Engineered to Express a ROR1-Specific Chimeric Antigen Receptor</i>	I	21	16/03/2016 a 17/05/2021	Interrompido por baixa taxa de recrutamento	Resultados preliminares indicaram que as células ROR1 CAR-T podem ser desenvolvidas e expandidas em pacientes com CMTN e câncer de pulmão de células não pequenas. Porém, alguns efeitos adversos foram observados, assim como a falta de infiltração apropriada no tecido tumoral e a consequente ausência de regressão do quadro.
	NCT05694364	<i>A Phase 1/1b Dose Escalation/Dose Expansion Study of PRGN-3007 UltraCAR-T Cells in Patients With Advanced Hematologic and Solid Tumor Malignancies</i>	I	88	25/01/2023 a 01/2026	Recrutando	Não publicados até o momento.
	NCT05274451	<i>A Phase 1 Study to Assess the Safety and Efficacy of LYL797, ROR1-Targeting CAR T Cells, in Adults With Relapsed and/or Refractory Solid-Tumor Malignancies</i>	I	54	29/03/2022 a 09/2026	Recrutando	Não publicados até o momento.
EGFR e B7-H3	NCT05341492	<i>A Single-arm, Open, Exploratory Clinical Study Evaluating the Safety and Efficacy of EGFR/B7H3 CAR-T in Patients With EGFR/ B7H3-positive Advanced Solid Tumors (Lung and Triple-negative Breast Cancer)</i>	I inicial	30	01/05/2022 a 01/05/2035	Recrutando	Não publicados até o momento.

Antígeno	Identificador <i>ClinicalTrials.gov</i>	Descrição do estudo	Fase	Participantes	Período	Status	Resultados
B7-H3	NCT06347068	<i>Study of Administration of T Cells Expressing B7-H3 Specific Chimeric Antigen Receptors and Containing the Inducible Caspase 9 Safety Switch in Subjects With Triple Negative Breast Cancer</i>	I	42	07/06/2024 a 05/2028	Recrutando	Não publicados até o momento.
MUC1	NCT02587689	<i>Phase I/II Study of Anti-MUC1 CAR T Cells for Patients With MUC1+ Advanced Refractory Solid Tumor</i>	I e II	20	10/2015 a 10/2018	Desconhecido	Não publicados até o momento.
	NCT04025216	<i>A Phase 1 Open-Label, Multi-Center First in Human Study of TnMUC1-Targeted Genetically-Modified Chimeric Antigen Receptor T Cells in Patients With Advanced TnMUC1-Positive Solid Tumors and Multiple Myeloma</i>	I	16	10/10/2019 a 02/12/2022	Interrompido	Foi determinado que a razão risco/benefício era desfavorável para a continuidade do estudo, sendo interrompido.
	NCT04020575	<i>Adoptive Immunotherapy for Advanced MUC1* Positive Breast Cancer With Autologous T Cells Engineered to Express a Chimeric Antigen Receptor, huMNC2-CAR44 or huMNC2-CAR22, Specific for a Cleaved Form of MUC1 (MUC1*)</i>	I	69	15/01/2020 a 15/01/2035	Recrutando	Não publicados até o momento.
cMET	NCT01837602	<i>Clinical Trial of Autologous cMet Redirected T Cells Administered Intratumorally in Patients With Breast Cancer</i>	0 e I	6	04/2013 a 13/08/2018	Completo	Não foram observados efeitos adversos acima de grau 1, porém nenhuma resposta clínica mensurável foi detectada.
	NCT03060356	<i>Clinical Trial of Autologous cMET Redirected T Cells Administered Intravenously in Patients With Melanoma & Breast Carcinoma</i>	I inicial	77	21/12/2016 a 27/03/2020	Interrompido	Terapia demonstrada como segura, ainda que sem evidências de efetividade clínica. O estudo foi cancelado devido a interrupção do financiamento.

Antígeno	Identificador <i>ClinicalTrials.gov</i>	Descrição do estudo	Fase	Participantes	Período	Status	Resultados
MSLN	NCT02792114	<i>A Phase I Clinical Trial to Evaluate the Safety and Tolerability of Mesothelin-Specific Chimeric Antigen Receptor-Positive T Cells in Patients With Metastatic Mesothelin-Expressing Breast Cancer</i>	I	186	06/2016 a 06/2025	Ativo, não recrutando	Não publicados até o momento.
	NCT02580747	<i>Clinical Study of Chimeric Mesothelin Antigen Receptor-modified T Cells in Relapsed and/or Chemotherapy Refractory Malignancies</i>	I	20	10/2015 a 11/2018	Desconhecido	Não publicados até o momento.
	NCT03545815	<i>Phase I Study to Evaluate Treatment of CRISPR-Cas9 Mediated PD-1 and TCR Gene-knocked Out Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells in Patients With Mesothelin Positive Multiple Solid Tumors.</i>	I	10	19/03/2018 a 30/12/2020	Desconhecido	Resultados publicados demonstraram ausência de toxicidade limitante de dose ou efeitos adversos não esperados. A melhor resposta foi a estabilização da doença em 2 pacientes, mas observou-se uma baixa persistência das células <i>in vivo</i> .
NKG2DL	NCT04107142	<i>A Phase I Dose-escalation Trial to Evaluate Haploidentical / Allogeneic Natural Killer Group 2D Ligand (NKG2DL)-Targeting Chimeric Antigen Receptor-grafted Gamma Delta (γδ) T Cells (CTM-N2D) in Subjects With Relapsed or Refractory Solid Tumour</i>	I	10	01/12/2019 a 01/03/2021	Desconhecido	Não publicados até o momento.

Obs.: número de participantes e períodos reais ou estimados, a depender do *status* do estudo.

4.1. Receptor do fator de crescimento epidermal (EGFR)

O EGFR, também conhecido como HER1 (do inglês, *Human Epidermal growth factor Receptor 1*), faz parte da família de receptores tirosina quinase ErbB, sendo considerado um dos principais alvos da terapia do câncer e um dos principais marcadores em termos de distinção entre o CMTN e outros subtipos de câncer de mama (Xia et al., 2020; Zhou et al., 2022; Nakai; Hung; Yamaguchi, 2016). Sua superexpressão envolve 45 a 70% dos casos de CMTN e está relacionado a um pior prognóstico da doença, além de ser altamente expresso em outros tumores epiteliais. Seu papel na progressão do CMTN e de outros tumores está envolvido com a proliferação e a sobrevivência das células tumorais, angiogênese, invasão e quimiorresistência (Liu et al., 2019; Nakai; Hung; Yamaguchi, 2016).

Ainda que antagonistas de EGFR estejam em uso na clínica para diferentes tipos cânceres, como os inibidores gefitinibe e erlotinibe e os anticorpos monoclonais cetuximabe e panitumumabe, sua efetividade é reduzida devido a mecanismos de resistência ou baixa resposta pelo paciente, gerando falha terapêutica (Nakai; Hung; Yamaguchi, 2016). Portanto, investigar a eficácia e aplicabilidade deste alvo a partir de células CAR-T pode estabelecer novas estratégias para tratar CMTN com alta expressão de EGFR.

Além dos estudos pré-clínicos descritos a seguir, é importante destacar que um estudo clínico de fase I inicial está em andamento e na etapa de recrutamento para CMTN e câncer de pulmão, cuja intervenção se trata de células EGFR/B7-H3 CAR-T (NCT05341492) (Tabela 2).

4.1.1. Avaliação pré-clínica de células EGFR CAR-T no CMTN

Xia et al. (2020) apresentaram, baseando-se na elevada expressão de EGFR observada em linhagens de CMTN (dentre elas MDA-MB-231, MDA-MB-468, HS578T e HCC1860) comparado com outros subtipos de câncer de mama, a construção de células EGFR CAR-T de terceira geração. Como resultados, observou-se citotoxicidade potente, específica e dose e tempo dependentes das células terapêuticas contra as células de CMTN *in vitro*, tanto em termos de marcadores de ativação (como CD69 e CD25) quanto secreção de citocinas (como TNF- α , IL-2 e IFN- γ).

Três principais vias estavam envolvidas na atividade antitumoral das células EGFR CAR-T contra as células MDA-MB-231, segundo Xia e colaboradores (2020): granzima-perforina-PARP (perforina gera poros na membrana que permitem a difusão de granzimas e a consequente clivagem de substratos, como PARP e caspases, ativando as vias de dano mitocondrial e ao DNA), Fas-FADD-caspase (indução de morte celular via ligação FasL ao receptor Fas - complexo que se liga ao FADD - e ativação de caspases) e IFN- γ (altos níveis secretados pelas células T efetoras, amplificando a ação antitumoral). *In vivo*, os modelos xenográficos de CMTN em camundongos tratados com as células CAR-T apresentaram diminuição da taxa de crescimento tumoral, com citotoxicidade *off-tumor* mínima, não apresentaram metástases como o grupo controle e dois dos seis animais tratados foram curados, sem sinais do tumor até mesmo após quatro meses (Xia et al., 2020).

Em estudo anterior a este, Liu e colaboradores (2019) demonstraram resultados semelhantes, no qual a efetividade e a seletividade de dois tipos de EGFR CARs (variações no domínio scFv) foram determinadas *in vitro* e *in vivo*, reforçando a possibilidade de aplicação desta abordagem para o CMTN.

4.1.2. Combinação de células EGFR CAR-T com inibidor de CDK7

Assim como outras imunoterapias, atingir taxas de respostas duráveis por meio da terapia celular CAR-T é difícil, devido a mecanismos de evasão imune do tumor e a resistência adquirida (Saleh; Elkord, 2020). Por exemplo, a resposta através da ativação das células CAR-T, sobretudo pela liberação de IFN- γ , induz a expressão de genes imunossupressores na célula alvo, como PD-L1. É proposto que as células tumorais em encontro com as células T efetoras ativadas e, consequentemente, na presença de IFN- γ , induzem a expressão de PD-L1 como forma de preparação para o ataque imune eminente, sendo este um mecanismo de escape (Mandai et al., 2016).

Como observado por Xia et al. (2021), um terço das linhagens celulares de CTMN em modelos xenográficos tratados com EGFR CAR-T apresentaram resistência à terapia após cerca de 30 dias e a via de sinalização mais enriquecida estava relacionada com a ação do IFN- γ ; neste caso, outros genes imunossupressores também estavam envolvidos além do PD-L1, como IL-6, PD-L2, HVEM, CXCL2, etc.

Uma grande dependência de CDK7 (Quinase Dependente de Ciclina 7) já foi estabelecida para o CMTN, sendo um componente crítico para a transcrição de genes importantes para a sobrevivência e proliferação celular neste tipo de câncer (inclusive a expressão do próprio EGFR) (Wang et al., 2015). Xia e colaboradores (2021), neste contexto, estudaram a combinação das células EGFR CAR-T com o inibidor covalente de CDK7, o THZ1, identificando sua capacidade de suprimir os genes induzidos por IFN- γ em 47%, inclusive genes imunossupressores, e de ressensibilizar células resistentes à terapia CAR-T. *In vivo*, esta combinação aumentou a eficácia terapêutica das células CAR-T, observada por meio da redução do crescimento tumoral e de metástases, além de suprimir a resistência imune e gerar sobrevida prolongada para animais re-desafiados com células tumorais após a erradicação com a combinação terapêutica (Xia et al., 2021).

4.1.3. Combinação de células EGFR CAR-T com radioterapia

Combinações de imunoterapias com radioterapias também são interessantes, inclusive para a abordagem de células CAR-T, uma vez que a radioterapia traz algumas vantagens: promove a expansão das células CAR-T e aumenta sua citotoxicidade contra as células alvo; modula o TME e a expressão de integrinas nas células endoteliais, promovendo o *homing* (direcionamento para o tumor) das células CAR-T e facilitando a migração até o tumor; e aumenta a eficácia da terapia celular por também agir diretamente na morte das células tumorais (Zhong et al., 2023).

Para o CMTN, células EGFR CAR-T já foram estudadas em combinação com a radiação ionizante (IR) por Zhou e colaboradores (2022) e, de fato, houve um aumento da eficácia da atividade antitumoral tanto *in vitro* quanto *in vivo* independentemente da radiosensibilidade dos modelos, elevando a sobrevida dos animais (inclusive curando três dos sete animais de cada grupo, com administração de CAR-T antes ou após a IR) e gerando resistência completa contra re-desafios com a inoculação de novas células tumorais. Também foi demonstrado o papel da IR no aumento da infiltração das células CAR-T, por meio do aumento da expressão de ICAM1, e o fato de que esta combinação não gerou maior risco para CRS (Zhou et al., 2022).

4.1.4. Combinação de células EGFR CAR-T com estratégias que modulam o TME imunossupressor

O TME afeta a sobrevivência, a proliferação e as funções efetoras das células imunes, inclusive das células CAR-T quando adentram o tumor, estabelecendo um microambiente imunossupressor através da hipóxia, acidez e acúmulo de lactato, além de outros fatores proporcionados pelas disfunções das células tumorais (Tuccitto et al., 2018).

Estratégias que modulem o TME se fazem necessárias para favorecer a atuação das células CAR-T e das próprias células imunes endógenas. Neste sentido, Dong et al. (2024) combinaram microrreatores de coloidossomas (catalase encapsulada em nanopartículas de carbonato de cálcio) com células EGFR CAR-T em um modelo animal de CMTN. A literatura traz aplicações destes compostos para modificar o TME imunossupressor, já que a catalase atua na quebra do peróxido de hidrogênio gerado pelas células tumorais e, conseqüentemente, oxigena o tecido, enquanto o carbonato de cálcio atua na modulação do pH desse microambiente (Najafi et al., 2022; Lin et al., 2024).

Conforme descrito pelos autores, as funções destes microrreatores em neutralizar a acidez do tumor, reduzir a hipóxia e suprimir a produção de lactato são capazes de favorecer a ação das imunoterapias, o que foi visto pelo aumento da eficácia antitumoral das células CAR-T, estabelecida principalmente pela maior infiltração das células no tumor e pela maior secreção de citocinas (como IFN- γ e TNF- α) (Dong et al., 2024).

4.1.5. Células EGFR CAR-T no tratamento de MC-CMTN

Sabe-se que, devido a sua agressividade, o CMTN possui alta capacidade de metastizar e a propensão de desenvolvimento de metástases cerebrais (MCs) em casos de CMTN metastático é de 30 a 46%, sem tratamentos específicos para seu manejo (Jin et al., 2018; Martins et al., 2016). Além disso, a expressão de EGFR em tecidos de CMTN aumenta o risco de desenvolvimento de MCs (Bryan et al., 2021).

Subham e colaboradores (2022) aplicaram o EGFR806 CAR-T (baseado no anticorpo mAb806, que é restrito ao EGFR do tumor pela amplificação oncogênica) em modelos de MC-CMTN. Esta célula CAR-T está em estudo clínico para tumores

pediátricos cerebrais via intratumoral (NCT03638167) sem toxicidade limitante de dose observada (Subham et al., 2022). Além de verificarem a expressão de EGFR em MC-CMTN (seis de treze metástases cerebrais apresentaram EGFR membranoso e citoplasmático) e em linhagens primárias de CMTN, avaliou-se a atividade antitumoral *in vitro* e *in vivo* do EGFR806 CAR-T contra linhagens de CMTN. A partir de modelos xenográficos ortotópicos em camundongos, houve erradicação das metástases cerebrais, fato acompanhado por 124 dias, evidenciando a regressão (Subham et al., 2022).

Como não há, até o momento, nenhuma terapia consolidada que promova o controle ou remissão do MC-CMTN (Jin et al., 2018), estes resultados colocam as células EGFR CAR-T como uma futura alternativa terapêutica. Porém, certas limitações, como a presença de EGFR citoplasmático (ou seja, não acessível à ação das células T modificadas), estão envolvidas, necessitando de mais estudos.

4.1.6. Monitoramento da terapia celular pan-ErbB CAR-T via PET/CT

Com as grandes evoluções geradas através do CAR-T, fazem-se necessárias associações entre achados de imagem e a apresentação clínica para um melhor entendimento dos efeitos terapêuticos e adversos da terapia, além de maneiras de monitorar a atividade dessas células no organismo de forma não invasiva (Yoon et al., 2021).

Volpe e colaboradores (2020) desenvolveram o pan-ErbB TIE28z CAR, cujos alvos são a maioria dos homo e heterodímeros membros da família ErbB, muitas vezes com expressão desregulada em tumores sólidos, como é o caso do CMTN. Um dos objetivos principais foi o de rastrear e quantificar a retenção das células CAR-T no organismo de forma não invasiva via tomografia computadorizada por emissão de pósitrons (PET/CT). Para isso, foi inserido o gene repórter de NIS (simportador de iodeto de sódio humano) nas células CAR-T, o que não comprometeu a funcionalidade e viabilidade das células. Neste estudo, duas linhagens de CMTN (MDA-MB-231 e MDA-MB-436) foram utilizadas em modelos *in vitro* e *in vivo* (Volpe et al., 2020).

No modelo *in vivo* de xenógrafos ortotópicos em camundongos, houve uma correlação inversa entre a presença de *checkpoints* imunes e a retenção das células CAR-T no tumor: a linhagem MDA-MB-231, que possui maior expressão de

checkpoints inibitórios, como PD-L1, não reteve as células CAR-T. Então, combinações com inibidores de *checkpoints* imunes podem ser interessantes (Volpe et al., 2020).

As células pan-ErbB TIE28z CAR-T se mostraram ativas pela redução das células tumorais no local da administração (via intratumoral), mesmo que não tenham infiltrado na massa tumoral adjacente. Esse fato pode ser justificado pelo TME hostil e pelas adaptações celulares. Ainda, não houve redução do tamanho dos tumores, corroborando com a perda de células terapêuticas ao longo do tempo (Volpe et al., 2020).

Os autores concluíram que o uso da imagem como biomarcador da terapia pode fornecer informações preditivas para o sucesso terapêutico, inclusive informações de segurança, como acúmulo em diferentes localizações *off-tumor*. Além disso, o TIE28z CAR foi aplicado em estudo clínico (NCT01818323) para cânceres de cabeça e pescoço, demonstrando segurança e persistência intratumoral, sendo descrita estabilização da doença em 60% dos participantes (9 de 15) após seis semanas de administração (Papa et al., 2023).

4.1.7. Células ESMA EGFR CAR-T e a maior persistência da terapia

Ebbinghaus et al. (2024) desenvolveram as células ESMA (do inglês, *Endogenous Signaling Molecule Activating*) EGFR CAR-T, cujo principal objetivo foi o de aumentar a persistência das células CAR-T no tratamento do CMTN. Esta abordagem gera CARs sem o domínio interno CD3ζ, utilizando domínios transmembranares para interação com as moléculas de sinalização endógenas.

Como resultado deste estudo, observou-se que, comparado ao CAR de segunda geração, as células EGFR ESMA CAR-T foram capazes de atuar contra as células de CMTN de forma mais lenta e sustentada, com menor expressão de marcadores de exaustão e menor secreção de citocinas. Ademais, em modelos xenográficos *in vivo*, atestou-se a eficácia antitumoral das células, junto a um fenótipo de memória das células T aumentado e a uma infiltração tumoral robusta (Ebbinghaus et al., 2024).

As características do ESMA, então, podem fornecer os recursos necessários para evitar a exaustão das células T no foco do tumor (Niu et al., 2024).

4.2. Mesotelina (MSLN)

A mesotelina (MSLN) é um antígeno de superfície ligado ao glicosil-fosfatidil-inositol, de elevada imunogenicidade, cuja expressão ocorre em células mesoteliais normais (pleura, peritônio e pericárdio) e em diferentes tipos de malignidades, incluindo o câncer de ovário, de pâncreas e o CMTN (Parinyanitikul et al., 2013; Li et al., 2014; Tozbikian et al., 2014). O entendimento de suas funções biológicas é limitado, mas diferentes dados na literatura indicam seu papel na adesão celular, sobrevivência, proliferação, migração, invasão, progressão tumoral e quimiorresistência. Os mecanismos incluem inibição das vias apoptóticas e maior progressão do ciclo celular (Parinyanitikul et al., 2013; Tang; Qian; Ho, 2013; Tozbikian et al., 2014; Bayoglu et al., 2015).

