UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE – UFCSPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

TERAPIA COM CÉLULAS CAR-T COMO POSSIBILIDADE DE TRATAMENTO DA FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA.

Porto Alegre
2023

Isadora Chiomento Ritter

TERAPIA COM CÉLULAS CAR-T COMO POSSIBILIDADE DE TRATAMENTO DA FIBROSE PULMONAR IDIOPÁTICA.

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Dra. Gisele Branchini
Coorientadora: Dra. Fernanda Bordignon Nunes

Porto Alegre
2023

Catalogação na Publicação

Chiomento Ritter, Isadora
Terapia com células CAR-T como possibilidade de tratamento da fibrose pulmonar idiopática. / Isadora Chiomento Ritter. -- 2023.
48 f. : 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2023.

Orientador(a): Dra. Gisele Branchini ; coorientador(a): Dra. Fernanda Bordignon Nunes.

1. Car-T cells. 2. Fibrose pulmonar. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Agradecimentos

Quero agradecer primeiramente ao meu marido que esteve sempre ao meu lado, em todos os momentos, sempre me apoiando e incentivando a continuar. Aos meus pais e minha irmã, por sempre me apoiarem. Obrigada por tudo e por toda a paciência. Amo muito vocês!

Agradecer a todos os meus amigos que ficaram sempre ao meu lado, me dando força para continuar nessa trajetória, independente do momento. Vocês são os melhores!

Agradecer também a minha orientadora, Gisele, por todo conhecimento passado, pela paciência e por todas as ajudas e ensinamentos. Pela oportunidade de ajudar a desenvolver esse trabalho meu muito obrigada!

Por isso, tenho maior honra em poder dividir essa conquista com todos vocês! Meus eternos agradecimentos!

Resumo da Dissertação

Introdução: A fibrose pulmonar idiopática é uma forma específica de pneumonia intersticial idiopática crônica, fibrosante e de caráter progressivo, restrita aos pulmões, que ocorre primariamente em adultos idosos, predominantemente nas sexta e sétima décadas de vida. Em virtude de não existir uma cura para a doença, à exceção do transplante pulmonar, a busca por opções terapêuticas para esta condição é um desafio da comunidade científica. Uma nova tecnologia desenvolvida inicialmente para o tratamento de tumores hematológicos pode ser uma alternativa terapêutica para a IPF, as células T com receptor antígeno quimérico – CAR-T cells. Um receptor de antígeno quimérico (CAR) é um receptor desenvolvido para responder a um antígeno específico que converte as células T em células T estimuladas e permite a eliminação das células que expressam este antígeno. Por ser um construto da bioengenharia, existem inúmeras possíveis aplicações teóricas das CAR-T cells para tratamento das mais diversas condições clínicas. **Objetivos:** Pesquisar e revisar as evidências acerca da fisiopatologia da fibrose pulmonar idiopática e a relação do fator de crescimento transformante beta (TFG-β) com a progressão da doença e gerar uma hipótese sobre a aplicabilidade e eficiência da técnica de uso das CAR-T cells para tratamento da IPF. **Materiais e Métodos:** Foram pesquisados os artigos publicados sobre o uso da tecnologia das CAR-T cells e sobre os elementos envolvidos na fisiopatologia da IPF. A partir das informações levantadas, elaborou-se um artigo de hipótese descrevendo o potencial uso do TGF-β como alvo das CAR-T cells para um possível tratamento para a Fibrose Pulmonar Idiopática. **Resultados:** O uso aprovado da terapia com CAR-T cells para tratamento de tumores em terapias ainda é incipiente, embora promissor, uma vez que os avanços de bioengenharia têm fornecido ferramentas que tornam a terapia com as CAR-T cells mais

eficiente e direcionada aos tipos específicos de tumor. As evidências encontradas apontam para um potencial terapêutico das CAR-T cells para tratamento da fibrose pulmonar idiopática, com os receptores de antígenos quiméricos construídos para serem ativados pela ligação ao TGF-β, convertendo esta citocina imunossupressora em um potente estimulante de células T. No entanto, por ser um fator solúvel, a tecnologia deve prever a inserção de um receptor de ligação a uma proteína de superfície presente nas células fibróticas, de modo a favorecer a migração e permanência dos linfócitos ativados nos sítios pulmonares. Devido à condição progressiva e de alta morbimortalidade da IPF, é fundamental que se pesquisem e desenvolvam novas estratégias terapêuticas com potencial de sucesso na regressão desta doença.

Palavras-chave: CAR-T Cells, fibrose pulmonar idiopática, TGF-β, marcador tecidual.

Abstract

Introduction: Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) a specific form of chronic, fibrosing and progressive idiopathic interstitial pneumonia. Restricted to the lungs, IPF occurs primarily in older adults, predominantly in the sixth and seventh decades. As there is no cure for the disease, except for lung transplantation, the search for therapeutic options for this condition is a challenge for the scientific community. A new technology initially developed for the treatment of hematological tumors may be a therapeutic alternative for IPF, T cells with chimeric antigen receptor – CAR-T cells. A chimeric antigen receptor (CAR) is a receptor designed to respond to a specific antigen that converts T cells to stimulated T cells and allows clearance of cells expressing that antigen. As a bioengineering construct, there are numerous possible theoretical applications of CAR-T cells for the treatment of the most diverse clinical conditions. **Objectives:** To research and review the evidence about the pathophysiology of idiopathic pulmonary fibrosis and the relationship between transforming growth factor beta (TGF-β) and disease progression and generate a hypothesis about the applicability and efficiency of the technique for using CAR-T cells for IPF treatment. **Materials and Methods:** Published articles on the use of CAR-T cell technology and on the elements involved in the pathophysiology of IPF were searched. From the collected information, a hypothesis article was elaborated describing the potential use of TGF-β as a target of CAR-T cells for a possible treatment for Idiopathic Pulmonary Fibrosis. **Results:** The approved use of CAR-T cell therapy for the treatment of tumors in therapies is still incipient, although promising, since advances in bioengineering have provided tools that make therapy with CAR-T cells more efficient and targeted to specific tumor types. The evidence found points to a therapeutic potential of CAR-T cells for the treatment of idiopathic pulmonary

fibrosis, with chimeric antigen receptors designed to be activated by binding to TGF-β, converting this immunosuppressive cytokine into a potent T-cell stimulant. However, as it is a soluble factor, the technology must provide for the insertion of a receptor binding to a surface protein present in fibrotic cells, in order to favor the migration and permanence of activated lymphocytes in lung sites. Due to the progressive condition and high morbidity and mortality of IPF, it is essential to research and develop new therapeutic strategies with potential for success in the regression of this disease.

Keywords: TGF-β, CAR-T Cells, idiopathic pulmonary fibrosis

Lista de abreviaturas:

ATP: adenosina trifosfato

CAR: Receptor de antígeno quimérico (do inglês, *chimeric antigen receptor*)

FP: Fibrose Pulmonar

FPI: Fibrose Pulmonar Idiopática

HLA: sistema antígeno leucocitário humano (do inglês, *human leukocyte antigen*)

IFN-γ: Interferon-gama

IL-2: Interleucina 2

MHC: Complexo principal de histocompatibilidade (do inglês, *major histocompatibility complex*)

NK: células *Natural Killer*

TGF-b: Fator de transformação do crescimento beta (do inglês, *transforming growth factor beta*)

TNF-α: Fator de necrose tumoral alfa (do inglês, *tumor necrosis factor alpha*).

Lista de Figuras

Figura 1. Fibrose Pulmonar Idiopática 112

Figura 2: Domínios principais das células CAR. 189

Figura 3: Ação das CAR-T cells com o TGF-b 20

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO 11

1.1. Fibrose Pulmonar 11

1.2 Patogênese do processo fibrótico 14

1.3 Terapia com as células CAR-T 16

1.4 Hipóteses e Justificativa 19

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 21

3. OBJETIVOS 27

4. ARTIGO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS 28

5. CONCLUSÕES 47

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS 48

1. REFERENCIAL TEÓRICO

1.1. Fibrose Pulmonar

A fibrose pulmonar é um processo patológico altamente heterogêneo e letal com opções terapêuticas limitadas. Ocorre em vários ambientes clínicos, representa uma das principais causas de morbidade e mortalidade e uma necessidade médica significativa não atendida (1,2). Além disso, é a principal consequência clínica da maioria das doenças respiratórias crônicas (3). A fibrose pulmonar idiopática (FPI) é uma doença progressiva caracterizada pela substituição de tecido saudável por matriz extracelular alterada (figura 1), levando à destruição da arquitetura alveolar e à formação de cicatrizes no interstício dos pulmões. A progressão da doença resulta em insuficiência respiratória e morte (4,5).

Apesar das limitações de evidências epidemiológicas adequadas, as estimativas anuais sugerem uma incidência de FPI de 2 a 30 casos por 100.000 pessoas e uma prevalência de 10 a 60 casos por 100.000 pessoas. 400 casos por 100.000 pessoas, aumentando com a idade (4,6,7). Globalmente, o número de pacientes tem aumentado e não está claro se esse aumento se deve a uma população mais velha, a melhores técnicas de diagnóstico ou a fatores ambientais (8).

Características clínicas (dispneia de esforço, com ou sem tosse seca), fatores de risco, idade e imagem do tórax são necessárias para o diagnóstico de FPI. Além disso, a histopatologia pulmonar ajuda a revelar cicatrizes pulmonares e descartar outras patologias (9,10). Embora não haja cura para a FPI, a compreensão de sua patogênese e manejo melhorou. Medicamentos antifibróticos, reabilitação pulmonar, oxigenoterapia e transplante pulmonar têm sido usados para retardar a progressão da doença e melhorar sua qualidade de vida (10,11).

