



И.В. Грибкова¹, А.А. Завьялов²

Источники НК-клеток для CAR-технологий

¹ГБУ «НИИОЗММ ДЗМ», Москва
²ФГБУ ГНЦ ФМБЦ им. А.И. Бурназяна ФМБА России, Москва

I.V. Gribkova¹, A.A. Zavyalov^{1,2}

Sources of NK Cells for CAR-Technologies

¹State Budgetary Institution Research Institute for Healthcare Organization & Medical Management of Moscow Healthcare Department, Moscow, the Russian Federation

²Federal State Budgetary Institution Russian State Research Center – Burnasyan Federal Medical Biophysical Center of Federal Medical Biological Agency, Moscow, the Russian Federation

В последние годы клеточная терапия представляется многообещающим подходом к лечению гемобластозов, показывая поразительные результаты в различных клинических исследованиях. Особенные надежды возлагаются на CAR-клетки — клетки с химерными антигенными рецепторами. Наиболее изученной и показавшей значимые клинические результаты является терапия CAR T-лимфоцитами. Однако существенными проблемами остаются сложности производства CAR T-клеток из аутологичных материалов и наличие серьезных побочных эффектов при лечении данным методом. Альтернативой применения T-клеток может стать использование натуральных киллеров (NK-клеток) — клеток врожденного иммунитета, обладающих противоопухолевыми свойствами. Терапия CAR NK-клетками может оказаться более привлекательной, чем терапия CAR T-клетками, вследствие меньшей токсичности и возможности использования аллогенных материалов. Однако данный метод только развивается и сопряжен со сложностями производства достаточного для инфузии количества CAR NK-клеток, обладающих противоопухолевой активностью, и их модификации. Для преодоления этих проблем используют NK-клетки, полученные из различных источников, подвергая их разнообразным воздействиям. В обзоре представлены особенности NK-клеток, полученных из периферической крови взрослого человека, пуповинной крови, эмбриональных стволовых клеток человека, индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и линии клеток NK-92. Обсуждаются их характеристики в контексте применения для CAR-технологий.

Ключевые слова: CAR NK-клеточная терапия; химерный антигенный рецептор; адоптивная терапия; иммунотерапия; источники NK-клеток

Для цитирования: Грибкова И.В., Завьялов А.А. Источники NK-клеток для CAR-технологий. Вопросы онкологии. 2023;69(4):616-622. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-4-616-622

In recent years, cell therapy has emerged as a promising approach for the treatment of hematological malignancies, demonstrating remarkable results in various clinical trials. The spotlight is on CAR cells, cells with chimeric antigen receptors. The most studied and clinically significant therapy is CAR T-cell therapy. However, significant challenges remain in the production of CAR T-cells from autologous materials and the presence of serious side effects associated with this treatment method. An alternative to T-cell therapy could be the use of natural killer cells (NK-cells) – cells of innate immunity with anti-tumor properties. CAR NK-cell therapy may prove to be more attractive than CAR T-cell therapy due to lower toxicity and the possibility of using allogeneic materials. However, this method is still under development and is associated with challenges in producing a sufficient quantity of CAR NK-cells with anti-tumor activity and modifying them. To overcome these issues, NK-cells derived from various sources are subjected to different manipulations. The review presents the features of NK-cells derived from adult peripheral blood, cord blood, human embryonic stem cells, induced pluripotent stem cells, and the NK-92 cell line. Their characteristics are discussed in the context of their application for CAR technologies.

Keywords: CAR NK-cell therapy; chimeric antigen receptor; adoptive therapy; immunotherapy; NK-cell sources

For citation: Gribkova IV, Zavyalov AA. Sources of NK cells for CAR-technologies. Voprosy Onkologii. 2023;69(4):616-622. (In Russ.). doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-4-616-622

CAR NK-клетки: возможности новой клеточной терапии

Натуральные киллеры (NK) — важные врожденные цитотоксические лимфоциты, обладающие быстрой и эффективной способностью

распознавать и уничтожать опухолевые клетки. В последние годы адаптивный перенос аутологичных или аллогенных активированных NK-клеток стал многообещающей клеточной терапией злокачественных новообразований (ЗНО). Особенные надежды возлагаются на CAR NK-

клетки — NK-клетки с химерными антигенными рецепторами (от англ. CAR — chimeric antigen receptor).

