

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Клеточный препарат с химерным антигенным рецептором NKG2D в CAR T-терапии рецидивов/рефрактерных острых миелоидных лейкозов и миелодиспластического синдрома

К.А. Левчук¹, Е.В. Белоцерковская^{1,2}, Д.Ю. Поздняков¹, Л.Л. Гиршова¹, А.Ю. Зарицкий¹, А.В. Петухов^{1,2,3}

¹ ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, ул. Акkuratова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341

² ФГБУН «Институт цитологии РАН», Тихорецкий пр-т, д. 4, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194064

³ НТУ «Сириус», Олимпийский пр-т, д. 1, Сочи, Российская Федерация, 354340

РЕФЕРАТ

НК-клетки как элементы врожденного иммунитета реализуют ключевые реакции противоопухолевого иммунного ответа. NKG2D — активационный трансмембранный рецептор НК-клеток, ответственный за инициацию цитотоксичности в ответ на связывание специфических лигандов генетически модифицированных клеток. Селективная экспрессия лигандов NKG2D открывает уникальные перспективы для терапии широкого спектра опухолей. Острые миелоидные лейкозы (ОМЛ) — это злокачественные опухоли системы крови, характеризующиеся высоким риском развития рецидивов. Сложность терапевтической стратегии при ОМЛ создает необходимость поиска новых подходов к элиминации опухоли с применением инновационных генетических конструкций. Имеющиеся к настоящему времени CAR T-клеточные препараты, несущие рецептор NKG2D, успешно изучаются в клинических исследованиях у пациентов с ОМЛ, доказывая свой высокий терапевтический потенциал.

Ключевые слова: острые миелоидные лейкозы, химерный антигенный рецептор, adoptивная терапия, NKG2D, НК-клетки.

Получено: 22 августа 2020 г.

Принято в печать: 5 декабря 2020 г.

Для переписки: Ксения Александровна Левчук, ул. Акkuratова, д. 2, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 197341; e-mail: levchuk_ka@almazovcentre.ru

Для цитирования: Левчук К.А., Белоцерковская Е.В., Поздняков Д.Ю. и др. Клеточный препарат с химерным антигенным рецептором NKG2D в CAR T-терапии рецидивов/рефрактерных острых миелоидных лейкозов и миелодиспластического синдрома. Клиническая онкогематология. 2021;14(1):138–48.

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-1-138-148

CAR T-Cell Therapy with NKG2D Chimeric Antigen Receptor in Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome

KA Levchuk¹, EV Belotserkovskaya^{1,2}, DYu Pozdnyakov¹, LL Girshova¹, AYu Zaritskey¹, AV Petukhov^{1,2,3}

¹VA Almazov National Medical Research Center, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341

²Institute of Cytology, 4 Tikhoretskii pr-t, Saint Petersburg, Russian Federation, 194064

³Sirius University of Science and Technology, 1 Olimpiiskii pr-t, Sochi, Russian Federation, 354340

ABSTRACT

NK-cells as innate immunity elements manifest key reactions of antitumor immune response. NKG2D is an activating transmembrane receptor of NK-cells which is responsible for cytotoxicity initiation in response to the binding of specific ligands of genetically modified cells. Selective expression of NKG2D ligands provides a unique perspective on the therapy of wide variety of tumors. Acute myeloid leukemias (AML) are malignant hematological tumors with a high relapse risk. Due to the complexity of AML treatment strategy it is necessary to develop new approaches to tumor elimination using novel genetic constructs. Currently available CAR T-cell drugs with NKG2D receptor are successfully subjected to clinical studies in AML patients and prove their high therapeutic potential.

Keywords: acute myeloid leukemias, chimeric antigen receptor, adoptive therapy, NKG2D, NK-cells.

Received: August 22, 2020

Accepted: December 5, 2020

For correspondence: Kseniya Aleksandrovna Levchuk, 2 Akkuratova str., Saint Petersburg, Russian Federation, 197341; e-mail: levchuk_ka@almazovcentre.ru

For citation: Levchuk KA, Belotserkovskaya EV, Pozdnyakov DYu, et al. CAR T-Cell Therapy with NKG2D Chimeric Antigen Receptor in Relapsed/Refractory Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome. Clinical oncohematology. 2021;14(1):138–48. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-1-138-148

ВВЕДЕНИЕ

С начала XXI в. наблюдается значительный прогресс в терапии онкогематологических заболеваний, связанный в первую очередь с появлением новых препаратов, одобренных для лечения лимфоидных злокачественных новообразований. В то же время лекарственная терапия миелопролиферативных заболеваний, особенно острых миелоидных лейкозов (ОМЛ) и миелодиспластического синдрома (МДС), развивается гораздо медленнее. МДС представляет собой группу клональных гематологических нарушений, характеризующихся аномальным и неэффективным гемопоэзом с повышенным риском трансформации в ОМЛ [1]. ОМЛ, в свою очередь, также отличаются клинической и генетической гетерогенностью, характеризуются накоплением соматически приобретенных генетических изменений в гемопоэтических клетках-предшественницах, которые изменяют нормальные механизмы самоподдержания, пролиферации и дифференцировки клеток [2]. В настоящее время ОМЛ остается ведущей причиной летальных исходов среди всех гематологических опухолей у взрослых [3].

В последние десятилетия наблюдается значительный прогресс в понимании генетической основы и патофизиологии миелоидных злокачественных новообразований, составляющих около 5 % всех опухолевых заболеваний взрослых. Несмотря на то что новые знания о гетерогенной природе ОМЛ и МДС в настоящее время имеют решающее значение для прогнозирования и индивидуализации терапии, следует отметить, что за последние 40 лет подходы к лечению, за некоторыми исключениями, существенно не изменились.

Современные программы химиотерапии, включающие в себя индукционный курс по схеме «7+3», позволяют достигать полные ремиссии у 50–90 % пациентов с ОМЛ *de novo* [4]. Доступные варианты консолидации включают химиотерапию и трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК). Выбор стратегии после достижения полной ремиссии основывается на соотношении ожидаемого риска рецидива у пациента в отсутствие аллоТГСК и риска летального исхода, связанного с самой трансплантацией. Терапевтические опции при МДС варьируют от поддерживающей терапии до трансплантации аллогенного костного мозга в зависимости от определяемых в дебюте факторов риска, связанных с клинико-генетическими характеристиками заболевания (прогностические шкалы риска IPSS, IPSS-R) и особенностями пациента (возраст, соматический статус). К сожалению, прогноз у пациентов с ОМЛ остается относительно неблагоприятным. 5-летняя общая выживаемость (ОВ) у пациентов моложе 60 лет в группе промежуточного риска составляет 41,5 %, а высокого — 20,1 %. У больных ОМЛ старше 60 лет ОВ составляет 16 и 6,4 % в группах промежуточного и высокого риска соответственно [5, 6]. У пациентов с МДС промежуточного и высокого риска медиана ОВ составляет 0,8–3 года [6].

Улучшения показателей выживаемости в течение последних десятилетий удается достичь в основном в группе более молодых пациентов за счет проведения риск-адаптированной программы терапии, оптимизации методов ТГСК, использования инфузии донорских лимфоцитов в посттрансплантационный период и совершенствования сопроводительной терапии [7, 8]. Несмотря на это, у значительной части пациентов развивается либо первичная рефрактерность, либо рецидив в ранние сроки после достижения ремиссии.

Сохраняющаяся высокая частота рецидивов по-прежнему является основной причиной летальных исходов при ОМЛ и МДС [9, 10]. Следует признать, что в целом прогноз у пациентов после рецидива заболевания остается неблагоприятным, а результаты лечения — неудовлетворительными [11, 12]. Проведение химиотерапии в первом рецидиве заболевания приводит к достижению значительно меньшего числа ремиссий [13], а средняя продолжительность второго безрецидивного интервала, как правило, значительно короче первого [14]. В связи с этим в настоящее время еще одним важным направлением риск-адаптированной терапии является включение таргетных препаратов в программы лечения. Новые данные последних десятилетий, позволившие расширить знания о патогенезе ОМЛ, привели к значительному прогрессу в создании новых препаратов направленного действия [15]. Представление о рефрактерном и рецидивирующем течении заболевания в настоящее время основывается на имеющихся данных о персистенции химиорефрактерных лейкозных стволовых клеток или минимальной остаточной болезни.

Миелоидные опухолевые клетки характеризуются как специфической экспрессией миелоидных антигенов, так и aberrантной экспрессией антигенов, связанных с лейкозом. Нацеливание на специфические, ассоциированные с опухолью антигены с помощью терапии на основе антител и привлечение собственной иммунной системы пациента для воздействия на опухолевые клетки в последнее время стали актуальным направлением исследований в терапии опухолей системы крови, в т. ч. ОМЛ и МДС [16].

