

DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-97-104
УДК: 616-006.04-08:612.017.11:575.853:615.37

Для цитирования: *Боробова Е.А., Жеравин А.А.* Натуральные киллеры в иммунотерапии онкологических заболеваний. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17 (6): 97–104. – doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-97-104.
For citation: *Borobova E.A., Zheravin A.A.* Natural killer cells in immunotherapy for cancer. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17 (6): 97–104. – doi: 10.21294/1814-4861-2018-17-6-97-104.

НАТУРАЛЬНЫЕ КИЛЛЕРЫ В ИММУНОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Е.А. Боробова^{1,2}, А.А. Жеравин¹

Национальный медицинский исследовательский центр им. академика Е.Н. Мешалкина,
г. Новосибирск, Россия¹
Россия, 630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15. E-mail: borobova-elena@rambler.ru¹
Федеральное бюджетное учреждение науки государственный научный центр вирусологии
и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область, Россия²
Россия, 630559, р.п. Кольцово, Новосибирская область²

Аннотация

Злокачественные новообразования находятся на втором месте среди причин смертности после заболеваний сердечно-сосудистой системы. Поздняя диагностика и низкая эффективность классических методов терапии являются причиной снижения общей выживаемости онкологических пациентов. В связи с этим возникает необходимость в разработке современных методов, позволяющих эффективно бороться с опухолевыми клетками. За последние десятилетия в лечении онкологических заболеваний были достигнуты впечатляющие успехи, обусловленные созданием препаратов таргетной терапии. Кроме того, минувший год ознаменовался введением в клиническую практику двух препаратов на основе CAR-T-лимфоцитов, предназначенных для лечения гематологических опухолей. Это, в свою очередь, послужило причиной для увеличения интереса ученых к такому направлению, как adoptive immunotherapy. Весьма привлекательным в этом отношении является подход с использованием клеток врожденного иммунитета, а именно натуральных киллеров, играющих ключевую роль в противоопухолевом иммунитете. В обзоре описаны природные свойства и функции натуральных киллеров, а также проанализированы основные стратегии лечения злокачественных заболеваний с использованием НК-клеток.

Ключевые слова: иммунотерапия, натуральные киллеры, врожденный иммунитет, химерный антигенный рецептор, клетки NK-92, АЗКЦ, противоопухолевая активность.

NATURAL KILLER CELLS IN IMMUNOTHERAPY FOR CANCER

E.A. Borobova^{1,2}, A.A. Zheravin¹

E.N. Meshalkin National Medical Research Center, Novosibirsk, Russia¹
15, Rechkunovskaya Street, 630055-Novosibirsk, Russia. E-mail: borobova-elena@rambler.ru¹
Federal Budgetary Research Institution State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector»,
Koltsovo, Novosibirsk, Russia²
Koltsovo-630559, Novosibirsk Region, Russia²

Abstract

Cancer is the second leading cause of death worldwide behind cardiovascular diseases. Late stage of cancer at diagnosis and low efficacy of traditional cancer treatments result in low survival rate in cancer patients. Modern techniques to kill tumor cells are therefore needed. Over the last decade novel anticancer treatments

have emerged from advances in our understanding of tumor cell biology, and a number of molecular and biologic targets have been identified. Chimeric antigen receptor T cell (CAR-T cell) therapy is a novel adoptive immunotherapy, which is used predominantly in the treatment of hematological malignancies. Moreover, it has been evidenced that cells of the innate immune system are key players at initiating and regulating adaptive immune responses. Studies focusing on innate immune cells for cancer immunotherapy show promising results. In this review, we describe functions of natural killer cells and analyze the rationale for using natural killer cells in cancer therapy.

Key words: immunotherapy, natural killer cells, innate immunity, chimeric antigen receptor, NK-92 cells, ADCC, antitumor activity.

Введение

Злокачественные новообразования находятся на втором месте (15,5 %) в структуре смертности после заболеваний сердечно-сосудистой системы. Недостаточная эффективность традиционных методов лечения обусловлена не только поздней диагностикой, но и резистентностью отдельных форм злокачественных новообразований к проводимым схемам системной терапии. Около 40 % злокачественных новообразований диагностируются на III–IV стадиях, более 90 % пациентов погибают от метастатического поражения отдаленных органов [1]. В связи с этим возникает необходимость в разработке современных методов терапии, позволяющих с одинаковой эффективностью бороться как с клетками первичного опухолевого очага, так и с циркулирующими в периферической крови, которые являются источниками отдаленных метастазов.

