

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-4-163-171>

Функциональные особенности натуральных клеток-киллеров при остром миелоидном лейкозе

К.А. Никифорова, И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

Контакты: Ксения Александровна Никифорова nikiforovaksenya@gmail.com

Ключевым звеном врожденного иммунитета в борьбе с опухолями являются натуральные клетки-киллеры. Однако при остром миелоидном лейкозе отмечается снижение функциональной активности этих клеток. Их активность находится под постоянным контролем одного или нескольких ингибирующих рецепторов и зависит от баланса активации этих ингибирующих и стимуляции активирующих рецепторов. В настоящем обзоре рассмотрены ключевые ингибирующие и активирующие рецепторы натуральных клеток-киллеров и обобщены данные литературы, описывающие изменение их экспрессии у пациентов с острым миелоидным лейкозом.

Ключевые слова: натуральные клетки-киллеры, острый миелоидный лейкоз, проточная цитометрия, активирующий рецептор, ингибирующий рецептор

Для цитирования: Никифорова К.А., Гальцева И.В., Паровичникова Е.Н. Функциональные особенности натуральных клеток-киллеров при остром миелоидном лейкозе. Онкогематология 2023;18(4):163–71. DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-4-163-171>

Functional features of natural killer cells in acute myeloid leukemia

K.A. Nikiforova, I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova

National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Contacts: Ksenia Alexandrovna Nikiforova nikiforovaksenya@gmail.com

Natural killer cells are a key component of the innate immune system in the fight against tumors. However, in acute myeloid leukemia there is a decrease in the functional activity of these cells. Their activity is under constant control of one or more inhibitory receptors and depends on the balance of inhibitory receptors activation and activating receptors stimulation. This review examines the key inhibitory and activating receptors of natural killer cells and summarizes literature data describing changes in their expression in patients with acute myeloid leukemia.

Keywords: natural killer cells, acute myeloid leukemia, flow cytometry, activating receptor, inhibitory receptor

For citation: Nikiforova K.A., Galtseva I.V., Parovichnikova E.N. Functional features of natural killer cells in acute myeloid leukemia. Onkogematologiya = Oncohematology 2023;18(4):163–71. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2023-18-4-163-171>

Введение

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) — гетерогенная группа злокачественных новообразований системы крови, при которых нарушаются дифференцировка и пролиферация гемопоэтических стволовых клеток и/или клеток-предшественников в костном мозге (КМ).

Иммунный ответ на опухолевые клетки представлен реакциями как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Ключевым звеном врожденного иммунитета в борьбе с опухолями являются натуральные клетки-киллеры (НК). НК могут оказывать прямое противо-

опухолевое действие за счет своих цитотоксических и иммунорегуляторных способностей, а также косвенным образом контролировать рост опухоли через взаимодействие с другими иммунными клетками, в том числе при гематологических заболеваниях, таких как ОМЛ [1]. Однако НК при ОМЛ малоэффективны, и даже после элиминации большого числа опухолевых клеток отмечается снижение функциональной активности НК. Ингибирование функций НК при ОМЛ определяет различные механизмы, включая сниженную экспрессию активирующих рецепторов вследствие

постоянных межклеточных контактов с опухолевыми клетками и продукцию растворимых иммуносупрессивных молекул лейкоэмическими клетками. Непрерывный перекрестный контакт между субстратом ОМЛ и НК способствует ускользанию опухолевых клеток от иммунного надзора и в конечном итоге рецидиву заболевания.

Понимание путей, которыми опухолевые клетки при ОМЛ уходят из-под надзора клеток врожденного иммунитета, поможет сформировать новые иммуно-терапевтические стратегии, основанные на восстановлении функций НК для лечения ОМЛ.

Созревание натуральных клеток-киллеров и их иммунофенотипическая характеристика

Дифференцировка НК представляет собой линейный процесс превращения функционально субоптимальных и высокопролиферативных незрелых клеток в популяцию лимфоцитов с крупной зернистостью и выраженными эффекторными функциями [2, 3].

Точная схема онтогенеза НК на данный момент не установлена. Наиболее вероятно, что первоначаль-

но созревание НК происходит в КМ, но окончательная дифференцировка может осуществляться как в КМ, так и во вторичных лимфоидных органах [4, 5]. Все этапы развития НК охарактеризованы в основном в КМ. Но важно отметить, что, попадая в ткани, предшественники НК вполне вероятно могут развиваться особым путем, т.е. подвергаться «периферическому онтогенезу».

Наиболее распространены 2 схемы стадирования дифференцировки НК: первая наиболее приближена к развитию НК у мышей, а вторая включает большее количество промежуточных стадий в линейном развитии (рис. 1).

У человека зрелые НК составляют 10–15 % всех лимфоцитов периферической крови и определяются по поверхностной экспрессии CD56 и CD16 и отсутствию экспрессии CD3 [6].

CD16 (FcγRIII) – трансмембранный рецептор 1-го типа, содержащий 2 внеклеточных иммуноглобулиноподобных домена. Лигирование этого рецептора необходимо для активации дегрануляции НК. Лигандом к CD16 является Fc-фрагмент антитела, связанного

