

ИЗМЕНЕНИЕ ФЕНОТИПА И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НК-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ МИЕЛОДИСПЛАСТИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ И ОСТРЫМ МИЕЛОИДНЫМ ЛЕЙКОЗОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОМЕТИЛИРУЮЩИХ ПРЕПАРАТОВ

Жигарев Д.И., Хорева М.В., Ганковская Л.В.

ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. Естественные киллеры (НК-клетки, англ. natural killers) – лимфоциты, относящиеся к клеткам врожденного иммунитета, они играют ключевую роль в поддержании иммунологического надзора. С момента обнаружения НК-клеток в 1973 году механизмы их функционирования были детально изучены, и сейчас не остается сомнения в том, что они играют особую роль в процессах распознавания и уничтожения трансформированных и малигнизированных клеток. Понимание роли НК-клеток в противоопухолевом иммунитете с одной стороны ведет к появлению новых иммунотерапевтических стратегий, а с другой – позволяет переосмыслить существующие схемы лечения онкологических заболеваний в соответствии с принципом *primum non nocere*. Оптимизация протоколов терапии опухолей, выполненная с целью уберечь иммунные клетки от гибели и функционального ослабления, – важная проблема, которая не может быть успешно решена без регулярного обобщения результатов разрозненных исследований и критического анализа накопленных данных.

Задачей настоящего обзора является анализ изменений фенотипа и функциональной активности НК-клеток у больных миелодиспластическим синдромом (МДС) и острым миелоидным лейкозом (ОМЛ). Для лечения этих заболеваний в настоящее время применяются препараты из группы гипометилирующих агентов, механизм действия которых, в отличие от классических цитостатических средств, основан на модуляции экспрессии генов опухолевых клеток. Поскольку эти препараты действуют неспецифично, воздействию подвергаются все клетки организма, в том числе и НК-клетки. Такое взаимодействие приводит к гипометилированию НК-клеточной ДНК и изменению экспрессии функциональных рецепторов, которые, в свою очередь, обеспечивают развитие противоопухолевого ответа НК-клеток.

Сам по себе факт изменения генной экспрессии тех или иных клеток не позволяет в полной мере судить о воздействии препарата на состояние иммунной системы, важен характер этого изменения и его роль в контексте патогенеза исследуемого заболевания. В конечном счете, простое описание явления увеличения или уменьшения экспрессии отдельно взятого рецептора не является наглядно-показательным, поскольку может приводить к неоднозначным последствиям. По этой причине в настоящем обзоре, помимо описания существующих данных об изменении экспрессии рецепторов

Адрес для переписки:

Жигарев Дмитрий Игоревич
ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения РФ
117997, Россия, Москва, ул. Островитянова, 1.
Тел.: 8 (901) 738-97-63.
E-mail: zhigarev.di@gmail.com

Address for correspondence:

Zhigarev Dmitry I.
N. Pirogov Russian National Research Medical University
117997, Russian Federation, Moscow, Ostrovityanov str., 1.
Phone: 7 (901) 738-97-63.
E-mail: zhigarev.di@gmail.com

Образец цитирования:

Д.И. Жигарев, М.В. Хорева, Л.В. Ганковская
«Изменение фенотипа и функциональной активности
НК-клеток у больных миелодиспластическим
синдромом и острым миелоидным лейкозом под
влиянием гипометилирующих препаратов» //
Медицинская иммунология, 2021. Т. 23, № 2. С. 223–230.
doi: 10.15789/1563-0625-PAF-2145

© Жигарев Д.И. и соавт., 2021

For citation:

D.I. Zhigarev, M.V. Khoreva, L.V. Gankovskaya
“Phenotypic and functional changes of NK cells in patients
with myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia
treated with hypomethylating drugs”, *Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2021, Vol. 23, no. 2,
pp. 223–230.
doi: 10.15789/1563-0625-PAF-2145

DOI: 10.15789/1563-0625-PAF-2145

НК-клеток под воздействием гипометилирующих препаратов, особое внимание уделяется критическому анализу функциональных характеристик НК-клеток, среди которых наиболее важной для течения описываемых заболеваний является цитотоксическая активность, направленная на малигнизированные бластные клетки.

Ключевые слова: НК-клетки, противоопухолевый иммунитет, острый миелоидный лейкоз, миелодиспластический синдром, KIR-рецепторы, гипометилирующие препараты

PHENOTYPIC AND FUNCTIONAL CHANGES OF NK CELLS IN PATIENTS WITH MYELOYDYSPLASTIC SYNDROME AND ACUTE MYELOID LEUKEMIA TREATED WITH HYPOMETHYLATING DRUGS

Zhigarev D.I., Khoreva M.V., Gankovskaya L.V.

