

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-47-57>

Механизмы цитотоксичности пассивной анти-GD2-иммунотерапии при опухолях детского возраста

М.Е. Мельников¹, С.А. Кулева^{1,2}, Г.В. Кондратьев¹, М.М. Васильева¹, О.Е. Савельева¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России; Россия, 194100 Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, 68

Контакты: Максим Евгеньевич Мельников melmakse@gmail.com

Клетки нейробластомы, сарком мягких тканей, остеосаркомы, саркомы Юинга и некоторых других опухолей у детей и взрослых способны экспрессировать дисialogанглизид GD2. Включение в протоколы терапии нейробластомы анти-GD2-моноклональных антител позволило улучшить результаты лечения. Проводятся исследования эффективности использования этих моноклональных антител и при других опухолях.

В данном обзоре описаны основные клеточные и молекулярные процессы, происходящие при пассивной анти-GD2-иммунотерапии при опухолях детского возраста, а также факторы, способные повлиять на них. Мы пришли к выводу, что ведущую роль в развитии цитотоксичности играет антителозависимая клеточная цитотоксичность, реализуемая естественными киллерами по классическому механизму с индукцией каспазазависимого апоптоза, а также макрофагами и нейтрофилами посредством фагоцитоза, трофоцитоза и прямой цитотоксичности. Эффективному фагоцитозу способствует экспрессия кальретикулина опухолевыми клетками и рецептора LRP1 фагоцитами, а уклонению от фагоцитоза – экспрессия опухолевыми клетками CD47 и его взаимодействие с SIRPα на фагоцитах. Параллельно происходит активация Т-клеточного адаптивного иммунного ответа. Использование гранулоцитарного и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующих факторов может усиливать цитотоксичность. Добавление экзогенного интерлейкина 2 не повышает эффективность лечения, а применение интерлейкинов 15 и 21 усиливает цитотоксичность *in vitro*, что требует проведения клинических исследований. Комплементзависимая цитотоксичность, вероятно, не оказывает влияния на терапевтическую эффективность пассивной анти-GD2-иммунотерапии. Опухолевое микроокружение и молекулярные особенности иммунокомпетентных клеток могут влиять на анти-GD2-опосредованную цитотоксичность, особенно при совместном использовании анти-GD2 моноклональных антител и ингибиторов рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-1). Таким образом, дальнейшее изучение данного вопроса особенно актуально. Анти-GD2-моноклональные антитела могут снижать пролиферативную активность и индуцировать апоптоз опухолевых клеток путем ингибирования сигнальных путей (главным образом PI3K/Akt/mTOR), транскрипционных факторов, комплексов фокальной адгезии и интегринов. Вероятны и механизмы индукции митохондриальнозависимой клеточной гибели, имеющей признаки апоптоза и некроза.

Ключевые слова: GD2, моноклональное антитело, опухоль детского возраста, иммунотерапия, цитотоксичность, апоптоз

Для цитирования: Мельников М.Е., Кулева С.А., Кондратьев Г.В. и др. Механизмы цитотоксичности пассивной анти-GD2-иммунотерапии при опухолях детского возраста. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(2):47–57.

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-47-57>

Cytotoxicity mechanisms of passive anti-GD2 immunotherapy in pediatric tumors

M.E. Melnikov¹, S.A. Kulyova^{1,2}, G.V. Kondratiev¹, M.M. Vasilyeva¹, O.E. Savelieva¹

¹Saint Petersburg State Pediatric Medical University, Ministry of Health of Russia; 2, Litovskaya St., Saint Petersburg 194100, Russia;

²N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochny Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia

Contacts: Maksim Evgenievich Melnikov melmakse@gmail.com

Cells of neuroblastoma, soft tissue sarcomas, osteosarcoma, Ewing's sarcoma and some other tumors in children and adults are able to express disialoganglioside GD2. The introduction of anti-GD2 monoclonal antibodies into neuroblastoma treatment protocols has improved outcomes. Studies of the effectiveness of using anti-GD2 monoclonal antibodies in other tumors are also underway.

In this review, we describe the main cellular and molecular processes occurring during passive anti-GD2 immunotherapy in pediatric tumors, as well as the factors that can affect them. We concluded that the leading role belongs to antibody-dependent cellular cytotoxicity realized by natural killers via the classical mechanism with the induction of caspase-dependent apoptosis, as well as macrophages, neutrophils through phagocytosis, trogocytosis and direct cytotoxicity. Efficient phagocytosis is promoted by expression of calreticulin by tumor cells and LRP1 receptor by phagocytes, while expression of CD47 by tumor cells and its interaction with SIRP α on phagocytes contribute to evasion of phagocytosis.

In parallel, activation of T-cell adaptive immune response occurs. The use of granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors can enhance cytotoxicity. Addition of exogenous interleukin 2 does not improve the effectiveness of treatment, and the use of interleukins 15 and 21 enhances cytotoxicity *in vitro*, which requires clinical trials. Complement-dependent cytotoxicity probably does not affect the therapeutic efficacy of passive anti-GD2 immunotherapy. Tumor microenvironment and molecular features of immunocompetent cells can affect anti-GD2-mediated cytotoxicity, especially when used in combination with programmed cell death 1 (PD-1) inhibitors, thus, further study of this issue is especially relevant. Anti-GD2 monoclonal antibodies directly reduce the proliferative activity and induce apoptosis of tumor cells by inhibiting signaling pathways (mainly PI3K/Akt/mTOR), transcription factors, focal adhesion complexes, and integrins. Mechanisms for inducing mitochondria-dependent cell death, which has signs of apoptosis and necrosis, are also probable.

Keywords: GD2, monoclonal antibody, pediatric tumor, immunotherapy, cytotoxicity, apoptosis

For citation: Melnikov M.E., Kulyova S.A., Kondratiev G.V. et al. Cytotoxicity mechanisms of passive anti-GD2 immunotherapy in pediatric tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2025;12(2):47–57. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-47-57>

ВВЕДЕНИЕ

Применение мультимодальных подходов к терапии, включающих полихимиотерапию (в том числе высокодозную), хирургическое вмешательство и лучевую терапию, на основании определения прогностических факторов и стратификации пациентов на группы риска позволило значительно улучшить результаты лечения детей со злокачественными новообразованиями. Все большее внимание уделяется выявлению специфических для злокачественных клеток молекул и прицельному воздействию на них. Одним из примеров таких мишеней является дисialogанглиозид GD2, который представляет собой гликофинголипид, состоящий из гидрофобного церамида и гидрофильного олигосахарида, содержащего 2 отрицательно заряженные сиаловые кислоты. Он экспрессируется в различных структурах центральной нервной системы плода и составляет 5–7 % всех ганглиозидов. В процессе взросления доля GD2 снижается до 2 %. Также этот ганглиозид определяется в периферических нервах, меланоцитах, клетках предстательной железы и Т-лимфоцитах.

Предполагается, что в нормальных условиях ганглиозиды принимают участие в клеточной адгезии, сигнализации и репарации нервной ткани, однако в злокачественных клетках GD2 посредством взаимодействия с интегринами, активации киназы фокальной адгезии (FAK) и сигнального пути PI3K (фосфоинозитид-3-киназа)/АКТ (протеинкиназа В)/mTOR (мишень рапамицина млекопитающих) усиливает подвижность и выживаемость клеток, пролиферацию,

в том числе не связанную с внеклеточным матриксом, дифференцировку и ангиогенез [1–4]. В 1980-х годах появились сообщения об обнаружении ганглиозидов GD2 на клетках нейробластомы (НБ), остеогенной саркомы, мягкотканых сарком и саркомы Юинга [5–7]. В дальнейшем в число педиатрических GD2-экспрессирующих опухолей вошли ретинобластомы, глиомы, меланомы, а также встречаемые у взрослых трижды негативный рак молочной железы и мелкоклеточный рак легкого. Тем не менее уровни экспрессии GD2 в клетках данных опухолей варьируют; наибольший показатель, достигающий почти 100 %, наблюдается при НБ [3, 8–11]. К настоящему времени получены мышиные моноклональные антитела (МоАТ) анти-GD2 3F8, 14G2a, гуманизированное МоАТ hu14.18K322A и другие, также в клиническую практику внедрены химерные антитела — динутуксимаб (ch14.18), динутуксимаб бета (ch14.18/CHO) и гуманизированное МоАТ накситамаб (hu3F8). Активно продолжается работа по модификации антител для достижения оптимального терапевтического эффекта и нивелирования нежелательной токсичности [12].

