

УДК 571.27

Иммуногенная гибель опухолевых клеток в терапии онкологических заболеваний

О. С. Троицкая^{1*}, Д. Д. Новак^{1,2}, В. А. Рихтер¹, О. А. Коваль^{1,2}¹Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Новосибирск, 630090 Россия²Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090 Россия

E-mail: troitskaya_olga@bk.ru

Поступила в редакцию 16.07.2021

Принята к печати 20.12.2021

DOI: 10.32607/actanaturae.11523

РЕФЕРАТ Апоптоз играет важную роль в гибели клеток, вызванной химиопрепаратами. Устоявшееся мнение о том, что апоптоз должен быть иммунологически инертен и, следовательно, может оставаться незамеченным для иммунной системы, в последнее время было пересмотрено и было введено понятие иммуногенной клеточной гибели (immunogenic cell death, или ICD). В обзоре рассмотрены основные признаки и особенности индукции иммуногенной клеточной гибели, имеющей большое значение для эффективности терапии онкологических заболеваний и фундаментального исследования регуляции процессов клеточной гибели. Подробно описан механизм «вакцинирующего эффекта» гибнущих по пути ICD опухолевых клеток, что при повторной встрече с опухолевыми клетками данного типа будет активировать специфический противоопухолевый ответ. Подробно рассмотрена роль основных молекулярных событий, позволяющих говорить об иммуногенном типе клеточной гибели, таких, как экспозиция кальретикулина и белка теплового шока HSP70 на внешнюю поверхность цитоплазматической мембраны клетки, а также выход ядерного белка HMGB1 и ATP в межклеточное пространство. Систематизированы данные об индукторах иммуногенной клеточной гибели: химиопрепаратах, цитотоксических белках, онколитических вирусах, а также о физических методах индукции ICD.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА иммуногенная клеточная гибель (ICD), HMGB1, кальретикулин, противоопухолевая вакцинация, химиопрепараты, апоптоз-индуцирующие белки, онколитические вирусы, холодная плазма. **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** АПК – антигенпрезентирующие клетки; АФК – активные формы кислорода; ВОВ – вирус осповакцины; ХПС – холодная плазменная струя; ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты; ЭПР – эндоплазматический ретикулум; CRT – кальретикулин; DAMP – молекулярные сигналы опасности; HMG – белки группы высокой подвижности; HSP – белок теплового шока; ICD – иммуногенная клеточная гибель; IL – интерлейкин; LPC – лизофосфатидилхолин; MHC – главный комплекс гистосовместимости; PS – фосфатидилсерин; TLR – Toll-подобные рецепторы; TNF – фактор некроза опухоли.

ВВЕДЕНИЕ

Устоявшееся мнение о том, что для успешного уничтожения опухолевых клеток предпочтительна гибель по пути апоптоза без активации иммунной системы, в последнее время было пересмотрено. Одной из успешных противоопухолевых стратегий, отличных от хирургического вмешательства, является стратегия «двойного действия», когда, с одной стороны, противоопухолевый препарат напрямую индуцирует гибель большинства раковых клеток, а с другой стороны, погибающие клетки активируют иммунную систему, формируя специфический иммунный ответ на опухолевые антигены, что ведет к уничтожению оставшихся опухолевых кле-

ток. Таким требованиям удовлетворяют индукторы иммуногенной клеточной гибели (immunogenic cell death, ICD), к которым относятся противоопухолевые препараты и подходы с различными механизмами действия: традиционные химиопрепараты, белковые агенты, онколитические вирусы, методы фотодинамической и радиотерапии, а также холодная плазма. Иммуногенную клеточную гибель можно определить по активации определенной комбинации молекулярных сигналов опасности (DAMPs) от погибающих опухолевых клеток, что способствует их узнаванию и поглощению антигенпрезентирующими клетками. Основными молекулярными событиями, позволяющими говорить об индукции

ICD, считаются экспозиция кальретикулина и белка теплового шока HSP70 на внешнюю поверхность цитоплазматической мембраны клетки, а также выход ядерного белка HMGB1 и АТФ в межклеточное пространство [1, 2]. Процессинг и презентация опухолевых антигенов дендритными клетками запускают активацию антиген-специфических Т-лимфоцитов, что ведет к появлению адаптивного иммунного ответа против таких антигенов [3]. Активация иммуногенной клеточной гибели опухолевых клеток способствует формированию адаптивного иммунного ответа. Клетки, погибающие по пути ICD, при трансплантации сингенным иммунокомпетентным животным оказывают противоопухолевый вакцинирующий эффект [4]. Развитие специфического иммунного ответа в отношении антигенов погибающих опухолевых клеток позволяет использовать терапевтические индукторы ICD как для борьбы с метастазирующими опухолями, так и для разработки подходов к противоопухолевой иммунизации [5].

ИММУНОГЕННАЯ КЛЕТочНАЯ ГИБЕЛЬ. ОБЩИЕ ПОНЯТИЯ

Концепция иммунотерапии опухолей базируется на способности иммунной системы распознавать трансформированные клетки и воздействовать на их рост и распространение. Физиологическая гибель клеток происходит по пути апоптоза, который может быть активирован в результате реализации внутренних программ роста и жизнедеятельности организма или при внешнем воздействии [6]. Морфологическими признаками, позволяющими говорить о гибели клетки по типу апоптоза, являются конденсация хроматина, фрагментация ядра при интактной плазматической мембране и появление апоптотических телец, в то время как при некрозе наблюдается нарушение целостности плазматической мембраны, в результате чего происходит выход DAMPs, активирующих иммунную систему и запускающих реакцию воспаления [7]. К наиболее изученным DAMPs относятся белки HMGB1, MRP8, кальгранулин А, кальгранулин В и MRP14.

Различия в эффективности противоопухолевого действия оксалиплатина и доксорубицина, наблюдаемые в экспериментах на иммунодефицитных и обычных мышах-опухоленосителях, стали стимулом к поиску объяснения этого феномена. Шеффер и соавт. предположили, что при противоопухолевой вакцинации животных погибающими опухолевыми клетками репертуар антигенов погибающих и интактных клеток может отличаться [8]. Иммунокомпетентным мышам были трансплантированы опухолевые клетки, в одних

из которых γ -облучением был индуцирован апоптоз, а в других – последовательными процедурами замораживания/оттаивания индуцирован некроз. Показано, что при последующей трансплантации живых клеток опухоли этим же мышам только у животных, вакцинированных апоптотическими клетками, не происходило развития опухоли в 75–100% случаев. Тогда как лишь у 0–30% животных, вакцинированных некротическими клетками по той же схеме, трансплантация живых опухолевых клеток не приводила к развитию опухоли. Иммуногистохимический анализ места вакцинации апоптотическими клетками показал инфильтрацию этой области CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами и дендритными клетками, что указывает на сильный Т-клеточный ответ, в то время как сайт вакцинации некротическими клетками был преимущественно инфильтрирован лишь макрофагами [8]. Таким образом, выявлен иммуногенный потенциал клеток, в которых γ -облучением был индуцирован апоптоз. Показано, что трансплантированные мышам опухолевые клетки, в которых апоптоз индуцирован производными антрациклинов, например доксорубицином, стимулируют созревание дендритных клеток с последующим формированием иммунного ответа против опухолевых клеток *in vivo* [4]. Сравнение противоопухолевого эффекта лечения оксалиплатином или сердечными гликозидами иммунокомпетентных и иммунодефицитных мышей-опухоленосителей выявило элиминацию опухолевых клеток у иммунокомпетентных мышей, что доказывало роль иммунной системы в противоопухолевом действии этих препаратов [9, 10]. Апоптоз, вызывающий описанные эффекты, назван иммуногенным апоптозом. Поиск молекулярных маркеров иммуногенного апоптоза показал, что для него характерна секреция DAMPs, узнаваемых дендритными клетками, с дальнейшим процессингом и презентацией антигенов от погибающих клеток. Это приводит к активации специфических Т-лимфоцитов и формированию долгосрочного противоопухолевого иммунитета [5].