N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Abstract. Natural killer cells (NK cells) are cytotoxic lymphocytes that play a pivotal role in maintaining immunological surveillance and in developing an innate immune response. Since the discovery of NK cells in 1973, the mechanisms of their functioning have been studied in details, and there is currently no doubt that they play a special role in the process of recognition and destruction of transformed and malignant cells. Understanding the role of NK cells in antitumor immunity, on the one hand, leads to emergence of new immunotherapeutic strategies and, on the other hand, allows to adjust the existing treatment regimens for tumor diseases, in accordance with the principle of *primum non nocere*. Optimization of cancer therapy protocols executed in order to protect immune cells from death and functional impairment is an important problem that cannot be successfully resolved without regular aggregation of the results from disparate studies and critical analysis of the all accumulated data.

The objective of this review is to create a relevant and holistic picture of changes in the phenotypic and functional characteristics of NK cells in patients with two related hematological diseases – myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML). For the treatment of both illnesses, drugs from the group of hypomethylating agents are used, the acting mechanism of which, unlike classical cytostatic agents, is based on modulation of the tumor cell genes expression. All the cells of the body are being affected, including NK cells, since these drugs act nonspecifically. Such an interaction leads to a hypomethylation of NK cell DNA and changes the expression of functional receptors, which, in turn, provide the development of antitumor NK cell immune response.

Of course, just the fact of changing gene expression in certain cells does not allow us to fully judge the drug's impact on the state of immune system. Meanwhile, the origin of this change and its role are important in the context of the disease pathogenesis. Ultimately, a simple description of an increase or decrease in a single receptor expression is not illustrative, since it can lead to uncertain consequences. For this reason, the current review, in addition to describing the existing data on the changes of NK cell receptors expression under the influence of hypomethylating drugs, gives a special attention to critical analysis of functional characteristics of NK cells, including their cytotoxic activity aimed at malignant blast cells, being a determinant of clinical course in the described diseases.

Keywords: NK cells, antitumor immunity, acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome, KIR receptors, hypomethylating drugs

Введение

Острый миелоидный лейкоз (ОМЛ) – это гетерогенная группа злокачественных опухолей костного мозга, характеризующаяся массивной и неконтролируемой пролиферацией предшественников миелоидных клеток [24]. ОМЛ характеризуется самой высокой летальностью среди других форм лейкозов, при этом чаще всего ОМЛ страдают лица пожилого возраста [9]. Для пациентов старше 60 лет, как правило, прогноз

неблагоприятный, в то же время частота ремиссий для больных ОМЛ младше 60 лет чуть более впечатляющая – от 35 до 40% поддаются своевременному лечению [8, 39]. Такое различие в эффективности терапии во многом обусловлено возрастом больного и более вероятным наличием сопутствующих заболеваний, что может являться противопоказанием для наиболее радикального метода лечения ОМЛ – трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [1].

Миелодиспластический синдром (МДС) – это группа синдромов нарушения количественного и качественного состава клеток костного мозга, характеризующаяся цитопенией и высоким риском трансформации в ОМЛ [20]. Чаще всего заболевание манифестирует в пожилом возрасте, особенно у лиц, имеющих в анамнезе курс химиотерапии [27]. Так, в США в год обнаруживают около 75 новых случаев МДС на 100 000 человек старше 65 лет, 20-30% из них прогрессируют до ОМЛ [6]. Часто МДС определяют как предлейкозное состояние, терапевтические схемы, применяемые при лечении МДС, практически идентичны схемам терапии ОМЛ [22].

В настоящее время для лечения МДС и ОМЛ применяется несколько терапевтических стратегий. Их можно разделить на две большие группы: схемы лечения, включающие в себя цитостатические препараты, и схемы, использующие гипометилирующие антиметаболитические лекарственные средства [7].

Все быстроделющиеся клетки организма, включая здоровые лимфоциты, крайне чувствительны к воздействию препаратов первой группы. В результате воздействия этих лекарственных средств резко уменьшается абсолютное число опухолевых blastов и, как побочное нежелательное явление, количество здоровых лимфоцитов. Этот эффект элиминации клеток иммунной системы по значимости перевешивает любые изменения их функциональной активности, поэтому в этой обзорной статье будут рассмотрены эффекты только гипометилирующих препаратов на клетки иммунной системы пациентов.

Гипометилирующие препараты оказывают менее выраженное противоопухолевое действие, чем классические цитостатические препараты, но в то же время обладают меньшим спектром побочных явлений; они показаны к применению при МДС и в тех случаях ОМЛ, когда пациенту не назначается стандартная цитостатическая химиотерапия, – в основном, лицам пожилого возраста и больным, переживающим рецидив после трансплантации костного мозга [10, 17].

К группе гипометилирующих препаратов, в настоящее время широко используемых в клинической практике, относятся два лекарственных средства: 5-азациитидин и децитабин [6, 13]. Эти препараты ингибируют ДНК-метилтрансферазу, что вызывает снижение уровня метилирования ДНК и увеличение экспрессии сайлентных генов, в том числе проапоптотических (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки) [31]. Непосредственным механизмом цитотоксического действия препаратов данной группы является индукция апоптоза бластных клеток [4]. Поскольку угнетение метилирования происходит по всему геному, с некоторой вероятностью эти препараты увеличивают экспрессию генов здоровых клеток организма [25].