Em princípio, a expressão de MSLN no câncer de mama era desconhecida. Porém, em 2012, Tchou et al. identificaram que a expressão deste antígeno ocorria em maior proporção para amostras de CMTN (67%) comparado com os subtipos de câncer de mama HER2 ou RE positivos (menor que 5%).

Dois estudos mostraram que o prognóstico do CMTN independe da expressão de MSLN (Parinyanitikul et al., 2013; Bayoglu et al., 2015). Por outro lado, Li et al. (2014), considerando as limitações para a correlação com o desfecho clínico em termos de amostragem inadequada, por exemplo, projetaram um estudo com duas coortes independentes, uma considerando 141 pacientes tratados na instituição e outra (coorte de validação) com 844 pacientes por dados do *The Cancer Genome Atlas* (TCGA). De fato, este estudo constatou que a MSLN é um marcador prognóstico, cuja maior expressão ocorre no CMTN, indicando desfechos clínicos desfavoráveis assim como visto por Tozbikian et al. (2014).

Por sua expressão em tecidos normais ser restrita, além de sua elevada imunogenicidade e a associação com um prognóstico desfavorável do CMTN, a MSLN demonstra ser um alvo atrativo para imunoterapia deste tipo de câncer e vem sendo estudada em diferentes abordagens, como anticorpos biespecíficos (Bano et al., 2019) e imunotoxinas (Alewine et al, 2014).

A seguir, serão descritos os estudos já realizados e em andamento com a aplicação de células CAR-T anti-MSLN para o CMTN. Além destes, mais dois estudos clínicos investigam a terapia celular com este antígeno para o CMTN e outros tumores sólidos, NCT02792114 e NCT02580747, sendo que o primeiro se encontra em

andamento e o segundo com *status* desconhecido no *ClinicalTrials.Gov*, ambos sem resultados publicados até o momento (Tabela 2).

4.2.1. Disrupção do gene PD-1 em células MSLN CAR-T: estudos pré-clínicos e clínicos para o CMTN

Um dos mecanismos de evasão imune das células tumorais envolve a *upregulation* do *checkpoint* imune inibitório PD-L1 e sua ligação ao receptor PD-1 das células imune, sendo que a maior expressão de PD-L1/PD-1 é um indicador para um prognóstico ruim em vários tipos de tumores, inclusive em cânceres de mama (Hu et al., 2018). A via PD-1/PD-L1 controla a tolerância das células imunes ao tumor no TME, uma vez que reduz a ativação, proliferação, secreção de citocinas e sobrevivência das células T (Han; Liu; Li, 2020).

As células MSLN CAR-T, no geral, apresentam perda de função associada com o aumento da expressão de PD-1, comprometendo sua atividade citotóxica e a secreção de citocinas (Hu et al., 2018). Estes dados sugerem que maneiras de inibição deste eixo são interessantes para elevar a eficácia da terapia celular CAR-T.

Hu e colaboradores (2019), por meio da tecnologia de edição gênica CRISPR/Cas9, promoveram a disrupção do gene de PD-1 em células MSLN CAR-T. Comparativamente com células MSLN CAR-T de segunda geração, a disrupção de PD-1 nas células CAR-T gerou maior citotoxicidade e secreção de citocinas contra a linhagem de CMTN BT-549, além de maior eficácia em termos de controle tumoral e de prevenção de recorrência em modelos *in vivo* de CMTN. Esses efeitos foram vistos tanto comparado com as células de segunda geração sozinhas quanto em combinação com anticorpos anti-PD-1, mostrando o maior efeito da eliminação gênica na atividade antitumoral das células terapêuticas.

Neste mesmo contexto, um estudo clínico de fase I (NCT03545815; Tabela 2) avaliou os efeitos da administração sistêmica de células MSLN CAR-T deficientes de PD-1 e de TCR (receptor de célula T) através da tecnologia CRISPR/Cas9 em diferentes tumores MSLN positivos (Wang et al., 2021). Uma das pacientes participantes do estudo possuía CMTN com lesão mestastática recorrente na parede torácica e, após duas infusões das células CAR-T, atingiu os critérios de doença estável, havendo um encolhimento de 20% do tumor 77 dias após a primeira infusão. Nenhuma toxicidade limitante de dose ou efeitos adversos não esperados foram

detectados. Por outro lado, observou-se baixa persistência das células *in vivo*, o que foi correlacionado com a ausência de TCR nestas células (Wang et al., 2021).

4.2.2. Células MSLN CAR-T universais (UCAR-T) aplicadas ao CMTN

Sabe-se que todos os produtos de células CAR-T disponíveis atualmente são autólogos, ou seja, as células T derivam do próprio paciente (personalizadas), com objetivo de evitar rejeição por interações dos diferentes MHCs entre o doador e o receptor. Através de tecnologias que contornem o risco da doença do enxerto vs hospedeiro (GvHD) e da rejeição do enxerto (doença do hospedeiro vs enxerto - HvGD), como disrupção gênica de TCR e de B2M, células CAR-T alogênicas (células T derivadas de doadores saudáveis) são geradas, caracterizando-as como células CAR-T universais (UCAR-T) (Lin et al., 2021).

Assim, a produção em massa dessas células terapêuticas se torna possível, com menores custos e tempo de fabricação por bateladas, além do aumento da aplicabilidade, eficácia e segurança do tratamento (Lin et al., 2021; Muthuvel et al., 2022). Outras características incluem a menor amplificação e persistência *in vivo* das células UCAR-T comparado às células CAR-T autólogas (Lin et al., 2021).

Com o objetivo de obter células CAR-T não-aloreativas para um melhor perfil de segurança, além das vantagens já citadas, Das e colaboradores (2023) desenvolveram duas células UCAR-T, cada uma delas direcionada para um antígeno: proteína de ativação de fibroblastos alfa (FAP) e a MSLN. Cabe destacar que este foi o primeiro modelo pré-clínico de células CAR-T não-aloreativas para o CMTN.

A construção dessas células envolveu a tecnologia de engenharia genética TALEN (Nucleases Efetoras Semelhantes a Ativadores de Transcrição) para disrupção de TRAC (região constante da cadeia α do receptor de célula T), visando prevenir a GvHD, e de B2M, já que sua deleção afeta a expressão de HLA-ABC, gerando resistência para a rejeição e, assim, aumentando a persistência das células (Das et al., 2023).

Como resultados deste estudo, observou-se que a adição de fibroblastos câncer-associados (CAFs) aos modelos *in vitro* e *in vivo* de CMTN estudados, para simular o TME, reduziu a citotoxicidade das células MSLN UCAR-T. Após a sensibilização do tumor com as células FAP UCAR-T, foi validado que as células

MSLN UCAR-T foram capazes de infiltrar no tecido tumoral e de exercer sua ação antitumoral de forma eficiente. Porém, não foi discutida a ausência de efeitos de rejeição ou GvHD para os animais tratados com as células terapêuticas universais. Como desfecho, os animais sucumbiram a doença por metástases secundárias, sobretudo no pulmão, destacando que o protocolo de tratamento deve ser otimizado (Das et al., 2023).

4.2.3. Uso de exossomas derivados de células MSLN CAR-T

Mesmo que a terapia celular CAR-T seja uma das abordagens imunoterapêuticas mais promissoras, um de seus desafios inclui o risco de efeitos adversos graves, como a CRS, na qual há uma liberação exacerbada de citocinas inflamatórias na circulação sistêmica, que ocasiona a hiperativação imune e o consequente ataque a diferentes órgãos vitais. Além disso, problemas quanto ao escape imune do tumor, exaustão das células e a difícil infiltração no tecido tumoral também são limitações consideráveis da terapia (Sani et al., 2024).

Como alternativa, a literatura mostra que o uso de exossomas derivados de células CAR-T pode promover uma ação antitumoral mais segura e, ainda assim, efetiva para a terapia do câncer (Sani et al., 2024; Fu et al., 2019; Tang et al., 2015). Os exossomas são um subgrupo de vesículas extracelulares, capazes de carregar diferentes compostos, como ácidos nucleicos e proteínas (Sani et al., 2024; Tang et al., 2015). Além da possibilidade de combinação entre células CAR-T e seus exossomas para aumentar a eficácia terapêutica das terapias isoladas (Sani et al., 2024), alguns trabalhos trazem esta abordagem como possível substituição do uso de células, já que os exossomas retêm a maior parte das características da célula que o secretou e dos meios para comunicação intercelular com as células alvo (Tang et al., 2015).

Yang et al. (2021) investigaram a utilização de exossomas derivados de células MSLN CAR-T *in vitro* e *in vivo*, através de modelos de CMTN (linhagens BT-549 e MDA-MB-231). Os autores consideraram o tratamento com exossomas uma possível abordagem complementar à terapia CAR-T, sem comparar os efeitos entre ambas as terapias. Os resultados *in vitro* indicaram que os exossomas apresentaram a mesma topologia membranar que as células MSLN CAR-T desenvolvidas, como a própria expressão do CAR nestas vesículas (cerca de 92%), além do carregamento de

moléculas efetoras capazes de lesar diretamente as células tumorais (perforina e granzima B) (Yang et al., 2021).

Exceto para a linhagem MDA-MB-231, que possui menor expressão de MSLN, os exossomas atuaram eficientemente contra as células de CMTN. Com a administração intravenosa dos exossomas em modelos *in vivo*, observou-se um crescimento tumoral inibido, junto a redução do volume e do peso dos tumores de forma dose-dependente e sem sinais de toxicidade (Yang et al., 2021). Assim, ainda que mais investigações sejam necessárias, este estudo exhibe o potencial de exossomas de células CAR-T para o CMTN.

4.3. Mucina 1 (MUC1)

A mucina 1 (MUC1) é uma proteína altamente glicosilada presente na membrana de diferentes células epiteliais glandulares e que possui um importante papel na proteção celular em tecidos normais, estabelecendo uma barreira física para as células. Além disso, essa proteína atua na adesão, sinalização, imunomodulação, lubrificação e hidratação da superfície celular, entre outras funções. Em tecidos tumorais, a MUC1 pode passar a ser superexpressa de forma aberrante, com glicosilação anormal, participando da carcinogênese. Algumas das características que integram a MUC1 ao desenvolvimento do tumor incluem a promoção da quimio e radorresistência, contribuição para invasão e metástase, indução da angiogênese, imunomodulação, entre outras (Li et al., 2022).

Para o câncer de mama, a superexpressão da MUC1 corresponde a mais de 90% dos casos. Especificamente para o CMTN, 94% dos tecidos de fenótipo basal de alto grau em estágio inicial expressam este antígeno e, assim, estes dados colocam a MUC1 como um alvo atraente para imunoterapia, como será evidenciado a seguir (Li et al., 2022; Siroy et al., 2013).

4.3.1. Avaliação pré-clínica de células MUC1 CAR-T no CMTN

No campo da terapia celular, Zhou et al. (2019) aplicaram o fragmento scFv do anticorpo monoclonal TAB004 para a construção de um CAR anti-MUC1 de segunda geração (MUC28z). Este anticorpo reconhece especificamente a MUC1 aberrantemente glicosilada do tecido tumoral, poupando as células normais que a

expressam. Desta forma, por modelos de CMTN (linhagem HCC70) *in vitro* e *in vivo*, os autores identificaram citotoxicidade alvo-específica das células CAR-T, com mínima ação *off-target* em tecidos epiteliais de mama normais, assim como alta produção de citocinas, como granzima B e IFN- γ , e redução significativa do crescimento tumoral do xenoinxerto ortotópico em camundongos.

Por outro lado, alguns pontos foram considerados e devem ser explorados na otimização da terapia: a exaustão celular detectada pela alta expressão de PD-1 nas células CAR-T, sendo interessante, por exemplo, a combinação com anticorpos anti-PD-1; e, 60 dias após a administração, os tumores tratados no modelo xenográfico começaram a progredir de forma acelerada, indicando a necessidade de se avaliar como o manejo de dose/frequência de administração pode afetar este resultado (Zhou et al., 2019).

4.3.2. Células Supressoras Mieloide-Derivadas (MDSCs) e seus efeitos nas células MUC1 CAR-T

As células supressoras mioeloides-derivadas (MDSCs) são consequência de uma mielopoiese aberrante e atuam na supressão de células T CD4 e CD8 positivas, induzindo a tolerância. Tratam-se de células mieloides imaturas e heterogêneas, que suprimem o sistema imune por meio de citocinas inibitórias e de outras moléculas, o que favorece o desenvolvimento tumoral quando elas estão presentes no TME. Além disso, o grau do tumor e o seu estágio clínico estão associados aos níveis destas células, assim como a ocorrência de metástases, podendo ser um marcador prognóstico para cânceres de mama (Shadbad; Hajiasgharzadeh; Baradaran, 2020; Stovgaard et al., 2018).

Nalawade e colaboradores (2021) investigaram, então, o efeito das MDSCs na atividade antitumoral das células MUC1 CAR-T. Os autores desenvolveram células CAR-T com e sem a expressão do receptor quimérico coestimulatório TR2.41BB. É proposto que esse receptor seja capaz de coestimular a célula através do domínio 4-1BB e de promover a apoptose das MDSCs, uma vez que sua constituição inclui o fragmento scFv do DS-8273a, um anticorpo agonista do receptor TR2 expresso nas MDSCs e que desencadeia apoptose quando ativado.

Os autores observaram que a presença de MDSCs nos modelos de tumores *in vivo* estava associada a tumores mais volumosos, mais vascularizados e com maior

acúmulo de fibroblastos. Além disso, estas células diminuíram a citotoxicidade potencial das células MUC1 CAR-T contra linhagens de CMTN em 25%. Por outro lado, com a expressão de TR2.41BB nas células CAR-T, houve indução de apoptose nas MDSCs e aumento da atividade citotóxica, o que, no tratamento de modelos xenográficos de CMTN (MDA-MB-231), resultou em redução do crescimento tumoral superior à expressão de CAR-MUC1 ou TR2.41BB isoladamente nas células T, além de maior proliferação e persistência e prevenção de metástases (Nalawade et al., 2021).

Desta forma, estes dois alvos, MUC1 e TR2, demonstram resultados interessantes que podem facilitar a viabilidade clínica da terapia celular para o CMTN, reduzindo o impacto do TME hostil.

4.3.3. Avaliação clínica de células MUC1 CAR-T em pacientes com CMTN

Além das avaliações pré-clínicas supracitadas, estudos clínicos intervencionais também investigam a MUC1 como alvo da terapia celular CAR-T para o CMTN (NCT02587689, NCT04025216 e NCT04020575; Tabela 2).

Conforme descrito no *ClinicalTrials.Gov*, o estudo NCT04025216 foi interrompido pela razão risco/benefício desfavorável determinada pelo patrocinador do estudo, mas os resultados obtidos não foram publicados na plataforma. O estudo NCT02587689 foi finalizado, mas os resultados ainda não foram publicados e consta como *status* desconhecido. Por fim, o estudo NCT04020575 está em andamento na etapa de recrutamento, com previsão para conclusão em 2035, no qual o alvo específico é o domínio extracelular da MUC1*, produto de clivagem proteolítica da MUC1, que funciona como fator de crescimento e está presente em muitos tumores sólidos, inclusive nos cânceres de mama. Até então, seis pacientes foram recrutados e cinco já foram tratados (Bamdad et al., 2022).

4.4. Receptor de tirosina quinase órfão 1 (ROR1)

Os receptores da família tirosina quinase órfãos (ROR1 e ROR2) estão envolvidos com vias celulares de proliferação, diferenciação, migração e angiogênese, sendo importantes no desenvolvimento dos tecidos embrionários, como neuronais e

esqueléticos (Osorio-Rodríguez; Camacho; Ramírez-Segura, 2023; Chein et al., 2016). Após o nascimento, a expressão destes receptores se torna restrita, diminuindo ainda mais no tecido adulto (Chein et al., 2016).

Em muitos tipos de tumores sólidos e hematológicos, a expressão de ROR1 é estimulada e seu papel crítico no comportamento das células tumorais envolve características como migração e invasividade, sendo associado à progressão tumoral, metástase e um prognóstico ruim (Osorio-Rodríguez; Camacho; Ramírez-Segura, 2023; Chein et al., 2016). Especificamente para o CMTN, 22,4% (n = 210) dos pacientes superexpressam ROR1, o que está relacionado a uma menor sobrevida (Chein et al., 2016).

A menor expressão em tecidos saudáveis e sua associação com o desfecho clínico colocam o ROR1 como um alvo potencial para a terapia celular no CMTN, como será discutido a seguir.

4.4.1. Avaliação pré-clínica de células ROR1 CAR-T no CMTN

Wallstabe et al. (2019) trabalharam com modelos tridimensionais (3D) microfisiológicos de CMTN (MDA-MB-231) e de câncer de pulmão para avaliar o potencial de células ROR1 CAR-T. A escolha do modelo se baseou no fato de que culturas bidimensionais são mais simplistas, enquanto modelos 3D conseguem contemplar os desafios específicos dos tumores sólidos de maneira mais realista, como a arquitetura do tecido e o seu microambiente, além de serem possíveis alternativas para modelos animais (Wallstabe et al., 2019).

O tratamento das células de CMTN com as células ROR1 CAR-T gerou efeitos antitumorais potentes e dose-dependentes, sendo que as células terapêuticas foram capazes de infiltrar no tecido tumoral e eliminar as múltiplas camadas de células no modelo de cultura dinâmica. A atividade foi confirmada através da liberação de citocinas (como IFN- γ e IL-2) e da presença de marcadores de ativação (como CD25 e CD69). Por outro lado, observou-se exaustão dessas células (expressão de PD-1 nas células CAR-T e do respectivo ligante nas células tumorais) e células tumorais residuais no final da cultura, podendo ser necessário mais tempo de cocultura com as células CAR-T, doses maiores ou combinações com inibidores de *checkpoints* imunes (Wallstabe et al., 2019).

4.4.2. Combinação de células ROR1 CAR-T com SD-208

A citocina TGF- β possui um papel importante tanto no desenvolvimento normal das glândulas mamárias quanto no desenvolvimento de tumores de mama (Zhang et al., 2019). Esta citocina possui um papel dual no câncer, atuando inicialmente como supressor tumoral e, quando as células tumorais se tornam resistentes às suas ações antiproliferativas, ela age na promoção e na progressão do tumor, aumentando a motilidade celular, invasão e metástase (Zhang et al., 2019; Ding et al., 2015). Além disso, tratando-se de uma citocina imunossupressora, TGF- β age como um potente inibidor das células T que infiltram o tecido tumoral (Stüber et al., 2020).

Diferentes estudos descrevem a elevada expressão de TGF- β 1 em tecidos de CMTN, com valores variando entre 37,2% e 52,5% dos casos, tratando-se de um possível marcador prognóstico da doença (Zhang et al., 2019; Ding et al., 2015).

Interferindo na via de sinalização de TGF- β , Stüber et al. (2020) propuseram, por meio de modelos *in vitro* 3D de CMTN, a combinação entre o inibidor do receptor de TGF- β tipo I (SD-208) e células ROR1 CAR-T. Em princípio, observaram que a exposição a esta citocina reduziu a atividade citolítica e a secreção de citocinas pelas células ROR1 CAR-T contra a linhagem MDA-MB-231, além de prejudicar a proliferação e a viabilidade das células terapêuticas. A combinação com SD-208 protegeu as células CAR-T da ação de TGF- β e as células mantiveram suas funções antitumorais, sendo proposto também que SD-208 pode prevenir a exaustão celular, já que menores níveis de PD-1 foram detectados nas células CAR-T comparado com as células CAR-T aplicadas isoladamente após os 5 dias de ensaio (Stüber et al., 2020).