Применение специфических МоАТ внесло существенный вклад в повышение эффективности лечения детей с НБ группы высокого риска. Так, по данным исследования ANBL00032, применение динутуксимаба в консолидации позволило увеличить показатели долгосрочной общей и бессобытийной выживаемости на 20 % [13, 14]. Неоднократно продемонстрирован синергизм действия МоАТ и цитотоксических химиопрепаратов при НБ *in vitro* и *in vivo* [15–18]. В настоящее время

проводятся исследования по оценке эффективности воздействия на GD2 при остеосаркоме, саркоме Юинга, мягкотканых саркомах [11, 19], однако клиническая эффективность иммунотерапии при данных заболеваниях пока точно не определена. Исследование механизмов цитотоксичности пассивной GD2-направленной иммунотерапии представляет большой интерес в связи с необходимостью поиска новых точек приложения и повышения эффективности лечения.

Цель работы — описание основных клеточных и молекулярных процессов, происходящих при воздействии анти-GD2-МоАТ на GD2-экспрессирующие клетки при опухолях детского возраста, а также факторов, способных повлиять на реализацию цитотоксичности. Для этого мы проанализировали публикации, содержащие исчерпывающую информацию о механизмах цитотоксичности пассивной анти-GD2-иммунотерапии и факторах, воздействующих на нее, из баз данных Google Scholar, PubMed, Wiley, РИНЦ (Российский индекс научного цитирования) и др.

МЕХАНИЗМЫ ИММУНООПОСРЕДОВАННОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

Принято считать, что наиболее важными противоопухолевыми механизмами действия анти-GD2-МоАТ являются антителозависимая клеточная цитотоксичность (АЗКЦ) и комплементзависимая цитотоксичность.

Механизм АЗКЦ включает активацию NK-клеток (NK — естественные киллеры), нейтрофилов и макро-

фагов. Цитотоксическая активность NK-клеток опосредуется преимущественно мембранным рецептором $Fc\gamma RIIIA$ (CD16a), и при распознавании Fc-фрагмента анти-GD2-МоАТ на опсонизированных клетках происходит фосфорилирование иммунорецепторного мотива активации тирозина (ITAM) (рис. 1). Посредством активации сигнальных путей PI3K, транскрипционного ядерного фактора κB (NF- κB), киназы, регулируемой внеклеточным сигналом (ERK), и тирозинкиназ происходит дегрануляция NK-клеток, при этом молекулы перфоринов, соединяясь друг с другом в цитоплазматической мембране опухолевой клетки, образуют поры, через которые в клетку попадают гранзимы, активирующие каспазозависимый апоптотический каскад. Параллельно происходят активация рецепторов клеточной гибели семейства факторов некроза опухоли (TNF) и высвобождение интерферона γ ($INF\gamma$), который стимулирует презентацию близлежащими клетками (главным образом, дендритными клетками) опухолевого антигена молекулами главного комплекса гистосовместимости I (МНС I) и II (МНС II) классов и адаптивный (в частности $CD8^+$ -Т-лимфоцитарный) иммунный ответ [1, 2, 8, 20, 21]. Все больше данных свидетельствуют о том, что АЗКЦ инициируется NK-клетками $CD56^{dim}CD16^+$, вероятно, в связи со способностью данной субпопуляции активно продуцировать $INF\gamma$ в ранние сроки, что может быть индуцировано комбинацией интерлейкинов (IL) 1, 12 и 15 [20, 22], а истощение $CD56^+$ -клеток приводит к снижению цитотоксичности опухолеассоциированных лим-

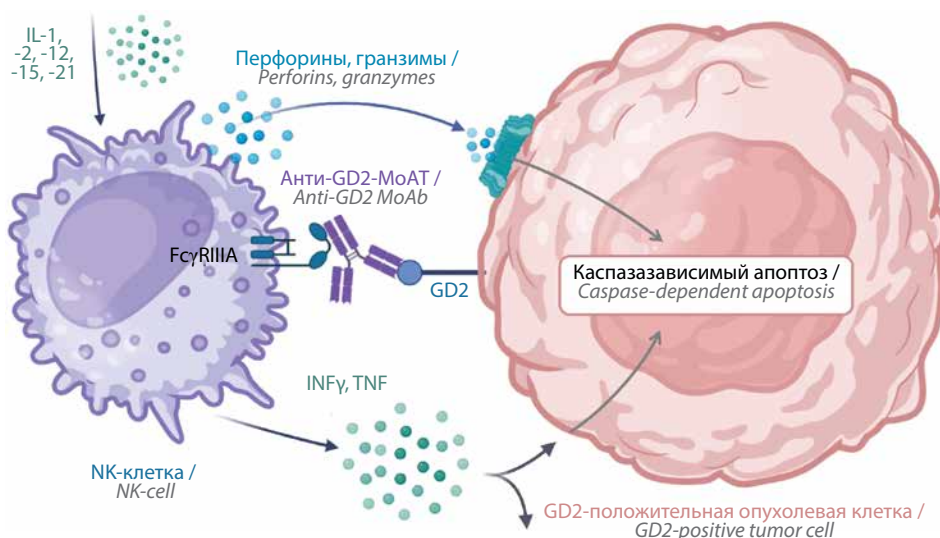


Рис. 1. Опосредованная естественными киллерами (NK) антителозависимая клеточная цитотоксичность. Взаимодействие моноклональных антител (МоАТ) с GD2 на поверхности опухолевой клетки и $Fc\gamma RIIIA$ с дальнейшим выбросом NK-клеткой перфоринов, гранзимов, а также интерферона γ ($INF\gamma$) и факторов некроза опухоли (TNF) с реализацией каспазозависимого апоптоза (процесс усиливается интерлейкинами (IL) 1, 2, 12, 15 и 21). Представлены ключевые аспекты антителозависимой клеточной цитотоксичности, пропорции условны. Рисунок создан с помощью BioRender.com

Fig. 1. Natural killer (NK) mediated antibody dependent cellular cytotoxicity. The interaction of monoclonal antibodies (MoAb) with GD2 on the surface of a tumor cell and $Fc\gamma RIIIA$ with subsequent release of perforins, granzymes, as well as interferon γ ($INF\gamma$) and tumor necrosis factors (TNF) by the NK cell with the implementation of caspase-dependent apoptosis (the process is enhanced by interleukins 1, 2, 12, 15 and 21). Key aspects of antibody-dependent cellular cytotoxicity are presented, the proportions are arbitrary. The figure was created using BioRender.com

фоцитов в отношении клеточных линий НБ *in vitro* [23]. Помимо этого, лизис клеток коррелирует с экспрессией NK-клетками CD69 — раннего маркера активации, а также CD107a — маркера дегрануляции [24, 25]. Также определено, что наличие полиморфизмов высокоаффинного Fcγ-рецептора и иммуноглобулинподобного рецептора клеток-киллеров (KIR) и его лиганда (KIRL) ассоциировано с более высокими уровнем АЗКЦ и показателями бессобытийной выживаемости [26, 27].

Анти-GD2 антитело-опосредованный фагоцитоз осуществляется путем активации макрофагов и нейтрофилов через рецепторы FcγRI (CD64) и FcγRIIa (CD32a), однако одного взаимодействия недостаточно — клетки должны экспрессировать кальретикулин, известный как сигнал «съешь меня», в норме выполняющий функции шаперона и кальциевого буфера в эндоплазматическом ретикулуме (рис. 2). Перемещаясь на поверхность клеточной мембраны, кальретикулин связывается с мембранными гликанами и закрепляется на поверхности клеток, взаимодействуя с рецептором белка 1, подобного рецептору липопротеинов низкой плотности (LRP1), присутствующим на фагоцитах [8, 28, 29]. Установлено, что анти-GD2-МоАТ, но не другие МоАТ, могут усиливать экспрессию кальретикулина клетками

НБ и стимулировать их фагоцитоз макрофагами [8]. Ускользанию от фагоцитоза макрофагами и нейтрофилами может способствовать экспрессия CD47 (интегрин-ассоциированный белок (IAP), сигнал «не ешь меня») и его взаимодействие с сигнальным регуляторным белком α (SIRPα), а ингибирование CD47/SIRPα усиливает опосредованную нейтрофилами АЗКЦ [30–33]. J. Theruvath и соавт. выявили мощный синергический эффект при комбинации анти-GD2- и анти-CD47-МоАТ в сингенных и ксенографтных мышинных моделях НБ, остеосаркомы и мелкоклеточного рака легкого в виде снижения опухолевой нагрузки и увеличения выживаемости. Лигирование GD2 на опухолевых клетках усиливает экспрессию поверхностного кальретикулина и прерывает взаимодействие GD2 с другим его специфическим лигандом — ингибиторным иммунорецептором SIGLEC7 (CD328) [30]. Помимо этого, нейтрофилы вызывают прямую цитотоксичность путем высвобождения активных форм кислорода, вызывающих окислительный стресс, а также первичных, вторичных и третичных гранул, содержащих цитотоксические молекулы (эластазу, миелопероксидазу, катепсины, дефензины, лактоферрин, аргиназу, матриксную металлопротеиназу 9 и др.) и запускающих апоптоз в клетках-мишенях [32, 33].