МЕХАНИЗМ ИНДУКЦИИ ИММУНОГЕННОЙ КЛЕТочНОЙ ГИБЕЛИ

Роль эндоплазматического ретикулума в индукции ICD

Доксорубицин, митоксантрон и γ -облучение стали первыми известными эффективными индукторами иммуногенной клеточной гибели. Оказалось, что способность этих противоопухолевых препаратов вызывать ICD зависит от их способности индуцировать стресс эндоплазматического ретикулума (ЭПР) [11]. Основопологающим этапом в индукции

иммуногенной клеточной гибели является экспозиция шаперонов ЭПР, прежде всего кальретикулина (CRT), на внешнюю плазматическую мембрану. При воздействии определенных стимулов клетка может запускать интегрированный стрессовый ответ – комплексный молекулярный механизм, направленный на сохранение клеточного гомеостаза [12]. В частности, стресс ЭПР, вызванный антрациклинами, стимулирует киназу PERK, которая фосфорилирует фактор инициации трансляции eIF2 α [13]. Инактивация eIF2 α сопровождается частичной активацией каспазы 8 и расщеплением белка, ассоциированного с В-клеточными рецепторами 31 (BAP31), и конформационной активацией белков Вах и Вак, что в свою очередь запускает транслокацию шаперонов ЭПР на внешнюю мембрану клетки [11]. Для большинства индукторов ICD процесс транслокации шаперонов на внешнюю мембрану происходит не напрямую, а в результате транспорта из ЭПР в аппарат Гольджи, опосредованного везикуло-ассоциированным мембранным белком 1 (VAMP1) и белком, ассоциированным с синапсоматомы 25 (SNAP25), а также требует сопутствующей продукции активных форм кислорода (АФК) [11, 14, 15]. Согласно [16], если заблокировать транспорт из ЭПР в аппарат Гольджи, то при воздействии индукторов ICD происходит снижение секреции АТР во внеклеточное пространство, но не приводит к экспозиции CRT, что говорит в пользу того, что, прежде чем достичь плазматической мембраны, кальретикулин и АТР используют путь транспорта из ЭПР в аппарат Гольджи. Следует отметить, что вызванная ICD транслокация CRT на внешнюю клеточную мембрану, по-видимому, регулируется множеством факторов: хемокиновым лигандом CXCL8 [17], изменением уровня ионов Ca²⁺ в ЭПР [18], а также каспазой 2 [19], длинными некодирующими РНК (например, ncRNA-RB1 и miR-27a) [20] и интегринными плазматической мембраны, по крайней мере, в некоторых условиях [21]. CRT и другие шапероны ЭПР на поверхности клетки способствуют поглощению таких погибающих клеток или их частей, и их относят к сигналам «съешь меня» для антигенпрезентирующих клеток (АПК) [16]. Более того, экспозиция CRT, по-видимому, стимулирует секрецию IFN 1 антигенпрезентирующими клетками [22], что также может способствовать иммуногенности регулируемой клеточной гибели.

Показано, что одновременное увеличение уровня АФК в клетке и индукция стресса ЭПР активируют сигнальные пути, которые помогают транспортировать DAMPs во внеклеточное пространство [11, 23]. Интересно, что иммуногенность снижалась в присутствии антиоксидантов, что говорит в пользу

решающего значения АФК для индукции ICD [11, 24]. Позже установили, что цисплатин, который вызывает изменения в окислительно-восстановительном метаболизме клетки, не может запускать ICD из-за своей неспособности вызывать стресс ЭПР [25]. Более того, одновременный стресс ЭПР и продукция АФК увеличивали количество различных выпускаемых DAMPs, что в конечном итоге становится решающим для иммуногенности погибающих опухолевых клеток [16, 26]. Например, этопозид вызывает только экспозицию HSP70 и секрецию АТР, но не индуцирует стресс ЭПР и не способен вызывать ICD [23, 27, 28].

Классификация ICD

Выделяют два типа индукторов ICD в зависимости от того, вызывают они апоптоз в результате воздействия на ЭПР или апоптотическая гибель клеток и стресс ЭПР происходят независимо друг от друга [29]. Такие агенты, как доксорубин или митоксантрон, могут быть классифицированы как индукторы ICD типа I, т.е. агенты, которые вызывают апоптотическую гибель клеток, действуя через мишени, не связанные с ЭПР, и которые стимулируют ассоциированную с ICD иммуногенность посредством вторичных или «побочных» стрессовых эффектов ЭПР. Напротив, индукторы ICD типа II избирательно нацелены на мишени в ЭПР и могут индуцировать иммуногенный апоптоз, напрямую изменяя гомеостаз ЭПР и вызывая его стресс, как, например, фотодинамическая терапия. Таким образом, стресс ЭПР, индуцированный индукторами ICD типа I, может качественно отличаться от стресса, вызванного индукторами типа II, поскольку он может быть более мягким и способен инициировать передачу сигналов, способствующих выживанию [29].

Помимо иммуногенного апоптоза, среди видов программируемой клеточной гибели выделяют аутофагию, некроптоз и пироптоз с активацией некоторых маркеров ICD. В *табл. 1* представлены варианты иммуногенной гибели клеток и их специфические особенности.

Каскад иммуногенной гибели клеток

На сегодняшний день определены основные молекулярные события, необходимые для реализации иммуногенной клеточной гибели (*рис. 1*). Первым этапом каскада ICD является экспозиция на поверхности погибающих опухолевых клеток комплекса из двух белков – кальретикулина и дисульфид-изомеразы ERp57 [11]. Оба белка в норме локализованы в полости ЭПР и транслоцируются на поверхность клетки в течение нескольких часов после стимуляции индукторами ICD. Экспозиция

Таблица 1. Сравнение различных типов программируемой клеточной гибели при проявлении иммуногенности

Тип клеточной гибели	DAMPs, характерные для ICD	Сигналы «съешь меня»	Воспаление	Иммуногенность	Терминальные клеточные события
Апоптоз	Экто-CRT, секреция HMGB1 и ATP	Экто-CRT, HSP70, HSP90, экспозиция PS	-	+	Нелитический путь, фрагментация ДНК и апоптотические тельца
Аутофагия	Выход HMGB1 и ATP	Секреция LPC, экспозиция PS	-	+	Нелитический путь, аутофагальные тельца
Некроптоз	Длинные геномные ДНК, IL-6 [30], ATP, HMGB1 [31]	Секреция LPC, экспозиция PS, низкий уровень экто-CRT [31]	+	++	Нелитический путь, потеря целостности плазматической мембраны, набухшие клеточные органеллы
Пироптоз	Выход HMGB1, ATP, IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-18, TNF- α	Экспозиция PS	+	++	Литический путь, разрыв клеточной мембраны, выход содержимого из клетки

Примечание. Степень иммуногенности для каждого типа гибели клеток оценивали как + и ++ в соответствии с уровнями выраженности сигналов «съешь меня» и эмиссией DAMPs [30].