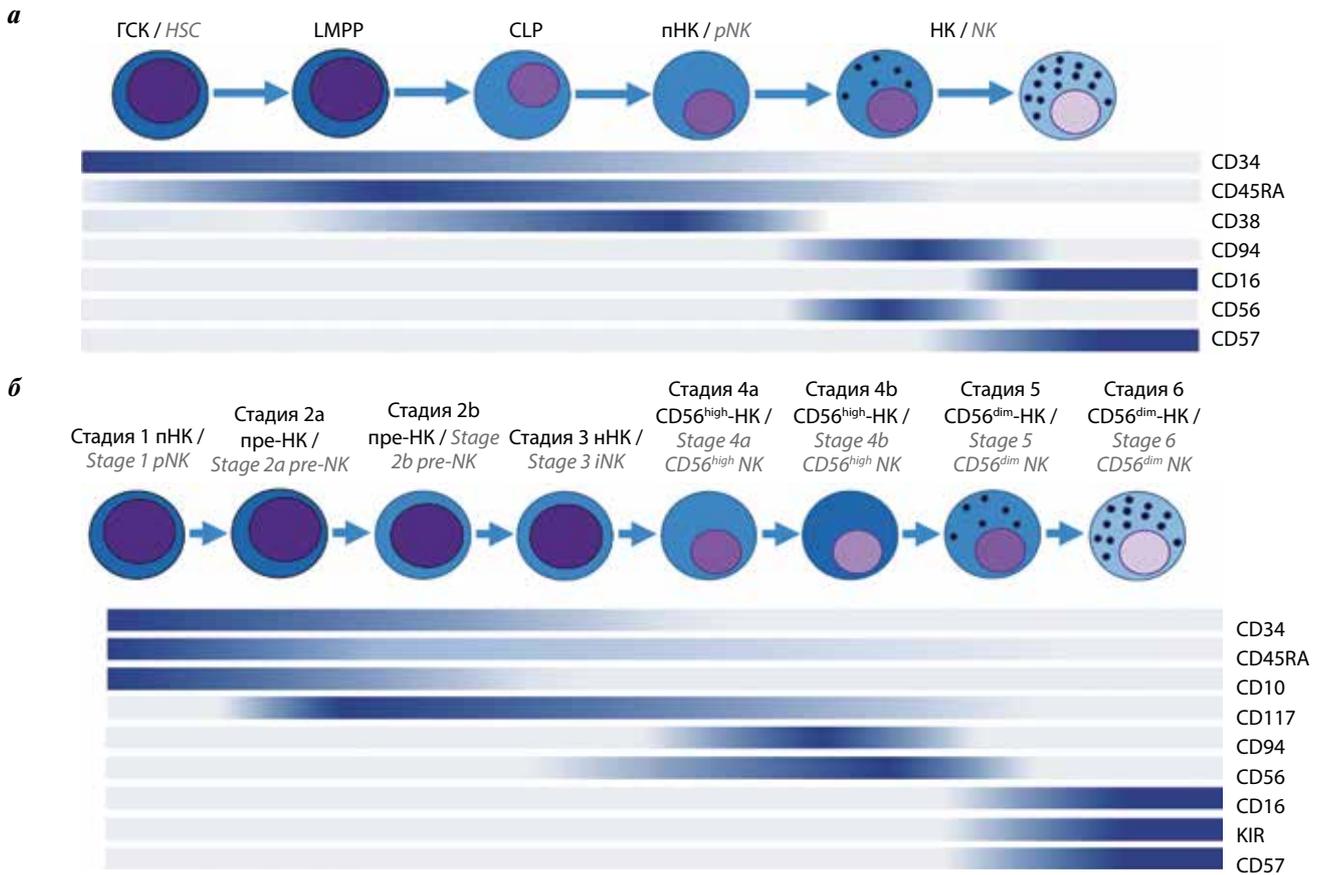


Рис. 1. Схемы развития натуральных клеток-киллеров (НК) у человека: а – упрощенная схема онтогенеза НК, составленная по аналогии со стадированием развития НК у мышей; б – линейная схема развития НК на основании приобретения функциональной активности. ГСК – гемопоэтическая стволовая клетка; LMPP – плюрипотентный предшественник, коммитированный в сторону лимфоидной линии; CLP – общий лимфоидный предшественник; pНК – предшественник НК; iНК – незрелые НК

Fig. 1. Patterns of natural killer (NK) cell development in humans: а – a simplified scheme of NK ontogeny (by analogy with the staging of NK development in mice); б – a linear scheme of NK development based on the acquisition of functional activity. HSC – hematopoietic stem cell; LMPP – lymphoid multipotent primed progenitor; CLP – common lymphoid progenitors; pNK – precursor of NK; iNK – immature NK

с клеткой-мишенью, что обеспечивает способность НК к антителозависимой клеточной цитотоксичности [7]. Человеческий CD16 оказывает сильную активирующую передачу сигналов и считается единственным активирующим рецептором, который может запускать дегрануляцию НК без другого костимулирующего сигнала [4].

CD56, также известный как NCAM1 (neural cell adhesion molecule 1, молекула адгезии нервных клеток) — член семейства иммуноглобулинов и семейства молекул клеточной адгезии. Как ясно из названия, впервые он был обнаружен на нейронах, но также широко экспрессируется на дендритных клетках, $\gamma\delta$ -Т-клетках и НК [8]. Функциональное значение CD56 еще недостаточно исследовано. Предполагают, что CD56 распознает патогенетические паттерны *Aspergillus fumigatus* [9], участвует в образовании иммунологического синапса НК с другими клетками [10], выступает в качестве коактивирующей молекулы при индукции дегрануляции и секреции интерферона γ (ИНФ- γ) [11].

Еще один маркер, отражающий функциональную зрелость НК, — CD57. Это углеводный эпитоп, продукт работы β -1,3-глюкурозилтрансферазы. Экспрессия CD57 связана с приобретением высокого цитотоксического потенциала и снижением способности к пролиферации [12, 13], большей чувствительностью к передаче сигналов через CD16 и рецепторы естественной цитотоксичности (natural cytotoxicity receptors, NCR), снижением чувствительности к цитокинам.

На основании экспрессии CD56, CD16 и CD57 выделяют 3 различные популяции НК. CD56^{dim}CD16^{high}CD57⁺ являются зрелыми клетками, составляют большую часть (порядка 90 %) популяции НК и обладают выраженными цитотоксическими свойствами, могут продуцировать значительное количество цитокинов, таких как ИНФ- γ и фактор некроза опухоли α (ФНО- α), после стимуляции чувствительной мишенью (рис. 2).

Вторая группа CD56^{high}CD16^{dim/-}CD57⁻ представляет незрелую популяцию НК. Они содержат меньше внутриклеточных цитолитических везикул с перфорином и гранзимом, но могут секретировать большое количество цитокинов в условиях воспаления (см. рис. 2).

Третья группа CD56⁻CD16⁺ представляет минорную популяцию НК [6]. Впервые эта субпопуляция была описана у пациентов с вирусом иммунодефицита человека, но также ее обнаруживают при некоторых вирусных (герпес-вирусах человека 4-го и 8-го типов, вирусе гепатита В), аутоиммунных заболеваниях и у лиц старшей возрастной группы. В периферической крови здоровых людей CD56⁻CD16⁺-клетки могут встречаться, но редко и в чрезвычайно небольшом количестве [14–16].

Состав субпопуляции НК претерпевает возрастные изменения. У пожилых людей в периферической крови снижается количество менее зрелых CD56^{high}-НК и накапливаются высокодифференцированные CD56^{dim}-НК [17–19].