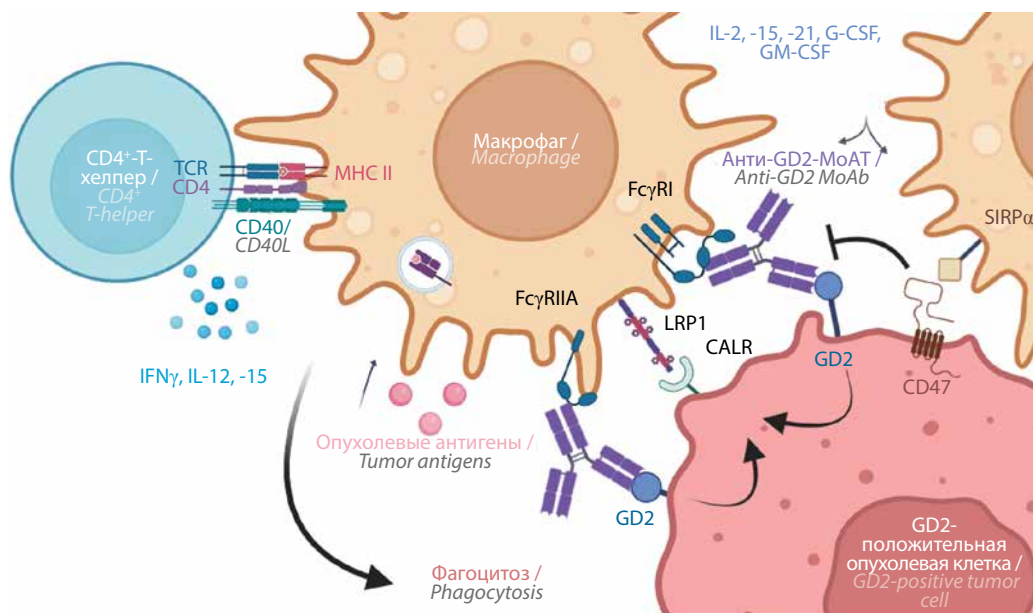


Рис. 2. Анти-GD2-антителозависимый фагоцитоз. Взаимодействие моноклональных антител (МоАТ) с GD2 на поверхности опухолевой клетки и с FcγRI, FcγRIIa, а также LRP1 с кальретикулином (CALR) с дальнейшей реализацией фагоцитоза, презентацией макрофагами опухолевых антигенов Т-хелперу и продукция им провоспалительных факторов (процесс усиливается интерлейкинами (IL) 2, 15, 21, гранулоцитарно-колониестимулирующим (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим (GM-CSF) факторами). Взаимодействие CD47 с SIRPα ингибирует реализацию фагоцитоза. Представлены ключевые аспекты процесса, пропорции условны. Рисунок создан с помощью BioRender.com. IFNγ — интерферон γ; MHC II — главный комплекс гистосовместимости II класса; TCR — Т-клеточный рецептор; TNF — факторы некроза опухоли

Fig. 2. Anti-GD2 antibody dependent phagocytosis. The interaction of monoclonal antibodies (MoAb) with GD2 on the surface of a tumor cell and with FcγRI, FcγRIIa is shown, as well as the interaction of LRP1 with calreticulin (CALR) with further implementation of phagocytosis, presentation of tumor antigens by macrophages to T-helper and production of proinflammatory factors by them (the process is enhanced by interleukins (IL) 2, 15, 21, granulocyte-macrophage colony-stimulating (G-CSF) and granulocyte-macrophage colony-stimulating (GM-CSF) factors). The interaction of CD47 with SIRPα inhibits the implementation of phagocytosis. The key aspects of the process are presented, the proportions are arbitrary. The figure was created using BioRender.com.; IFNγ — interferon γ; MHC II — major histocompatibility complex class II; TCR — T-cell receptor, TNF — tumor necrosis factors

РОЛЬ ЦИТОКИНОВ В АНТИ-GD2-ОПОСРЕДОВАННОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

Стандартные протоколы применения анти-GD2-MoAT изначально включали использование экзогенных цитокинов — гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и IL-2, поскольку это способствовало модуляции нейтрофил и NK-опосредованной АЗКЦ [29, 34]. Клетки НБ эффективно фагоцитируются активированными моноцитами/макрофагами, GM-CSF увеличивает количество и активность иммуностимулирующих опухолеассоциированных макрофагов M1, количество молекул адгезии на полиморфноядерных нейтрофилах и экспрессию МНС II, а также индуцирует активацию эндогенного IL-2, что модулирует презентацию опухолевого антигена на дендритных клетках и опосредованные Т-клетками противоопухолевые эффекты [29, 35, 36] (рис. 3). С учетом того, что GM-CSF недоступен для рутинного применения во многих странах мира в отличие от гра-

нулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF), Р. Martinez Sanz и соавт. сравнили способность нейтрофилов, стимулированных *in vitro* и *in vivo* с помощью G-CSF и GM-CSF, уничтожать опсонизированные динутуксимабом GD2-положительные клеточные линии НБ и опухолевый материал метастаза НБ из костного мозга пациента. Установлено, что G-CSF вызывает нейтрофил-опосредованную цитотоксичность, аналогичную GM-CSF [37], требует экспрессии нейтрофилами рецептора FcγRIIa и CD11b/CD18 интегрина и сопровождается трогоцитозом фрагментов мембраны опухолевых клеток с последующим цитолизом, так как механическая деструкция нейтрофилами частей опсонизированной MoAT мембраны приводит к лизису опухолевых клеток — трогоптозу, несущему черты некроза [33, 37]. Авторы отмечают, что необходимы дальнейшие исследования эффективности и безопасности использования в клинической практике G-CSF в качестве аналога GM-CSF [37].

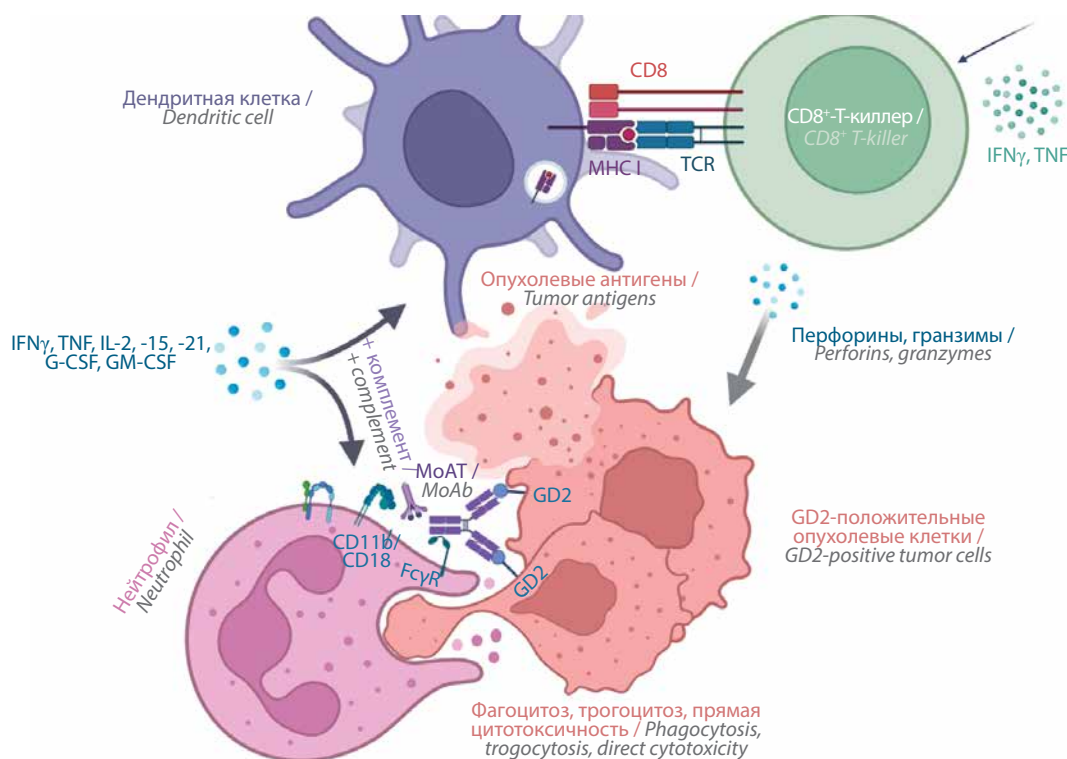


Рис. 3. Нейтрофил-опосредованная антителозависимая клеточная цитотоксичность. Взаимодействие моноклональных антител (MoAT) с GD2 на поверхности опухолевых клеток с FcR нейтрофила с дальнейшей реализацией фагоцитоза, трогоцитоза, продукции активных форм кислорода и цитотоксических гранул, презентацией дендритной клеткой опухолевых антигенов Т-киллеру и продукции им цитотоксических факторов (процессы усиливаются интерфероном γ ($IFN\gamma$), факторами некроза опухоли (TNF), интерлейкинами (IL) 2, 12, 15, 21, гранулоцитарным колониестимулирующим (G-CSF) и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим (GM-CSF) факторами). Белки системы комплемента принимают участие в реализации цитотоксичности. Представлены ключевые аспекты клеточной и комплементзависимой цитотоксичности, пропорции условны. Рисунок создан с помощью помощи BioRender.com. MHC I — главный комплекс гистосовместимости I класса; TCR — T-клеточный рецептор