В последние годы произошел своего рода переворот в терапии пациентов с рецидивами и резистентными формами онкогематологических заболеваний, которые ранее считались потенциально неизлечимыми. Для таких пациентов появилась новая возможность персонализированной клеточной терапии, так называемой CAR-терапии. Данный метод заключается в том, что больным ЗНО вводят продукт из модифицированных живых клеток от пациента или подходящего донора, которые способны специфически распознавать и разрушать злокачественные клетки. На данный момент наиболее распространены в клинической практике методы лечения на основе Т-лимфоцитов с химерными антигенными рецепторами (CAR Т-лимфоцитов или CAR Т-клеток), которые показали отличные результаты в лечении различных типов гематологических опухолей [1–5].

Однако, несмотря на успехи, существует ряд препятствий, ограничивающих применение CAR Т-клеточной терапии. Основными проблемами этого метода лечения являются побочные эффекты терапии: В-лимфопения, синдром высвобождения цитокинов (СВЦ) и нейротоксичность [6, 7], а также необходимость получения CAR Т-клеток из аутологичной периферической крови, чтобы предотвратить появление реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Серьезные побочные эффекты терапии могут быть жизнеугрожающими, а их купирование связано с высокими затратами [8]. Получение продукта CAR Т-клеток индивидуально для каждого пациента также является дорогостоящим и требует много времени. Данные проблемы могут быть решены путем внедрения CAR-технологий в другие клетки иммунной системы — натуральные киллеры [9].

CAR NK-клетки имеют некоторые преимущества по сравнению с CAR Т-клетками. Например, аллогенные NK-клетки могут использоваться в качестве эффекторных клеток, поскольку они не вызывают РТПХ. Также NK-клетки могут быть безопаснее, чем Т-клетки: отсутствие серьезных токсических эффектов терапии немодифицированными NK-клетками (без CAR) показано во многих исследованиях [10–12]. Так развитие СВЦ, наиболее серьезного побочного эффекта CAR Т-клеточной терапии [13], при использовании NK-клеток маловероятно из-за их более низкой скорости экспансии и разницы цитокинов, которые продуцируют Т и NK-клетки [14, 15]. Цитокины, которые связаны с развитием СВЦ и нейротоксичности (интерлейкин 1а (IL-1а), IL-1Ra, IL-2, IL-2Ra, IL-6, MCP-1, IL-8,

IL-10 и IL-15), выделяются Т-клетками [16], тогда как NK-клетки обычно индуцируют IFN- γ и GM-CSF [17]. Также потенциальные побочные эффекты от CAR терапии NK-клетками будут относительно короткими из-за уменьшенной продолжительности жизни NK-клеток.

В последние годы проводятся испытания CAR NK-клеточной терапии в моделях на животных [18–20], а также клинические исследования [21–23]. Их результаты говорят об эффективности и безопасности данной терапии. Однако, несмотря на то, что NK-клетки являются привлекательным источником эффекторных клеток для иммунотерапии новообразований, их использование для CAR терапии связано с рядом сложностей. Во-первых, количество NK-клеток в периферической крови значительно ниже, чем количество Т-клеток, и процесс размножения NK-клеток *in vitro* намного сложнее, поскольку количество делений NK-клеток ограничено. Это затрудняет получение достаточного численного количества аутологичных NK-клеток, необходимого для трансфузии [14, 15]. Кроме того, почти полное отсутствие формирования памяти и короткая продолжительность жизни этих клеток препятствует долговечности ответа [14, 15]. Важным недостатком NK-клеток для их использования в CAR-терапии является то, что их трудно получить и манипулировать ими: по сравнению с Т-клетками, NK-клетки довольно устойчивы к генной инженерии [24, 25].

Для того, чтобы с успехом преодолеть эти сложности, важно грамотно выбрать источник NK-клеток, исходя из поставленных целей и имеющихся возможностей. Для производства эффективного CAR NK-продукта необходимы следующие условия: возможность получения достаточного количества клеток, их генетической модификации, проявление готовыми клетками цитотоксической активности. NK-клетки могут быть получены из различных биологических материалов: периферическая кровь, пуповинная кровь, эмбриональные стволовые клетки человека, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и линия клеток NK-92. Ниже рассмотрены их основные характеристики, проблемы и преимущества для использования в технологии CAR.

