

УДК 577.27

Молекулярные и клеточные механизмы формирования дендритными клетками противоопухолевого иммунного ответа

О. В. Марков*, Н. Л. Миронова†, В. В. Власов, М. А. Зенкова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

E-mail: *markov_oleg@list.ru; †mironova@niboch.nsc.ru

Поступила в редакцию 03.12.2015

Принята к печати 29.04.2016

РЕФЕРАТ Дендритные клетки (ДК) играют огромную роль в инициации и регуляции противоопухолевого иммунного ответа. В настоящее время большое внимание привлекают противоопухолевые вакцины на основе ДК, которые активно изучают как на животных моделях, так и в клинических испытаниях. Дендритно-клеточные вакцины получают из выделенных из крови клеток-предшественников, которые нагружают опухолеспецифическими антигенами в виде ДНК, РНК или клеточного лизата из аллогенного опухолевого материала. Однако эффективность таких вакцин остается достаточно низкой. Несомненно, что лучшее понимание механизмов функционирования ДК позволит увеличить противоопухолевый потенциал ДК-вакцин для их успешного применения в клинике. В обзоре рассмотрены происхождение и основные субпопуляции ДК мыши и человека, указаны различия между ДК этих видов. Описаны клеточные механизмы презентации и кросс-презентации экзогенных антигенов дендритными клетками Т-лимфоцитам в комплексах с молекулами МНС II и МНС I соответственно. Обсуждаются механизмы внутриклеточного процессинга антигенов в ДК, явление кросс-дрессинга и развитие функции кросс-презентации. Отдельная часть обзора посвящена описанию механизмов ухода опухоли от иммунного надзора путем подавления функции ДК.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА дендритные клетки, иммуносупрессия опухолей, презентация и кросс-презентация антигенов, протеасома.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ АГ – антиген; АПК – антигенпредставляющие клетки; пДК – плазматоидные дендритные клетки; преДК – предшественники дендритных клеток; TCR – Т-клеточный рецептор; Treg – Т-регуляторные клетки; СМР – общие миелоидные предшественники; HLA – человеческий лейкоцитарный антиген; MDP – предшественники макрофагов дендритных клеток; MDSC – супрессорные клетки миелоидного происхождения; NK – натуральные киллеры; IL – интерлейкин; TAM – опухоль-ассоциированные макрофаги; Th – Т-хелперные клетки; TLR – толл-подобный рецептор; ^{low} – низкий уровень экспрессии; ^{mid} – средний уровень экспрессии; ^{high} – высокий уровень экспрессии.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в терапии онкологических заболеваний особое место занимают методы, основанные на активации иммунной системы. Среди множества подходов выделяется использование вакцин на основе дендритных клеток (ДК), способных запускать и поддерживать опухолеспецифический Т- и В-клеточный иммунный ответ [1]. ДК – это профессиональные антигенпредставляющие клетки (АПК), главная функция которых заключается в захвате чужеродных антигенов, их процессинге и презентации на клеточной поверхности в комплексах с мо-

лекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) первого и второго типа наивным Т-клеткам. В результате такого взаимодействия происходят созревание и активация опухолеспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), способных проникать в места локализации опухоли, идентифицировать опухолевые клетки и уничтожать их. Помимо этого запускается ответ Т-хелперных клеток (Th-клеток) первого и второго типа, стимулирующий Т- и В-клеточные звенья противоопухолевого иммунного ответа. Дополнительная стимуляция секретируемыми ДК цитокинами способствует проли-

ферации клонов опухолеспецифических ЦТЛ. В настоящее время крайне актуальной представляется разработка вакцин на основе ДК, позволяющих эффективно лечить онкологические заболевания и преодолевать вызванные опухолью иммунодефицитные состояния.

Известно, что микроокружение опухоли подавляет иммунную систему, за счет чего опухоль уходит от иммунного надзора. Опухоль и ее микроокружение продуцируют разнообразные цитокины и хемокины, препятствующие созреванию АПК и Т-лимфоцитов, что, в конечном итоге, приводит к подавлению функциональной активности Т-клеточного звена противоопухолевого иммунитета. Иммуносупрессия, обусловленная действием веществ, выделяемых опухолевым окружением, приводит к неэффективности стандартных подходов, применяемых при злокачественных новообразованиях. Поэтому в настоящее время актуальна разработка методов терапии опухолей, основанных на активации иммунной системы организма. Вакцины на основе дендритных клеток считаются одним из наиболее эффективных способов преодоления иммунодефицита с использованием собственных ресурсов организма.

В обзоре рассмотрены происхождение ДК, их субпопуляции, молекулярные и клеточные механизмы активации дендритными клетками противоопухолевого иммунного ответа, а также противодействие опухоли и ее окружения способности дендритных клеток подавлять опухолевый рост.

ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ДК: СВЯЗЬ С ВРОЖДЕННЫМ И ПРИОБРЕТЕННЫМ ИММУНИТЕТОМ

Основной задачей ДК, представленных во всех тканях организма, является опознавание чужеродных или собственных патогенных антигенов (АГ) и передача полученной информации клеткам приобретенного иммунитета (наивным Т-лимфоцитам) с помощью презентации АГ в комплексе с молекулами МНС на поверхности ДК.

ДК – ключевые клетки, связывающие между собой древний низкоспецифичный врожденный и эволюционно новый высокоспецифичный приобретенный иммунитет. ДК происходят из костномозговых предшественников, общих для моноцитов, макрофагов и гранулоцитов – основных клеточных факторов врожденного иммунитета. ДК обладают общими с этими клетками свойствами, прежде всего способностью к фагоцитозу, т.е. к поглощению твердых частиц (клетки, апоптотические тельца, белки и др.). Действительно, практически все клетки врожденного иммунитета, за исключением эозинофилов и натуральных киллеров (НК), используют фагоцитоз в ка-

честве одного из важных механизмов уничтожения мишеней (бактерий, чужеродных или собственных инфицированных или опухолевых клеток) [2]. ДК используют фагоцитоз наряду с пиноцитозом и рецептор-опосредованным эндоцитозом для поглощения АГ с целью последующего процессинга и презентации.

Клетки врожденного иммунитета обладают неспецифическим механизмом распознавания своих мишеней при помощи рецепторов, идентифицирующих не отдельные молекулы (эпитопы АГ, как клетки приобретенного иммунитета Т-лимфоциты), а группы молекул, сигнализирующих о чужеродности или агрессивности их носителей [3]. Так, большинство клеток врожденного иммунитета содержат на своей поверхности лектины, распознающие концевые остатки сахаров протеогликанов. На клеточной поверхности ДК также представлено большое количество С-лектинов, прежде всего маннозных рецепторов (CD206), связывающих концевые остатки маннозы [4]. Маннозные рецепторы также широко экспрессируются макрофагами.

Другое свойство, объединяющее ДК с клетками врожденного иммунитета, а именно, с фагоцитами (моноцитами и макрофагами), – их способность презентировать АГ в комплексах с молекулами МНС лимфоцитам. Однако ДК, будучи профессиональными АПК, в 10–100 раз более эффективно стимулируют Т-лимфоциты, чем другие АПК (моноциты, макрофаги, В-лимфоциты) [5–7]. Только ДК способны наиболее эффективно кросс-презентировать АГ, т.е. представлять экзогенные АГ в комплексах с молекулами МНС I CD8⁺ Т-лимфоцитам, запуская специфичный к таким АГ ответ ЦТЛ [8]. Кроме того, только ДК способны представлять АГ наивным Т-лимфоцитам в лимфоидных органах [9].

Другой клеточный фактор врожденного иммунитета – НК, имеющие лимфоцитарное происхождение, но отличающиеся от лимфоцитов приобретенного иммунитета более примитивным механизмом распознавания и единственным способом уничтожения клеток-мишеней – перфорин-зависимым цитолизом с участием перфорина и гранзима [3]. Показано, что ДК тесно взаимодействуют с НК, способны стимулировать пролиферацию и продукцию цитокинов НК, а также усиливать их цитотоксичность. Активированные НК, в свою очередь, играют большую роль в элиминации незрелых толерогенных ДК. С другой стороны, НК могут вызывать созревание ДК и влиять на поляризацию Т-клеточных ответов. При узнавании мишени НК выделяют фактор некроза опухолей α (ФНО- α) и интерферон- γ (ИФН- γ), способствующие созреванию ДК и поляризации Т-хелперного ответа первого типа (Th1-

ответа). Более того, эти цитокины способствуют усилению кросс-презентации АГ дендритными клетками Т-лимфоцитам. Таким образом, взаимосвязь ДК с НК имеет большое значение для формирования эффективного опухолеспецифического приобретенного иммунного ответа [10].

Для формирования антигенспецифического приобретенного иммунного ответа незрелые ДК выходят из костного мозга и по кровотоку мигрируют в периферические ткани. Там ДК захватывают чужеродные или свои АГ, процессируют их и выставляют на своей поверхности в комплексах с молекулами МНС I и МНС II. В то же время в периферических тканях на ДК действуют патогенные агенты и/или воспалительные цитокины, которые приводят к их созреванию. Зрелые ДК, нагруженные АГ, мигрируют в лимфатические узлы через афферентные лимфатические сосуды, где взаимодействуют с наивными $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитами [11, 12] (рис. 1).

При взаимодействии с ДК наивные Т-лимфоциты могут дифференцироваться в антигенспецифические эффекторные Т-клетки с различными функциями. Так $CD4^+$ Т-лимфоциты могут стать Т-хелперными клетками типа 1, 2 и 17, а также регуляторными Т-клетками (Treg). Их главные функции заключаются в стимуляции цитотоксических Т-лимфоцитов, активации В-лимфоцитов, продуцирующих под их

действием антитела, регуляции аутоиммунных и провоспалительных ответов, а также в подавлении функции других лимфоцитов соответственно. Наивные $CD8^+$ Т-лимфоциты дифференцируются в ЦТЛ, способные специфически узнавать и уничтожать опухолевые клетки [13]. Таким образом, ДК способны как прямо, так и опосредованно специфически запускать, программировать и регулировать Т- и В-клеточный противоопухолевый иммунный ответ.