Fig. 3. Neutrophil-mediated antibody dependent cellular cytotoxicity. The interaction of monoclonal antibodies (MoAb) with GD2 on the surface of tumor cells with neutrophil FcR with subsequent implementation of phagocytosis, trogocytosis, production of active oxygen forms and cytotoxic granules, presentation of tumor antigens by a dendritic cell to a T-killer and production of cytotoxic factors by it (the processes are enhanced by interferon γ ($IFN\gamma$), tumor necrosis factors (TNF), interleukins (IL) 2, 12, 15, 21, granulocyte colony-stimulating (G-CSF) and granulocyte-macrophage colony-stimulating (GM-CSF) factors). Complement system proteins participate in the implementation of cytotoxicity. Key aspects of cellular and complement-dependent cytotoxicity are presented, proportions are arbitrary. The figure was created using BioRender.com. MHC I — major histocompatibility complex class I; TCR — T-cell receptor

Интересно, что использование экзогенного IL-2 с динутуксимабом бета связано лишь с увеличением токсичности и не влияет на эффективность терапии НБ. Таким образом, использование IL-2 при анти-GD2-иммунотерапии более не рекомендуется [38, 39]. Вследствие плеiotропного действия на NK- и T-клетки в качестве замены IL-2 рассматривают IL-15 и IL-21, использование которых сопровождается увеличением рекрутинга CD8⁺-T-клеток, макрофагов M1 и снижением количества T-регуляторных лимфоцитов, что может быть обусловлено активацией оси CXCL9/10 [1]. Y. Chu и соавт. исследовали *in vitro* цитотоксическое влияние динутуксимаба, N-803 (суперагониста IL-15) и *ex vivo* NK-клеток периферической крови против GD2-положительных клеток остеосаркомы, НБ и мультиформной глиобластомы. Выявлено, что применение комбинации динутуксимаба и N-803 значительно усиливает цитотоксичность NK-клеток *in vitro*, вызывает повышенное высвобождение перфорина, IFN γ и характеризуется увеличением выживаемости мышей с ксенографтными клетками НБ, остеосаркомы и глиобластомы [40].

РОЛЬ КОМПЛЕМЕНТА В АНТИ-GD2-ОПОСРЕДОВАННОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ

Активация комплементзависимой анти-GD2-цитотоксичности по классическому пути инициируется связыванием комплекса антиген — антитело с C1q с дальнейшей активацией каскада двумя способами. Первый способ характеризуется прямой комплемент-опосредованной цитотоксичностью путем сборки мембраноатакующего комплекса (C5b-C9). Второй способ заключается в том, что комплементарные рецепторы на эффекторных клетках (фагоцитах и NK-клетках) распознают опсоины, такие как C3b, и запускают комплементзависимую клеточную цитотоксичность и комплементзависимый клеточный фагоцитоз. При этом опухолевые клетки могут экспрессировать CD59, связывая белки комплемента C8 и C9, предотвращая сборку мембраноатакующего комплекса, а также CD55 (фактор ускорения распада комплемента, DAF) и CD46 (мембранный кофакторный белок, MCP), которые являются ингибиторами активации комплемента путем ограничения количества депонированного C3 [41–43]. При исследовании механизмов анти-GD2-цитотоксичности на клеточной линии EL4 выявлено, что экспрессия CD59 (белка-ингибитора мембраноатакующего комплекса, MAC-IP) эффективно защищает опухолевые клетки от комплементзависимой цитотоксичности, но не влияет на результат иммунотерапии [41]. Это может указывать на решающую роль АЗКЦ в реализации цитотоксичности.

Одним из наиболее частых нежелательных явлений при использовании анти-GD2-иммунотерапии является выраженный болевой синдром, требующий синхронного использования адьювантных, неопиоидных и опиоидных анальгетиков, у некоторых больных

также развивается аксональная периферическая полинейропатия. Данные эффекты обусловлены связыванием МоАТ с GD2 на периферических нервах и инициацией комплементзависимой цитотоксичности [44, 45]. W.L. Furman и соавт. установили, что использование в индукционной и консолидационной терапии НБ анти-GD2-МоАТ hu14.18K322A с точечной мутацией, блокирующей фиксацию C1q на МоАТ с целью снижения комплемент-опосредованной аллодинии, не оказывает влияния на терапевтическую эффективность, подтверждая ведущее значение АЗКЦ в реализации цитотоксичности [46, 47]. Аналогичные результаты получены М. Evers и соавт., которые изменили изотип динутуксимаба с иммуноглобулина (Ig) G1 на IgA1 и определили, что применение IgA1-динутуксимаба как на культурах клеток НБ, так и в эксперименте на мышах не активирует систему комплемента и не вызывает комплемент-опосредованную аллодинию. Более того, это привело к усилению нейтрофил-опосредованной АЗКЦ и противоопухолевого эффекта по сравнению с IgG1-динутуксимабом. Авторы объясняют это тем, что IgG1-изотип МоАТ может связываться в том числе с рецептором Fc γ RIIb (CD16b), ингибирующим цитотоксические функции нейтрофилов, а IgA1-динутуксимаб связывается исключительно с Fc α R (CD89) и не оказывает ингибирующий эффект [48].

ОПУХОЛЕВОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ И ПАССИВНАЯ АНТИ-GD2-ИММУНОТЕРАПИЯ: ВОЗМОЖЕН ЛИ СИНЕРГИЗМ?

Иммунный мониторинг во время терапии дает возможность изучать биологические механизмы ответа и резистентности, что позволяет идентифицировать прогностически значимые биомаркеры, потенциально помогая стратификации пациентов в зависимости от степени ответа [24]. Продemonстрированы более высокие показатели общей и бессобытийной выживаемости у пациентов с большей плотностью опухолеинфильтрирующих лимфоцитов CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ в образцах НБ. *MYCN*-амплифицированные опухоли, являясь более агрессивными, характеризуются низким уровнем инфильтрации CD8⁺- и CD4⁺-T-лимфоцитами, NK-, NKT-клетками, В-лимфоцитами, макрофагами и моноцитами, а также низкой экспрессией CCL2, IFN γ , CXCL9 и CXCL10 по сравнению с *MYCN*-неамплифицированными НБ независимо от стадии заболевания. Однако большая плотность и активность инфильтрирующих опухоль лимфоцитов при *MYCN*-амплифицированных опухолях ассоциирована с лучшим прогнозом [23, 24, 29, 49]. Помимо НБ, улучшение показателей выживаемости при наличии опухолеинфильтрирующих CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов продемонстрировано при остеосаркоме [50], но не определено при других саркомах у детей. При этом опухолеинфильтрирующие макрофаги чаще имеют иммуносупрессивный M2-фенотип, способствуют уклонению от иммунного

надзора и снижают степень выраженности NK-опосредованной АЗКЦ при использовании анти-GD2-MoAT [35, 51].

Большой интерес представляют исследования, посвященные вкладу иммунных контрольных точек, в особенности лиганду рецептора программируемой клеточной гибели (PD-L1), поскольку его экспрессия опухолевыми клетками является мощным ингибитором Т-клеточного ответа микроокружения и может быть связана с плохим прогнозом, а ингибирование рецептора программируемой клеточной гибели (PD-1) приводит к усилению клеточной цитотоксичности *in vitro* [23, 52]. Имеются данные о клинической эффективности ингибиторов иммунных контрольных точек при лимфомах, однако их активность при солидных опухолях у детей в монотерапии, вероятно, низка [53, 54]. Сообщается, что экспрессия PD-L1 CD8⁺-Т-лимфоцитами и NK-клетками микроокружения НБ в сочетании с ингибиторами PD-1 характеризуется улучшением противоопухолевой активности эффекторных клеток [55]. Большой интерес представляет возможность применения анти-GD2-MoAT вместе с ингибиторами PD-1 [56]. Так, комбинация субтерапевтических доз динутуксимаба бета в культурах клеток НБ с лейкоцитами показала выраженное усиление экспрессии PD-L1 и нивелирование эффекта АЗКЦ. Добавление ингибитора PD-1 ниволумаба приводило к восстановлению цитотоксичности, а применение динутуксимаба бета совместно с ниволумабом на сингенных PD-L1⁺/GD2⁺-мышинных моделях НБ — к снижению роста опухоли, увеличению выживаемости и усилению цитотоксического воздействия на клетки НБ [57]. Использование биспецифических (в том числе трифункциональных) анти-GD2-CD3-антител на мышинной модели НБ и меланомы совместно с моноклеарными лимфоцитами значительно повышало выживаемость и предотвращало рост опухоли и метастатических очагов [58–60]. При этом монотерапия MoAT приводила к повышению экспрессии PD-1 опухоль-инфильтрирующими Т-лимфоцитами, а сочетание с ингибитором PD-1 усиливало гуморальный иммунный ответ против опухолевых клеток [60].