Источники CAR NK-клеток

Линия NK-клеток (NK-92). Технология с использованием линии клеток NK-92, полученных от пациента с неходжкинской лимфомой, была разработана для преодоления сложностей, связанных с трудоёмкостью получения достаточного количества активированных *ex vivo* NK-клеток [26]. Данная линия клеток обладает высоким

уровнем цитотоксической активности по отношению к опухолевым клеткам. Противоопухолевая активность и безопасность клеток линии NK-92 была показана в клинических исследованиях у пациентов с почечно-клеточной карциномой и меланомой, а также с раком легких [27, 28].

Преимуществом использования этих клеток является возможность получения их в достаточном количестве *ex vivo* без значительных финансовых затрат. Клетки линии NK-92 по сравнению с NK-клетками, выделенными из периферической крови, с большей эффективностью поддаются трансдукции, что открывает широкие возможности для их использования в области CAR-технологий [29].

К недостаткам данной линии клеток можно отнести тот факт, что они должны быть облучены перед трансфузией, т. к. происходят из линии опухолевых клеток и несут множество генетических аномалий [30]. Многочисленные исследования показали, что клетки NK-92 сохраняют свою цитотоксичность после облучения, но отсутствие пролиферации *in vivo* приводит к исчезновению введенных клеток уже через 7 дней [31–33]. Следовательно, лечение препаратом CAR на основе NK-92, скорее всего, потребует нескольких циклов трансфузии [32].

Уже опубликованы работы, в которых описаны генетически модифицированные клетки линии NK-92 и результаты их действия на опухолевые клетки. Так были сконструированы клетки, несущие на поверхности высокоаффинный рецептор FcγRIIIa (CD 16) к Fc фрагменту иммуноглобулинов, принимающий участие в реакции антител-зависимой клеточной цитотоксичности. Результаты *ex vivo* и *in vivo* проведенных исследований показали способность этих клеток повышать уровень антител-зависимой клеточной цитотоксичности и тем самым увеличивать эффективность терапии на основе моноклональных антител [34, 35]. А в исследовании Schönfeld K. и соавт. показано, что клетки линии NK-92, экспрессирующие химерный рецептор к антигену ErbB2/HER2, обладали способностью *ex vivo* и *in vivo* вызывать гибель опухолевых клеток, несущих этот рецептор на своей поверхности [36]. Помимо этого, были предприняты попытки по созданию CAR NK-клеток из линии NK-92, химерный рецептор которых направлен против CD19, экспрессируемого на поверхности В-лимфоцитов [37]. В работе X. Tang и соавт. сообщается о первом исследовании применения CAR NK-клеток, приготовленных на основе клеток линии NK-92, для терапии пациентов [22]. CAR NK-клетки были нацелены на CD33, CAR содержал 2 костимулирующие молекулы: CD28 и 4-1BB. В исследовании наблюдали за тремя пациентами с рецидивирующей и рефрактерной

формой острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). Данное исследование I фазы не продемонстрировало очевидной клинической эффективности, однако это первое клиническое испытание на людях показало, что эту терапию можно безопасно использовать у пациентов с рецидивирующей и рефрактерной формой ОМЛ с высокой опухолевой нагрузкой.

NK-клетки пуповинной крови. NK-клетки, выделенные из пуповинной крови, представляют собой ещё один возможный исходный материал для CAR NK-продукта. Они обычно считаются более наивными по фенотипу и функциям по сравнению с NK-клетками периферической крови [33]. Сообщалось о сниженной экспрессии CD16, гранзима В, перфорина и KIR, а также о сниженной экспрессии молекул клеточной адгезии, что приводило к снижению цитотоксической способности, наблюдаемой в этой популяции клеток, что может негативно сказаться на эффективности полученного продукта [38]. Также проблемой может быть небольшой объём клеток, полученных из пуповинной крови: требуется, чтобы NK-клетки претерпели большое количество клеточных делений, прежде чем будет получено достаточное количество клеток, необходимое для трансфузии. Однако в соответствии с незрелой природой NK-клеток, выделенных из пуповинной крови, они обладают более высокой пролиферативной способностью и очень восприимчивы к стимуляции цитокинами. В исследовании L. Herrera и соавт. было показано, что стимуляция этих клеток IL-2 увеличивает популяцию NK-клеток, а IL-15 способствует выживанию, пролиферации и более высокой цитотоксичности [39].