Происхождение и субпопуляции ДК

ДК представляют собой гетерогенную популяцию клеток, берущую начало от отдельной от других лейкоцитов гемопоэтической линии костномозговых предшественников [14]. Существует несколько субпопуляций ДК, различающихся происхождением, фенотипом, локализацией, путям миграции и функциям и, как результат, влиянием на врожденный и приобретенный иммунитет [15]. Эти субпопуляции можно объединить в две главные группы: классические ДК (кДК) и плазматоидные ДК (пДК).

Предшественники ДК (преДК)

Считается, что преДК берут начало от костномозговых предшественников, теряющих по мере созревания потенциал к развитию в клетки других ти-

Рис. 1.
Взаимодействие ДК с $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитами [12]

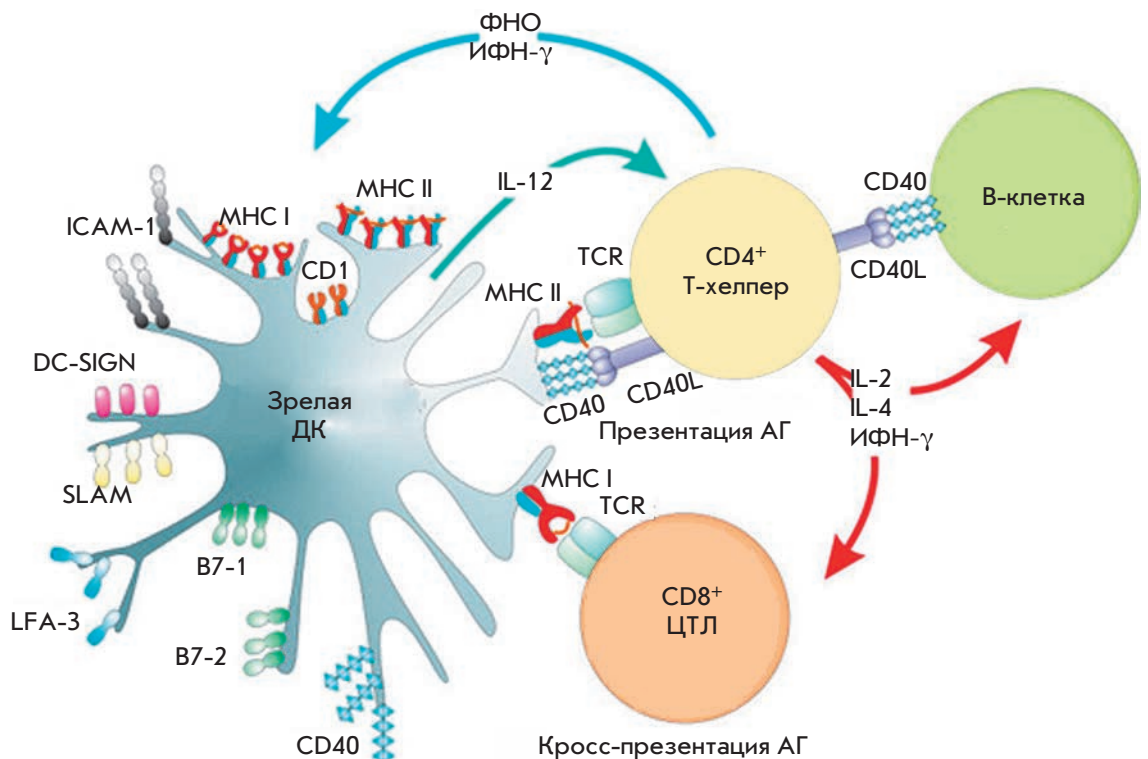
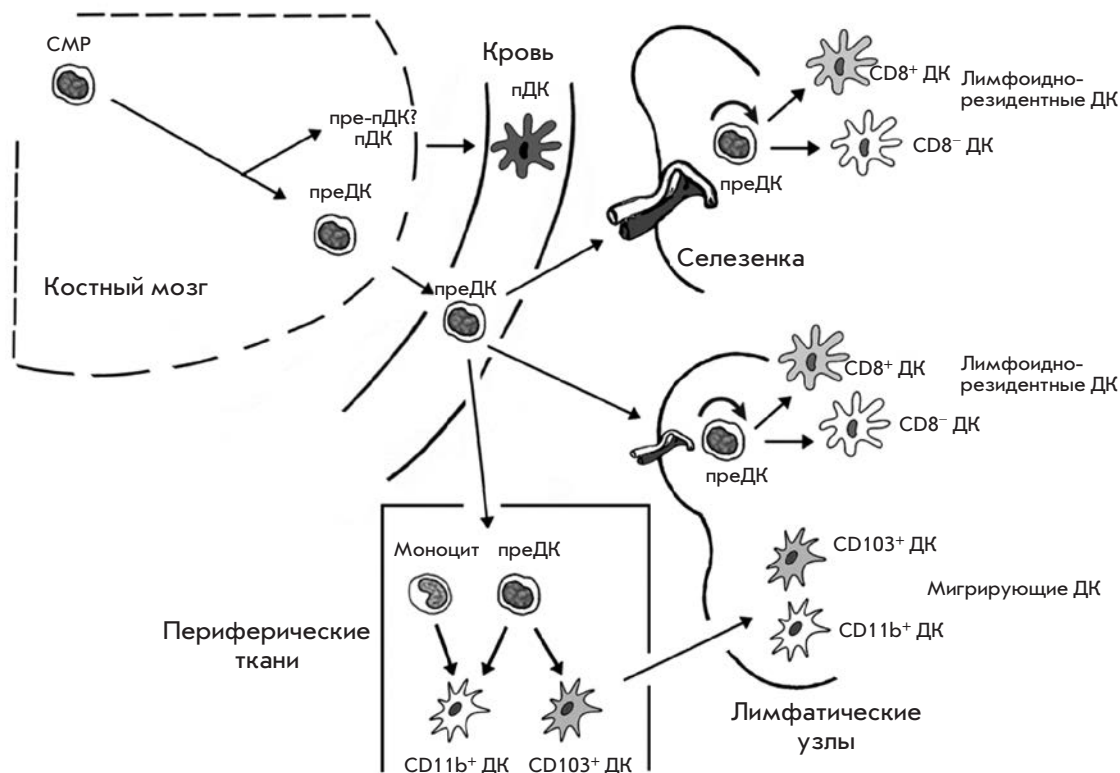


Рис. 2.
Предшественники ДК [16]



пов. Данный процесс называется коммитированием. Наиболее ранними коммитированными преДК являются клональные общие миелоидные предшественники (СМР), обнаруженные и у мыши, и у человека [16] (рис. 2), дающие начало эритроцитам, гранулоцитам, мегакариоцитам, моноцитам, макрофагам, ДК и пДК [17, 18].

Предшественники кДК (пре-кДК), имеющие фенотип $Lin^-CD11c^+MHC\ II^+$, покидают костный мозг и по кровотоку попадают в лимфоидные органы, где дифференцируются в лимфоидно-резидентные $CD8^+$ и $CD11b^+$ кДК. Они попадают также в такие нелимфоидные органы, как печень, почки, легкие и кишечник, где дают начало $CD103^+$ и $CD11b^+$ кДК [19, 20]. Таким образом, пре-кДК являются непосредственными предшественниками кДК, которые постоянно мигрируют из костного мозга на периферию для дифференцировки в кДК периферических тканей и резидентные ДК лимфоидных органов.

Клетки Лангерганса отличаются от других субпопуляций ДК, поскольку самообновляются вне зависимости от костного мозга и дифференцируются из предшественников, заселивших кожу еще в пренатальном периоде [21]. Однако в условиях воспаления, когда популяция клеток Лангерганса сильно истощается, эти клетки могут развиваться из моноцитов крови [22].

Субпопуляции ДК

Плазмацитоидные ДК. пДК – немногочисленная субпопуляция ДК (0.3–0.5% клеток периферической крови человека или клеток лимфоидных органов мыши), которая имеет сходное с классическими ДК происхождение, но отличается от них жизненным циклом. пДК накапливаются в основном в крови и лимфоидных органах и проникают в лимфатические узлы по кровотоку [14]. В пДК выявлен низкий уровень экспрессии МНС II и костимулирующих молекул. Для пДК мыши характерен фенотип $CD11c^{low}CD11b^-CD45R/B220^+$ [23, 24], для пДК человека – $Lin^-CD11c^-CD123(IL-3\ R\alpha)^+$ [25]. Большинство пДК развиваются из общих костномозговых преДК (СДР), обладающих как дендритно-клеточным, так и лимфоидным потенциалом [26].

пДК называют клетками, продуцирующими интерфероны типа I (ИФН- α/β), поскольку они секретируют большие количества ИФН- α/β при взаимодействии патогенных нуклеиновых кислот с толл-подобными рецепторами (TLR3, TLR7, TLR8 и/или TLR9), которые экспрессируются в пДК [27–29]. В этом случае индуцируется развитие защитного иммунитета, поскольку ИФН- α/β усиливают кросс-презентирующую способность классических ДК, а также активируют такие иммунные клетки,



Рис. 3. Субпопуляции классических ДК мыши

как В- и Т-лимфоциты, и НК-клетки. Таким образом, активированные пДК играют важную роль во врожденном и приобретенном иммунном ответе [30].

В норме пДК мыши локализируются в лимфоидных органах и крови, а также в печени, легких и коже. У человека пДК обнаруживаются не только в печени и крови, но и в лимфоидных органах. Они могут мигрировать из лимфоидных органов по кровотоку в Т-клеточные зоны вторичных лимфоидных тканей и маргинальную зону селезенки. При патологических состояниях пДК покидают костный мозг, органы или кровяное русло и инфильтрируют воспаленные ткани, где взаимодействуют с сигналами опасности (чужеродными АГ, патогенными агентами и т.д.) и высвобождают большие количества интерферонов типа I [31].

Классические ДК. Классическими ДК (кДК) называются все ДК за исключением плазмацитоидных ДК. Их можно обнаружить в большинстве лимфоидных и нелимфоидных тканей. кДК способны обнаруживать повреждение тканей, захватывать собственные или чужеродные АГ, процессировать их и высокоэффективно презентировать антигены Т-лимфоцитам. Таким образом, кДК способны индуцировать иммунитет к любым чужеродным АГ, проникающим в ткани, а также запускать толерантность к собственным АГ.