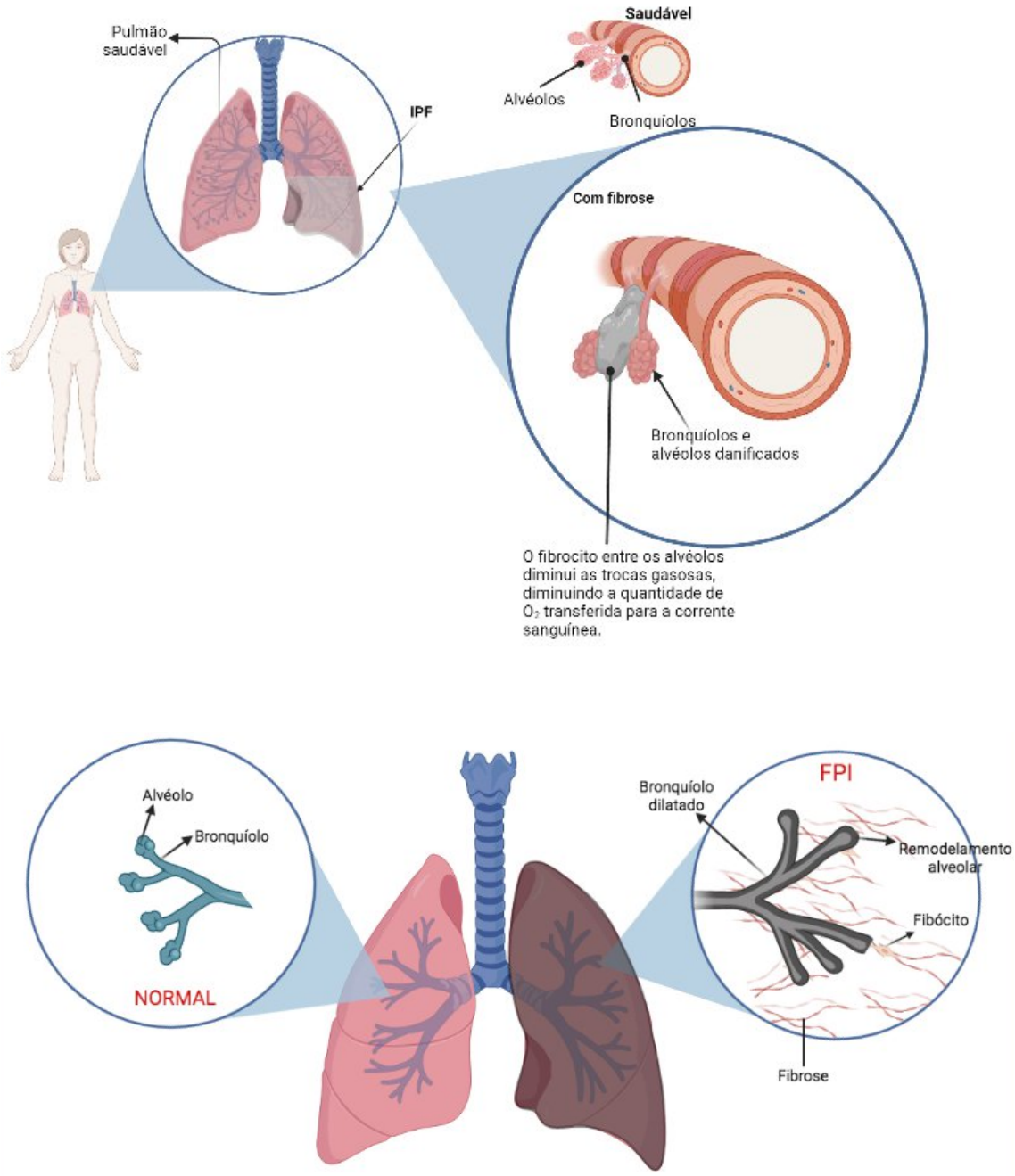

Figura 1. Esquema ilustrativo comparativo entre uma estrutura pulmonar sem fibrose e com Fibrose Pulmonar Idiopática. Imagem elaborada pela autora.

Estudos na América do Sul encontraram taxas muito mais baixas (0,4-1,2 casos por 100.000 por ano). Pode-se supor que, no Brasil, a incidência anual de casos de FPI pode variar entre 6.841 e 9.997 casos (3,5 a 5,1 por 100.000 habitantes) e que a prevalência pode variar entre 13.945 e 18.305 casos (12). Esses dados sugerem que em grandes países como Brasil, Rússia, Índia e China (região do BRIC), pode haver aproximadamente 2 milhões de pessoas vivendo com FPI (13). Acesso limitado a tomografia computadorizada de alta resolução e espirometria, ou a equipes multidisciplinares para diagnóstico preciso e tratamento, são desafios comuns para o manejo da DPI em países em desenvolvimento.

A FPI pode ser classificada como protótipo de doença pulmonar crônica, progressiva e fibrótica. A doença ocorre quando o tecido saudável é substituído por matriz extracelular alterada e a arquitetura alveolar é destruída, resultando no aparecimento de cicatrizes nos pulmões. A progressão da doença resulta em insuficiência respiratória e morte (12).

Tratamento da FPI

À medida que a compreensão da patogênese da FPI e o manejo dessa doença. A FPI não tem cura, mas pode ser tratada com medicamentos que retardam a progressão da doença, como antifibróticos.

Até o ano de 2015, apenas duas substâncias, de fato, mostraram eficácia no tratamento da moléstia: a pirfenidona e o nintedanibe. Os mecanismos da pirfenidona parecem ser pleomórficos, mas ainda não estão completamente esclarecidos. Alguns dados experimentais mostram que essa droga diminui a expressão gênica de pró-colágenos, fator de crescimento transformante beta (TGF-β) e fator de crescimento

derivado de plaquetas (PDGF), além de inibir a produção de fator de necrose tumoral alfa (TNF-α). A droga parece ainda possuir propriedades antioxidantes, porém possui muitos efeitos colaterais, como vômitos e diarreia. Já os mecanismos os quais o nintedanibe age na FPI incluem a inibição da atividade de receptores cuja ação depende de tirosina quinases. O medicamento bloqueia pontos intracelulares de ligação do ATP em tirosina quinases específicas (5). No entanto, os resultados observados em um Programa de Acesso Expandido (PEA) feito para avaliar a segurança e a tolerância do nintedanibe em pacientes brasileiros também demonstrou uma ocorrência frequente de sintomas como diarreia, vômitos e náuseas (14).

1.2 Patogênese do processo fibrótico

A fibrose é um resultado da resposta de cicatrização do tecido e não uma doença. Uma resposta tecidual aberrante de cicatrização após lesões teciduais leva à formação de tecido fibrótico devido à ativação de fibroblastos, culminando no aumento de sua contratilidade, secreção de mediadores inflamatórios e síntese de componentes da MEC. A fibrose é mais notável em doenças inflamatórias crônicas, uma vez que a lesão é repetitiva ou grave e os componentes da MEC continuam a se acumular (1,15).

O fator de crescimento transformador beta (TGF-β) é um fator de crescimento pleiotrópico com propriedades quimiotáticas e proliferativas produzido por uma ampla variedade de tipos de células (16). O TGF-β inclui três isoformas (TGF-β1, TGF-β2 e TGF-β3) e é uma proteína que regula a proliferação celular, apoptose, diferenciação, autofagia e a resposta imune. Apesar de estar envolvida em processos fisiológicos, a desregulação do TGF-β está associada ao desenvolvimento de fibrose em diferentes órgãos (pulmão, coração e rim) e várias doenças como o câncer (16–18).

Anteriormente definida como uma doença inflamatória, a FPI é um processo dinâmico que envolve interações complexas entre células epiteliais, fibroblastos, células imunes (macrófagos, células T) e células endoteliais (19,20). Um epitélio disfuncional exposto a micro-lesões recorrentes leva a danos nas células epiteliais e desencadeia a ativação anormal de células epiteliais e processo aberrante de cicatrização de feridas. Uma vez ativadas, as células epiteliais secretam citocinas, como TGF-β, que promovem a migração, proliferação e diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos responsáveis por grandes quantidades de secreção de ECM (21).

O TGF-β é comumente classificado como uma citocina anti-inflamatória. Suas vias de sinalização coordenam a produção de VEGF que contribui para a angiogênese; efeito quimiotático sobre os leucócitos na fase inicial da lesão tecidual e, posteriormente, exerce principalmente efeitos imunossupressores no sistema imunológico (células T auxiliares, fator de crescimento do tecido conjuntivo, células natural killer (NK), macrófagos e células dendríticas). O TGF-β também atua como um fator de diferenciação para algumas células T reguladoras (células Treg) e exerce um efeito inibitório na proliferação, diferenciação e produção de anticorpos das células B (22–25). O TGF-β também inibe a secreção de citocinas como o interferon gama (IFN-γ), que ~~é conhecido por ter~~ propriedades antifibróticas por inibir a proliferação e ativação de fibroblastos (26).