4.4.3. Secreção localizada de scFv anti-PD-1 e eficácia das células ROR1 CAR-T

O grande obstáculo gerado pela sinalização PD-1/PD-L1 para a terapia do câncer instigou Harrasser e colaboradores (2022) a estudarem como a secreção autócrina e localizada de scFv anti-PD-1 por células ROR1 CAR-T influencia a sua atividade antitumoral. Através deste estudo, observou-se que essas células CAR-T “armadas” (modificadas para secretar anticorpos ou moléculas que aumentam sua eficácia), comparado a células CAR-T de segunda geração, foram mais eficientes em

culturas *in vitro* contra a linhagem MDA-MB-231 e apresentaram menor expressão de PD-1 de superfície.

Com as células “armadas”, a secreção de scFv anti-PD-1 apenas na presença das células tumorais alvo em modelos xenográficos de CMTN reduziu o crescimento tumoral e aumentou significativamente a sobrevida dos camundongos para 71 dias (com as células CAR-T de segunda geração, a sobrevida foi de 49 dias), sendo esse resultado maior ainda quando comparado com a combinação de células CAR-T de segunda geração com anticorpos anti-PD-1 administrados de forma sistêmica, o que gerou uma sobrevida de 57 dias (Harrasser et al., 2022). Houve, também, maior infiltração tumoral pelas células T e uma assinatura transcricional única das células com genes envolvidos na migração, proliferação e citotoxicidade (Harrasser et al., 2022).

4.4.4. Avaliação clínica de células ROR1 CAR-T em pacientes com CMTN

No total, três estudos clínicos de fase I tratando de células ROR1 CAR-T para o CMTN foram identificados no *ClinicalTrials.Gov* (Tabela 2).

Os estudos NCT05694364 e NCT05274451 estão em fase de recrutamento; o primeiro objetiva avaliar a segurança e a eficácia de células ROR1 CAR-T (PRGN-3007), denominadas como UltraCAR-T por expressarem simultaneamente o receptor quimérico, IL-15 de membrana, um mecanismo de segurança e um mecanismo de bloqueio intrínseco de PD-1, contra tumores hematológicos e CMTN ROR1 positivos (Ibarz et al., 2022). O segundo estudo, por sua vez, busca avaliar o LYL797, um CAR-T direcionado ao ROR1 com tecnologias de reprogramação genética e epigenética, em pacientes com CMTN e com câncer de pulmão de células não pequenas (Spigel et al., 2022).

Um dos estudos (NCT02706392) foi interrompido devido à baixa taxa de recrutamento, mas os resultados preliminares demonstraram que o ROR1 CAR-T desenvolvido pode ser transferido e expandido em pacientes com CMTN e com câncer de pulmão de células não pequenas, ainda que tenham sido notados efeitos adversos em alguns dos participantes, como CRS, febre, anemia, taquicardia, distúrbios metabólicos, entre outros. Outro ponto destacado é que as células terapêuticas não

infiltraram apropriadamente no tecido tumoral, impossibilitando, conseqüentemente, a regressão do tumor (Specht et al., 2019).

A ausência de resposta clínica sobre o crescimento tumoral neste estudo é associada por Srivastava et al. (2021) com as características do TME imunossupressor dos tumores sólidos, implicando em sua atividade antitumoral. É proposto pelos autores que a eficácia da terapia celular ROR1 CAR-T pode ser elevada através da quimioterapia imunogênica com oxaliplatina/ciclofosfamida no regime de linfodepleção, cujos mecanismos incluem expressão de citocinas pró-inflamatórias e recrutamento das células T, além tornar o tumor mais sensível a inibidores de *checkpoints* imunes (Srivastava et al., 2021).

4.5. Proteína imunoregulatória B7-H3/CD276

A proteína B7-H3, também conhecida como CD276, atua de forma dual como *checkpoint* imune, estimulando ou inibindo a atividade das células T, ainda que a identificação de seu receptor e suas funções biológicas sejam incertas (Jiang et al., 2024). Sua expressão ocorre em diferentes tipos de malignidades e em células apresentadoras de antígeno, como as células dendríticas e os macrófagos do TME (Jiang et al., 2024). Nos tecidos normais, sua expressão é pouco frequente, o que a torna um alvo atrativo para terapia do câncer (Mei et al., 2024).

Apesar de sua ação dual no sistema imune, esta proteína modula negativamente a ação antitumoral das células T citotóxicas e promove o crescimento dos tumores por permitir a evasão da imunovigilância, além de estar envolvida na proliferação, metástase, desregulação do metabolismo das células tumorais e redução da sensibilidade ao tratamento quimioterápico (Jiang et al., 2024; Mei et al., 2024).

Para o câncer de mama, uma elevada expressão de B7-H3 já foi descrita, sendo correlacionada com a formação do tumor, o desenvolvimento de metástases em linfonodos, um prognóstico desfavorável e parâmetros clínico-patológicos ruins (Jiang et al., 2024; Mei et al., 2024). Em estudo avaliando amostras de cânceres de mama em diferentes estágios, 39% dos cânceres de mama iniciais expressavam mRNA de B7-H3, estando ausente nos tecidos mamários normais (Jiang et al., 2024).

Além disso, resultados descritos sugerem que a expressão de B7-H3 não é diferente entre tecidos não-CMTN e CMTN (amostragens detectaram cerca de 70% de expressão para ambos), mas a sua correlação com o decréscimo de infiltração de

células imunes e com a deposição de colágeno foi identificada apenas para tecidos de CMTN, sendo essas as duas características de tumores *armored-cold*, isto é, tumores frios, pela pouca ou nenhuma infiltração de células imunes, e blindados, devido a deposição de colágeno (Mei et al., 2024).

A partir disso, células B7-H3 CAR-T foram estudadas como opção terapêutica de diferentes tipos de tumores, dentre eles o CMTN. Atualmente, um estudo de fase I (NCT06347068) está em etapa de recrutamento, com o objetivo de investigar a segurança e aplicabilidade de células B7-H3 CAR-T em pacientes com CMTN (Tabela 2). Outras abordagens pré-clínicas serão detalhadas a seguir.

4.5.1. Células B7-H3 CAR-T pluripotentes

Para ativação ótima das células CAR-T, três sinais são necessários: o primeiro pela ligação ao TCR, o segundo através de domínios co-estimulatórios e o terceiro via interação com citocinas (Tian et al., 2020). Encontram-se construções com o domínio CD3 ζ (sinal 1) e domínios co-estimulatórios (sinal 2, como CD28 e 4-1BB), mas o terceiro sinal está deficiente no TME, sendo necessária estratégias para a sua transmissão (Kagoya et al., 2018; Tian et al., 2020). Considerando a via JAK/STAT, que medeia a sinalização de muitas citocinas, modificações gênicas para sua ativação podem promover a atividade antitumoral das células CAR-T.

Zhang e colaboradores (2023) desenvolveram um B7-H3 CAR pluripotente, cujos domínios incluíam uma cadeia encurtada de IL-2R β entre os domínios 4-1BB e CD3 ζ e motivos de ativação relacionados a STAT3 e STAT5, visando uma maior proliferação celular e taxa de sobrevivência e uma menor diferenciação das células CAR-T. Na construção do CAR, IL-2R β foi adicionado para ativar a via de sinalização JAK/STAT via STAT5 e YRHQ para recrutamento de STAT3. Tendo identificado a superexpressão de B7-H3 em diferentes linhagens tumorais, inclusive a MDA-MB-231 de CMTN, os autores prosseguiram com estudos *in vitro* e *in vivo*.

No geral, as células demonstraram ativação dependente do antígeno, elevada atividade proliferativa, infiltração tumoral e marcadores de menores níveis de diferenciação do tipo células T tronco de memória; além disso, foi observado *in vivo* um controle efetivo do CMTN com baixas doses. Esses resultados foram superiores aos encontrados para células B7-H3 CAR-T de segunda geração, sem os domínios

de ativação citados, demonstrando o potencial das células pluripotentes (Zhang et al., 2023).

4.5.2. Uso de nanocorpos na construção de células B7-H3 CAR-T

O racional para o uso de nanocorpos no lugar do convencional fragmento scFv derivado de anticorpos monoclonais (mAbs) para a ligação entre o CAR e o antígeno envolve, por exemplo, o menor tamanho, a facilidade de expressão e de produção, a especificidade, a estabilidade, além de outras características como a imunogenicidade e a auto-agregação de scFv (que pode gerar ativação e exaustão das células CAR-T independente do antígeno) (Kozani et al., 2022). Do ponto de vista estrutural, esses nanocorpos, naturalmente encontrados na família *Camelidae*, consistem apenas em um domínio variável da cadeia pesada (V_{HH}), diferentemente dos anticorpos monoclonais que possuem cadeias pesadas e leves (Kozani et al., 2022).

Li et al. (2023) desenvolveram células B7-H3 CAR-T a partir de nanocorpos derivados de camelos e demonstraram a sua atividade em diferentes modelos de tumores sólidos, dentre eles modelos *in vitro* de CMTN. Conforme descrito, uma citotoxicidade antígeno-dependente foi observada, assim como maior liberação de citocinas quando comparado ao CAR-T com scFv anti-B7-H3. Além disso, resultados promissores foram demonstrados para diferentes tumores *in vivo*, como a erradicação de câncer pancreático em camundongos (Li et al., 2023).

4.5.3. Combinação de células B7-H3 CAR-T com SAHA

A terapia epigenética, utilizando o inibidor de histona desacetilase SAHA (vorinostat), proporcionou o aumento da atividade antitumoral de células B7-H3 CAR-T contra tumores sólidos, observando-se que baixas doses deste inibidor geraram *upregulation* do antígeno, maior expressão de CAR nas células terapêuticas e *downregulation* de moléculas imunossupressoras (como CTLA-4 e TET2) (Lei et al., 2021).

Para o CMTN, constatou-se neste estudo elevados níveis de B7-H3, tanto nas células tumorais quanto no estroma. Ademais, as células CAR-T apresentaram citotoxicidade eficiente e liberação de citocinas *in vitro*, sobretudo quando essas células e as células tumorais eram pré-tratadas com SAHA (Lei et al., 2021).

In vivo, os diferentes modelos xenográficos de CMTN (inoculação da linhagem SUM149, xenoenxerto derivado de paciente e modelo metastático) trouxeram resultados interessantes: o tratamento combinado inibiu significativamente o crescimento tumoral e manteve uma maior infiltração de células T, não apresentando toxicidade aos animais. Especificamente para o modelo metastático, por exemplo, as células CAR-T isoladas ou a terapia combinada controlaram o CMTN até o dia 100 após a administração intravenosa das células tumorais, sendo que a combinação promoveu um tempo de sobrevida significativamente mais longo (Lei et al., 2021). Por outro lado, não houve erradicação completa dos tumores e estratégias adicionais são necessárias para ultrapassar os obstáculos da terapia CAR-T.

A terapia epigenética se tornou uma opção para aumentar a eficácia das células CAR-T, uma vez que este tipo de modificação é capaz de moldar a resposta imune em termos de fenótipo e função das células T, melhorando sua ação em ambientes imunossupressores, como é o TME (Akbari et al., 2021). Um número crescente de estudos demonstra como inibidores de histona desacetilase podem modular o destino das células T, como visto através do estudo de Lei et al. (2021). Porém, mesmo com seu potencial de revolucionar a terapia celular, este tipo de modificação pode afetar múltiplas vias celulares e, por isso, aspectos de segurança devem ser atendidos para o seu uso prático (Akbari et al., 2021).

4.5.4. Células tumorais estressadas reprogramam as células CAR-T

Formas não-genéticas de reprogramar as células CAR-T são possíveis, como descrito por Wang et al. (2023). Neste estudo, os pesquisadores estabeleceram um protocolo de estresse às células tumorais com dissulfiram e cobre, que formam um complexo capaz de gerar apoptose autofágica, e com radiação ionizante (IR), visto que essa combinação induziu uma resposta mais robusta em termos de morte celular imunogênica. Através deste mecanismo, DAMPs (do inglês, *damage-associated molecular pattern*) são liberados, ativando as células apresentadoras de antígeno e, consequentemente, ativando as células CAR-T e as células imunes endógenas, além de promover a expansão celular e diferenciação para células T de memória efetoras (Wang et al., 2023).

Os autores identificaram que o tratamento estressante, de fato, aumentou a expressão de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e de antígenos, como o B7-H3 e o Proteoglicano de Sulfato de Condroitina 4 (CSPG4); neste sentido, B7-H3 CAR e CSPG4 CAR foram desenvolvidos e avaliados *in vitro* e *in vivo* (Wang et al., 2023).

Ambos os CARs apresentaram relevante atividade citotóxica e, no geral, os resultados para as células B7-H3 CAR-T combinadas com o tratamento local de estresse ao tumor foram muito positivos, incluindo: forte citotoxicidade tempo-dependente contra as células de CMTN estressadas com liberação aumentada de IFN- γ ; maior porcentagem de células T de memória; regressão em 100% do tumor em modelos ortotópicos com SUM159 em camundongos e gradual rejeição do tumor após re-desafios com as células tumorais; sobrevida duradoura dos animais; maior infiltração de células T (CAR-T e endógenas) nos tumores com menos marcadores de exaustão; uma reversão do TME imunossupressor; entre outros (Wang et al., 2023).

Além disso, um modelo interessante tratado no estudo foi o uso de células CAR-T derivadas de células periféricas de pacientes com câncer de mama metastático, não de doadores saudáveis, em camundongos portando CMTN ortotópico. Após a exposição ao tratamento de estresse, observou-se respostas terapêuticas robustas e duradouras, as quais geraram rejeição tumoral completa em 40% dos animais (Wang et al., 2023).

Esses dados inferem como a reprogramação proposta é capaz de aumentar a eficácia das células CAR-T e, ainda, elevar a imunogenicidade do tumor frente ao sistema imune endógeno do paciente (imunidades passiva e ativa, respectivamente).

4.6. Receptor tirosina quinase cMET

O receptor tirosina quinase cMET, também conhecido como receptor do fator de crescimento hepatocitário (HGFR), está presente em células epiteliais de diferentes tecidos, exercendo funções importantes para o desenvolvimento do tecido mamário e para a sua transformação tumoral. cMET se encontra superexpresso em diferentes subtipos de cânceres de mama, porém, a amplificação do proto-oncogene MET, que codifica este receptor, está positivamente correlacionada ao fenótipo triplo negativo (Ho-Yen; Jones; Kermorgant, 2015; Kaboli et al., 2024).

A sinalização estabelecida por cMET promove vias de proliferação celular, motilidade, migração, invasão e tubulogênese, favorecendo a progressão do tumor.

Além disso, o potencial metastático de sua atividade, sua relação com a resistência terapêutica e, ainda que controverso, com o desfecho clínico o tornam um alvo atraente para a imunoterapia do câncer de mama (Ho-Yen; Jones; Kermorgant, 2015; Kaboli et al., 2024).

4.6.1. Avaliação clínica da administração intratumoral ou intravenosa de células cMET CAR-T em pacientes com CMTN

Tchou et al. (2017) relataram que cerca de 50% dos casos de cânceres de mama expressam cMET, mesmo que de forma heterogênea entre as amostras de tumores testadas. Após atestar a efetividade *in vitro* e *in vivo*, os autores iniciaram um estudo clínico de fase 0/I para avaliar a segurança e tolerabilidade de células cMET-CAR-T contra tumores de mama metastáticos, em dose única intratumoral (NCT01837602; Tabela 2). Como células normais, dentre elas os hepatócitos, expressam cMET em baixos níveis, a escolha da eletroporação de mRNA (técnica que utiliza impulsos elétricos para introduzir mRNA nas células, permitindo uma expressão temporária de proteínas) na construção das células terapêuticas se mostrou uma saída para evitar os efeitos *on-target/off-tumor* que poderiam ser promovidos pela transdução permanente do CAR nas células T, uma vez que a expressão do CAR passa a ser transiente e se torna negligenciável após sete dias da eletroporação; desta forma, os autores propõem maior segurança da terapia (Tchou et al., 2017).

Neste estudo, quatro dos seis pacientes participantes apresentavam CMTN metastático. Não foram detectados efeitos adversos significativos e nenhuma CRS ocorreu, demonstrando que o tratamento foi bem tolerado. Porém, mesmo que tenham sido notados os efeitos das células cMET CAR-T no tecido tumoral (necrose, hemorragia, infiltração de células inflamatórias e menor imunorreatividade de cMET), nenhuma resposta clínica mensurável foi observada entre os pacientes tratados e não foram observadas relações dose-resposta óbvias (Tchou et al., 2017).

Através de uma construção semelhante de cMET CAR via eletroporação de mRNA em células T, Shah et al. (2023) conduziram um estudo de fase inicial I (NCT03060356; Tabela 2) onde avaliaram a segurança e a viabilidade da administração intravenosa destas células em pacientes com melanoma e CMTN metastático, além de investigarem a atividade preliminar da terapia. Considerando a persistência limitada de CARs baseados em RNA, seis infusões das células

terapêuticas foram realizadas. Quanto a expressão de cMET, a média foi de 35% para os 38 pacientes com CMTN e quatro destas mulheres foram tratadas (Shah et al., 2023).

No geral, não foram observados episódios de neurotoxicidade, anafilaxia ou alergia e o estudo não foi descontinuado por nenhum dos pacientes devido a toxicidade. Considerou-se que o tratamento foi seguro, uma vez que apenas efeitos adversos leves a moderados foram detectados, sendo manejados de forma efetiva. Ainda que seguro, assim como visto por Tchou et al. (2017), nenhuma resposta parcial ou completa foi evidenciada com o tratamento e uma baixa persistência das células CAR-T foi observada. Dos casos de CMTN, dois indivíduos apresentaram estabilização da doença, enquanto os outros dois progrediram. Então, os pacientes descontinuaram a participação no estudo e este foi finalizado com a interrupção do financiamento (Shah et al., 2023).

Os autores concluíram que a falta de resposta pode ter ocorrido pela expansão limitada e pelo tráfego ineficiente até o tumor (*homing*), já que nenhuma evidência do cMET CAR foi encontrada no tecido tumoral de cinco indivíduos tratados; a falta de linfodepleção e a escolha da técnica de eletroporação de mRNA, que limitou a persistência, também pode ter contribuído para o resultado observado, assim como o grau de expressão de cMET (Shah et al., 2023).

Ambos os estudos indicam a necessidade de otimização das células terapêuticas, como CARs biespecíficos e associações com inibidores de *checkpoints* imunes, para superar os desafios que os tumores sólidos oferecem para a terapia celular.

4.7. Ligantes do receptor de células *natural killer* tipo 2D (NKG2DLs)

O NKG2D (Grupo de Células NK 2, Membro D) é um receptor ativador imune pertencente à família de proteínas transmembranares da lectina tipo C. Sua função é importante para atividade do sistema imune inato e adaptativo e para a imunovigilância, sendo expresso em células NK e populações de células T. Os seus diferentes ligantes (NKG2DLs) são induzidos em condições de estresse, inclusive no que diz respeito ao processo de transformação tumoral, fazendo com que a sinalização NKG2D/NKG2DL promova a erradicação de células malignas. Por outro lado, relatos contraditórios são descritos quanto a significância clínica da sinalização

NKG2D/NKG2DL no câncer, variando conforme o contexto da malignidade, além do possível caráter pró-tumorigênico da inflamação crônica que este receptor promove (Tan; Spillane; Maher, 2023).

De fato, mais de 80% dos cânceres humanos expressam esses ligantes e, dentre eles, estão os cânceres de mama (Tan; Spillane; Maher, 2023). Han e colaboradores (2018) observaram que a maioria das linhagens de CMTN que estudaram expressava níveis elevados a moderados de NKG2DLs. A partir disso, os autores descreveram a aplicabilidade de células CAR-T tendo como alvo os diferentes NKG2DLs, como MICA/B e ULBP1. O estudo foi feito considerando duas construções de CARs, de primeira e de segunda geração, além de descreverem o auto-enriquecimento das células CAR-T *in vitro* através da IL-2 para ambos. Comparativamente, as células de primeira geração apresentaram mais marcadores de exaustão do que as de segunda geração, mostrando como os domínios co-estimulatórios (CD27 e 4-1BB, neste caso) podem promover resistência à exaustão (Han et al., 2018).