Было показано, что в больших дозах гипометилирующие препараты также обладают прямым

цитостатическим действием на опухолевые клетки – молекула децитабина или 5-азациитидина, будучи структурным аналогом цитидина, может встроиться в ДНК и нарушить процесс клеточного деления. Однако в терапевтических дозах действие препаратов обусловлено лишь ингибированием ДНК-метилтрансферазы [23].

НК-клетки представляют собой популяцию лимфоцитов врожденного иммунитета. Несмотря на то, что по своей природе НК-клетки принадлежат к лимфоидному ростку кровеносной системы, они относятся к клеткам врожденного иммунитета, поскольку осуществляют первую линию защиты организма, действуют уже в первые часы и не имеют специфических антигенраспознающих рецепторов, как Т- и В-лимфоциты. Можно сказать, что активность НК-клеток определяется в основном уровнем экспрессии их поверхностных рецепторов, который, в свою очередь, во многом зависит от степени метилирования генома [21].

НК-клетки обладают цитотоксической активностью по отношению к трансформированным клеткам (в том числе опухолевым), способны продуцировать цитокины, играющие важную роль в регуляции иммунного ответа. Важнейшую роль в процессе распознавания «своего» и «чужого» играют активирующие и ингибирующие рецепторы НК-клеток [2, 15]. Так, ингибирующие рецепторы (KIR2DL1/L2/L3 и др.) распознают молекулы, подтверждающие принадлежность отдельно взятой клетки организма к «своему» [28]. Со стороны потенциальной клетки-мишени особую роль в этом распознавании играет молекула главного комплекса гистосовместимости первого класса (HLA I), экспрессируемая всеми ядро-содержащими клетками организма. В том случае, если здоровая клетка прошла «проверку» со стороны НК-клетки, в последней активируются ингибирующие сигнальные пути. Таким образом, здоровые клетки организма предохраняются от цитотоксического действия НК-клеток [21]. С другой стороны, разнообразие активирующих рецепторов (KIR2DS1/S2/S3/S4/S5 и т.д.) позволяет отслеживать стрессорные молекулы, экспрессирующиеся на измененных клетках. В случае, если уровень активирующих сигналов превышает ингибирующие, в НК-клетке запускаются механизмы контактного цитолиза, увеличивается выработка $IFN\gamma$, происходит деградация цитотоксических везикул [14]. Все эти события в итоге приводят к разрушению клетки-мишени.

Эксперименты, проведенные как *in vitro*, так и *in vivo*, показывают, что гипометилирующие препараты, помимо деструктивного влияния на опухолевые клетки, воздействуют на профиль экспрессии здоровых клеток иммунной системы пациента, в том числе НК-клеток [26, 33]. Было показано, что CpG-островки некоторых генов, не активированных НК-клеток, метилированы зна-

чительно сильнее, чем те же участки генома активированных форм, а значит, метилирование ДНК значительно обуславливает функциональную активность НК-клеток [40]. Учитывая распространенность терапевтических схем, включающих гипометилирующие препараты и важнейшую роль НК-клеток в развитии онкогематологических заболеваний, важно проанализировать и обобщить накопившиеся знания, касающиеся влияния этих препаратов на фенотип и функциональную активность НК-клеток человека.

Влияние гипометилирующих препаратов на экспрессию KIR-рецепторов НК-клеток

Как было сказано выше, механизм действия 5-азациитидина и децитабина по своей природе неспецифичен, ингибирование ДНК-метилтрансферазы происходит во всех клетках организма, в результате, помимо желаемого воздействия на опухоль, изменяется профиль экспрессии генов здоровых клеток [33].

Нормальное функционирование НК-клеток зависит от репертуара и соотношения экспрессирующихся на их поверхности активирующих и ингибирующих рецепторов. Изменения уровня метилирования генома способны оказывать влияние на экспрессию этих рецепторов. Одно из важнейших семейств таких рецепторов – это KIR-рецепторы (англ. killer immunoglobulin-like receptors). По мнению некоторых авторов, модуляция экспрессии KIR-рецепторов может быть основным механизмом изменения активности НК-клеток под действием гипометилирующих препаратов [40].

KIR-рецепторы НК-клеток представляют собой семейство иммуноглобулиноподобных рецепторов, представленных на поверхности НК-клеток. Разные KIR-рецепторы распознают разные молекулы МНС I. Так, к примеру, KIR2DL1 обладает специфической аффинностью к HLA-C2, KIR3DL1 – к HLA-Bw4, а KIR3DL2 способен связываться одновременно с HLA-A3 и HLA-A11 [21]. Среди KIR-рецепторов выделяют как активирующие (имеющие во внутриклеточном домене мотив ITAM) и ингибирующие (соответственно, обладающие мотивом ITIM) рецепторы. Взаимодействие KIR-рецепторов с МНС I обуславливает цитолитическую активность НК-клетки по отношению к клетке-мишени.