CRT детектируется до транслокации фосфатидилсерина (PS) на внешней мембране гибнущей клетки. Транслокация CRT из ЭПР является иницирующим сигналом «съешь меня» для фагоцитирующих клеток. Экспонированный на мембране клетки кальретикулин взаимодействует с рецепторами CD91 на поверхности дендритных клеток, что стимулирует поглощение погибающих клеток [29, 32].

Следующий молекулярный признак ICD, который можно наблюдать после экспозиции CRT – транслокация из ядра на клеточную поверхность белков теплового шока, таких, как HSP70 или HSP90, которые подобно кальретикулину могут связываться с рецептором CD91 на поверхности дендритных клеток, что стимулирует их активацию и созревание [33].

Спустя 12–18 ч после начала экспозиции CRT в межклеточное пространство выходит негистоновый хроматинсвязывающий ядерный белок HMGB1. Этот белок связывается с рецепторами TLR4 дендритных клеток, что необходимо для оптимального TLR4-зависимого процессинга и презентации Т-клеткам опухолевых антигенов дендритными клетками [34]. Во время химиотерапии или лучевой терапии дендритные клетки получают сигнал через TLR4 и его адаптор MyD88 для эффективной обработки и перекрестной презентации антигена от гибнущих опухолевых клеток [35]. Заключительное молекулярное событие в каскаде ICD – выход ATP во внеклеточное пространство – сигнала «найди меня» и необходимого для продуктивного созревания дендритных клеток. Погибающие клетки обозначают свое присутствие с помощью хемотаксических факторов, известных как сигналы «найди меня», необходимых для того, чтобы фагоцитирующие клетки (нейтрофилы, моноциты, тканевые ма-

крофаги) быстро находили их и эффективно уничтожали [36]. Выход ATP из гибнущих клеток в межклеточное пространство активирует пуриnergические рецепторы P2X7 на дендритных клетках и вызывает P2X7/NLRP3 рецепторзависимую активацию инфламмосомы в дендритных клетках, тем самым содействуя протеолитическому созреванию и высвобождению провоспалительных цитокинов, таких, как интерлейкин IL-1 β . IL-1 β необходим для активации антиген-специфических CD8⁺ Т-лимфоцитов, продуцирующих IFN γ [3]. Именно IL-1 β участвует в активации факторов врожденного иммунитета, развитии воспаления и первых этапах иммунного ответа [34, 37].

При успешной реализации каскада иммуногенного апоптоза должна появиться популяция антиген-специфических Т-клеток, которые при повторной встрече с опухолевыми клетками данного типа будут узнавать соответствующие антигены и уничтожать раковые клетки (рис. 2). Возможность индукции каскада иммуногенного апоптоза в опухолевых клетках противоопухолевыми препаратами позволила разработать стратегию противоопухолевой вакцинации, при которой «вакциной» являются клетки, в которых индуцирована иммуногенная клеточная гибель.

ЭНДОГЕННЫЕ ФАКТОРЫ, ЗАДЕЙСТВОВАННЫЕ В РЕАЛИЗАЦИИ ИММУНОГЕННОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ

Кальретикулин (CRT)

Приблизительно 30% всех клеточных белков и пептидов синтезируются в ЭПР, где они взаимодействуют с ферментами и шаперонами, включая кальре-

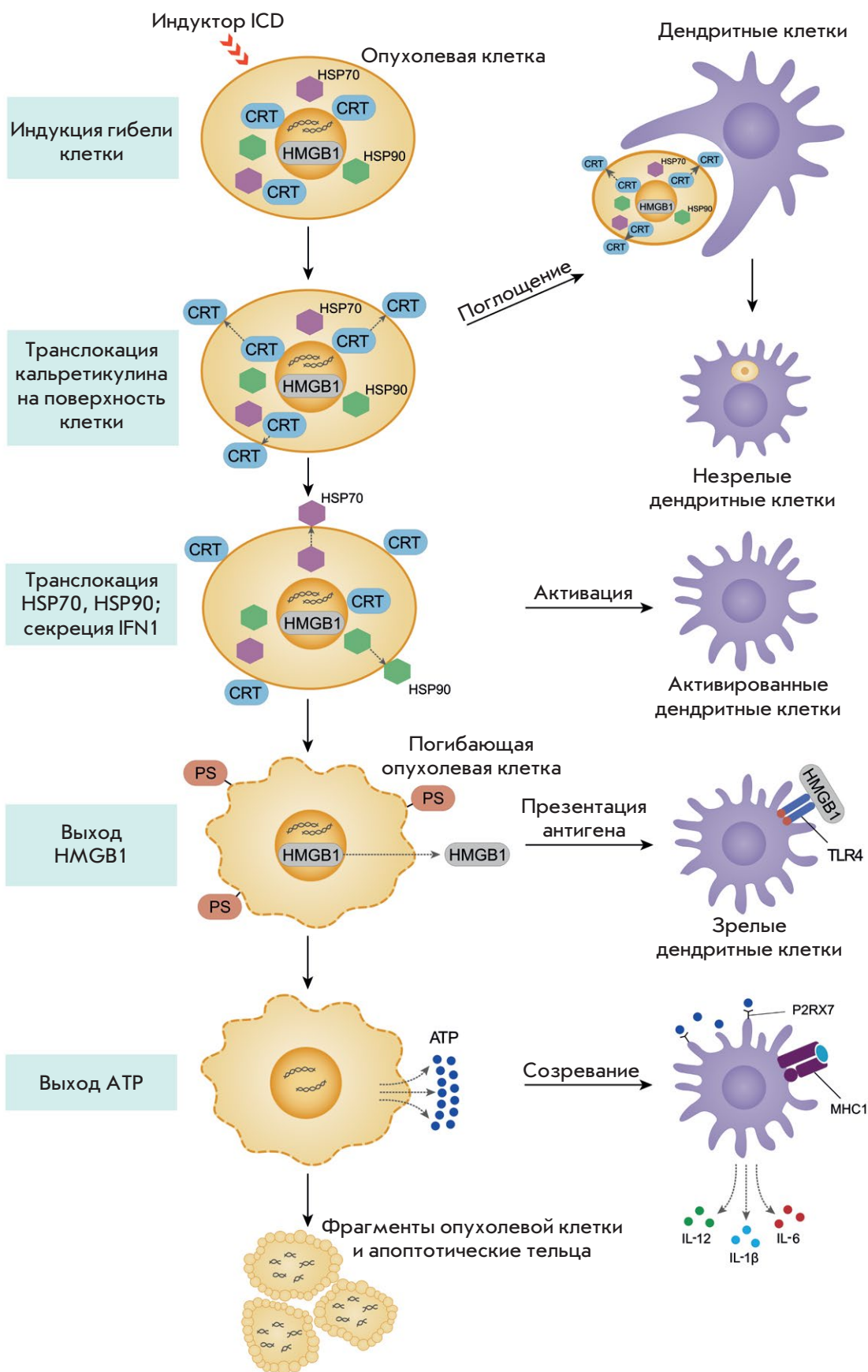


Рис. 1. Последовательные стадии иммуногенного апоптоза с активацией антигенпредставляющих дендритных клеток