No geral, a atividade citotóxica e antitumoral *in vitro* e *in vivo* foi mais proeminente para as células de segunda geração, impactando na persistência, na sobrevida e na redução do crescimento tumoral em modelos animais. Não se observou, porém, erradicação do tumor, o que pode estar relacionado com a afinidade do receptor por seus ligantes e com a hostilidade do TME. Destaca-se, também, que a variedade dos NKG2DLs e sua distribuição no corpo dificulta a previsão de toxicidade *on-target/off-tumor*, mas os resultados do estudo NCT03018405, que investiga células NKG2D CAR-T para tumores hematológicos, indicam a ausência de efeitos tóxicos graves (Han et al., 2018).

Com os resultados promissores descritos, este tipo de CAR pode se estabelecer como uma nova opção de tratamento para o CMTN, ainda que pesquisas sejam necessárias para aplicação clínica efetiva. Cabe ressaltar que um estudo clínico de fase I (NCT04107142; Tabela 2) investigou o potencial de células NKG2DL CAR-T alogênicas no tratamento de pacientes com tumores sólidos recidivantes ou refratários, incluindo o CMTN, porém, os resultados ainda não foram publicados.

4.8. Receptor de folato alfa (FR α)

O receptor de folato alfa (FR α) está presente na superfície celular diferentes tecidos não-malignos, como no plexo coróide, tireoide, glândulas salivares, mama, cólon e bexiga, além de seu importante papel na embriogênese (Scaranti et al., 2020). A função desempenhada por este receptor é a absorção de folato pelas células, necessário para a biossíntese de aminoácidos e de bases nucleotídicas (Zagorac et al., 2020). Por outro lado, após a embriogênese, sua expressão se torna menos marcante, assim como a eficiência da absorção de folato, comparado a outros transportadores (Scaranti et al., 2020).

O FR α é encontrado na superfície de células tumorais em diferentes tipos de cânceres, incluindo o CMTN, câncer endometrial, mesotelioma, câncer de pulmão e o câncer de ovário, sendo o último um dos mais bem estabelecidos quanto a expressão deste antígeno (Scaranti et al., 2020). Sua superexpressão nessas células destaca o importante papel do folato durante o crescimento tumoral, participando da proliferação, sobrevivência, migração e invasão do tumor (Scaranti et al., 2020; Zagorac et al., 2020).

Para o CMTN, foi descrito que a depleção de FR α inibe o crescimento das células tumorais *in vitro* e sua superexpressão gera vantagens para o tumor mesmo em ambientes com menores concentrações de folato (Necela et al., 2015). Além disso, a expressão para tumores triplo negativos foi mais abundante quando comparado a ER e HER2 positivos, sendo detectado em 70 a 80% de tecidos de CMTN metastáticos de estágio IV (Necela et al., 2015; O'Shannessy et al., 2012). Elevados níveis de FR α também foram correlacionados com parâmetros clinicopatológicos, mas os resultados quanto a correlação com os desfechos clínicos do CMTN ainda são conflitantes, possivelmente pelas variações de amostragem entre os estudos (Zagorac et al., 2020).

Com base nestes dados, serão descritos a seguir os estudos com células CAR-T anti-FR α para o CMTN.

4.8.1. Níveis de expressão de FR α e ação das células FR α CAR-T

Song et al. (2016) descreveram como os níveis de expressão do antígeno alvo podem afetar a atividade de células FR α CAR-T. Neste estudo, maiores efeitos

citotóxicos foram obtidos contra a linhagem MDA-MB-231 de CMTN com superexpressão induzida de FR α , em modelos *in vitro* e *in vivo*, observando-se redução do tamanho do tumor no camundongo (redução de 36% no dia 60 após inoculação das células e 58% no dia 74). Por outro lado, a linhagem parental de expressão moderada, tratada nas mesmas condições *in vivo*, sofreu um aumento do volume do tumor de 107% e 214%, 60 e 74 dias após a inoculação, respectivamente. Vale destacar que os tumores com as células com superexpressão de FR α apresentaram tumores relativamente maiores do que os com as células parentais, reforçando o papel deste antígeno na progressão tumoral (Song et al., 2016).

Estes dados destacam que a pré-seleção de pacientes com maior expressão de FR α pode aumentar as taxas de resposta clínica e aprimorar a terapia.

4.8.2. Fibroblastos câncer-associados (CAFs) e resistência às células FR α CAR-T

Os fibroblastos câncer associados (CAFs) e o TME do qual fazem parte estão associados com os fenômenos resistência ao tratamento, recorrência e metástase de cânceres de mama, conferindo ao tumor vantagens em termos de progressão e desfavorecendo o prognóstico clínico. Essas células são as mais abundantes no TME e, por serem ativadas pela inflamação e fibrose nos tumores, elas interagem constantemente com as células tumorais, propiciando seu desenvolvimento, além de recrutarem outros fibroblastos próximos (Hu et al., 2022; Lappano et al., 2020).

Uma das principais funções dos CAFs envolve o remodelamento da matriz extracelular tumoral, o que é chamado de desmoplasia, quando secretam colágeno, proteína fibrinolítica, ácido hialurônico e laminina em grandes quantidades, além de degradarem a matriz ao redor através de proteinases. O objetivo é, então, blindar o tecido tumoral da ação do sistema imune e propiciar as interações no TME de modo a exacerbar o comportamento invasivo do tumor (Hu et al., 2022). Além disso, sua influência no TME propicia a maior sensibilidade a fatores de crescimento, ativação do maquinário de transcrição e mudanças epigenéticas nas células tumorais (Lappano et al., 2020).

Os CAFs adquirem um secretoma dinâmico dentro do TME, que é capaz de favorecer um fenótipo agressivo para o tumor. Este secretoma inclui diferentes fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas, envolvidos na modulação da resposta imune,

angiogênese, proliferação, migração, invasão tumoral, quimiorresistência, entre outros. A IL-6 derivada destas células, por exemplo, foi descrita como promotora da transição de lesões pré-invasivas para invasivas, além de ter sido correlacionada com resistência à terapia de cânceres de mama (Hu et al., 2022; Lappano et al., 2020).

Chuangchot et al. (2023) investigaram o efeito da IL-6 derivada de CAFs na resistência à doxorubicina e às células FR α CAR-T em modelos de CMTN. Em princípio, foi destacado o aumento significativo de IL-6 no meio de cultura de CAFs comparado ao de fibroblastos normais. A partir disto, os autores concluíram, através de modelos *in vitro* com exposição das células tumorais ao meio de CAFs com elevada concentração de IL-6, que essa citocina induz a resistência a ambas as terapias e promove um aumento da expressão de PD-L1 nas células tumorais.

Desta forma, interferir nas vias de IL-6 e PD-1/PD-L1 são maneiras possíveis de aumentar a eficácia tanto das quimioterapias quanto das terapias celulares (Chuangchot et al., 2023).

4.8.3. Células FR α CAR- $\gamma\delta$ T secretoras de IL-7 e CCL19

A necessidade de personalização individual da terapia celular através de CAR-T autólogos, como descrito anteriormente para células UCAR-T, é uma limitação de sua aplicação na terapia do câncer. Seu desenvolvimento como uma terapia pronta para uso (*off-the-shelf*, em inglês) é uma possibilidade através do uso de células T $\gamma\delta$ no lugar de células $\alpha\beta$, que são convencionalmente aplicadas para a construção dos CARs. A composição do TCR destas células é diferente, tornando possível o reconhecimento de antígenos independente da apresentação via HLA (Ganapathy et al., 2023).

Algumas características tornam este tipo celular atrativo para o desenvolvimento de células CAR-T, tais como apresentação independente de HLA, imunidade antitumoral versátil e sistêmica, menores efeitos *on-target/off-tumor* e de CRS, além de um melhor perfil de segurança em configurações alogênicas comparado às células T $\alpha\beta$, as quais possuem maior potencial de gerar GvHD nestas configurações. Por outro lado, certas limitações de células CAR- $\gamma\delta$ T incluem efeitos antitumorais mais modestos, menor persistência e *homing*, além de que ainda poucos estudos pré-clínicos e clínicos investigam sua aplicabilidade (Ganapathy et al., 2023).

Neste contexto, Ye e colaboradores (2022) compararam a ação de células FR α CAR- $\gamma\delta$ T providas ou não da secreção da citocina IL-7 e da quimiocina CCL19 (denominadas pelos autores de células 7 x 19 CAR- $\gamma\delta$ T), importantes para proliferação e sobrevivência das células T e para a quimioatração de células T e dendríticas, respectivamente. Comparado às células convencionais, houve maior migração de células T, dendríticas e células B pela incubação com células 7 x 19 CAR- $\gamma\delta$ T e maior secreção de IFN- γ contra linhagens de câncer de mama *in vitro*, porém a citotoxicidade de ambas as células foi semelhante.

A linhagem de CMTN estudada nos modelos *in vitro* e *in vivo*, MDA-MB-231, possuía expressão modesta de FR α , sendo que a citotoxicidade observada de ambas as células CAR- $\gamma\delta$ T foi compatível com o nível de expressão. *In vivo*, apenas a combinação do 7 x 19 CAR- $\gamma\delta$ T com células mononucleares derivadas de sangue periférico proporcionou redução efetiva do crescimento tumoral, proporcionando importante infiltração de células T e dendríticas. Para modelos com células que superexpressavam FR α (MCF-7, linhagem de câncer de mama ER positivo), a supressão do tumor foi possível com ambas as células CAR-T administradas isoladamente (Ye et al., 2022).

Cabe destacar que, assim como visto por Song et al. (2016), a linhagem MDA-MB-231 possui expressão moderada do antígeno FR α e, por isso, a avaliação da eficácia das células FR α CAR-T com outras linhagens de CMTN pode ser interessante para consolidar este tipo de terapia celular.

4.9. Ligante da proteína de morte celular programada 1 (PD-L1)

Fisiologicamente, os *checkpoints* imunes são muito importantes para manter a auto-tolerância e a homeostasia imune, protegendo os tecidos de danos desnecessários. Por outro lado, a superexpressão destas substâncias pode ser usada pelas células tumorais, e outras células do TME, como forma de silenciar o sistema imune. Conforme citado anteriormente, a via PD-1/PD-L1, quando ativada, reduz a atividade das células T e a produção de citocinas e induz a tolerância a antígenos (Schütz et al., 2017). No contexto do câncer de mama, o CMTN possui os maiores níveis de expressão de PD-L1 comparado aos outros subtipos (Chen et al., 2023).

Neste sentido, como explorado em alguns estudos anteriores, o eixo PD-1/PD-L1 é um dos principais moduladores da imunossupressão no TME e que propicia o

escape imune das células tumorais, dificultando a eficácia da terapia celular. Algumas das estratégias já citadas, como disrupção do gene de PD-1 nas células CAR-T ou secreção localizada de scFv anti-PD-1, são maneiras de interferir neste eixo; porém, o ligante de PD-1 (PD-L1) pode ser o próprio alvo da terapia celular, o que demonstrou resultados relevantes em alguns estudos pré-clínicos para o CMTN, como será detalhado a seguir.

4.9.1. Efeito de auto-amplificação gerado por células PD-L1 CAR-T

Bajor et al. (2022) demonstraram a especificidade de células PD-L1 CAR-T contra células PD-L1 positivas, sobretudo contra a linhagem de CMTN MDA-MB-231, que possui elevada expressão do alvo. Em modelos *in vitro* e *in vivo*, foi observada uma atividade antitumoral robusta, com degranulação e produção de citocinas (como IFN- γ) pelas células CAR-T, uma inibição significativa do crescimento tumoral e uma sobrevida prolongada no modelo animal.

Além disso, os autores verificaram que as células CAR-T foram ativadas até mesmo em modelos xenográficos de linhagens de câncer de mama com baixa expressão de PD-L1 (neste caso, a linhagem MCF-7), o que foi atribuído ao efeito de auto-amplificação das células terapêuticas. A incubação desta linhagem com células HER2 CAR-T também a sensibilizou ao CAR anti-PD-L1, aumentando a expressão do alvo HER2. Foi proposto que as diferentes citocinas e quimiocinas geradas pelas células CAR-T após a ativação antígeno-específica podem estimular a expressão de PD-L1 nas células tumorais e auto-amplificar o efeito da terapia (Bajor et al., 2022).

Por um lado, este efeito de amplificação é benéfico, já que um maior espectro de tumores pode ser alvo da terapia, inclusive quando as células tumorais e do TME possuem baixa expressão de PD-L1 inicialmente. Entretanto, o perfil de segurança pode prejudicar sua aplicação, devido ao papel deste *checkpoint* imune na regulação de diversos tecidos saudáveis (Bajor et al., 2022). Liu et al. (2020), por exemplo, descreveram a toxicidade pulmonar grave observada após a administração de células PD-L1 CAR-T em paciente com câncer de pulmão de células não pequenas (NCT03330834).

Alinhado a estes dados, o estudo de Bajor et al. (2022) demonstrou citotoxicidade potente contra células não malignas que expressam PD-L1. Assim, alternativas devem ser estudadas para a aplicação clínica desta estratégia, como a

expressão de PD-L1 CAR induzida ou transiente no tecido tumoral e versões de PD-L1 CAR-NK, de menor perfil inflamatório (Bajor et al., 2022).

4.9.2. V_{NAR} anti-PD-L1 derivado de tubarão para construção de células CAR-T

O V_{NAR} (Domínio Variável de Novos Receptores de Antígenos) de tubarão, assim como os nanocorpos derivados de camelo citados anteriormente na construção do B7-H3 CAR, fornece vantagens para a terapia celular comparado aos scFvs convencionais, uma vez que são menores, altamente estáveis e solúveis, além da sua capacidade de alcançar pontos de difícil acesso nos antígenos (English; Hong; Ho, 2020).

Através do V_{NAR} semissintético B2 anti-PD-L1, Li e colaboradores (2022) construíram células CAR-T capazes de lisar de forma eficiente a linhagem MDA-MB-231, secretando elevados níveis das citocinas TNF- α , IL-2 e IFN- γ . Observou-se em modelos xenográficos ortotópicos desta mesma linhagem de CMTN em camundongos uma redução do tumor, sem perda de peso corporal no animal, e ausência de metástase no grupo tratado, diferente do controle (CD19 CAR-T). Além disso, análises *ex vivo* sugeriram elevada persistência das células CAR-T no baço dos animais com atividade citotóxica mantida, sem níveis aumentados de PD-L1 de superfície comparado com o controle (Li et al., 2022).

Cabe destacar que a imunogenicidade dos V_{NARS} derivados de tubarão é uma limitação para a aplicação clínica e a humanização de sua estrutura pode ser uma estratégia para contornar este problema. Ainda, recorrência modesta do tumor foi vista no estudo após cinco semanas do tratamento, o que pode ser consequência de exaustão ou dose insuficiente para erradicação (English; Hong; Ho, 2020; Li et al., 2022).

4.9.3. Monocorpo direcionado ao PD-L1 com controle *SynNotch*

Como relatado anteriormente, os efeitos *on-target/off-tumor* são uma grande preocupação para o uso do PD-L1 como alvo de células CAR-T. Por isso, estratégias devem ser empregadas para que esta seja uma prática segura clinicamente.

Neste sentido, Zhu e colaboradores (2024) combinaram duas estratégias na construção do CAR-T: desenvolvimento do monocorpo anti-PD-L1 (denominado como *PDbody*) com preferências para ambientes com pH levemente ácido, como é visto no TME; e integração da tecnologia *SynNotch IF THEN*, através da qual o PD-L1 CAR só é expresso nas células T se houver o reconhecimento do CD19 introduzido nas células tumorais. A tecnologia *SynNotch* se trata de uma estratégia *Logic Gate* (portão lógico) para a expressão do CAR apenas quando o antígeno estiver presente, tornando a atividade antitumoral mais segura para o paciente, reduzindo a ativação *off-tumor* e os efeitos adversos (Wolter; Wang; Hu, 2024).

Na literatura, é possível encontrar estudos de diferentes estruturas de ligação para o CAR, inclusive os monocorpos, que são pequenas estruturas livres de cisteína e baseadas no décimo domínio tipo III da fibronectina humana. O racional de escolha deste tipo de estrutura envolve seu menor tamanho, elevada estabilidade e a origem humana, reduzindo o risco de imunogenicidade (Zajc et al., 2021).

Os autores descreveram que o *PDbody* desenvolvido possui afinidade moderada a PD-L1, o que pode ser vantajoso, uma vez que células CAR-T de alta afinidade podem reconhecer baixos níveis de antígenos expressos em tecidos saudáveis, implicando em sua segurança. Porém, pela expressão de PD-L1 nas células T, a transdução do CAR promoveu auto-toxicidade. A partir disso, a expressão de CD19 foi induzida nas células alvo e o sistema *SynNotch* foi estabelecido, limitando a expressão do CAR nas células T apenas após o reconhecimento de CD19. Verificou-se, então, uma especificidade da ação das células CAR-T, isto é, apenas quando as células alvo eram CD19 e PD-L1 positivas (Zhu et al., 2024).

Seguindo esta metodologia, modelos *in vitro* e *in vivo* com a linhagem MDA-MB-231 destacaram a especificidade e segurança da terapia, junto a significativa supressão do crescimento tumoral. Além disso, em misturas 1:1 de MDA-MB-231 positivas e negativas para CD19, observou-se que nem todas as células tumorais precisam expressar o antígeno para a ativação das células CAR-T, gerando “centros de treinamento” que eliminam ambas as populações (Zhu et al., 2024).

Uma das limitações trazidas pelos autores é a expressão de CD19 em linfócitos B, o que poderia ativar a expressão do CAR de forma desenfreada no organismo; por outro lado, a aplasia de células B é manejável e a linfodepleção é uma prática estabelecida em alguns protocolos de terapia celular, podendo ser a solução para este

impasse (Zhu et al., 2024). Assim, ainda que mais investigações sejam necessárias, a viabilidade da terapia celular anti-PD-L1 aumenta através destas estratégias.

4.10. Outros antígenos potenciais para a terapia celular do CMTN

Outros antígenos, através de modelos pré-clínicos, também foram investigados como alvos do CMTN para a terapia celular, sendo eles: Receptor AXL; CSPG4/NG2; Antígeno Embrionário de Estágio Específico (SSEA-4); CD24; Receptor de Efrinas tipo A10 (EphA10); Fator de necrose tumoral alfa transmembranar (tmTNF- α); Marcador Endotelial Tumoral 8/Receptor da toxina do Antraz 1 (TEM8/ANTXR1); FAP; Molécula de Adesão Intercelular 1 (ICAM1); Gangliosídeo GD2; Globotriaosilceramida (Gb3); Complexo NY-ESO-1/HLA-A2; Integrinas $\alpha\beta 3$ e $\alpha\beta 6$; Receptor de purina P2X 7 não funcional (nfP2X7); Antígeno leucocitário humano G (HLA-G); e Antígeno de superfície celular do trofoblasto humano 2 (Trop2) (Tabela 1).

Os resultados descritos variam em termos de eficácia e de viabilidade, além da própria metodologia e das diferentes estratégias aplicadas para otimização do CAR. Algumas das estratégias promissoras aplicadas nos estudos incluem: células CAR-T que coexpressam o receptor de IL-7 constitutivamente ativado (CR7); coexpressão dos receptores de IL-8 (CXCR1 e CXCR2); combinação com anticorpos monoclonais anti-PD-1; combinação de diferentes células CAR-Ts no esquema terapêutico; adição de mecanismos de segurança na estrutura do CAR, como EGFR truncado, onde a eliminação das células CAR-T pode ser induzida através da administração de um anticorpo monoclonal anti-EGFR; secreção de BiTE (do inglês, *bispecific T cell engager*) pelas células CAR-T, que se liga tanto ao antígeno da célula tumoral (como PD-L1) quanto a um componente da célula T (CD3), aproximando-as e facilitando a sinapse imune; etc. (Zhao et al., 2020; Whilding et al., 2019; Ba et al., 2023; Das et al., 2023; Yang et al., 2023; Huang et al., 2023).

