

ЭКСПАНСИЯ И АКТИВАЦИЯ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА *EX VIVO* В ПРИСУТСТВИИ ТРАНСГЕННЫХ ФИДЕРНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

© 2020 г. Е. П. Вашкевич¹, А. А. Мигас^{1, *}, А. Н. Мелешко¹, М. А. Матвеев¹,
Н. В. Струшкевич², Т. В. Шман¹

¹Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, Минск, 223053 Беларусь

²Сколковский институт науки и технологий, Территория Инновационного Центра “Сколково”, Москва, 121205 Россия

*E-mail: alexandr.migas@gmail.com

Поступила в редакцию 18.12.2019 г.

После доработки 13.01.2020 г.

Принята к публикации 15.01.2020 г.

Согласно предварительным результатам клинических испытаний, использование активированных и экспансированных *ex vivo* естественных киллерных клеток является перспективным направлением адоптивной иммунотерапии острого миелоидного лейкоза, а также ряда солидных опухолей при совместном применении с таргетными моноклональными антителами. Однако внедрение данного подхода в клиническую практику ограничено возможностью получения достаточного количества ЕК-клеточного продукта с заданными характеристиками. Для решения этой проблемы мы получили трансгенные фидерные клетки на основе иммортализованной клеточной линии K562, экспрессирующие рекомбинантный мембраносвязанный вариант интерлейкина-21 человека и белок 4-1BBL. Совместное культивирование мононуклеарных клеток, полученных из материала периферической крови 10 здоровых доноров, с клетками полученной генетически модифицированной фидерной культуры приводило к значительному приросту естественных киллерных клеток (медиана – в 21589 раз, минимум – 3150 раз, максимум – 304328 раз) с минимальным содержанием Т-клеток (медиана – 0.5%, минимум – 0.06%, максимум – 4.7%) по сравнению с их исходным содержанием до начала культивирования. Полученные таким способом ЕК-клетки не содержали контаминации онкогеном *BCR-ABL1* от фидерных клеток и имели более низкую экспрессию протоонкогена *c-MYC* по сравнению с исходным уровнем.

Ключевые слова: естественные киллерные клетки, экспансия и активация *ex vivo*, адоптивная противоопухолевая иммунотерапия, генно-инженерные фидерные клетки

DOI: 10.31857/S0041377120040070

Естественные киллерные (ЕК) клетки представляют собой популяцию лимфоцитов врожденного звена иммунитета, принимающих активное участие в формировании противоопухолевого и противовирусного иммунного ответа (Kiessling et al., 1975; Pross et al., 1975; Timonen et al., 1980). Они образуются в костном мозге в процессе дифференцировки из общего предшественника лимфоцитов. Дальнейшее созревание и функциональная активность наблюдаются преимущественно в периферической крови и лимфатических узлах (Kondo et al., 1997; Carotta et al., 2011; Fathman et al., 2011; Sojka et al., 2014; Constantinides et al., 2015).

Принятые сокращения: ЕК – естественные киллерные клетки; ЕКТ – ЕК-подобные Т-клетки; ИЛ – интерлейкин; МИЛ – мембраносвязанный рекомбинантный вариант интерлейкина; кДНК – комплементарная ДНК, синтезированная на матрице РНК; ФК – фидерные клетки; МНК – мононуклеарные клетки; мРНК – матричная РНК; ПЦР – полимеразная цепная реакция.

Высокая цитотоксическая активность ЕК-клеток в отношении малигнизированных клеток различного происхождения является основанием для использования данной группы лимфоцитов в адоптивной терапии онкологических заболеваний. Получение достаточного количества клеточного продукта, характеризующегося необходимой чистотой и степенью активации ЕК-клеток, является одним из основных условий эффективного применения этой технологии.

Использование ЕК-клеток в терапевтических целях ограничивается сложностью получения чистой популяции этих клеток, так как их содержание среди лимфоцитов в периферической крови составляет 5–15%. В настоящее время наиболее широко используемым подходом к получению ЕК-клеток является их селекция из периферической крови с последующей активацией и экспансией в присутствии цитокинов интерлейкина (ИЛ) 2 или 15. Данный метод в раз-