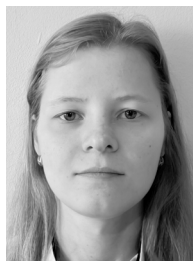


Аннотация. На примере генетически модифицированных химерным антигенным рецептором (CAR) естественных киллерных клеток (NK) рассмотрены достижения последних лет в области иммунотерапии онкологических заболеваний. С учетом биологических особенностей NK-клеток определены основные преимущества и особенности активно развивающегося направления в области медицинской генной инженерии – технологии CAR-NK. В отличие от CAR-T, CAR-NK демонстрируют сниженный риск побочных реакций, что позволяет создавать универсальные аллогенные конструкции. Врожденная способность NK-клеток распознавать опухолевые клетки независимо от комплекса МНС усиливается за счет дополнительных генетических модификаций, включая вставку генов провоспалительных цитокинов. Перспективным направлением остается преодоление иммуносупрессивного микроокружения солидных новообразований, а также повышение устойчивости NK-клеток к апоптозу. Текущие клинические испытания подтверждают безопасность и эффективность CAR-NK при злокачественных новообразованиях, что стимулирует дальнейшие разработки в этом направлении.

Ключевые слова: химерный антигенный рецептор (CAR), CAR-NK, цитокины, иммунотерапия, генная инженерия.

Для цитирования: Лебедева Ю., Вашкевич Е., Белевцев М. Технология CAR-NK: новые шаги в лечении онкологических заболеваний // Наука и инновации. 2026. №9. С. 79–83.

<https://doi.org/10.29235/1818-9857-2026-09-79-83>



Юлия Лебедева,
младший научный сотрудник
лаборатории иммунологических
исследований РНПЦ детской
онкологии, гематологии и
иммунологии;
lebedevaula859@gmail.com



Екатерина Вашкевич,
старший научный
сотрудник РНПЦ
детской онкологии,
гематологии и
иммунологии;
immunology@oncology.by



Михаил Белевцев,
заместитель директора
по науке РНПЦ детской
онкологии, гематологии и
иммунологии, кандидат
биологических наук, доцент;
belevtsev_m@mail.ru

Технология CAR-NK:

новые шаги в лечении онкологических заболеваний

УДК [616:155.33:577.175.14]:57.08

Значительный прогресс в области генетической инженерии привел к разработке принципиально нового подхода в лечении онкологических заболеваний, основанного на применении модифицированных химерным антигенным рецептором иммунных клеток, в частности Т и NK, – наиболее изученными объектами для применения этой технологии. Для получения CAR-продукта можно использовать клетки пациента, однако в данном случае и CAR-T, и CAR-NK объединяет общий недостаток – сниженный пролиферативный потенциал после лечения с помощью химиотерапии. Решением данной проблемы выступает переход на аллогенный продукт. Преимущество в данном случае принадлежит NK-клеткам, применение которых, в отличие от CAR-T, сопряжено с существенно более низким риском развития таких побочных эффектов, как реакция «трансплантат против хозяина», синдром высвобождения цитокинов, нейротоксичность, вторичный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз [1].

NK-клетки могут быть получены из различных источников. Наиболее доступный среди них – периферическая кровь. Выделенные из нее экземпляры имеют зрелый фенотип, характеризующийся наличием готовых к активации KIR-рецепторов. Около 90% данных клеток относятся к субпопуляции CD56dimCD16bright, что

обуславливает их высокую цитотоксическую активность и степень дегрануляции после встречи с мишенью. Более низкая цитотоксичность свойственна NK-клеткам пуповинной крови. Они обладают большим пролиферативным потенциалом, характеризуются высокой экспрессией хемокина CXCR3 и низкой – CD16, KIR, DNAM, гранзима B.

Важно отметить, оба эти типа требуют времени для экспансии, которая длится от 7 до 21 дней в присутствии интерлейкинов IL-2 или IL-15, стимулирующих рост и активацию NK-, или в присутствии фидерных клеток: линии K562, HFWT, периферической крови и др. [2].