Por outro lado, a investigação realizada por Pfeifer et al. (2023) destaca a dificuldade em se encontrar o alvo imunoterápico ideal para tumores sólidos. Neste estudo, os autores observaram, a partir de modelos animais de CMTN, efeitos tóxicos severos após o tratamento dos tumores com células CAR-T direcionadas ao antígeno SSEA-4, tais como pelagem arrepiada, postura encurvada, falta de mobilidade e perda de peso. Foi sugerido que a expressão desse antígeno em outros tecidos promoveu um reconhecimento *on-target/off-tumor*, sobretudo em células de baixo grau de

diferenciação da medula óssea e dos pulmões; nesse sentido, abordagens duais ou adição de mecanismos de segurança nas células CAR-T são descritos como meios para mitigar a autorreatividade vista (Pfeifer et al., 2023).

Por fim, Park et al. (2020) trabalharam com um alvo diferente para o CMTN: CD19, um marcador importante para tumores hematológicos de células B. Como a escolha do antígeno que esteja de fato confinado ao tumor sólido é complexa, os autores demonstraram o uso de vírus oncolíticos para infectar seletivamente as células do tumor, promovendo a expressão de uma variante de CD19; desta forma, ao combinar os vírus com as células CD19 CAR-T, o tratamento obteve respostas antitumorais efetivas *in vitro* e em modelos animais, levando a regressão do tumor (Park et al., 2020). Assim, a geração de novos alvos estabelece novas possibilidades para a terapia celular, ainda mais considerando que células CD19 CAR-T já estão disponíveis clinicamente (Chen; Abila; Kamel, 2023).

5. PERSPECTIVAS

O ainda pequeno número de estudos clínicos com células CAR-T para o CMTN e o fato de poucos estudos finalizados possuírem seus resultados reportados são obstáculos para o entendimento clínico completo do tema, em termos de viabilidade, de eficácia e de segurança. Trata-se, então, de um campo novo de pesquisa e desenvolvimento, com muitas barreiras para serem ultrapassadas. Apesar disso, o número crescente de informações, sobretudo obtidas pelos estudos pré-clínicos, fundamenta as otimizações necessárias para que a tradução clínica de células CAR-T seja possível e direcione o tratamento do CMTN e de outros tumores sólidos.

Neste sentido, destacam-se as células CAR-T universais (*off-the-shelf*), que tornam possível a transferência alogênica para o paciente, gerando benefícios produtivos e demonstrando atividade antitumoral promissora contra tumores sólidos, seja por meio de modificações genéticas ou pela escolha do tipo de célula T na qual o CAR será expresso, como exposto anteriormente para células U-CAR-T e CAR- $\gamma\delta$ T (Chen; Abila; Kamel, 2023). Devido ao extenso tratamento que os pacientes recebem previamente a terapia CAR-T, a coleta de células T autólogas saudáveis em quantidades suficientes para a modificação *in vitro* pode atrasar o tratamento ou até mesmo tornar os pacientes inelegíveis, sendo de grande interesse a busca por opções com células *off-the-shelf* (Peng et al., 2024).

Outro meio promissor para aumentar a viabilidade das células CAR-T é a construção de CARs com diferentes estruturas de ligação entre o receptor quimérico e o antígeno, sem ser o convencional fragmento scFv de anticorpos, tais como nanocorpos derivados de camelos, VNARS de tubarões e monocorpos. Desta forma, como anteriormente detalhado, o menor tamanho, a facilidade de produção, a especificidade e a estabilidade destas estruturas facilitam o desenvolvimento de CARs.

Abordagens promissoras, também, contam com a sinergia entre BiTEs, vírus oncolíticos e células CAR-T. Os BiTEs são anticorpos biespecíficos, ou seja, moléculas imunoterapêuticas com fragmento scFv anti-CD3 fusionado ao fragmento scFv do antígeno de interesse, direcionando as células T para interação com as células tumorais. Os vírus oncolíticos, por sua vez, são vírus geneticamente modificados para infectar e se replicar nas células tumorais, o que leva a destruição imunogênica destas células e favorece a ação das células imunes (Wing et al., 2018; Olifirenko; Barlev, 2024).

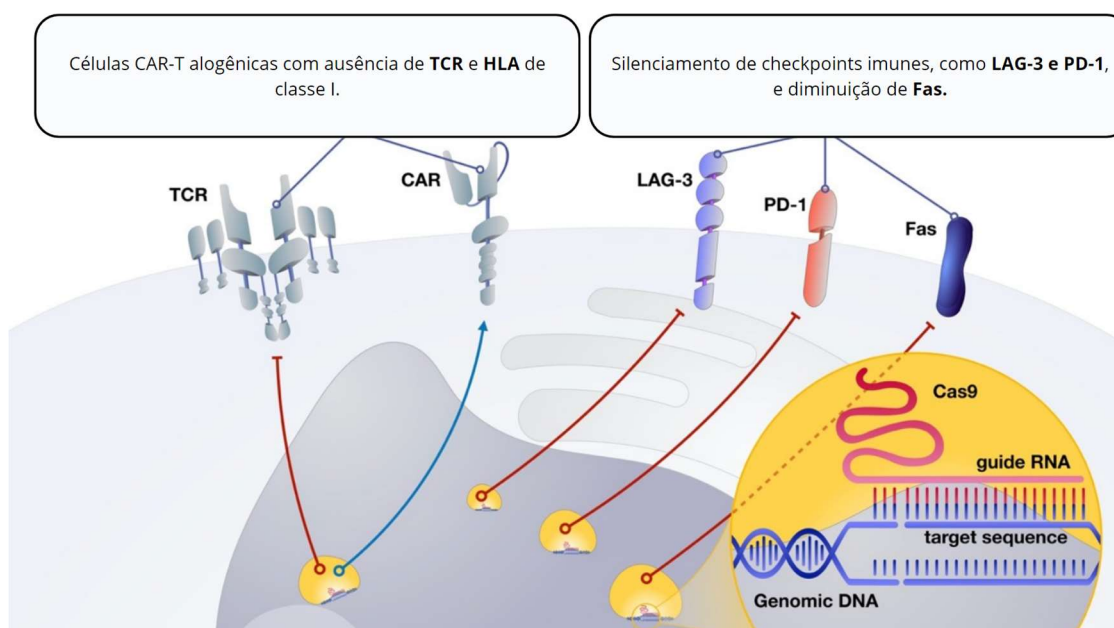
Um estudo desenvolvido por Wing et al. (2018) exemplifica claramente esta ação sinérgica: os autores desenvolveram células FR α CAR-T combinadas a um adenovírus oncolítico “armado” com um EGFR-BiTE para o tratamento de tumores sólidos, observando-se maior atividade *in vitro* e *in vivo* comparado às terapias isoladas. Ainda, os vírus oncolíticos podem ser utilizados para infectar e induzir a expressão de antígenos de interesse nas células tumorais, como detalhado anteriormente no estudo de Park et al. (2020), no qual células de tumores sólidos são induzidas a expressar CD19 para então se tornarem alvos de células CAR-T. As células CAR-T, também, podem ser modificadas para secretarem anticorpos biespecíficos, otimizando a resposta antitumoral (Huang et al., 2023).

Das demais estratégias abordadas, o uso da tecnologia *SynNotch*, visando maior segurança e direcionamento da expressão do CAR apenas no foco tumoral, e o uso dos exossomas secretados pelas células CAR-T, propiciando maior segurança e efetividade da terapia, se destacam como abordagens potenciais. As combinações terapêuticas, como células CAR-T com inibidores de *checkpoints* imunes e com diferentes quimioterápicos, também se destacam, possibilitando respostas pré-clínicas e clínicas aprimoradas em tumores sólidos (Olifirenko; Barlev, 2024).

O uso de engenharia genética por meio da tecnologia CRISPR também passou a ser uma alternativa válida para a produção de células terapêuticas (Benmebarek et

al., 2019). Este método de edição genômica pode ser utilizado, por exemplo, para silenciar *checkpoints* imunes, como descrito por Hu et al. (2019) na construção das células MSLN-CAR-T, estudo no qual foi realizada a disrupção do receptor PD-1 via CRISPR/Cas9. Além disso, essa técnica, assim como a tecnologia TALEN, podem gerar células CAR-T alogênicas, como pela disrupção do TCR e HLA, evitando a rejeição da terapia, conforme discutido anteriormente. A Figura 7 evidencia as maneiras de modificações gênicas possíveis nas células CAR-T via CRISPR.

Figura 7 – Abordagens por meio da tecnologia CRISPR para edição genética de células CAR-T.



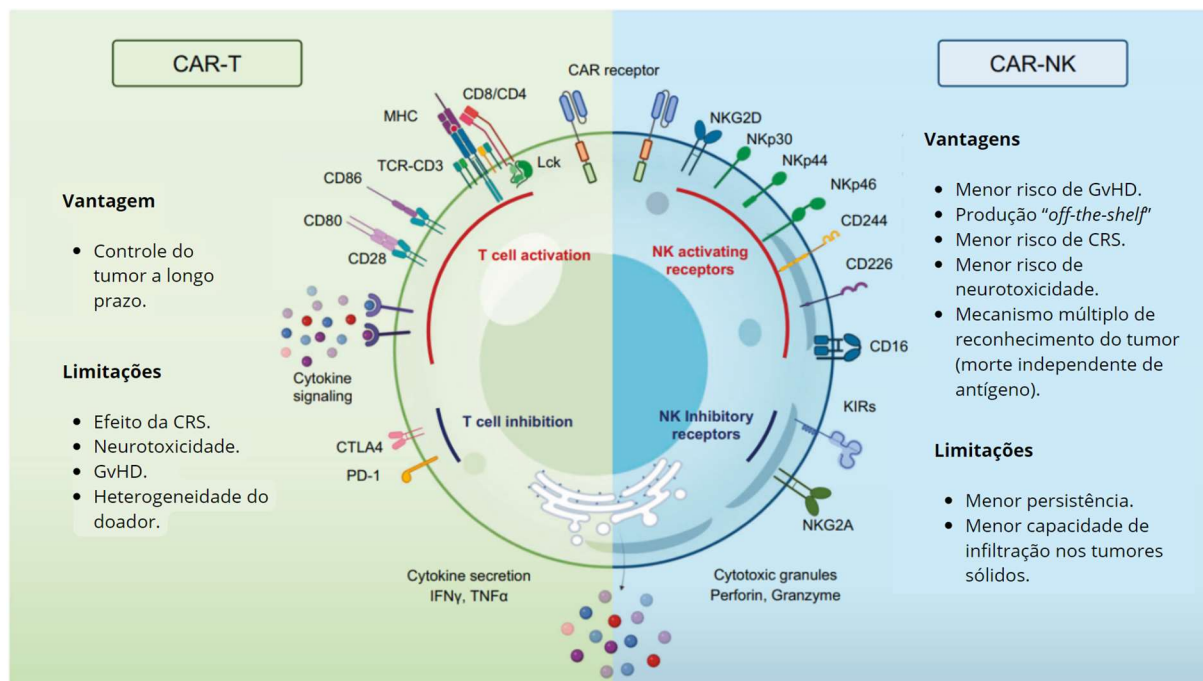
Fonte: Adaptado de Benmebarek et al., 2019. A edição genética torna possível a construção de células terapêuticas não alo-reativas, além de possibilitar a redução da exaustão celular no TME.

Os receptores quiméricos a serem expressos nas células T também podem ser direcionados a moléculas efectoras e não aos antígenos. Caratelli et al. (2020) desenvolveram, por exemplo, células T modificadas que expressam o receptor quimérico baseado no CD32A, que é um receptor de Fc para anticorpos IgG. Os autores projetaram as células para se ligarem aos anticorpos monoclonais anti-EGFR cetuximabe e panitumumabe. Esta é uma estratégia inovadora para a imunoterapia do câncer, uma vez que a ligação entre o receptor quimérico da célula T modificada com o anticorpo, já ligado ao EGFR das células tumorais, facilita a citotoxicidade mediada por anticorpos e, no estudo em questão, demonstrou eliminação significativa de células tumorais.

Uma alternativa da terapia celular CAR-T é a expressão do CAR em outras células do sistema imune, como as células NK, constituintes do sistema imune inato e que medeiam a citotoxicidade contra células tumorais e infectadas, além da secreção de citocinas pró-inflamatórias que ativam outras células imunes inatas e adaptativas, como IFN- γ e TNF- α (Schmidt et al., 2022; Peng et al., 2024).

Há um interesse crescente no desenvolvimento de células CAR-NK para terapia do câncer, já que as propriedades naturais das células NK podem tornar sua ação bem-sucedida em tumores sólidos. Dentre essas propriedades, têm-se: a capacidade de preservar sua função normal no ambiente do tumor, prevenindo a evasão tumoral; a menor meia-vida de circulação, tornando sua administração mais segura; e a ausência do reconhecimento de antígenos por HLA, diminuindo o risco da GvHD e possibilitando a transferência alogênica de células para o paciente. Por outro lado, a expansão ineficiente *in vitro*, a menor persistência e a infiltração tumoral limitada são exemplos de desafios para a viabilidade desta terapia, além dos demais problemas enfrentados pelas células CAR-T tradicionais (Wrona; Borowiec; Potemski, 2021; Schmidt et al., 2022).

Estudos clínicos, principalmente para tumores hematológicos, vem sendo conduzidos para células CAR-NK, ainda que de forma menos expressiva quando comparado às células CAR-T. Além das vantagens citadas acima, o menor risco de CRS e a menor neurotoxicidade observado em estudos clínicos podem caracterizar a terapia CAR-NK como de melhor perfil de segurança (Peng et al., 2024). Especificamente para o câncer de mama, dados pré-clínicos inferem sobre a promissora atividade antitumoral dessas células (Wrona; Borowiec; Potemski, 2021). Um exemplo é o estudo de Liu et al. (2020), que tratou de células EGFR CAR-NK contra linhagens de CMTN *in vitro* e *in vivo*, demonstrando citotoxicidade e inibição do crescimento tumoral em modelos animais. Neste contexto, a Figura 8 compara as células CAR-T e CAR-NK em termos de vantagens e limitações do ponto de vista terapêutico.

Figura 8 – Células CAR-T vs Células CAR-NK.

Fonte: Adaptado de Peng et al., 2024. Vantagens e limitações das células CAR-T e CAR-NK para aplicação na terapia do câncer.

Por fim, além das células NK, macrófagos também são candidatos promissores para terapia celular (CAR-M), uma vez que são capazes de atacar as células tumorais por meio da fagocitose e de realizarem a apresentação de antígenos para as células T, ativando a imunidade adaptativa. Outras características relevantes incluem a infiltração tumoral, sendo as células inatas que mais adentram o TME, e a secreção de quimiocinas e citocinas que podem remodelar este microambiente supressor (Chen; Abila; Kamel, 2023). Ainda que de forma menos representativa quando comparado aos outros tipos de células, células CAR-M são investigadas de forma pré-clínica e clínica. Além de interessantes resultados *in vitro* e *in vivo*, um estudo clínico de fase I para tumores HER2 positivos, por exemplo, está ativo (NCT04660929).

6. CONCLUSÃO

O CMTN é uma forma altamente agressiva e desafiadora do câncer de mama, sendo responsável por 10 a 20% das neoplasias mamárias. Dada a complexidade do tratamento, a imunoterapia tem sido explorada como uma alternativa promissora para o CMTN, desde anticorpos monoclonais já aplicados em protocolos clínicos, como o

pembrolizumabe, até as terapias celulares, como o uso de células CAR-T, que ainda estão em fases de investigação pré-clínica e clínica.

Embora a terapia celular CAR-T tenha demonstrado resultados notáveis em tumores hematológicos, sua eficácia e aplicabilidade clínica em tumores sólidos enfrenta diferentes desafios, como a escolha do antígeno ideal sem efeitos *on-target/off-tumor*, a supressão imposta pelo TME e a toxicidade inerente das células CAR-T. Apesar destes obstáculos, os estudos expostos nessa revisão indicam que diversos antígenos, como EGFR, MSLN, MUC1, ROR1, B7-H3, cMET, NKG2D2Ls, FR α , PD-L1 e outros, estão sendo investigados como alvos potenciais para a terapia CAR-T frente ao CMTN.

Além disso, estratégias promissoras descritas, como combinações terapêuticas, uso de células universais e CARs de gerações avançadas (*Next-Generation*), marcaram importantes avanços para a eficácia da terapia. Para células “*next-generation*”, por exemplo, as modificações envolvem a interrupção ou coexpressão de receptores e a secreção induzida de citocinas, de fragmentos de anticorpos e de BiTEs, aprimorando a resposta antitumoral. Outras abordagens emergentes, como o uso de vírus oncolíticos para a entrega de alvos nas células tumorais e de exossomas derivados de células CAR-T, além da integração de tecnologias direcionadas para expressão controlada do CAR, como via *SynNotch*, também vêm sendo exploradas.

A terapia celular CAR-T no contexto do CMTN, portanto, constitui um campo novo de pesquisa e desenvolvimento, com progressos significativos evidenciados pelo número de estudos clínicos e pré-clínicos obtidos por meio da metodologia desenvolvida (14 e 45 estudos, respectivamente). No entanto, apesar desses avanços, ainda existem barreiras clínicas, práticas e econômicas que devem ser superadas, além do maior número de estudos necessário para a compreensão completa do tema. Por outro lado, o desenvolvimento contínuo desta abordagem terapêutica poderá revolucionar o tratamento de pacientes com CMTN, sobretudo em casos metastáticos, refratários e recidivantes, contribuindo para melhores desfechos clínicos e expandindo significativamente as opções terapêuticas disponíveis.

7. REFERÊNCIAS

AKBARI, Behnia; GHAHRI-SAREMI, Navid; SOLTANTOYEH, Tahereh; HADJATI, Jamshid; GHASSEMI, Saba; MIRZAEI, Hamid Reza. Epigenetic strategies to boost CAR T cell therapy. **Molecular Therapy**, v. 29, n. 9, p. 2640–2659, 2021. DOI: 10.1016/J.YMTHE.2021.08.003. Disponível em: <https://www.cell.com/article/S152500162100397X/fulltext>. Acesso em: 16 jul. 2024.

ALEWINE, Christine; XIANG, Laiman; YAMORI, Takao; NIEDERFELLNER, Gerhard; BOSSLET, Klaus; PASTAN, Ira. Efficacy of RG7787, a next-generation mesothelin-targeted immunotoxin, against triple-negative breast and gastric cancers. **Molecular Cancer Therapeutics**, v. 13, n. 11, p. 2653–2661, 2014. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0132. Disponível em: <https://aacrjournals.org/mct/article/13/11/2653/130595/Efficacy-of-RG7787-a-Next-Generation-Mesothelin>. Acesso em: 10 jul. 2024.

ALMANSOUR, Nahlah Makki. Triple-Negative Breast Cancer: A Brief Review About Epidemiology, Risk Factors, Signaling Pathways, Treatment and Role of Artificial Intelligence. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 9, 2022. DOI: 10.3389/FMOLB.2022.836417. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/molecular-biosciences/articles/10.3389/fmolb.2022.836417/full>. Acesso em: 31 ago. 2024.

BA, Hongping; DAI, Zigang; ZHANG, Zunyue; ZHANG, Peng; YIN, Bingjiao; WANG, Jing; LI, Zhuoya; ZHOU, Xiaoxi. Antitumor effect of CAR-T cells targeting transmembrane tumor necrosis factor alpha combined with PD-1 mAb on breast cancers. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 11, n. 1, 2023. DOI: 10.1136/JITC-2021-003837. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/11/1/e003837>. Acesso em: 8 ago. 2024.

BAJOR, Malgorzata; GRACZYK-JARZYNA, Agnieszka; MARHELAVA, Katsiaryna; BURDZIŃSKA, Anna; et al. PD-L1 CAR effector cells induce self-amplifying cytotoxic effects against target cells. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 10, n. 1, 2022. DOI: 10.1136/JITC-2021-002500. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/10/1/e002500.long>. Acesso em: 21 jul. 2024.