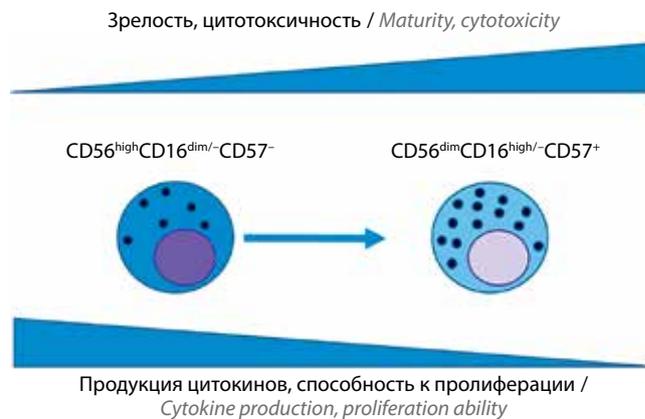


Рис. 2. Функциональная зрелость основных субпопуляций натуральных клеток-киллеров

Fig. 2. Functional maturity of main natural killer cell subpopulations

Обычно ОМЛ заболевают пациенты среднего и пожилого возраста, и понимание возрастных изменений в компартменте НК может быть полезным для определения адекватных терапевтических воздействий у пациентов этой когорты. Имеются противоречивые сведения об изменении количества НК в периферической крови у пациентов с ОМЛ по сравнению с донорами того же возраста. С. Fauriat и соавт. не зафиксировали никаких изменений в количестве НК [20], а другие исследователи обнаружили снижение абсолютного и относительного содержания циркулирующих НК у пациентов с ОМЛ по сравнению со здоровыми донорами [21, 22]. А. S. Chretien и соавт., а также J. Rey и соавт. показали, что в периферической крови пациентов с ОМЛ увеличена доля фенотипически более зрелых НК по сравнению с донорами того же возраста [23, 24]. В то же время N. Aggarwal и соавт. сообщили противоположные данные, указывая, что доля зрелых НК при ОМЛ снижается [25].

Имеются также данные об изменении количества циркулирующих НК разных субпопуляций в течение терапии ОМЛ. Известно, что после индукции и достижения полной ремиссии общее количество CD56^{high}CD16^{dim/-}-НК постепенно увеличивается [24]. А. S. Chretien и соавт. было показано, что доля зрелых НК до лечения коррелирует с показателями общей выживаемости (ОВ) и безрецидивной выживаемости (БРВ). Так, пациенты, у которых преобладали незрелые формы НК, имели меньшую ОВ и БРВ независимо от других факторов [12].

Ингибирующие и активирующие рецепторы натуральных клеток-киллеров

Активность НК находится под постоянным контролем нескольких ингибирующих рецепторов, которые распознают молекулы человеческих лейкоцитарных антигенов (human leukocyte antigens, HLA) класса I на клетках (так называемая теория missing self). Обычно считается, что для активации НК требуется более 1 активирующего сигнала, причем 2-й костимулирующий сигнал часто возникает в результате лигирования интегрина.

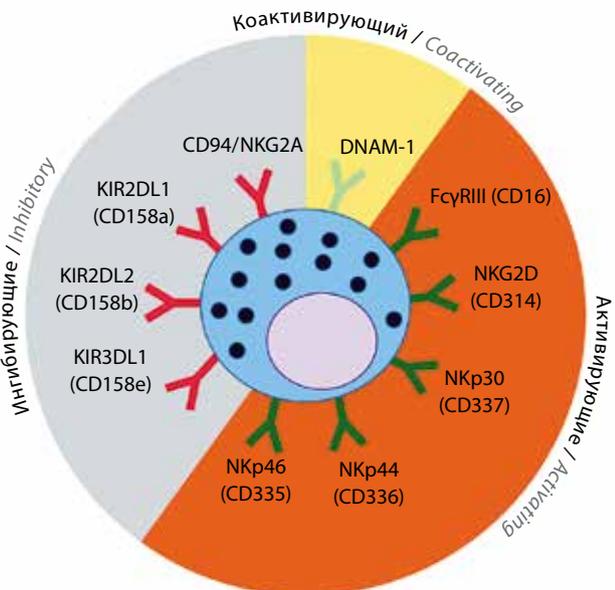


Рис. 3. Рецепторы натуральных клеток-киллеров
Fig. 3. Natural killer cell receptors

Ингибирующие рецепторы включают иммуноглобулиноподобные рецепторы клеток-киллеров (killer cell immunoglobulin-like receptor, KIR), лейкоцитарные иммуноглобулиноподобные рецепторы и С-типа лектиноподобные гликопротеины. В физиологических условиях нормальные клетки защищены от лизиса НК, поскольку они экспрессируют достаточное количество молекул HLA класса I для ингибирования цитотоксичности НК. Для осуществления своих эффекторных функций НК нуждаются в специфических активирующих сигналах, которые опосредованы широким спектром рецепторов, включая членов семейства С-лектиноподобных рецепторов, в частности NKG2D, членов семейства иммуноглобулинов, например NCR, и коактивирующим рецептором DNAM-1 (CD226, который способствует цитотоксичности и секреции цитокинов НК). Другими активирующими рецепторами являются CD244 (2B4) и активирующие формы KIR и CD94/NKG2C. Будут НК активированы и способны к цитотоксическому ответу или ингибированы и проигнорируют мишень, зависит от баланса в стимуляции активирующих и ингибирующих рецепторов. Все рецепторы, которые будут описаны в этом обзоре, представлены на рис. 3.

Ингибирующие рецепторы натуральных клеток-киллеров

Ингибирующие иммуноглобулиноподобные рецепторы клеток-киллеров

Имуноглобулиноподобные рецепторы клеток-киллеров кодируются 14 генами и 2 псевдогенами, сгруппированными на хромосоме 19. Они представляют собой рецепторы, связывающие HLA класса I, и являются 2-м наиболее полиморфным семейством генов в геноме человека после HLA. Название KIR

отличается в зависимости от относительной длины их цитоплазматического хвоста, где “S” обозначает короткий хвост, который обычно выполняет активирующую функцию, а “L” — длинный хвост, обычно выполняющий ингибирующую роль. Основными ингибирующими рецепторами НК являются KIR, такие как CD158a (KIR2DL1), CD158b (KIR2DL2/DL3) и CD158e (KIR3DL1).