TGF-β nem sempre tem efeitos supressores~~; ,~~ por exemplo, quando combinado com IL-6, pode desencadear o desenvolvimento de células inflamatórias Th17. As células Th17 secretam IL-17, que mantém a inflamação aguda recrutando granulócitos e facilitando a liberação de citocinas inflamatórias adicionais. Provavelmente, o mediador mais significativo no desenvolvimento da FPI é o TGF-β1 (20). O TGF-β1 é considerado um regulador mestre do acúmulo de MEC, uma vez que promove a ativação de fibroblastos e a produção de colágeno (26,27).

As descrições iniciais do envolvimento de fatores de crescimento como o TGF-β1 em processos patogênicos foram a sua associação com a disfunção respiratória na rejeição crônica de pulmão, nas doenças renais crônicas e no infarto agudo do miocárdio (28). Já a expressão da isoforma TGF-β2 foi descrita em células de glioma (29). Contudo, o TGF-β tem sido geralmente considerado como um mediador central de doenças fibróticas (30), podendo também ser usado como marcador em alguns casos de câncer (31).

Esforços têm sido feitos para identificar assinaturas moleculares e vias específicas relacionadas ao início e progressão da FPI. A transição epitelial-mesenquimal, impulsionada pelo TGF-β, e a desregulação da resposta de reparo são descritas como os principais processos envolvidos no estabelecimento da FPI (32). A inibição específica mediada por drogas de TGF-β está emergindo rapidamente como altamente promissora, incluindo anticorpos e drogas antagonistas do receptor quinase. A produção e/ou ação de TGF-β também pode ser inibida por algumas drogas de ação múltipla comumente usadas para tratar outras doenças. Toxicidade grave não foi observada por uma variedade de agentes específicos para inibição de TGF-β em roedores adultos ou humanos, demonstrando perfis de segurança aceitáveis e eficácia terapêutica significativa (23,33). Além disso, a caracterização de padrões de expressão molecular específicos em diferentes condições pulmonares, incluindo FPI, pneumonite de hipersensibilidade crônica e doença intersticial inespecífica idiopática, pode ajudar no desenvolvimento de tratamento direcionado (34).

1.3 Terapia com as células CAR-T

O receptor de antígeno quimérico (CAR) é um receptor artificial de um linfócito T produzido por engenharia genética, sendo chamado de quimérico por ser composto por

partes distintas de diferentes anticorpos. Os receptores de antígenos quiméricos consistem em dois domínios principais, a saber, ectodomínio para reconhecimento de antígeno alvo específico e endodomínio que fornece sinais coestimulatórios e de ativação. Esses dois domínios são conectados por dobradiça e domínio transmembranar (figura 2). A técnica de terapia com células CAR-T envolve a retirada de linfócitos T do próprio corpo do paciente, que passam por reprogramação por terapia gênica para serem direcionados contra a própria doença do paciente (35).

A terapia com células CAR-T é uma nova abordagem à terapia genética baseada em células, na qual os linfócitos T são geneticamente modificados para expressar receptores de antígenos quiméricos (CARs) que podem reconhecer antígenos específicos nas células-alvo. Os CARs são compostos por um ectodomínio para reconhecimento de antígenos e um endodomínio que fornece sinais de ativação e co-estimulatórios. O processo de terapia com células CAR-T envolve o isolamento de linfócitos T do paciente (leucoferese), modificando-os por meio de terapia genética para expressar os CARs específicos da doença do paciente e, em seguida, reintroduzindo as células CAR-T modificadas de volta ao paciente (36–38). Como parte de suas funções relacionadas ao sistema imunológico, as células T liberam citocinas que ajudam a estimular e direcionar a resposta imune.

Yescarta® é um exemplo de terapia com células CAR-T aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) dos EUA em 2017, especificamente para linfoma de grandes células B. Embora ainda seja considerada experimental em alguns países, a terapia com células CAR-T anti-CD19 pode ser usada para tratar casos avançados de linfoma difuso de grandes células B que não responderam ou recaíram após pelo menos dois outros tipos de tratamento (36). Células CAR-T com CARs específicos de CD19 ligam-se a antígenos CD19 em células-alvo, as células-alvo são eliminadas. As células CAR-T podem

proliferar e sobreviver no corpo por vários anos, o que é essencial para a eficácia do tratamento a longo prazo, mantendo a remissão e controlando ou retardando a recorrência da doença (39).

A terapia com células CAR-T pode levar a um fenômeno chamado síndrome de liberação de citocinas (CRS, do inglês *cytokine release syndrome*), que ocorre devido à liberação rápida e extensa de citocinas como IL-6, IL-10 e interferon (IFN)-γ. na corrente sanguínea. A CRS pode causar febre alta, náusea intensa, queda repentina da pressão arterial e efeitos no sistema nervoso. Paradoxalmente, a CRS é considerada um efeito "no alvo" da terapia com células CAR-T, pois significa ativação imune e resposta às células-alvo (40–42).

Atualmente, existem seis terapias com células CAR-T aprovadas. i) Yescarta®, ii) Kymriah® foi aprovado pela FDA em 2017 para leucemia linfoblástica aguda (ALL), ii) Tecartus® foi aprovado pela FDA em 2020 para linfoma de células do manto (MCL) e ALL, iv) Breyanzi ® foi aprovado pela FDA em 2021 para linfoma de grandes células B (LBCL), v) Abecma® e vi) Carvykti® foi aprovado pela FDA em 2021 e 2022, respectivamente, para mieloma múltiplo recidivante ou refratário (43–48). Em muitos pacientes, o câncer não foi detectado após o tratamento, embora o potencial curativo a longo prazo dessas terapias ainda seja incerto (40,49).

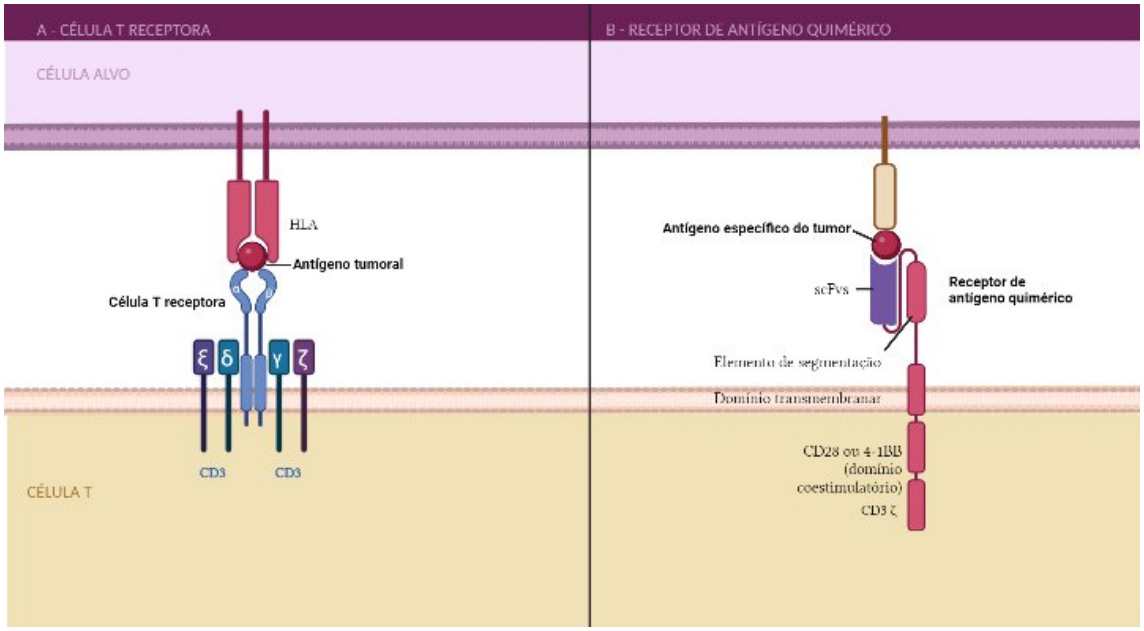

Figura 2: Domínio principal CAR - (A) Célula alvo: com receptor de célula T normal. (B) Receptor de antígeno quimérico: receptor modificado, específico para a célula tumoral (alvo). Imagem elaborada pela autora.

1.4 Hipóteses e Justificativa

Dentre os diversos tratamentos para células tumorais, a terapia com as células T com receptor de antígeno quimérico é uma das mais inovadoras. Considerando a possibilidade de direcionar a produção de receptores de antígenos quiméricos para qualquer antígeno, especula-se que este tipo de terapia possa ser utilizado em outras doenças, além do câncer.

A hipótese proposta neste estudo sugere o uso de células CAR-T visando o TGF-β como uma terapia potencial para a fibrose pulmonar idiopática (FPI). fibrose, indicando seu envolvimento no processo da doença (26,27). Para direcionar efetivamente o TGF-β e seu papel potencial no tratamento de IPF, as células CAR-T também devem ser projetadas para reconhecer um marcador específico (antígenos alvo) expresso por células pulmonares fibróticas. Esse mecanismo de direcionamento adicional permitiria a

migração e o direcionamento das células CAR-T para os pulmões, onde podem exercer seu efeito terapêutico.

Embora a hipótese seja baseada no entendimento do envolvimento do TGF-β na fibrose pulmonar e no potencial da terapia com células CAR-T, mais estudos experimentais e ensaios clínicos seriam necessários para avaliar sua viabilidade e eficácia. A revisão de estudos publicados anteriormente pode fornecer ~~insights~~ e apoiar a hipótese, mas a implementação prática e a validação por meio de investigação científica rigorosa são essenciais para avaliar o potencial dessa terapia para FPI. Nossa hipótese é representada graficamente na Figura 3.