Также применяются для получения CAR-NK стволовые клетки: они легко подвергаются модификации, но этап их дифференцировки считается трудозатратным. В свою очередь клеточные линии (например, NK-92, NKG, YT) опухолевого происхождения как один из источников NK-клеток имеют свои преимущества – высокий уровень экспансии и простоту модификации – и недостатки: дефектный фенотип (отсутствие рецептора CD16, обеспечивающего антителозависимую клеточную цитотоксичность) и сниженную персистенцию вследствие облучения перед инфузией [3].

С учетом перечисленных особенностей каждого из источников их выбор определяется возможностями лаборатории. Полученные CAR-NK можно хранить, подвергнув криоконсервации, и использовать по принципу «off-the-shelf», который подразумевает создание банка готовых к применению клеток от универсального донора, минуя этап индивидуальной подготовки клеточного продукта.

Одно из преимуществ CAR-NK – способность проявлять реакцию «трансплантат против лейкоза» (РТПЛ), но возможное отторжение аллогенных NK-клеток, вызванное распознаванием CD8+ Т-лимфоцитами пациента чужеродных HLA-I, может снижать эффективность их применения. В работе [4] в 2025 г. была реализована попытка устранить данный недостаток с помощью технологии CRISPR/Cas9. В результате были получены CAR-NK клетки с нокаутированными HLA-I генами. Они дополнительно экспрессировали молекулу PD-L1, которая при связывании с рецептором PD-1 на поверхности CD8+ и других субпопуляциях Т-лимфоцитов реципиента запускала их апоптоз.

Противоопухолевая активность CAR-NK может быть подавлена ингибирующими KIR (Killer-cell immunoglobulin-like Receptor) донора (KIR2DL1, 2DL2/3, 3DL1, 3DL2), связавшись с лигандами на клетках-мишенях пациента – HLA-I (HLA-A, HLA-C1/C2, HLA-Bw4). KIR могут быть заблокированы при помощи моноклональных антител, например Lirilumab (связывается с KIR2DL1/2/3). Предпочтительнее выбирать донора, набор ингибирующих KIR которого не распознает HLA-I пациента, при этом имеются активирующие KIR2DS1, KIR2DS2, KIR3DS1. Принцип несоответствия пары ингибирующих KIR/HLA используется и при трансплантации гемопоэтических стволовых клеток реципиенту. Однако в одном из ретроспективных исследований было показано, что у детей с острым миелоидным и лимфоидным лейкозами (ОМЛ и ОЛЛ) данный подход, в отличие от взрослых, не снижал риск рецидива. В другом случае при изучении гаплоидентичной трансплантации несовме-

стимость по KIR способствовала 65% выживаемости в сравнении с 51% у совместимой по KIR/HLA, а присутствие у донора гаплотипа KIR с активирующим рецептором KIR2DS2 повышало выживаемость больных до 69%.

Можно отметить, что при исследовании экспрессии генов KIR реципиента после трансплантации уровень мПНК, ингибирующих KIR (KIR2DL1/2, и KIR3DL1), возростал, а активирующих KIR донора (KIR2DS1, 3, 4, 5) варьировал, постепенно повышаясь в течение 3 мес. после трансплантации [5].

Подбор донора и выбор источника NK-клеток подводит к задаче конструирования и оптимизации CAR-рецептора. Любой CAR состоит из обязательных компонентов: внеклеточного домена (scFv, Single-chain variable Fragment), обеспечивающего распознавание несущей его клеткой молекулы-мишени; трансмембранного домена, функционирующего как якорь в мембране и обуславливающего гибкость и кластеризацию рецептора; внутриклеточного домена, передающего активационный сигнал внутрь клетки, вызывая ответ. Домен scFv отвечает за специфичность несущих его клеток к поверхностным молекулам и, следовательно, определяет уклон получаемого продукта в определенную нозологию.

С помощью данных сайта www.clinicaltrials.gov нами было проанализировано разнообразие мишеней, против которых создавались CAR-NK. Среди 69 исследований, находящихся на стадии набора пациентов, в сумме на мишени-маркеры В-клеточных лимфом и лейкозов CD19, CD22 и CD70 приходится 34,8% клеточных продуктов; против мишени множественной миеломы (BCMA) – 13%; против мишеней миелоидного

происхождения CD123, CD33 и CLL-1 – суммарно 11,6%; против антигена эпидермального фактора роста (протоонкоген HER2) – 8,6%; антигена трофобластных клеток (TROP2) – 7,2%. Также встречаются единичные испытания, где были получены CAR-NK против маркеров нейробластомы (GD2, B7H3), рака предстательной железы (PSMA) и рака яичника (CLDN6). Можно заключить, что, несмотря на многообразие мишеней, наиболее эффективными для терапии CAR-NK по-прежнему являются антигены гемобластозного происхождения (CD19/22/70, BCMA и др.), что обусловлено их доступностью для иммунных клеток и отсутствием репрессирующего опухолевого микроокружения, как в случае с терапией солидных опухолей.