кДК конститутивно экспрессируют гемопоэтические маркеры CD45, MHC II, Flt3 и CD11c, а линейно-специфические маркеры Т- и В-лимфоцитов, натуральных киллеров, гранулоцитов и эритроцитов в них отсутствуют [14]. Классические ДК можно классифицировать по месту локализации на мигрирующие нелимфоидные кДК и лимфоидно-резидентные кДК, не покидающие лимфоидные органы всю жизнь.

Классические ДК мыши. кДК нелимфоидных тканей составляют 1–5% клеток в зависимости от конкретного органа и состоят из двух субпопуляций: CD103⁺CD11b⁻ и CD11b⁺ кДК (рис. 3). CD103⁺CD11b⁻ кДК заселяют большинство соединительных тканей. Это главные АПК, способные более эффективно кросс-презентировать АГ наивным Т-лимфоцитам, чем другие субпопуляции ДК [32] (рис. 3). Как нелимфоидные, так и лимфоидно-резидентные CD11b⁺ кДК играют главную роль в презентации АГ с помощью молекул MHC II [33] (рис. 3).

В эпидермальном слое кожи представлена третья субпопуляция кДК – клетки Лангерганса. Они составляют 2–4% от общего количества эпидермальных клеток [34] и характеризуются MHC II^{low}CD11c^{mid}CD207^{high}. Клетки Лангерганса способны запускать противовирусный CD8⁺ Т-клеточный ответ против разнообразных вирусных

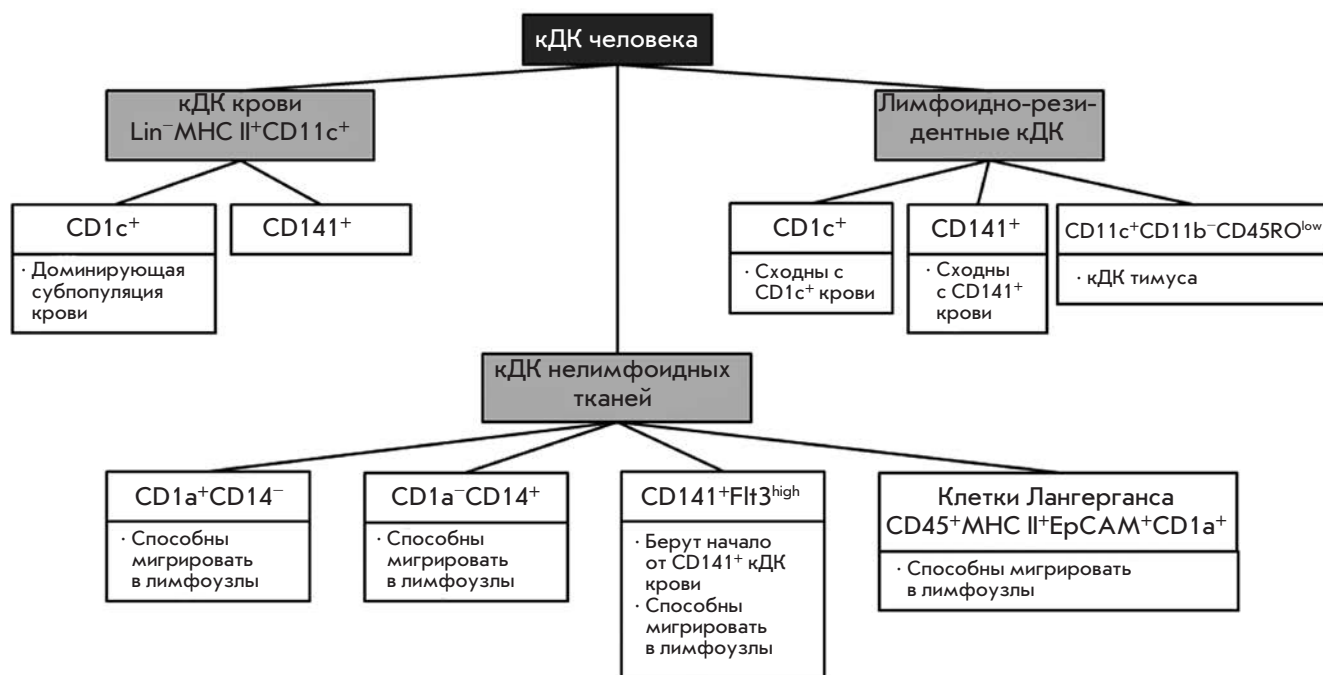


Рис. 4. Субпопуляции классических ДК человека

патогенов, за исключением цитолитических вирусов, таких, как вирусы простого герпеса и осповакцины, поскольку они обладают способностью индуцировать апоптоз ДК, в том числе и клеток Лангерганса [35].

Резидентные кДК лимфоидных органов в основном состоят из двух субпопуляций – CD8⁺ и CD11b⁺ кДК [36] (рис. 3). CD8⁺ ДК составляют 20–40% от кДК селезенки и лимфатических узлов. CD11b⁺ ДК преобладают среди лимфоидно-резидентных популяций кДК во всех лимфоидных тканях за исключением тимуса. Эти клетки продуцируют высокие уровни хемокинов CCL17 и CCL22, привлекающие CD4⁺ Т-клетки [14].

Классические ДК человека. Главное отличие кДК человека от кДК мыши заключается в спектре поверхностных маркеров. кДК человека подразделяются на кДК крови и нелимфоидных тканей, а также резидентные кДК лимфоидных тканей (рис. 4). кДК крови человека имеют фенотип Lin⁻MHC II⁺CD11c⁺ и представлены двумя субпопуляциями, экспрессирующими неперекрывающиеся маркеры CD1c (BDCA1) или CD141 (BDCA3). Доминирующая субпопуляция ДК периферической крови представлена клетками CD1c⁺, тогда как CD141⁺ ДК формируют короткоживущую популяцию [14] (рис. 4).

К кДК нелимфоидных тканей относятся CD1a⁺CD14⁻ ДК, CD1a⁻CD14⁺ ДК [37], отдель-

ная субпопуляция CD141⁺Flt3^{high} ДК, берущая начало от CD141⁺ ДК периферической крови [38]. К кДК нелимфоидных тканей относят также клетки Лангерганса, экспрессирующие маркеры CD45, MHC II, молекулы адгезии эпителиальных клеток (EpcAM) и лангерина CD207, а также CD1a [14] (рис. 4).

Резидентные кДК лимфоидных тканей состоят из субпопуляций CD1c⁺ и CD141⁺ кДК, имеющих сходство с ДК крови [38]. Клетки лимфатических узлов также включают клетки MHC II^{high}CD11c^{mid}EpcAM⁺CD1a⁺, клетки EpcAM⁻CD1a⁺ и клетки CD206⁺, классифицированные как мигрирующие клетки Лангерганса, мигрирующие кожные CD1a⁺ ДК и кожные CD14⁺ ДК соответственно [39] (рис. 4). Большинство кДК тимуса человека имеют фенотип CD11c⁺CD11b⁻CD45RO^{low}, у них отсутствуют миелоидные маркеры, представленные на CD141⁺ ДК.

ФУНКЦИИ ДК

Презентация антигенов ДК с помощью молекул MHC II

Профессиональные АПК, такие, как ДК, макрофаги и В-лимфоциты, характеризуются прежде всего высоким уровнем экспрессии молекул MHC II на клеточной поверхности. Практически все субпо-

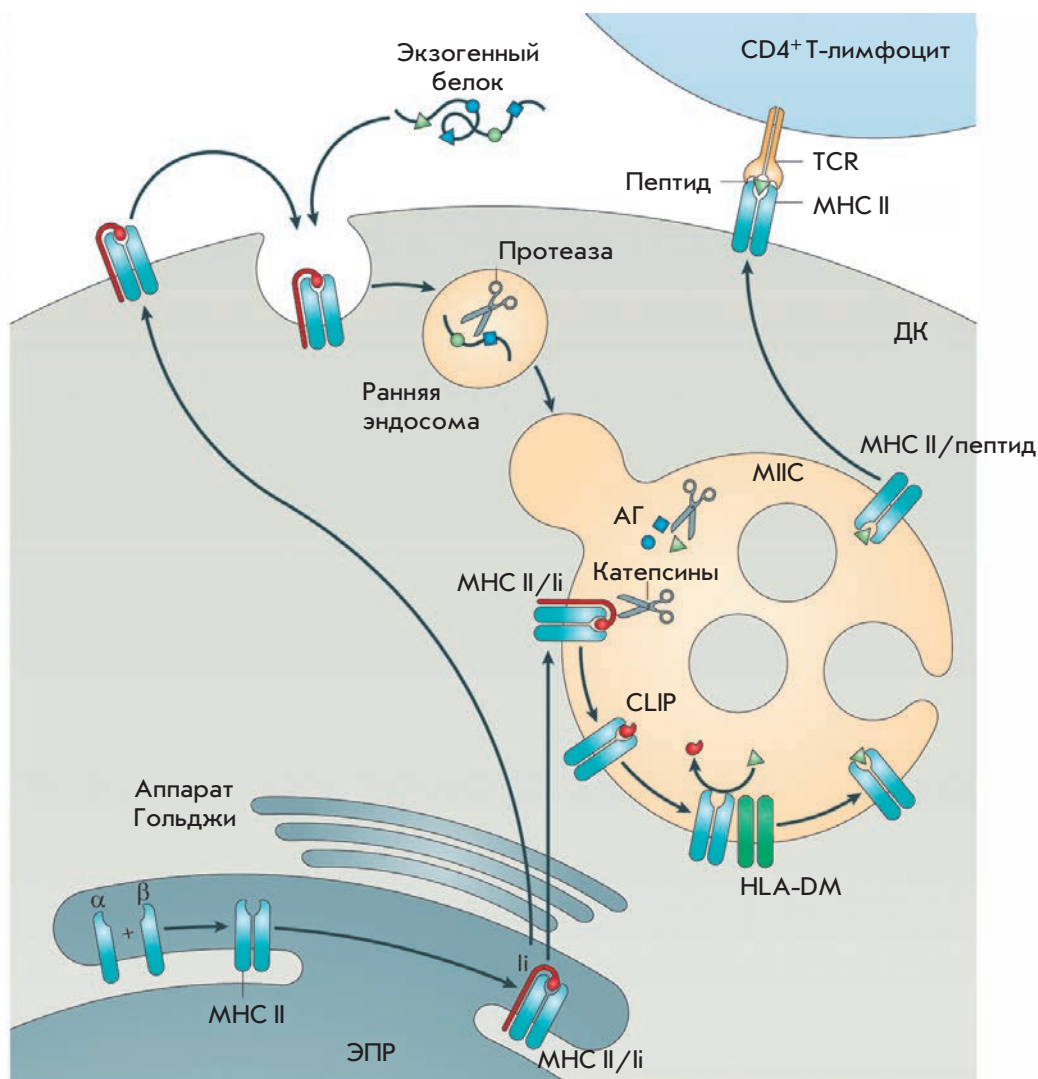


Рис. 5. Презентация экзогенных АГ ДК с помощью молекул МНС класса II [41]

пуляции ДК способны поглощать экзогенные АГ, процессировать и представлять их в комплексах с молекулами МНС II CD4⁺ Т-лимфоцитам и запускать Т-хелперный иммунный ответ разного типа. Для эффективного запуска Т-хелперного ответа помимо комплексов МНС II–АГ ДК необходимо присутствие на поверхности клеток костимулирующих и адгезионных молекул (CD80, CD86, CD40 и др.), а также синтез таких цитокинов, как IL-12, ИФН- γ (Th1-ответ), IL-4 (Th2-ответ) или IL-23 (Th17-ответ) [40] (рис. 1, 5).