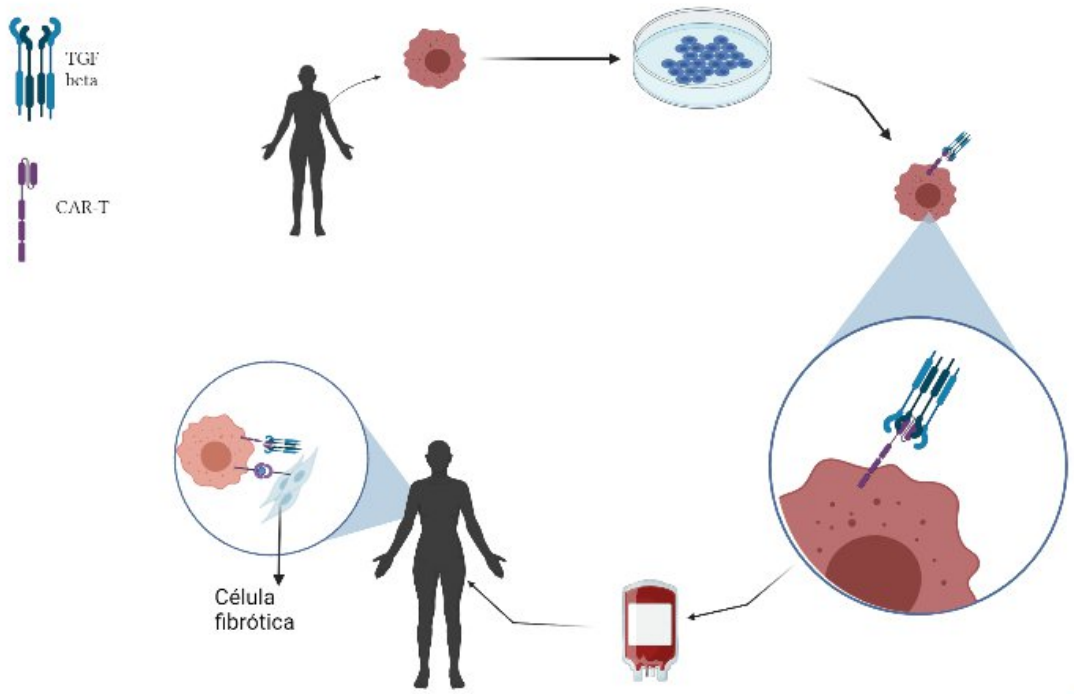

Figura 3. – Ilustração esquemática do desenho e ação das células CAR-T visando TGF-ß1 e antígeno de células pulmonares na FPI. Imagem elaborada pela autora.

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. Nature [Internet]. 2020;587(7835):555–66. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2938-9
2. Noble PW, Barkauskas CE, Jiang D. Pulmonary fibrosis: Patterns and perpetrators. J Clin Invest. 2012;122(8):2756–62.
3. Lederer DJ, Martinez FJ. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. N Engl J Med. 2018;378(19):1811–23.
4. Martinez FJ, Collard HR, Pardo A, Raghu G, Richeldi L, Selman M, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis. Nat Rev Dis Prim [Internet]. 2017;3:1–20. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2017.74
5. Baddini-martinez J, Baldi BG, Henrique C, Jezler S, Lima MS, Rufino R, et al. Atualização no diagnóstico e tratamento da fibrose pulmonar idiopática. J Bras Pneumol. 2015;41(5):1–13.
6. Maher TM, Bendstrup E, Dron L, Langley J, Smith G, Khalid JM, et al. Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. Respir Res [Internet]. 2021;22(1):1–10. Available from: https://doi.org/10.1186/s12931-021-01791-z
7. Raghu G, Chen SY, Yeh WS, Maroni B, Li Q, Lee YC, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: Incidence, prevalence, and survival, 2001-11. Lancet Respir Med [Internet]. 2014;2(7):566–72. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(14)70101-8
8. Hutchinson J, Fogarty A, Hubbard R, McKeever T. Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review. Eur Respir J [Internet].

2015;46(3):795–806. Available from: http://dx.doi.org/10.1183/09031936.00185114

9. Lamas DJ, Kawut SM, Bagiella E, Philip N, Arcasoy SM, Lederer DJ. Delayed access and survival in idiopathic pulmonary fibrosis: A cohort study. Am J Respir Crit Care Med. 2011;184(7):842–7.

10. Raghu G, Remy-Jardin M, Richeldi L, Thomson CC, Antoniou KM, Bissell BD, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis (an Update) and Progressive Pulmonary Fibrosis in Adults: An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. Am J Respir Crit Care Med. 2022;205(9):E18–47.

11. Liu GY, Budinger GRS, Dematte JE. Advances in the management of idiopathic pulmonary fibrosis and progressive pulmonary fibrosis. BMJ. 2022;1–20.

12. BADDINI-MARTINEZ J et al. Atualização no diagnóstico e tratamento da fibrose pulmonar idiopática. J Bras Pneumol. 2015;41(5):1–13.

13. Rivera-Ortega P, Molina-Molina M. Interstitial lung diseases in developing countries. Ann Glob Heal. 2019;85(1):1–14.

14. Pereira CA de C, Baddini-Martinez JA, Baldi BG, Jezler SF de O, Rubin AS, Alves RLR, et al. Segurança e tolerabilidade de Nintedanibe em pacientes com fibrose pulmonar idiopática no Brasil. J Bras Pneumol. 2019;45(5):1–7.

15. Zhao M, Wang L, Wang M, Zhou S, Lu Y, Cui H, et al. Targeting fibrosis, mechanisms and cilinical trials. Signal Transduct Target Ther. 2022;7(1).

16. Fernandez IE, Eickelberg O. The impact of TGF-β on lung fibrosis: From targeting to biomarkers. Proc Am Thorac Soc. 2012;9(3):111–6.

17. Sanderson N, Factor V, Nagy P, Kopp J, Kondaiah P, Wakefield L, et al. Hepatic expression of mature transforming growth factor β1 in transgenic mice results in multiple tissue lesions. Proc Natl Acad Sci U S A. 1995;92(7):2572–6.

18. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF-β: The master regulator of fibrosis. Nat Rev Nephrol [Internet]. 2016;12(6):325–38. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2016.48

19. Swigris, Jeffrey J.; Brown KK. Idiopathic pulmonary fibrosis: a decade of progress. J Bras Pneumol. 2006;32(3):249–60.

20. Sgalla G, Iovene B, Calvello M, Ori M, Varone F, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: Pathogenesis and management. Respir Res. 2018;19(1):1–18.

21. Mei Q, Liu Z, Zuo H, Yang Z, Qu J. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: An Update on Pathogenesis. Front Pharmacol. 2022;12(January):1–14.

22. Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelan TTT, Souza AWS de, Cruvinel W de M, Andrade LEC, et al. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. Rev Bras Reumatol. 2010;50(5):552–80.

23. Prud'homme GJ. Pathobiology of transforming growth factor β in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations. Lab Investig [Internet]. 2007;87(11):1077–91. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.3700669

24. Rubtsov YP, Rudensky AY. TGFβ signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. Nat Rev Immunol. 2007;7(6):443–53.

25. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AKL, Flavell RA. Transforming growth factor-β regulation of immune responses. Annu Rev Immunol. 2006;24:99–146.

26. Balbino CA, Pereira LM, Curi R. Mechanisms involved in wound healing: a revision. Brazilian J Pharm Sci [Internet]. 2005;41(1):27–51. Available from: http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&

lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=419771&indexSearch=ID%5Cnhttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322005000100004

27. Kim KK, Sheppard D, Chapman HA. TGF-beta 1 signaling and tissue fibrosis. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2018;10(4):a022293.

28. Thompson NL, Bazoberry F, Speir EH, Casscells W, Ferrans VJ, Flanders KC, et al. Transforming Growth Factor Beta-1 in Acute Myocardial Infarction in Rats. Growth Factors. 1988;1(1):91–9.

29. Bodmer S, Strommer K, Frei K, Siepl C, de Tribolet N, Heid I, et al. Immunosuppression and transforming growth factor-beta in glioblastoma. Preferential production of transforming growth factor-beta 2. J Immunol. 1989;143(10):3222–9.

30. Sureshbabu A, Muhsin SA, Choi ME. TGF-β signaling in the kidney: Profibrotic and protective effects. Am J Physiol - Ren Physiol. 2016;310(7):F596–606.

31. Syed V. TGF-β signaling in cancer. J Cell Biochem. 2016;117:1279–87.

32. Inui N, Sakai S, Kitagawa M. Molecular pathogenesis of pulmonary fibrosis, with focus on pathways related to tgf-β and the ubiquitin-proteasome pathway. Int J Mol Sci. 2021;22(11).

33. Kim BG, Malek E, Choi SH, Ignatz-Hoover JJ, Driscoll JJ. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF-β pathway. J Hematol Oncol [Internet]. 2021;14(1):1–20. Available from: https://doi.org/10.1186/s13045-021-01053-x

34. Furusawa H, Cardwell JH, Okamoto T, Walts AD, Konigsberg IR, Kurche JS, et al. Chronic hypersensitivity pneumonitis, an interstitial lung disease with distinct molecular signatures. Am J Respir Crit Care Med. 2020;202(10):1430–44.