За последние десятилетия существенный прогресс достигнут в области иммунотерапии, которая выступает в качестве четвертой модальности в лечении онкологических заболеваний, наряду с хирургическим лечением, лучевой и химиотерапией. Были разработаны многочисленные иммунотерапевтические стратегии, продемонстрировавшие свою безопасность и эффективность в ряде клинических испытаний. Иммунотерапия в настоящий момент включает такие направления, как создание ингибиторов контрольных путей, нативные и конъюгированные с химиопрепаратами или радиоактивными частицами антитела, противоопухолевые вакцины, а также адаптивная клеточная терапия. Настоящий прорыв был совершен в онкогематологии, связанный с разработкой и внедрением в клиническую практику препаратов на основе Т-лимфоцитов, несущих химерные рецепторы антигена (CAR). Несмотря на достигнутые успехи, метод имеет определенные ограничения в терапии солидных опухолей, обусловленные серьезными побочными эффектами. Наиболее перспективной в этом отношении выглядит стратегия использования эффекторных клеток врожденного иммунитета, в частности натуральных киллеров (НК), обладающих высоким противоопухолевым потенциалом. Полученные результаты многочисленных исследований позволяют оценить безопасность и эффективность терапии на основе НК-клеток.

Статья посвящена описанию природы натуральных киллеров, их функциональных особенностей и роли в противоопухолевом иммунитете, кроме того, в ней рассмотрены основные стратегии использования НК-клеток в иммунотерапии злокачественных новообразований.

Основные свойства и функции натуральных киллеров

Натуральные киллеры, впервые описанные в 1975 г., представлены популяцией крупных гранулярных клеток костно-мозгового происхождения. Основным компонентом гранул натуральных киллеров являются белки перфорин и гранзим В. Среди клеток периферической крови 15 % приходится на долю НК-клеток с фенотипом CD 56^{dim} CD 16⁺, обладающих наибольшей цитотоксической активностью, в то время как в печени, лимфоузлах и миндалинах локализованы натуральные киллеры с фенотипом CD 56^{bright} CD 16^{dim}, продуцирующие интерферон-гамма (ИФН-γ) и выполняющие преимущественно регуляторную функцию. Фенотипическое разнообразие НК-клеток в организме определяется присутствующими на поверхности многочисленными активирующими и ингибиторными рецепторами. К ним относятся ингибиторные иммуноглобулин-подобные рецепторы (KIR) (KIR-2DL и KIR-3DL) и B1 (LILRB1), активирующие рецепторы естественной цитотоксичности (NCR) (NKp46, NKp30 и NKp44). На поверхности НК-клеток также экспрессируются цитотоксические (CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/Н и NKG2F) и ингибиторные (CD94/NKG2A/В) рецепторы класса лектинов С-типа и др. Процесс созревания НК-клеток ассоциирован с изменением экспрессии некоторых поверхностных рецепторов. Наличие на мембране рецептора NKG2A характерно для незрелых НК-клеток, в то время как маркер CD57 появляется преимущественно на терминальных стадиях дифференцировки [2]. Индукция созревания натуральных киллеров происходит под влиянием провоспалительных цитокинов в условиях формирования иммунного ответа. При этом сигналы от активационных и ингибиторных поверхностных рецепторов обеспечивают оптимальную функциональную активность НК-клеток.

Важной особенностью натуральных киллеров, отличающей их от клеток адаптивного иммуни-

тета, является способность распознавать раковые антигены без участия молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС). Кроме того, натуральные киллеры способны узнавать и проявлять цитотоксическую активность по отношению к собственным клеткам организма, на мембране которых отмечается низкий уровень экспрессии молекул МНС I класса. Снижение уровня экспрессии молекул МНС I класса, как правило, является сигналом, свидетельствующим о повреждении клетки или злокачественном перерождении. Благодаря наличию свойства распознавать измененные собственные клетки организма естественные киллеры играют одну из ключевых ролей в осуществлении противоопухолевого надзора [2–5]. Исследование противоопухолевой активности натуральных киллеров подтвердило наличие у них способности вызывать гибель опухолевых клеток как *in vitro*, так и *in vivo* [6, 7].

Противоопухолевый потенциал натуральных киллеров реализуется с участием нескольких механизмов. Одним из таких механизмов является продукция перфорины и гранзима В, индуцирующих апоптоз в клетках-мишенях. Для НК-клеток также характерно наличие способности вызывать рецептор-опосредованный апоптоз с помощью продукции белков FasL (Fas ligand) и TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand). Помимо этого, натуральные киллеры продуцируют оксид азота, вызывающий нарушение метаболических процессов и гибель раковых клеток. Непрямая противоопухолевая активность НК-клеток реализуется с помощью секреции ИФН- γ , фактора некроза опухоли-альфа (ФНО- α), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), регулирующих процесс Т-клеточного иммунного ответа [8].

Рецепторы, присутствующие на поверхности натуральных киллеров, играют ключевую роль в осуществлении противоопухолевого надзора. К ним относятся трансмембранный белок NKG2D (Natural Killer Group 2D), узнающий секретируемые раковыми клетками белков «стресса» МНС-ассоциированная последовательность-А (MICA) и МНС-ассоциированная последовательность-В (MICB), которые, как правило, слабо экспрессируются в нормальных клетках [9, 10]. В результате повреждения уровень продукции MICA и MICB в клетке существенно повышается. Проведенные исследования показали высокий уровень продукции MICA и MICB клетками меланомы, гепатоцеллюлярной карциномы и др. [11]. Помимо этого, могут встречаться растворимые формы MICA/B, образующиеся в результате слущивания с поверхности опухолевой клетки и накапливающиеся в крови. Растворимые формы MICA/B могут связываться с NKG2D рецептором, блокируя цитотоксическую активность НК клеток. Другим рецептором, рас-

познающим сигналы с поверхности поврежденной клетки, является DNAM-1 (DNAX Accessory Molecule-1). Активация рецептора DNAM-1 приводит к индукции цитотоксической и ИФН- γ продуцирующей активности. Помимо этого, на поверхности натуральных киллеров присутствуют рецепторы Fc γ RIIIA и Fc γ RIIC к Fc фрагменту антител, опосредующие антител-зависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ). Модуляция сигналов с поверхностных рецепторов позволяет регулировать функциональную активность НК-клеток [6, 12–14].