На рис. 5 представлены события презентации экзогенных АГ ДК с помощью МНС II. Молекула МНС II представляет собой гетеродимер, состоящий из двух гомогенных пептидов, α - и β -цепей, которые собираются в эндоплазматическом ретикулуме (ЭПР) и соединяются с инвариантной цепью (Ii) (рис. 5). Комплексы МНС II/Ii транспортируются

в поздние эндосомы, называемые компартментами МНС II (МИС). Транспорт регулируется двумя дилейциновыми мотивами, расположенными на цитоплазматическом конце инвариантной цепи, которые узнаются сортировочными адапторами AP1 (адаптор транс-комплекса Гольджи) и AP2 (адаптор плазматической мембраны). AP2-зависимый эндоцитозный путь транспорта молекул МНС II с плазматической мембраны к МИС преобладает у незрелых ДК, тогда как AP1-зависимый транспорт из транс-Гольджи характерен для зрелых ДК [41].

В МИС инвариантная цепь отщепляется от молекулы МНС II с помощью протеаз катепсинов S и L, причем в пептидсвязывающей бороздке МНС II остается ассоциированный с классом II пептид Ii (CLIP). Для обмена CLIP на высокоаффинный антигенный пептид молекулам МНС II необходим белок-шаперон H2-DM у мыши или HLA-DM у человека. Следует

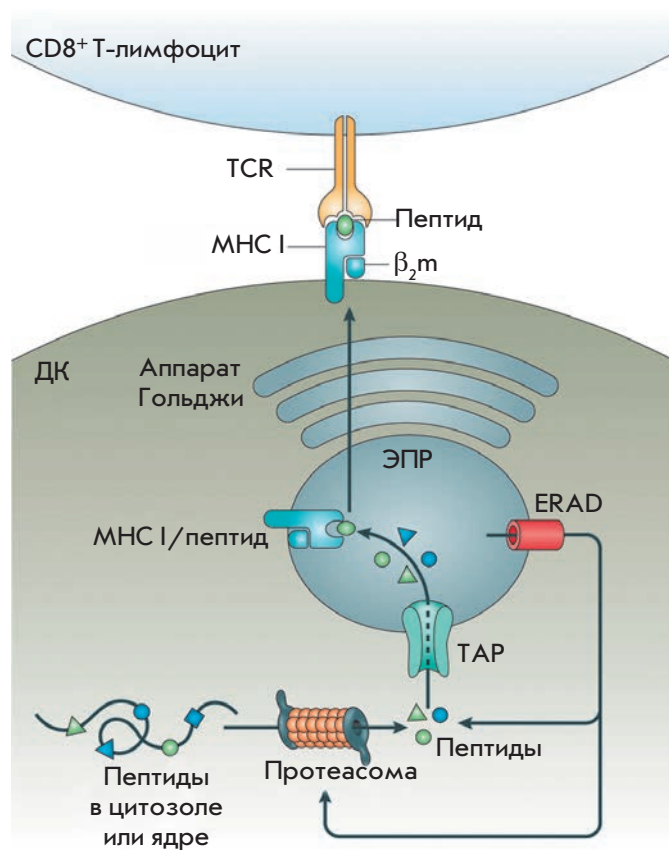


Рис. 6. Кросс-презентация экзогенных АГ ДК с помощью молекул МНС класса I [41]

отметить, что при презентации АГ с помощью молекул МНС II ДК используют вакуолярный путь процессинга АГ, где захваченные белки расщепляются на пептиды с помощью лизосомальных протеаз.

Образующиеся комплексы МНС II/пептид транспортируются в везикулах к плазматической мембране с помощью быстрого микротрубочкового транспорта с участием моторных белков динеина (входящий транспорт) и кинезина (исходящий транспорт), а также медленного транспорта с участием актомиозиновых моторных белков.

Эффективность презентации АГ с помощью молекул МНС II находится в обратной зависимости от (1) чувствительности белковых АГ к деградации, а также от (2) концентрации и активности протеолитических ферментов в поздних эндосомах. ДК отличаются от других фагоцитирующих клеток (например, макрофагов) значительно более низким уровнем экспрессии лизосомальных протеаз, а также сниженным уровнем их протеолитической активности. Это связано с высоким уровнем рН эндосомных компартментов, что обусловлено низкой активностью V-АТФ-азы и повышенной активностью NADPH-оксидазы 2 [42].

Кросс-презентация АГ с помощью молекул МНС I

Кросс-презентацией называют презентацию экзогенных АГ с помощью молекул МНС I, что необходимо для запуска цитотоксического CD8⁺ Т-клеточного ответа (рис. 6). ДК – это уникальные АПК, поскольку только они способны кросс-презентировать АГ наивным CD8⁺ Т-лимфоцитам [8]. Эта способность необходима для иммунного надзора и позволяет иммунной системе идентифицировать опухоли и вирусы, не инфицирующие ДК. Следует отметить, что не все субпопуляции ДК обладают способностью к эффективной кросс-презентации. У мыши наиболее эффективными являются мигрирующие CD103⁺CD11b⁻ ДК и резидентные CD8⁺CD11b⁻ ДК лимфоидных органов [32], у человека – CD141⁺ ДК [14].

Молекулы МНС I экспрессируются всеми клетками, содержащими ядро. Основная функция молекул МНС I в клетках – презентация собственных АГ клеткам иммунной системы с целью передачи сигнала о том, что это не чужеродная клетка, а собственная клетка организма. Молекула МНС I представляет собой гетеродимерный белок, состоящий из полиморфной тяжелой цепи и легкой цепи, называемой β2-микроглобулином. Полиморфизм тяжелой цепи обеспечивает разнообразие пептидсвязывающих полостей на молекулах МНС I, что позволяет узнавать уникальные антигенные пептиды благодаря различиям в якорных остатках, к которым они прикрепляются [41].

Молекулы МНС I собираются в ЭПР и перед присоединением пептидов удерживаются там благодаря взаимодействию с белками-шаперонами, такими, как кальнексин, кальретикулин, ERp57, PDI и тапазин. Гетеродимеры МНС I неустойчивы, и в отсутствие подходящего пептида легко диссоциируют в физиологических условиях.

Антигенные пептиды для кросс-презентации, прошедшие процессинг, транспортируются TAP-белками к молекулам МНС I в ЭПР. Пептидсвязывающая полость в МНС I вмещает в себя пептиды длиной от 8 до 10 аминокислотных остатков в зависимости от гаплотипа МНС. Пептиды прикрепляются к якорным последовательностям в молекуле МНС I преимущественно с помощью N- и C-концевых аминокислотных остатков, а также с участием некоторых боковых цепей внутримолекулярных остатков [43]. Связывание пептида с молекулой МНС I приводит к стабилизации взаимодействия между тяжелыми и легкими цепями МНС I, высвобождению шаперонов, после чего полностью собранный комплекс МНС I/пептид может покинуть ЭПР для презентации на клеточной поверхности. Этот механизм не позволяет «пустым» молекулам МНС I транспортироваться на плазма-

тическую мембрану и взаимодействовать там с экзогенными АГ. Пептиды и молекулы МНС I, которые не связались в ЭПР, возвращаются в цитозоль для деградации [44].

Процессинг АГ и образование комплексов с МНС I

Существует два основных механизма процессинга АГ при кросс-презентации – вакуолярный и цитозольный, которые могут действовать как по отдельности, так и одновременно в зависимости от типа кросс-презентируемого АГ.

Вакуолярный путь процессинга АГ. При вакуолярном пути процессинга АГ кросс-презентируемые АГ процессируются и связываются с молекулами МНС I внутри эндосом/фагосом. Одним из механизмов считается участие шаперона CD74 в транспортировке вновь синтезированных молекул МНС I из ЭПР в эндоцитозные компартменты в ДК [45]. В фагосоме в процессинге АГ для кросс-презентации участвует цистеиновая протеаза катепсин S [46]. Кроме того, в синтез кросс-презентируемых пептидов в цитозольном пути процессинга АГ вовлечена регулируемая инсулином аминопептидаза IRAP, родственная аминопептидазам ERAP1 и ERAP2 ЭПР [47, 48].

Цитозольный путь процессинга АГ. Цитозольный путь играет главную роль в процессинге АГ ДК [46]. Показано, что блокирование вакуолярного пути процессинга АГ слабо ингибирует кросс-презентацию и даже может усиливать ее, тогда как ингибиторы протеасомы и транспорта белков в комплекс Гольджи (лактацистин и брэфелдин А соответственно) полностью подавляют способность ДК кросс-презентировать АГ CD8⁺ Т-лимфоцитам [49].