Анализ фенотипа KIR у пациентов с лейкозами показал, что при ОМЛ чаще встречаются некоторые ингибирующие KIR по сравнению с контрольной группой, что подтверждает гипотезу о том, что лейкоэмические клетки развивают механизм ухода от иммунного надзора [26–28]. Экспрессия молекул HLA класса I на лейкоэмических клетках может защитить их от лизиса, опосредованного НК, и объяснить, почему несовместимость между антигенами HLA класса I реципиента и репертуаром KIR, экспрессируемым донорскими НК, обеспечивает положительный противоопухолевый эффект при аллогенных трансплантациях у пациентов с ОМЛ [29–31]. В условиях несовпадения между донорскими KIR и антигенными лигандами реципиента риск рецидива у таких пациентов после гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток снижается [29, 31, 32].

CD94/NKG2A

CD94/NKG2 представляет собой гетеродимер, экспрессируемый на НК и некоторых субпопуляциях Т-клеток. Этот рецептор различается по функциям и может как ингибировать, так и активировать рецептор в зависимости от того, какая изоформа NKG2 димеризуется. Гетеродимер CD94/NKG2A представляет собой ингибирующий рецептор, который экспрессируется на большинстве человеческих НК. CD94 также может образовывать активирующие рецепторы в паре с NKG2C или NKG2E. Были идентифицированы функциональные изоформы NKG2A и NKG2E, известные как NKG2B (ингибирующая) и NKG2H (активирующая) соответственно, которые генерируются в результате альтернативного сплайсинга. Связывание CD94/NKG2A с лигандом может привести к полному блокированию цитотоксичности НК. Лигандом для CD94/NKG2A у человека является широко распространенный на нормальных клетках HLA-E [33, 34].

Поскольку во многих исследованиях была отмечена экспрессия CD94/NKG2A на НК пациентов, перенесших трансплантацию КМ, разумно предположить, что этот рецептор также может играть роль в исходе трансплантации. В исследовании S. Nguyen и соавт. у 10 пациентов после гаплоидентичной трансплантации стволовых клеток не наблюдалась реакция «трансплантат против опухоли», несмотря на несоответствие KIR и лиганда. НК у этих пациентов после трансплантации имели фенотип с повышенной экспрессией рецепторов CD94/NKG2A. *In vitro* эти клетки показали сниженную цитотоксическую активность в отношении

опухолевых клеток ОМЛ, что коррелировало с более высокой экспрессией CD94/NKG2A [34]. Следовательно, НК после трансплантации гаплонесовместимых стволовых клеток могут быть заблокированы в незрелом состоянии, характеризующимся экспрессией CD94/NKG2A, что может привести к нарушению их функциональных возможностей. Сравнение иммунофенотипа НК в образцах периферической крови пациентов с ОМЛ в дебюте заболевания и здоровых доноров соответствующей возрастной группы показало, что частота встречаемости экспрессирующих NKG2A НК была значительно выше у пациентов с ОМЛ на момент установления диагноза. К. Stringaris и соавт. также отметили, что у пациентов, у которых в дебюте заболевания наблюдалась высокая экспрессия NKG2A на НК периферической крови, была нарушена продукция ФНО- α и они имели значительно меньшую вероятность ответа на индукционную терапию по сравнению с теми, у кого была более низкая экспрессия NKG2A [35]. Однако в исследовании J. Rey и соавт. не выявлено изменений экспрессии NKG2A в ходе лечения по сравнению с уровнем экспрессии в дебюте заболевания [24].

Активирующие рецепторы натуральных клеток-киллеров NKG2D

NKG2D человека представляет собой трансмембранный гликопротеин 2-го типа, содержащий С-типа лектиноподобные рецепторные домены. NKG2D является активирующим рецептором и экспрессируется на НК, Т-цитотоксических лимфоцитах, $\gamma\delta$ -Т-клетках. Активирование NKG2D вызывает дегрануляцию и продукцию цитокинов.

Активация NKG2D способствует лизису клеток-мишеней и высвобождению цитокинов даже в присутствии ингибирующих сигналов, опосредованных МНС-специфическими рецепторами (МНС – major histocompatibility complex, главный комплекс гистосовместимости) [36]. NKG2D связывается с несколькими различными лигандами, которые кодируются отдельными генами в собственном геноме владельца, т.е. лиганды представляют собой собственные белки, а не чужеродные антигены. Лиганды для NKG2D слабо или совсем не экспрессируются большинством нормальных клеток, но начинают экспрессироваться в раковых клетках и клетках, инфицированных вирусом, как, например, стресс-индуцируемые молекулы белки А и В, родственные цепи МНС класса I (МНС class I chain-related protein, МIС-А и -В), и UL16-связывающий белок (ULBP). Ранние НК плохо стимулируются при активации только через NKG2D и им нужны дополнительные активирующие сигналы, например такие, которые активизируются при стимуляции 2B4 – рецептора семейства сигнальных лимфоцитарных молекул активации (SLAM). Для более зрелых НК для активации может быть достаточно только сигнала от NKG2D [37].

Данные об изменении экспрессии NKG2D на циркулирующих НК у пациентов с ОМЛ противоречивы. Сообщалось как о снижении экспрессии [21], так и об отсутствии существенных различий в экспрессии NKG2D у пациентов с ОМЛ и доноров [35].

Рецепторы естественной цитотоксичности

Рецепторы естественной цитотоксичности представляют собой трансмембранные гликопротеины 1-го типа, которые принадлежат к семейству иммуноглобулинов и включают NKp30, NKp46 и NKp44. NCR играют решающую роль в НК-опосредованном распознавании и уничтожении большинства клеток-мишеней, поскольку опосредованное моноклональными антителами нарушение взаимодействий NCR/лиганд(ы) может блокировать НК-опосредованное уничтожение трансформированных опухолью аутологичных, аллогенных или (в случае NKp46) ксеногенных клеток.

Лигандом к NKp44 является ядерный антиген пролиферирующих клеток (PCNA), а лигандами к NKp30 – HLA-B-ассоциированный транскрипт 3 (BAT3), В7-Н6 и тегументный белок цитомегаловируса pp65. Характер лигандов позволяет предположить, что NCR представляют собой класс направленных на распознавание связанных с повреждением молекулярных паттернов, вызванных клеточным стрессом [38, 39].

Известно, что НК периферической крови большинства здоровых доноров демонстрируют иммунофенотип с яркой экспрессией NKp46 и NKp30, в то время как НК периферической крови пациентов с ОМЛ имеют иммунофенотип со сниженной экспрессией одной или нескольких из этих молекул [21, 35, 40–44]. У пациентов, достигших полной ремиссии, доля НК, экспрессирующих NCR, в крови восстанавливается, что косвенным образом указывает на супрессивное действие опухолевых клеток в отношении НК [20, 44].

