

ФЕНОТИП НК-КЛЕТОК ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ IN VITRO В ПРИСУТСТВИИ ФИДЕРНЫХ КЛЕТОК



© В.А. Рыбачук^{1,2}, Н.В. Михайловский^{1,2}, Е.В. Абакушина^{1,2}, С.А. Румянцев²

¹ООО «Текон Медицинские приборы», Москва

²ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Современные подходы лечения онкологических больных, включают в себя методы иммунотерапии, основанные на адоптивном переносе больному аутологических или аллогенных клеточных препаратов на основе активированных Т-лимфоцитов или НК-клеток. Для эффективной активации и экспансии НК-клеток необходимо длительное культивирование, которое может включать ко-стимулирующие факторы (цитокины, антитела) и/или фидерные клетки. Целью данного исследования явилась оценка пролиферативной активности и иммунофенотипа НК-клеток здоровых доноров в процессе длительной экспансии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Мононуклеарные клетки выделяли из периферической крови 10 условно здоровых доноров по стандартной методике и кокультивировали с фидерными клетками линии TMDK-562-15 в течение 20 дней в полной питательной среде RPMI-1640 с добавлением ИЛ-2 (ронколейкин, «БИОТЕХ», Россия) во флаконах, в условиях CO₂-инкубатора при температуре 37°C. Подсчет клеток и жизнеспособность осуществляли на автоматическом анализаторе TC10 (BioRad, Сингапур) каждые 10 дней. Индекс пролиферации (ИП) определяли как отношение общего числа клеток на 20 день к количеству клеток до начала культивирования. Цитофлуориметрический анализ проводили на 0, 10 и 20 дни экспансии на проточном цитометре с визуализацией Image Stream MkII («Luminex», США). Применяли 6-цветную панель меченых антител к CD45/3/56/16 и маркерам активации CD38/HLA-DR («BD Biosciences», США). Статистический анализ осуществляли с помощью «MS Excel 2016».

РЕЗУЛЬТАТЫ. Средний ИП НК-клеток на 20 день культивирования составил 106. В процессе экспансии происходила перегруппировка основных популяций НК- и Т-клеток. На 20 день культивирования среднее содержание НК-клеток увеличилось в 11 раз до 86,7% (p<0,05), а Т-клеток снизилось в 6 раз до 12,8%. При этом более 70% НК-клеток имели фенотип CD56⁺CD16⁺, также наблюдалось увеличение экспрессии маркеров активации CD38⁺ и HLA-DR⁺ до 97,3% и 94,5% соответственно, что подтверждает процесс активации in vitro.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Показано, что длительное культивирование мононуклеарных клеток в присутствии цитокина и фидерных клеток позволяет многократно увеличить количество и долю активированных НК-клеток. Данную технологию можно использовать для производства клеточного продукта и получения CAR-NK-клеток.

ЦИТИРОВАТЬ:

Рыбачук В.А., Михайловский Н.В., Абакушина Е.В., Румянцев С.А. Фенотип НК-клеток после культивирования in vitro в присутствии фидерных клеток // *Эндокринная хирургия*. — 2023. — Т. 17. — №4. — С. 86. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12908>

TO CITE THIS ABSTRACT:

Rybachuk VA, Mikhailovsky NV, Abakushina EV, Rumyantsev SA. Phenotype of NK cells after in vitro cultivation in the presence of feeder cells. *Endocrine surgery*. 2023;17(4):86. doi: <https://doi.org/10.14341/serg12908>