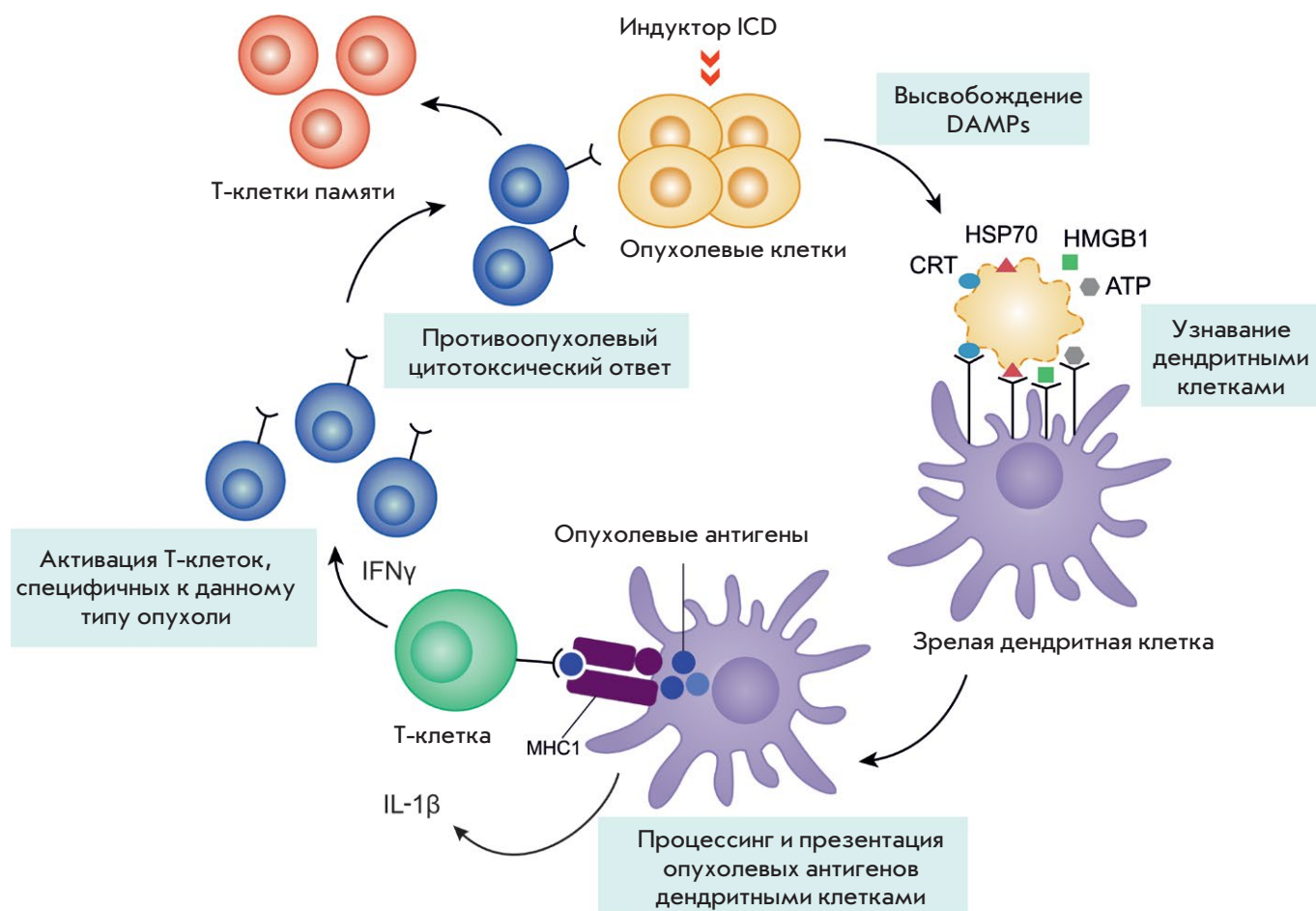


Рис. 2. Упрощенная схема индукции иммуногенной клеточной гибели

тикулин, кальнексин, глюкозо-регулируемый белок Grp94, тиоловые оксидоредуктазы PDI и дисульфид-изомеразу ERp57. Все эти молекулы участвуют в формировании функциональной конформации белковых молекул [38]. CRT, кальнексин и ERp57 составляют шаперонный комплекс, осуществляющий фолдинг и контроль качества синтезированных белков, которые транспортируются через ЭПР.

Другая важная функция ЭПР – хранение и высвобождение ионов Ca^{2+} [39]. Одним из таких белков является кальретикулин – уникальный Ca^{2+} -связывающий шаперон [40]. В клетках с пониженной экспрессией CRT наблюдается неправильный фолдинг белков и накопление неправильно свернутых белков [40]. Избыточная экспрессия CRT приводит к увеличению количества Ca^{2+} во внутриклеточных депо [41].

Предполагается, что поверхностный CRT играет роль в презентации антигенов, активации компонента [42], удалении апоптотических клеток [43], иммуногенности гибнущих раковых клеток [23], заживлении ран [44] и тромбоспондиновом сигналин-

ге [45]. CRT действует как второстепенный лиганд на поверхности клеток, необходимый для узнавания при фагоцитозе, стимулирующий LRP (белки, связанные с рецептором липопротеинов низкой плотности) на поверхности поглощающих клеток. Белок локализуется на внешней поверхности плазматической мембраны многих типов клеток, где он может играть определенную роль в обработке антигенов и служить посредником клеточной адгезии [40]. CRT, в норме расположенный в просвете эндоплазматического ретикулума, транслоцируется на внешнюю клеточную мембрану в комплексе с ERp57 в результате стресса ЭПР путем экзоцитоза (рис. 3). Транспорт CRT от ЭПР к мембране зависит от взаимодействия связанных с везикулами белков SNARE (рецепторов растворимого N-этилмалеимид-чувствительного белка прикрепления) с белками SNARE на мембране клетки [11, 21]. Кальретикулин на внешней плазматической мембране способен связываться с рецепторами CD91 дендритных клеток, что приводит к фагоцитозу погибающих клеток [46].

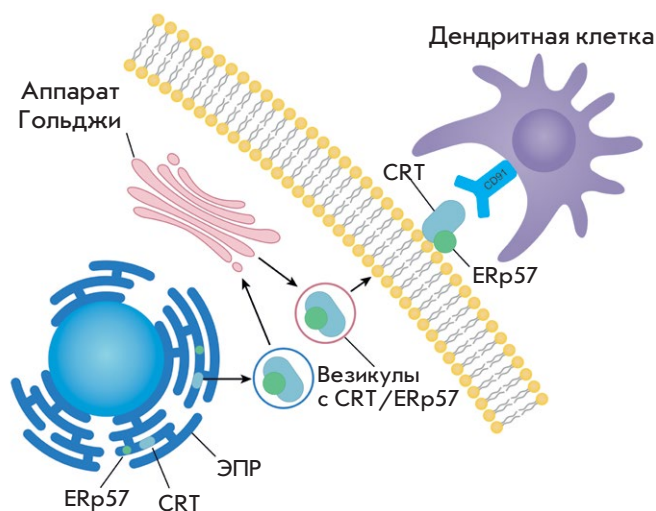


Рис. 3. Экспозиция кальретикулина (CRT) на внешнюю плазматическую мембрану и узнавание дендритными клетками

Сигнальная функция АТФ в активации иммунной системы

Погибающие клетки обозначают свое присутствие, выделяя хемотаксические факторы, известные как сигналы «найди меня», и через сигналы «съешь меня», служащие лигандами для поглощения. В настоящее время предложено несколько факторов, которые могут выступать в качестве сигналов «найди меня», в том числе: АТФ, УТФ, хемокин фракталкин (CX3CL1), лизофосфатидилхолин (LPC) и S1P [47]. При нарушении утилизации апоптотических клеток происходит их конверсия во вторично-некротические, что вызывает хроническое воспаление и ведет к развитию аутоиммунных заболеваний [35].