НК-клетки памяти

В настоящее время существует понятие иммунологической памяти для НК-клеток, наделенных свойствами клеток адаптивного иммунитета и обладающих способностью распознавать и элиминировать патогены в ответ на их повторное попадание в организм. Впервые идея о существовании НК-клеток памяти появилась в 2006 г. в исследованиях, проведенных на модели мышей, лишенных Т- и В-лимфоцитов, которым вводили гаптены (2,4-динитрофлуоробензин и оксазолон). Повторное введение гаптенных приводило к формированию более выраженного иммунного ответа за счет присутствия НК-клеток памяти [15, 16]. Первичным местом локализации НК-клетки памяти на начальных этапах считалась печень. В результате дальнейших исследований НК-клетки памяти были обнаружены в селезенке, легких, почках и других лимфоидных органах, а также свободно циркулирующие в периферической крови [17, 18]. В настоящее время описаны несколько популяций естественных киллеров, обладающих признаками иммунологической памяти. Образование первой популяции антиген-специфических НК-клеток происходит в результате контакта с вирусами или гаптенами. Другая популяция НК-клеток памяти образуется под влиянием провоспалительных цитокинов и является инструментом неспецифического иммунного ответа. В последнее время рассматривается потенциальная возможность использования таких клеток для иммунотерапии онкологических заболеваний. Фактически НК-клетки памяти можно характеризовать как клетки, обладающие высоким уровнем цитотоксической активности. В системе *in vitro* получение клеток, обладающих подобными характеристиками, возможно при создании оптимальных условий культивирования с использованием коктейля ростовых факторов, активирующих пролиферативную и цитотоксическую активность естественных киллеров [19].

Возможности использования натуральных киллеров для иммунотерапии онкологических заболеваний

Высокий противоопухолевый потенциал естественных киллеров делает их привлекательным

инструментом в лечении злокачественных новообразований. Первые попытки лечения злокачественных новообразований с использованием НК-клеток были предприняты научным коллективом под руководством S.A. Rosenberg в Национальном институте рака [20]. Получены результаты клинических испытаний, доказывающих безопасность и эффективность применения натуральных киллеров. Кроме того, технология с использованием НК-клеток обладает существенными преимуществами по сравнению с адаптивной иммунотерапией на основе Т-лимфоцитов. Дело в том, что при введении НК-клеток фактически исключается возможность развития реакции «трансплантат против хозяина». Кроме того, НК-клетки не обладают выраженной цитотоксической активностью по отношению к нормальным клеткам органов и тканей (печени, легких, почек, мышечной ткани и др.), что, в свою очередь, снижает уровень риска развития побочных эффектов от проводимой терапии. Результаты клинических исследований показали, что при использовании НК-клеток практически не наблюдаются побочные эффекты, обусловленные реакцией «трансплантат против хозяина» в сравнении с иммунотерапией на основе активированных Т-лимфоцитов. Небольшая продолжительность жизни активированных НК-клеток и наличие поверхностных ингибиторных рецепторов, модулирующих функциональную активность, также вносят вклад в снижение рисков развития побочных эффектов от иммунотерапии.

Тем не менее, несмотря на видимые преимущества и перспективность, технология на основе НК-клеток не получила широкого применения. Существенным препятствием в этом являются трудоемкость и значительные финансовые затраты, связанные с получением натуральных киллеров в достаточном количестве. Помимо этого, существуют определенные трудности, возникающие при использовании аутологичных НК-клеток, обусловленные качественным и количественным дефектом популяции натуральных киллеров периферической крови онкологических больных. В связи с этим терапевтические подходы могут быть направлены на модуляцию вышеописанных дефектов как *in vivo*, так и *in vitro* [21].