К настоящему времени адоптивная терапия аутологичными и аллогенными CAR T-клеточными препаратами занимает лидирующую позицию по эффективности лечения онкогематологических заболеваний. Наиболее успешным примером в данном контексте служат одобренные Управлением по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США (FDA) анти-CD19 CAR T-клеточные препараты Кимрайа (тисагенлеклейсел; Kymriah™) и Ескарта (аксикабтаген силолейсел; Yescarta™), предназначенные для терапии В-клеточного острого лимфобластного лейкоза. Отчетливую эффективность демонстрируют также анти-BCMA-препараты CAR-T при множественной миеломе (ММ). Наряду с успешным применением анти-CD19 CAR T-клеточных продуктов инициировано множество клинических исследований у пациентов с ОМЛ. Их цель заключается в оценке эффективности CAR T-клеточных препаратов, направленных против антигенов CD123 (NCT03190278, NCT03114670, NCT03585517), CD33 (NCT03126864, NCT03473457), CD34 (NCT03473457),

CD38 (NCT03473457), CD56 (NCT03473457), CD117 (NCT03473457), Muc-1 (NCT03473457).

Особое место в адоптивной терапии ОМЛ отводится применению рецептора NKG2D, рассматриваемого в качестве инновационного подхода в борьбе с опухолями. Интегральный мембранный белок NKG2D, рецептор естественных киллеров (NK), вовлечен в реакции врожденного и приобретенного иммунитета. Он действует как активатор функционального статуса NK-клеток. Усиленная экспрессия мембранных лигандов рецептора NKG2D в разных типах опухолевых клеток демонстрирует селективность экспрессии в сравнении с клетками немалигнизированных тканей [17]. Благодаря этому ключевому свойству сигнальный путь рецептора NKG2D становится особенно привлекательной мишенью для избирательной элиминации опухолевых клеток.

ОСОБЕННОСТИ КЛАССИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ МДС И ОМЛ

Миелодиспластический синдром

МДС характеризуется неэффективным диспластическим гемопоэзом с периферической цитопенией и высоким риском трансформации в ОМЛ. В настоящее время применение доступной терапии основано на оценке прогноза течения заболевания. Одна из наиболее популярных систем стратификации IPSS (Международная прогностическая шкала) выделяет четыре группы пациентов, которые в упрощенном виде принято объединять в группы низкого и высокого риска [18]. Основную сложность в лечении МДС представляют пациенты с высоким риском. Современные методы лечения данной категории больных включают проведение аллоТГСК, применение высокодозной и низкоинтенсивной химиотерапии, гипометилирующих агентов [19]. Считается, что гипометилирование снимает блокировку экспрессии генов-онкосупрессоров, в результате чего происходит восстановление дифференцировки клеток [19]. В России оба препарата из группы гипометилирующих агентов (азациитидин и децитабин) внедрены в клиническую практику [20, 21]. В качестве альтернативных подходов терапии МДС рассматриваются препараты, одобренные для лечения ОМЛ: энаседениб [22], ивосидениб [23], венетоклак [24], гемтузумаб озогамин, CPX-351 [25, 26]. Одним из перспективных направлений признается изучение эффективности ингибиторов контрольных точек иммунитета (ниволумаб, ипилимумаб), биспецифических антител, CAR T-терапии [27].

Несмотря на наметившийся прогресс в терапии МДС, в большинстве случаев лечение этой группы клональных заболеваний признается малоэффективным с сохранением высокого риска трансформации в ОМЛ [28].

Острые миелоидные лейкозы

ОМЛ — гетерогенные клональные злокачественные опухоли системы крови, связанные с мутациями в клетке-предшественнице гемопоэза с блоком дифференцировки и бесконтрольной пролиферацией миелоидных бластных клеток.

Основу лечения ОМЛ составляет цитостатическая химиотерапия, протоколы которой строго стандартизированы. Несмотря на эффективность данной терапевтической стратегии, риск ее применения связан с длительной миелосупрессией, органной токсичностью и, главным образом, высокой частотой рецидивов [16].

В настоящее время для пациентов с рецидивирующими/рефрактерными ОМЛ может быть предложена альтернатива интенсивной химиотерапии в виде таргетных препаратов. В течение короткого периода времени (2017–2018 гг.) для лечения ОМЛ FDA одобрило несколько новых таргетных препаратов, таких как ингибиторы тирозинкиназ (мидостаурин, гилтеритиниб) [29], ингибиторы мутантных форм белков IDH1 (ивосидениб) [30] и IDH2 (энаседениб) [31], гемтузумаб озогамин, венетоклак [32], глаздегиб [15].

Помимо зарегистрированных таргетных препаратов при ОМЛ активно применяется иммунотерапия: ингибиторы контрольных точек иммунитета [33], конъюгированные моноклональные антитела [34, 35], биспецифические антитела [36], пептидные вакцины [37], генетически модифицированные дендритные клетки [38].

Очевидно, что для успешного лечения МДС и ОМЛ требуется разработка новых эффективных и безопасных терапевтических стратегий, которые позволят улучшить показатели ОВ и безрецидивной выживаемости пациентов. На современном этапе одним из таких направлений терапии служит создание клеточного препарата с химерным антигенным рецептором NKG2D.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА НК-КЛЕТОЧНОГО РЕЦЕПТОРА NKG2D. ПЕРЕДАЧА СИГНАЛА И ЛИГАНДЫ

Рецептор NKG2D — лектиноподобный трансмембранный белок 2-го типа, продукт гена *KLRK1*, экспрессия которого первоначально была обнаружена в NK- и T-клетках человека [39, 40]. В структуру молекулы входят два β-складчатых участка, две α-спирали и четыре дисульфидных связи. Внутриклеточный домен белка NKG2D не содержит сигнального домена, поэтому его активация отличается от таковой других рецепторов NK-клеток и требует наличия внутриклеточных адаптерных (вспомогательных) белков [41]. Рецептор NKG2D имеет две изоформы: NKG2D-S (короткая изоформа) и NKG2D-L (длинная изоформа), являющиеся результатом альтернативного сплайсинга. В клетках человека, как правило, экспрессируется только длинная изоформа рецептора NKG2D, тогда как альтернативный сплайсинг с образованием двух функциональных изоформ присущ клеткам мышей [42].

При передаче сигнала (сигналинге) через рецептор NKG2D (рис. 1) в роли адаптера выступает трансмембранный белок DAP10 (DNAX-активирующий белок, 10 кДа) [43]. В структуре цитоплазматического домена DAP10 содержится активационный YXXM-мотив (последовательность аминокислот), сходный с мотивом костимуляторных рецепторов CD28 и ICOS [44]. После присоединения лиганда к NKG2D YXXM-мотив DAP10 фосфорилируется киназой Src и

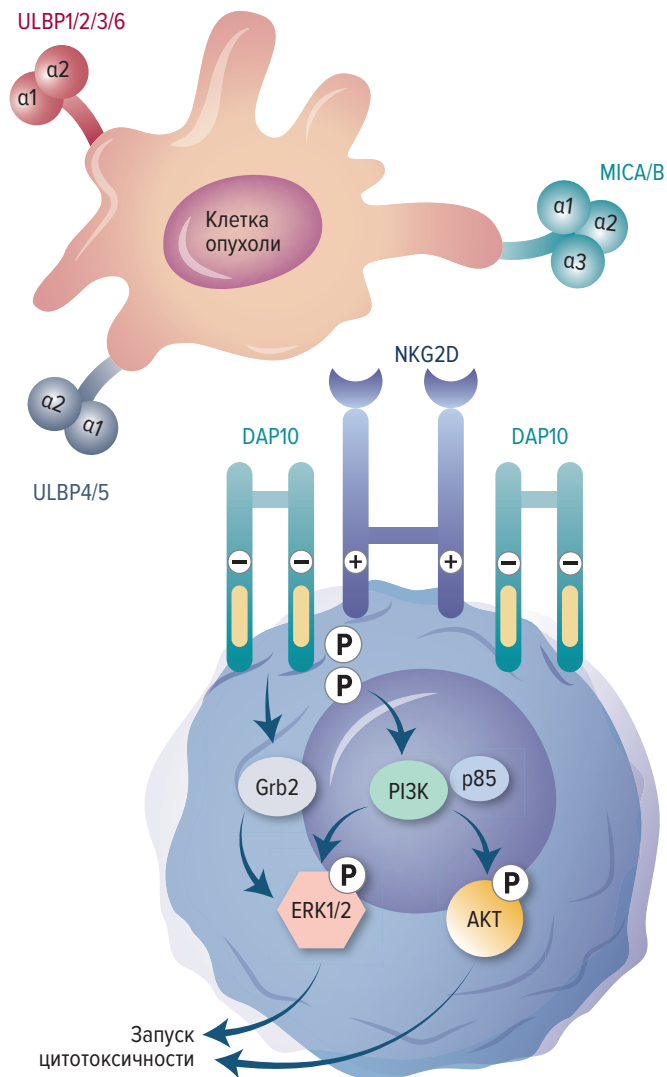


Рис. 1. Схема сигнального пути рецептора NKG2D в NK-клетке человека (цит. по [43] с изменениями). Рецептор NKG2D образует гомодимер, связывающийся с двумя гомодимерами адаптерного белка DAP10. Положительно заряженный аргинин в структуре трансмембранного домена NKG2D связывается с отрицательно заряженным остатком аспарагиновой кислоты в трансмембранном домене DAP10. После лиганд-рецепторного взаимодействия происходит активация PI3K-киназы и комплекса Grb2, запускающих передачу сигнала ERK1/2 и АКТ, которая завершается экспрессией цитокинов и активацией клеточной цитотоксичности. В структуру лигандов MICA/B входят домены α1, α2, α3, в ULBP4/5 — α1, α2, в ULBP1/2/3/6 — домены α1, α2 и GPI-якорь (показан серым). Желтым обозначен YXXM-мотив в гомодимерах DAP10