Выход АТФ во внеклеточное пространство характерен как для иммуногенного апоптоза, так и для некроза, сопровождающегося лизисом клетки. Однако между этими процессами существует несколько различий. В первую очередь, речь идет о количестве высвобождаемого АТФ. При апоптозе во внеклеточное пространство попадает менее 2% клеточного АТФ [48]. Характеризация АТФ как медиатора воспаления основана в значительной степени на способности активировать ионотропный нуклеотидный рецептор P2X7, который, в свою очередь, приводит к активации инфламмосомы и высвобождению провоспалительных цитокинов [49]. Во время некроза именно огромный выброс АТФ активирует инфламмосому и процесс воспаления. Тем не менее, концентрация АТФ, необходимая для активации пуриnergических рецепторов P2X7, составляет не менее 100 мкМ, что значительно выше

концентрации, необходимой для активации хемотаксических рецепторов, таких, как P2Y2, и составляет менее 1 мкМ [50]. Интересно, что более низкие концентрации АТФ могут на самом деле оказывать противовоспалительное действие, подавляя секрецию воспалительных цитокинов, а также содействовать высвобождению цитокинов противовоспалительного характера [35]. Таким образом, АТФ нельзя рассматривать как универсальный сигнал развития воспаления.

Негистоновый хроматинсвязывающий ядерный белок HMGB1 и его функции в клетке

Белок HMGB1 принадлежит к семейству HMG (High mobility group) – ядерных негистоновых белков, необходимых для поддержания архитектуры хроматина. Внутри клетки HMGB1 взаимодействует с p53, TBR, Oct14, Нох, стероидными рецепторами и многими вирусными белками, эффективно регулируя экспрессию генов [51]. Показано, что HMGB1 может мигрировать между цитоплазмой и ядром клетки в зависимости от фазы клеточного цикла. Лимфоидные клетки содержат HMGB1 как в цитоплазме, так и в ядре [52].

Появление HMGB1 в межклеточном пространстве рассматривается как признак внезапного повреждения или некроза, потому что в этом случае хроматин повреждается необратимо. В очагах механического повреждения HMGB1 взаимодействует с рецептором конечных продуктов гликирования (RAGE), что усиливает продукцию TNF, IL-1, IL-8, MCP1, CDF1α и других факторов, привлекающих здоровые стволовые клетки в очаг повреждения [53]. HMGB1 может выделяться из клеток как активным, так и пассивным способом. Активная секреция HMGB1 связана с диссоциацией из комплекса с поврежденными хромосомами в результате ацетилирования гистонов, гиперацилирования HMGB1 и монометиличивания HMGB1. При некрозе наблюдается пассивная диффузия HMGB1. Однако при обычном, неиммуногенном, апоптозе HMGB1 не выделяется из плотно упакованных ядер апоптотических клеток [54]. Согласно [54], высвобождение HMGB1 из некротических опухолевых клеток, обработанных доксорубицином, в высоких концентрациях вызывающим некроз [55], способствует возобновлению роста опухоли и метастазированию по пути активации системы RAGE.

Белки теплового шока HSP70 и HSP90

Общим ответом на клеточный стресс, в том числе вызванный химиопрепаратами, является активация транскрипции ряда шаперонов, которые принадлежат к классу индуцибельных HSP-белков



Рис. 4. Классическая схема противоопухолевой вакцинации опухолевыми клетками, обработанными потенциальным индуктором ICD, с последующей ревакцинацией живыми опухолевыми клетками того же типа

или белков теплового шока. Белки теплового шока защищают клетку от гибели, проводя рефолдинг поврежденных белков или направляя испорченные белки в протеасомы для деградации [34].

У млекопитающих HSP70 участвует в процессах формирования, стабилизации и транспорта белков через мембраны митохондрий и ядра [56]. Шаперон HSP90 выполняет в клетке ряд функций, включая фолдинг, стабилизацию белков при тепловом шоке, способствует деградации белков [57]. Шаперон HSP90 стабилизирует многие белки, ответственные за рост опухоли, участвует в регуляции адгезии, инвазии, метастазирования, ангиогенеза и апоптоза, поэтому ингибиторы HSP90 рассматривают в качестве противоопухолевых агентов [58].

Кроме того, белки теплового шока HSP70 и HSP90 могут образовывать комплексы с пептидными антигенами, включая опухоль-специфические пептиды, что является необходимым и достаточным источником антигенов для презентации Т-клеткам. Свободные пептидные антигены не способны вызывать Т-клеточный ответ CD8⁺ лимфоцитов в отличие от антигенов, сопровождаемых белками теплового шока. В экспериментах на мышах *in vivo* показано, что комплексы антигенов с HSP70 и HSP90 могут служить источниками антигенов для эффективной кросс-презентации дендритными клетками [59].

ИНДУКЦИЯ ИММУНОГЕННОЙ КЛЕТочНОЙ ГИБЕЛИ *in vivo* ПРИ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ВАКЦИНАЦИИ

В настоящее время существует несколько моделей для исследования ICD *in vivo*. «Золотой стандарт» для оценки способности гибнущих клеток инициировать адаптивный иммунитет включает профилактическую вакцинацию иммунокомпетентных синген-

ных животных [5]. При таком подходе опухолевые клетки *in vitro* подвергают воздействию потенциального индуктора ICD, а затем трансплантируют подкожно в качестве вакцины без каких-либо иммунологических адъювантов. Через одну-две недели животным повторно трансплантируют живые опухолевые клетки того же типа в минимальной дозе, необходимой для образования опухолевых узлов, и наблюдают за ростом опухоли в течение 40–60 дней (рис. 4) [4, 35, 60]. Для оценки эффективности вакцинации учитывают не только долю мышей без опухоли, но обычно и скорость роста опухолей, если опухоли развиваются, несмотря на индуцированный вакциной адаптивный иммунный ответ. Специфичность развития противоопухолевого ответа подтверждается повторным заражением вакцинированных мышей без опухолей в конце эксперимента сингенными раковыми клетками другой линии, которые, как ожидается, вызовут прогрессирующие неопластические поражения у 100% мышей. Усиление эффективности терапии любым индуктором регулируемой гибели опухолей, растущих в иммунокомпетентных мышцах по сравнению с иммунодефицитными, указывает на потенциальную способность такого индуктора запускать ICD. Однако такая схема эксперимента не позволяет различить индукцию ICD и иммуностимуляцию, не связанную с ICD. Некоторые противоопухолевые препараты – доцетаксел, цисплатин, 5-фторурацил, гемцитабин и др. – не вызывают ICD, однако опосредуют иммуномодулирующие эффекты в микроокружении опухоли, напрямую воздействуя на популяции иммунных клеток. Хотя такие иммуномодулирующие эффекты важны для максимальной эффективности терапии в клинике, они не связаны с индукцией ICD [12, 61].

