

## ГЕНЕРАЦИЯ ЛИМФОКИН-АКТИВИРОВАННЫХ КИЛЛЕРОВ НА ФОНЕ СНИЖЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ Т-РЕГУЛЯТОРНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

© 2020 г. А. О. Ситковская<sup>1</sup>\*, Е. Ю. Златник<sup>1</sup>, Т. В. Шамова<sup>1</sup>, Е. С. Бондаренко<sup>1</sup>, И. А. Новикова<sup>1</sup>, Л. Н. Ващенко<sup>1</sup>, Э. Э. Кечеджиева<sup>1</sup>, И. Р. Дашкова<sup>1</sup>, Т. В. Аушева<sup>1</sup>, О. И. Кит<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр онкологии Минздрава России, Ростов-на-Дону, 344037 Россия

\*E-mail: grankina.anastasia@mail.ru

Поступила в редакцию 16.06.2020 г.

После доработки 23.06.2020 г.

Принята к публикации 26.06.2020 г.

В работе изучали влияния различных концентраций интерлейкина-2 (ИЛ-2) и интерферона-γ (ИФН-γ) на пролиферацию и иммунофенотип лимфоцитов, полученных от больных местно-распространенным раком молочной железы (II–III стадия) после иммуномагнитной деплеции Т-регуляторных (Трег) клеток из общего пула лимфоцитов *in vitro*. В качестве материала использовали периферическую кровь 11 больных. Выделяли мононуклеарные клетки периферической крови и удаляли Т-регуляторные лимфоциты с помощью иммуномагнитной сепарации. Клетки после сепарации культивировали в питательной среде RPMI-1640 с 10% телячьей сыворотки в течение 7 сут. Лимфоциты активировали в первый день культивирования с одним из следующих цитокинов: ИФН-γ (10 МЕ/мл), ИЛ-2 (0.1 или 1 мкг/мл), а также ИЛ-2 (0.1 или 1 мкг/мл) и ИФН-γ совместно. Лимфоциты без внесения цитокинов служил контролем. Клетки считали с помощью автоматического счетчика до внесения цитокинов и через 2, 4 и 7 сут сокультивирования с цитокинами и исследовали их фенотип. Результаты показали некоторые фенотипические различия ряда звеньев клеточного иммунитета между контрольными и экспериментальными пробами. Особое внимание уделено описанию изменений экспрессии поверхностных маркеров в субпопуляции натуральных киллеров. Отмечено, что доля Трег клеток, несмотря на их предварительную деплецию, возрастает после воздействия цитокинов. В итоге предварительное снижение доли клеток Трег перед стимуляцией лимфоцитов не произвело должного эффекта, поэтому применение деплеции в подобном методическом режиме не привело к значимым результатам. Однако не стоит исключать возможности ингибирования клеток Трег другими способами.

**Ключевые слова:** лимфокин-активированные киллеры (киллерные клетки), сепарация Т-регуляторных клеток, интерлейкин-2, интерферон-γ

**DOI:** 10.31857/S0041377120100065

Развитие злокачественной опухоли приводит к нарушению различных этапов иммунного ответа (Бережная, Чехун, 2005), что обуславливает актуальность применения иммунотерапии. В отличие от общепринятой химиолучевой терапии, подавляющей функции иммунной системы, иммунотерапия ориентирована на ее коррекцию (Мушкарина, Кузьмина, 2016). Одним из ее методов является адоптивная иммунотерапия, в основе которой лежит применение аутологичных (аллогенных) стимулированных *ex vivo* иммунокомпетентных клеток: Т-, В- и натуральных киллерных (НК) клеток (Златник и др, 2018; Шамова и др., 2020).

**Принятые сокращения:** ИЛ – интерлейкин; ИФН-γ – интерферон-γ; ЛАК – лимфокин-активированные киллеры; МНК – мононуклеарные клетки периферической крови; МНС – главный комплекс гистосовместимости; НК – натуральные киллеры; НКТ – натуральные киллеры Т-клетки; иНКТ – инвариантные НКТ; Трег – Т-регуляторные клетки.

В 80-х годах XX века для клинического применения была предложена терапия лимфокин-активированными киллерами (ЛАК) в сочетании с одномоментным введением интерлейкина 2 (ИЛ-2) больным с солидными опухолями на терминальных стадиях, проявляющих резистентность к остальным видам лечения (Rosenberg et al., 1985, 1987). Авторы этих работ получали ЛАК путем культивирования в присутствии ИЛ-2 аутологичных лимфоцитов от больных после лейкафереза, клиническую ремиссию наблюдали у 31% (33/106) испытуемых, причем полная ремиссия была отмечена у восьми пациентов. В 1989 г. адоптивную терапию в аналогичном режиме проводили 10 пациентам с гепатоцеллюлярной карциномой, регрессию опухоли наблюдали у двух больных, а у остальных сохраняли стабилизацию заболевания (Onishi et al., 1989). Кроме того, в результате введения больным ЛАК в сочетании с ИЛ-2 снижалась частота рецидивов и увеличивалась без-