В 2020 г. были опубликованы результаты работы E. Liu и соавт., в которой из NK-клеток, выделенных из пуповинной крови, были произведены и изучены клинические продукты CAR NK-клеток [21]. Это клиническое исследование I/II фазы с участием одиннадцати пациентов с неходжкинской лимфомой или рецидивирующим/рефрактерным хроническим лимфоцитарным лейкозом (ХЛЛ), которые уже подвергались в среднем 4 линиям терапии (от 3 до 11). В работе использовали генетически модифицированные NK-клетки, в конструкцию CAR которых были добавлены IL-15 для решения проблемы короткой продолжительности жизни CAR NK-клеток *in vivo*, а также индуцибельный суицидальный ген для предотвращения возможных серьёзных побочных эффектов. В результате объективный ответ был получен у 8 пациентов (73 %), в т. ч. у 7 пациентов (64 %) (3 с ХЛЛ и 4 с лимфомой) была достигнута полная ремиссия. Введение CAR NK-клеток не привело к развитию каких-либо серьёзных токсических эффектов.

НК-клетки периферической крови. Примерно 90 % НК-клеток периферической крови экспрессируют обширный репертуар ингибирующих и активирующих рецепторов. По сравнению с НК-клетками, выделенными из пуповинной крови, НК-клетки периферической крови более зрелые, что приводит к увеличению функциональности, но снижению пролиферативной способности [40]. Однако, как и клетки, выделенные из пуповинной крови, они поддаются воздействию цитокинов IL-2 и IL-15, что позволяет размножить их до необходимого количества [39]. Также особенностью НК-клеток, полученных из крови взрослого человека, является их высокая вариабельность [41]. В исследовании N.K. Björkström и соавт. показано, что НК-клетки продолжают дифференцироваться на протяжении всей жизни, и во время этого процесса последовательно приобретают цитотоксические свойства и демонстрируют постепенное снижение пролиферативной способности [40]. Все промежуточные клеточные продукты этого процесса представлены в различных пропорциях в крови взрослого человека.

Безопасность и эффективность НК-клеток периферической крови в качестве продукта адоптивной клеточной терапии была доказана в нескольких клинических исследованиях [10, 42, 43]. Эффективность терапии зависела от режима предварительной иммуносупрессивной химиотерапии, а также от стимуляции НК-клеток IL 2. Так, например, в работе J.S. Miller и соавт. с участием пациентов с неблагоприятным прогнозом ОМЛ было показано, что применение иммуносупрессивного режима на основе высоких доз циклофосфида и флударабина приводило к увеличению количества донорских НК-клеток после их инфузии [10]. Клетки в дальнейшем подвергали стимуляции IL 2. В результате полной гематологической ремиссии достигли 5 из 19 пациентов с неблагоприятным прогнозом ОМЛ. Наблюдались лишь преходящие побочные эффекты.

В работах была показана безопасность как аутологичных, так и аллогенных НК-клеток, как совпадающих по человеческому лейкоцитарному антигену (HLA, Human Leukocyte Antigen), так и несовпадающих [10, 42, 43]. Возможность использования клеток от неродственного HLA-несовместимого донора существенно увеличивает выбор возможных доноров, а, следовательно, может значительно повысить доступность конечного продукта.

НК-клетки, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток или эмбриональных стволовых клеток человека. В последнее время НК-клетки, полученные из стволовых клеток, например, из эмбриональных

стволовых клеток человека или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), показали себя многообещающими кандидатами для производства CAR НК-клеток. Они имеют фенотип и функции, аналогичные НК-клеткам, полученным из пуповинной или периферической крови, и в то же время они воспроизводимы, поддаются генетической модификации и могут быть легко размножены в клиническом масштабе [44–46].