BAMDAD, Cynthia Carol; YUAN, Yuan; SPECHT, Jennifer M.; STEWART, Andrew K.; et al. Phase I/II first-in-human CAR T–targeting MUC1 transmembrane cleavage product (MUC1*) in patients with metastatic breast cancer. **Journal of Clinical Oncology**, v. 40, n. 16, 2022. DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16_SUPPL.TPS1130. Disponível em: https://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.TPS1130. Acesso em: 30 jul. 2024.

BANDARA, Veronika; FOENG, Jade; GUNDSAMBUU, Batjargal; NORTON, Todd S.; et al. Pre-clinical validation of a pan-cancer CAR-T cell immunotherapy targeting

nfP2X7. **Nature Communications**, v. 14, n. 5546, 2023. DOI: 10.1038/s41467-023-41338-y. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-41338-y>. Acesso em: 8 ago. 2024.

BANO, Joanie Del; FLORES-FLORES, Rémy; JOSSELIN, Emmanuelle; GOUBARD, Armelle; GANIER, Laetitia; CASTELLANO, Rémy; CHAMES, Patrick; BATY, Daniel; KERFELEC, Brigitte. A bispecific antibody-based approach for targeting mesothelin in triple negative breast cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019. DOI: 10.3389/FIMMU.2019.01593. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.01593/full>. Acesso em: 10 jul. 2024.

BAYOGLU, Ibrahim Vedat; KUCUKZEYBEK, Betul Bolat; KUCUKZEYBEK, Yuksel; VAROL, Umut; et al. Prognostic value of mesothelin expression in patients with triple negative and HER2-positive breast cancers. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 70, p. 190–195, 2015. DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2015.01.019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0753332215000347?via%3Dihub>. Acesso em: 8 jul. 2024.

BEARD, Rachel E.; ZHENG, Zhili; LAGISETTY, Kiran H.; BURNS, William R.; et al. Multiple chimeric antigen receptors successfully target chondroitin sulfate proteoglycan 4 in several different cancer histologies and cancer stem cells. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 2, n. 25, 2014. DOI: 10.1186/2051-1426-2-25. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/2/1/25.long>. Acesso em: 8 ago. 2024.

BENMEBAREK, Mohamed Reda; KARCHES, Clara Helke; CADILHA, Bruno Loureiro; LESCH, Stefanie; ENDRES, Stefan; KOBOLD, Sebastian. Killing Mechanisms of Chimeric Antigen Receptor (CAR) T Cells. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 6, 2019. DOI: 10.3390/IJMS20061283. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/6/1283/htm>. Acesso em: 31 ago. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes Diagnósticas e Terapêuticas do Carcinoma de Mama - Relatório de Recomendação N°439. Brasília/DF: **CONITEC**, 2019. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/relatorios/2019/relatorio_final_-_ddt_carcionoma-de-mamafinal_2019.pdf. Acesso em: 29 ago. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Produtos registrados de Terapia Avançada. Brasília/DF: **Anvisa**, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/sangue/terapias-avancadas/produtos-registrados>. Acesso em: 01 set. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas Câncer de Mama. Brasília/DF: **CONITEC**, 2024. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2024/RRPCDTCncerdeMama_CP.pdf. Acesso em: 29 ago. 2024.

BRAY, Freddie; LAVERSANNE, Mathieu; HYUNA, Sung; FERLAY, Jacques; SIEGEL, Rebecca L.; SOERJOMATARAM, Isabelle; AHMEDIN, Jemal. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229–263, 2024. DOI: 10.3322/CAAC.21834. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3322/caac.21834>. Acesso em: 30 set. 2024.

BRYAN, Sarah; WITZEL, Isabell; BORGMANN, Kerstin; OLIVEIRA-FERRER, Leticia. Molecular Mechanisms Associated with Brain Metastases in HER2-Positive and Triple Negative Breast Cancers. **Cancers**, v. 13, n. 16, 2021. DOI: 10.3390/CANCERS13164137. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8392331/>. Acesso em: 8 jul. 2024.

BYRD, Tiara T; FOUSEK, Kristen; PIGNATA, Antonella; SZOT, Christopher; et al. TEM8/ANTXR1-specific CAR T cells as a targeted therapy for triple-negative breast cancer. **Cancer research**, v. 78, n. 2, p. 489–500, 2018. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1911. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/78/2/489/631806/TEM8-ANTXR1-Specific-CAR-T-Cells-as-a-Targeted>. Acesso em: 8 ago. 2024.

CARATELLI, Sara; ARRIGA, Roberto; SCONOCCHIA, Tommaso; OTTAVIANI, Alessio; et al. In vitro elimination of epidermal growth factor receptor-overexpressing cancer cells by CD32A-chimeric receptor T cells in combination with cetuximab or panitumumab. **International journal of cancer**, v. 146, n. 1, p. 236–247, 2020. DOI: 10.1002/IJC.32663. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31479522/>. Acesso em: 23 ago. 2024.

CHA, Jong-Ho; CHAN, Li-Chuan; WANG, Ying-Nai; CHU, Yu-Yi; et al. Ephrin receptor A10 monoclonal antibodies and the derived chimeric antigen receptor T cells exert an antitumor response in mouse models of triple-negative breast cancer. **Journal of Biological Chemistry**, v. 298, n. 4, 2022. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.101817. Disponível em: <http://www.jbc.org/article/S0021925822002575/fulltext>. Acesso em: 8 ago. 2024.

CHEN, Huanpeng; WEI, Fengjiao; YIN, Meng; ZHAO, Qingyu; LIU, Zhonghua; YU, Bolan; HUANG, Zhaofeng. CD27 enhances the killing effect of CAR T cells targeting trophoblast cell surface antigen 2 in the treatment of solid tumors. **Cancer immunology, immunotherapy**, v. 70, p. 2059–2071, 2021. DOI: 10.1007/S00262-020-02838-8. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-020-02838-8>. Acesso em: 8 ago. 2024.

CHEN, Xingyu; FENG, Lixiang; HUANG, Yujing; WU, Yi; XIE, Na. Mechanisms and Strategies to Overcome PD-1/PD-L1 Blockade Resistance in Triple-Negative Breast Cancer. **Cancers**, v. 15, n. 1, 2023. DOI: 10.3390/CANCERS15010104. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/15/1/104>. Acesso em: 10 jul. 2024.

CHEN, Yi Ju; ABILA, Bams; KAMEL, Yasser Mostafa. CAR-T: What Is Next? **Cancers**, v. 15, n. 3, 2023. DOI: 10.3390/CANCERS15030663. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9913679/>. Acesso em: 9 ago. 2024.

CHIEN, Hui-Ping; UENG, Shir-Hwa; CHEN, Shin-Cheh; CHANG, Yu-Sun; et al. Expression of ROR1 has prognostic significance in triple negative breast cancer. **Virchows Archiv**, v. 468, p. 589–595, 2016. DOI: 10.1007/S00428-016-1911-3. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00428-016-1911-3>. Acesso em: 12 jul. 2024.

CHUANGCHOT, Nisa; JAMJUNTRA, Pranisa; YANGNGAM, Supaporn; LUANGWATTANANUN, Piriya; THONGCHOT, Suyanee; JUNKING, Mutita; THUWAJIT, Peti; YENCHITSOMANUS, Pa Thai; THUWAJIT, Chanitra. Enhancement of PD-L1-attenuated CAR-T cell function through breast cancer-associated fibroblasts-derived IL-6 signaling via STAT3/AKT pathways. **Breast cancer research**, v. 25, n. 86, 2023. DOI: 10.1186/S13058-023-01684-7. Disponível em: <https://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-023-01684-7>. Acesso em: 19 jul. 2024.

DAS, Shipra; VALTON, Julien; DUCHATEAU, Philippe; POIROT, Laurent. Stromal depletion by TALEN-edited universal hypoimmunogenic FAP-CAR T cells enables infiltration and anti-tumor cytotoxicity of tumor antigen-targeted CAR-T immunotherapy. **Frontiers in immunology**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/FIMMU.2023.1172681. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1172681/full>. Acesso em: 11 jul. 2024.

DING, Ming-Jian; SU, Ke; CUI, Guo-Zhong; YANG, Wen-Hua; CHEN, Liang; YANG, Meng; LIU, Yan-Qing; DAI, Dian-Lu. Association between transforming growth factor- β 1 expression and the clinical features of triple negative breast cancer. **Oncology Letters**, v. 11, n. 6, p. 4040–4044, 2016. Disponível em: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ol.2016.4497>. Acesso em: 12 jul. 2024.

DONG, Ziliang; LIU, Yan; WANG, Chunjie; HAO, Yu; FAN, Qin; YANG, Zhijuan; LI, Quguang; FENG, Liangzhu; LIU, Zhuang. Tumor Microenvironment Modulating CaCO₃-Based Colloidosomal Microreactors Can Generally Reinforce Cancer Immunotherapy. **Advanced Materials**, v. 36, n. 9, 2024. DOI: 10.1002/ADMA.202308254. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adma.202308254>. Acesso em: 8 jul. 2024.

EBBINGHAUS, Mira; WITTICH, Katharina; BANCHER, Benjamin; LEBEDEVA, Valeriia; APPELSHOFFER, Anijutta; FEMEL, Julia; HELM, Martin S.; KOLLET, Jutta; HARDT, Olaf; PFEIFER, Rita. Endogenous Signaling Molecule Activating (ESMA) CARs: A Novel CAR Design Showing a Favorable Risk to Potency Ratio for the

Treatment of Triple Negative Breast Cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 1, 2024. DOI: 10.3390/IJMS25010615. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/1/615/htm>. Acesso em: 8 jul. 2024.

ENGLISH, Hejiao; HONG, Jessica; HO, Mitchell. Ancient species offers contemporary therapeutics: an update on shark VNAR single domain antibody sequences, phage libraries and potential clinical applications. **Antibody Therapeutics**, v. 3, n. 1, p. 1–9, 2020. DOI: 10.1093/ABT/TBAA001. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.1093/abt/tbaa001>. Acesso em: 22 jul. 2024.

FLUGEL, Christian L.; MAJZNER, Robbie G.; KRENCIUTE, Giedre; DOTTI, Gianpietro; RIDDELL, Stanley R.; WAGNER, Dimitrios L.; ABOU-EL-ENEIN, Mohamed. Overcoming on-target, off-tumour toxicity of CAR T cell therapy for solid tumours. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 20, p. 49–62, 2023. DOI: 10.1038/s41571-022-00704-3. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41571-022-00704-3>. Acesso em: 27 ago. 2024.

FU, Wenyan; LEI, Changhai; LIU, Shuowu; CUI, Yingshu; et al. CAR exosomes derived from effector CAR-T cells have potent antitumour effects and low toxicity. **Nature Communications**, v. 10, n. 4355, 2019. DOI: 10.1038/s41467-019-12321-3. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-019-12321-3>. Acesso em: 11 jul. 2024.

GANAPATHY, Thamizhselvi; RADHAKRISHNAN, Rajalingam; SAKSHI, Seth; MARTIN, Sunil. CAR $\gamma\delta$ T cells for cancer immunotherapy. Is the field more yellow than green? **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 72, p. 277–286, 2023. DOI: 10.1007/S00262-022-03260-Y. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-022-03260-y>. Acesso em: 20 jul. 2024.

HAN, Yali; XIE, Wei; SONG, De Gang; POWELL, Daniel J. Control of triple-negative breast cancer using ex vivo self-enriched, costimulated NKG2D CAR T cells. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 11, n. 92, 2018. DOI: 10.1186/S13045-018-0635-Z. Disponível em: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-018-0635-z>. Acesso em: 6 ago. 2024.

HAN, Yanyan; LIU, Dandan; LI, Lianhong. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. **American Journal of Cancer Research**, v. 10, n. 3, p. 727-742, 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7136921/>. Acesso em: 10 jul. 2024

HARRASSER, Micaela; GOHIL, Satyen Harish; LAU, Hiu; DELLA PERUTA, Marco; et al. Inducible localized delivery of an anti-PD-1 scFv enhances anti-tumor activity of ROR1 CAR-T cells in TNBC. **Breast cancer research**, v. 24, n. 39, 2022. DOI: 10.1186/S13058-022-01531-1. Disponível em: <https://breast-cancer->

research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-022-01531-1. Acesso em: 13 jul. 2024.

HONG, Mihe; CLUBB, Justin D.; CHEN, Yvonne Y. Engineering CAR-T Cells for Next-Generation Cancer Therapy. **Cancer cell**, v. 38, n. 4, p. 473–488, 2020. DOI: 10.1016/J.CCELL.2020.07.005. Disponível em: [https://www.cell.com/cancer-cell/pdf/S1535-6108\(20\)30366-4.pdf](https://www.cell.com/cancer-cell/pdf/S1535-6108(20)30366-4.pdf). Acesso em: 31 ago. 2024.

HO-YEN, Colan M.; JONES, J. Louise; KERMORGANT, Stephanie. The clinical and functional significance of c-Met in breast cancer: A review. **Breast Cancer Research**, v. 17, n. 52, 2015. DOI: 10.1186/S13058-015-0547-6. Disponível em: <https://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-015-0547-6>. Acesso em: 1 ago. 2024.

HU, Dengdi; LI, Zhaoqing; ZHENG, Bin; LIN, Xixi; et al. Cancer-associated fibroblasts in breast cancer: Challenges and opportunities. **Cancer Communications**, v. 42, n. 5, p. 401–434, 2022. DOI: 10.1002/CAC2.12291. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cac2.12291>. Acesso em: 19 jul. 2024.

HU, Wanghong; ZI, Zhenguo; JIN, Yanling; LI, Gaoxin; SHAO, Kang; CAI, Qiliang; MA, Xiaojing; WEI, Fang. CRISPR/Cas9-mediated PD-1 disruption enhances human mesothelin-targeted CAR T cell effector functions. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 68, p. 365–377, 2019. DOI: 10.1007/S00262-018-2281-2. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-018-2281-2>. Acesso em: 10 jul. 2024.

HUANG, Shi-Wei; PAN, Chih-Ming; LIN, Yu-Chuan; CHEN, Mei-Chih; et al. BiTE-Secreting CAR- $\gamma\delta$ T as a Dual Targeting Strategy for the Treatment of Solid Tumors. **Advanced science**, v. 10, n. 17, 2023. DOI: 10.1002/ADVS.202206856. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/advs.202206856>. Acesso em: 8 ago. 2024.

IBARZ, Javier Pinilla; LANKFORD, Amy; SABZEVARI, Helen; SHAH, Bijal D.; SOLIMAN, Hatem; CHAVEZ, Julio C.; SHAH, Rutul R. A Phase1/1b Dose Escalation/Dose Expansion Study of Prgn-3007 Ultracar-T Cells in Patients with Advanced Hematologic and Solid Tumor Malignancies. **Blood**, v. 140, n. S1, p. 7486–7487, 2022. DOI: 10.1182/BLOOD-2022-168932. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood-2022-168932>. Acesso em: 9 ago. 2024.

International Agency for Research on Cancer (IARC). Global Cancer Observatory – Globocan, c2022. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today/en>. Acesso em: 01 out. 2024.

JIANG, Ying; LIU, Jiayu; CHEN, Lingyan; QIAN, Zhiwen; ZHANG, Yan. A promising target for breast cancer: B7-H3. **BMC Cancer**, v. 24, n. 182, 2024. DOI: 10.1186/S12885-024-11933-3. Disponível em:

<https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-024-11933-3>. Acesso em: 13 jul. 2024.

JIN, Jia; GAO, Yu; ZHANG, Jian; WANG, Leiping; WANG, Biyun; CAO, Jun; SHAO, Zhimin; WANG, Zhonghua. Incidence, pattern and prognosis of brain metastases in patients with metastatic triple negative breast cancer. **BMC Cancer**, v. 18, n. 446, 2018. DOI: 10.1186/S12885-018-4371-0. Disponível em: <https://bmccancer.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12885-018-4371-0>. Acesso em: 8 jul. 2024.

KABOLI, Parham Jabbarzadeh; CHEN, Hsiao Fan; BABAEIZAD, Ali; ROUSTAI GERAYLOW, Kiarash; YAMAGUCHI, Hirohito; HUNG, Mien Chie. Unlocking c-MET: A comprehensive journey into targeted therapies for breast cancer. **Cancer Letters**, v. 588, 2024. DOI: 10.1016/J.CANLET.2024.216780. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383524001733>. Acesso em: 1 ago. 2024.

KAGOYA, Yuki; TANAKA, Shinya; GUO, Tingxi; ANCZUROWSKI, Mark; WANG, Chung Hsi; SASO, Kayoko; BUTLER, Marcus O.; MINDEN, Mark D.; HIRANO, Naoto. A novel chimeric antigen receptor containing a JAK–STAT signaling domain mediates superior antitumor effects. **Nature Medicine**, v. 24, p. 352–359, 2018. DOI: 10.1038/nm.4478. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nm.4478>. Acesso em: 14 jul. 2024.

KALIMUTHO, Murugan; PARSONS, Kate; MITTAL, Deepak; LÓPEZ, J. Alejandro; SRIHARI, Sriganesh; KHANNA, Kum Kum. Targeted Therapies for Triple-Negative Breast Cancer: Combating a Stubborn Disease. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 36, n. 12, p. 822–846, 2015. DOI: 10.1016/J.TIPS.2015.08.009. Disponível em: <http://www.cell.com/article/S0165614715001704/fulltext>. Acesso em: 27 ago. 2024.

KARIM, Asad Mustafa; KWON, Jeong Eun; ALI, Tanveer; JANG, Jinsoo; ULLAH, Irfan; LEE, Yeong-Geun; PARK, Dae Won; PARK, Juha; JEANG, Jin Woo; KANG, Se Chan. Triple-negative breast cancer: epidemiology, molecular mechanisms, and modern vaccine-based treatment strategies. **Biochemical Pharmacology**, v. 212, 2023. DOI: 10.1016/J.BCP.2023.115545. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0006295223001363>. Acesso em: 27 ago. 2024.

KOZANI, Pouya Safarzadeh; NASERI, Abdolhossein; MIRAREFIN, Seyed Mohamad Javad; SALEM, Faeze; NIKBAKHT, Mojtaba; BAKHSHI, Sahar Evazi; KOZANI, Pooria Safarzadeh. Nanobody-based CAR-T cells for cancer immunotherapy. **Biomarker Research**, v. 10, n. 24, 2022. DOI: 10.1186/S40364-022-00371-7. Disponível em: <https://biomarkerres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40364-022-00371-7>. Acesso em: 15 jul. 2024.

LAPPANO, Rosamaria; RIGIRACCILO, Damiano Cosimo; BELFIORE, Antonino; MAGGIOLINI, Marcello; DE FRANCESCO, Ernestina Marianna. Cancer associated fibroblasts: role in breast cancer and potential as therapeutic targets. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v. 24, n. 6, p. 559–572, 2020. DOI: 10.1080/14728222.2020.1751819. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14728222.2020.1751819>. Acesso em: 20 jul. 2024.

LARSON, Rebecca C.; MAUS, Marcela V. Recent advances and discoveries in the mechanisms and functions of CAR T cells. **Nature Reviews Cancer**, v. 21, p. 145–161, 2021. DOI: 10.1038/s41568-020-00323-z. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41568-020-00323-z>. Acesso em: 31 ago. 2024.

LEI, Xinyuan; OU, Zhanpeng; YANG, Zhaohui; ZHONG, Jianglong; et al. A Pan-Histone Deacetylase Inhibitor Enhances the Antitumor Activity of B7-H3-Specific CAR T Cells in Solid Tumors. **Clinical cancer research**, v. 27, n. 13, p. 3757–3771, 2021. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2487. Disponível em: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/27/13/3757/671517/A-Pan-Histone-Deacetylase-Inhibitor-Enhances-the>. Acesso em: 15 jul. 2024.