Fig. 1. NKG2D receptor signaling pathway in human NK-cell (modified from [43]). NKG2D receptor forms homodimer binding to two homodimers of DAP10 adapter protein. Positively charged arginine within NKG2D transmembrane domain binds to negatively charged aspartic acid residue in DAP10 transmembrane domain. After ligand-receptor interaction, PI3K-kinase and Grb2 complex are activated which launches ERK1/2 and AKT signaling resulting in cytokine expression and cell cytotoxicity activation. MICA/B ligands comprise α1, α2, α3 domains, ULBP4/5 include α1, α2, and ULBP1/2/3/6 include α1, α2 domains and GPI-anchor (shown in gray). YXXM-motif in DAP10 homodimers is shown in yellow

активирует субъединицу p85 киназы PI3K, а также связанный с рецептором фактора роста белок 2 (Grb2) [41, 44]. Активированная киназа PI3K осуществляет активационное фосфорилирование антиапоптотиче-

Таблица 1. Краткий перечень опухолей человека, экспрессирующих лиганды рецептора NKG2D

Тип опухоли	Источник литературы
Рак	
Яичников	[47, 61, 62]
Мочевого пузыря	[63]
Молочной железы	[47, 64, 65]
Легкого	[47, 66, 67]
Печени	[68]
Кишечника	[47, 69]
Почки	[47, 70]
Простаты	[47, 71]
Лейкоз	
ОМЛ	[72, 73]
ХМЛ	[73, 74]
ХЛЛ	[75]
Лимфомы	[76]
Множественная миелома	[77]
Меланома	[78]
Саркома Юинга	[79]
Глиома	[80]
Нейробластома	[81]

ОМЛ — острые миелоидные лейкозы; ХЛЛ — хронический лимфолейкоз; ХМЛ — хронический миелолейкоз.

ской киназы АКТ, иницируя тем самым ERK1/2 MAP-киназы. Обе киназы являются ключевыми факторами, запускающими процессы опосредованной клеточной цитотоксичности и клеточной выживаемости. Рецептор NKG2D образует комплекс с DAP10, который стабилизирует NKG2D на поверхности клеточной мембраны [45]. Каждый образовавшийся гомодимер NKG2D взаимодействует с двумя гомодимерами DAP10 с образованием стабильной гексамерной структуры [43]. Сигнал, поступающий от рецептора NKG2D, является главным активационным сигналом для NK-клетки, замещающим ингибиторные сигналы других NK-клеточных рецепторов [42, 46, 47].

В ходе многочисленных исследований экспрессия рецептора NKG2D была обнаружена у ряда субпопуляций клеток иммунной системы, включая NK-T, γδ-T, эффекторные αβ-T-клетки CD8+, клеток памяти и субпопуляции T-клеток CD4+ [48, 49]. Практически все γδ-T-лимфоциты периферической крови человека экспрессируют рецептор NKG2D в отличие от интраэпителиальных γδ-T-клеток кишечника, в которых отмечается низкий уровень данного рецептора [50]. Интересно отметить, что существуют межвидовые различия в профиле экспрессии NKG2D. Так, T-лимфоциты CD8+ человека экспрессируют NKG2D на постоянной основе, в то время как у мышей экспрессию осуществляют только активированные T-клетки CD8+. Несмотря на присущую перечисленным клеточным субпопуляциям экспрессию рецептора NKG2D, сигнальный путь последнего в NK-клетках отличается от T-клеточного. В частности, в качестве адаптеров для запуска сигнала NK-клеточный NKG2D рекрутирует белок DAP12 или DAP10, в то время как в T-клетках роль адаптера выполняет DAP10, имеющий ключевое значение и в передаче сигнала от химерного рецептора NKG2D на мембране CAR T-клеток [51].

Рецептор NKG2D высоко консервативен и распознает группу из восьми лигандов двух семейств [52]. Среди них выделяют относящиеся к семейству главного комплекса гистосовместимости (МНС) I класса белки MICA и MICB и шесть UL-16-связывающих цитомегаловирусных белков ULBP1–6. Лиганды NKG2D представляют собой структурные гомологи молекул МНС I класса и генетически высокополиморфны, особенно гены MIC [53]. Все лиганды состоят из двух эктодоменов, отдаленно сходных с доменами $\alpha 1$ и $\alpha 2$ белков МНС I класса. В отличие от остальных лигандов MICA и MICB содержат дополнительный $\alpha 3$ -подобный домен [47]. Белки ULBP1/2/3/6 закреплены в мембране с помощью GPI-якоря, а ULBP4/5 имеют трансмембранный домен и цитоплазматический хвост [54].

Существует гипотеза, что экспрессия лигандов NKG2D тщательно регулируется в здоровых тканях организма человека во избежание аутоиммунных реакций. Трансформированные клетки опухоли экспрессируют различные уровни лигандов, степень экс-

прессии которых коррелирует со стадией заболевания [55, 56]. Множество клеточных линий и первичных опухолей различного происхождения экспрессирует лиганды NKG2D (табл. 1). Выявленное присутствие лигандов на клетках опухолей и их крайне низкий уровень на здоровых клетках свидетельствуют о вовлеченности процессов клеточной трансформации в запуск синтеза лигандов. Экспрессия лигандов NKG2D регулируется сигнальным каскадом ATM/ATR системы клеточной репарации ДНК. Известно, что в ответ на повреждение ДНК сигналинг ATM/ATR постоянно активен в прогрессирующих и первичных опухолевых образованиях, но не в клетках здоровых тканей, что коррелирует с увеличением уровня экспрессии лигандов NKG2D опухолевых клеток [55, 56]. Благодаря такой избирательной экспрессии высокая эффективность распознавания опухоли с помощью популяций клеток, несущих рецептор NKG2D, может быть достигнута за счет предварительной целенаправленной индукции их экспрессии.

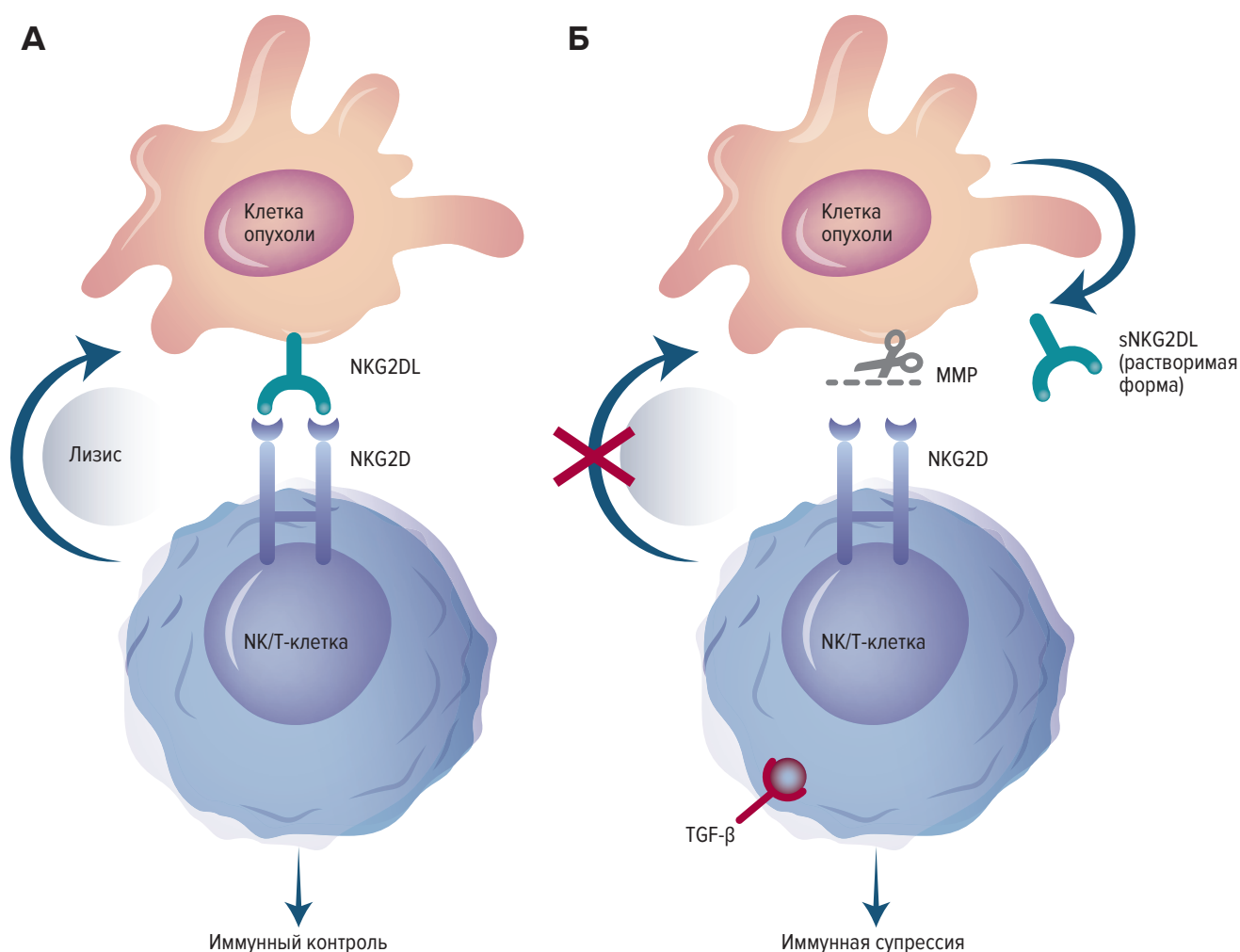


Рис. 2. Двойственность сигнального пути рецептора NK-клеток NKG2D в противоопухолевом иммунном ответе (цит. по [107] с изменениями):

А — реализация иммунного контроля клетки опухоли за счет связывания лиганда NKG2D, активации NK-клеток и костимуляции Т-лимфоцитов CD8⁺; Б — расщепление лигандов NKG2D металлопротеиназами и формирование растворимых форм инактивируют распознавание опухоли NK- и Т-клетками. TGF- β способствует иммунной супрессии путем ингибирования Т- и NK-клеток
MMP — матриксная металлопротеиназа; TGF- β — трансформирующий фактор роста β .