Аутологичные НК-клетки

Технология на основе аутологичных НК-клеток представляет собой метод выделения НК-клеток самого больного с целью их дальнейшей активации в системе *ex vivo* в присутствии цитокинов. На начальных этапах исследования было выявлено, что для поддержания активности выделенных из периферической крови НК-клеток в системе *ex vivo* требуется присутствие в среде для культивирования интерлейкина-2 (ИЛ-2). В таких условиях на 3–5-е сутки культивирования наблюдается увеличение степени экспрессии поверхностных маркеров натуральных киллеров,

свидетельствующих об их активации. Было также замечено, что важным фактором, влияющим на жизнеспособность натуральных киллеров в системе *ex vivo*, является присутствие аутологичных Т-лимфоцитов. В результате проведенных экспериментов было показано, что изолированная популяция НК-клеток периферической крови обладает короткой продолжительностью жизни и низким уровнем цитотоксической активности. При культивировании в тех же условиях смешанной с лимфоцитами популяции клеток уровень жизнеспособности натуральных киллеров существенно повышался [22]. В качестве факторов, индуцирующих пролиферативную и функциональную активность натуральных киллеров, в некоторых случаях используется комбинация ИЛ-2, ИЛ-12, ИЛ-15, ИЛ-18 и ИЛ-21. В таких условиях удается получить лимфокин-активированные киллеры (ЛАК), обладающие высоким уровнем цитотоксической активности [8, 23]. Процесс культивирования НК-клеток *ex vivo* в присутствии ростовых факторов направлен как на индукцию пролиферативной активности, так и на восстановление оптимального уровня экспрессии поверхностных активирующих рецепторов. Была также отмечена ключевая роль аминокислоты аргинина в процессе созревания натуральных киллеров. Полное отсутствие аминокислоты аргинина в среде для культивирования, как показали результаты исследования, приводило к снижению цитотоксической активности натуральных киллеров на 70 %. При добавлении аргинина функциональная активность НК-клеток восстанавливалась [24]. Примером терапии с использованием аутологичных НК-клеток является I фаза клинических испытаний, проведенных с участием пациентов с множественной миеломой. В исследованиях оценивался противоопухолевый эффект терапии, основанной на введении аутологичных активированных *ex vivo* натуральных киллеров после проведенного курса химиотерапии. Активация аутологичных НК-клеток в этом случае осуществлялась с помощью совместного культивирования с генетически-модифицированной линией клеток K562-mb15-41BBL, обладающей способностью продукции ИЛ-15 и 41BBL(4-1BB ligand), вызывающих активацию и пролиферацию натуральных киллеров. В результате терапии у 4 из 5 пациентов наблюдалась стабилизация процесса, у 2 пациентов был зарегистрирован длительный иммунный ответ [25].

Несмотря на привлекательность метода иммунотерапии на основе аутологичных НК-клеток, клинический эффект от их введения остается неоправданно низким, что, в свою очередь, может быть обусловлено присутствием на поверхности ингибиторных KIR рецепторов, узнающих молекулы МНС I класса на опухолевой клетке. Активация KIR рецепторов негативно регулирует цитотоксическую активность натуральных киллеров.

Аллогенные НК-клетки

Обойти проблему, сопряженную с активацией ингибиторных KIR рецепторов, позволяет подход на основе аллогенных НК-клеток. Безопасность и эффективность применения аллогенных НК-клеток была продемонстрирована в клинических испытаниях на различных моделях онкологических заболеваний [26–28]. Так, у больных раком молочной железы наблюдался противоопухолевый эффект после введения аллогенных НК-клеток в комбинации с подкожным введением ИЛ-2. Кроме того, перед введением аллогенных НК-клеток проводился курс химиотерапии с целью увеличения толерантности иммунной системы реципиента к вводимым донорским НК-клеткам. Результаты исследований показали, что уровень иммунного ответа, вызванного введением аллогенных натуральных киллеров, превосходил по интенсивности иммунный ответ, индуцируемый аутологичными НК-клетками (NCT00376805). Другим доказательством эффективности применения аллогенных НК-клеток являются эксперименты, проведенные в группах пациентов с острой миелоидной лейкемией. В этом случае введение аллогенных НК-клеток приводило к увеличению безрецидивной выживаемости в 25 %. В настоящее время успех с применением технологии на основе натуральных киллеров получен в большей степени в онкогематологии. Для этих целей активация НК-клеток *ex vivo* достигается с помощью их совместного культивирования с линией клеток хронической миелоидной лейкемии K 562. Характерной особенностью линии клеток K 562 является наличие свойства продуцировать ИЛ-15 или ИЛ-21 и 4-1BB [29–31]. В результате проведенных клинических испытаний у пациентов с CD20 позитивной (CD 20+) В-клеточной лимфомой доказана эффективность применения натуральных киллеров, полученных в результате активации в присутствии линии клеток K 562 [32]. Еще одной альтернативой технологии на основе аутологичных НК-клеток является гаплоидентичная трансплантация, в основе которой лежит 50 % тканевая совместимость донора и реципиента. Клинические исследования гаплоидентичной трансплантации были проведены у пациентов с острой миелоидной лейкемией, в результате которых наблюдался специфический противоопухолевый ответ у 26 % больных [28].

Несмотря на доказанный терапевтический эффект введения аллогенных НК-клеток, метод сопряжен с определенными трудностями, вызванными поиском подходящего донора. Кроме того, в большинстве случаев для достижения выраженного терапевтического эффекта требуется многократное введение аллогенных НК-клеток, в связи с чем возникает необходимость получения большого количества аллогенных НК-клеток.