Показано, что у пациентов с ОМЛ и низкой плотностью экспрессии NCR (NKp30 и NKp46) регистрируется меньшая 5-летняя выживаемость [20]. Вероятно, снижение экспрессии NCR опосредуется лейкоэмическими клетками, что доказывают эксперименты совместного культивирования НК и опухолевых клеток *in vitro* [20, 40, 41].

Высокая плотность экспрессии NKp30 на момент установления диагноза является предиктором лучшей ОВ и БРВ у пациентов с ОМЛ группы промежуточного риска [45], а высокая плотность экспрессии NKp46 в дебюте ОМЛ определялась у пациентов с большей выживаемостью без прогрессии после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток [46]. NKp30 и NKp46 могут восстанавливаться на поверхности циркулирующих НК в процессе лечения [24]. В. Sanchez-Correa и соавт. выявили сниженную экспрессию NKp30 и NKp46 на НК у пациентов с ОМЛ моложе 65 лет в дебюте заболевания по сравнению со здоровыми донорами того же возраста [47]. Такие же

результаты были получены J. Rey и соавт. [24]. В то же время В. Sanchez-Correa и соавт. обнаружили у пожилых пациентов с ОМЛ снижение экспрессии NKp46, но не NKp30 [47].

Коактивирующий рецептор натуральных клеток-киллеров DNAM-1

Вспомогательная молекула 1 DNAX, или DNAM-1 (DNAX accessory molecule-1), также называемая CD226, представляет собой трансмембранный гликопротеин 1-го типа, принадлежащий к семейству иммуноглобулинов. У людей DNAM-1 экспрессируется на НК, Т-клетках, моноцитах, В-клетках и тромбоцитах. Стимуляция DNAM-1 при взаимодействии с лигандами CD155 (рецептор полиовируса) и CD112 (нектин 2) приводит к активации НК и лизису клеток-мишеней. Оба лиганда могут экспрессироваться в различных опухолевых клетках, и было высказано предположение, что их экспрессия регулируется клеточным стрессом [48, 49]. Активации DNAM-1 недостаточно для смещения функциональной активности НК в пользу цитотоксической активности. НК требуется синергичный сигнал от нескольких рецепторов для активации (например, CD96, TIGIT, CRTAM), поэтому DNAM-1 относят к костимулирующим рецепторам НК.

В ряде исследований было показано снижение экспрессии DNAM-1 на циркулирующих НК при установлении диагноза ОМЛ [24, 40, 44]. На НК у пациентов с ОМЛ моложе 65 лет экспрессия DNAM-1 была ниже, чем на НК здоровых доноров, что коррелирует с экспрессией CD112 на лейкоэмических клетках. Кроме этого, после совместного культивирования *in vitro* НК доноров с лейкоэмическими бластными клетками, экспрессирующими лиганды DNAM-1, отмечалось подавление экспрессии DNAM-1 на НК [50]. После индукционной химиотерапии (режим 7 + 3) и консолидирующей терапии экспрессия DNAM-1 полностью восстанавливалась [24]. Также показано снижение DNAM-1 у пожилых людей [50].

Механизмы снижения активности натуральных клеток-киллеров, реализуемые опухолевыми клетками

Лизис, опосредованный НК, неэффективен в отношении аутологичных опухолевых клеток при ОМЛ вследствие реализации механизмов, способствующих ускользанию бластных клеток от НК. Эти механизмы включают не только подавление рецепторов, активирующих НК, но также и потерю лигандов для активации рецепторов и повышенную экспрессию лигандов к ингибирующим рецепторам НК на опухолевых клетках.

Вероятно, снижение экспрессии активирующих рецепторов, ведущее к клеточной дисфункции, является следствием постоянного контакта рецептора НК с лигандами на лейкоэмических клетках. В эксперименте J.A. Myers и соавт. постоянная стимуляция агонис-

тами активирующих рецепторов NKp46 и NKG2D приводила к снижению выработки НК ИНФ- γ и ФНО- α , уменьшению дегрануляции и экспрессии CD56 [51]. В. Sanchez-Correa и соавт. показали, что экспрессия CD112 на лейкоэмических клетках коррелирует с потерей экспрессии DNAM-1 на НК [47].

Также лейкоэмические клетки способствуют нарушению опосредованного НК уничтожения за счет снижения или отсутствия экспрессии поверхностных лигандов для рецепторов, активирующих НК, включая NCR и NKG2D [41, 52–55]. Наличие лигандов к активирующим рецепторам НК (в частности ULBP1) на мембране опухолевых клеток у пациентов с ОМЛ в момент установления диагноза была связана с лучшими показателями 2-летней ОБ, БРВ и уменьшением числа рецидивов [56].

Несмотря на то что в нормальных условиях плотность экспрессии NCR на НК коррелирует с НК-опосредованной цитолитической активностью [42], у пациентов с ОМЛ НК с высокой экспрессией NCR обладают слабой цитолитической активностью против аутологичных опухолевых клеток, но эффективны против аллогенных опухолевых клеток [40]. Следовательно, эффект подавления эффекторных функций врожденного иммунитета более сложен, нежели просто снижение плотности экспрессии рецепторов, отвечающих за цитотоксичность. Неспособность НК даже при наличии высокой плотности NCR уничтожать опухолевые клетки может быть связана с недостаточной экспрессией лигандов NCR на лейкоэмических клетках [40].

Заключение

Натуральные клетки-киллеры являются клетками врожденного иммунитета и обладают способностью секретировать цитокины без предварительной презентации антигена путем цитотоксического лизиса. Функции НК регулируются активирующими и ингибирующими рецепторами, и баланс в стимуляции этих рецепторов определяет, будет ли клетка-мишень, презентующая лиганды к этим рецепторам, убита или нет. Изучение функциональных особенностей НК может помочь в понимании патогенеза опухолевой прогрессии у пациентов с ОМЛ. Развитие ОМЛ еще на ранних этапах, вероятно, приводит к дисфункции НК и подавлению неспецифического ответа иммунной системы против опухоли. Уточнение механизма уклонения лейкоэмических клеток от иммунного контроля, возможно, определит способы преодоления подавления адаптивного иммунного ответа.