Помимо экспрессии иммунных контрольных точек, прогностическое значение у пациентов с НБ группы высокого риска имеет экспрессия клетками микроокружения информационных рибонуклеиновых кислот маркеров FOXP3, ARG1, CD14, CD45, а также перфорина-1 дефицит в биоптатах опухоли при установлении диагноза, которая, по данным S. Stigliani и соавт., ассоциирована с лучшими показателями бессобытийной и общей выживаемости, тогда как экспрессия гранзима В не имеет прогностического значения [61].

На основе рассмотренных механизмов клеточной гибели можно предположить, что опухоль-инфильтрирующие лейкоциты могут модулировать реализацию анти-GD2-опосредованной цитотоксичности при различных опухолях, особенно при НБ. Таким образом,

изучение влияния опухолевого микроокружения и молекулярных особенностей иммунокомпетентных клеток на эффективность иммунотерапии актуально и требует дальнейшего изучения.

ВКЛАД НЕИММУННЫХ МЕХАНИЗМОВ АНТИ-GD2-АССОЦИИРОВАННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ

Помимо описанных механизмов, анти-GD2-MoAT могут подавлять жизнеспособность опухолевых клеток независимо от иммунных клеток путем взаимодействия GD2 с сигнальным путем PI3K/Akt/mTOR, комплексами фокальной адгезии и интегринами [1, 2, 62]. M. Durbas и соавт. проанализировали цитотоксичность на клеточных линиях НБ с использованием антитела 14G2a и выявили специфическое ингибирование сигнального пути PI3K/Akt/mTOR в виде значительного снижения активности белков Akt, mTOR, p70S6 и 4E-BP1 и усиления активности супрессора PTEN, что привело к ингибированию сигнальной сети, отвечающей за стимуляцию трансляции и пролиферации (рис. 4). Сочетание 14G2a с ингибитором Akt перифосиноном, двойными ингибиторами mTOR/PI3K (BEZ-235 и SAR245409) и пан-ингибитором PI3K (LY294002) усиливало цитотоксические эффекты. Кроме того, отмечено ингибирующее действие 14G2a на канонический путь Wnt/β-катенин, семейство факторов транскрипции STAT, экспрессию киназы Aurora A, ERK1/2 и активирующее действие на митогенактивируемые протеинкиназы p38 и c-Jun N-концевые киназы (JNK), что способствует апоптозу и ассоциировано со снижением экспрессии MYCN. Уменьшение фосфорилирования FAK приводило к отделению клеток друг от друга, снижению их жизнеспособности и вызывало апоптоз [63]. На основании сведений о том, что анти-GD2-MoAT могут подавлять функционирование опухолевых клеток независимо от иммунных клеток, B. Liu и соавт. доказали, что *in vitro* MoAT 14G2a эффективно ингибируют непосредственно жизнеспособность, инвазивность культуры клеток остеосаркомы, а также экспрессию и активность матриксной металлопротеиназы 2, синтез которой индуцируется эндотелином-1 — пептидом, вероятно, принимающим участие в ингибировании апоптоза и стимуляции метастазирования при остеосаркоме. Авторы продемонстрировали, что сочетание с селективным антагонистом рецептора эндотелина-1 BQ123 усиливает действие 14G2a, скорее всего, за счет ингибирования пути PI3K/Akt [64]. Результаты исследования W. Zhu и соавт. показали, что 14G2a и цисплатин дозозависимо индуцируют каспаза-зависимый апоптоз в культурах клеток остеосаркомы путем активации, но не усиления экспрессии киназы эндоплазматического ретикулума, подобной протеинкиназе R (PERK), а в сочетании друг с другом они демонстрируют выраженный синергизм [65]. При этом J.P. Fisher и соавт. обнаружили, что динутуксимаб бета не проявляет неиммунную цитотоксичность в от-

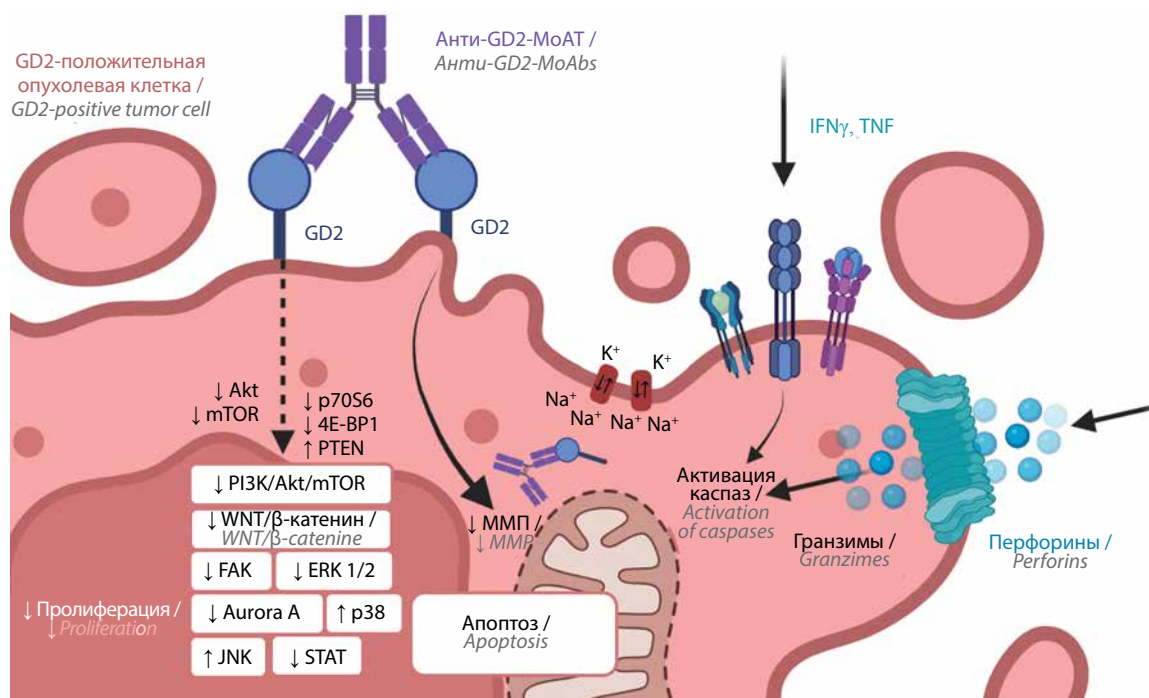


Рис. 4. Механизмы анти-GD2-ассоциированного апоптоза. При взаимодействии GD2 с моноклональными антителами (MoAT) происходит изменение активности сигнальных путей и транскрипционных факторов, что приводит к снижению пролиферативной активности и индукции апоптоза. Взаимодействие интерферона γ ($IFN\gamma$), факторов некроза опухоли (TNF) со специфическими рецепторами, проникновение гранзимов внутрь клетки через перфориновые поры вызывает активацию каспаз, проапоптотических белков и индуцирует апоптоз. Возможная интернализация GD2 с MoAT в митохондрии, вероятно, приводит к снижению митохондриального мембранного потенциала (ММП) и деполаризации клеточной мембраны с индукцией клеточной гибели различными способами. Представлены ключевые аспекты взаимодействий, пропорции условны. Рисунок создан с помощью BioRender.com. Akt — протеинкиназа B; ERK — внеклеточная киназа, регулирующая сигналы; FAK — киназа фокальной адгезии; JNK — c-Jun N-концевые киназы; mTOR — мишень рапамицина млекопитающих; PI3K — фосфоинозитид-3-киназы; PTEN — гомолог фосфатазы и тензина; STAT — белки семейства трансдукторов сигналов и активаторов транскрипции

Fig. 4. Mechanisms of anti-GD2 associated apoptosis. Interaction of GD2 with monoclonal antibody (MoAbs) alters the activity of signaling pathways and transcription factors, which leads to a decrease in proliferative activity and induction of apoptosis. Interaction of interferon γ ($IFN\gamma$), tumor necrosis factors (TNF) with specific receptors, penetration of granzymes into the cell leads through perforin to activation of caspases, proapoptotic proteins and induces apoptosis. Possible internalization of GD2 with MoAbs into mitochondria probably leads to a decrease in mitochondrial membrane potential (MMP) and depolarization of the cell membrane with induction of cell death in various ways. Key aspects of interactions are presented, the proportions are arbitrary. The figure was created using BioRender.com. Akt — protein kinase B; ERK — extracellular signal-regulated kinase; FAK — focal adhesion kinase; JNK — c-Jun N-terminal kinases; mTOR — mammalian target of rapamycin; PI3K — phosphoinositide 3-kinases; PTEN — phosphatase and tensin homolog; STAT — signal transducer and activator of transcription proteins

ношении клеток саркомы Юинга даже в концентрациях, превышающих терапевтические, в отличие от клеток НБ, независимо от уровня экспрессии GD2. При этом продемонстрирована выраженная АЗКЦ при сочетании динуксиама бета, IL-2 и золедроновой кислоты с цитотоксическими $\gamma\delta$ T-лимфоцитами *in vitro*, что может говорить об отсутствии механизмов неиммунной цитотоксичности при саркоме Юинга [66].