Клетки линии NK-92

Для преодоления ограничений, связанных с трудоемкостью получения достаточного количества активированных *ex vivo* НК-клеток, была разработана технология с использованием линии клеток NK-92, полученных от пациента со злокачественной неходжкинской лимфомой. Отличительной особенностью линии клеток NK-92 является высокий уровень цитотоксической активности по отношению к раковым клеткам. Противоопухолевая активность клеток линии NK-92 была показана в I фазе клинических испытаний у пациентов с почечно-клеточной карциномой и меланомой. Результаты исследований продемонстрировали безопасность использования клеток линии NK-92. Более того, линия NK-92 стала одной из первых эффекторных клеток, одобренных Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) для иммунотерапии меланомы [33].

Доказательства противоопухолевой активности клеток линии NK-92 были также получены в результате клинических испытаний, проведенных в группах пациентов с меланомой и раком легких [33, 34]. Важным преимуществом клеток линии NK-92 является возможность получения их в достаточном количестве *ex vivo*, что, в свою очередь, исключает необходимость значительных финансовых затрат. В сравнении с первичными НК-клетками, выделенными из периферической крови, клетки линии NK-92 с большей эффективностью поддаются трансдукции, что дает основания для их широкого использования в области CAR-технологий.

CAR-технологии

CAR-технологии широко применяются для усиления специфической активности эффекторных клеток врожденного и адаптивного иммунитета. Данная платформа базируется на создании клеток, несущих химерный антигенный рецептор, селективно узнающий антигены на поверхности опухолевой клетки. В этом отношении ключевым фактором является выбор оптимальных мишеней – опухолевых антигенов, позволяющих с высокой долей вероятности отличить опухолевую клетку от нормальной.

В ежегодном докладе Американского общества клинической онкологии CAR T-клеточная терапия была названа главным достижением 2017 г. Основанием для этого стало внедрение в клиническую практику препаратов на основе CAR-T-лимфоцитов, одобренных FDA для лечения гематологических опухолей. Тем не менее, несмотря на достигнутые успехи CAR-T-клеточной терапии в онкогематологии, при терапии солидных опухолей не удалось достичь желаемых результатов. Более того, терапия солидных опухолей CAR T-лимфоцитами сопряжена с серьезными побочными эффектами [35]. Помимо Т-лимфоцитов, в осно-

вы для CAR-технологий используют также клетки врожденного иммунитета, а именно натуральные киллеры. Для получения НК-клеток, содержащих химерный рецептор, как правило, используется клеточная линия NK-92. Первые попытки генетической модификации линии NK-92 были предприняты с целью получения клеток, несущих на поверхности высокоаффинный рецептор FcγRIIIa (CD 16) к Fc фрагменту иммуноглобулинов, принимающий участие в реакции антител-зависимой клеточной цитотоксичности. Результаты *ex vivo* и *in vivo* проведенных исследований показали способность генетически модифицированных клеток NK-92, несущих химерный рецептор FcγRIIIa, увеличивать эффективность терапии на основе моноклональных антител (МКА) [36–39]. Использование клеток NK-92, несущих на поверхности высокоаффинный рецептор для Fc фрагмента антител, позволяет существенно повысить уровень антител-зависимой клеточной цитотоксичности и может быть рекомендовано для применения в комбинации с МКА в лечении злокачественных новообразований. Другим примером является получение клеток NK-92, экспрессирующих химерный рецептор к антигену ErbB2/HER2. Такие клетки, как выяснилось в результате исследований, обладали способностью *ex vivo* и *in vivo* вызывать гибель опухолевых клеток, экспрессирующих рецептор ErbB2/HER2 [40]. Помимо этого, были предприняты попытки по созданию генетически модифицированных клеток NK-92, несущих химерный рецептор, специфически узнающий CD19 на поверхности В-лимфоцитов. Эффективность применения таких НК-клеток показана при терапии В-клеточных опухолей [41]. Результаты исследований применения CAR НК-клеток, безусловно, свидетельствуют о перспективности данного направления в лечении онкологических заболеваний.