35. June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy | Enhanced Reader. new Engl J Med Rev [Internet]. 2018;379(1):64–73. Available from: moz-

extension://becbad1c-1a67-4dbf-8144-c5cfceb1cab5/enhanced-reader.html?openApp&pdf=https%3A%2F%2Fwww-nejm-org.tudelft.idm.oclc.org%2Fdoi%2Fpdf%2F10.1056%2FNEJMra1706169%3FarticleTools%3Dtrue

36. FDA. FDA approves CAR-T cell therapy to treat adults with certain types of large B-cell lymphoma [Internet]. Press Announcements. 2017 [cited 2023 May 31]. Available from: https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-car-t-cell-therapy-treat-adults-certain-types-large-b-cell-lymphoma

37. Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. Biomark Res. 2017;5(1):3–8.

38. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. Blood Cancer J [Internet]. 2021;11(4). Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41408-021-00459-7

39. Porter DL, Hwang WT, Frey N V., Lacey SF, Shaw PA, Loren AW, et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. Sci Transl Med. 2015;7(303):1–13.

40. American Cancer Society. CAR T-cell Therapy and Its Side Effects [Internet]. cancer.org. 2022 [cited 2023 May 31]. Available from: https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/immunotherapy/car-t-cell1.html

41. National Cancer Institute (NCI). CAR T cells: Engineering patients' immune cells to treat their cancers [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 4]. Available from: https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells

42. Porter DL, Maloney DG. Cytokine release syndrome (CRS) [Internet]. [cited 2023 Jul 4]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/cytokine-release-

syndrome-crs

43. FDA Package Insert-YESCARTA [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 4]. Available from: https://www.fda.gov/media/108377/download

44. FDA Package Insert-CARVYKTI [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 4]. Available from: https://www.fda.gov/media/156560/download

45. FDA Package Insert-BREYANZI. 2022.

46. FDA Package Insert-TECARTUS [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 4]. Available from: https://www.fda.gov/media/140409/download

47. FDA Package Insert-ABECMA. 2022.

48. FDA Package Insert-KYMRIAH [Internet]. 2022 [cited 2023 Jul 4]. Available from: https://www.fda.gov/media/107296/download

49. Chen YJ, Abila B, Mostafa Kamel Y. CAR-T: What Is Next? Cancers (Basel). 2023;15(3).

3. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Propor uma hipótese teórica de um mecanismo de tratamento utilizando a técnica de células CAR-T com o TGF-β como alvo em pacientes com Fibrose Pulmonar Idiopática (FPI).

Objetivo Específico:

Elaborar, a partir da revisão de literatura, um artigo de hipótese acerca do tratamento da fibrose pulmonar idiopática com células CAR-T com o TGF-β como alvo.

4. ARTIGO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS

CAR-R CELLS THERAPY IN IDIOPHATIC PULMONARY FIBROSIS: COULD PATIENTS HAVE HOPE?

Isadora Chiomento Ritter, Bruna Pasqualotto Costa, Fernanda Bordignon Nunes, Gisele Branchini

Manuscrito preparado para submissão na Revista “Medical Hypotheses”

CAR-R CELLS THERAPY IN IDIOPHATIC PULMONARY FIBROSIS: COULD PATIENTS HAVE HOPE?

Isadora Chiomento Ritter[a], Bruna Pasqualotto Costa[a], Fernanda Bordignon Nunes[a], Gisele Branchini[a*]

1. Graduate Program in Pathology, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre. 245 Sarmento Leite St, Downtown, Porto Alegre – RS, Brazil. ZIP Code 90050-170.

   * Corresponding author: giseleb@ufcspa.edu.br, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Rua Sarmento Leite, 245, Centro Histórico, Porto Alegre – RS, Brazil. CEP 90050-170.

- HYPOTHESIS

This review aimed to hypothesize the use of CAR-T cells targeting TGF-β as a potential treatment for idiopathic pulmonary fibrosis.

- ABSTRACT

Introduction: Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a progressive and fibrotic lung disease, which is a specific form of chronic idiopathic interstitial pneumonia. Restricted to the lungs, IPF primarily occurs in older adults, predominantly in their sixth and seventh decades. CAR-T cells are one of the most modern technologies and, associated with transforming growth factor-beta (TGF-β), could be a potential solution for the early treatment of IPF. **Objectives:** Review and suggest the therapy with CAR-T cells with TGF-β as an antigen as a possible therapeutic approach for IPF. **Materials and Methods**:

We surveyed articles published within the research field and prepared a hypothesis article describing the relationship between TGF-β blockade and CAR-T cell therapy as a potential treatment for IPF. **Results:** Along with the early diagnosis, CAR-T cells engineered to block TGF-β signaling could reduce pro-fibrotic lung tissue growth in IPF. **Conclusion:** It was evident that TGF-β seems to be involved in fibrosis progression. CAR-T cell therapy has shown to be an effective technique in targeting the affected cells in other diseases. Considering the non-curative nature of IPF, the role of TGF-β, and the success of these therapies, it is possible to hypothesize that CAR-T cell therapy targeted at TGF-β, along with surface antigens that direct them to pulmonary sites, could be a potential treatment for idiopathic pulmonary fibrosis.

Keywords: TGF-β, CAR-T cells, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF).

Abbreviations:

ATP: adenosine triphosphate
CAR: chimeric antigen receptor
PF: Pulmonary Fibrosis
IPF: Idiopathic Pulmonary Fibrosis
HLA: human leukocyte antigen
IFN-γ: Interferon-gamma
IL-2: Interleukin 2
MHC: major histocompatibility complex
NK: Natural Killer cells
TGF-β: transforming growth factor beta.
TNF-α: tumor necrosis factor alpha

1. INTRODUCTION / HISTORY

1.1 Pulmonary fibrosis

Pulmonary fibrosis is a highly heterogeneous and lethal pathological process with limited therapeutic options. It occurs in various clinical settings, represents a major cause of morbidity and mortality, and a significant unmet medical need [1,2]. Pulmonary fibrosis is the main clinical consequence of most chronic respiratory illnesses [3]. Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) is a progressive disease characterized by the replacement of healthy tissue by altered extracellular matrix (figure 1), leading to the destruction of alveolar architecture and the formation of scars in the interstitium of the lungs. Disease progression ultimately results in respiratory failure and death [4,5].

. Despite the limitations of adequate epidemiological evidence, annual estimations suggest an incidence of IPF of 2-30 cases per 100,000 people and a prevalence of 10-60 cases per 100,000 people However, in patients around 65 -70 years, the prevalence of IPF increases to 400 cases per 100,000 people, increasing with age [4,6,7]. Globally, the patient number has been increasing, and it's unclear whether this increase is due to an older population, better diagnostic techniques, or environmental factors [8].

Clinical characteristics (exertional dyspnea, with or without dry cough), risk factors, age, and chest imaging are required for the IPF diagnosis. Additionally, lung histopathology helps to reveal lung scarring and rule out other pathologies [9,10]. Although there is no cure for IPF, the understanding of its pathogenesis and management has improved. Antifibrotics drugs, pulmonary rehabilitation, oxygen therapy, and lung transplant have been used to slow the progression of the disease and improve your quality of life [10,11].