При цитозольном пути АГ транспортируются из фагосом в цитозоль, где процессируются для кросс-презентации подобно эндогенным АГ путем протеасомного протеолиза. Механизм транспорта АГ из эндосом в цитозоль не до конца установлен. Предполагается, что в нем может участвовать ЭПР-ассоциированная машина деградации (ERAD-машина), в частности, входящие в ее состав белки SEC61 и p97 [50]. Транслокация АГ, захваченных ДК с помощью маннозных рецепторов, контролируется убиквитинированием цитозольных участков МР. Белок p97, являющийся АТР-азой, привлекается к мембране эндосом/фагосом взаимодействием с полиубиквитинированными МР [51]. Альтернативным механизмом выхода АГ из эндосом в цитозоль может быть простая дестабилизация мембраны эндосомы активными формами кислорода, которые эффективно продуцируются в эндоцитозных компартментах ДК [52].

После выхода в цитозоль АГ подвергаются протеасомному процессингу с участием как стандартной протеасомы, так и иммунопротеасомы [53, 54]. Антигенные пептиды, генерируемые протеасомой и/или иммунопротеасомой, транспортируются в просвет ЭПР с помощью белков ТАР, где гидролизуются терминальной аминопептидазой ERAP1 до пептидов подходящей длины для нагрузки молекул МНС I и дальнейшей кросс-презентации CD8⁺ Т-лимфоцитам.

Кросс-дрессинг ДК

Помимо прямой презентации и кросс-презентации экзогенных АГ, существует дополнительный механизм презентации АГ, называемый кросс-дрессингом, когда ДК захватывают готовые комплексы МНС I/антигенный пептид из мертвых опухолевых клеток. Кросс-дрессинг опосредуется секретируемыми экзосомами, а также трофоцитозом – процессом, в результате которого происходит обмен участками клеточных мембран и мембранных белков между клетками. Это позволяет ДК презентировать непосредственно захваченные АГ без дальнейшего процессинга. В отличие от кросс-презентации АГ, при которой активируются CD8⁺ ЦТЛ, направленные на пептиды, процессированные ДК, кросс-дрессинг способствует активации CD8⁺ Т-лимфоцитов, специфичных к пептидам, генерированным самой опухолевой клеткой, что может усиливать антигенную специфичность противоопухолевого иммунного ответа. В кросс-дрессинге способны принимать участие CD8^α⁺/CD103⁺ ДК, активированные и наивные CD8⁺ Т-лимфоциты и CD8⁺ Т-клетки памяти [55–57].

Индукция функции кросс-презентации ДК

Функция кросс-презентации приобретает на последнем этапе созревания ДК при стимуляции микробными продуктами, например TLR-лигандами, или такими цитокинами, как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ). Поэтому эффективная кросс-презентация характерна для субпопуляций периферических ДК при воспалении и инфекции.

CD8⁺CD103⁻ ДК, выделенные из селезенки нормальной мыши, были малоэффективными в кросс-презентации АГ с помощью молекул МНС I в среде в отсутствие лигандов TLR и цитокинов, но эффективно презентировали АГ с помощью молекул МНС II [58]. Для запуска кросс-презентации требовались дополнительные активационные факторы, что указывает на регулируемость этого свойства CD8⁺ ДК.

TLR-лиганды не только активируют созревание CD8⁺ ДК, но и способствуют увеличению уровня ко-стимулирующих и адгезионных молекул на их по-

верхности, а также могут влиять на процессинг АГ CD8⁺ ДК и усиливать кросс-презентацию АГ [58].

Помимо таких микробных продуктов, как TLR-лиганды, функция кросс-презентации у ранних предшественников CD8⁺ ДК может индуцироваться ГМ-КСФ. В нормальном состоянии ГМ-КСФ продуцируется на низком уровне, но при инфекции или воспалении его продукция резко возрастает. Индукция функции кросс-презентации ДК под действием ГМ-КСФ не сопровождается увеличением экспрессии стандартных маркеров активации ДК – МНС II, CD80, CD86 или CD40, однако повышается экспрессия ключевого маркера мигрирующих ДК – CD103.

Механизм индукции кросс-презентации у CD8⁺ ДК под действием этих факторов не до конца ясен, по-видимому, он может заключаться в усилении протеасомной активности ДК, индукции транспорта белков ТАР к ранним эндосомам или усилении транспорта АГ из ранних эндосом в цитозоль [58].

При отсутствии «сигналов опасности» в нормальном состоянии кросс-презентация является важным механизмом индукции и поддержания толерантности, направленной на собственные АГ. Так, CD8⁺ ДК тимуса обладают способностью к кросс-презентации в нормальных условиях и участвуют в уничтожении развивающихся аутореактивных Т-клеток [58].

Презентация липидных антигенов ДК с помощью молекул CD1

Презентация липидных АГ с помощью молекул CD1 представляет путь стимуляции Т-лимфоцитов, не зависящий от МНС I и II. По своему строению белки CD1 похожи на МНС I, поскольку представляют собой гетеродимер, состоящий из тяжелой цепи CD1, нековалентно связанной с β2-микроглобулином. ДК человека экспрессируют пять белков CD1: CD1a, CD1b, CD1c, CD1d и CD1e, тогда как у мыши на ДК экспрессируется всего лишь один белок – CD1d. Строение и функции данных белков имеют некоторые отличия, однако их общая главная функция – презентировать антигены липидной природы Т-лимфоцитам [59].

С участием CD1a, CD1b, CD1c и, возможно, CD1d происходит презентация Т-лимфоцитам микробных липидных и липопептидных антигенов, таких, как миколовая кислота, фосфатидилинозитолманнозид, липоарабиноманнан, дидегидрокси микобактин и др. Кроме того, CD1d, а в некоторых случаях и CD1a, CD1b, CD1c способны представлять собственные липидные антигены. Т-лимфоциты опознают комплексы CD1–антиген с помощью Т-клеточных рецепторов (TCR), практически не отличающихся по своему строению от TCR, взаимодей-

ствующих с комплексами МНС–антиген. Отобранные с помощью CD1 TCR, распознающие чужеродные антигены, способны различать даже небольшие изменения в структуре гидрофильной группы липидного антигена [59].

Полученные таким образом Т-лимфоциты принимают участие в иммунных реакциях против бактериальных (*Mycobacterium tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Borrelia burgdorferi* и др.), паразитарных (*Leishmania major*, *Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma gondii* и др.), вирусных (вирус простого герпеса типа 1 и 2, вирус Коксаки В3, вирус гепатита В и др.) и грибковых (*Cryptococcus neoformans*) инфекций [59].

Уход опухоли от иммунного надзора путем подавления функций ДК

Известно, что многие виды опухолей содержат функционально аномальные ДК [60–62]. Более того, прямое подавление пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов опухолью или опухолевым окружением и подавление дифференцировки ДК считаются важным механизмом ухода опухоли от действия иммунной системы. В этой части обзора рассмотрено неблагоприятное действие опухоли и ее окружения на функциональную активность ДК, приводящее к подавлению специфической активации эффекторных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов.

Опухолевая строма

Важным компонентом, обеспечивающим сопротивление опухоли иммунной системе, является опухолевая строма. Строма состоит из фибробластов, эндотелиальных клеток, а также компонентов внеклеточного матрикса и воспалительного инфильтрата, локализующегося внутри опухолевой стромы, в состав которого входят, в частности, спинномозговые супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC) и опухолеспецифические макрофаги (TAM) [63, 64]. Клетки стромы продуцируют множество факторов, включая цитокины, хемокины, факторы роста, гормоны, простагландины, соли молочной кислоты и ганглиозиды, способствующих подавлению опосредованного ДК ответа эффекторных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток и индукции Treg [65, 66]. Кроме того, описаны прямые химические или ферментативные взаимодействия между продуктами лейкоцитов и клонами опухолеспецифических Т-лимфоцитов, как, например, нитротирозилирование Т-клеточных рецепторов и молекул CD8, что приводит к ослаблению противоопухолевых функций Т-лимфоцитов [67].

Механизмы подавления функций ДК опухолью

Существует несколько механизмов подавления или даже «выключения» функций ДК опухолью. Во-

первых, опухоль может препятствовать проникновению (инфильтрации) ДК и преДК в опухолевую ткань. Однако, согласно некоторым данным, большинство опухолей инфильтрованы даже большим количеством ДК, чем нормальные ткани [68, 69]. Это объясняется тем, что опухолевые клетки могут продуцировать такие хемокины, как MIP-3 α , «выборочно хемотаксичные» именно для незрелых ДК, экспрессирующих рецептор CCR6 к MIP-3 α [69].

Во-вторых, опухоль может подавлять созревание инфильтрирующих незрелых ДК, что может привести к развитию Т-клеточной толерантности. Действительно, в лейкоцитарном инфильтрате опухолей определенного типа обнаружено повышение экспрессии костимулирующих молекул макрофагами и ДК, однако способность таких ДК презентировать АГ значительно ослаблена [61, 70].

В-третьих, фагоцитоз и процессинг в ДК растворимых опухолевых АГ могут быть подавлены или полностью блокированы. Так в ДК, полученных от больных раком почки, наблюдалось снижение эффективности поглощения АГ [68]. Ингибирование фагоцитоза ДК часто связывают с секрецией фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), одного из важнейших иммуносупрессорных цитокинов, продуцируемых опухолью [71]. В нескольких работах показана взаимосвязь между повышенным уровнем VEGF в сыворотке онкологических больных и количеством и функциональностью циркулирующих ДК [72, 73]. Установлено, что блокада VEGF приводит к увеличению захвата АГ и миграционной способности опухолеспецифических ДК [71].

В-четвертых, может быть снижена миграционная активность ДК, что рассматривается как еще один механизм ухода опухоли от иммунного ответа [66]. Действительно, такие цитокины и ростовые факторы, как IL-10, TGF- β , VEGF [61], также хорошо сверхэкспрессируются в опухолевой ткани, как факторы-хемоаттрактанты MIP-3 α /CCL20 [69]. С другой стороны, в опухолевой ткани представлены такие факторы, как например, ганглиозиды, ингибирующие миграцию ДК. Оба механизма могут регулировать рекрутирование и миграцию ДК в опухолевое окружение.

В-пятых, на подавление функций ДК и прогрессию опухоли влияет воспаление, часто сопровождающее злокачественные новообразования [74]. Медиаторы воспаления могут вырабатываться как самими опухолевыми клетками, так и клетками предопухолевой стромы, в состав которой входят различные популяции лейкоцитов, в частности, супрессорные клетки миелоидного происхождения [63] и опухолеспецифические макрофаги [64]. Медиаторы воспаления могут вызывать лейкопению и влиять на ангиогенез, а так-

же на выживаемость опухолевых клеток, их подвижность и хемотаксис [75].