Результаты исследования I. Norwasik и соавт. показали, что действие 14G2a на GD2-положительные клеточные линии индуцирует прямую цитотоксичность, достоверно вызывая морфологические изменения клеток: округление, агрегацию, ослабление контакта с культуральным пластиком и разобщение клеток со снижением уровня клеточного аденозинтрифосфата. Реализация данных эффектов может быть обусловлена ингибированием интегринов, связанных с внеклеточным матриксом [67]. Аналогичные результаты

получены М. Thomas и соавт.: клетки активно слипались и формировали агрегаты при воздействии MoAT hu14.18K322A с исходом в апоптоз, некроптоз, при этом признаков некроза, ферроптоза и пироптоза выявлено не было [18]. Тем не менее эти исследования имеют ограничения, и авторские коллективы сообщают о необходимости проведения дополнительных тестов и уточнения роли других путей клеточной гибели [18, 67].

В то же время I.I. Doronin и соавт. в ходе исследования на клеточных линиях не обнаружили значимой активации каспазы-3 и других каспаз после обработки клеток анти-GD2-MoAT, по крайней мере, в качестве инициаторов апоптоза, по сравнению с клетками, обработанными индуктором каспазависимого апоптоза стауроспорином. Использование панкаспазного ингибитора Z-VAD-FMK также не оказало существенного влияния на жизнеспособность клеток, индуцированную антителами против GD2, при этом отмечено

снижение доли апоптотических клеток, обработанных стауроспорином. Авторы предположили, что обработка GD2-положительных клеток анти-GD2-МоАТ индуцирует неклассическую митохондриальнозависимую клеточную гибель с признаками как некроза, так и апоптоза (см. рис. 4). Первым элементом каскада митохондриальнозависимой гибели, вероятно, является быстрая гиперполяризация митохондриальной мембраны, апоптотическое уменьшение клеточного объема и снижение митохондриального мембранного потенциала (признаки апоптоза), а также значительное повышение проницаемости клеточной мембраны (признак некроза) [68]. Нельзя исключить вклад в реализацию GD2-опосредованного апоптоза механизма, аналогичного GD3: интернализации ганглиозида с антителом прямо в митохондрии посредством связывания с тубулином микротрубочек после активации Fas/CD95 и прямой индукции митохондриальнозависимой клеточной гибели [68, 69]. R. Tibbetts и соавт. также отметили, что уровень интернализации комплекса МоАТ с GD2 обратно пропорционален выраженности нейтрофил-опосредованной АЗКЦ, а уровень экспрессии GD2 не влияет на чувствительность к такой АЗКЦ [70].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ведущим механизмом эффективности GD2-направленной иммунотерапии при солидных опухолях детского возраста является, главным образом, АЗКЦ, реализуемая НК-клетками, макрофагами и нейтрофилами. Определенная роль в этом принадлежит и комплементзависимой цитотоксичности, однако клиническая значимость данного механизма, вероятно, не существенная. G-CSF, GM-CSF и IL могут усиливать цитотоксичность. Продолжается поиск соединений, способных модифицировать АЗКЦ. С учетом взаимодействия GD2 с сигнальными путями существуют и неиммунные механизмы цитотоксичности, обусловленные ингибированием путей клеточной сигнализации, главным образом PI3K/Akt/mTOR, а также неклассические митохондриальнозависимые пути при интернализации комплекса ганглиозида с антителом. Указанные механизмы способствуют апоптозу злокачественных клеток, при этом описаны и элементы некроза. Большую актуальность представляет исследование вклада опухолевого микроокружения в GD2-опосредованную цитотоксичность, определение факторов выраженности иммунного ответа и на основании этого — эффективности анти-GD2-иммунотерапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Machy P., Mortier E., Birklé S. Biology of GD2 ganglioside: implications for cancer immunotherapy. *Front Pharmacol* 2023;14:1249929. DOI: 10.3389/fphar.2023.1249929
2. Philippova J., Shevchenko J., Sennikov S. GD2-targeting therapy: a comparative analysis of approaches and promising directions. *Front Immunol* 2024;15:1371345. DOI: 10.3389/fimmu.2024.1371345
3. Nazha B., Inal C., Owonikoko T.K. Disialoganglioside GD2 Expression in solid tumors and role as a target for cancer therapy. *Front Oncol* 2020;10:1000. DOI: 10.3389/fonc.2020.01000
4. Yesmin F., Bhuiyan R.H., Ohmi Y. et al. Ganglioside GD2 enhances the malignant phenotypes of melanoma cells by cooperating with integrins. *Int J Mol Sci* 2022;23(1):423. DOI: 10.3390/ijms23010423
5. Cheung N.K., Neely J.E., Landmeier B. et al. Targeting of ganglioside GD2 monoclonal antibody to neuroblastoma. *J Nucl Med* 1987;28(10):1577–83.
6. Heiner J.P., Miraldi F., Kallick S. et al. Localization of GD2-specific monoclonal antibody 3F8 in human osteosarcoma. *Cancer Res* 1987;47(20):5377–81.
7. Chang H.R., Cordon-Cardo C., Houghton A.N. et al. Expression of disialogangliosides GD2 and GD3 on human soft tissue sarcomas. *Cancer* 1992;70(3):633–8. DOI: 10.1002/1097-0142(19920801)70:3<633::aid-cnrcr2820700315>3.0.co;2-f
8. Chan G.C., Chan C.M. Anti-GD2 directed immunotherapy for high-risk and metastatic neuroblastoma. *Biomolecules* 2022;12(3):358. DOI: 10.3390/biom12030358
9. Orsi G., Barbolini M., Ficarra G. et al. GD2 expression in breast cancer. *Oncotarget* 2017;8(19):31592–600. DOI: 10.18632/oncotarget.16363
10. Dobrenkov K., Ostrovskaya I., Gu J. et al. Oncotargets GD2 and GD3 are highly expressed in sarcomas of children, adolescents, and young adults. *Pediatr Blood Cancer* 2016;63(10):1780–5. DOI: 10.1002/pbc.26097
11. Кулева С.А., Варфоломеева С.Р., Киргизов К.И. и др. Результаты использования химиоиммунотерапии при рефрактерных/рецидивирующих формах GD2-позитивных костных и мягкотканых сарком у детей. Первый опыт двух центров. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2024;11(4):11–9. DOI: 10.21682/2311-1267-2024-11-4-11-19
12. Kulyova S.A., Varfolomeeva S.R., Kirgizov K.I. et al. Results of chemoimmunotherapy for refractory/recurrent GD2-positive bone and soft tissue sarcomas in children. Two centers first experience. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2024;11(4):11–9. (In Russ.). DOI: 10.21682/2311-1267-2024-11-4-11-19
13. Park J.A., Cheung N.V. Targets and antibody formats for immunotherapy of neuroblastoma. *J Clin Oncol* 2020;38(16):1836–48. DOI: 10.1200/JCO.19.01410
14. Yu A.L., Gilman A.L., Ozkaynak M.F. et al. Anti-GD2 antibody with GM-CSF, interleukin-2, and isotretinoin for neuroblastoma. *N Engl J Med* 2010;363(14):1324–34. DOI: 10.1056/NEJMoa0911123
15. Yu A.L., Gilman A.L., Ozkaynak M.F. et al. Long-term follow-up of a phase III study of ch14.18 (dinutuximab) + cytokine immunotherapy in children with high-risk neuroblastoma: COG Study ANBL0032. *Clin Cancer Res* 2021;27(8):2179–89. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3909
16. Mody R., Yu A.L., Naranjo A. et al. Irinotecan, temozolomide, and dinutuximab with GM-CSF in children with refractory or relapsed neuroblastoma: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol* 2020;38(19):2160–9. DOI: 10.1200/JCO.20.00203
17. Federico S.M., McCarville M.B., Shulkin B.L. et al. A pilot trial of humanized anti-GD2 monoclonal antibody (hu14.18k322a)