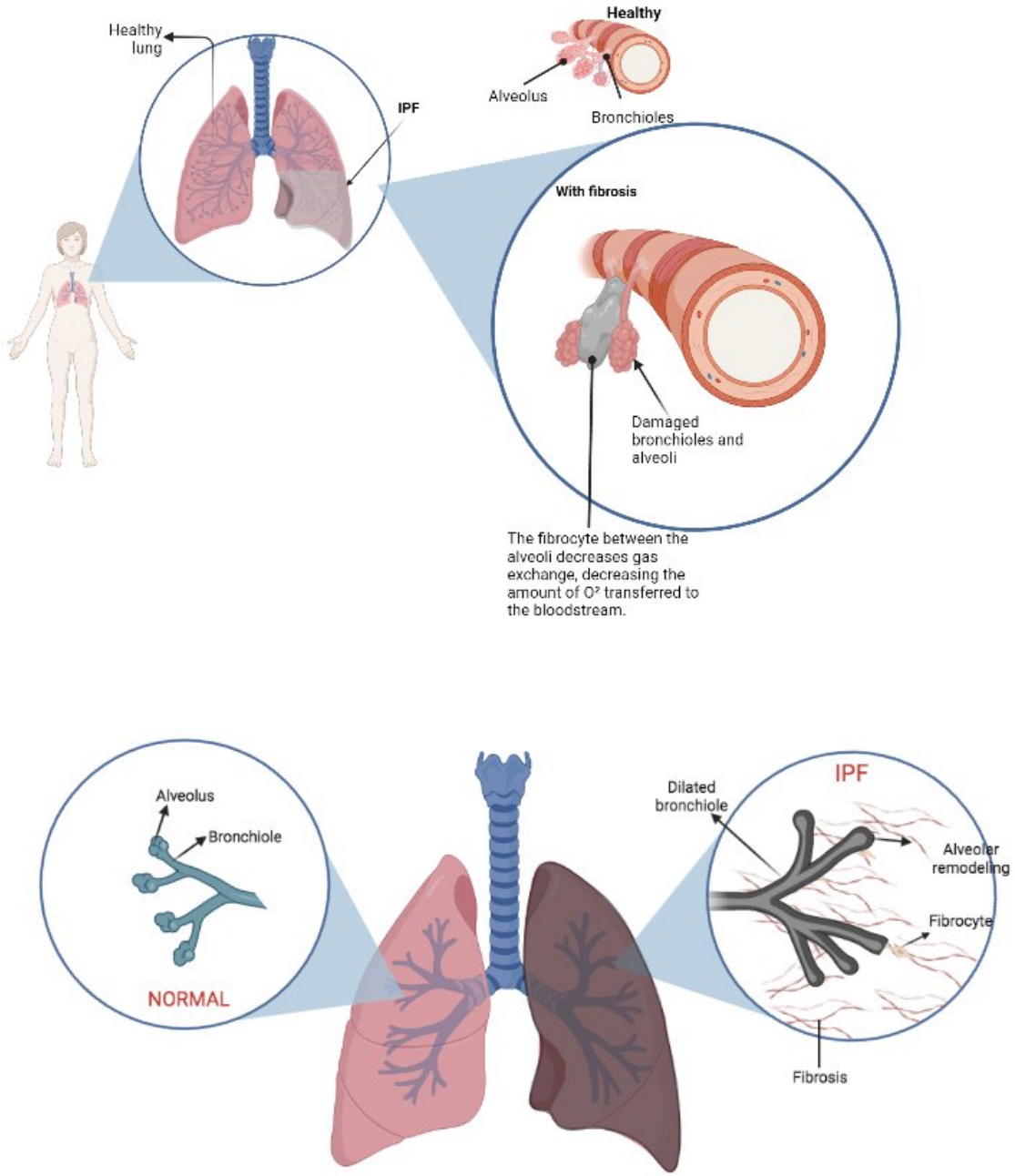

Figure 1 – Schematic illustration of pulmonary structure in Idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) compared to healthy lung. Source: Image made by the author. Created with BioRender.com

1.2 Molecular pathogenesis of fibrotic process

Fibrosis is a result of the tissue healing response rather than a disease. An aberrant tissue healing response after tissue injuries leads to the formation of fibrotic tissue due to fibroblast activation, culminating in their contractility increase, secretion of inflammatory mediators, and synthesis of ECM components. Fibrosis is most notable in chronic inflammatory illnesses once the injury is repetitive or severe, and ECM components continue to accumulate [1,12].

Previously defined as an inflammatory disease, IPF is a dynamic process involving complex interactions among epithelial cells, fibroblasts, immune cells (macrophages, T-cells), and endothelial cells [13,14]. A dysfunctional epithelium exposed to recurrent micro-injuries leads to epithelial cell damage and triggers the abnormal activation of epithelial cells and aberrant wound-healing process. Once activated, epithelial cells secrete cytokines such as TGF-β that promote fibroblast migration, proliferation, and differentiation into myofibroblasts responsible for large amounts of ECM secretion [15].

Transforming growth factor-beta (TGF-β) is a pleiotropic growth factor with chemotactic and proliferative properties produced by a wide variety of cell types [16]. TGF-β includes three isoforms (TGF-β1, TGF-β2, and TGF-β3) and is a protein that regulates cell proliferation, apoptosis, differentiation, autophagy, and the immune response. Despite being involved in physiological processes, the dysregulation of TGF-β is associated with fibrosis development in different organs (lung, heart, and kidney) and various diseases such as cancer [16–18].

TGF-β is commonly classified as an anti-inflammatory cytokine. Its signaling pathways coordinate the production of VEGF which contributes to angiogenesis; chemotactic effect on leukocytes in the early phase of tissue injury, and later it exerts primarily immunosuppressive effects on the immune system (T-helper cells, connective

tissue growth factor, natural killer (NK) cells, macrophage, and dendritic cells). TGF-β also acts as a differentiation factor for some regulatory T cells (Treg cells) and exerts an inhibitory effect on B-cell proliferation, differentiation, and antibody production [19–22]. TGF-β also inhibits the secretion of cytokines such as interferon gamma (IFN-γ), which is known to have anti-fibrotic properties by inhibiting fibroblast proliferation and activation [23].

TGF-β does not always have suppressive effects; for instance, when combined with IL-6, it can trigger the development of inflammatory Th17 cells. Th17 cells secreted IL-17, which maintains acute inflammation by recruiting granulocytes and facilitating the release of additional inflammatory cytokines [24–26]. Probably the most significant mediator in the development of IPF is TGF- β1 [14]. TGF-β1 is considered a master regulator of ECM accumulation once its promotes fibroblast activation and collagen production [23,27].

Efforts have been made to identify molecular signatures and specific pathways related to the onset and progression of IPF. Epithelial-mesenchymal transition, driven by TGF-β, and dysregulation of the repair response are described as the main processes involved in the IPF establishment[28]. Drug-mediated specific inhibition of TGF-β is rapidly emerging as highly promising, including antibodies and receptor kinase antagonist drugs. TGF- β production and/or action can also be inhibited for some multi-action drugs commonly used to treat other diseases. Severe toxicity has not been observed by a variety of specific agents to inhibition of TGF- β in adult rodents or humans, demonstrating acceptable safety profiles and significant therapeutic efficacy [20,29]. Furthermore, characterizing specific molecular expression patterns in different lung conditions, including IPF, chronic hypersensitivity pneumonitis, and idiopathic non-specific interstitial disease, may aid targeted treatment development [30].

1.3 Therapy with CAR-T cells

Therapy with CAR-T cells is a novel approach to cell-based gene therapy in which T lymphocytes are genetically engineered to express chimeric antigen receptors (CARs) that can recognize specific antigens on target cells. CARs are composed of an ectodomain for antigen recognition and an endodomain that provides activation and costimulatory signals. The CAR-T cell therapy process involves isolating T lymphocytes from the patient (leukapheresis), modifying them through gene therapy to express the CARs specific to the patient's disease, and then reintroducing the modified CAR-T cells back into the patient [31–33].

Yescarta® is an example of a CAR-T cell therapy approved by the U.S. Food and Drug Administration (FDA) in 2017, specifically for large B-cell lymphoma. Although it is still considered experimental in some countries, anti-CD19 CAR-T cell therapy can be used to treat advanced cases of diffuse large B-cell lymphoma which have not responded or have relapsed after at least two other types of treatment [31] CAR-T cells with CD19-specific CARs bind to CD19 antigens on target cells, the target cells are eliminated. CAR-T cells can proliferate and survive in the body for several years, which is essential for long-term treatment efficacy, maintaining remission, and controlling or delaying disease recurrence [34].

CAR-T cell therapy can lead to a phenomenon called cytokine release syndrome (CRS), which occurs due to the rapid and extensive release of cytokines such as such as IL-6, IL-10, and interferon (IFN)-γ. into the bloodstream. The CRS can cause high fever, severe nausea, a sudden drop in blood pressure, and effects on the nervous system. Paradoxically, CRS is considered an “on-target” effect of CAR-T cell therapy, as it signifies immune activation and response to the target cells [35–37].

Currently, there are six approved CAR-T cell therapies. *(1)* Yescarta®, *(2)* Kymriah® was approved by FDA in 2017 for acute lymphoblastic leukemia (ALL), *(3)* Tecartus® was approved by FDA in 2020 for mantle cell lymphoma (MCL) and ALL, *(4)* Breyanzi® was approved by FDA in 2021 for large B-cell lymphoma (LBCL), *(5)* Abecma® and *(6)* Carvykti® was approved by FDA in 2021 and 2022, respectively, for relapsed or refractory multiple myelom [38–43]. In many patients, the cancer was not detectable after treatment, although the long-term curative potential of these therapies is still uncertain [35,44].

2. THE HYPOTHESIS

The hypothesis proposed in this study suggests the use of CAR-T cells targeting TGF-β as a potential therapy for idiopathic pulmonary fibrosis (IPF).TGF-β, specifically TGF-β1, has been consistently identified as being up-regulated in pulmonary fibrosis, indicating its involvement in the disease process [23,27]. To effectively target TGF-β and its potential role in IPF treatment, the CAR-T cells should also be designed to recognize a specific marker (target antigens) expressed by fibrotic lung cells. This additional targeting mechanism would allow the migration and homing of the CAR-T cells to the lungs, where they can exert their therapeutic effect.

Although the hypothesis is based on the understanding of TGF-β's involvement in pulmonary fibrosis and the potential of CAR-T cell therapy, further experimental studies and clinical trials would be necessary to assess its feasibility and efficacy. Reviewing previously published studies can provide insights and support the hypothesis, but practical implementation and validation through rigorous scientific investigation are essential to

evaluate the potential of this therapy for IPF. Our hypothesis is represented graphically in Figure 2.