Сверхэкспрессия белка STAT3 опухолевыми клетками влияет на экспрессию нескольких иммуносупрессорных цитокинов, включая IL-10 и TGF- β , супрессирует Th1-ответ, снижает экспрессию костимулирующих молекул и молекул МНС II, активирует экспрессию TGF- β в ДК. Опухолевая прогрессия также коррелирует с накоплением незрелых ДК, которые индуцируют пролиферацию Treg в инфильтрированных опухолью лимфоузлах.

В-шестых, показана роль экзосом, секретиремых опухолевыми клетками, с помощью которых опосредуются разнообразные эффекты на иммунокомпетентные клетки, в том числе и на ДК [76, 77]. Экзосомы опухолевых клеток способны подавлять иммунную систему с помощью нескольких механизмов, включая снижение количества ДК и подавление их функций, ослабление пролиферации и цитотоксичности натуральных киллеров и Т-лимфоцитов, а также увеличение количества иммуносупрессорных клеток (MDSC и Treg) [76, 77].

Воздействуя на ДК, опухолевые экзосомы способствуют усилению фосфорилирования STAT3 и экспрессии IL-6 и снижают таким образом как активность, так и количество ДК путем ингибирования дифференцировки CD14⁺ моноцитов в незрелые ДК. Более того, в этом случае CD14⁺ клетки дифференцируются в HLA-DR^{-low} клетки, синтезирующие TGF- β , который ингибирует функции Т-лимфоцитов [76].

Роль опухолевого окружения в подавлении функций ДК

Цитокины и ростовые факторы при опухолевой прогрессии. Макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-KCF) и IL-6 – важные факторы, вовлеченные в дифференцировку моноцитов [78, 79] и подавляющие дифференцировку ДК [80] путем увеличения экспрессии рецепторов к M-KCF параллельно со снижением количества α -рецепторов к GM-KCF в преДК. Подобные явления характерны и для IL-10, продуцируемого клетками опухолей [81, 82]. *In vitro* IL-10 ингибирует дифференцировку, созревание и функциональную активность ДК [83–85], переключая дифференцировку в макрофагальную сторону [86].

Другим фактором роста, секретиремым множеством опухолей в условиях гипоксии, является VEGF. Уровень VEGF как в сыворотке крови, так и в опухолевой ткани коррелирует с опухолевой прогрессией [87, 88]. Показано, что *in vitro* VEGF ингибирует развитие ДК из CD34⁺ предшественников [89]. Более

того, после воздействия VEGF в ДК снижена продукция IL-12, а также способность стимулировать аллогенные Т-клетки [90]. VEGF ингибирует развитие ДК, увеличивая количество незрелых миелоидных клеток [91].

Влияние гипоксии при опухолевой прогрессии на функции ДК. Для микроокружения опухоли характерно низкое содержание кислорода (гипоксия), обусловленное сниженной микроциркуляцией крови в опухолевой ткани [92]. Гипоксия опухоли связана с опухолевой прогрессией, устойчивостью к радио- и химиотерапии [93], а также с изменениями фенотипа макрофагов [94, 95]. В условиях гипоксии ДК имеют нормальный уровень экспрессии поверхностных маркеров и цитокинов, но их миграционная активность подавлена [96, 97]. Физиологический ответ на гипоксию обусловлен действием фактора HIF (hypoxia induced factor), индуцируемый в клетке в условиях гипоксии [98, 99]. К генам-мишеням HIF относятся гены, кодирующие VEGF-A, Glut-1 (переносчик глюкозы 1) и LDH (лактатдегидрогеназа) [100]. Изоформа LDH-5 лактатдегидрогеназы, трансформирующая молочную кислоту в пируват с самой медленной скоростью среди ферментов своего типа, не только сверхэкспрессируется во множестве опухолей, но также связана с агрессивным фенотипом опухолевых клеток [101]. Высокая экспрессия этого изофермента приводит к накоплению молочной кислоты в опухолевых клетках и микроокружении.

Влияние измененного метаболизма опухолевых клеток на функции ДК. Хорошо известно, что метаболизм опухолевых клеток отличается от метаболизма нормальных клеток. Опухолевые клетки производят энергию преимущественно с помощью очень активного гликолиза с последующим образованием молочной кислоты, а не посредством медленного гликолиза и окисления пирувата в митохондриях с использованием кислорода как в большинстве нормальных клеток. Этот феномен, названный «аэробным гликолизом», или «эффектом Варбурга» (впервые описан Отто Варбургом), ведет к увеличению продукции молочной кислоты [102].

В опухолях с высоким уровнем молочной кислоты уровень лактатдегидрогеназы повышен по сравнению с нормальной тканью [103], в некоторых опухолях детектируется даже изофермент LDH-5 [101, 104]. При немелкоклеточном раке легкого или аденокарциноме кишечника подобную сверхэкспрессию связывают с неблагоприятным прогнозом [101, 104]. В 60–75% случаев рака кишечника высокая экспрессия LDH-5 строго коррелирует с высокой экспрес-

сией VEGF-R2 (KDR/Flk-1) [105]. Молочная кислота является важным фактором, влияющим на ДК, который может способствовать уходу опухоли от иммунного ответа.

Молочная кислота оказывает как негативное, так и положительное влияние на формирование Т-клеточного иммунного ответа [106, 107]. Натриевая соль молочной кислоты и метаболиты глюкозы подавляют фенотипическое и функциональное созревание ДК, что коррелирует с подавлением активации NF- κ B [108]. Под действием молочной кислоты изменяется экспрессия АГ в человеческих ДК моноцитарного происхождения и снижается секреторный потенциал ДК [109]. Молочная кислота может также прямо ингибировать CD8⁺ Т-клетки [110]. Внеклеточный ацидоз приводит к накоплению молочной кислоты в опухолевой ткани. В нескольких работах описано неблагоприятное воздействие кислых значений pH на функции Т-лимфоцитов и натуральных киллеров [111–113]. Хотя некоторые исследователи отмечали улучшение захвата АГ ДК мыши при ацидозе, а также повышение эффективности индукции специфических ЦТЛ [114].

Помимо молочной кислоты на функции ДК способны влиять и другие метаболиты опухолевых клеток. Синтез метаболитов арахидоновой кислоты (простаноидов), включая простагландин и тромбоксан, катализируется циклооксигеназами-1 и -2 (COX-1/2) [115]. Экспрессия циклооксигеназ изменена во многих видах опухолей, таких, как рак толстой кишки, молочной железы, легкого и яичников, а также меланомы [116–118]. Экспрессия COX-2 обнаружена в опухолевых клетках и в клетках опухолевой стромы [115]. Помимо прямого влияния на рост опухоли, апоптоз, межклеточные взаимодействия и ангиогенез, простаноиды подавляют противоопухолевый иммунный ответ организма [118], в частности, за счет ингибирования дифференцировки и функции ДК. Так Sombroek С.С. и соавт. обнаружили ингибирующий эффект простаноидов и IL-6 на дифференцировку ДК из CD34⁺ предшественников и моноцитов [119].

Ганглиозиды – производные липидов, синтезируемые опухолевыми клетками, также подавляют противоопухолевый иммунный ответ [120–122], ингибируя дифференцировку гемопоэтических клеток [120]. Некоторые типы опухолей (нейробластома, ретинобластома, меланомы, рак печени и толстого кишечника), а также лимфомы характеризуются аномальным составом ганглиозидов [123, 124], что может быть связано с гипоксией [125]. Ганглиозиды ухудшают созревание и миграционную активность клеток Лангерганса [126], ингибируют дифференцировку, созревание и функции ДК [127].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленные за последние десятилетия знания о происхождении и функционировании дендритных клеток позволили разработать принципы онкоиммунологии, основанные на привлечении собственных иммунных клеток организма для противостояния злокачественным заболеваниям. Однако при многих видах опухолей наблюдали подавление самого важного звена иммунной системы, иницирующего развитие специфического противоопухолевого ответа, – дендритных клеток. Подобное избегание иммунного надзора приводило к ослаблению компонентов врожденного иммунитета, таких, как макрофаги, так и специфического иммунитета – Т-клеточных звеньев. В связи с этим становится очевидным,

что при разработке противоопухолевых вакцин на основе дендритных клеток большое внимание следует уделять их активации/созреванию; типу опухолеспецифического антигена, используемого для нагрузки дендритных клеток; дополнительным конструкциям, кодирующим костимулирующие молекулы, для повышения эффективности презентации опухолевого антигена; методам доставки антигена в дендритные клетки, обеспечивающим максимальный уровень процессинга и презентации антигена в комплексах с МНС I и МНС II. Решение этих задач поможет создать протоколы получения дендритно-клеточных вакцин для эффективного лечения пациентов с опухолями различного происхождения. ●