LI, Dan; WANG, Ruixue; LIANG, Tianyuzhou; REN, Hua; et al. Camel nanobody-based B7-H3 CAR-T cells show high efficacy against large solid tumours. **Nature Communications**, v. 14, n. 5920, 2023. DOI: 10.1038/s41467-023-41631-w. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-41631-w>. Acesso em: 15 jul. 2024.

LI, Dan; ENGLISH, Hejiao; HONG, Jessica; LIANG, Tianyuzhou; MERLINO, Glenn; DAY, Chi Ping; HO, Mitchell. A novel PD-L1-targeted shark VNAR single-domain-based CAR-T cell strategy for treating breast cancer and liver cancer. **Molecular therapy oncolytics**, v. 24, p. 849–863, 2022. DOI: 10.1016/J.OMTO.2022.02.015. Disponível em: [https://www.cell.com/molecular-therapy-family/oncology/fulltext/S2372-7705\(22\)00032-8](https://www.cell.com/molecular-therapy-family/oncology/fulltext/S2372-7705(22)00032-8). Acesso em: 22 jul. 2024.

LI, Yun R.; XIAN, Rena R.; ZIOBER, Amy; CONEJO-GARCIA, Jose; PERALES-PUCHALT, Alfredo; JUNE, Carl H.; ZHANG, Paul J.; TCHOU, Julia. Mesothelin expression is associated with poor outcomes in breast cancer. **Breast Cancer Research and Treatment**, v. 147, p. 675–684, 2014. DOI: 10.1007/S10549-014-3077-5. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-014-3077-5>. Acesso em: 8 jul. 2024.

LI, Zehuan; QIU, Yiran; LU, Weiqi; JIANG, Ying; WANG, Jin. Immunotherapeutic interventions of Triple Negative Breast Cancer. **Journal of Translational Medicine** 2018 16:1, v. 16, n. 147, 2018. DOI: 10.1186/S12967-018-1514-7. Disponível em: <https://translational-medicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12967-018-1514-7>. Acesso em: 7 jul. 2024.

LI, Zhifeng; YANG, Dazhuang; GUO, Ting; LIN, Mei. Advances in MUC1-Mediated Breast Cancer Immunotherapy. **Biomolecules**, v. 12, n. 7, 2022. DOI: 10.3390/BIOM12070952. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2218-273X/12/7/952/htm>. Acesso em: 28 jul. 2024.

LIN, Chenteng; AKHTAR, Muhammad; LI, Yingjie; JI, Min; HUANG, Rongqin. Recent Developments in CaCO₃ Nano-Drug Delivery Systems: Advancing Biomedicine in Tumor Diagnosis and Treatment. **Pharmaceutics**, v. 16, n. 2, 2024. DOI: 10.3390/PHARMACEUTICS16020275. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1999-4923/16/2/275>. Acesso em: 8 jul. 2024.

LIN, Haolong; CHENG, Jiali; MU, Wei; ZHOU, Jianfeng; ZHU, Li. Advances in Universal CAR-T Cell Therapy. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021. DOI: 10.3389/FIMMU.2021.744823/BIBTEX. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.744823/full>. Acesso em: 11 jul. 2024.

LIU, Heping; MA, Yuxiang; YANG, Chaopin; XIA, Shangzhou; et al. Severe delayed pulmonary toxicity following PD-L1-specific CAR-T cell therapy for non-small cell lung cancer. **Clinical & Translational Immunology**, v. 9, n. 10, 2020. DOI: 10.1002/CTI2.1154. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cti2.1154>. Acesso em: 22 jul. 2024.

LIU, Xin; XU, Yixiang; XIONG, Wei; YIN, Bingnan; et al. Development of a TCR-like antibody and chimeric antigen receptor against NY-ESO-1/HLA-A2 for cancer immunotherapy. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 10, n. 3, 2022. DOI: 10.1136/JITC-2021-004035. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/10/3/e004035>. Acesso em: 8 ago. 2024.

LIU, Yan; ZHOU, Yehui; HUANG, Kuo-Hsiang; LI, Ying; et al. EGFR-specific CAR-T cells trigger cell lysis in EGFR-positive TNBC. **Aging (Albany NY)**, v. 11, n. 23, p. 11054-11072, 2019. DOI: 10.18632/AGING.102510. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6932924/>. Acesso em: 7 jul. 2024.

LIU, Yan; ZHOU, Yehui; HUANG, Kuo-Hsiang; FANG, Xujie; et al. Targeting epidermal growth factor-overexpressing triple-negative breast cancer by natural killer cells expressing a specific chimeric antigen receptor. **Cell Proliferation**, v. 53, n. 8, 2020. DOI: 10.1111/CPR.12858. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cpr.12858>. Acesso em: 23 ago. 2024.

MANDAI, Masaki; HAMANISHI, Junzo; ABIKO, Kaoru; MATSUMURA, Noriomi; BABA, Tsukasa; KONISHI, Ikuo. Dual faces of IFN γ in cancer progression: A role of pd-11 induction in the determination of pro-and antitumor immunity. **Clinical Cancer Research**, v. 22, n. 10, p. 2329–2334, 2016. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0224.

Disponível em: <https://aacrjournals.org/clincancerres/article/22/10/2329/120543/Dual-Faces-of-IFN-in-Cancer-Progression-A-Role-of>. Acesso em: 7 jul. 2024.

MARTINS, Luhan Chaveiro; REZENDE, Renata Martins Dayrel; CORDEIRO, Jacqueline Andréia Bernardes Leão; PAULA, Hellen da Silva Cintra De; BASTOS, Daniel Rodrigues De; AUGUSTO SAM, Cesar; VILANOVA-COSTA, Tiago; SADDI, Vera Aparecida; SILVA, Antonio Márcio Teodoro Cordeiro. Padrão de metástase no câncer de mama triplo negativo. **Revista brasileira de mastologia**, v. 27, n. 1, p. 8-14, 2017. DOI: 10.5327/Z201700010003RBM. Disponível em: <https://fi-admin.bvsalud.org/document/view/vyvtS>. Acesso em: 8 jul. 2024.

MEI, Jie; CAI, Yun; ZHU, Hongjun; JIANG, Ying; et al. High B7-H3 expression with low PD-L1 expression identifies armored-cold tumors in triple-negative breast cancer. **npj Breast Cancer**, v. 10, n. 11, 2024. DOI: 10.1038/s41523-024-00618-6. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41523-024-00618-6>. Acesso em: 13 jul. 2024.

MELÉNDEZ, Ana Valeria; VELASCO CÁRDENAS, Rubí M.-H.; LAGIES, Simon; STRIETZ, Juliane; et al. Novel lectin-based chimeric antigen receptors target Gb3-positive tumour cells. **Cellular and molecular life sciences**, v. 79, n. 513, 2022. DOI: 10.1007/S00018-022-04524-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00018-022-04524-7>. Acesso em: 8 ago. 2024.

MUTHUVEL, Muthuganesh; SRINIVASAN, Harshita; LOUIS, Leena; MARTIN, Sunil. Engineering off-the-shelf universal CAR T cells: A silver lining in the cloud. **Cytokine**, v. 156, 2022. DOI: 10.1016/J.CYTO.2022.155920. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1043466622001296?via%3DiHub>. Acesso em: 11 jul. 2024.

NAJAFI, Alireza; KEYKHAEE, Maryam; KHORRAMDELAZAD, Hossein; KARIMI, Mohammad Yahya; NEJATBAKHSH SAMIMI, Leila; AGHAMOHAMADI, Nazanin; KARIMI, Milad; FALAK, Reza; KHOABI, Mehdi. Catalase application in cancer therapy: Simultaneous focusing on hypoxia attenuation and macrophage reprogramming. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 153, 2022. DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2022.113483. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0753332222008721>. Acesso em: 8 jul. 2024.

NAKAI, Katsuya; HUNG, Mien Chie; YAMAGUCHI, Hirohito. A perspective on anti-EGFR therapies targeting triple-negative breast cancer. **American Journal of Cancer Research**, v. 6, n. 8, p. 1609–1623, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5004067/>. Acesso em: 15 ago. 2024.

NALAWADE, Saisha A.; SHAFER, Paul; BAJGAIN, Pradip; McKENNA, Mary K.; et al. Selectively targeting myeloid-derived suppressor cells through TRAIL receptor 2 to

enhance the efficacy of CAR T cell therapy for treatment of breast cancer. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 9, n. 11, 2021. DOI: 10.1136/JITC-2021-003237. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/9/11/e003237>. Acesso em: 29 jul. 2024.

NASIRI, Fatemeh; KAZEMI, Mehrasa; MIRAREFIN, Seyed Mohamad Javad; MAHBOUBI KANCHA, Maral; et al. CAR-T cell therapy in triple-negative breast cancer: Hunting the invisible devil. **Frontiers in Immunology**, v. 13, 2022. DOI: 10.3389/FIMMU.2022.1018786. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2022.1018786/full>. Acesso em: 7 jul. 2024.

NECELA, Brian M.; CROZIER, Jennifer A.; ANDORFER, Cathy A.; LEWIS-TUFFIN, Laura; et al. Folate Receptor- α (FOLR1) Expression and Function in Triple Negative Tumors. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, 2015. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0122209. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0122209>. Acesso em: 18 jul. 2024.

NIU, Zhipu; WU, Jingyuan; ZHAO, Qiancheng; ZHANG, Jinyu; ZHANG, Pengyu; YANG, Yiming. CAR-based immunotherapy for breast cancer: peculiarities, ongoing investigations, and future strategies. **Frontiers in Immunology**, v. 15, 2024. DOI: 10.3389/FIMMU.2024.1385571. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2024.1385571/full>. Acesso em: 8 jul. 2024.

OLIFIRENKO, Valentina; BARLEV, Nikolai A. A Review of CAR-T Combination Therapies for Treatment of Gynecological Cancers. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 12, 2024. DOI: 10.3390/IJMS25126595. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/12/6595/htm>. Acesso em: 23 ago. 2024.

O'SHANNESY, Daniel J.; SOMERS, Elizabeth B.; MALTZMAN, Julia; SMALE, Robert; FU, Yao Shi. Folate receptor alpha (FRA) expression in breast cancer: Identification of a new molecular subtype and association with triple negative disease. **SpringerPlus**, v. 1, n. 22, 2012. DOI: 10.1186/2193-1801-1-22. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3725886/>. Acesso em: 19 jul. 2024.

OSORIO-RODRÍGUEZ, Daniel Andrés; CAMACHO, Bernardo Armando; RAMÍREZ-SEGURA, César. Anti-ROR1 CAR-T cells: Architecture and performance. **Frontiers in Medicine**, v. 10, 2023. DOI: 10.3389/FMED.2023.1121020. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/medicine/articles/10.3389/fmed.2023.1121020/full>. Acesso em: 12 jul. 2024.

PAPA, Sophie; ADAMI, Antonella; METOUDI, Michael; BEATSON, Richard; et al. Intratumoral pan-ErbB targeted CAR-T for head and neck squamous cell carcinoma: interim analysis of the T4 immunotherapy study. **Journal for immunotherapy of**

cancer, v. 11, n. 6, 2023. DOI: 10.1136/JITC-2023-007162. Disponível em: <https://jitc.bmj.com/content/11/6/e007162>. Acesso em: 15 ago. 2024.

PARINYANITIKUL, Napa; BLUMENSCHN, George R.; WU, Yun; LEI, Xiudong; CHAVEZ-MACGREGOR, Mariana; SMART, Melody; GONZALEZ-ANGULO, Ana Maria. Mesothelin Expression and Survival Outcomes in Triple Receptor Negative Breast Cancer. **Clinical Breast Cancer**, v. 13, n. 5, p. 378–384, 2013. DOI: 10.1016/J.CLBC.2013.05.001. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1526820913001080>. Acesso em: 8 jul. 2024.

PARK, Anthony K.; FONG, Yuman; KIM, Sang-In; YANG, Jason; et al. Effective combination immunotherapy using oncolytic viruses to deliver CAR targets to solid tumors. **Science translational medicine**, v. 12, n. 559, 2020. DOI: 10.1126/SCITRANSLMED.AAZ1863. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9126033/>. Acesso em: 8 ago. 2024.

PENG, Lei; SFERRUZZA, Giacomo; YANG, Luojia; ZHOU, Liqun; CHEN, Sidi. CAR-T and CAR-NK as cellular cancer immunotherapy for solid tumors. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 21, p. 1089-1108, 2024. DOI: 10.1038/s41423-024-01207-0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41423-024-01207-0>. Acesso em: 23 ago. 2024.

PFEIFER, Rita; AL RAWASHDEH, Wa'el; BRAUNER, Janina; MARTINEZ-OSUNA, Manuel; et al. Targeting Stage-Specific Embryonic Antigen 4 (SSEA-4) in Triple Negative Breast Cancer by CAR T Cells Results in Unexpected on Target/off Tumor Toxicities in Mice. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 11, 2023. DOI: 10.3390/IJMS24119184. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/11/9184>. Acesso em: 8 ago. 2024.

ROSSONI, Emanuela Sinimbu Silva; HÉRCULES, Marcela Barbosa; DE OLIVEIRA, Julliete Cristina; DE SOUZA, Areta Agostinho Rodrigues; ROSSONI, Hugo De Carlos Maciel. Perfil molecular do câncer de mama triplo negativo: Uma revisão sistemática / Molecular profile of negative triple breast cancer: A systematic review. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, p. 82283–82303, 2020. DOI: 10.34117/BJDV6N10-600. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/18909>. Acesso em: 27 ago. 2024.

SALEH, Reem; ELKORD, Eyad. Acquired resistance to cancer immunotherapy: Role of tumor-mediated immunosuppression. **Seminars in Cancer Biology**, v. 65, p. 13–27, 2020. DOI: 10.1016/J.SEMCANCER.2019.07.017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1044579X19301713>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SANI, Farnaz; SHOJAEI, Shabnam; TABATABAEI, Seyed Amirhossein; KHORRAMINEJAD-SHIRAZI, Mohammadhossein; LATIFI, Mona; SANI, Mahsa; AZARPIRA, Negar. CAR-T cell-derived exosomes: a new perspective for cancer therapy. **Stem Cell Research and Therapy**, v. 15, n. 174, 2024. DOI: 10.1186/S13287-024-03783-4. Disponível em: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-024-03783-4>. Acesso em: 11 jul. 2024.

SCARANTI, Mariana; COJOCARU, Elena; BANERJEE, Susana; BANERJI, Udai. Exploiting the folate receptor α in oncology. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 17, p. 349–359, 2020. DOI: 10.1038/s41571-020-0339-5. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41571-020-0339-5>. Acesso em: 16 jul. 2024.

SCHMIDT, Dayane; EBRAHIMABADI, Sima; GOMES, Kauan Ribeiro De Sena; DE MOURA AGUIAR, Graziela; CARIATI TIRAPELLE, Mariane; NACASAKI SILVESTRE, Renata; DE AZEVEDO, Júlia Teixeira Cottas; TADEU COVAS, Dimas; PICANÇO-CASTRO, Virginia. Engineering CAR-NK cells: how to tune innate killer cells for cancer immunotherapy. **Immunotherapy Advances**, v. 2, n. 1, 2022. DOI: 10.1093/IMMADV/LTAC003. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9327111/>. Acesso em: 22 ago. 2024.

SCHÜTZ, Florian; STEFANOVIC, Stefan; MAYER, Luisa; VON AU, Alexandra; DOMSCHKE, Christoph; SOHN, Christof. PD-1/PD-L1 Pathway in Breast Cancer. **Oncology Research and Treatment**, v. 40, n. 5, p. 294–297, 2017. DOI: 10.1159/000464353. Disponível em: <https://karger.com/ort/article/40/5/294/263658/PD-1-PD-L1-Pathway-in-Breast-Cancer>. Acesso em: 21 jul. 2024.

SEITZ, Christian M.; SCHROEDER, Sarah; KNOPF, Philipp; KRAHL, Ann-Christin; et al. GD2-targeted chimeric antigen receptor T cells prevent metastasis formation by elimination of breast cancer stem-like cells. **Oncoimmunology**, v. 9, n. 1, 2020. DOI: 10.1080/2162402X.2019.1683345. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/2162402X.2019.1683345>. Acesso em: 8 ago. 2024.

SHADBAD, Mahdi Abdoli; HAJIASGHARZADEH, Khalil; BARADARAN, Behzad. Cross-talk between myeloid-derived suppressor cells and Mucin1 in breast cancer vaccination: On the verge of a breakthrough. **Life Sciences**, v. 258, 2020. DOI: 10.1016/J.LFS.2020.118128. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0024320520308791?via%3Di%3Dhub>. Acesso em: 29 jul. 2024.

SHAH, Payal D.; HUANG, Alexander C.; XU, Xiaowei; ORLOWSKI, Robert; et al. Phase I Trial of Autologous RNA-electroporated cMET-directed CAR T Cells Administered Intravenously in Patients with Melanoma and Breast Carcinoma. **Cancer**

Research Communications, v. 3, n. 5, p. 821–829, 2023. DOI: 10.1158/2767-9764.CRC-22-0486. Disponível em:

<https://aacrjournals.org/cancerrescommun/article/3/5/821/726328/Phase-I-Trial-of-Autologous-RNA-electroporated>. Acesso em: 2 ago. 2024.

SIROY, Alan; ABDUL-KARIM, Fadi W.; MIEDLER, John; FONG, Nancy; FU, Pingfu; GILMORE, Hannah; BAAR, Joseph. MUC1 is expressed at high frequency in early-stage basal-like triple-negative breast cancer. **Human Pathology**, v. 44, n. 10, p. 2159–2166, 2013. DOI: 10.1016/J.HUMPATH.2013.04.010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4167755/>. Acesso em: 28 jul. 2024.

SONG, De Gang; YE, Qunrui; POUSSIN, Mathilde; CHACON, Jessica A.; FIGINI, Mariangela; POWELL, Daniel J. Effective adoptive immunotherapy of triple-negative breast cancer by folate receptor-alpha redirected CAR T cells is influenced by surface antigen expression level. **Journal of hematology & oncology**, v. 9, n. 56, 2016. DOI: 10.1186/S13045-016-0285-Y. Disponível em: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-016-0285-y>. Acesso em: 19 jul. 2024.

SOUZA, Marcela Tavares De; SILVA, Michelly Dias Da; CARVALHO, Rachel De. Revisão integrativa: o que é e como fazer. **Einstein (São Paulo)**, v. 8, n. 1, p. 102–106, 2010. DOI: 10.1590/S1679-45082010RW1134. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/eins/a/ZQTBkVJZqcWrTT34cXLjtBx/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 5 jul. 2024.

SPECHT, Jennifer M.; LEE, SM; TURTLE, C; BERGER, C.; et al. A phase I study of adoptive immunotherapy for ROR1+ advanced triple negative breast cancer (TNBC) with defined subsets of autologous T cells expressing a ROR1-specific chimeric antigen receptor (ROR1-CAR). **Cancer Research**, v. 79, n. S4, 2019. DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS18-P2-09-13. Disponível em: https://aacrjournals.org/cancerres/article/79/4_Supplement/P2-09-13/639326/Abstract-P2-09-13-A-phase-I-study-of-adoptive. Acesso em: 9 ago. 2024.

SPIGEL, D.R.; MURTHY, H.; CHUMSRI, S.; GANGULY, B.J.; et al. 777TiP Phase I study of LYL797, a ROR1-targeted CAR T-cell therapy with genetic and epigenetic reprogramming for the treatment of advanced solid tumors. **Annals of Oncology**, v. 33, n. S7, 2022. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.07.903. Disponível em: <http://www.annalsofoncology.org/article/S0923753422027545/fulltext>. Acesso em: 9 ago. 2024.

SRIVASTAVA, Shivani; FURLAN, Scott N.; JAEGER-RUCKSTUHL, Carla A.; SARVOTHAMA, Megha; et al. Immunogenic chemotherapy enhances recruitment of CAR-T cells to lung tumors and improves anti-tumor efficacy when combined with checkpoint blockade. **Cancer cell**, v. 39, n. 2, p. 193–208, 2021. DOI:

10.1016/J.CCELL.2020.11.005. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7878409/>. Acesso em: 14 ago. 2024.