- with chemotherapy and natural killer cells in children with recurrent/refractory neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2017;23(21):6441–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0379
17. Troschke-Meurer S., Zumpe M., Meißner L. et al. Chemotherapeutics used for high-risk neuroblastoma therapy improve the efficacy of anti-GD2 antibody dinutuximab beta in preclinical spheroid models. *Cancers (Basel)* 2023;15(3):904. DOI: 10.3390/cancers15030904
 18. Thomas M., Nguyen T.H., Drnevich J. et al. Hu14.18K.322A Causes direct cell cytotoxicity and synergizes with induction chemotherapy in high-risk neuroblastoma. *Cancers (Basel)* 2024;16(11):2064. DOI: 10.3390/cancers16112064
 19. Кулева С.А., Варфоломеева С.Р., Киргизов К.И. и др. Много-центровое открытое исследование III фазы по использованию динутуксимаба бета без/с химиотерапией по выбору исследователя у пациентов до 18 лет с костными и мягкотканными саркомами с положительным уровнем экспрессии GD2 и прогрессированием заболевания на фоне 1-й линии полихимиотерапии. *Российский журнал детской гематологии и онкологии* 2024;11(2):12–20. DOI: 10.21682/2311-1267-2024-11-2-12-20
 - Kulyova S.A., Varfolomeeva S.R., Kirgizov K.I. et al. A phase III, multicenter, open-label study of dinutuximab beta without/with chemotherapy at the investigator's choice in patients under 18 years old with bone and soft tissue sarcomas with positive expression GD2 and disease progression during the first-line chemotherapy. *Rossiyskiy zhurnal detskoy gematologii i onkologii = Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 2024;11(2):12–20. (In Russ.). DOI: 10.21682/2311-1267-2024-11-2-12-20
 20. Wang W., Erbe A.K., Hank J.A. et al. NK cell-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity in cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2015;6:368. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00368
 21. Jhunjhunwala S., Hammer C., Delamarre L. Antigen presentation in cancer: insights into tumour immunogenicity and immune evasion. *Nat Rev Cancer* 2021;21(5):298–312. DOI: 10.1038/s41568-021-00339-z
 22. De Maria A., Bozzano F., Cantoni C., Moretta L. Revisiting human natural killer cell subset function revealed cytolytic CD56(dim) CD16+ NK cells as rapid producers of abundant IFN- γ on activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011;108(2):728–32. DOI: 10.1073/pnas.1012356108
 23. Wienke J., Dierselhuis M.P., Tytgat G.A.M. et al. The immune landscape of neuroblastoma: challenges and opportunities for novel therapeutic strategies in pediatric oncology. *Eur J Cancer* 2021;144:123–50. DOI: 10.1016/j.ejca.2020.11.014
 24. Szanto C.L., Cornel A.M., Vijver S.V., Nierkens S. Monitoring immune responses in neuroblastoma patients during therapy. *Cancers (Basel)* 2020;12(2):519. DOI: 10.3390/cancers12020519
 25. Aktas E., Kucuksezer U.C., Bilgic S. et al. Relationship between CD107a expression and cytotoxic activity. *Cell Immunol* 2009;254(2):149–54. DOI: 10.1016/j.cellimm.2008.08.007
 26. Siebert N., Jensen C., Troschke-Meurer S. et al. Neuroblastoma patients with high-affinity FCGR2A, -3A and stimulatory KIR 2DS2 treated by long-term infusion of anti-GD2 antibody ch14.18/CHO show higher ADCC levels and improved event-free survival. *OncoImmunology* 2016;5(11):e1235108. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1235108
 27. Erbe A.K., Diccianni M.B., Mody R. et al. KIR/KIR-ligand genotypes and clinical outcomes following chemoimmunotherapy in patients with relapsed or refractory neuroblastoma: a report from the Children's Oncology Group. *J Immunother Cancer* 2023;11(2):e006530. DOI: 10.1136/jitc-2022-006530
 28. Liu Y., Wang Y., Yang Y. et al. Emerging phagocytosis checkpoints in cancer immunotherapy. *Signal Transduct Target Ther* 2023;8(1):104. DOI: 10.1038/s41392-023-01365-z
 29. Mora J., Modak S., Kinsey J. et al. GM-CSF, G-CSF or no cytokine therapy with anti-GD2 immunotherapy for high-risk neuroblastoma. *Int J Cancer* 2024;154(8):1340–64. DOI: 10.1002/ijc.34815
 30. Theruvath J., Menard M., Smith B.A.H. et al. Anti-GD2 synergizes with CD47 blockade to mediate tumor eradication. *Nat Med* 2022;28(2):333–44. DOI: 10.1038/s41591-021-01625-x
 31. Martinez-Sanz P., Hoogendijk A.J., Verkuiljen P.J.J.H. et al. CD47-SIRP α checkpoint inhibition enhances neutrophil-mediated killing of dinutuximab-opsonized neuroblastoma cells. *Cancers (Basel)* 2021;13(17):4261. DOI: 10.3390/cancers13174261
 32. Ustyanovska Avtenyuk N., Visser N., Bremer E., Wiersma V.R. The neutrophil: the underdog that packs a punch in the fight against cancer. *Int J Mol Sci* 2020;21(21):7820. DOI: 10.3390/ijms21217820
 33. Matlung H.L., Babes L., Zhao X.W. et al. Neutrophils kill antibody-opsonized cancer cells by trogoptosis. *Cell Rep* 2018;23(13):3946–59.e6. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.05.082
 34. Mora J., Castañeda A., Gorostegui M. et al. Naxitamab combined with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor as consolidation for high-risk neuroblastoma patients in complete remission. *Pediatr Blood Cancer* 2021;68(10):e29121. DOI: 10.1002/pbc.29121
 35. Vitale C., Bottino C., Castriconi R. Monocyte and macrophage in neuroblastoma: blocking their pro-tumoral functions and strengthening their crosstalk with natural killer cells. *Cells* 2023;12(6):885. DOI: 10.3390/cells12060885
 36. Jeannin P., Paolini L., Adam C., Delneste Y. The roles of CSFs on the functional polarization of tumor-associated macrophages. *FEBS J* 2018;285(4):680–99. DOI: 10.1111/febs.14343
 37. Martinez Sanz P., van Rees D.J., van Zogchel L.M.J. et al. G-CSF as a suitable alternative to GM-CSF to boost dinutuximab-mediated neutrophil cytotoxicity in neuroblastoma treatment. *J Immunother Cancer* 2021;9(5):e002259. DOI: 10.1136/jitc-2020-002259
 38. Ladenstein R., Pötschger U., Gray J. et al. Toxicity and outcome of anti-GD2 antibody ch14.18/CHO in front-line, high-risk patients with neuroblastoma: final results of the phase III immunotherapy randomisation (HR-NBL1/SIOPEN trial). *JCO* 2016;34(15):10500. DOI: 10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.10500
 39. Ladenstein R., Pötschger U., Valteau-Couanet D. et al. Interleukin 2 with anti-GD2 antibody ch14.18/CHO (dinutuximab beta) in patients with high-risk neuroblastoma (HR-NBL1/SIOPEN): a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2018;19(12):1617–29. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30578-3
 40. Chu Y., Nayyar G., Jiang S. et al. Combinatorial immunotherapy of N-803 (IL-15 superagonist) and dinutuximab with *ex vivo* expanded natural killer cells significantly enhances *in vitro* cytotoxicity against GD2+ pediatric solid tumors and *in vivo* survival of xenografted immunodeficient NSG mice. *J Immunother Cancer* 2021;9(7):e002267. DOI: 10.1136/jitc-2020-002267
 41. Imai M., Landen C., Ohta R. et al. Complement-mediated mechanisms in anti-GD2 monoclonal antibody therapy of murine metastatic cancer. *Cancer Res* 2005;65(22):10562–8. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1894
 42. Golay J., Taylor R.P. The role of complement in the mechanism of action of therapeutic anti-cancer mAbs. *Antibodies (Basel)* 2020;9(4):58. DOI: 10.3390/antib9040058
 43. Meyer S., Leusen J.H., Boross P. Regulation of complement and modulation of its activity in monoclonal antibody therapy of cancer. *MAbs* 2014;6(5):1133–44. DOI: 10.4161/mabs.29670
 44. Mastrangelo S., Rivetti S., Triarico S. et al. Mechanisms, characteristics, and treatment of neuropathic pain and peripheral neuropathy associated with dinutuximab in neuroblastoma patients. *Int J Mol Sci* 2021;22(23):12648. DOI: 10.3390/ijms222312648
 45. Barone G., Barry A., Bautista F. et al. Managing adverse events associated with dinutuximab beta treatment in patients with high-risk neuroblastoma: practical guidance. *Pediatr Drugs* 2021;23(6):537–48. DOI: 10.1007/s40272-021-00469-9
 46. Furman W.L., Federico S.M., McCarville M.B. et al. A phase II trial of Hu14.18K322A in combination with induction chemotherapy in children with newly diagnosed high-risk neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2019;25(21):6320–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-19-1452