Fig. 2. Duality of signaling pathway of NK-cell receptor NKG2D in antitumor immune response (modified from [107]):

А — realization of tumor cell immune control due to NKG2D ligand binding, NK-cell activation, and CD8⁺ T-lymphocyte co-stimulation; Б — NKG2D ligands cleavage by metalloproteinase and formation of soluble forms inactivate tumor recognition by NK- and T-cells
TGF- β induces immune suppression via T- and NK-cell inhibition
MMP — matrix metalloproteinase; TGF- β — transforming growth factor β .

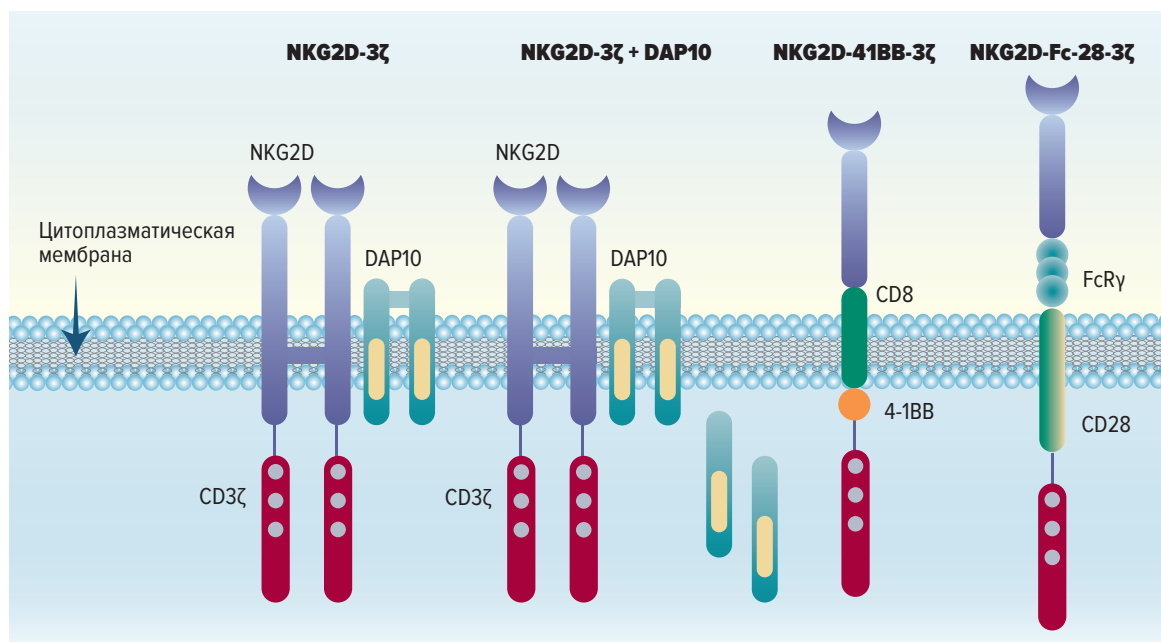


Рис. 3. Варианты структуры химерных антигенных рецепторов NKG2D: NKG2D-3 ζ [83, 84], NKG2D-3 ζ + DAP10 [59], NKG2D-41BB-3 ζ [92], NKG2D-Fc-28-3 ζ [91] (цит. по [103] с изменениями)

Fig. 3. Structure variants of NKG2D chimeric antigen receptors: NKG2D-3 ζ [83, 84], NKG2D-3 ζ + DAP10 [59], NKG2D-41BB-3 ζ [92], NKG2D-Fc-28-3 ζ [91] (modified from [103])

Индукция экспрессии лигандов NKG2D была продемонстрирована у пациентов с ОМЛ при лечении полностью транс-ретиноевой или вальпроевой кислотой [57, 58]. Усиление экспрессии лигандов было также показано при применении протеасомного ингибитора бортезомиба и ингибиторов гистондеацетилаз [59]. Кроме того, воспаление и активация передачи сигнала через Toll-подобные рецепторы (TLR) при взаимодействии с антигенами патогенов, в т. ч. бактериальными липополисахаридами, индуцируют экспрессию лигандов NKG2D и могут стать дополнительным фактором специфического распознавания опухолевых клеток [60]. Например, хроническое воспаление, обнаруженное у групп пациентов с ревматоидным артритом, связывают с индукцией экспрессии лигандов NKG2D на мембране синовиоцитов [47]. Таким образом, применение лекарственных препаратов может стать эффективным способом индукции экспрессии лигандов в тканях различных опухолей, увеличивая степень распознавания и элиминации опухолевых клеток через сигнальный каскад рецептора NKG2D.

Передача сигнала в клетку посредством рецептора NKG2D носит двойной характер. Двойственность сигналинга NKG2D/NKG2DL заключается в одновременном контроле NK-клетками опухолевых клеток и вероятности избежать этот контроль последними (рис. 2). Преимущество передачи сигнала NKG2D состоит в связывании рецептора с лигандами, представленными только на клетках опухоли, без необходимости презентации и распознавания антигена, а также в запуске не только NK-клеточного ответа, но и иммобилизации T-клеток. Уход от контроля со стороны иммунной системы клетками опухоли выражено во взаимодействии рецептора NKG2D с растворимыми формами лигандов, образующимися в результате протеолитического расщепления мембранных форм лигандов металлопроте-

азами (ADAM) и матриксными металлопротеиназами (MMP) [82]. Выступая в роли иммуносупрессивных молекул, они взаимодействуют с рецептором NKG2D, экранируя его и препятствуя тем самым распознаванию опухолевых клеток и реализации эффекторной цитотоксической активности NK-клетками.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ХИМЕРНОГО АНТИГЕННОГО РЕЦЕПТОРА NKG2D В ПОПУЛЯЦИЯХ CAR T-КЛЕТОК

Впервые результаты применения NKG2D CAR T-клеток против опухоли были опубликованы T. Zhang и соавт. в 2005 г. [83]. Несущие химерный рецептор клетки были эффективны на мышинных моделях и способствовали активации и поддержанию иммунного ответа даже после прекращения их определения в тканях [83, 84]. Позднее было установлено, что CAR T-клетки, экспрессирующие рецептор NKG2D, эффективны против различных видов опухолей человека *in vitro* и *in vivo*, включая ММ, рак яичников, лимфомы [85–87]. Дополнительным преимуществом таких CAR T-клеток было распознавание лигандов не только на поверхности цитоплазматической мембраны клеток опухоли, но и на T-регуляторных, миелоидных клетках-супрессорах и эндотелиальных клетках микроокружения опухоли, что значительно увеличивает эффективность ее элиминации [88–90]. В появившихся позже работах использовали новые конструкции химерного рецептора NKG2D (рис. 3). Несущие такие рецепторы T-клетки обеспечивали устойчивый лизис и эффективную продукцию цитокинов в ответ на совместное культивирование с различными линиями опухолей [59, 92, 93].