Репертуар KIR-рецепторов, представленный на поверхности НК-клеток каждого человека, специфичен и относительно постоянен [21]. С помощью масс-спектрометрии по рецепторам НК-клеток (значительная часть среди них – KIR-рецепторы) было обнаружено 6000–30 000 разных «клонов» НК-клеток у отдельно взятого индивидуума, при этом было показано, что у новорожденных спектр таких «клонов» НК-клеток значительно менее разнообразен [16, 35].

В двух исследованиях Verheyden и соавт. показали, что на НК-клетках пациентов с лейкозом

экспрессируется больше ингибирующих KIR-рецепторов по сравнению со здоровыми донорами [37, 38]. Мы не обнаружили в литературе сведений о других исследованиях на эту тему, однако в фокусе внимания исследователей оказалось влияние гипометилирующих препаратов на экспрессию репертуара KIR-рецепторов.

In vitro было показано, что 5-азациитидин значительно увеличивает экспрессию как активирующих, так и ингибирующих KIR-рецепторов [34]. В том же исследовании было выявлено, что подобный феномен особенно ярко выражен среди незрелой субпопуляции НК-клеток, для которой в общем случае характерен относительно низкий уровень экспрессии KIR-рецепторов и слабое участие в процессах цитолиза [18]. Незрелые НК-клетки пролиферируют активнее, чем зрелые, при этом активность пролиферирующих НК-клеток значительно повышается под влиянием 5-азациитидина [34].

Интересен характер зависимости экспрессии KIR-рецепторов от концентрации гипометилирующего препарата. *In vitro* было показано, что экспрессия KIR-рецепторов на НК-клетках зависит от концентрации децитабина линейно, прямая имеет возрастающий характер и при изменении концентрации препарата от 0 до 20 μM экспрессия KIR-рецепторов увеличивается почти в 2 раза [23].

Похожие результаты были получены в экспериментах *in vivo* на выборке из одиннадцати пациентов с МДС, проходящих курс терапии 5-азациитидином: эффект был особенно выражен на активно пролиферирующих клетках (в качестве маркера пролиферации авторы использовали внутриклеточный белок Ki67) [34]. Подобная корреляция кажется логичной, поскольку гипометилирующие препараты, как и многие другие лекарства, использующиеся в онкологической практике, воздействуют главным образом на быстро делящиеся клетки.

Тот факт, что в физиологических условиях экспрессия аллелей KIR-рецепторов и созревание НК-клеток зависит от степени метилирования, известен давно, так что результаты, представленные выше, имеют под собой теоретическое обоснование [3].

Изменение цитотоксичности НК-клеток, опосредованное влиянием гипометилирующих препаратов

Эффекты влияния гипометилирующих препаратов на функциональную активность НК-клеток были детально изучены на моделях *in vivo* и *ex vivo*. Однако полученные результаты оказались неоднозначными.

Наиболее общей и в то же время самой показательной характеристикой НК-клеток является их способность к цитолизу опухолевых клеток-мишеней. В двух независимых исследованиях (Gao и соавт., Gang и соавт.) было показано, что предварительное культивирование НК-клеток в среде

с 5-азациитидином снижает их цитотоксическую активность против опухолевой клеточной линии K562 [11, 12]. Один из авторов предполагает, что снижение функциональной активности NK-клеток объясняется повышением экспрессии ингибирующих KIR-рецепторов и уменьшением синтеза перфорина и гранзима Б в результате гипометилирования генома [12]. Интересно, что подобный эффект наблюдался авторами только в экспериментах *in vitro*, — активность NK-клеток пациентов, проходящих курс терапии 5-азациитидином, оставалась на прежнем уровне [11].

Кардинально противоположные результаты были получены в работе Sohlberg и соавт. *In vitro* было показано, что 5-азациитидин, воздействуя на NK-клетки, ведет к увеличению их активности против клеток-мишеней той же линии K562, к усилению секреции $IFN\gamma$ и к повышению цитотоксической активности [34]. Важно заметить, что изменение функциональной активности в приведенной работе затронуло только активно пролиферирующие Kі67 NK-клетки [34].

Возможное объяснение этого противоречия в своих работах получила группа исследователей Корр и соавт. В серии экспериментов они культивировали NK-клетки в среде с другим гипометилирующим препаратом, децитабином, концентрация которого варьировалась в пределах от 0,02 до 20 μM [23]. Затем клетки отмывали и культивировали с клетками-мишенями линии 721.221, являющимися малигнизированными В-клетками, не экспрессирующими HLA-I. Благодаря отсутствию HLA-I на поверхности клеток-мишеней, NK-клеточный цитотоксический ответ не зависел от изменения уровня экспрессии KIR-рецепторов. Результаты экспериментов показали, что влияние децитабина на цитотоксичность NK-клеток является дозозависимым, кривая имеет V-образную форму. С увеличением концентрации децитабина до 0,63 μM цитотоксичность NK-клеток уменьшалась, повышение концентрации препарата выше 0,63 μM , напротив, потенцировала активность NK-клеток. Подобным же образом выглядит кривая зависимости степени метилирования генома от концентрации децитабина, добавленного в культуральную среду. Косвенным следствием сопоставления этих двух фактов является подтверждение корреляции между метилированием генома NK-клеток и их цитотоксичностью к клеткам-мишеням.