Заключение

В последнее время основное внимание направлено на разработку новых методов иммунотерапии, позволяющих эффективно бороться с опухолевыми клетками. Одним из таких подходов является адоптивная иммунотерапия, основанная на клеточных технологиях. Безопасность и эффективность терапии злокачественных новообразований с использованием эффекторных клеток врожденного и адаптивного иммунитета была продемонстрирована в ряде клинических испытаний. Не вызывает сомнений высокий цитотоксический потенциал натуральных киллеров, обладающих широким спектром противоопухолевой активности и принимающих участие на различных этапах иммунного ответа. Совершенно очевидно, что ключевым фактором, ответственным за адекватное функционирование НК-клеток, является совокупность сигналов от активирующих и ингибиторных рецепторов на их поверхности. Одним из вариантов клеточной иммунотерапии может выступать метод, направленный на активацию аутологических или аллогенных НК-клеток *ex vivo* в присутствии цитокинов. Не менее перспективной выглядит также стратегия получения CAR (Chimeric antigen receptor) НК-клеток, несущих химерный антигенный рецептор, что, в свою очередь, позволяет существенно повысить клинический эффект от проводимой терапии. Следует отметить, что эффективность клеточной иммунотерапии определяется не только качеством и количеством, а также частотой и дозой вводимых НК-клеток, активированных *ex vivo*. В связи с этим важным фактором является соблюдение баланса эффективности и безопасности проводимой терапии. Уникальные свойства натуральных киллеров, а также полученные в результате многочисленных исследований доказательства безопасности их применения дают основания для их использования в будущем в лечении злокачественных новообразований.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2016 году. М., 2018. 4–5. [Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrov G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2016. Moscow, 2018. 4–5. (in Russian)].
2. Strauss-Albee D.M., Fukuyama J., Liang E.C., Yao Y., Jarrell J.A., Drake A.L., Kinuthia J., Montgomery R.R., John-Stewart G., Holmes S., Blish C.A. Human NK cell repertoire diversity reflects immune experience and correlates with viral susceptibility. *Sci Transl Med*. 2015 Jul 22; 7 (297): 297ra115. doi: 10.1126/scitranslmed.aac5722.
3. Mistry A.R., O'Callaghan C.A. Regulation of ligands for the activating receptor nkg2d. *Immunology*. 2007; 121 (4): 439–47. doi: 10.1111/j.1365-2567.2007.02652.x.
4. Imai K., Matsuyama S., Miyake S., Suga K., Nakachi K. Natural cytotoxic activity of peripheral-blood lymphocytes and cancer incidence: an 11-year follow-up study of a general population. *Lancet*. 2000 Nov 25; 356 (9244): 1795–9. doi: 10.1016/S0140-6736(00)03231-1.
5. Schreiber R.D., Old L.J., Smyth M.J. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011 Mar 25; 331 (6024): 1565–70. doi: 10.1126/science.1203486.
6. Lakshminanth T., Burke S., Ali T.H., Kimpfner S., Ursini F., Ruggeri L., Capanni M., Umansky V., Paschen A., Sucker A., Pende D., Groh V., Biassoni R., Höglund P., Kato M., Shibuya K., Schadendorf D., Anichini A., Ferrone S., Velardi A., Kärre K., Shibuya A., Carbone E., Colucci F. NCRs and DNAM-1 mediate NK cell recognition and lysis of human and mouse

- melanoma cell lines in vitro and in vivo. *J Clin Invest*. 2009 May; 119 (5): 1251–63. doi: 10.1172/JCI36022.
7. Borrego F., Larrucea S., Solana R., Tarazona R. NK cell-based cancer immunotherapy. *Front Immunol*. 2016 Jun 27; 7: 249. doi: 10.3389/fimmu.2016.00249.
8. Cheng M., Chen Y., Xiao W., Sun R., Tian Z. nk cell-based immunotherapy for malignant diseases. *Cell Mol Immunol*. 2013 May; 10 (3): 230–52. doi: 10.1038/cmi.2013.10.
9. Zhang T., Lemoi B.A., Sentman C.L. chimeric NK-receptor-bearing t cells mediate antitumor immunotherapy. *Blood*. 2005; 106 (5): 1544–51. doi: 10.1182/blood-2004-11-4365.
10. Barber A., Rynda A., Sentman C.L. Chimeric NKG2D expressing T cells eliminate immunosuppression and activate immunity within the ovarian tumor microenvironment. *J Immunol*. 2009 Dec 1; 183 (11): 6939–47. doi: 10.4049/jimmunol.0902000.
11. Waldhauer I., Steinle A. nk cells and cancer immunosurveillance. *Oncogene*. 2008 Oct 6; 27 (45): 5932–43. doi: 10.1038/onc.2008.267.
12. Carlsten M., Norell H., Bryceson Y.T., Poschke I., Schedvins K., Ljunggren H.G., Kiessling R., Malmberg K.J. Primary human tumor cells expressing cd155 impair tumor targeting by down-regulating dnam-1 on nk cells. *J Immunol*. 2009 Oct 15; 183 (8): 4921–30. doi: 10.4049/jimmunol.0901226.
13. El-Sherbiny Y.M., Meade J.L., Holmes T.D., McGonagle D., Mackie S.L., Morgan A.W., Cook G., Feyler S., Richards S.J., Davies F.E., Morgan G.J., Cook G.P. The requirement for dnam-1, nkg2d, and nkp46