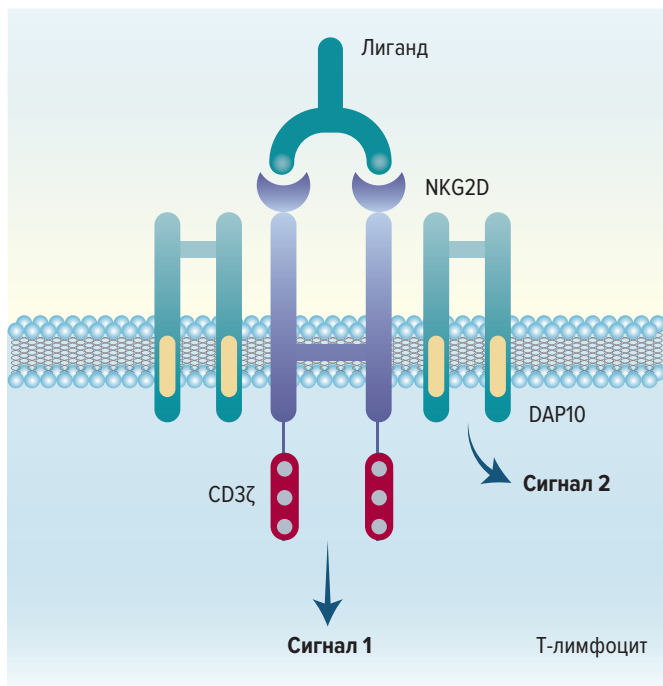


Рис. 4. Химерный антигенный рецептор NKG2D на поверхности цитоплазматической мембраны Т-лимфоцита. NKG2D образует гексамерный комплекс с белками-адаптерами DAP10. Благодаря CD3 ζ -домене возникает первичный активационный сигнал клетки. Костимулирующий сигнал активации инициируется взаимодействием DAP10 и NKG2D (цит. по [104] с изменениями)

Fig. 4. NKG2D chimeric antigen receptor on cytoplasmic membrane surface of T-lymphocyte. NKG2D forms hexameric complex with DAP10 adapter proteins. Due to CD3 ζ -domain primary activation signal of the cell occurs. Co-stimulatory activation signal is initiated by the DAP10 and NKG2D interaction (modified from [104])

В структуре первых двух конструкций использовался полноразмерный вариант NKG2D, связанный с DAP10. В отличие от структуры других химерных антигенных рецепторов в составе данных конструкций отсутствуют дополнительные внеклеточные домены, однако они также оснащены CD3 ζ Т-клеточным доменом активации (рис. 4). В Т-лимфоцитах распознавание лигандов нативным рецептором NKG2D запускает костимуляционный сигнал через адаптерный белок DAP10, однако главным сигналом активации клетки остается сигнал Т-клеточного рецептора (TCR). В NKG2D CAR Т-клетках CAR напрямую активирует Т-лимфоцит после связи с лигандами независимо от TCR и также получает костимуляционный сигнал через DAP10. Эндогенный адаптер DAP10 обеспечивает дополнительную активацию эффекторных клеток через киназы АКТ и PI3K. Такие клетки способны к продукции широкого ряда цитокинов, включая интерферон- γ , гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, хемокины и фактор некроза опухолей- α , а также минимальные количества интерлейкинов (IL-5, IL-9, IL-10) [84]. Две дополнительные конструкции химерного антигенного рецептора NKG2D содержат домены активации CD28 и 4-1BB и лиганд-связывающий участок NKG2D в обратной ориентации к трансмембранной части [91]. Т-клетки, несущие такие CAR-конструкции, проявляют высокую цитотоксическую активность, продуцируют IL-2 и IL-5, как и другие популяции CAR

Т-клеток, имеющие в структуре CD28 и 4-1BB [93, 94]. Цитокины остаются ключевым механизмом, позволяющим CAR Т-клеточным популяциям с экспрессией химерного антигенного рецептора NKG2D изменять микроокружение опухоли и индуцировать противоопухолевый эффект.

Несмотря на способность к распознаванию клеточными популяциями NKG2D CAR-Т приблизительно 90 % разных видов опухолей человека, вопрос о неспецифичной цитотоксичности этих клеток относительно здоровых остается весьма актуальным. Показано, что введение пациентам большого пула активированных CAR Т-лимфоцитов, несущих NKG2D, приводило к низкой цитотоксичности [95–97]. Согласно методу адаптивной CAR Т-клеточной терапии, длительность персистенции жизнеспособных CAR Т-клеток *in vivo* прямо пропорционально влияет на наилучший клинический исход [98, 99]. CAR Т-клеточные популяции, несущие костимулирующие домены CD28 и 4-1BB, как было показано для CAR Т-клеток, специфичных по антигену CD19, обеспечивали высокий уровень экспансии и продолжительную персистенцию клеток-эффекторов *in vivo*, что является основным преимуществом данных клеточных препаратов в противоопухолевой терапии. Необходимость же персистенции популяций NKG2D CAR Т-клеток, однако, остается предметом обсуждения. Синтез лигандов NKG2D может быть индуцирован на разных типах клеток, поэтому длительная персистенция введенных NKG2D CAR Т-продуктов может стать дополнительным риском неспецифической цитотоксичности против нормальных клеток [100, 101]. Согласно результатам модельных экспериментов на мышах по введению NKG2D CAR-Т, выживаемость введенных CAR Т-клеток непродолжительная, что может стать преимуществом в предотвращении возникновения неспецифической цитотоксической активности [87].

Способность NK-клеток экспрессировать рецептор NKG2D поднимает закономерный вопрос об адаптивной терапии NK-клетками без необходимости внедрения молекулы CAR в Т-лимфоциты. Несмотря на экспрессию рецептора NKG2D и реализацию эффекторных функций NK-клетками с его помощью, введение большого числа активированных аутологичных NK-клеток ($> 10^9$ клеток) не обеспечивает клинического ответа у большинства пациентов [102, 103]. Наличие большого числа ингибирующих рецепторов NK-клеток в микроокружении опухоли играет ключевую роль в отсутствие элиминации опухолевых клеток во время адаптивной терапии NK-клеточными препаратами [51]. Более того, противоопухолевая активность NK-клеток может быть существенно увеличена введением химерного NKG2D в геном NK-клеток [59].

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ NKG2D CAR-Т ПРИ РЕЦИДИВАХ/ РЕФРАКТЕРНЫХ ОМЛ И МДС

Обширные доклинические исследования эффективности NKG2D CAR Т-клеточной терапии были продол-

жены в I фазе первого клинического исследования в Институте онкологии Dana-Farber (США) в марте 2015 г. В качестве препарата использовали продукт, созданный компанией Celyad (США), названный CYAD-01. В исследование включено 12 пациентов в возрасте старше 18 лет с установленным диагнозом ОМЛ и МДС-РАИБ (рефрактерная анемия с избытком бластов) вне ремиссии, а также пациенты с рецидивами/рефрактерной (р/р) ММ. Препарат CYAD-01 представляет собой аутологичные CAR T-клетки доноров, полученные в результате трансдукции последовательности CAR NKG2D, несущей CD3ζ-домен активации, с помощью γ-ретровирусного вектора SFG [104]. Дозировка клеток пациентам осуществлялась согласно четырем когортам с однократным введением: 1×10^6 , 3×10^6 , 1×10^7 , 3×10^7 клеток. Оценка цитотоксического эффекта введенных клеток проводилась спустя 21 день после инъекции, а через 28 дней оценивали прогрессирование опухоли. Целью первого клинического исследования препарата CYAD-01 была оценка безопасности и целесообразности применения данного биомедицинского клеточного продукта для пациентов с р/р ОМЛ и ММ. В марте 2018 г. первое клиническое исследование препарата CYAD-01 завершилось декларацией об отсутствии цитотоксичности и о безопасности для пациента.

В декабре 2016 г. компания Celyad инициировала следующее клиническое исследование THINK (Therapeutic Immunotherapy With NKR-2), направленное на оценку безопасности и клинической эффективности множественных введений клеток CYAD-01 у пациентов с рефрактерными опухолями. THINK (NCT03018405) — нерандомизированное многонациональное открытое исследование I фазы, на данный момент находящееся на стадии набора пациентов. В нем примет участие до 146 пациентов, имеющих диагноз 1 из 7 типов рефрактерных опухолей: солидных (колоректальный рак, рак яичников, мочевого пузыря, поджелудочной железы, тройной негативный рак молочной железы) и гематологические (р/р ОМЛ и ММ). Для выбора оптимальной дозы CYAD-01 при определенном типе опухоли препарат вводится в трех разных дозах с интервалом в 2 нед. после каждой инъекции. Для всех 36 пациентов этого сегмента дозировка препарата CYAD-01 составит 3×10^8 , 1×10^9 , 3×10^9 жизнеспособных клеток/дозу без предварительной химиотерапии. После определения оптимальной дозировки для каждого типа опухоли будет инициирован расширенный сегмент исследования с большой выборкой пациентов для оценки эффективности CYAD-01. Суммарно в этом сегменте примет участие 86 пациентов. Благодаря тому, что THINK — первое клиническое исследование по оценке эффективности множественных введений CYAD-01 пациентам с солидными опухолями, оно может способствовать успешному лечению по сравнению с классической моноспецифической CAR T-терапией при таких новообразованиях, когда терапевтические опции крайне ограничены [104].

Другое клиническое исследование DEPLETHINK (LymphoDEPLEtion and Therapeutic Immunotherapy With NKR-2, NCT03466320) было инициировано в октябре 2018 г. с целью оценить безопасность и

эффективность терапии с помощью CYAD-01 после проведения немиелоаблативной химиотерапии у пациентов с р/р ОМЛ и МДС. DEPLETHINK — нерандомизированное открытое исследование I–II фазы, на данный момент находящееся на стадии набора 52 участников. Дизайн исследования, как и в случае THINK, состоит из двух сегментов для каждой фазы: увеличения дозы и экспансии. Во время I фазы уточняют оптимальный день (3-й или 7-й) для инъекции CYAD-01 после предварительной химиотерапии, определяют рекомендуемую дозу. Во время II фазы будут изучаться выбранные в I фазе параметры у большего числа пациентов с р/р ОМЛ и МДС. Основной задачей I фазы будет проверка гипотезы о безопасности введения модифицированных клеток данной категории пациентов. К тому же ввиду недостатка терапевтических стратегий и сложности лечения это исследование может приобрести потенциальное клиническое преимущество [105].