Участие НК в противоопухолевом ответе у пациентов с ОМЛ доказывают исследования адоптивного переноса НК в опухолевый субстрат [57–59], в которых был показан положительный эффект НК в терапии острого лейкоза. Однако продолжительность жизни аутологичных или гаплоидентичных НК составляет не более нескольких недель. Применение CAR-НК,

вероятно, продлит цитотоксический эффект трансплантата и, кроме того, повысит у трансплантируемых клеток эффективность направленного на опухоль цитотоксического действия. CAR-НК реже вызывают тяжелый синдром высвобождения цитокинов и реакцию «трансплантат против хозяина», менее нейротоксичны по сравнению с CAR-T [60]. Кроме этого, использование CAR-НК поможет преодолеть проблему высокой гетерогенности опухолевых клеток, поскольку активация НК будет происходить не только через химерный рецептор, направленный против определенного антигена, но и посредством множества других активирующих рецепторов НК (NKp46, NKp44 и NKp30, NKG2D и DNAM-1). Еще одним преимуществом является возможность получения CAR-НК из различных источников (пуповинная кровь, периферическая кровь донора/пациента, клеточные линии), что расширяет возможность использования такой терапии для пациентов, у которых невозможно достичь достаточной концентрации Т-клеток для проведения процедуры модификации аутологических лимфоцитов.

В последние годы уже получены результаты использования НК с химерным рецептором для терапии

онкогематологических заболеваний. Впечатляющий результат анти-CD19-CAR-НК продемонстрирован при лечении хронического лимфоцитарного лейкоза и других В-клеточных лимфом. Из 11 пациентов 8 (73 %) достигли ответа, 7 из которых – полной ремиссии, а у 1 пациента была предотвращена трансформация в синдром Рихтера. При этом ни у одного пациента не развился синдром высвобождения цитокинов, не зафиксировано симптомов нейротоксичности или реакции «трансплантат против хозяина» в течение терапии. Последний факт особенно значим, так как НК были частично совместимые по HLA-генотипу [60]. В 2014 г. были испытаны CAR-НК против белка CS1 [61] на мышинной модели множественной миеломы. Однако в случае лечения ОМЛ как CAR-T, так и при использовании CAR-НК результаты были хуже по сравнению с другими новообразованиями, что, безусловно, связано с высокой гетерогенностью миелоидных опухолевых клеток. Возможно, более глубокое изучение заболевания ОМЛ и различных звеньев иммунитета и противоопухолевой активности врожденного иммунитета поможет нам лучше разобраться в этом вопросе и предложить новые подходы к терапии ОМЛ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Costello R.T., Fauriat C., Sivori S. et al. NK cells: innate immunity against hematological malignancies? *Trends Immunol* 2004;25(6):328–33. DOI: 10.1016/j.it.2004.04.005
- Abel A.M., Yang C., Thakar M.S. et al. Natural killer cells: development, maturation, and clinical utilization. *Front Immunol* 2018;9:1869. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01869
- Crinier A., Dumas P.Y., Escalière B. et al. Single-cell profiling reveals the trajectories of natural killer cell differentiation in bone marrow and a stress signature induced by acute myeloid leukemia. *Cell Mol Immunol* 2021;18(5):1290–304. DOI: 10.1038/s41423-020-00574-8
- Mace E.M. Human natural killer cells: form, function, and development. *J Allergy Clin Immunol* 2023;151(2):371–85. DOI: 10.1016/j.jaci.2022.09.022
- Freud A.G., Yokohama A., Becknell B. et al. Evidence for discrete stages of human natural killer cell differentiation *in vivo*. *J Exp Med* 2006;203(4):1033–43. DOI: 10.1084/jem.20052507
- Farag S.S., Caligiuri M.A. Human natural killer cell development and biology. *Blood Rev* 2006;20(3):123–37. DOI: 10.1016/j.blre.2005.10.001
- Srpan K., Ambrose A., Karampatzakis A. et al. Shedding of CD16 disassembles the NK cell immune synapse and boosts serial engagement of target cells. *J Cell Biol* 2018;217(9):3267–83. DOI: 10.1083/jcb.201712085
- Van Acker H.H., Capsomidis A., Smits E.L. et al. CD56 in the immune system: more than a marker for cytotoxicity? *Front Immunol* 2017;8:892. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00892
- Ziegler S., Weiss E., Schmitt A.L. et al. CD56 is a pathogen recognition receptor on human natural killer cells. *Sci Rep* 2017;7(1):6138. DOI: 10.1038/s41598-017-06238-4
- Gunesch J.T., Dixon A.L., Ebrahim T.A. et al. CD56 regulates human NK cell cytotoxicity through Pyk2. *Elife* 2020;9:e57346. DOI: 10.7554/eLife.57346
- Picard L.K., Claus M., Fasbender F. et al. Human NK cells responses are enhanced by CD56 engagement. *Eur J Immunol* 2022;52(9):1441–51. DOI: 10.1002/eji.202249868
- Chretien A.S., Fauriat C., Orlanducci F. et al. Natural killer defective maturation is associated with adverse clinical outcome in patients with acute myeloid leukemia. *Front Immunol* 2017;8:573. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00573
- Wilk A.J., Blish C.A. Diversification of human NK cells: lessons from deep profiling. *J Leukoc Biol* 2018;103(4):629–41. DOI: 10.1002/JLB.6RI0917-390R
- Müller-Durovic B., Grählert J., Devine O.P. et al. CD56-negative NK cells with impaired effector function expand in CMV and EBV co-infected healthy donors with age. *Aging (Albany NY)* 2019;11(2):724–40. DOI: 10.18632/aging.101774
- Mavilio D., Lombardo G., Benjamin J. et al. Characterization of CD56-/CD16+ natural killer (NK) cells: a highly dysfunctional NK subset expanded in HIV-infected viremic individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(8):2886–91. DOI: 10.1073/pnas.0409872102
- Caduff N., McHugh D., Rieble L. et al. KSHV infection drives poorly cytotoxic CD56-negative natural killer cell differentiation *in vivo* upon KSHV/EBV dual infection. *Cell Rep* 2021;35(5):109056. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109056
- Gayoso I., Sanchez-Correa B., Campos C. et al. Immunosenescence of human natural killer cells. *J Innate Immun* 2011;3(4):337–43. DOI: 10.1159/000328005
- Campos C., Pera A., Sanchez-Correa B. et al. Effect of age and CMV on NK cell subpopulations. *Exp Gerontol* 2014;54:130–7. DOI: 10.1016/j.exger.2014.01.008
- Hazeldine J., Lord J.M. The impact of ageing on natural killer cell function and potential consequences for health in older adults. *Ageing Res Rev* 2013;12(4):1069–78. DOI: 10.1016/j.arr.2013.04.003