Таблица 2. Химиотерапевтические препараты, вызывающие иммуногенный апоптоз

Химиопрепараты	Типы опухолевых клеток	Признаки индукции ICD, DAMPs	Эффективность вакцинации, %
Антрациклины (доксорубин, даунорубин, идарубин), липосомы с доксорубином [4, 68]	Карцинома кишечника мышы СТ26	Экспозиция CRT, стресс ЭПР, фосфорилирование eIF2 α , высвобождение HMGB1, секреция ATP	Доксорубин, 80 Даунорубин, 35 Идарубин, 45
Оксалиплатин [9, 69–71]	Карцинома кишечника мышы СТ26, рак толстой кишки человека RKO и HCT116	Экспозиция CRT, высвобождение HMGB1	Оксалиплатин, 80
Ингибиторы микротрубочек (колхицин, СМQ, FMQ, нокодазол, эпотилон В, таксотер) [67, 72]	Карцинома кишечника мышы СТ26	Стресс ЭПР, экспозиция CRT, PERK-зависимое фосфорилирование eIF2 α	Нокодазол, 80
Сердечные гликозиды (дигоксин DIG, дигитоксин DIGT) [65, 73]	Фибросаркома мышы MCA205, меланома мышы B16	Экспозиция CRT, высвобождение HMGB1, секреция ATP	DIG/DIGT + цисплатин – 70–90 DIG/DIGT + митомидин – 60–90

Равноценным подходом к оценке ICD *in vivo* в иммунокомпетентных сингенных системах может быть измерение роста опухоли, локализованной дистантно от обрабатываемого опухолевого образования при использовании локально направленного ионизирующего излучения или внутриопухолевой доставки терапевтических агентов [62]. Такой подход также эффективен, если опухоль доступна только для цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), например при метастазах в головном мозге у пациента, получающего химиопрепараты, которые не пересекают гематоэнцефалический барьер [63]. Модели так называемой «скрытой реакции», т.е. регрессии опухолевых поражений, находящихся далеко от места обработки ионизирующим излучением первичного опухолевого очага у пациентов, оказались очень полезными в этой ситуации [64]. Такое моделирование индукции ICD *ex vivo* позволяет характеризовать DAMPs, высвобождаемые опухолевыми клетками, реагирующими на стресс *in situ*; осуществлять иммунологическое профилирование АПК и ЦТЛ, лежащих в основе иницирования и реализации противоопухолевого иммунитета *in vivo*, а также идентифицировать последовательности запускаемых механизмов ICD и их соответствие с наблюдаемыми реакциями *in vitro*.

ПРЕПАРАТЫ, ВЫЗЫВАЮЩИЕ ИММУНОГЕННУЮ КЛЕТЧНУЮ ГИБЕЛЬ

Химиотерапевтические препараты

Впервые индукция иммуногенной клеточной гибели была показана для препарата антрациклинового ряда – доксорубин [4]. Некоторые химиотерапевтические препараты, часть из которых представле-

на в табл. 2, также обладают способностью индуцировать ICD [9, 65–67].

Пептиды с противоопухолевой активностью

Пептид LTX-315. Некоторые пептиды, обладающие противоопухолевой активностью, также способны индуцировать ICD. Например, такой катионный амфифильный синтетический пептид LTX-315 пермеабиллизует внутреннюю митохондриальную мембрану, вызывая некротическую гибель клеток [74]. Внутриопухолевые инъекции LTX-315 приводят к полному исчезновению меланомы мышы B16, причем такие мышы устойчивы к последующим инъекциям живых опухолевых клеток B16. Пептид LTX-315 вызывает активацию всех основных молекулярных маркеров ICD: экспозицию CRT, высвобождение HMGB1 и ATP, интерфероновый ответ без активации клеточных каспаз, что говорит о пути клеточной гибели, отличной от апоптоза [74, 75].

Противоопухолевый пептид RT53 класса CPP. Синтетический противоопухолевый пептид RT53, относящийся к классу CPP (белки с высокой проникающей способностью), вызывает гибель опухолевых клеток по пути нерегулируемого некроза с признаками ICD [76]. Показано, что после вакцинации RT53-обработанными клетками меланомы B16F10 только 25% мышы не имели опухолей в месте повторной трансплантации [77]. Формирование противоопухолевого иммунитета при действии пептида RT53 подтверждено также на мышах C57BL/6, которым провели профилактическую вакцинацию RT53-обработанными клетками фибросаркомы MCA205, что выражалось только в снижении темпа роста

опухолей, но не приводило к полному отсутствию опухоли в месте повторной трансплантации [76].

RIG-1-подобные геликазы. Среди пептидных индукторов ICD также можно отметить RIG-1-подобные геликазы. В отличие от LTX-315 и RT53, RIG-1-подобная геликаза RIG-1 вызывала гибель опухолевых клеток поджелудочной железы мыши Panc02 по пути апоптоза с признаками ICD. Помимо стандартного набора маркеров ICD было отмечено увеличение продукции интерферонов и некоторых провоспалительных цитокинов. Важно отметить, что дендритные клетки селезенки эффективно поглощают опухолевые клетки, обработанные RIG-1, и презентуют опухоль-ассоциированные антигены наивным CD8⁺ Т-клеткам [78].

Рекомбинантный аналог лактапина RL2. В недавних исследованиях было показано, что рекомбинантный аналог проапоптотического белка лактапина из молока человека (RL2) [79, 80] способен к индукции ICD *in vitro*, путем активации полного каскада маркеров иммуногенной клеточной гибели, а также к индукции противоопухолевой иммунной реакции в модели профилактической вакцинации [81]. Так, в экспериментах на иммунокомпетентных мышцах C3H/He показано, что вакцинация мышей RL2-обработанными клетками рабдомиосаркомы мыши MX-7 приводит к тому, что после повторной трансплантации опухолевый узел не развивался у 43% мышей. Также стоит отметить, что скорость роста опухолей, которые все же развились, была существенно ниже, чем в контрольной группе животных. Использование этилпирувата, ингибитора индоламин-2,3-диоксигеназы, в комбинации с клетками, инкубированными с RL2, усилило вакцинирующий эффект RL2-обработанных клеток до 60% [81].

Онколитические вирусы в индукции ICD

Показано, что гибель клеток, зараженных некоторыми немодифицированными онколитическими вирусами, такими, например, как вирусы болезни Ньюкасла, кори, осповакцины (ВОВ) и вирус коксаки В3, происходит с активацией типичных маркеров ICD [82–84]. Сравнение способности аденовируса человека, вируса леса Семлики и ВОВ дикого типа вызывать ICD показало, что все три вируса стимулируют высвобождение маркеров ICD, активацию и созревание дендритных клеток, однако только опухолевые клетки, инфицированные вирусом леса Семлики, стимулировали созревание Т-хелперов типа 1 (Th1) и индуцировали антиген-специфическую активацию Т-клеток [85].

Установлено, что дендритные клетки, фагоцитирующие опухолевые клетки, которые инфицированы ВОВ, не могут индуцировать Т-клеточные ответы. С другой стороны, аттенуированные ВОВ активировали пути STING и Batf3 в дендритных клетках и индуцировали мощный противоопухолевый иммунитет [86]. Таким образом, модификацию генома ВОВ можно, по-видимому, рассматривать в качестве стратегии преодоления иммуносупрессии, характерной для ВОВ дикого типа. Показано [84], что при инкубации с клетками меланомы человека вирус JX-594 (Pexa-Vec) вызывает экспозицию CRT, высвобождение HMGB1 и активацию/созревание дендритных клеток. Рекомбинантный вирус VV-GMCSF-Lact приводит к гибели опухолевых клеток различного гистологического происхождения с признаками ICD [87, 88]. Недавно обнаружили, что терапия глиомы вирусами болезни Ньюкасла индуцирует адаптивный иммунный ответ в отношении клеток глиомы, что является частью противоопухолевого ответа [89]. Рекомбинантный аденовирус, несущий трансген CD40, индуцирует Т-хелперный ответ типа 1, который ведет к активации цитотоксических Т-клеток и снижению иммуносупрессии [90].

Физико-химические подходы к противоопухолевой терапии с потенциалом индукторов ICD

В настоящее время показано, что вызывать гибель опухолевых клеток с признаками ICD способны различные подходы, в которых используются физические воздействия, такие, как ионизирующее излучение, фотохимиотерапия, фотодинамическая терапия, фотоиммунотерапия в ближнем инфракрасном диапазоне, высокое гидростатическое давление, тепловой шок, наноимпульсная стимуляция, гипертермия и облучение холодной плазмой [12].