- in the natural killer cell-mediated killing of myeloma cells. *Cancer Res.* 2007; 67 (18): 8444–9. doi: 10.1158/0008-5472.can-06-4230.
14. Sanchez-Correa B., Gayoso I., Bergua J.M., Casado J.G., Morgado S., Solana R., Tarazona R. Decreased expression of dnam-1 on nk cells from acute myeloid leukemia patients. *Immunol Cell Biol.* 2012 Jan; 90 (1): 109–15. doi: 10.1038/icb.2011.15.
15. O'Leary J.G., Goodarzi M., Drayton D.L., von Andrian U.H. T cell- and b cell-independent adaptive immunity mediated by natural killer cells. *nature immunology.* 2006; 7 (5): 507–16. doi: 10.1038/ni1332. doi: 10.1038/ni1332.
16. Paust S., von Andrian U.H. Natural killer cell memory. *Nature Immunology.* 2011; 12 (6): 500–8.
17. Sun J.C., Beilke J.N., Lanier L.L. Adaptive J immune features of natural killer cells. *Nature.* 2009 Jan 29; 457 (7229): 557–61. doi: 10.1038/nature07665.
18. Sun J.C., Beilke J.N., Lanier L.L. J immune memory redefined: characterizing the longevity of natural killer cells. *Immunol Rev.* 2010 Jul; 236: 83–94. doi: 10.1111/j.1600-065X.2010.00900.x.
19. Ni J., Miller M., Stojanovic A., Garbi N., Cerwenka A. Sustained effector function of il-12/15/18-preactivated nk cells against established tumors. *J Exp Med.* 2012 Dec 17; 209 (13): 2351–65. doi: 10.1084/jem.20120944.
20. Rosenberg S.A., Lotze M.T., Muul L.M., Chang A.E., Avis F.P., Leitman S., Linehan W.M., Robertson C.N., Lee R.E., Rubin J.T. A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer-cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med.* 1987 Apr 9; 316 (15): 889–97.
21. Suck G., Linn Y.C., Tonn T. Natural killer cells for therapy of leukemia. *Transfus Med Hemother.* 2016 Mar; 43 (2): 89–95. doi: 10.1159/000445325.
22. Шубина И.Ж., Чикилева И.О., Михайлова И.Н., Демидов Л.В., Огородникова Е.В., Тазаев В.Н., Киселевский М.В. Активированные натуральные киллеры в клеточной иммунотерапии. *Российский иммунологический журнал.* 2012; 6 (15) 1: 71–9. [Shubina I.J., Chikileva I.O., Mikhailova I.N., Demidov L.V., Ogorodnikova E.V., Tazayev V.N., Kiselevsky M.V. Activated nk cells for cell-based immunotherapy. *Russian immunological journal.* 2012; 6 (15) 1: 71–9. (in Russian)].
23. Smyth M.J., Cretney E., Kershaw M.H., Hayakawa Y. Cytokines in cancer immunity and immunotherapy. *Immunol Rev.* 2004; 202: 275–93. doi: 10.1111/j.0105-2896.2004.00199.x.
24. Oberlies J., Watzl C., Giese T., Luckner C., Kropf P., Müller I., Ho A.D., Munder M. Regulation of nk cell function by human granulocyte arginase. *J Immunol.* 2009 May 1; 182 (9): 5259–67. doi: 10.4049/jimmunol.0803523.
25. Leivas A., Perez-Martinez A., Blanchard M.J., Martín-Clavero E., Fernández L., Lahuerta J.J., Martínez-López J. Novel treatment strategy with autologous activated and expanded natural killer cells plus anti-myeloma drugs for multiple myeloma. *Oncoimmunology.* 2016 Nov 22; 5 (12): e1250051. doi: 10.1080/2162402X.2016.1250051.
26. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E., Perruccio K., Shlomchik W.D., Tosti A., Posati S., Rogaia D., Frassonni F., Aversa F., Martelli M.F., Velardi A. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 2002 Mar 15; 295 (5562): 2097–100. doi: 10.1126/science.1068440.
27. Ruggeri L., Mancusi A., Perruccio K., Burchielli E., Martelli M.F., Velardi A. Natural killer cell alloreactivity for leukemia therapy. *J Immunother.* 2005; 28 (3): 175–82. doi: 10.1097/01.cji.0000161395.88959.1f.
28. Miller J.S., Soignier Y., Panoskaltis-Mortari A., McNearney S.A., Yun G.H., Fautsch S.K., McKenna D., Le C., Defor T.E., Burns L.J., Orchard P.J., Blazar B.R., Wagner J.E., Slungaard A., Weisdorf D.J., Okazaki I.J., McGlave P.B. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical nk cells in patients with cancer. *Blood.* 2005 Apr 15; 105 (8): 3051–7. doi: 10.1182/blood-2004-07-2974.
29. Denman C.J., Senyukov V.V., Somanchi S.S., Phatarpekar P.V., Kopp L.M., Johnson J.L., Singh H., Hurton L., Maiti S.N., Huls M.H., Champlin R.E., Cooper L.J., Lee D.A. Membrane-bound il-21 promotes sustained ex vivo proliferation of human natural killer cells. *PLoS One.* 2012; 7 (1): e30264. doi: 10.1371/journal.pone.0030264.
30. Fujisaki H., Kakuda H., Imai C., Mullighan C.G., Campana D. Replicative potential of human natural killer cells. *Br J Haematol.* 2009 Jun; 145 (5): 606–13. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07667.x.
31. Laptewa N., Durett A.G., Sun J., Rollins L.A., Huye L.L., Fang J., Dandekar V., Mei Z., Jackson K., Vera J., Ando J., Ngo M.C., Coustan-Smith E., Campana D., Szmania S., Garg T., Moreno-Bost A., Vanrhee F., Gee A.P., Rooney C.M. Large-scale ex vivo expansion and characterization of natural killer cells for clinical applications. *Cytotherapy.* 2012 Oct; 14 (9): 1131–43. doi: 10.3109/14653249.2012.700767.