Не менее широк и выбор других компонентов CAR-рецептора. К его внеклеточной части относится шарнирный домен (участки IgG1/4, CD8a, CD28), способству-

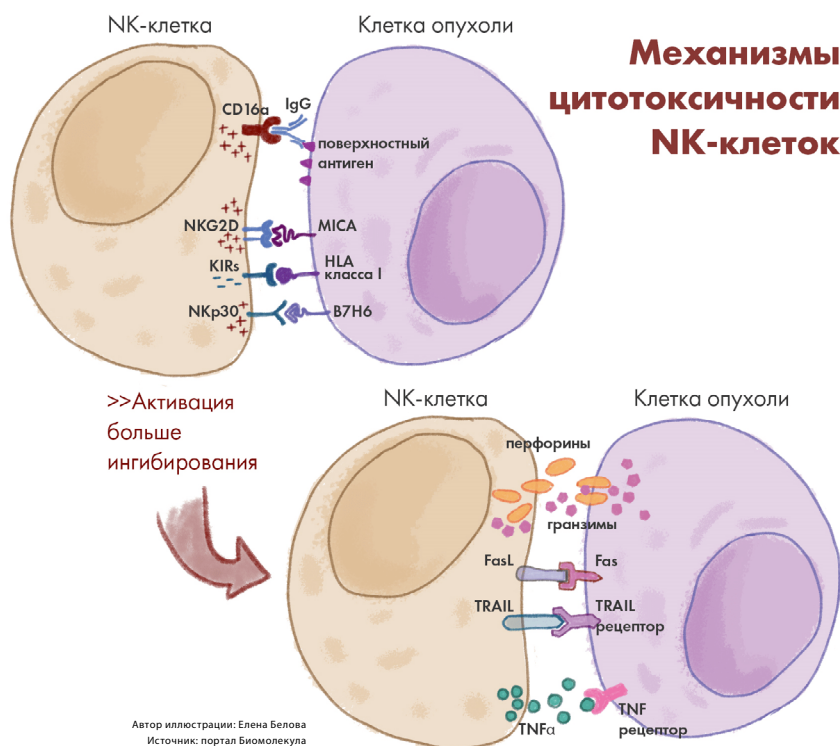
ющий гибкости и подвижности scFv, а также димеризации CAR. Выбор данного домена зависит от особенностей структуры эпитопа (антигена для CAR) на клетке-мишени: как правило, чем дальше от мембраны располагается эпитоп (или чем больше он экранирован гликопротеинами мембраны), тем более короткий шарнирный участок нужен для его распознавания scFv [6].

Внутриклеточная структура CAR включает сигнальные (CD3 ζ , CD28, DAP10/12) и костимулирующие (2B4, 4 1BB, OX40) домены. Первые содержат последовательности ITAM, обеспечивающие запуск и передачу активационного сигнала к ядру клетки, вторые – мотивы, специфичные к киназам (YMNМ, YMXMXPxP, TRAF). Их присутствие активирует и продлевает персистенцию клеток после связывания scFv с мишенью. Известно, что CAR, разработанные для Т-клеток и содержащие домены CD3 ζ и CD28

или 4-1BB, являются функциональными и в НК-клетках [7]. Конструирование CAR-NK выполняется способом, идентичным описанному.