Радиотерапия. Радиотерапия является одним из направлений местного лечения опухолей, однако известно, что ионизирующее излучение также приводит к элиминации опухолевых клеток в отдаленных метастазах, что говорит об активации иммунной системы при применении радиации [91]. В экспериментах *in vitro* показано, что радиотерапия вызывает дозозависимую гибель клеток трижды негативной опухоли молочной железы с экспозицией CRT и высвобождением АТР и HMGB1 [92]. Для усиления иммуногенной составляющей радиотерапии используют также комбинации с клинически эффективными химиопрепаратами, вызывающими иммуногенную клеточную гибель, например оксалиплатином или паклитакселом [92].

Гипертермия. В настоящее время было показано, что тепловой шок выше 42°C (гипертермия) способен запускать каскад ICD *in vitro* и вызывать иммуногенные эффекты на мышах. Так, профилактическая вакцинация опухолевыми клетками СТ26, подвергнутыми тепловому шоку (47°C), приводила к значительному торможению роста опухоли в месте инокуляции живых клеток и увеличению выживаемости вакцинированных животных [93].

Наноимпульсная стимуляция. Показано, что воздействие наноимпульсов приводит к полной регрессии слабоиммуногенной метастатической карциномы молочной железы мыши 4T1-Luc [94]. Интересно также наблюдение, согласно которому спонтанные метастазы в отдаленные органы реже детектировались даже у тех животных, у которых не произошла полная регрессия опухоли. После наноимпульсной стимуляции и регрессии опухоли все мыши были устойчивы к повторному заражению опухолевыми клетками, демонстрируя эффект, аналогичный вакцинации. Показано, что лечение наноимпульсами индуцировало противоопухолевый иммунитет, стимулировало созревание Т-клеток памяти, вело к разрушению микроокружения опухоли и снижало количество иммуносупрессорных клеток в микроокружении опухоли и крови.

Холодная плазменная струя (ХПС). Холодная плазменная струя (ХПС) – одно из новых перспективных направлений в лечении злокачественных образований. Обработка ХПС ведет к избирательной гибели клеток меланомы [95], опухолей кишечника [96], легкого [97, 98], поджелудочной железы [99], желудка [100], молочной железы [101], глиобластомы [102] *in vitro*.

Воздействие ХПС на опухолевые клетки также может запускать иммуногенную клеточную гибель. Показано, что гибель клеток меланомы Hmel1 MM и опухоли поджелудочной железы PANC-1 под воздействием культуральной среды, облученной ХПС, сопровождается экспозицией CRT и высвобождением АТР, что предполагает потенциальное использование активированных плазмой сред в качестве индуктора гибели клеток через активацию системы врожденного иммунитета [103]. Установлено, что даже фосфатный буфер, облученный ХПС, способен запускать каскад ICD *in vitro* [104]. Прямая обработка опухолевых клеток ХПС также может индуцировать ICD, вызывая экспозицию кальретикулина, HSP70 на внешнюю мембрану и секрецию АТР и HMGB1 [105]. Установлено также, что обработка опухолевых клеток ХПС *in vitro* вызывает высвобождение DAMPs, характерных для ICD,

и вакцинация мышей клетками СТ26, облученными ХПС, приводила к тому, что у 30% мышей не развивалась опухоль в месте повторного введения живых опухолевых клеток, а размер 90% опухолей, развившихся у вакцинированных мышей, был меньше среднего размера опухолей в контрольной группе [106]. Облучение опухолей рабдомиосаркомы МХ-7 холодной плазмой *in vivo* вызывало временное увеличение уровня HMGB1 в сыворотке животных-опухоленосителей [105].

Таким образом, некоторые физические методы терапии опухолей можно рассматривать как индукторы ICD и оценивать вклад противоопухолевого иммунного ответа в эффективность терапии опухолей у пациентов.

ПОДАВЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА ПРИ ИНДУКЦИИ ICD

Помимо эндогенных факторов, которые активируют иммунную систему, существует несколько механизмов супрессии иммунного ответа с помощью ингибирующих сигналов. В процессе прогрессии опухоль приобретает ряд свойств, которые позволяют ей ускользать от иммунной системы [107]. Микроокружение опухоли препятствует проникновению инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, ограничивая поступление питательных ресурсов и выделяя ингибиторные сигналы. В развитии иммуносупрессивного микроокружения опухоли важное место занимают плазмацитоидные дендритные клетки, опухоль-ассоциированные макрофаги и миелоидные супрессорные клетки, секретирующие противовоспалительные цитокины и экспрессирующие иммуносупрессорные метаболические ферменты, такие, как индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS), индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO), триптофан-2,3-диоксигеназа (TDO) и аргиназа [108, 109]. Уменьшение количества триптофана под действием IDO1 и одновременное увеличение уровня его метаболитов стимулирует иммуносупрессивные свойства опухоли и ее микроокружения преимущественно за счет развития толерантности АПК, иммунотолерантности Т-клеток и гибели иммунных клеток [110]. Такое подавление Т-клеточного метаболизма может ингибировать эффекторную активность Т-клеток, одновременно стимулируя регуляторные Т-клетки и выступая в качестве барьера для эффективной иммунотерапии. Для опухолей характерно быстрое истощение питательных веществ, например глюкозы, и накопление продуктов метаболизма, таких, как лактат или кинуренин, которые непосредственно ингибируют Т-клетки [111]. Наряду с такими сигналами, как CRT, которые привлекают клетки с фагоцитарной активностью, опу-

холевые клетки способны экспонировать на своей поверхности молекулы, являющиеся антагонистами сигналов «съешь меня» (молекулы CD47), что подавляет кальретикулин-опосредованный фагоцитоз. Взаимодействие CD47 с рецептором SIRP α на дендритных клетках служит сигналом, ингибирующим фагоцитоз [112]. Активация перечисленных механизмов, вероятно, может мешать реализации каскада ICD и защищать опухолевые клетки от атаки иммунной системы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Иммуногенная гибель клеток представляет собой уникальную реакцию, которая инициируется клеточным стрессом и завершается гибелью клеток с активной секрецией или пассивным высвобождением

многочисленных аларминов. Важное значение ICD в борьбе с онкологическими заболеваниями обусловлено ее способностью вызывать противоопухолевые иммунные реакции, которые усиливают терапевтический эффект препаратов химиотерапии и радиотерапии. Подробное исследование молекулярных маркеров ICD позволит прогнозировать активацию противоопухолевого иммунного ответа *in vivo* при использовании определенных противоопухолевых препаратов и подходов. ●