Интересные результаты были получены группой Schmiedel и соавт. [32]. В эксперименте *in vitro* они обнаружили, что продукция $IFN\gamma$ и цитотоксическая активность NK-клеток к ряду опухолевых клеточных линий увеличивалась при предварительном культивировании их в среде, содержащей 5 μM децитабина. Затем ими же было исследовано влияние 5-азациитидина в такой же концентрации на активность NK-клеток. Как ни странно, результаты были получены пря-

мо противоположные — этот гипометилирующий препарат значительно угнетал цитотоксическую активность NK-клеток и предохранял опухолевые клетки-мишени от лизиса. Стоит обратить внимание, что числовое значение концентрации децитабина лежит в том же диапазоне, в котором было показано повышение цитотоксичности в исследовании Корр и соавт., описанном выше, а значит, данные, независимо полученные двумя исследователями, согласуются между собой. Авторы утверждают, что 5-азациитидин, в отличие от децитабина, изменяет экспрессию некоторых поверхностных маркеров NK-клеток, но по приведенным ими диаграммам флюоресценции видно, что разница экспрессии минимальная. Возможным ключом к разгадке этого феномена являются результаты описанного выше исследования, показавшего V-образный характер кривой доза-эффект. Известно, что ингибирующая активность 5-азациитидина ниже таковой для децитабина. Стандартная доза децитабина 15 мг/м, тогда как для 5-азациитидина в пять раз больше — 75 мг/м, другими словами, для достижения эффекта угнетения ДНК-метилтрансферазы 5-азациитидином требуется большая концентрация препарата [19]. Исходя из этого и из того, что механизм действия этих двух препаратов практически идентичен, можно предположить, что точка минимума на V-образной кривой для 5-азациитидина (аналогичной кривой, полученной Корр и соавт. для децитабина) находится в области более высоких концентраций. Другими словами, 5 μM 5-азациитидина — концентрация, соответствующая части кривой, отражающей слабую способность к лизису клеток-мишеней, тогда как 5 μM децитабина, напротив, концентрация, достаточная для усиления NK-клеточной активности.

В исследовании *in vitro*, посвященном изучению потенциально эффективной для лечения ОМЛ комбинации децитабина и анти-CD33 моноклональных антител, было показано, что NK-клетки пациентов, получающих децитабин, проявляют увеличенную антитело-зависимую клеточную цитотоксичность по отношению к CD33⁺ клеткам-мишеням [36]. Известно, что антитело-зависимая клеточная цитотоксичность NK-клеток опосредуется рецептором к Fc-фрагменту IgG (CD16). К сожалению, авторы не исследовали экспрессию CD16 на NK-клетках, инкубированных в среде, содержащей децитабин, да и в целом, на настоящий момент нет ни одного исследования, достоверно показывающего изменение экспрессии CD16 под действием гипометилирующих препаратов.

Изменение поверхностного фенотипа опухолевых клеток под действием гипометилирующих препаратов, ведущее к увеличению NK-клеточной цитотоксичности

В работе Vasu и соавт. было исследовано влияние децитабина на бластные опухолевые клетки

костного мозга. На 28-й день инкубации blastov в среде, содержащей децитабин, авторы обнаружили значительное повышение концентрации внутриклеточной РНК лигандов к рецептору NKG2D (активирующему NK-клеточному рецептору): MICA, MICB, ULPB-1, ULPB-2 и ULPB-3 [36]. Более того, группа исследователей Raneros и соавт. изучила влияние децитабина на металлопротеиназу ADAM17, которая в большинстве опухолевых клеток «срезает» молекулы класса MIC и ULBP и переводит их в растворимую форму [29, 30]. Такие «свободные» лиганды взаимодействуют с NKG2D на поверхности NK-клетки и блокируют этот активирующий рецептор, препятствуя нормальной активации NK-клетки. Децитабин увеличивает экспрессию внутриклеточного фактора TIMP3, который ингибирует металлопротеиназу ADAM17 и предотвращает уход опухолевых клеток от иммунологического надзора описанным способом [29]. Таким образом, децитабин повышает NK-клеточную цитотоксичность к опухолевым клеткам как минимум двумя упомянутыми способами.