Структура CAR-рецептора искусственна, она представляет собой «химеру» и легко подвергается модификациям. В связи с этим интерес представляют молекулы, присущие исключительно НК-клеткам: 2B4, NKG2D, NKp44/NKp46, DAP10 и др. Возможность использования DAP10/DAP12 и 2B4/CD28 в качестве эффективных аналогов CD3 ζ и 4 1BB соответственно была подтверждена исследованиями. Например, CAR, содержащие конструкцию 2B4-DAP12, усиливали цитотоксическую активность НК-клеток в сравнении с вариантом, включающим домены 4 1BB-CD3 ζ [8]. Также было показано, что CAR-NK, в структуре рецептора которых есть сигнальный домен DAP12, превосходят CD3 ζ по уровню цитотоксичности [9]. В другой работе CAR-NK с конструкцией DNAM-1-2B4 имели более высокий уровень цитотоксичности против гепатоцеллюлярной карциномы, чем вариант с сигнальным доменом CD3 ζ вместо 2B4. Сравнение 7 комбинаций доменов CAR показало, что наиболее эффективной была конструкция CAR-NK, содержащая CD8TM-OX40-CD3 ζ , (или CAR1) [10]. Добавление трансмембранного и сигнального доменов молекулы CD28 в структуру CAR инициирует цитотоксическую активность и пролиферацию CAR-NK-клеток посредством активации протеинкиназы ZAP70 [11].

Одним из лимитирующих факторов для реализации технологии CAR-NK, помимо оптимизации структуры CAR, выступает проблема эффективной модификации НК-клеток. Она может



происходить непосредственно путем внедрения ДНК или РНК, несущих трансген (трансфекция), либо при помощи вирусных частиц (трансдукция). Многочисленные попытки оптимизировать эти методы, предпринятые разными исследовательскими группами, позволили выявить ряд существенных их особенностей.

Трансфекция наиболее часто реализуется путем физической пермеабилзации клеток под воздействием электрического поля электропорации и является временной модификацией. Экспрессия трансгена с трансферной мРНК ограничена 72 ч, но в случае с ДНК она может длиться до 15 дней. В обоих случаях после электропорации наблюдается низкая жизнеспособность НК-клеток. Как было показано в одном из исследований, уровень трансфекции НК-клеток донора мРНК может достигать 81%, в случае с линией NK-92 – 47%, при помощи ДНК клеток – 40%.

Для лентив-, ретровирусной трансдукции характерна длительная экспрессия, поскольку трансген встраивается непосредственно в геном НК-клетки. Вследствие того, что последние имеют естественные механизмы защиты от проникновения вирусной РНК и кДНК, были изучены возможности повышения уровня их трансдукции при помощи ингибиторной молекулы класса аминопиримидинов – ВХ795, блокирующей PDK1 и сигнальный путь TBK1/IKKε. Повторная трансдукция вирусными частицами также повышает выход НК-клеток, экспрессирующих трансген.

Помимо этого, требуется нейтрализация отрицательного заряда вирусных частиц, который в естественных условиях мешает им проникать в клетку.

Для этого применяют катионные полимерные молекулы, например полибрен или сульфат протамина. Для повышения вероятности соприкосновения вируса и клеток используют трансдуцирующие агенты ретронектин и/или вектофузин-1. Ретронектин, или рекомбинантный фибронектин, повышает эффективность трансдукции при помощи закрепления и стабилизации вирусных частиц. Вектофузин-1 – катионный амфифильный пептид, который способствует адгезии и слиянию вирусных частиц с клетками-мишенями. Активированное состояние НК-клеток также существенно влияет на уровень их трансдукции. Например, было показано, что при трансдукции неактивированных НК-клеток с помощью ВХ795 и ретронектина экспрессия CAR составила 14–22%, тогда как у предварительно активированных клеток, трансдуцированных вышеупомянутыми агентами, эффективность трансдукции была 79–89%. Повысить ее уровень также можно при помощи длительного центрифугирования НК-клеток совместно с вирусными частицами при низких оборотах и определенной температуре (спинокуляция) [12].

Чаще всего для трансдукции задействуют лентивирусные частицы, и эффективность процесса зависит от псевдотипа (VsV-g, BaEV, RD-114) самого вируса, выбор которого определяется аффинностью рецепторов целевых клеток [13]. Известно, что вирусные частицы, несущие гликопротеины вируса оболочки бабуина (BaEV), способны эффективно проникать в НК-клетки, поскольку на их поверхности присутствуют требуемые для этого лиганды – рецепторы ASCT1 и ASCT2. К тому же, в отличие от RD-114, вирус оболочки бабуина

способен связываться с гликозилированным ASCT1. Уровень трансдукции такими вирусными частицами варьирует от 10 до 70% в зависимости от протокола и источника NK-клеток [14].