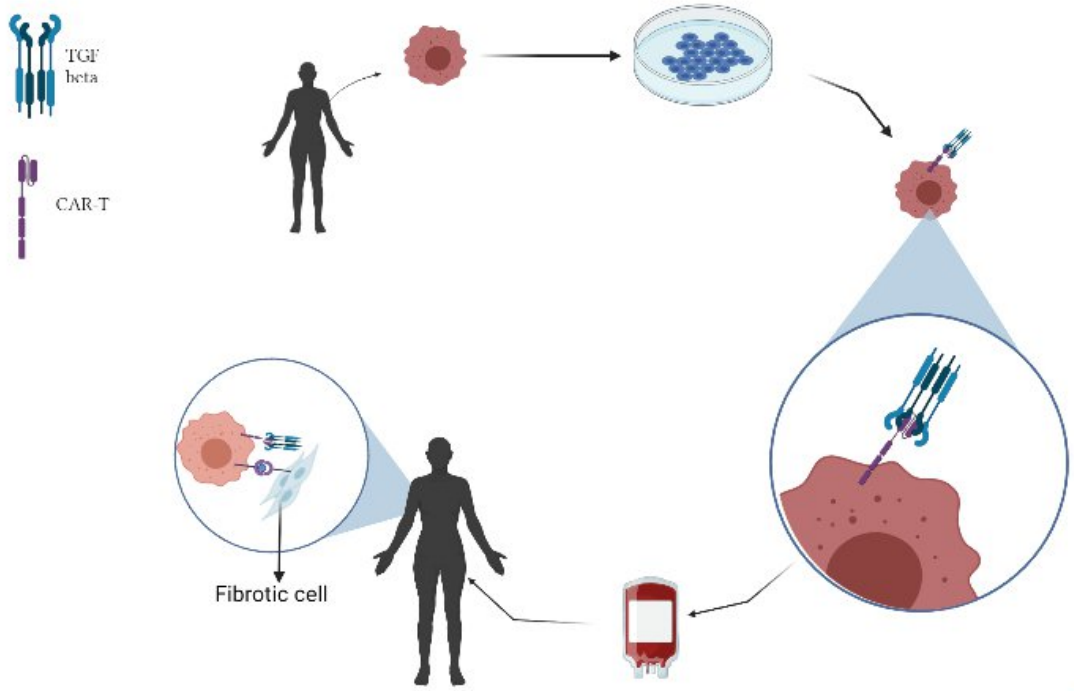

Figure 2. – Schematic illustration of design and action of CAR-T cells targeting TGF-ß and lung cells antigen in IPF.
Source: Image made by the author. Created with BioRender.com.

3. EVALUATION OF THE HYPOTHESIS

CAR-T cell therapy are the equivalent of a "living drug" and has shown promising results in the treatment of various diseases, including leukemia and cancer [45]. Patients treated with CAR-T cell therapy for achieved high rates of complete remission, and long-lasting responses were observed in a significant percentage of patients [46,47].

Novel targets for solid malignancies have been investigated for the use of CAR T-cell therapy for the treatment of solid tumors treatment [48]. Fibroblast activation protein alpha (FAP) is a protease expressed by activated fibroblasts and found in cancer stroma

and wound healing. FAP-specific CAR T cells (CD28/CD3ζ) have generated promising results in mice models and clinical trials for mesothelioma treatment [49]. Epidermal growth factor receptor (EGFR) is commonly upregulated in many tumor types and is correlated with invasion and metastases [50], CARs specific for EGFR and EGFR variant receptors (EGFR-specific CAR T cells) are also being studied in patients with glioma [48].

The proposed hypothesis is based on the understanding that TGF-β is up-regulated in IPF and plays a role in fibrotic tissue formation. By targeting TGF-β and employing receptors related to migration and homing, CAR-T cells could potentially migrate to the lungs and eliminate fibrotic cells. Marnez and Moon, reviewing the strategies for finding, infiltrating, and surviving CAR-T cells in solid tumors, highlighted the relevance of including receptors related to migration and homing, as well as inducible suicide genes, which could be targeted by antibodies, to avoid any potential toxicity [51]. Of note, some molecules such as CD59 [52,53], HSP72 [54], and CD44 [55] could be used as drivers for the CAR-T cells to migrate to the lungs, and, along with TGF-β, activate these cells to proliferate and successfully eliminate the fibrotic cells, and, consequently, to stop the IPF progression and even though to provide a remission of the fibrotic tissue.

EXPERIMENTAL TESTING OF OUR HYPOTHESIS

To evaluate the feasibility and efficacy of this hypothesis, further studies using animal models of pulmonary fibrosis should be conducted. These studies can provide initial insights into the potential of CAR-T cell therapy with TGF-β as a target antigen in reducing fibrotic tissue growth in IPF. However, it is important to note that the translation of therapies from animal models to human clinical trials requires careful evaluation and validation to ensure safety and efficacy.

CONSEQUENCES AND DISCUSSION

Currently, IPF has no cure, and lung transplantation is often considered the best option for a potential cure. However, lung transplant comes with its challenges, including the need for lifelong immunosuppression, the risk of rejection, and the potential loss of organ function. Anti-fibrotic drugs currently available for IPF are not curative but rather aim to slow down or halt the progression of fibrosis. While these drugs can provide some benefits in terms of disease stability, they do not lead to a remission of the fibrotic stage.

Considering the involvement of TGF-β in the progression of fibrosis and the potential efficacy of CAR-T cell therapy, it is plausible to explore the use of CAR-T cell therapy targeting TGF-β as a potential treatment option to extend the life expectancy of patients with IPF. Since TGF-β1 is overexpressed and acts as a fibroblast chemotactic factor in IPF, targeting this specific isoform of the TGF-β family could be a viable approach in the therapy.

Although CAR-T cell therapy has shown promising therapeutic effects in various diseases, including leukemia and cancer, it is important to be aware of possible side effects associated with this therapy. Careful evaluation and monitoring would be necessary to mitigate any potential risks and ensure patient safety.

Further research, including preclinical studies using animal models of pulmonary fibrosis, can help validate the feasibility and efficacy of CAR-T cell therapy targeting TGF-β in IPF. Such studies would provide valuable insights into the potential of this approach as a therapeutic option to improve the prognosis and quality of life for patients with IPF.

4. STATEMENT OF CONFLICT OF INTERESTS

The authors do not have any conflict of interest.

5. REFERENCES

1. Henderson NC, Rieder F, Wynn TA. Fibrosis: from mechanisms to medicines. *Nature*. 2020;587(7835):555-566. doi:10.1038/s41586-020-2938-9
2. Noble PW, Barkauskas CE, Jiang D. Pulmonary fibrosis: Patterns and perpetrators. *J Clin Invest*. 2012;122(8):2756-2762. doi:10.1172/JCI60323
3. Lederer DJ, Martinez FJ. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med*. 2018;378(19):1811-1823. doi:10.1056/NEJMra1705751
4. Martinez FJ, Collard HR, Pardo A, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:1-20. doi:10.1038/nrdp.2017.74
5. Baddini-martinez J, Baldi BG, Henrique C, et al. Atualização no diagnóstico e tratamento da fibrose pulmonar idiopática. *J Bras Pneumol*. 2015;41(5):1-13.
6. Maher TM, Bendstrup E, Dron L, et al. Global incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis. *Respir Res*. 2021;22(1):1-10. doi:10.1186/s12931-021-01791-z
7. Raghu G, Chen SY, Yeh WS, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: Incidence, prevalence, and survival, 2001-11. *Lancet Respir Med*. 2014;2(7):566-572. doi:10.1016/S2213-2600(14)70101-8
8. Hutchinson J, Fogarty A, Hubbard R, McKeever T. Global incidence and mortality of idiopathic pulmonary fibrosis: A systematic review. *Eur Respir J*.

2015;46(3):795-806. doi:10.1183/09031936.00185114

9. Lamas DJ, Kawut SM, Bagiella E, Philip N, Arcasoy SM, Lederer DJ. Delayed access and survival in idiopathic pulmonary fibrosis: A cohort study. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011;184(7):842-847. doi:10.1164/rccm.201104-0668OC

10. Raghu G, Remy-Jardin M, Richeldi L, et al. Idiopathic Pulmonary Fibrosis (an Update) and Progressive Pulmonary Fibrosis in Adults: An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2022;205(9):E18-E47. doi:10.1164/rccm.202202-0399ST

11. Liu GY, Budinger GRS, Dematte JE. Advances in the management of idiopathic pulmonary fibrosis and progressive pulmonary fibrosis. *BMJ*. Published online 2022:1-20. doi:10.1136/bmj-2021-066354

12. Zhao M, Wang L, Wang M, et al. Targeting fibrosis, mechanisms and cilinical trials. *Signal Transduct Target Ther*. 2022;7(1). doi:10.1038/s41392-022-01070-3

13. Swigris, Jeffrey J.; Brown KK. Idiopathic pulmonary fibrosis: a decade of progress. *J Bras Pneumol*. 2006;32(3):249-260. doi:https://doi.org/10.1590/S1806-37132006000300012

14. Sgalla G, Iovene B, Calvello M, Ori M, Varone F, Richeldi L. Idiopathic pulmonary fibrosis: Pathogenesis and management. *Respir Res*. 2018;19(1):1-18. doi:10.1186/s12931-018-0730-2

15. Mei Q, Liu Z, Zuo H, Yang Z, Qu J. Idiopathic Pulmonary Fibrosis: An Update on Pathogenesis. *Front Pharmacol*. 2022;12(January):1-14. doi:10.3389/fphar.2021.797292

16. Fernandez IE, Eickelberg O. The impact of TGF-β on lung fibrosis: From targeting to biomarkers. *Proc Am Thorac Soc*. 2012;9(3):111-116.

doi:10.1513/pats.201203-023AW

17. Sanderson N, Factor V, Nagy P, et al. Hepatic expression of mature transforming growth factor β1 in transgenic mice results in multiple tissue lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92(7):2572-2576. doi:10.1073/pnas.92.7.2572

18. Meng XM, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. TGF-β: The master regulator of fibrosis. *Nat Rev Nephrol*. 2016;12(6):325-338. doi:10.1038/nrneph.2016.48

19. Mesquita Júnior D, Araújo JAP, Catelan TTT, et al. Sistema imunitário - parte II: fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. *Rev Bras Reumatol*. 2010;50(5):552-580. doi:10.1590/s0482-50042010000500008