47. Furman W.L., McCarville B., Shulkin B.L. et al. Improved outcome in children with newly diagnosed high-risk neuroblastoma treated with chemioimmunotherapy: updated results of a phase II study using hu14.18K322A. *J Clin Oncol* 2022;40(4):335–44. DOI: 10.1200/JCO.21.01375
48. Evers M., Stip M., Keller K. et al. Anti-GD2 IgA kills tumors by neutrophils without antibody-associated pain in the preclinical treatment of high-risk neuroblastoma. *J Immunother Cancer* 2021;9(10):e003163. DOI: 10.1136/jitc-2021-003163
49. Mina M., Boldrini R., Citti A. et al. Tumor-infiltrating T lymphocytes improve clinical outcome of therapy-resistant neuroblastoma. *Oncoimmunology* 2015;4(9):e1019981. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1019981
50. Casanova J.M., Almeida J.S., Reith J.D. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and cancer markers in osteosarcoma: influence on patient survival. *Cancers (Basel)* 2021;13(23):6075. DOI: 10.3390/cancers13236075
51. Liu K.X., Joshi S. “Re-educating” tumor associated macrophages as a novel immunotherapy strategy for neuroblastoma. *Front Immunol* 2020;11:1947. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01947
52. Dondero A., Pastorino F., Della Chiesa M. et al. PD-L1 expression in metastatic neuroblastoma as an additional mechanism for limiting immune surveillance. *Oncoimmunology* 2015;5(1):e1064578. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1064578
53. Davis K.L., Fox E., Merchant M.S. et al. Nivolumab in children and young adults with relapsed or refractory solid tumours or lymphoma (ADVL1412): a multicentre, open-label, single-arm, phase 1–2 trial. *Lancet Oncol* 2020;21(4):541–50. DOI: 10.1016/S1470-2045(20)30023-1
54. Davis K.L., Fox E., Isikwei E. et al. A Phase I/II trial of nivolumab plus ipilimumab in children and young adults with relapsed/refractory solid tumors: a Children’s Oncology Group Study ADVL1412. *Clin Cancer Res* 2022;28(23):5088–97. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-22-2164
55. Song M., Huang Y., Hong Y. et al. PD-L1-expressing natural killer cells predict favorable prognosis and response to PD-1/PD-L1 blockade in neuroblastoma. *Oncoimmunology* 2023;13(1):2289738. DOI: 10.1080/2162402X.2023.2289738
56. Ehler K., Hansjuergens I., Zinke A. et al. Nivolumab and dinutuximab beta in two patients with refractory neuroblastoma. *J Immunother Cancer* 2020;8(1):e000540. DOI: 10.1136/jitc-2020-000540
57. Siebert N., Zumpe M., Jüttner M. et al. PD-1 blockade augments anti-neuroblastoma immune response induced by anti-GD2 antibody ch14.18/CHO. *Oncoimmunology* 2017;6(10):e1343775. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1343775
58. Xu H., Cheng M., Guo H. et al. Retargeting T cells to GD2 pentasaccharide on human tumors using bispecific humanized antibody. *Cancer Immunol Res* 2015;3(3):266–77. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0230-T
59. Zirngibl F., Ivasko S.M., Grunewald L. et al. GD2-directed bispecific trifunctional antibody outperforms dinutuximab beta in a murine model for aggressive metastasized neuroblastoma. *J Immunother Cancer* 2021;9(7):e002923. DOI: 10.1136/jitc-2021-002923
60. Ivasko S.M., Anders K., Grunewald L. et al. Combination of GD2-directed bispecific trifunctional antibody therapy with Pd-1 immune checkpoint blockade induces anti-neuroblastoma immunity in a syngeneic mouse model. *Front Immunol* 2023;13:1023206. DOI: 10.3389/fimmu.2022.1023206
61. Stigliani S., Croce M., Morandi F. et al. Expression of FOXP3, CD14, and ARG1 in neuroblastoma tumor tissue from high-risk patients predicts event-free and overall survival. *Biomed Res Int* 2015;2015:347867. DOI: 10.1155/2015/347867
62. Sait S., Modak S. Anti-GD2 immunotherapy for neuroblastoma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2017;17(10):889–904. DOI: 10.1080/14737140.2017.1364995
63. Durbas M., Horwacik I., Boratyn E. et al. GD2 ganglioside specific antibody treatment downregulates PI3K/Akt/mTOR signaling network in human neuroblastoma cell lines. *Int J Oncol* 2015;47(3):1143–59. DOI: 10.3892/ijo.2015.3070
64. Liu B., Wu Y., Zhou Y., Peng D. Endothelin A receptor antagonism enhances inhibitory effects of anti-ganglioside GD2 monoclonal antibody on invasiveness and viability of human osteosarcoma cells. *PLoS One* 2014;9(4):e93576. DOI: 10.1371/journal.pone.0093576
65. Zhu W., Mao X., Wang W. et al. Anti-ganglioside GD2 monoclonal antibody synergizes with cisplatin to induce endoplasmic reticulum-associated apoptosis in osteosarcoma cells. *Pharmazie* 2018;73(2):80–6. DOI: 10.1691/ph.2018.7836
66. Fisher J.P., Flutter B., Wesemann F. et al. Effective combination treatment of GD2-expressing neuroblastoma and Ewing’s sarcoma using anti-GD2 ch14.18/CHO antibody with Vγ9Vδ2+ γδT cells. *Oncoimmunology* 2015;5(1):e1025194. DOI: 10.1080/2162402X.2015.1025194
67. Horwacik I., Rokita H. Modulation of interactions of neuroblastoma cell lines with extracellular matrix proteins affects their sensitivity to treatment with the anti-GD2 ganglioside antibody 14G2a. *Int J Oncol* 2017;50(5):1899–914. DOI: 10.3892/ijo.2017.3959
68. Doronin I.I., Vishnyakova P.A., Kholodenko I.V. et al. Ganglioside GD2 in reception and transduction of cell death signal in tumor cells. *BMC Cancer* 2014;14:295. DOI: 10.1186/1471-2407-14-295
69. Sorice M., Matarrese P., Tinari A. et al. Raft component GD3 associates with tubulin following CD95/Fas ligation. *FASEB J* 2009;23(10):3298–308. DOI: 10.1096/fj.08-128140
70. Tibbetts R., Yeo K.K., Muthugounder S. et al. Anti-disialoganglioside antibody internalization by neuroblastoma cells as a mechanism of immunotherapy resistance. *Cancer Immunol Immunother* 2022;71(1):153–64. DOI: 10.1007/s00262-021-02963-y

Вклад авторов

М.Е. Мельников: поиск, анализ и интерпретация данных литературы, написание текста статьи, подготовка иллюстративного материала; С.А. Кулева, О.Е. Савельева: интерпретация данных литературы, написание текста статьи, научное редактирование; Г.В. Кондратьев, М.М. Васильева: поиск, анализ и интерпретация данных литературы, написание текста статьи.

Authors’ contributions

M.E. Melnikov: search, analysis and interpretation of literary data, article writing, preparation of illustrative material; S.A. Kulyova, O.E. Savelyeva: interpretation of literary data article writing, scientific editing; G.V. Kondratiev, M.M. Vasilyeva: search, analysis and interpretation of literary data, writing the text of the article.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.Е. Мельников / M.E. Melnikov: <https://orcid.org/0000-0003-4744-0882>
 С.А. Кулева / S.A. Kulyova: <https://orcid.org/0000-0003-0390-8498>
 Г.В. Кондратьев / G.V. Kondratiev: <https://orcid.org/0000-0002-1462-6907>
 М.М. Васильева / M.M. Vasilyeva: <https://orcid.org/0009-0000-1190-7220>
 О.Е. Савельева / O.E. Savelyeva: <https://orcid.org/0000-0002-0301-8455>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Funding. The work was completed without external funding.

Статья поступила: 03.03.2025. Принята к публикации: 28.04.2025. Опубликовано онлайн: 23.06.2025.

Article submitted: 03.03.2025. Accepted for publication: 28.04.2025. Published online: 23.06.2025.