32. Chu Y., Ayello J., Hochberg J., Murphy J., Stier A., Cairo M.S. Genetically engineered natural killer (nk) cell immunotherapy for poor risk b-cell (cd20(+)) leukemia and lymphoma (l/l). *Cancer Res.* 2012; 72. doi: 10.1158/1538-7445.am2012-3511.
33. Arai S., Meagher R., Swearingen M., Myint H., Rich E., Martinson J., Klingemann H. J infusion of the allogeneic cell line nk-92 in patients with advanced renal cell cancer or melanoma: a phase i trial. *Cytotherapy.* 2008; 10 (6): 625–32. doi: 10.1080/14653240802301872.
34. Tonn T., Schwabe D., Klingemann H.G., Becker S., Esser R., Koehl U., Suttrop M., Seifried E., Ottmann O.G., Bug G. Treatment of patients with advanced cancer with the natural killer cell line nk-92. *Cytotherapy.* 2013 Dec; 15 (12): 1563–70. doi: 10.1016/j.jcyt.2013.06.017.
35. Hinrichs C.S., Rosenberg S.A. Exploiting the curative potential of adoptive t-cell therapy for cancer. *immunological reviews.* 2014; 257 (1): 56–71. doi: 10.1111/imr.12132.
36. Cartron G., Dacheux L., Salles G., Solal-Celigny P., Bardos P., Colombat P., Watier H. Therapeutic activity of humanized anti-cd20 monoclonal antibody and polymorphism in igg fc receptor fc gamma riia gene. *Blood.* 2002; 99 (3): 754–8. doi: 10.1182/blood.v99.3.754.
37. Musolino A., Naldi N., Bortesi B., Pezzuolo D., Capelletti M., Missale G., Laccabue D., Zerbini A., Camisa R., Bisagni G., Neri T.M., Ardizoni A. Immunoglobulin g fragment c receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with her-2/neu-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008 Apr 10; 26 (11): 1789–96. doi: 10.1200/JCO.2007.14.8957.
38. Taylor R.J., Chan S.L., Wood A., Voskens C.J., Wolf J.S., Lin W., Chapoval A., Schulze D.H., Tian G., Strome S.E. Fc gamma riia polymorphisms and cetuximab induced cytotoxicity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Immunol Immunother.* 2009 Jul; 58 (7): 997–1006. doi: 10.1007/s00262-008-0613-3.
39. Zhang W., Gordon M., Schultheis A.M., Yang D.Y., Nagashima F., Azuma M., Chang H.M., Borucka E., Lurje G., Sherrod A.E., Iqbal S., Groshen S., Lenz H.J. FCGR2A and FCGR3A polymorphisms associated with clinical outcome of epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal cancer patients treated with single-agent cetuximab. *J Clin Oncol.* 2007 Aug 20; 25 (24): 3712–8. doi: 10.1200/JCO.2006.08.8021.
40. Schönfeld K., Sahm C., Zhang C., Naundorf S., Brendel C., Odendahl M., Nowakowska P., Böning H., Köhl U., Kloess S., Köhler S., Holtgreve-Grez H., Jauch A., Schmidt M., Schubert R., Köhlcke K., Seifried E., Klingemann H.G., Rieger M.A., Tonn T., Grez M., Wels W.S. Selective inhibition of tumor growth by clonal nk cells expressing an erbb2/her2-specific chimeric antigen receptor. *molecular therapy.* 2015; 23 (2): 330–8. doi: 10.1038/mt.2014.21.
41. Romanski A., Uherek C., Bug G., Seifried E., Klingemann H., Wels W.S., Ottmann O.G., Tonn T. CD19-car engineered nk-92 cells are sufficient to overcome nk cell resistance in b-cell malignancies. *Journal of cellular and molecular medicine.* 2016; 20(7): 128794. doi: 10.1111/jcmm.12810.

Поступила/Received 30.04.2018
Принята в печать/Accepted 02.08.2018

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Боробова Елена Александровна, врач клинической лабораторной диагностики, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина (г. Новосибирск, Россия), младший научный сотрудник ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» (Новосибирская обл., р.п. Колцово), Россия. E-mail: borobova-elena@rambler.ru. SPIN-код: 8705-3124.

Жеравин Александр Александрович, кандидат медицинских наук, руководитель центра онкологии и радиотерапии, НМИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина (г. Новосибирск, Россия). E-mail: a_zheravin@meshalkin.ru. SPIN-код: 2858-7175.

Финансирование

Это исследование не потребовало дополнительного финансирования.

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Elena A. Borobova, MD, Clinical Laboratory Scientist, E.N. Meshalkin National Medical Research Center (Novosibirsk, Russia); Researcher, State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» (Koltsovo, Novosibirsk region, Russia). E-mail: borobova_ea@vector.nsc.ru.

Alexander A. Zheravin, MD, PhD, Head of Oncology and Radiotherapy Department, E.N. Meshalkin National Medical Research Center (Novosibirsk, Russia). E-mail: a_zheravin@meshalkin.ru.

Funding

This study required no funding.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.