В ноябре 2019 г. компания Celyad инициировала новое клиническое исследование CYCLE-1 (NCT04167696) с целью оценить безопасность и эффективность аутологичного препарата NKG2D CAR-T нового поколения CYAD-02, разработанного с применением инновационной технологии компании OptimAb и используемого у пациентов с р/р ОМЛ и МДС после немиелоаблативной химиотерапии. Для создания аутологичных CYAD-02 клеток компания использовала технологию РНК-интерференции с помощью микроРНК, образующих шпильки, SMARTvector для блокировки экспрессии лигандов MICA и MICB на поверхности CAR T-клеток. Подавление экспрессии (нокдаун) MICA и MICB позволяет увеличить экспансию CAR T-клеток *in vitro* и способствует лучшей их персистенции [106]. В январе 2020 г. компания объявила об успешной инъекции препарата первому пациенту.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время иммунотерапия биомедицинскими CAR T-клеточными препаратами — инновационный клинический подход, прошедший развитие от гипотезы возможной эффективной терапии до официальной регистрации препаратов Kymriah™ и Yescarta™ в качестве селективных к CD19-позитивным В-клеточным опухолям. Клиническая эффективность CAR-T как способа элиминации опухолей разной этиологии открывает новые перспективы в терапии сложных злокачественных опухолей, в т. ч. р/р ОМЛ и МДС. Необходимость персонализированного подхода, сложность внутриклеточных молекулярных механизмов патогенеза и клиническая картина заболеваний создают особую актуальность поиска и исследования новых методов лечения. В настоящее время NKG2D CAR T-клеточные продукты представляют инновационный подход в адоптивной T-клеточной терапии р/р ОМЛ и МДС, а также многих других опухолей благодаря уникальности селекции трансформированных клеток и наличию целого ряда лигандов-мишеней. Однако, несмотря на перечисленные положительные стороны адоптивной терапии NKG2D CAR-T и успешность

клинических исследований с использованием данных клеточных препаратов у пациентов с различными опухолями, дополнительное изучение молекулярных механизмов клеточной элиминации и неспецифической активности остается приоритетным направлением будущих работ.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ в рамках научного проекта № 19-315-51035 и гранта РНФ № 19-75-10059. Настоящее исследование проводится в рамках экспериментального государственного задания Министерства здравоохранения Российской Федерации при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Минздрава России.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: А.В. Петухов, К.А. Левчук, А.Ю. Зарицкий.

Сбор и обработка данных: К.А. Левчук, Е.В. Белоцерковская, Д.Ю. Поздняков.

Подготовка рукописи: К.А. Левчук, Е.В. Белоцерковская, Л.Л. Гиршова.

Окончательное одобрение рукописи: А.Ю. Зарицкий.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Arber D, Orazi A, Hasserjian R. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127(20):2391–405. doi: 10.1182/blood-2016-03-643544.
- Bullinger L, Dohner K, Dohner H. Genomics of Acute Myeloid Leukemia Diagnosis and Pathways. *J Clin Oncol*. 2017;35(9):934–46. doi: 10.1200/JCO.2016.71.2208.
- The Leukemia & Lymphoma Society Updated data on blood cancers. Facts 2018–2019. Available from: <https://www.lls.org/facts-and-statistics/facts-and-statistics-overview/facts-and-statistics> (accessed 30.11.2020).
- Dohner H, Estey E, Grimwade D, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017;129(4):424–47. doi: 10.1182/blood-2016-08-733196.
- Herold T, Rothenberg-Thurley M, Grunwald VV, et al. Validation and refinement of the revised 2017 European LeukemiaNet genetic risk stratification of acute myeloid leukemia *Leukemia*. 2020. [published online ahead of print, 2020 Mar 30] doi: 10.1038/s41375-020-0806-0.
- Estey EH, Schrier SL. Prognosis of the myelodysplastic syndromes in adults. *UpToDate*. 2017. Available from: <https://www.uptodate.com/contents/prognosis-of-the-myelodysplastic-syndromes-in-adults> (accessed 28.11.2020).
- Tallman MS, Gilliland DG, Rowe JM. Drug therapy for acute myeloid leukemia. *Blood*. 2005;106(4):1154–63. doi: 10.1182/blood-2005-01-0178.
- Burnett AK, Milligan D, Goldstone A, et al. The impact of dose escalation and resistance modulation in older patients with acute myeloid leukemia and high risk myelodysplastic syndrome: the results of the LRF AML14 trial. *Br J Haematol*. 2009;145(3):318–32. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07604.x.
- Lowenberg G. Strategies in the treatment of acute myeloid leukemia. *Haematologica*. 2004;89(9):1029–32.
- Burnett AK. Acute myeloid leukemia: Treatment of adults under 60 years. *Rev Clin Exp Hematol*. 2002;6(1):26–45. doi: 10.1046/j.1468-0734.2002.00058.x.

- Estey EH. Treatment of relapsed and refractory acute myelogenous leukemia. *Leukemia*. 2000;14(3):476–9. doi: 10.1038/sj.leu.2401568.
- Giles F, O'Brien S, Cortes J, et al. Outcome of patients with acute myelogenous leukemia after second salvage therapy. *Cancer*. 2005;104(3):547–54. doi: 10.1002/cncr.21187.
- Leopold LH, Willemze R. The treatment of acute myeloid leukemia in first relapse: A comprehensive review of the literature. *Leuk Lymphoma*. 2002;43(9):1715–27. doi: 10.1080/104281902100006529.
- Lee S, Tallman MS, Oken MM, et al. Duration of second complete remission compared with first complete remission in patients with acute myeloid leukemia. *Leukemia*. 2000;14(8):1345–8. doi: 10.1038/sj.leu.2401853.
- Patel SA, Gerber JM. A User's Guide to Novel Therapies for Acute Myeloid Leukemia. *Clin Lymphoma Myel Leuk*. 2020;20(5):277–88. doi: 10.1016/j.cml.2020.01.011.
- Kucukyurt S, Eskazan AE. New drugs approved for acute myeloid leukemia in 2018. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;85(12):2689–93. doi: 10.1111/bcp.14105.
- Spear P, Wu MR, Sentman ML, Sentman CL. NKG2D ligands as therapeutic targets. *Cancer Immun*. 2013;13:8.
- Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120(12):2454–65. doi: 10.1016/s0145-2126(13)70009-2.
- Blum WG. Hypomethylating agents in myelodysplastic syndromes. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2011;9(2):123–8.
- Семочкин С.В., Толстых Т.Н., Иванова В.Л. и др. Азацидин в лечении миелодиспластических синдромов: клиническое наблюдение и обзор литературы. *Клиническая онкогематология*. 2012;5(3):233–8. [Semochkin SV, Tolstykh TN, Ivanova VL, et al. Azacitidine in the treatment of myelodysplastic syndromes: case report and literature review. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2012;5(3):233–8. (In Russ)]
- Ширин А.Д., Баранова О.Ю. Гипометилирующие препараты в онкогематологии. *Клиническая онкогематология*. 2016;9(4):369–82. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-369-382. [Shirin AD, Baranova OYu. Hypomethylating Agents in Oncohematology. *Clinical oncohematology*. 2016;9(4):369–82. doi: 10.21320/2500-2139-2016-9-4-369-382. (In Russ)]
- Richard-Carpentier G, DeZern AE, Takahashi K, et al. Preliminary Results from the Phase II Study of the IDH2-Inhibitor Enasidenib in Patients with High-Risk IDH2-Mutated Myelodysplastic Syndromes (MDS). *Blood*. 2019;134(1):678. doi: 10.1182/blood-2019-130501.
- Foran JM, DiNardo CD, Watts JM, et al. Ivosidenib (AG-120) in Patients with IDH1-Mutant Relapsed/Refractory Myelodysplastic Syndrome: Updated Enrollment of a Phase 1 Dose Escalation and Expansion Study. *Blood*. 2019;134(1):4254. doi: 10.1182/blood-2019-123946.
- Garcia JS. Prospects for Venetoclax in Myelodysplastic Syndromes. *Hematol Oncol Clin N Am*. 2020;34(2):441–8. doi: 10.1016/j.hoc.2019.10.005.
- Germing U, Schroeder T, Kaivers J, et al. Novel therapies in low- and high-risk myelodysplastic syndrome. *Exp Rev Hematol*. 2019;12(10):893–908. doi: 10.1080/17474086.2019.1647778.
- Platzbecker U. Treatment of MDS. *Blood*. 2019;133(10):1096–107. doi: 10.1182/blood-2018-10-844696.
- Swoboda DM, Sallman DA. Mutation-Driven Therapy in MDS. *Curr Hematol Malig Rep*. 2019;14(6):550–60. doi: 10.1007/s11899-019-00554-4.
- Миелодиспластические синдромы. Интервью с С.В. Грицаевым. *Клиническая онкогематология*. 2018;11(2):125–37. [Myelodysplastic syndromes. Interview with SV Gritsaev. *Clinical oncohematology*. 2018;11(2):125–37. (In Russ)]
- Manley PW, Weisberg E, Sattler M, et al. Midostaurin, a Natural Product-Derived Kinase Inhibitor Recently Approved for the Treatment of Hematological Malignancies. *Biochemistry*. 2018;57(5):477–8. doi: 10.1021/acs.biochem.7b01126.
- Liu X, Gong Y. Isocitrate dehydrogenase inhibitors in acute myeloid leukemia. *Biomark Res*. 2019;7(1):22. doi: 10.1186/s40364-019-0173-z.
- Kim ES. Enasidenib: First Global Approval. *Drugs*. 2017;77(15):1705–11. doi: 10.1007/s40265-017-0813-2.
- Garcia-Aranda M, Perez-Ruiz E, Redondo M. Bcl-2 Inhibition to Overcome Resistance to Chemo- and Immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2018;19(12):3950. doi: 10.3390/ijms19123950.
- Davids MS, Kim HT, Bachireddy P, et al. Ipilimumab for patients with relapse after allogeneic transplantation. *Leukemia and Lymphoma Society Blood Cancer Research Partnership*. *N Engl J Med*. 2016;375(2):143–53. doi: 10.1056/NEJMoa1601202.
- Li F, Sutherland MK, Yu C, et al. Characterization of SGN-CD123A, A Potent CD123-Directed Antibody-Drug Conjugate for Acute Myeloid Leukemia. *Mol Cancer Ther*. 2018;17(2):554–64. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-17-0742.
- Mawad R, Gooley TA, Rajendran JG, et al. Radiolabeled AntiCD45 Antibody with Reduced-Intensity Conditioning and Allogeneic Transplantation for Younger Patients with Advanced Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014;20(9):1363–8. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.05.014.
- Guy DG, Uy GL. Bispecific Antibodies for the Treatment of Acute Myeloid Leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. 2018;13(6):417–25. doi: 10.1007/s11899-018-0472-8.
- Di Stasi A, Jimenez AM, Minagawa K, et al. Review of the Results of WT1 Peptide Vaccination Strategies for Myelodysplastic Syndromes and Acute Myeloid Leukemia from Nine Different Studies. *Front Immunol*. 2015;6:36. doi: 10.3389/fimmu.2015.00036.