В работе P.S. Woll и соавт. была показана большая противоопухолевая активность НК-клеток, полученных из эмбриональных стволовых клеток человека, по сравнению с НК-клетками, выделенными из пуповинной крови [44]. Авторы объяснили данный результат разницей в экспрессии антигенов на поверхности этих клеток. Процесс созревания НК-клеток связан с изменением экспрессии некоторых поверхностных антигенов. CD117⁺CD94⁺CD56⁺ НК-клетки относятся к незрелым НК-клеткам, тогда как зрелые НК-клетки с более компетентными эффекторными функциями характеризуются экспрессией CD94 в сочетании с низкой (low) (или отсутствующей) экспрессией CD117 [47, 48]. CD117^{-low}CD94⁺CD56⁺ НК-клетки экспрессируют молекулы, важные для функции НК-клеток, включая KIR, CD16, перфорины, гранзимы и FasL, которые не обнаруживаются на CD117⁺CD94⁺CD56⁺ НК-клетках [47, 48]. В работе P.S. Woll и соавт. было показано, что НК-клетки, выделенные из пуповинной крови, содержат как CD117^{-low}CD94⁺CD56⁺, так и CD117⁺CD94⁺CD56⁺ популяции, в то время как НК-клетки, полученные из эмбриональных стволовых клеток человека, более гомогенны: это CD117^{-low}CD94⁺ клетки, и большинство этих клеток экспрессируют CD16 [44].

Y. Li и соавт. показали, что CAR НК-клетки, полученные из ИПСК человека, обладали способностью значительного подавления роста опухоли, имели увеличенную выживаемость и высокую цитотоксичность в модели рака яичников [49].

Таким образом, CAR НК-клетки, полученные из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток или эмбриональных стволовых клеток человека, могут быть многообещающим ресурсом для создания стандартизированных, готовых к применению адоптивных иммунотерапевтических продуктов. Более того, они могут быть генетически модифицированы для дальнейшего улучшения их устойчивости *in vivo*, преодоления иммуносупрессивного микроокружения опухоли и повышения их противоопухолевой способности. Эти клетки также можно использовать в сочетании с другими методами лечения (например, такими как ингибирование контрольных точек).

Заключение

Все существующие на данный момент источники НК-клеток (периферическая кровь, пуповинная кровь, эмбриональные стволовые клетки человека, индуцированные плюрипотентные стволовые клетки и линия клеток NK-92) могут быть использованы для CAR-технологий. Однако данные источники обладают различными характеристиками, которые могут быть наиболее предпочтительными для конкретных целей.

Суммируя, клетки линии NK-92 могут быть получены в достаточном количестве *ex vivo* без значительных финансовых затрат, обладают высоким уровнем цитотоксической активности по отношению к опухолевым клеткам, поддаются трансдукции. Однако после необходимого облучения они теряют способность к пролиферации, что приводит к недолговечности ответа на CAR-терапию. НК-клетки, выделенные из пуповинной крови, обладают высокой пролиферативной способностью, но сниженной противоопухолевой активностью. Объем клеток, выделенных из пуповинной крови, мал. НК-клетки периферической крови взрослого человека обладают большей функциональностью, но сниженной пролиферативной способностью. Однако клетки, выделенные из пуповинной и периферической крови, поддаются воздействию цитокинов IL-2 и IL-15, что позволяет размножить их до необходимого количества и увеличить цитотоксическую способность. Особенностью НК-клеток периферической крови взрослого человека, является их высокая вариабельность. НК-клетки, полученные из стволовых клеток, имеют фенотип и функции, аналогичные НК-клеткам пуповинной или периферической крови, и в то же время они воспроизводимы, поддаются генетической модификации и могут быть легко размножены в клиническом масштабе. В доклинических исследованиях они продемонстрировали выраженную противоопухолевую активность.

Наиболее перспективными источниками для приготовления CAR NK-продуктов клинического применения являются НК-клетки, полученные из стволовых клеток. Однако требуются дальнейшие исследования для подтверждения эффективности и безопасности приготовленных из них клеточных препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Locke FL, Ghobadi A, Jacobson CA, et al. Long-term safety and activity of axicabtagene ciloleucel in refractory large B-cell lymphoma (ZUMA-1): a single-arm, multicentre, phase 1-2 trial. *Lancet Oncol.* 2019;20(1):31-42. doi:10.1016/S1470-2045(18)30864-7.
2. Maude SL, Laetsch TW, Buechner J, et al. Tisagenlecleucel in children and young adults with B-cell lympho-