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Palucka K., Ueno H., Fay J., Banchereau J. // *J. Intern. Med.* 2011. V. 269. P. 64–73.
- Greenberg S., Grinstein S. // *Curr. Opin. Immunol.* 2002. V. 14. P. 136–145.
- Ярилин А.А. Основы иммунологии: Учебник. М.: Медицина, 1999. С. 608.
- Figdor C.G., van Kooyk Y., Adema G.J. // *Nat. Rev. Immunol.* 2002. V. 2. P. 77–84.
- Fong L., Engleman E.G. // *Annu. Rev. Immunol.* 2000. V. 18. P. 245–273.
- Massard G., Tongio M.M., Wihlm J.M., Morand J. // *Ann. Thorac. Surgeon.* 1996. V. 61. P. 252–258.
- Nussenzweig M.C., Steinman R.M., Gutchinov B., Cohn Z.A. // *J. Exp. Med.* 1980. V. 152. P. 1070–1084.
- Jung S., Unutmaz D., Wong P., Sano G., De los Santos K., Sparwasser T., Wu S., Vuthoori S., Ko K., Zavala F., et al. // *Immunity.* 2002. V. 17. P. 211–220.
- Heath W.R., Belz G.T., Behrens G.M., Smith C.M., Forehan S.P., Parish I.A., Davey G.M., Wilson N.S., Carbone F.R., Villadangos J.A. // *Immunol. Rev.* 2004. V. 199. P. 9–26.
- Bonaccorsi I., Pezzino G., Morandi B., Ferlazzo G. // *Immunol. Lett.* 2013. V. 155. P. 6–10.
- Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y.J., Pulendran B., Palucka K. // *Annu. Rev. Immunol.* 2000. V. 18. P. 767–811.
- Gogolák P., Réthi B., Hajas G., Rajnavölgyi E. // *J. Mol. Recognit.* 2003. V. 16. P. 299–317.
- Palucka K., Banchereau J. // *Nat. Rev. Cancer.* 2012. V. 12. P. 265–277.
- Merad M., Sathe P., Helft J., Miller J., Mortha A. // *Annu. Rev. Immunol.* 2013. V. 31. P. 563–604.
- Ueno H., Schmitt N., Klechevsky E., Pedroza-Gonzalez A., Matsui T., Zurawski G., Oh S., Fay J., Pascual V., Banchereau J., et al. // *Immunol. Rev.* 2010. V. 234. P. 199–212.
- Helft J., Ginhoux F., Bogunovic M., Merad M. // *Immunol. Rev.* 2010. V. 234. P. 55–75.
- Manz M.G., Traver D., Akashi K., Merad M., Miyamoto T., Engleman E.G., Weissman I.L. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2001. V. 938. P. 167–174.
- Traver D., Akashi K., Manz M., Merad M., Miyamoto T., Engleman E.G., Weissman I.L. // *Science.* 2000. V. 290. P. 2152–2154.
- Diao J., Winter E., Cantin C., Chen W., Xu L., Kelvin D., Phillips J., Catral M.S. // *J. Immunol.* 2006. V. 176. P. 7196–7206.
- Ginhoux F., Liu K., Helft J., Bogunovic M., Greter M., Hashimoto D., Price J., Yin N., Bromberg J., Lira S.A., Stanley E.R., Nussenzweig M., Merad M. // *J. Exp. Med.* 2009. V. 206. P. 3115–3130.
- Chorro L., Sarde A., Li M., Woollard K.J., Chambon P., Malissen B., Kissenpfennig A., Barbaroux J.B., Groves R., Geissmann F. // *J. Exp. Med.* 2009. V. 206. P. 3089–3100.
- Ginhoux F., Tacke F., Angeli V., Bogunovic M., Loubreau M., Dai X.M., Stanley E.R., Randolph G.J., Merad M. // *Nat. Immunol.* 2006. V. 7. P. 265–273.
- O’Keefe M., Hochrein H., Vremec D., Caminschi I., Miller J.L., Anders E.M., Wu L., Lahoud M.H., Henri S., Scott B., et al. // *J. Exp. Med.* 2002. V. 196. P. 1207–1319.
- Nakano H., Yanagita M., Gunn M.D. // *J. Exp. Med.* 2001. V. 194. P. 1171–1178.
- Shortman K., Liu Y.J. // *Nat. Rev. Immunol.* 2002. V. 2. P. 151–161.
- Reizis B., Bunin A., Ghosh H.S., Lewis K.L., Sisirak V. // *Annu. Rev. Immunol.* 2011. V. 29. P. 163–183.
- Van Lint S., Renmans D., Broos K., Dewitte H., Lentacker I., Heirman C., Breckpot K., Thielemans K. // *Expert Rev. Vaccines.* 2015. V. 14. P. 235–251.
- Hanabuchi S., Liu Y.-J. // *Immunity.* 2011. V. 35. P. 851–853.
- Takagi H., Fukaya T., Eizumi K., Sato Y., Sato K., Shibazaki A., Otsuka H., Hijikata A., Watanabe T., Ohara O., et al. // *Immunity.* 2011. V. 35. P. 958–971.
- Tel J., de Vries I.J. // *Immunotherapy.* 2012. V. 4. P. 979–982.
- Pinto A., Rega A., Crother T.R., Sorrentino R. // *Oncoimmunology.* 2012. V. 1. P. 726–734.
- Joffre O.P., Segura E., Savina A., Amigorena S. // *Nat. Rev. Immunol.* 2012. V. 12. P. 557–569.
- Dudziak D., Kamphorst A.O., Heidkamp G.F., Buchholz V.R., Trumpfheller C., Yamazaki S., Cheong C., Liu K., Lee H.W., Park C.G., et al. // *Science.* 2007. V. 315. P. 107–111.
- Valladeau J., Saeland S. // *Semin. Immunol.* 2005. V. 17. P. 273–283.
- Merad M., Ginhoux F., Collin M. // *Nat. Rev. Immunol.* 2008. V. 8. P. 935–947.
- Vremec D., Zorbas M., Scollay R., Saunders D.J., Ardavin C.F., Wu L., Shortman K. // *J. Exp. Med.* 1992. V. 176. P. 47–58.

37. Nestle F.O., Zheng X.G., Thompson C.B., Turka L.A., Nickoloff B.J. // *J. Immunol.* 1993. V. 151. P. 6535–6545.
38. Haniffa M., Shin A., Bigley V., McGovern N., Teo P., See P., Wasan P.S., Wang X.N., Malinarich F., Malleret B., et al. // *Immunity.* 2012. V. 37. P. 60–73.
39. Segura E., Valladeau-Guilemond J., Donnadiou M.H., Sastre-Garau X., Soumelis V., Amigorena S. // *J. Exp. Med.* 2012. V. 209. P. 653–660.
40. Cintolo J.A., Datta J., Mathew S.J., Czerniecki B.J. // *Future Oncol.* 2012. V. 8. P. 1273–1299.
41. Neefjes J., Jongsma M.L., Paul P., Bakke O. // *Nat. Rev. Immunol.* 2011. V. 11. P. 823–836.
42. Delamarre L., Pack M., Chang H., Mellman I., Trombetta E.S. // *Science.* 2005. V. 307. P. 1630–1634.
43. Rock K.L., Goldberg A.L. // *Annu. Rev. Immunol.* 1999. V. 17. P. 739–779.
44. Koopmann J.O., Albring J., Hüter E., Bulbuc N., Spee P., Neefjes J., Hämmerling G.J., Momburg F. // *Immunity.* 2000. V. 13. P. 117–127.
45. Basha G., Omilusik K., Chavez-Steenbock A., Reinicke A.T., Lack N., Choi K.B., Jefferies W.A. // *Nat. Immunol.* 2012. V. 13. P. 237–245.
46. Rock K.L., Farfan-Arribas D.J., Shen L. // *J. Immunol.* 2010. V. 184. P. 9–15.
47. Weimershaus M., Maschalidi S., Sepulveda F., Manoury B., van Endert P., Saveanu L. // *J. Immunol.* 2012. V. 188. P. 1840–1846.
48. Saveanu L., Carroll O., Weimershaus M., Guermonprez P., Firat E., Lindo V., Greer F., Davoust J., Kratzer R., Keller S.R., et al. // *Science.* 2009. V. 325. P. 213–217.
49. Kovacovics-Bankowski M., Rock K.L. // *Science.* 1995. V. 267. P. 243–246.
50. Ackerman A.L., Giodini A., Cresswell P. // *Immunity.* 2006. V. 25. P. 607–617.
51. Zehner M., Chasan A.I., Schuette V., Embgenbroich M., Quast T., Kolanus W., Burgdorf S. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011. V. 108. P. 9933–9938.
52. Boya P., Kroemer G. // *Oncogene.* 2008. V. 27. P. 6434–6451.
53. Chapatte L., Ayyoub M., Morel S., Peitrequin A.L., Lévy N., Servis C., van den Eynde B.J., Valmori D., Lévy F. // *Cancer Res.* 2006. V. 66. P. 5461–5468.
54. Angeles A., Fung G., Luo H. // *Front. Biosci.* 2012. V. 17. P. 1904–1916.
55. Yewdell J.W., Dolan B.P. // *Nature.* 2011. V. 471. P. 581–582.
56. Dolan B.P., Gibbs K.D.Jr., Ostrand-Rosenberg S. // *J. Immunol.* 2006. V. 177. P. 6018–6024.
57. Li L., Kim S., Herndon J.M., Goedegebuure P., Belt B.A., Satpathy A.T., Fleming T.P., Hansen T.H., Murphy K.M., Gillanders W.E. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. V. 109. P. 12716–12721.
58. Dresch C., Leverrier Y., Marvel J., Shortman K. // *Trends Immunol.* 2012. V. 33. P. 381–388.
59. Brigl M., Brenner M.B. // *Annu. Rev. Immunol.* 2004. V. 22. P. 817–890.
60. Pinzon-Charry A., Maxwell T., Lopez J.A. // *Immunol. Cell Biol.* 2005. V. 83. P. 451–461.
61. Shurin M.R., Shurin G.V., Lokshin A., Yurkovetsky Z.R., Gutkin D.W., Chatta G., Zhong H., Han B., Ferris R.L. // *Cancer Metastasis Rev.* 2006. V. 25. P. 333–356.
62. Kusmartsev S., Gabrilovich D.I. // *Cancer Metastasis Rev.* 2006. V. 25. P. 323–331.
63. Marigo I., Dolcetti L., Sefarini P., Zanovello P., Bronte V. // *Immunol. Rev.* 2008. V. 222. P. 162–179.
64. Sica A., Bronte V. // *J. Clin. Invest.* 2007. V. 117. P. 1155–1166.
65. Töpfer K., Kempe S., Müller N., Schmitz M., Bachmann M., Cartellieri M., Schackert G., Temme A. // *J. Biomed. Biotechnol.* 2011. V. 2011. P. 918471.
66. Benencia F., Sprague L., McGinty J., Pate M., Muccioli M. // *J. Biomed. Biotechnol.* 2012. V. 2012. P. 425476.
67. Nagaraj S., Gabrilovich D.I. // *Cancer Res.* 2008. V. 6. P. 82561–82563.
68. Thurnher M., Radmayr C., Ramoner R., Ebner S., Böck G., Klocker H., Romani N., Bartsch G. // *Int. J. Cancer.* 1996. V. 68. P. 1–7.
69. Bell D., Chomarat P., Broyles D., Netto G., Harb G.M., Lebecque S., Valladeau J., Davoust J., Palucka K.A., Banchereau J. // *J. Exp. Med.* 1999. V. 190. P. 1417–1426.
70. Chaux P., Moutet M., Favre J., Martin F., Martin M. // *Lab. Invest.* 1996. V. 74. P. 975–983.
71. Ishida T., Oyama T., Carbone D.P., Gabrilovich D.I. // *J. Immunol.* 1998. V. 161. P. 4842–4852.
72. Almand B., Resser J.R., Lindman B., Nadaf S., Clark J.I., Kwon E.D., Carbone D.P., Gabrilovich D.I. // *Clin. Cancer Res.* 2000. V. 6. P. 1755–1766.
73. Lissoni P., Malugani F., Bonfanti A., Bucovec R., Secondino S., Brivio F., Ferrari-Bravo A., Ferrante R., Vigoré L., Rovelli F., et al. // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2001. V. 15. P. 140–144.
74. Mantovani A., Pierotti M.A. // *Cancer Lett.* 2008. V. 267. P. 180–181.
75. Borello M.G., Degl'innocenti D., Pierotti M.A. // *Cancer Lett.* 2008. V. 267. P. 262–270.
76. Zhang H.G., Grizzle W.E. // *Am. J. Pathol.* 2014. V. 184. P. 28–41.
77. Kharaziha P., Ceder S., Li Q., Panaretakis T. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2012. V. 1826. P. 103–111.
78. Stanley E.R., Berg K.L., Einstein D.B., Lee P.S., Pixley F.J., Wang Y., Yeung Y.G. // *Mol. Reprod. Dev.* 1997. V. 46. P. 4–10.
79. Jansen J.H., Kluin-Nelemans J.C., Van Damme J., Wientjens G.J., Willemze R., Fibbe W.E. // *J. Exp. Med.* 1992. V. 175. P. 1151–1154.
80. Menetrier-Caux C., Montmain G., Dieu M.C., Bain C., Favrot M.C., Caux C., Blay J.Y. // *Blood.* 1998. V. 92. P. 4778–4791.
81. Smith D.R., Kunkel S.L., Burdick M.D., Wilke C.A., Orringer M.B., Whyte R.I., Strieter R.M. // *Am. J. Pathol.* 1994. V. 145. P. 18–25.
82. Krüger-Krasagakes S., Krasagakis K., Garbe C., Schmitt E., Huls C., Blankenstein T., Diamantstein T. // *Br. J. Cancer.* 1994. V. 70. P. 1182–1185.
83. Steinbrink K., Wöfl M., Jonuleit H., Knop J., Enk A.H. // *J. Immunol.* 1997. V. 159. P. 4772–4780.
84. Buelens C., Verhasselt V., De Groote D., Thielemans K., Goldman M., Willems F. // *Eur. J. Immunol.* 1997. V. 27. P. 756–762.
85. Enk A.H., Angeloni V.L., Udey V.C., Katz S.I. // *J. Immunol.* 1993. V. 151. P. 2390–2398.
86. Allavena P., Piemonti L., Longoni D., Bernasconi S., Stoppacciaro A., Ruco L., Mantovani A. // *Eur. J. Immunol.* 1998. V. 28. P. 359–369.
87. Yamamoto Y., Toi M., Kondo S., Matsumoto T., Suzuki H., Kitamura M., Tsuruta K., Taniguchi T., Okamoto A., Mori T., et al. // *Clin. Cancer Res.* 1996. V. 2. P. 821–826.
88. Toi M., Matsumoto T., Bando H. // *Lancet Oncol.* 2001. V. 2. P. 667–673.
89. Gabrilovich D.I., Chen H.L., Girgis K.R., Cunningham H.T., Meny G.M., Nadaf S., Kavanaugh D., Carbone D.P. // *Nat. Med.* 1996. V. 2. P. 1096–1103.
90. Takahashi A., Kono K., Ichihara F., Sugai H., Fujii H., Matsumoto Y. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2004. V. 53. P. 543–550.