Известно, что, помимо белков классов MIC и ULBP, металлопротеаза ADAM17 «срезает» целый ряд других мембранных молекул, в том числе играющих важную роль в развитии противоопухолевого ответа: PD-L1, LAG-3, CD16, Nectin-4 [43]. Действительно, в одной из работ было показано, что под воздействием гипометилирующих препаратов значительно увеличивается экспрессия PD-1, PD-L1, PD-L2 и CTLA-4 на опухолевых клетках пациентов с МДС и ОМЛ [41]. Результаты, полученные в этом исследовании, показали возможность использования в терапевтических целях комбинаций децитабина и моноклональных антител. Так, в одной из недавних работ было продемонстрировано значительное увеличение эффективности комбинации малых доз децитабина и анти-PD-1 блокирующих антител, а в данный момент проводятся несколько клинических испытаний подобных терапевтических комбинаций [42].

Заключение

Таким образом, гипометилирующие препараты значительно влияют на профиль экспрессии рецепторов на поверхности NK-клеток и, как следствие, на их цитотоксическую активность. Однако характер этих воздействий не вполне однозначен. Противоречие обнаруживается главным образом в результатах экспериментов по оценке цитотоксичности NK-клеток, предварительно инкубированных в среде с препаратом гипометилирующего ряда. Две группы исследователей показали, что 5-азациитидин подавляет активность NK-клеток, тогда как другая группа получила прямо противоположные результаты. Объяснение этому может быть получено в по-

казанной для децитабина, но пока не обнаруженной для 5-азациитидина, V-образной кривой зависимости NK-клеточной цитотоксичности от концентрации экспонируемого 5-азациитидина. Другое возможное объяснение упомянутого парадокса может заключаться в том, что децитабин, будучи производным дезоксирибонуклеиновой кислоты, может инкорпорироваться только в ДНК, тогда как 5-азациитидин – производное рибонуклеиновой кислоты, способен встраиваться и в ДНК, и в РНК. Таким образом, при экспозиции 5-азациитидина теоретически возможно угнетение белковой экспрессии из-за нарушения синтеза мРНК. Никаких конкретных исследований для разрешения данного противоречия проведено не было.

В ряде работ показано, что воздействие гипометилирующих препаратов на NK-клетки приводит к изменению их поверхностного фенотипа. Так, значительно повышается экспрессия KIR-рецепторов, одних из главных функциональных поверхностных молекул NK-клеток. Увеличение экспрессии затрагивает как активирующие, так и ингибирующие KIR-рецепторы, так что однозначного ответа на вопрос о том, благоприятно ли сказывается это изменение на противоопухолевой активности NK-клеток, нет, однако сам факт увеличения репертуара распознающих NK-клеточных рецепторов может быть интерпретирован как признак увеличения их чувствительности по отношению к опухолевым клеткам.

Наконец, повышение экспрессии поверхностных лигандов к рецепторам NK-клеток под влиянием децитабина на опухолевых клетках хоть и косвенно, все же влияет на активность NK-клеток и может быть важным механизмом противоопухолевой активности гипометилирующих препаратов.

Необходимо отметить, что большинство исследований о влиянии гипометилирующих препаратов на фенотип и функциональную активность NK-клеток проведено на моделях *in vitro*. На сегодняшний день мало работ, в которых изучали бы аналогичные фенотипические и функциональные изменения NK-клеток на пациентах, проходящих курс лечения децитабином или 5-азациитидином. Конечно, результаты подобных экспериментов могут отличаться от описанных выше, ведь значительная часть фармакологического эффекта обусловлена фармакокинетическими особенностями препарата, которые не могут быть в полной мере учтены в условиях *in vitro*. Однако такие данные позволяют строить гипотезы и правильно планировать эксперимент, исходя из предположений, основанных на моделях *ex vivo*.