38. Van Acker HH, Versteven M, Lichtenegger FS, et al. Dendritic Cell-Based Immunotherapy of Acute Myeloid Leukemia. *J Clin Med*. 2019;8(5):579. doi: 10.3390/jcm8050579.
39. Yabe T, McSherry C, Bach FH, et al. A multigene family on human chromosome 12 encodes natural killer-cell lectins. *Immunogenetics*. 1993;37(6):455–60. doi: 10.1007/bf00222470.
40. Houchins JP, Yabe T, McSherry C, Bach FH. DNA sequence analysis of NKG2, a family of related cDNA clones encoding type II integral membrane proteins on human natural killer cells. *J Exp Med*. 1991;173(4):1017–20. doi: 10.1084/jem.173.4.1017.
41. Upshaw JL, Arneson LN, Schoon RA, et al. NKG2D-mediated signaling requires a DAPI0-bound Grb2-Vav1 intermediate and phosphatidylinositol-3-kinase in human natural killer cells. *Nat Immunol*. 2006;7(5):524–32. doi: 10.1038/ni1325.
42. Diefenbach A, Tomasello E, Lucas M, et al. Selective associations with signaling proteins determine stimulatory versus costimulatory activity of NKG2D. *Nat Immunol*. 2002;3(12):1142–9. doi: 10.1038/ni858.
43. Duan S, Guo W, Xu Z, et al. Natural killer group 2D receptor and its ligands in cancer immune escape. *Mol Cancer*. 2019;18(1):29. doi: 10.1186/s12943-019-0956-8.
44. Wu J, Song Y, Bakker AB, et al. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAPI0. *Science*. 1999;285(5428):730–2. doi: 10.1126/science.285.5428.730.
45. Ogasawara K, Lanier LL. NKG2D in NK and T cell-mediated immunity. *J Clin Immunol*. 2005;25(6):534–40. doi: 10.1007/s10875-005-8786-4.
46. Gifillan S, Ho EL, Cella M, et al. NKG2D recruits two distinct adapters to trigger NK cell activation and costimulation. *Nat Immunol*. 2002;3(12):1150–5. doi: 10.1038/ni857.
47. Groh V, Rhinehart R, Randolph-Habecker J, et al. Costimulation of CD8 α -phageta T cells by NKG2D via engagement by MIC induced on virus-infected cells. *Nat Immunol*. 2001;2(3):255–60. doi: 10.1038/85321.
48. Jamieson AM, Diefenbach A, McMahon CW, et al. The role of the NKG2D immunoreceptor in immune cell activation and natural killing. *Immunity*. 2002;17(1):19–29. doi: 10.1016/s1074-7613(02)00333-3.
49. Raulet DH. Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(10):781–90. doi: 10.1038/nri1199.
50. Roberts AI, Lee L, Schwarz E, et al. NKG2D receptors induced by IL-15 co-stimulate CD28-negative effector CTL in the tissue microenvironment. *J Immunol*. 2001;167(10):5527–30. doi: 10.4049/jimmunol.167.10.5527.
51. Lanier LL. NK cell recognition. *Annu Rev Immunol*. 2005;23(1):225–74. doi: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115526.
52. Raulet DH, Gasser S, Gowen BG, et al. Regulation of ligands for the NKG2D activating receptor. *Annu Rev Immunol*. 2013;31(1):413–41. doi: 10.1146/annurev-immunol-032712-095951.
53. Stephens HA. MICA and MICB genes: can the enigma of their polymorphism be resolved?. *Trends Immunol*. 2001;22(7):378–85. doi: 10.1016/s1471-4906(01)01960-3.
54. Carapito R, Bahram S. Genetics, genomics, and evolutionary biology of NKG2D ligands. *Immunol Rev*. 2015;267(1):88–116. doi: 10.1111/imr.12328.
55. Bartkova J, Horejsi Z, Koed K, et al. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature*. 2005;434(7035):864–70. doi: 10.1038/nature03482.
56. Gorgoulis VG, Vassiliou LV, Karakaidos P, et al. Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature*. 2005;434(7035):907–13. doi: 10.1038/nature03485.
57. Maeda T, Towatari M, Kosugi H, Saito H. Up-regulation of costimulatory/adhesion molecules by histone deacetylase inhibitors in acute myeloid leukemia cells. *Blood*. 2000;96(12):3847–56. doi: 10.1182/blood.v96.12.3847.
58. Diermayr S, Himmelreich H, Durovic B, et al. NKG2D ligand expression in AML increases in response to HDAC inhibitor valproic acid and contributes to allorecognition by NK-cell lines with single KIR-HLA class I specificities. *Blood*. 2008;111(3):1428–36. doi: 10.1182/blood-2007-07-101311.
59. Chang YH, Connolly J, Shimasaki N, et al. A chimeric receptor with NKG2D specificity enhances natural killer cell activation and killing of tumor cells. *Cancer Res*. 2013;73(6):1777–86. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3558.
60. Hamerman JA, Ogasawara K, Lanier LL. Cutting edge: Toll-like receptor signaling in macrophages induces ligands for the NKG2D receptor. *J Immunol*. 2004;172(4):2001–5. doi: 10.4049/jimmunol.172.4.2001.
61. Carlsten M, Bjorkstrom NK, Norell H, et al. DNAX accessory molecule-1 mediated recognition of freshly isolated ovarian carcinoma by resting natural killer cells. *Cancer Res*. 2007;67(3):1317–25. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2264.
62. McGilvray RW, Eagle RA, Rolland P, et al. ULBP2 and RAET1E NKG2D ligands are independent predictors of poor prognosis in ovarian cancer patients. *Int J Cancer*. 2010;127(6):1412–20. doi: 10.1002/ijc.25156.
63. Cathro HP, Smolkin ME, Theodorescu D, et al. Relationship between HLA class I antigen processing machinery component expression and the clinicopathologic characteristics of bladder carcinomas. *Cancer Immunol Immunother*. 2010;59(3):465–72. doi: 10.1007/s00262-009-0765-9.
64. Seitz S, Hohla F, Schally AV, et al. Inhibition of estrogen receptor positive and negative breast cancer cell lines with a growth hormone-releasing hormone antagonist. *Oncol Rep*. 2008;20(5):1289–94.
65. Mamessier E, Sylvain A, Thibault ML, et al. Human breast cancer cells enhance self tolerance by promoting evasion from NK cell antitumor immunity. *J Clin Invest*. 2011;121(9):3609–22. doi: 10.1172/JCI45816.
66. Busche A, Goldmann T, Naumann U, et al. Natural killer cell-mediated rejection of experimental human lung cancer by genetic overexpression of major histocompatibility complex class I chain-related gene A. *Hum Gene Ther*. 2006;17(2):135–46. doi: 10.1089/hum.2006.17.135.
67. Platonova S, Cherfilis-Vicini J, Damotte D, et al. Profound coordinated alterations of intratumoral NK cell phenotype and function in lung carcinoma. *Cancer Res*. 2011;71(16):5412–22. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4179.
68. Jinushi M, Takehara T, Tatsumi T, et al. Expression and role of MICA and MICB in human hepatocellular carcinomas and their regulation by retinoic acid. *Int J Cancer*. 2003;104(3):354–61. doi: 10.1002/ijc.10966.
69. Watson NF, Spendlove I, Madjz Z, et al. Expression of the stress-related MHC class I chain-related protein MICA is an indicator of good prognosis in colorectal cancer patients. *Int J Cancer*. 2006;118(6):1445–52. doi: 10.1002/ijc.21510.
70. Sconocchia G, Spagnoli GC, Del Principe D, et al. Defective infiltration of natural killer cells in MICA/B-positive renal cell carcinoma involves beta(2)-integrin-mediated interaction. *Neoplasia*. 2009;11(7):662–71. doi: 10.1593/neo.09296.
71. Wu JD, Higgins LM, Steinle A, et al. Prevalent expression of the immunostimulatory MHC class I chain-related molecule is counteracted by shedding in prostate cancer. *J Clin Invest*. 2004;114(4):560–8. doi: 10.1172/JCI22206.
72. Salih HR, Antropius H, Gieseke F, et al. Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia. *Blood*. 2003;102(4):1389–96. doi: 10.1182/blood-2003-01-0019.
73. Diermayr S, Himmelreich H, Durovic B, et al. NKG2D ligand expression in AML increases in response to HDAC inhibitor valproic acid and contributes to allorecognition by NK-cell lines with single KIR-HLA class I specificities. *Blood*. 2008;111(3):1428–36. doi: 10.1182/blood-2007-07-101311.
74. Sconocchia G, Lau M, Provenzano M, et al. The antileukemia effect of HLA-matched NK and NK-T cells in chronic myelogenous leukemia involves NKG2D-target-cell interactions. *Blood*. 2005;106(10):3666–72. doi: 10.1182/blood-2005-02-0479.
75. Nuckel H, Switala M, Sellmann L, et al. The prognostic significance of soluble NKG2D ligands in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2010;24(6):1152–9. doi: 10.1038/leu.2010.74.
76. Zhang B, Kracker S, Yasuda T, et al. Immune surveillance and therapy of lymphomas driven by Epstein-Barr virus protein LMP1 in a mouse model. *Cell*. 2012;148(4):739–51. doi: 10.1016/j.cell.2011.12.031.
77. Girlanda S, Fortis C, Belloni D, et al. MICA expressed by multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance plasma cells costimulates pamidronate-activated gammadelta lymphocytes. *Cancer Res*. 2005;65(16):7502–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-0731.
78. Paschen A, Sucker A, Hill B, et al. Differential clinical significance of individual NKG2D ligands in melanoma: soluble ULBP2 as an indicator of poor prognosis superior to S100B. *Clin Cancer Res*. 2009;15(16):5208–15. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0886.
79. Verhoeven DH, de Hooge AS, Mooiman EC, et al. NK cells recognize and lyse Ewing sarcoma cells through NKG2D and DNAM-1 receptor dependent pathways. *Mol Immunol*. 2008;45(15):3917–25. doi: 10.1016/j.molimm.2008.06.016.
80. Friese MA, Platten M, Lutz SZ, et al. MICA/NKG2D-mediated immunogene therapy of experimental gliomas. *Cancer Res*. 2003;63(24):8996–9006.
81. Raffaghello L, Frigione I, Airoldi I, et al. Downregulation and/or release of NKG2D ligands as immune evasion strategy of human neuroblastoma. *Neoplasia*. 2004;6(5):558–68. doi: 10.1593/neo.04316.
82. Chitadze G, Lettau M, Bhat J, et al. Shedding of endogenous MHC class I-related chain molecules A and B from different human tumor entities: heterogeneous involvement of the “a disintegrin and metalloproteases” 10 and 17. *Int J Cancer*. 2013;133(7):1557–66. doi: 10.1002/ijc.28174.
83. Zhang T, Lemoi BA, Sentman CL. Chimeric NK-receptor-bearing T cells mediate antitumor immunotherapy. *Blood*. 2005;106(5):1544–51. doi: 10.1182/blood-2004-11-4365.
84. Zhang T, Barber A, Sentman CL. Generation of antitumor responses by genetic modification of primary human T cells with a chimeric NKG2D receptor. *Cancer Res*. 2006;66(11):5927–33. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-0130.
85. Barber A, Zhang T, DeMars LR, et al. Chimeric NKG2D receptor-bearing T cells as immunotherapy for ovarian cancer. *Cancer Res*. 2007;67(10):5003–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4047.
86. Barber A, Zhang T, Megli CJ, et al. Chimeric NKG2D receptor-expressing T cells as an immunotherapy for multiple myeloma. *Exp Hematol*. 2008;36(10):1318–28. doi: 10.1016/j.exphem.2008.04.010.
87. Barber A, Meehan KR, Sentman CL. Treatment of multiple myeloma with adoptively transferred chimeric NKG2D receptor-expressing T cells. *Gene Ther*. 2011;18(5):509–16. doi: 10.1038/gt.2010.174.
88. Barber A, Rynda A, Sentman CL. Chimeric NKG2D expressing T cells eliminate immunosuppression and activate immunity within the ovarian tumor microenvironment. *J Immunol*. 2009;183(11):6939–47. doi: 10.4049/jimmunol.0902000.
89. Zhang T, Sentman CL. Cancer immunotherapy using a bispecific NK receptor fusion protein that engages both T cells and tumor cells. *Cancer Res*. 2011;71(6):2066–76. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3200.
90. Zhang T, Sentman CL. Mouse tumor vasculature expresses NKG2D ligands and can be targeted by chimeric NKG2D-modified T cells. *J Immunol*. 2013;190(5):2455–63. doi: 10.4049/jimmunol.1201314.
91. Lehner M, Gotz G, Proff J, et al. Redirecting T cells to Ewing's sarcoma family of tumors by a chimeric NKG2D receptor expressed by lentiviral trans-