3. Jacobson C, Chavez JC, Sehgal AR, et al. Primary analysis of zuma-5: A phase 2 study of axicabtagene ciloleucel (Axi-Cel) in patients with relapsed/refractory (R/R) indolent non-Hodgkin lymphoma (iNHL). *Blood.* 2020;136(Supplement 1):40-1. doi:10.1182/blood-2020-136834.
4. Munshi NC, Anderson LD Jr, Shah N, et al. Idecabtagene vicleucel in relapsed and refractory multiple myeloma. *N Engl J Med.* 2021;384(8):705-716. doi:10.1056/NEJMoa2024850.
5. Грибкова И.В., Завьялов А.А. Терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (CAR) В-клеточной неходжкинской лимфомы: возможности и проблемы. *Вопросы онкологии.* 2021;67(3):350-360 [Gribkova IV, Zavyalov AA. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges. *Voprosy onkologii.* 2021;67(3):350-60 (In Russ.)]. doi:10.37469/0507-3758-2021-67-3-350-360.
6. Штыров Е.М., Зотов Р.А., Лапштаева А.В. CAR Т-клеточная терапия как современный метод лечения онкологических заболеваний. *Бюллетень науки и практики.* 2019;5:121-127. [Shtyrov E., Zotov R., Lapsh-taeva A. CAR T-cell therapy as a modern treatment for cancer. *Bulletin of Science and Practice.* 2019;5:121-127 (In Russ.)]. doi:10.33619/2414-2948/42.
7. Makita S, Imaizumi K, Kurosawa S, et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for B-cell non-Hodgkin lymphoma: opportunities and challenges. *Drugs in Context.* 2019;8:212567. doi:10.7573/dic.212567.
8. Yang H, Hao Y, Qi CZ, et al. Estimation of total costs in pediatric and young adult patients with relapsed or refractory acute lymphoblastic leukemia receiving tisagenlecleucel from a U.S. hospital's perspective. *J Manag Care Spec Pharm.* 2020;26(8):971-980. doi:10.18553/jmcp.2020.20052.
9. Грибкова И.В. CAR НК-клетки и возможность их использования для лечения гематологических новообразований. *Современная Онкология.* 2022;24(3):331-335 [Gribkova IV. CAR NK-cells for the treatment of hematological malignancies: A review. *Journal of Modern Oncology.* 2022;24(3):331-335 (In Russ.)]. doi:10.26442/18151434.2022.3.201699.
10. Miller JS, Soignier Y, Panoskaltsis-Mortari A, et al. Successful adoptive transfer and in vivo expansion of human haploidentical NK cells in patients with cancer. *Blood.* 2005;105(8):3051-3057. doi:10.1182/blood-2004-07-2974.
11. Rubnitz JE, Inaba H, Ribeiro RC, 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):955-959. doi:10.1200/JCO.2009.24.4590.
12. Shaffer BC, Le Luduec JB, 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):705-709. doi:10.1016/j.bbmt.2015.12.028.
13. Acharya UH, Dhawale T, Yun S, et al. Management of cytokine release syndrome and neurotoxicity in chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy. *Expert Rev Hematol.* 2019;12(3):195-205. doi:10.1080/17474086.2019.1585238.