Список литературы / References

1. Almeida A.M., Ramos F. Acute myeloid leukemia in the older adults. *Leuk. Res. Rep.*, 2016, Vol. 6, pp. 1-7.
2. Carrillo-Bustamante P., Kesmir C., de Boer R.J. The evolution of natural killer cell receptors. *Immunogenetics*, 2016, Vol. 68, no. 1, pp. 3-18.
3. Chan H.W., Kurago Z.B., Stewart C.A. et al. DNA methylation maintains allele-specific KIR gene expression in human natural killer cells. *J. Exp. Med.*, 2003, Vol. 197, no. 2, pp. 245-255.
4. Christman J.K. 5-Azacytidine and 5-aza-2'-deoxycytidine as inhibitors of DNA methylation: mechanistic studies and their implications for cancer therapy. *Oncogene*, 2002, Vol. 21, no. 35, pp. 5483-5495.
5. Cogle C.R. Incidence and burden of the myelodysplastic syndromes. *Curr. Hematol. Malig. Rep.*, 2015, Vol. 10, no. 3, pp. 272-281.
6. Dan H., Zhang S., Zhou Y., Guan Q. DNA Methyltransferase inhibitors: catalysts for antitumour immune responses. *Onco Targets Ther.*, 2019, Vol. 12, pp. 10903-10916.
7. Daneshbod Y., Kohan L., Taghadosi V., Weinberg O.K., Arber D.A. Prognostic significance of complex karyotypes in acute myeloid leukemia. *Curr. Treat. Options Oncol.*, 2019, Vol. 20, no. 2, 15. doi: 10.1007/s11864-019-0612-y.
8. Döhner H., Weisdorf D.J., Bloomfield C.D. Acute myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2015, Vol. 373, no. 12, pp. 1136-1152.
9. Estey E.H. Acute myeloid leukemia: 2019 update on risk-stratification and management. *Am. J. Hematol.*, 2018, Vol. 93, no. 10, pp. 1267-1291.
10. Fenaux P., Mufti G.J., Hellström-Lindberg E. Azacitidine prolongs overall survival compared with conventional care regimens in elderly patients with low bone marrow blast count acute myeloid leukemia. *J. Clin. Oncol.*, 2010, Vol. 28, no. 4, pp. 562-569.
11. Gang A.O., Frosig T.M., Brimnes M.K. 5-Azacytidine treatment sensitizes tumor cells to T-cell mediated cytotoxicity and modulates NK cells in patients with myeloid malignancies. *Blood Cancer J.*, 2014, Vol. 4, no. 3, e197. doi: 10.1038/bcj.2014.14.
12. Gao X.N., Lin J., Wang L.L., Yu L. Demethylating treatment suppresses natural killer cell cytolytic activity. *Mol Immunol.*, 2009, Vol. 46, no. 10, pp. 2064-2070.
13. Gardin C., Dombret H. Hypomethylating agents as a therapy for AML. *Curr. Hematol. Malig. Rep.*, 2017, Vol. 12, no. 1, pp. 1-10.
14. Gardiner C.M. NK cell metabolism. *J. Leukoc. Biol.*, 2019, Vol. 105, no. 6, pp. 1235-1242.
15. Hoglund P., Brodin P. Current perspectives of natural killer cell education by MHC class I molecules. *Nat. Rev. Immunol.*, 2010, Vol. 10, no. 10, pp. 724-734.
16. Horowitz A., Strauss-Albee D.M., Leipold M., Kubo J., Nemat-Gorgani N., Dogan O.C., Dekker C.L., Mackey S., Maecker H., Swan G.E., Davis M.M., Norman P.J., Guethlein L.A., Desai M., Parham P., Blish C.A. Genetic and environmental determinants of human NK cell diversity revealed by mass cytometry. *Sci. Transl. Med.*, 2013, Vol. 5, no. 208, 208ra145. doi: 10.1126/scitranslmed.3006702.
17. Hourigan C.S., Karp J.E. Development of therapeutic agents for older patients with acute myelogenous leukemia. *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 2010, Vol. 11, no. 6, pp. 669-677.
18. Jacobs B., Tognarelli S., Poller K., Bader P., Mackensen A., Ullrich E. NK Cell subgroups, phenotype, and functions after autologous stem cell transplantation. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, p. 583. doi: 10.3389/fimmu.2015.00583.
19. Kantarjian H.M., Issa J.P. Decitabine dosing schedules. *Semin. Hematol.*, 2005, Vol. 42, no. 3, Suppl. 2, pp. S17-S22.
20. Kennedy J.A., Ebert B.L. Clinical implications of genetic mutations in myelodysplastic syndrome. *J. Clin. Oncol.*, 2017, Vol. 35, no. 9, pp. 968-974.
21. Campbell K.S., Hasegawa J. Natural killer cell biology: an update and future directions. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2013 Vol. 132, Iss. 3, pp. 536-544.
22. Koeffler H.P., Leong G. Preleukemia: one name, many meanings. *Leukemia*, 2017, Vol. 31, no. 3, pp. 534-542.
23. Kopp L.M., Ray A., Denman C.J., Senyukov V.S., Somanchi S.S., Zhu S., Lee D.A. Decitabine has a biphasic effect on natural killer cell viability, phenotype, and function under proliferative conditions. *Mol. Immunol.*, 2013, Vol. 54, no. 3-4, pp. 296-301.
24. Kuykendall A., Duployez N., Boissel N., Lancet J.E., Welch J.S. Acute myeloid leukemia: the good, the bad, and the ugly. *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. Book*, 2018, Vol. 38 pp. 555-573.
25. Lindblad K.E., Goswami M., Hourigan C.S., Oetjen K.A. Immunological effects of hypomethylating agents. *Expert Rev. Hematol.*, 2017, Vol. 10, no. 8, pp. 745-752.
26. Ma Y.Y., Zhao M., Liu Y. et al. Use of decitabine for patients with refractory or relapsed acute myeloid leukemia: a systematic review and meta-analysis. *Hematology*, 2019, Vol. 24, no. 1, pp. 507-515.
27. Montalban-Bravo G., Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. *Am. J. Hematol.*, 2018, Vol. 93, no. 1, pp. 129-147.