duction or mRNA transfection. *PLoS One*. 2012;7(2):e31210. doi: 10.1371/journal.pone.0031210.

92. Song DG, Ye Q, Santoro S, et al. Chimeric NKG2D CAR-expressing T cell-mediated attack of human ovarian cancer is enhanced by histone deacetylase inhibition. *Hum Gene Ther*. 2013;24(3):295–305. doi: 10.1089/hum.2012.143.

93. Kalos M, Levine BL, Porter DL, et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med*. 2011;3(95):95ra73. doi: 10.1126/scitranslmed.3002842.

94. Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, et al. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med*. 2013;5(177):177ra38. doi: 10.1126/scitranslmed.3005930.

95. Meehan KR, Talebian L, Tosteson TD, et al. Adoptive cellular therapy using cells enriched for NKG2D+CD3+CD8+ T cells after autologous transplantation for myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(1):129–37. doi: 10.1016/j.bbmt.2012.08.018.

96. Nakajima J, Murakawa T, Fukami T, et al. A phase I study of adoptive immunotherapy for recurrent non-small-cell lung cancer patients with autologous gamma delta T cells. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2010;37(5):1191–7. doi: 10.1016/j.ejcts.2009.11.051.

97. Abe Y, Muto M, Nieda M, et al. Clinical and immunological evaluation of zoledronate-activated Vgamma9gammadelta T-cell-based immunotherapy for patients with multiple myeloma. *Exp Hematol*. 2009;37(8):956–68. doi: 10.1016/j.exphem.2009.04.008.

98. Gattinoni L, Powell DJ Jr, Rosenberg SA, Restifo NP. Adoptive immunotherapy for cancer: building on success. *Nat Rev Immunol*. 2006;6(5):383–93. doi: 10.1038/nri1842.

99. June CH. Principles of adoptive T cell cancer therapy. *J Clin Invest*. 2007;117(5):1204–12. doi: 10.1172/JCI31446.

100. Morgan RA, Chinnasamy N, Abate-Daga D, et al. Cancer regression and neurological toxicity following anti-MAGE-A3 TCR gene therapy. *J Immunother*. 2013;36(2):133–51. doi: 10.1097/CJI.0b013e3182829903.

101. Morgan RA, Yang JC, Kitano M, et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther*. 2010;18(4):843–51. doi: 10.1038/mt.2010.24.

102. 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):3051–7. doi: 10.1182/blood-2004-07-2974.

103. Sentman CL, Meehan KR. NKG2D CARs as cell therapy for cancer. *Cancer J*. 2014;20(2):156–9. doi: 10.1097/PPO.0000000000000029.

104. Loney C, Hendlisz A, Shaza L, et al. Celyad's novel CAR T-cell therapy for solid malignancies. *Curr Res Transl Med*. 2018;66(2):53–6. doi: 10.1016/j.retram.2018.03.001.

105. Baumeister SH, Murad J, Werner L, et al. Phase I Trial of Autologous CAR T Cells Targeting NKG2D Ligands in Patients with AML/MDS and Multiple Myeloma. *Cancer Immunol Res*. 2019;7(1):100–12. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0307.

106. Al-Homsi S, Purev E, Lewalle P, et al. Interim Results from the Phase I Deplethink Trial Evaluating the Infusion of a NKG2D CAR T-Cell Therapy Post a Non-Myeloablative Conditioning in Relapse or Refractory Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndrome Patients. *Blood*. 2019;134(Suppl_1):3844. doi: 10.1182/blood-2019-128267.

107. Liu H, Wang S, Xin J, et al. Role of NKG2D and its ligands in cancer immunotherapy. *Am J Cancer Res*. 2019;9(10):2064–78.