20. Fauriat C., Just-Landi S., Mallet F. et al. Deficient expression of NCR in NK cells from acute myeloid leukemia: evolution during leukemia treatment and impact of leukemia cells in NCRdull phenotype induction. *Blood* 2007;109(1):323–30. DOI: 10.1182/blood-2005-08-027979
21. Szczepanski M.J., Szajnik M., Welsh A. et al. Interleukin-15 enhances natural killer cell cytotoxicity in patients with acute myeloid leukemia by upregulating the activating NK cell receptors. *Cancer Immunol Immunother* 2010;59(1):73–9. DOI: 10.1007/s00262-009-0724-5
22. Lichtenegger F.S., Lorenz R., Gellhaus K. et al. Impaired NK cells and increased T regulatory cell numbers during cytotoxic maintenance therapy in AML. *Leuk Res* 2014;38(8):964–9. DOI: 10.1016/j.leukres.2014.05.014
23. Chretien A.S., Granjeaud S., Gondois-Rey F. et al. Increased NK cell maturation in patients with acute myeloid leukemia. *Front Immunol* 2015;6:564. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00564
24. Rey J., Fauriat C., Kochbati E. et al. Kinetics of cytotoxic lymphocytes reconstitution after induction chemotherapy in elderly AML patients reveals progressive recovery of normal phenotypic and functional features in NK cells. *Front Immunol* 2017;8:64. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00064
25. Aggarwal N., Swerdlow S.H., TenEyck S.P. et al. Natural killer cell (NK) subsets and NK-like T-cell populations in acute myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes. *Cytometry B Clin Cytom* 2016;90(4):349–57. DOI: 10.1002/cyto.b.21349
26. Sanchez C.J., Le Treut T., Boehrer A. et al. Natural killer cells and malignant haemopathies: a model for the interaction of cancer with innate immunity. *Cancer Immunol Immunother* 2011;60(1):1–13. DOI: 10.1007/s00262-010-0898-x
27. Verheyden S., Bernier M., Demanet C. Identification of natural killer cell receptor phenotypes associated with leukemia. *Leukemia* 2004;18(12):2002–7. DOI: 10.1038/sj.leu.2403525
28. Verheyden S., Demanet C. Susceptibility to myeloid and lymphoid leukemia is mediated by distinct inhibitory KIR-HLA ligand interactions. *Leukemia* 2006;20(8):1437–8. DOI: 10.1038/sj.leu.2404279
29. Ruggeri L., Mancusi A., Capanni M. et al. Donor natural killer cell allorecognition of missing self in haploidentical hematopoietic transplantation for acute myeloid leukemia: challenging its predictive value. *Blood* 2007;110(1):433–40. DOI: 10.1182/blood-2006-07-038687
30. Curti A., Ruggeri L., D'Addio A. et al. Successful transfer of alloreactive haploidentical KIR ligand-mismatched natural killer cells after infusion in elderly high risk acute myeloid leukemia patients. *Blood* 2011;118(12):3273–9. DOI: 10.1182/blood-2011-01-329508
31. Конова З.В., Паровичникова Е.Н., Гальцева И.В. и др. Влияние генов киллерных иммуноглобулинподобных рецепторов натуральных киллерных клеток и их HLA-лигандов на результаты трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология* 2022;67(4):551–69. DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-4-551-569
Konova Z.V., Parovichnikova E.N., Galtseva I.V. et al. Influence of killer immunoglobulin-like receptor genes of natural killer cells and their HLA ligands on the results of allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology* 2022;67(4):551–69. (In Russ.). DOI: 10.35754/0234-5730-2022-67-4-551-569
32. Ruggeri L., Mancusi A., Capanni M. et al. Exploitation of alloreactive NK cells in adoptive immunotherapy of cancer. *Curr Opin Immunol* 2005;17(2):211–7. DOI: 10.1016/j.coi.2005.01.007
33. Borrego F., Masilamani M., Marusina A.I. et al. The CD94/ NKG2 family of receptors: from molecules and cells to clinical relevance. *Immunol Res* 2006;35(3):263–78. DOI: 10.1385/IR:35:3:263
34. Nguyen S., Dhedin N., Vernant J.P. et al. NK-cell reconstitution after haploidentical hematopoietic stem-cell transplantations: immaturity of NK cells and inhibitory effect of NKG2A override GvL effect. *Blood* 2005;105(10):4135–42. DOI: 10.1182/blood-2004-10-4113
35. Stringaris K., Sekine T., Khoder A. et al. Leukemia-induced phenotypic and functional defects in natural killer cells predict failure to achieve remission in acute myeloid leukemia. *Haematologica* 2014;99(5):836–47. DOI: 10.3324/haematol.2013.087536
36. Wu Z., Zhang H., Wu M. et al. Targeting the NKG2D/NKG2D-L axis in acute myeloid leukemia. *Biomed Pharmacother* 2021;137:111299. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111299
37. Raulet D.H., Gasser S., Gowen B.G. et al. Regulation of ligands for the NKG2D activating receptor. *Annu Rev Immunol* 2013;31:413–41. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-095951
38. Horton N.C., Mathew P.A. NKp44 and natural cytotoxicity receptors as damage-associated molecular pattern recognition receptors. *Front Immunol* 2015;6:31. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00031
39. Koch J., Steinle A., Watzl C. et al. Activating natural cytotoxicity receptors of natural killer cells in cancer and infection. *Trends Immunol* 2013;34(4):182–91. DOI: 10.1016/j.it.2013.01.003
40. Costello R.T., Sivori S., Marcenaro E. et al. Defective expression and function of natural killer cell-triggering receptors in patients with acute myeloid leukemia. *Blood* 2002;99(10):3661–7. DOI: 10.1182/blood.v99.10.3661
41. Sanchez-Correa B., Morgado S., Gayoso I. et al. Human NK cells in acute myeloid leukaemia patients: analysis of NK cell-activating receptors and their ligands. *Cancer Immunol Immunother* 2011;60(8):195–205. DOI: 10.1007/s00262-011-1050-2
42. Sivori S., Pende D., Bottino C. et al. NKp46 is the major triggering receptor involved in the natural cytotoxicity of fresh or cultured human NK cells. Correlation between surface density of NKp46 and natural cytotoxicity against autologous, allogeneic or xenogeneic target cells. *Eur J Immunol* 1999;29(5):1656–66. DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199905)29:05<1656::AID-IMMU1656>3.0.CO;2-1
43. Pende D., Parolini S., Pessino A. et al. Identification and molecular characterization of NKp30, a novel triggering receptor involved in natural cytotoxicity mediated by human natural killer cells. *J Exp Med* 1999;190(10):1505–16. DOI: 10.1084/jem.190.10.1505
44. Khaznadar Z., Boissel N., Agaue S. et al. Defective NK cells in acute myeloid leukemia patients at diagnosis are associated with blast transcriptional signatures of immune evasion. *J Immunol* 2015;195(6):2580–90. DOI: 10.4049/jimmunol.1500262
45. Chretien A.S., Fauriat C., Orlanducci F. et al. NKp30 expression as a prognostic immune biomarker for stratification of patients with intermediate-risk acute myeloid leukemia. *Oncotarget* 2017;8(30):49548–63. DOI: 10.18632/oncotarget.17747
46. Chretien A.S., Devillier R., Fauriat C. et al. NKp46 expression on NK cells as a prognostic and predictive biomarker for response to allo-SCT in patients with AML. *Oncimmunology* 2017;6(12):e1307491. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1307491
47. Sanchez-Correa B., Gayoso I., Bergua J.M. et al. Decreased expression of DNAM-1 on NK cells from acute myeloid leukemia patients. *Immunol Cell Biol* 2012;90(1):109–15. DOI: 10.1038/icb.2011.15
48. Bottino C., Castriconi R., Pende D. et al. Identification of PVR (CD155) and Nectin-2 (CD112) as cell surface ligands for the human DNAM-1 (CD226) activating molecule. *J Exp Med* 2003;198(4):557–67. DOI: 10.1084/jem.20030788
49. Pende D., Bottino C., Castriconi R. et al. PVR (CD155) and Nectin-2 (CD112) as ligands of the human DNAM-1 (CD226) activating receptor: involvement in tumor cell lysis. *Mol Immunol* 2005;42(4):463–9. DOI: 10.1016/j.molimm.2004.07.028
50. Almeida-Oliveira A., Smith-Carvalho M., Porto L.C. et al. Age-related changes in natural killer cell receptors from childhood through old age. *Hum Immunol* 2011;72(4):319–29. DOI: 10.1016/j.humimm.2011.01.009
51. Myers J.A., Schirm D., Bendzick L. et al. Balanced engagement of activating and inhibitory receptors mitigates human NK cell exhaustion. *JCI Insight* 2022;7(15):e150079. DOI: 10.1172/jci.insight.150079
52. Pende D., Spaggiari G.M., Marcenaro S. et al. Analysis of the receptor-ligand interactions in the natural killer-mediated lysis of freshly isolated myeloid or lymphoblastic leukemias: evidence

