

ФЕНОТИП НК-КЛЕТОК ПРИ ГЕНЕРАЦИИ *IN VITRO* ДЛЯ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ



© Р.В. Журиков^{1,2*}, Н.В. Михайловский¹, В.А. Рыбачук¹, Е.В. Абакушина¹

¹ООО «Текон Медицинские приборы», Москва

²ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Адоптивная иммунотерапия с использованием НК-клеток является современным методом лечения онкологических заболеваний. Совместная инкубация НК-клеток с фидерными клетками и цитокинами позволяет получить популяцию, способную эффективно атаковать большой спектр солидных опухолей. Оценка уровня экспрессии молекулярных маркеров CD16, CD38 и HLA-DR на поверхности популяции НК-клеток, полученной в процессе культивирования, позволяет оценить ее активацию.

МЕТОДЫ. Мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови 10 пациентов с солидными опухолями на градиенте плотности Ficoll (Sigma-Aldrich) и культивировали в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich) с добавлением ИЛ-2, ИЛ-15 и ИЛ-21 с фидерными клетками K-562 в течение 14–18 дней. Оценка жизнеспособности клеток проводили с использованием витального красителя 7AAD каждые 7 дней. Анализ экспрессии поверхностных маркеров на проточном цитометре Image Stream MkII (Luminex) проводили на 0-й, 7-й и 14-й дни культивирования. Для изучения фенотипа применяли 7-цветную панель меченых антител к CD3/45/56/16/HLA-DR/CD38 (BD Bioscience, Biolegend). Статистическую обработку результатов проводили с использованием парного Т-теста Стьюдента на программном обеспечении MS Excel 2016, результат считался достоверным при $p < 0,05$. Данные приведены в процентах от живых лейкоцитов (CD45+ 7AAD-) в виде среднего арифметического.

РЕЗУЛЬТАТЫ. До начала культивирования фенотип лимфоцитов соответствовал референсным значениям, кроме популяции CD3-CD45+CD56+: у 30% пациентов данный показатель был больше нормы. Уровни маркеров HLA-DR и CD38 были менее 5%. На 7-й и 14-й дни культивирования достоверно увеличились уровни экспрессии таких маркеров, как CD56, и составили в среднем 69 и 69,3% по сравнению с 15% на 0-й день, а также CD16- 42% на 7-й день, 69% на 14-й день по сравнению с 12,6% на 0-й день. Экспрессия активационных маркеров CD38 и HLA-DR на клетках достоверно увеличилась в 15 раз по сравнению с 0 днем уже на 7-й день и осталась на этом же уровне до 14 дней. Содержание клеток в общей популяции с маркерами CD16, CD38 и HLA-DR на 14-й день было больше, чем содержание на 0-й и 7-й дни. Доля цитотоксических НК-клеток с фенотипом CD56DimCD16+ в общей популяции сохранилась по сравнению с 0 днем, но при этом на этих клетках достоверно увеличилась в несколько раз экспрессия CD38 и HLA-DR. Процентное содержание лимфоцитов с цитокин-продуцирующим фенотипом CD56 BrightCD16- увеличилось в 3 раза по сравнению с 0 днем. Содержание НКТ-клеток (CD3+CD56+) на 7-й день составило 3,9%, на 14-й — 5,7%. Жизнеспособность клеток на всех этапах культивирования была на уровне 96% и выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В процессе культивирования НК-клеток изменяется их фенотип в сторону активации. Применяемый метод культивации способствует дифференциации НК-клеток в фенотип CD3-CD45+CD56+CD38+HLA-DR+ с высокой способностью к цитотоксичности. Данную технологию можно применять для получения популяции активированных НК-клеток для проведения адоптивной иммунотерапии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: НК-клетки; адоптивная иммунотерапия; маркер; культивация; фенотип.

ЦИТИРОВАТЬ:

Журиков Р.В., Михайловский Н.В., Рыбачук В.А., Абакушина Е.В. Фенотип НК-клеток при генерации *in vitro* для адоптивной иммунотерапии // *Эндокринная хирургия*. — 2023. — Т. 17. — №4. — С. 39. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12862>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Zhurikov RV, Mikhailovsky NV, Rybachuk VA, Abakushina EV. Phenotype of NK cells during *in vitro* generation for adoptive immunotherapy. *Endocrine surgery*. 2023;17(4):39. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12862>

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