14. Wang L, Dou M, Ma Q, et al. Chimeric antigen receptor (CAR)-modified NK cells against cancer: Opportunities and challenges. *Int Immunopharmacol.* 2019;74:105695. doi:10.1016/j.intimp.2019.105695.
15. Rotolo R, Leuci V, Donini C, et al. CAR-based strategies beyond T lymphocytes: integrative opportunities for cancer adoptive immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2019;20(11):2839. doi:10.3390/ijms20112839.
16. Klingemann H. Are natural killer cells superior CAR drivers? *Oncoimmunology.* 2014;3:e28147. doi:10.4161/onci.28147.
17. Hunter BD, Jacobson CA. CAR T-cell associated neurotoxicity: mechanisms, clinicopathologic correlates, and future directions. *J Natl Cancer Inst.* 2019;111(7):646-654. doi:10.1093/jnci/djz017.
18. Albinger N, Pfeifer R, Nitsche M, et al. Primary CD33-targeting CAR-NK cells for the treatment of acute myeloid leukemia. *Blood Cancer J.* 2022;12(4). doi:10.1038/s41408-022-00660-2.
19. Jan CI, Huang SW, Canoll P, et al. Targeting human leukocyte antigen G with chimeric antigen receptors of natural killer cells convert immunosuppression to ablate solid tumors. *J Immunother Cancer.* 2021;9(10):e003050. doi:10.1136/jitc-2021-003050.
20. Montagner IM, Penna A, Fracasso G, et al. Anti-PSMA CAR-engineered NK-92 Cells: An off-the-shelf cell therapy for prostate cancer. *cells.* 2020;9(6):1382. doi:10.3390/cells9061382.
21. 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):545-553. doi:10.1056/NEJMoa1910607.
22. Tang X, Yang L, Li Z, et al. First-in-man clinical trial of CAR NK-92 cells: safety test of CD33-CAR NK-92 cells in patients with relapsed and refractory acute myeloid leukemia. *Am J Cancer Res.* 2018;8(6):1083-1089.
23. Xiao L, Cen D, Gan H, et al. Adoptive transfer of NKG2D CAR mRNA-engineered natural killer cells in colorectal cancer patients. *Mol Ther.* 2019;27(6):1114-1125. doi:10.1016/j.ymthe.2019.03.011.
24. Boissel L, Betancur M, Wels WS, et al. Transfection with mRNA for CD19 specific chimeric antigen receptor restores NK cell mediated killing of CLL cells. *Leuk Res.* 2009;33(9):1255-1259. doi:10.1016/j.leukres.2008.11.024.
25. Hu Y, Tian Zh, Zhang C, Chimeric antigen receptor (CAR)-transduced natural killer cells in tumor immunotherapy. *Acta Pharmacologica Sinica.* 2018;39:167-176; doi:10.1038/aps.2017.125.
26. Gong JH, Maki G, Klingemann HG. Characterization of a human cell line (NK-92) with phenotypical and functional characteristics of activated natural killer cells. *Leukemia.* 1994;8(4):652-8.
27. Tonn T, Schwabe D, Klingemann HG, et al. Treatment of patients with advanced cancer with the natural killer cell line NK-92. *Cytotherapy.* 2013;15(12):1563-1570. doi:10.1016/j.jcyt.2013.06.017.
28. Arai S, Meagher R, Swearingen M, et al. Infusion of the allogeneic cell line NK-92 in patients with advanced renal cell cancer or melanoma: a phase I trial. *Cytotherapy.* 2008;10(6):625-632. doi:10.1080/14653240802301872.
29. Боробова Е.А., Жеравин А.А. Натуральные киллеры в иммунотерапии онкологических заболеваний. *Сибирский онкологический журнал.* 2018;17(6):97-104 [Borobova EA, Zheravin AA. Natural killer cells in immunotherapy for cancer. *Siberian journal of oncology.* 2018;17(6):97-104 (In Russ.)]. doi:10.21294/1814-4861-2018-17-6-97-104.
30. MacLeod RA, Nagel S, Kaufmann M, et al. Multicolor-FISH analysis of a natural killer cell line (NK-92). *Leuk Res.* 2002;26(11):1027-1033. doi:10.1016/s0145-2126(02)00055-3.
31. Tsigiritos P, Resnick IB, Kapsimali V, et al. Irradiated mononuclear cells express significant in vitro cytotoxic activity: promise for in vivo clinical efficacy of irradiated mismatched donor lymphocytes infusion. *Immunotherapy.* 2014;6(4):409-17. doi:10.2217/imt.14.10.
32. Zhang C, Burger MC, Jennewein L, et al. ErbB2/HER2-specific NK cells for targeted therapy of glioblastoma. *J Natl Cancer Inst.* 2015;108(5). doi:10.1093/jnci/djv375.
33. Pfefferle A, Huntington ND. You have got a fast CAR: chimeric antigen receptor NK cells in cancer therapy. *Cancers.* 2020;12(3):706. doi:10.3390/cancers12030706.
34. Musolino A, Naldi N, Bortesi B, et al. Immunoglobulin g fragment c receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with her-2/neu-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008;26(11):1789-96. doi:10.1200/JCO.2007.14.8957.
35. Taylor RJ, Chan SL, Wood A, et al. FcγRIIIa polymorphisms and cetuximab induced cytotoxicity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Immunol Immunother.* 2009;58(7):997-1006. doi:10.1007/s00262-008-0613-3.
36. Schönfeld K, Sahm C, Zhang C, et al. Selective inhibition of tumor growth by clonal NK cells expressing an ErbB2/HER2-specific chimeric antigen receptor. *Mol Ther.* 2015;23(2):330-8. doi:10.1038/mt.2014.219.
37. Romanski A, Uherek C, Bug G, et al. CD19-CAR engineered NK-92 cells are sufficient to overcome NK cell resistance in B-cell malignancies. *J Cell Mol Med.* 2016;20(7):1287-94. doi:10.1111/jcmm.12810.
38. Luevano M, Daryouzeh M, Alnabhan R, et al. The unique profile of cord blood natural killer cells balances incomplete maturation and effective killing function upon activation. *Hum Immunol.* 2012;73(3):248-257. doi:10.1016/j.humimm.2011.12.015.
39. Herrera L, Santos S, Vesga MA, et al. Adult peripheral blood and umbilical cord blood NK cells are good sources for effective CAR therapy against CD19 positive leukemic cells. *Sci Rep.* 2019;9(1):18729. doi:10.1038/s41598-019-55239-y.
40. Björkström NK, Riese P, Heuts F, et al. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56dim NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education. *Blood.* 2010;116(19):3853-3864. doi:10.1182/blood-2010-04-281675.
41. Vela M, Corral D, Carrasco P, et al. Haploidentical IL-15/41BBL activated and expanded natural killer cell infusion therapy after salvage chemotherapy in children with relapsed and refractory leukemia. *Cancer Lett.* 2018;422:107-117. doi:10.1016/j.canlet.2018.02.033.
42. Björklund AT, Carlsten M, Söhlberg E, et al. Complete remission with reduction of high-risk clones following haploidentical NK-cell therapy against MDS and AML. *Clin Cancer Res.* 2018;24(8):1834-1844. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-3196.