28. Muntasell A., Ochoa M.C., Cordeiro L. et al. Targeting NK-cell checkpoints for cancer immunotherapy. *Curr. Opin. Immunol.*, 2017, Vol. 45 pp. 73-81.
29. Raneros A.B., Minguela A., Rodriguez R.M., Colado E., Bernal T., Anguita E., Mogorron A.V., Gil A.C., Vidal-Castiñeira J.R., Márquez-Kisinousky L., Bulnes P.D., Marin A.M., Garay M.C.G., Suarez-Alvarez B., Lopez-Larrea C. Increasing TIMP3 expression by hypomethylating agents diminishes soluble MICA, MICB and ULBP2 shedding in acute myeloid leukemia, facilitating NK cell-mediated immune recognition. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 19, pp. 31959-31976.
30. Rohner A., Langenkamp U., Siegler U., Kalberer C.P., Wodnar-Filipowicz A. Differentiation-promoting drugs up-regulate NKG2D ligand expression and enhance the susceptibility of acute myeloid leukemia cells to natural killer cell-mediated lysis. *Leuk. Res.*, 2007, Vol. 31, no. 10, pp. 1393-1402.
31. Sato T., Issa J.J., Kropf P. DNA hypomethylating drugs in cancer therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 2017, Vol. 7, no. 5, a026948. doi: 10.1101/cshperspect.a026948.
32. Schmiedel B.J., Arelin V., Gruenebach F., Krusch M., Schmidt S.M., Salih H.R. Azacytidine impairs NK cell reactivity while decitabine augments NK cell responsiveness toward stimulation. *Int. J. Cancer*, 2011, Vol. 128, no. 12, pp. 2911-2922.
33. Seelan R.S., Mukhopadhyay P., Pisano M.M., Greene R.M. Effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) on gene expression. *Drug Metab. Rev.*, 2018, Vol. 50, no. 2, pp. 193-207.
34. Sohlberg E., Pfeifferle A., Andersson S., Baumann B.C., Hellstrom-Lindberg E., Malmberg K.J. Imprint of 5-azacytidine on the natural killer cell repertoire during systemic treatment for high-risk myelodysplastic syndrome. *Oncotarget*, 2015, Vol. 6, no. 33, pp. 34178-34190.
35. Strauss-Albee D.M., Fukuyama J., Liang E.C. et al. Human NK cell repertoire diversity reflects immune experience and correlates with viral susceptibility. *Sci. Transl. Med.*, 2015, Vol. 7, 297, 297ra115. doi: 10.1126/scitranslmed.aac5722.
36. Vasu S., He S., Cheney C. Decitabine enhances anti-CD33 monoclonal antibody BI 836858-mediated natural killer ADCC against AML blasts. *Blood*, 2016, Vol. 127, no. 23, pp. 2879-2889.
37. Verheyden S., Bernier M., Demanet C. Identification of natural killer cell receptor phenotypes associated with leukemia. *Leukemia*, 2004, Vol. 18, no. 12, pp. 2002-2007.
38. Verheyden S., Demanet C. Susceptibility to myeloid and lymphoid leukemia is mediated by distinct inhibitory KIR-HLA ligand interactions. *Leukemia*, 2006, Vol. 20, no. 8, pp. 1437-1438.
39. Wang E.S. Treating acute myeloid leukemia in older adults. *Hematology. Am. Soc. Hematol. Educ. Program*, 2014, Vol. 1, pp. 14-20.
40. Wiencke J.K., Butler R., Hsuang G. et al. The DNA methylation profile of activated human natural killer cells. *Epigenetics*, Vol. 11, no. 5, pp. 363-380.
41. Yang H., Bueso-Ramos C., DiNardo C., Estecio M.R., Davanlou M., Geng Q.R., Fang Z., Nguyen M., Pierce S., Wei Y., Parmar S., Cortes J., Kantarjian H., Garcia-Manero G. Expression of PD-L1, PD-L2, PD-1 and CTLA4 in myelodysplastic syndromes is enhanced by treatment with hypomethylating agents. *Leukemia*, 2014, Vol. 28, no. 6, pp. 1280-1288.
42. Yu G., Wu Y., Wang W., Xu J., Lv X., Cao X., Wan T. Low-dose decitabine enhances the effect of PD-1 blockade in colorectal cancer with microsatellite stability by re-modulating the tumor microenvironment. *Cell. Mol. Immunol.*, 2019, Vol. 16, no. 4, pp. 401-409.
43. Zunke F., Rose-John S. The shedding protease ADAM17: physiology and pathophysiology. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell. Res.*, 2017, Vol. 1864, no. 11, Pt B, pp. 2059-2070.

Авторы:

Жигарев Д.И. — аспирант кафедры иммунологии МБФ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Хорева М.В. — д.м.н., доцент, профессор кафедры иммунологии МБФ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Ганковская Л.В. — д.м.н., профессор, заведующая кафедрой иммунологии МБФ ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Zhgarev D.I., Postgraduate Student, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Khoreva M.V., PhD, MD (Medicine), Associate Professor, Professor, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Gankovskaya L.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Immunology, N. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Поступила 20.10.2020
Принята к печати 09.01.2021

Received 20.10.2020
Accepted 09.01.2021