Полученные CAR-NK, даже с учетом применения описанных выше нововведений, имеют низкий уровень персистенции после инфузии. Однако в настоящий момент популярна такая стратегия, как внедрение в состав несущего CAR вектора последовательности гена IL-15.

IL-15 секретируется НК-клетками в очень низких количествах. Известно, что синтез данного цитокина дендритными клетками, моноцитами и гранулоцитами способствует развитию НК-клеток, улучшает их выживаемость и поддерживает активированное состояние [15]. Это обусловлено присутствием на поверхности НК-клеток рецепторов для IL-15 – IL-15Rα и IL-2/15Rβγ. Наличие на мембране указанных клеток комплекса IL-15/IL-15Rα (после связывания с экзогенным IL-15) позволяет им взаимодействовать с соседними клетками, несущими рецептор IL-2/15Rβγ, в то числе и с другими НК.

Известно, что активированные при помощи IL-15 НК-клетки проявляют более высокую цитотоксическую активность в отношении бластов при ОМЛ в сравнении с контрольными [4], а также обладают повышенной выживаемостью – их уровень после инфузии пациенту детектировался в течение 12 мес. [16]. Несмотря на это, экспрессия IL-15 в секретируемой форме может быть летальной, что было показано на примере мышинной модели с ОМЛ. В данном исследовании CAR-NK, содержащие сигнальный домен 2B4 и секреторный IL-15, дольше находились в активированном

состоянии и персистировали *in vivo* в сравнении с контрольными, не экспрессирующими цитокин. Однако было показано, что IL-15 способствовал проявлению цитокинового шторма, чрезмерной инфильтрации NK-клетками костного мозга и селезенки, что вызывало повреждение упомянутых органов [17]. Вследствие этого факта поздние работы ориентированы на применение IL-15 в мембраносвязанной форме. Так, в работе 2025 г. было показано, что заякоренное в мембране положение комплекса IL-15/IL-15Ra предотвращает секрецию IL-15 во внеклеточное пространство, что проявлялось в отсутствии выраженных побочных эффектов после инфузии CAR-NK против мишени B7H3 [18].

Таким образом, при разработке технологии CAR-NK необходимо учитывать следующее:

- в качестве объекта модификации допустимо использовать аллогенные NK-клетки, однако в этом случае можно принимать в расчет репертуар KIR-рецепторов донора и HLA-лигандов пациента;
- выбор источника NK-клеток зависит от поставленных задач исследования и возможностей лаборатории;
- оптимизация структуры CAR для NK-клеток оказывает решающее влияние на их активацию и выживаемость при встрече с антигеном, однако во многих случаях уже существующие для T-клеток конструкции CAR эффективны и для NK-клеток;
- варьирование параметров трансфекции или трансдукции значительно влияет на выход CAR-NK.

В сравнении с CAR-T, применение CAR-NK более безопасно,

■ **Summary.** Using genetically modified natural killer (NK) cells expressing a chimeric antigen receptor (CAR) as an example, recent advances in the field of cancer immunotherapy are reviewed. Taking into account the biological characteristics of NK cells, the main advantages and features of CAR-NK technology, an actively developing area of medical genetic engineering, are identified. Unlike CAR-T, CAR-NK cells demonstrate a reduced risk of adverse reactions, which enables the creation of «universal» allogeneic constructs. The innate ability of NK cells to recognize tumor cells independently of the MHC complex is enhanced through additional genetic modifications, including the insertion of genes encoding pro-inflammatory cytokines. Overcoming the immunosuppressive tumor microenvironment of solid malignancies remains a promising direction, as does increasing the resistance of NK cells to apoptosis. Current clinical trials confirm the safety and efficacy of CAR-NK cells in malignant neoplasms, which stimulates further developments in this field.

■ **Keywords:** chimeric antigen receptor, CAR-NK, cytokines, immunotherapy, genetic engineering.