91. Gabrilovich D.I., Ishida T., Oyama T., Ran S., Kravtsov V., Nadaf S., Carbone D.P. // *Blood*. 1998. V. 92. P. 4150–4166.
92. Groebe K., Vapuel P. // *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1998. V. 15. P. 691–697.
93. Teicher B.A. // *Cancer Metastasis Rev.* 1994. V. 13. P. 139–168.
94. Turner L., Scotton C., Negus R., Balkwill F. // *Eur. J. Immunol.* 1999. V. 29. P. 2280–2287.
95. Lewis J.S., Lee J.A., Underwood J.C., Harris A.L., Lewis C.E. // *J. Leukoc. Biol.* 1999. V. 66. P. 889–900.
96. Zhao W., Darmanin S., Fu Q., Chen J., Cui H., Wang J., Okada F., Hamada J., Hattori Y., Kondo T., et al. // *Eur. J. Immunol.* 2005. V. 35. P. 3468–3477.
97. Qu X., Yang M.X., Kong B.H., Qi L., Lam Q.L., Yan S., Li P., Zhang M., Lu L. // *Immunol. Cell. Biol.* 2005. V. 83. P. 668–673.
98. Semenza G.L., Wang G.L. // *Mol. Cell. Biol.* 1992. V. 12. P. 5447–5454.
99. Semenza G.L. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* 1998. V. 8. P. 588–594.
100. Wenger R.H., Stiehl D.P., Camenisch G. // *Sci. STKE*. 2005. V. 2005. P. re12.
101. Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Simopoulos C., Polychronidis A., Sivridis E. // *Clin. Exp. Metastasis*. 2005. V. 22. P. 25–30.
102. Warburg O. // *Munch. Med. Wochenschr.* 1961. V. 103. P. 2504–2506.
103. Walenta S., Schroeder T., Mueller-Klieser W. // *Cyrr. Med. Chem.* 2004. V. 11. P. 2195–2204.
104. Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Bougioukas G., Didilis V., Gatter K.C., Harris A.L., Tumour and Angiogenesis Research Group. // *Br. J. Cancer*. 2003. V. 89. P. 877–885.
105. Koukourakis M.I., Giatromanolaki A., Sivridis E., Gatter K.C., Harris A.L. // *J. Clin. Oncol.* 2006. V. 24. P. 4301–4308.
106. Droge W., Roth S., Altmann A., Mihm S. // *Cell Immunol.* 1987. V. 108. P. 405–416.
107. Roth S., Gmunder H., Droge W. // *Cell Immunol.* 1991. V. 136. P. 95–104.
108. Puig-Kroger A., Muniz-Pello O., Selgas R., Criado G., Bajo M.A., Sanchez-Tomero J.A., Alvarez V., del Peso G., Sánchez-Mateos P., Holmes C., et al. // *J. Leukoc. Biol.* 2003. V. 73. P. 482–492.
109. Gottfried E., Kunz-Schughart L.A., Ebner S., Mueller-Klieser W., Hoves S., Andreesen R., Mackensen A., Kreutz M. // *Blood*. 2006. V. 107. P. 2013–2021.
110. Fischer K., Hoffmann P., Voelkl S., Meidenbauer N., Ammer J., Edinger M., Gottfried E., Schwarz S., Rothe G., Hoves S., et al. // *Blood*. 2007. V. 109. P. 2812–2819.
111. Loeffler D.A., Juneau P.L., Heppner G.H. // *Int. J. Cancer*. 1991. V. 48. P. 895–899.
112. Fischer B., Muller B., Fischer K.G., Baur N., Kreutz W. // *Clin. Immunol.* 2000. V. 96. P. 252–263.
113. Muller B., Fischer B., Kreutz W. // *Immunology*. 2000. V. 99. P. 375–384.
114. Vermeulen M., Giordano M., Trevani A.S., Sedlik C., Gamberale R., Fernandes-Calotti P., Salamone G., Raiden S., Sanjurjo J., Geffner J.R. // *J. Immunol.* 2004. V. 172. P. 3196–3204.
115. Gately S., Li W.W. // *Semin. Oncol.* 2004. V. 31. P. 2–11.
116. Denkert C., Kobel M., Berger S., Siegert A., Leclere A., Trefzer U., Hauptmann S. // *Cancer Res.* 2001. V. 61. P. 303–308.
117. Denkert C., Kobel M., Pest S., Koch I., Berger S., Schwabe M., Siegert A., Reles A., et al. // *Am. J. Pathol.* 2002. V. 160. P. 893–903.
118. Tsuji S., Tsuji M., Kawano S., Hori M. // *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2001. V. 20. P. 117–129.
119. Sombroek C.C., Stam A.G., Masterson A.J., Lougheed S.M., Schakel M.J., Meijer C.J., Pinedo H.M., van den Eertwegh A.J., Scheper R.J., de Gruijl T.D. // *J. Immunol.* 2002. V. 168. P. 4333–4343.
120. Sietsma H., Nijhof W., Donje B., Vellenga E., Kamps W.A., Kok J.W. // *Cancer Res.* 1998. V. 58. P. 4840–4844.
121. Ladisch S., Wu Z.L., Feig S., Ulsh L., Schwartz E., Floutsis G., Wiley F., Lenarsky C., Seeger R. // *Int. J. Cancer*. 1987. V. 39. P. 73–76.
122. Biswas K., Richmond A., Rayman P., Biswas S., Thornton M., Sa G., Das T., Zhang R., Chahlavi A., Tannenbaum C.S., et al. // *Cancer Res.* 2006. V. 66. P. 6816–6825.
123. Birkle S., Zheng G., Gao L., Yu R.K., Aurby J. // *Biochimie*. 2003. V. 85. P. 455–463.
124. Tourkova I.L., Shurin G.V., Chatta G.S., Perez L., Finke J., Whiteside T.L., Ferrone S., Shurin M.R. // *J. Immunol.* 2005. V. 175. P. 3045–3052.
125. Yin J., Hashimoto A., Izawa M., Miyazaki K., Chen G.Y., Takematsu H., Kozutsumi Y., Suzuki A., Furuhashi K., Cheng F.L., et al. // *Cancer Res.* 2006. V. 66. P. 2937–2945.
126. Bennaceur K., Popa I., Portoukalian J., Berthier-Vergnes O., Peugeot-Navarro J. // *Int. Immunol.* 2006. V. 18. P. 879–886.
127. Shurin G.V., Shurin M.R., Bykovskaya S., Shogan J., Lotze M.T., Barksdale Jr., E.M. // *Cancer Res.* 2001. V. 61. P. 363–369.