43. Curti A, Ruggeri L, Parisi S, et al. Larger size of donor alloreactive NK cell repertoire correlates with better response to NK cell immunotherapy in elderly acute myeloid leukemia patients. *Clin Cancer Res.* 2016;22(8):1914-1921. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-1604.
44. Woll PS, Grzywacz B, Tian X, et al. Human embryonic stem cells differentiate into a homogeneous population of natural killer cells with potent in vivo antitumor activity. *Blood.* 2009; 113:6094–101. doi:10.1182/blood-2008-06-165225.
45. Knorr DA, Bock A, Brentjens RJ, et al. Engineered human embryonic stem cell-derived lymphocytes to study in vivo trafficking and immunotherapy. *Stem Cells Dev.* 2013;22:1861–9. doi:10.1089/scd.2012.0608.
46. Knorr DA, Ni Z, Hermanson D, et al. Clinical-scale derivation of natural killer cells from human pluripotent stem cells for cancer therapy. *Stem Cells Transl Med.* 2013;2:274–83. doi:10.5966/sctm.2012-0084.
47. Freud AG, Yokohama A, Becknell B, et al. Evidence for discrete stages of human natural killer cell differentiation in vivo. *J Exp Med.* 2006;203(4):1033-1043. doi:10.1084/jem.20052507.
48. Grzywacz B, Kataria N, Sikora M, et al. Coordinated acquisition of inhibitory and activating receptors and functional properties by developing human natural killer cells. *Blood.* 2006;108(12):3824-3833. doi:10.1182/blood-2006-04-020198.
49. Li Y, Hermanson DL, Moriarity BS, et al. Human iPSC-derived natural killer cells engineered with chimeric antigen receptors enhance anti-tumor activity. *Cell Stem Cell.* 2018;23(2):181-192.e5. doi:10.1016/j.stem.2018.06.002

Поступила в редакцию 18.01.2023
 Прошла рецензирование 14.02.2023
 Принята в печать 16.02.2023

Сведения об авторах

*Грибкова Ирина Владимировна, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7757-318X>, igribkova@yandex.ru.
 Завьялов Александр Александрович, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1825-1871>.

*Gribkova Irina Vladimirovna, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7757-318X>, igribkova@yandex.ru.
 Zavyalov Aleksandr Aleksandrovich, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1825-1871>.