STOVGAARD, Elisabeth Specht; NIELSEN, Dorte; HOGDALL, Estrid; BALSLEV, Eva. Triple negative breast cancer – prognostic role of immune-related factors: a systematic review. **Acta Oncologica**, v. 57, n. 1, p. 74–82, 2018. DOI: 10.1080/0284186X.2017.1400180. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0284186X.2017.1400180>. Acesso em: 29 jul. 2024.

STÜBER, Tanja; MONJEZI, Razieh; WALLSTABE, Lars; KÜHNEMUNDT, Johanna; NIETZER, Sarah Louise; DANDEKAR, Gudrun; WÖCKEL, Achim; EINSELE, Hermann; WISCHHUSEN, Jörg; HUDECEK, Michael. Inhibition of TGF- β - receptor signaling augments the antitumor function of ROR1-specific CAR T-cells against triple-negative breast cancer. **Journal for immunotherapy of cancer**, v. 8, n. 1, 2020. DOI: 10.1136/JITC-2020-000676. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7204619/>. Acesso em: 7 jul. 2024.

SUBHAM, Siddharth; JEPPSON, John D.; WORCESTER, Colette; SCHATMeyer, Bryan; et al. EGFR as a potent CAR T target in triple negative breast cancer brain metastases. **Breast cancer research and treatment**, v. 197, p. 57–69, 2023. DOI: 10.1007/S10549-022-06783-1. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-022-06783-1>. Acesso em: 7 jul. 2024.

TAN, Ge; SPILLANE, Katelyn M.; MAHER, John. The Role and Regulation of the NKG2D/NKG2D Ligand System in Cancer. **Biology**, v. 12, n. 8, 2023. DOI: 10.3390/BIOLOGY12081079. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2079-7737/12/8/1079/htm>. Acesso em: 6 ago. 2024.

TANG, Xiang-Jun; SUN, Xu-Yong; HUANG, Kuan-Ming; ZHANG, Li; YANG, Zhuo-Shun; ZOU, Dan-Dan; WANG, Bin; WARNOCK, Garth L.; DAI, Long-Jun; LUO, Jie. Therapeutic potential of CAR-T cell-derived exosomes: a cell-free modality for targeted cancer therapy. **Oncotarget**, v. 6, n. 42, p. 4419–44190, 2015. DOI: 10.18632/ONCOTARGET.6175. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4792550/>. Acesso em: 11 jul. 2024.

TANG, Zhewei; QIAN, Min; HO, Mitchell. The Role of Mesothelin in Tumor Progression and Targeted Therapy. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 13, n. 2, p. 276–280, 2013. DOI: 10.2174/187152013804711254. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3568227/>. Acesso em: 9 jul. 2024.

TCHOU, Julia; WANG, Liang-Chuan; SELVEN, Ben; ZHANG, Hongtao; et al. Mesothelin, a novel immunotherapy target for triple negative breast cancer. **Breast cancer research and treatment**, v. 133, p. 799–804, 2012. DOI: 10.1007/S10549-

012-2018-4. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10549-012-2018-4>. Acesso em: 9 jul. 2024.

TCHOU, Julia; ZHAO, Yangbing; LEVINE, Bruce L.; ZHANG, Paul J; et al. Safety and efficacy of intratumoral injections of chimeric antigen receptor (CAR) T cells in metastatic breast cancer. **Cancer Immunology Research**, v. 5, n. 12, p. 1152–1161, 2017. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0189. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerimmunolres/article/5/12/1152/468560/Safety-and-Efficacy-of-Intratumoral-Injections-of>. Acesso em: 2 ago. 2024.

TIAN, Yonggui; LI, Yilu; SHAO, Yupei; ZHANG, Yi. Gene modification strategies for next-generation CAR T cells against solid cancers. **Journal of Hematology & Oncology**, v. 13, n. 54, 2020. DOI: 10.1186/S13045-020-00890-6. Disponível em: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-020-00890-6>. Acesso em: 14 jul. 2024.

TOZBIKIAN, Gary; BROGI, Edi; KADOTA, Kyuichi; CATALANO, Jeffrey; et al. Mesothelin Expression in Triple Negative Breast Carcinomas Correlates Significantly with Basal-Like Phenotype, Distant Metastases and Decreased Survival. **PLOS ONE**, v. 9, n. 12, 2014. DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0114900. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0114900>. Acesso em: 8 jul. 2024.

TUCCITTO, Alessandra; SHAHAJ, Eriomina; VERGANI, Elisabetta; FERRO, Simona; HUBER, Veronica; RODOLFO, Monica; CASTELLI, Chiara; RIVOLTINI, Licia; VALLACCHI, Viviana. Immunosuppressive circuits in tumor microenvironment and their influence on cancer treatment efficacy. **Virchows Archiv: an international journal of pathology**, v. 474, p. 407–420, 2019. DOI: 10.1007/S00428-018-2477-Z. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00428-018-2477-z>. Acesso em: 8 jul. 2024.

URBANOWICZ, Iwona; BIL-LULA, Iwona. CAR-T- A new perspective on immunotherapy. **Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research**, v. 79, n. 1, p. 3–15, 2022. DOI: 10.32383/APPDR/146852. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/360509786_CAR-T-a_new_perspective_on_immunotherapy. Acesso em: 27 ago. 2024.

VASCONCELOS, Maria Clara De Holanda Vieira; DE FREITAS, Guilherme Couto Pimentel Lopes; LOUREIRO, João Victor Araújo Diniz; DA CUNHA, Vinícius Acioli. Evolution and development of drug therapy for triple negative breast neoplasms: an integrative review. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 3, 2023. DOI: 10.33448/RSD-V12I3.40413. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/40413>. Acesso em: 27 ago. 2024.

VOLPE, Alessia; LANG, Cameron; LIM, Lindsay; MAN, Francis; KURTYS, Ewelina; ASHMORE-HARRIS, Candice; JOHNSON, Preeth; SKOURTI, Elena; DE ROSALES, Rafael T.M.; FRUHWIRTH, Gilbert O. Spatiotemporal PET Imaging Reveals Differences in CAR-T Tumor Retention in Triple-Negative Breast Cancer Models. **Molecular therapy: the journal of the American Society of Gene Therapy**, v. 28, n. 10, p. 2271–2285, 2020. DOI: 10.1016/J.YMTHE.2020.06.028. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7544977/>. Acesso em: 7 jul. 2024.

WALLSTABE, Lars; GÖTTLICH, Claudia; NELKE, Lena C.; KÜHNEMUNDT, Johanna; et al. ROR1-CAR T cells are effective against lung and breast cancer in advanced microphysiologic 3D tumor models. **JCI insight**, v. 4, n. 18, 2019. DOI: 10.1172/JCI.INSIGHT.126345. Disponível em: <https://insight.jci.org/articles/view/126345>. Acesso em: 12 jul. 2024.

WALLSTABE, Lars; MADES, Andreas; FRENZ, Silke; EINSELE, Hermann; RADER, Christoph; HUDECEK, Michael. CAR T cells targeting $\alpha\beta 3$ integrin are effective against advanced cancer in preclinical models. **Advances in cell and gene therapy**, v. 1, n. 2, 2018. DOI: 10.1002/ACG2.11. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/acg2.11>. Acesso em: 8 ago. 2024.

WANG, Yubao; ZHANG, Tinghu; KWIATKOWSKI, Nicholas; ABRAHAM, Brian J.; et al. CDK7-dependent transcriptional addiction in triple-negative breast cancer. **Cell**, v. 163, n. 1, p. 174–186, 2015. DOI: 10.1016/J.CELL.2015.08.063. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(15\)01115-0](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(15)01115-0). Acesso em: 8 jul. 2024.

WANG, Yufeng; DRUM, David L.; SUN, Ruochuan; ZHANG, Yida; et al. Stressed target cancer cells drive nongenetic reprogramming of CAR T cells and solid tumor microenvironment. **Nature Communications**, v. 14, n. 5727, 2023. DOI: 10.1038/s41467-023-41282-x. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-41282-x>. Acesso em: 16 jul. 2024.

WANG, Zhenguang; LI, Na; FENG, Kaichao; CHEN, Meixia; et al. Phase I study of CAR-T cells with PD-1 and TCR disruption in mesothelin-positive solid tumors. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 18, p. 2188–2198, 2021. DOI: 10.1038/s41423-021-00749-x. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41423-021-00749-x>. Acesso em: 10 jul. 2024.

WEI, Heng; WANG, Zeng; KUANG, Yi; WU, Zhiguo; et al. Intercellular Adhesion Molecule-1 as Target for CAR-T-Cell Therapy of Triple-Negative Breast Cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2020. DOI: 10.3389/FIMMU.2020.573823. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7539633/>. Acesso em: 9 ago. 2024.

WEI, Jing; SUN, Huiyan; ZHANG, Aimei; WU, Xuejie; et al. A novel AXL chimeric antigen receptor endows T cells with anti-tumor effects against triple negative breast

cancers. **Cellular Immunology**, v. 331, p. 49–58, 2018. DOI: 10.1016/J.CELLIMM.2018.05.004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008874918301618?via%3DiHub>. Acesso em: 8 ago. 2024.

WHILDING, Lynsey M.; HALIM, Leena; DRAPER, Benjamin; PARENTE-PEREIRA, Ana C.; ZABINSKI, Tomasz; DAVIES, David Marc; MAHER, John. CAR T-Cells Targeting the Integrin $\alpha\beta 6$ and Co-Expressing the Chemokine Receptor CXCR2 Demonstrate Enhanced Homing and Efficacy against Several Solid Malignancies. **Cancers**, v. 11, n. 5, 2019. DOI: 10.3390/CANCERS11050674. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2072-6694/11/5/674>. Acesso em: 8 ago. 2024.

WING, Anna; FAJARDO, Carlos Alberto; POSEY, Avery D.; SHAW, Carolyn; DA, Tong; YOUNG, Regina M.; ALEMANY, Ramon; JUNE, Carl H.; GUEDAN, Sonia. Improving CART-cell therapy of solid tumors with oncolytic virus–driven production of a bispecific T-cell engager. **Cancer Immunology Research**, v. 6, n. 5, p. 605–616, 2018. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0314. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerimmunolres/article/6/5/605/466696/Improving-CART-Cell-Therapy-of-Solid-Tumors-with>. Acesso em: 23 ago. 2024.

WOLTER, Tyler; WANG, Yixin; HU, Quanyin. Engineering strategies to mitigate toxicities associated with CAR-T cell therapy. **BMEMat**, 2024. DOI: 10.1002/BMM2.12109. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/bmm2.12109>. Acesso em: 23 ago. 2024.

WRONA, Ewa; BOROWIEC, Maciej; POTEMSKI, Piotr. CAR-NK Cells in the Treatment of Solid Tumors. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, 2021. DOI: 10.3390/IJMS22115899. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/11/5899/htm>. Acesso em: 23 ago. 2024.

XIA, Lin; ZHENG, Zaozao; LIU, Jun-yi; CHEN, Yu-jie; et al. Targeting triple-negative breast cancer with combination therapy of EGFR CAR T cells and CDK7 inhibition. **Cancer Immunology Research**, v. 9, n. 6, p. 707–722, 2021. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-20-0405. Disponível em: <https://aacrjournals.org/cancerimmunolres/article/9/6/707/666165/Targeting-Triple-Negative-Breast-Cancer-with>. Acesso em: 7 jul. 2024.

XIA, Lin; ZHENG, Zao zao; LIU, Jun yi; CHEN, Yu jie; DING, Jian cheng; XIA, Ning shao; LUO, Wen xin; LIU, Wen. EGFR-targeted CAR-T cells are potent and specific in suppressing triple-negative breast cancer both in vitro and in vivo. **Clinical & Translational Immunology**, v. 9, n. 5, 2020. DOI: 10.1002/CTI2.1135. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/cti2.1135>. Acesso em: 7 jul. 2024.

XIE, Yuetao; HU, Yi; ZHOU, Nawu; YAO, Cuicui; WU, Lixin; LIU, Lin; CHEN, Fang. CAR T-cell therapy for triple-negative breast cancer: Where we are. **Cancer Letters**, v. 491, p. 121–131, 2020. DOI: 10.1016/J.CANLET.2020.07.044. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383520304006?via%3Di%3Dihub>. Acesso em: 7 jul. 2024.

YANG, Peiwei; YU, Fan; YAO, Zheng; DING, Xu; XU, Hanmei; ZHANG, Juan. CD24 is a novel target of chimeric antigen receptor T cells for the treatment of triple negative breast cancer. **Cancer Immunology, Immunotherapy**, v. 72, p. 3191-3202, 2023. DOI: 10.1007/S00262-023-03491-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00262-023-03491-7>. Acesso em: 8 ago. 2024.

YANG, Pengxiang; CAO, Xingjian; CAI, Huilong; FENG, Panfeng; CHEN, Xiang; ZHU, Yihua; YANG, Yue; AN, Weiwei; YANG, Yumin; JIE, Jing. The exosomes derived from CAR-T cell efficiently target mesothelin and reduce triple-negative breast cancer growth. **Cellular Immunology**, v. 360, 2021. DOI: 10.1016/J.CELLIMM.2020.104262. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0008874920304226>. Acesso em: 11 jul. 2024.

YANG, Yu Huan; LIU, Jia Wei; LU, Chen; WEI, Ji Fu. CAR-T Cell Therapy for Breast Cancer: From Basic Research to Clinical Application. **International Journal of Biological Sciences**, v. 18, n. 6, p. 2609–2626, 2022. DOI: 10.7150/IJBS.70120. Disponível em: <https://www.ijbs.com/v18p2609.htm>. Acesso em: 27 ago. 2024.

YE, Xueshuai; DENG, Xinna; WEN, Junye; LI, Yang; ZHANG, Mengya; CAI, Ziqi; LIU, Guan; WANG, Hezhi; CAI, Jianhui. Folate Receptor-Alpha Targeted 7x19 CAR- $\gamma\delta$ T Suppressed Triple-Negative Breast Cancer Xenograft Model in Mice. **Journal of oncology**, v. 2022, 2022. DOI: 10.1155/2022/2112898. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8920629/>. Acesso em: 20 jul. 2024.

YOON, Justin G.; SMITH, Daniel A.; TIRUMANI, Sree H.; CAIMI, Paolo F.; RAMAIYA, Nikhil H. Car t-cell therapy: An update for radiologists. **American Journal of Roentgenology**, v. 217, n. 6, p. 1461–1474, 2021. DOI: 10.2214/AJR.21.26091. Disponível em: <https://ajronline.org/doi/10.2214/AJR.21.26091>. Acesso em: 8 jul. 2024.

ZAGORAC, Irena; LONČAR, Branka; DMITROVIĆ, Branko; KRALIK, Kristina; KOVAČEVIĆ, Andrej. Correlation of folate receptor alpha expression with clinicopathological parameters and outcome in triple negative breast cancer. **Annals of Diagnostic Pathology**, v. 48, 2020. DOI: 10.1016/J.ANNDIAGPATH.2020.151596. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1092913420301398>. Acesso em: 16 jul. 2024.

ZAJC, Charlotte U.; SALZER, Benjamin; TAFT, Joseph M.; REDDY, Sai T.; LEHNER, Manfred; TRAXLMAYR, Michael W. Driving CARs with alternative navigation tools – the potential of engineered binding scaffolds. **The FEBS Journal**, v. 288, n. 7, p. 2103–2118, 2021. DOI: 10.1111/FEBS.15523. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/febs.15523>. Acesso em: 23 jul. 2024.

ZHANG, Kai; CHEN, Hong; LI, Fuqiang; HUANG, Sheng; CHEN, Fei; LI, Yi. Bright future or blind alley? CAR-T cell therapy for solid tumors. **Frontiers in immunology**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/FIMMU.2023.1045024. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1045024/full>. Acesso em: 27 ago. 2024.

ZHANG, Mingxia; WU, Jiannan; MAO, Kai; DENG, Heran; YANG, Yaping; ZHOU, Enxiang; LIU, Jieqiong. Role of transforming growth factor- β 1 in triple negative breast cancer patients. **International Journal of Surgery**, v. 45, p. 72–76, 2017. DOI: 10.1016/J.IJSU.2017.07.080. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1743919117306313?via%3Dihub>. Acesso em: 12 jul. 2024.

ZHANG, Xiaoshuai; GUO, Haiyan; CHEN, Jie; XU, Chenxiao; WANG, Lei; KE, Yong; GAO, Yang; ZHANG, Baohong; ZHU, Jianwei. Highly proliferative and hypodifferentiated CAR-T cells targeting B7-H3 enhance antitumor activity against ovarian and triple-negative breast cancers. **Cancer letters**, v. 572, 2023. DOI: 10.1016/J.CANLET.2023.216355. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0304383523003063>. Acesso em: 14 jul. 2024.

ZHAO, Juanjuan; LIN, Quande; SONG, Yongping; LIU, Delong. Universal CARs, universal T cells, and universal CAR T cells. **Journal of Hematology and Oncology**, v. 11, n. 132, 2018. DOI: 10.1186/S13045-018-0677-2. Disponível em: <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-018-0677-2>. Acesso em: 31 ago. 2024.

ZHAO, Zhenhui; LI, Yan; LIU, Wei; LI, Xun. Engineered IL-7 Receptor Enhances the Therapeutic Effect of AXL-CAR-T Cells on Triple-Negative Breast Cancer. **BioMed Research International**, v. 2020, n. 1, 2020. DOI: 10.1155/2020/4795171. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2020/4795171>. Acesso em: 8 ago. 2024.

ZHENG, Yiwen; LI, Shujin; TANG, Hongchao; MENG, Xuli; ZHENG, Qinghui. Molecular mechanisms of immunotherapy resistance in triple-negative breast cancer. **Frontiers in Immunology**, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/FIMMU.2023.1153990. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1153990/full>. Acesso em: 27 ago. 2024.

ZHONG, Liqiang; LI, Yi; MULUH, Tobias Achu; WANG, Yongsheng. Combination of CAR-T cell therapy and radiotherapy: Opportunities and challenges in solid tumors (Review). **Oncology Letters**, v. 26, n. 1, 2023. DOI: 10.3892/OL.2023.13867. Disponível em <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10236127/>. Acesso em: 8 jul. 2024.

ZHOU, Min; CHEN, Muhua; SHI, Bizhi; DI, Shengmeng; SUN, Ruixin; JIANG, Hua; LI, Zonghai. Radiation enhances the efficacy of EGFR-targeted CAR-T cells against triple-negative breast cancer by activating NF- κ B/Icam1 signaling. **Molecular Therapy**, v. 30, n. 11, p. 3379–3393, 2022. DOI: 10.1016/j.ymthe.2022.07.021. Disponível em: <http://www.cell.com/article/S1525001622004427/fulltext>. Acesso em: 7 jul. 2024.

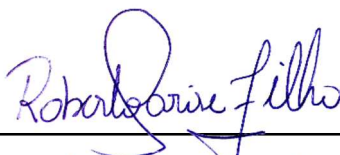
ZHOU, Ru; YAZDANIFAR, Mahboubeh; ROY, Lopamudra Das; WHILDING, Lynsey M.; GAVRILL, Artemis; MAHER, John; MUKHERJEE, Pinku. CAR T cells targeting the tumor MUC1 glycoprotein reduce triple-negative breast cancer growth. **Frontiers in Immunology**, v. 10, 2019. DOI: 10.3389/FIMMU.2019.01149. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2019.01149/full>. Acesso em: 29 jul. 2024.

ZHU, Linshan; MAN, Chi-Wei; HARRISON, Reed E.S.; WU, Zhuohang; et al. Engineering a Programmed Death-Ligand 1-Targeting Monobody Via Directed Evolution for SynNotch-Gated Cell Therapy. **ACS Nano**, v. 18, n. 11, p. 8531–8545, 2024. DOI: 10.1021/ACSNANO.4C01597. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acsnano.4c01597>. Acesso em: 23 jul. 2024.



10 de outubro de 2024

Thaíssa Giovanna Valverde Campos



10 de outubro de 2024

Roberto Parise Filho