- for the involvement of the Poliovirus receptor (CD155) and Nectin-2 (CD112). *Blood* 2005;105(5):2066–73. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3548
53. Nowbakht P., Ionescu M.C., Rohner A. et al. Ligands for natural killer cell-activating receptors are expressed upon the maturation of normal myelomonocytic cells but at low levels in acute myeloid leukemias. *Blood* 2005;105(9):3615–22. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2585
54. Salih H.R., Antropius H., Gieseke F. et al. Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia. *Blood* 2003;102(4):1389–96. DOI: 10.1182/blood-2003-01-0019
55. Paczulla A.M., Rothfelder K., Raffel S. et al. Absence of NKG2D ligands defines leukaemia stem cells and mediates their immune evasion. *Nature* 2019;572(7768):254–9. DOI: 10.1038/s41586-019-1410-1
56. Mastaglio S., Wong E., Perera T. et al. Natural killer receptor ligand expression on acute myeloid leukemia impacts survival and relapse after chemotherapy. *Blood Adv* 2018;2(4):335–46. DOI: 10.1182/bloodadvances.2017015230
57. Miller J.S., Soignier Y., Panoskaltis-Mortari A. et al. Successful adoptive transfer and *in vivo* expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood* 2005;105(8):3051–7. DOI: 10.1182/blood-2004-07-2974
58. Rubnitz J.E., Inaba H., Ribeiro R.C. et al. NKAML: a pilot study to determine the safety and feasibility of haploidentical natural killer cell transplantation in childhood acute myeloid leukemia. *J Clin Oncol* 2010;28(6):955. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.4590
59. Shaffer B.C., Le Ludec J.B., Forlenza C. et al. Phase II study of haploidentical natural killer cell infusion for treatment of relapsed or persistent myeloid malignancies following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22(4):705–9. DOI: 10.1016/j.bbmt.2015.12.028
60. Liu E., Marin D., Banerjee P. et al. Use of CAR-transduced natural killer cells in CD19-positive lymphoid tumors. *N Engl J Med* 2020;382(6):545–53. DOI: 10.1056/NEJMoa1910607
61. Chu J., Deng Y., Benson D.M. et al. CS1-specific chimeric antigen receptor (CAR)-engineered natural killer cells enhance *in vitro* and *in vivo* antitumor activity against human multiple myeloma. *Leukemia* 2014;8(4):917–27. DOI: 10.1038/leu.2013.279

Благодарность. Авторы выражают благодарность к.б.н. Николаю Михайловичу Капранову и к.м.н. Юлии Олеговне Давыдовой за помощь в написании статьи.

Acknowledgment. Authors are grateful to PhD Nikolay Mikhailovich Kapranov and PhD Yulia Olegovna Davydova for their assistance in writing the article.

Вклад авторов

К.А. Никифорова: обзор публикаций по теме статьи, написание текста статьи;

И.В. Гальцева, Е.Н. Паровичникова: разработка дизайна статьи.

Authors' contributions

К.А. Nikiforova: review of publications on the article topic, article writing;

I.V. Galtseva, E.N. Parovichnikova: article design development.

ORCID авторов / ORCID of authors

К.А. Никифорова / K.A. Nikiforova: <https://orcid.org/0000-0002-4119-7175>

И.В. Гальцева / I.V. Galtseva: <https://orcid.org/0000-0002-8490-6066>

Е.Н. Паровичникова / E.N. Parovichnikova: <https://orcid.org/0000-0001-6177-3566>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was performed without external funding.

Статья поступила: 19.10.2023. **Принята к публикации:** 24.11.2023.

Article submitted: 19.10.2023. **Accepted for publication:** 24.11.2023.