■ <https://doi.org/10.29235/1818-9857-2026-09-79-83>

а недостаток, связанный со сниженной персистенцией, может быть решен путем их дополнительной модификации геном IL-15 в секретируемой форме. Однако его бесконтрольный синтез может стать причиной побочных эффектов и привести к летальному исходу, поэтому ведутся исследования мембраносвязанной формы IL-15, синтез которого не связан с проявлением токсических эффектов. ■

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Efficacy and safety of natural killer cell therapy in patients with solid tumors: a systematic review and meta-analysis / H. Park [et al.] // *Frontiers in Immunology*. 2024. Vol. 15. P. 1454427.
2. NK-cell based cancer immunotherapy: from basic biology to clinical development / S. Liu [et al.] // *Journal of Hematology & Oncology*. 2021. Vol. 14, №7. P. 17.
3. Wu X. Gene-edited and CAR-NK cells: Opportunities and challenges with engineering of NK cells for immunotherapy / X. Wu, S. Matosevic // *Molecular therapy oncolytics*. 2022. Vol. 27. P. 224–238.
4. Selective HLA knockdown and PD-L1 expression prevent allogeneic CAR-NK cell rejection and enhance safety and anti-tumor responses in xenograft mice / F. Liu [et al.] // *Nature communications*. 2025. Vol.16, №1. P. 8809.
5. KIR Receptors as Key Regulators of NK Cells Activity in Health and Disease / J. Dębska-Zielkowska [et al.] // *Cells*. 2021. Vol. 10, №7. P. 1777.
6. The IgG4 hinge with CD28 transmembrane domain improves VHH-based CAR T cells targeting a membrane-distal epitope of GPC1 in pancreatic cancer / N. Li [et al.] // *Nature communications*. 2023. Vol. 14, №1. P. 1986.
7. Herrera L. Adult peripheral blood and umbilical cord blood NK cells are good sources for effective CAR therapy against CD19 positive leukemic cells / L. Herrera // *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. P. 18729.
8. 2B4 co-stimulation and dasatinib modulation enhance anti-CD19 CAR-NK-92 cell cytotoxicity / M.H. dos Santos [et al.] // *Frontiers in Immunology*. 2025. Vol. 16 P. 1675877.
9. DAP12-based activating chimeric antigen receptor for NK cell tumor immunotherapy / K. Töpfer [et al.] // *The Journal of Immunology*. 2015. Vol. 194, №7. P. 3201–3212.
10. Comparison of seven CD19 CAR designs in engineering NK cells for enhancing anti-tumour activity / Y. Wang [et al.] // *Cell Proliferation*. 2024. P. 13683.
11. CD28 Costimulation Augments CAR Signaling in NK Cells via the LCK/CD3ζ/ZAP70 Signaling Axis / S. Acharya [et al.] // *Cancer Discovery*. 2024. Vol. 14. №10. P. 1879–1900.
12. Efficient NK cell transduction with VSV-G-pseudotyped lentiviral vectors / E. Järvelä [et al.] // (Preprint). 2026. P. 710988.
13. Schmidt P. Engineering NK Cells for CAR Therapy-Recent Advances in Gene Transfer Methodology / P. Schmidt, M.J. Raftery, G. Pecher // *Frontiers in Immunology*. 2021. Vol. 11. P. 611163.
14. Colamartino Efficient and Robust NK-Cell Transduction With Baboon Envelope Pseudotyped Lentivector / B. L. Aurelien [et al.] // *Sec. Cancer Immunity and Immunotherapy*. 2019. Vol. 10. P. 2873.
15. Wang X. Transcription Factors Associated With IL-15 Cytokine Signaling During NK Cell Development / X. Wang, X.Y. Zhao // *Frontiers in Immunology*. 2021. Vol. 12. P. 610789.
16. Use of CAR-Transduced Natural Killer Cells in CD19-Positive Lymphoid Tumors / E. Liu [et al.] // *The New England Journal of Medicine*. 2020. Vol. 382, №6. P. 545–553.
17. Engineering CAR-NK cells to secrete IL-15 sustains their anti-AML functionality but is associated with systemic toxicities / I. Christodoulou [et al.] // *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2021. Vol. 9, №12. P. 3894.
18. Signaling intact membrane-bound IL-15 enables potent anti-tumor activity and safety of CAR-NK cells / X. Xu [et al.] // *Frontiers in Immunology*. 2025. Vol. 16. P. 1658580.

Статья поступила в редакцию
26.05.2026 г.