20. Prud'homme GJ. Pathobiology of transforming growth factor β in cancer, fibrosis and immunologic disease, and therapeutic considerations. *Lab Investig*. 2007;87(11):1077-1091. doi:10.1038/labinvest.3700669

21. Rubtsov YP, Rudensky AY. TGFβ signalling in control of T-cell-mediated self-reactivity. *Nat Rev Immunol*. 2007;7(6):443-453. doi:10.1038/nri2095

22. Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AKL, Flavell RA. Transforming growth factor-β regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol*. 2006;24:99-146. doi:10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737

23. Balbino CA, Pereira LM, Curi R. Mechanisms involved in wound healing: a revision. *Brazilian J Pharm Sci*. 2005;41(1):27-51. http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=419771&indexSearch=ID%5Cnhttp://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-93322005000100004

24. O'Reilly S, Ciechomska M, Cant R, Van Laar JM. Interleukin-6 (IL-6) trans signaling drives a STAT3-dependent pathway that leads to hyperactive transforming growth factor-β (TGF-β) signaling promoting SMAD3 activation

and fibrosis via gremlin protein. *J Biol Chem*. 2014;289(14):9952-9960. doi:10.1074/jbc.M113.545822

25. Xu L, Kitani A, Fuss I, Strober W. Cutting Edge: Regulatory T Cells Induce CD4+CD25−Foxp3− T Cells or Are Self-Induced to Become Th17 Cells in the Absence of Exogenous TGF-β. *J Immunol*. 2007;178(11):6725-6729. doi:10.4049/jimmunol.178.11.6725
26. Epstein Shochet G, Brook E, Bardenstein-Wald B, Shitrit D. TGF-β pathway activation by idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) fibroblast derived soluble factors is mediated by IL-6 trans-signaling. *Respir Res*. 2020;21(1):1-10. doi:10.1186/s12931-020-1319-0
27. Kim KK, Sheppard D, Chapman HA. TGF-beta 1 signaling and tissue fibrosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10(4):a022293.
28. Inui N, Sakai S, Kitagawa M. Molecular pathogenesis of pulmonary fibrosis, with focus on pathways related to tgf-β and the ubiquitin-proteasome pathway. *Int J Mol Sci*. 2021;22(11). doi:10.3390/ijms22116107
29. Kim BG, Malek E, Choi SH, Ignatz-Hoover JJ, Driscoll JJ. Novel therapies emerging in oncology to target the TGF-β pathway. *J Hematol Oncol*. 2021;14(1):1-20. doi:10.1186/s13045-021-01053-x
30. Furusawa H, Cardwell JH, Okamoto T, et al. Chronic hypersensitivity pneumonitis, an interstitial lung disease with distinct molecular signatures. *Am J Respir Crit Care Med*. 2020;202(10):1430-1444. doi:10.1164/rccm.202001-0134OC
31. FDA. FDA approves CAR-T cell therapy to treat adults with certain types of large B-cell lymphoma. Press Announcements. Published 2017. Accessed May 31, 2023. https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-

car-t-cell-therapy-treat-adults-certain-types-large-b-cell-lymphoma

32. Zhang C, Liu J, Zhong JF, Zhang X. Engineering CAR-T cells. *Biomark Res*. 2017;5(1):3-8. doi:10.1186/s40364-017-0102-y

33. Sterner RC, Sterner RM. CAR-T cell therapy: current limitations and potential strategies. *Blood Cancer J*. 2021;11(4). doi:10.1038/s41408-021-00459-7

34. Porter DL, Hwang WT, Frey N V., et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med*. 2015;7(303):1-13. doi:10.1126/scitranslmed.aac5415

35. American Cancer Society. CAR T-cell Therapy and Its Side Effects. cancer.org. Published 2022. Accessed May 31, 2023. https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/immunotherapy/car-t-cell1.html

36. National Cancer Institute (NCI). CAR T cells: Engineering patients' immune cells to treat their cancers. Published 2022. Accessed July 4, 2023. https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/research/car-t-cells

37. Porter DL, Maloney DG. Cytokine release syndrome (CRS). Accessed July 4, 2023. https://www.uptodate.com/contents/cytokine-release-syndrome-crs

38. FDA Package Insert-ABECMA.

39. FDA Package Insert-BREYANZI.

40. FDA Package Insert-CARVYKTI. Published 2022. Accessed July 4, 2023. https://www.fda.gov/media/156560/download

41. FDA Package Insert-KYMRIAH. Published 2022. Accessed July 4, 2023. https://www.fda.gov/media/107296/download

42. FDA Package Insert-TECARTUS. Published 2022. Accessed July 4, 2023. https://www.fda.gov/media/140409/download

43. FDA Package Insert-YESCARTA. Published 2022. Accessed July 4, 2023. https://www.fda.gov/media/108377/download

44. Chen YJ, Abila B, Mostafa Kamel Y. CAR-T: What Is Next? *Cancers (Basel)*. 2023;15(3). doi:10.3390/cancers15030663

45. Cappell KM, Kochenderfer JN. Long-term outcomes following CAR T cell therapy: what we know so far. *Nat Rev Clin Oncol*. 2023;20(June):359-371. doi:10.1038/s41571-023-00754-1

46. June CH, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptor Therapy | Enhanced Reader. *new Engl J Med Rev*. 2018;379(1):64-73. doi:10.1056/NEJMra1706169

47. Sheykhhasan M, Manoochehri H, Dama P. Use of CAR T-cell for acute lymphoblastic leukemia (ALL) treatment: a review study. *Cancer Gene Ther*. 2022;29(8-9):1080-1096. doi:10.1038/s41417-021-00418-1

48. Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. Driving CAR T-cells forward. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(6):370-383. doi:10.1038/nrclinonc.2016.36

49. Petrausch U, Schuberth PC, Hagedorn C, et al. Re-directed T cells for the treatment of fibroblast activation protein (FAP)-positive malignant pleural mesothelioma (FAPME-1). *BMC Cancer*. 2012;12:1-7. doi:10.1186/1471-2407-12-615

50. Arteaga CL. Epidermal Growth Factor Receptor Dependence in Human Tumors: More Than Just Expression? *Oncologist*. 2002;7(suppl 4):31-39.

51. Martinez M, Moon EK. CAR T cells for solid tumors: New strategies for finding, infiltrating, and surviving in the tumor microenvironment. *Front Immunol*. 2019;10(FEB):1-21. doi:10.3389/fimmu.2019.00128

52. Zhang Q, Yang X, Pins M, et al. Adoptive transfer of tumor-reactive transforming growth factor-β-insensitive CD8+ T cells: Eradication of

autologous mouse prostate cancer. *Cancer Res*. 2005;65(5):1761-1769. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-3169

53. Budding K, Van De Graaf EA, Kardol-Hoefnagel T, et al. Soluble CD59 is a Novel Biomarker for the Prediction of Obstructive Chronic Lung Allograft Dysfunction after Lung Transplantation. *Sci Rep*. 2016;6(April):4-10. doi:10.1038/srep26274

54. Mills R, Mathur A, Nicol LM, et al. Intrapulmonary autoantibodies to HSP72 are associated with improved outcomes in IPF. *J Immunol Res*. 2019;2019. doi:10.1155/2019/1845128

55. Wollin L, Wex E, Pautsch A, et al. Mode of action of nintedanib in the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2015;45(5):1434-1445. doi:10.1183/09031936.00174914

5. CONCLUSÕES

A fibrose pulmonar idiopática não tem cura terapêutica além do transplante pulmonar. No entanto, uma vida pós-transplante não é livre de comorbidade e tratamentos prolongados e vitalícios, existindo ainda o risco de rejeição e de perda da função do órgão. As drogas anti-fibróticas em uso atualmente não são curativas, elas apenas estacionam a progressão da fibrose, no entanto não promovem a regressão do processo fibrótico.

Contudo, o TGF-β parece estar envolvido na progressão da fibrose e a terapia com células CAR-T tem se mostrado uma técnica eficiente no combate a células alvo da doença, apesar de alguns efeitos colaterais. Considerando a não cura, o TGF-β como participante e o sucesso das terapias é possível hipotetizar que o uso da terapia com células CAR-T direcionada para o TGF-β, juntamente com antígenos que de superfície que as direcionem aos sítios pulmonares, seria um possível tratamento para fibrose pulmonar idiopática.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O advento da pandemia de COVID-19 trouxe inegáveis atrasos ao desenvolvimento de trabalhos científicos, assim como ocorreu em inúmeras outras esferas, tanto produtivas, tanto no campo da educação, como em outros tantos setores da economia. Isso sem contar o número de pessoas que perderam suas vidas para a infecção pelo SARS-CoV-2.

Durante a execução deste mestrado a situação não foi diferente. Inicialmente pensado para ser desenvolvido como uma pesquisa experimental, envolvendo o uso de tecnologia de realidade virtual e investigando seu impacto sobre o perfil inflamatório de indivíduos idosos com sarcopenia, tivemos de cancelar a pesquisa, tanto por conta do isolamento, como pelo fato de a população em estudo ser um dos principais grupos de risco para a COVID-19. Assim, como tantos outros trabalhos, nos focamos em estudos teóricos, mas que pudessem acrescentar informações e suscitar o desenvolvimento de hipóteses de pesquisa que, futuramente, venham a ser testadas em laboratório. Nesse sentido, pelo fato de o grupo ter desenvolvido alguns estudos com FPI, e dado o meu interesse na temática das células CAR-T, busquei trazer elementos que permitissem a elaboração deste estudo e pudessem contribuir no conhecimento acerca desta condição.