*Обзор подготовлен при поддержке
РФФИ № 19-34-90134 (Аспиранты), РНФ
№ 19-19-00255 и проекта базового бюджетного
финансирования Минобрнауки РФ
№ 0245-2019-0001.*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Vacchelli E., Aranda F., Eggermont A., Galon J., Sautès-Fridman C., Cremer I., Zitvogel L., Kroemer G., Galluzzi L. // *Oncoimmunology*. 2014. V. 3. № 1. P. e27878.
- Богданова И.М., Пономаренко Е.А. // *Иммунология*. 2015. Т. 36. № 3. С. 158–161.
- Vacchelli E., Senovilla L., Eggermont A., Fridman W.H., Galon J., Zitvogel L., Kroemer G., Galluzzi L. // *Oncoimmunology*. 2013. V. 2. № 3. P. e23510.
- Casares N., Pequignot M.O., Tesniere A., Ghiringhelli F., Roux S., Chaput N., Schmitt E., Hamai A., Hervas-Stubbs S., Obeid M., et al. // *J. Exp. Med.* 2005. V. 202. № 12. P. 1691–1701.
- Kepp O., Senovilla L., Vitale I., Vacchelli E., Adjemian S., Agostinis P., Apetoh L., Aranda F., Barnaba V., Bloy N., et al. // *Oncoimmunology*. 2014. V. 3. № 9. P. e955691.
- Galluzzi L., Bravo-San Pedro J.M., Vitale I., Aaronson S.A., Abrams J.M., Adam D., Alnemri E.S., Altucci L., Andrews D., Annicchiarico-Petruzzelli M., et al. // *Cell Death Differ.* 2015. V. 22. № 1. P. 58–73.
- Davidovich P., Kearney C.J., Martin S.J. // *Biol. Chem.* 2014. V. 395. № 10. P. 1163–1171.
- Scheffer S.R., Nave H., Korangy F., Schlote K., Pabst R., Jaffee E.M., Manns M.P., Greten T.F. // *Int. J. Cancer*. 2003. V. 103. № 2. P. 205–211.
- Tesniere A., Schlemmer F., Boige V., Kepp O., Martins I., Ghiringhelli F., Aymeric L., Michaud M., Apetoh L., Barault L., et al. // *Oncogene*. 2010. V. 29. № 4. P. 482–491.
- Menger L., Vacchelli E., Adjemian S., Martins I., Ma Y., Shen S., Yamazaki T., Sukkurwala A.Q., Michaud M., Mignot G., et al. // *Sci. Transl. Med.* 2012. V. 4. № 143. P. 143ra99.
- Panaretakis T., Kepp O., Brockmeier U., Tesniere A., Bjorklund A.-C., Chapman D.C., Durchschlag M., Joza N., Pierron G., van Endert P., et al. // *EMBO J.* 2009. V. 28. № 5. P. 578–590.
- Galluzzi L., Vitale I., Warren S., Adjemian S., Agostinis P., Martinez A.B., Chan T.A., Coukos G., Demaria S., Deutsch E., et al. // *J. Immunother. Cancer*. 2020. V. 8. № 1. P. e000337.
- Bezu L., Sauvat A., Humeau J., Gomes-da-Silva L.C., Iribarren K., Forveille S., Garcia P., Zhao L., Liu P., Zitvogel L., et al. // *Cell Death Differ.* 2018. V. 25. № 8. P. 1375–1393.
- Garg A.D., Agostinis P. // *Immunol. Rev.* 2017. V. 280. № 1. P. 126–148.
- Rufo N., Garg A.D., Agostinis P. // *Trends in Cancer*. 2017. V. 3. № 9. P. 643–658.
- Garg A.D., Krysko D.V., Verfaillie T., Kaczmarek A., Ferreira G.B., Marysael T., Rubio N., Firczuk M., Mathieu C., Roebroek A.J.M., et al. // *EMBO J.* 2012. V. 31. № 5. P. 1062–1079.
- Sukkurwala A.Q., Martins I., Wang Y., Schlemmer F., Ruckstuhl C., Durchschlag M., Michaud M., Senovilla L., Sistigu A., Ma Y., et al. // *Cell Death Differ.* 2014. V. 21. № 1. P. 59–68.
- Tufi R., Panaretakis T., Bianchi K., Criollo A., Fazi B., Di Sano F., Tesniere A., Kepp O., Paterlini-Brechot P., Zitvogel L., et al. // *Cell Death Differ.* 2008. V. 15. № 2. P. 274–282.
- Moserova I., Truxova I., Garg A.D., Tomala J., Agostinis P., Cartron P.F., Vosahlikova S., Kovar M., Spisek R., Fucikova J. // *Oncoimmunology*. 2017. V. 6. № 1. P. e1258505.
- Colangelo T., Polcaro G., Ziccardi P., Muccillo L., Galgani M., Pucci B., Rita Milone M., Budillon A., Santopaolo M., Mazzoccoli G., et al. // *Cell Death Dis.* 2016. V. 7. № 2. P. e2108–e2108.
- Liu C.-C., Leclair P., Pedari F., Vieira H., Monajemi M., Sly L.M., Reid G.S., Lim C.J. // *Front. Oncol.* 2019. V. 9. P. 411.
- Chen X., Fosco D., Kline D.E., Kline J. // *Oncoimmunology*. 2017. V. 6. № 4. P. e1278332.
- Obeid M., Tesniere A., Ghiringhelli F., Fimia G.M., Apetoh L., Perfettini J.-L., Castedo M., Mignot G., Panaretakis T., Casares N., et al. // *Nature Medicine*. 2007. V. 13. № 1. P. 54–61.
- De Boo S., Kopecka J., Brusa D., Gazzano E., Matera L., Ghigo D., Bosia A., Riganti C. // *Mol. Cancer*. 2009. V. 8. P. 108.
- Martins I., Kepp O., Schlemmer F., Adjemian S., Tailler M., Shen S., Michaud M., Menger L., Gdoura A., Tajeddine N., et al. // *Oncogene*. 2011. V. 30. № 10. P. 1147–1158.
- Garg A.D., Krysko D.V., Vandenabeele P., Agostinis P. // *Oncoimmunology*. 2012. V. 1. № 5. P. 786–788.
- Fucikova J., Kralikova P., Fialova A., Brtnicky T., Rob L., Bartunkova J., Spisek R. // *Cancer Research*. 2011. V. 71. № 14. P. 4821–4833.
- Martins I., Tesniere A., Kepp O., Michaud M., Schlemmer F., Senovilla L., Séror C., Métivier D., Perfettini J.-L., Zitvogel L., et al. // *Cell Cycle*. 2009. V. 8. № 22. P. 3723–3728.

29. Krysko D.V., Garg A.D., Kaczmarek A., Krysko O., Agostinis P., Vandenabeele P. // *Nat. Rev. Cancer*. 2012. V. 12. № 12. P. 860–875.
30. Inoue H., Tani K. // *Cell Death Differ*. 2014. V. 21. № 1. P. 39–49.
31. Yatim N., Jusforgues-Saklani H., Orozco S., Schulz O., Barreira da Silva R., Reis e Sousa C., Green D.R., Oberst A., Albert M.L. // *Science*. 2015. V. 350. № 6258. P. 328–334.
32. Bedard K., Szabo E., Michalak M., Opas M. // *Int. Rev. Cytol*. 2005. V. 245. P. 91–121.
33. Pawaria S., Binder R.J. // *Nat. Commun*. 2011. V. 2. № 1. P. 521.
34. Zitvogel L., Apetoh L., Ghiringhelli F., Kroemer G. // *Nat. Rev. Immunol*. 2008. V. 8. № 1. P. 59–73.
35. Apetoh L., Ghiringhelli F., Tesniere A., Obeid M., Ortiz C., Criollo A., Mignot G., Maiuri M.C., Ullrich E., Saulnier P., et al. // *Nat. Med*. 2007. V. 13. № 9. P. 1050–1059.
36. Chekeni F.B., Ravichandran K.S. // *J. Mol. Med. (Berlin)*. 2011. V. 89. № 1. P. 13–22.
37. Vacchelli E., Galluzzi L., Eggermont A., Galon J., Tartour E., Zitvogel L., Kroemer G. // *Oncoimmunology*. 2012. V. 1. № 4. P. 493–506.
38. Льюин Б., Кассимерис В., Лингаппа П., Плоппер Д. Клетки. // Пер. с англ. М.: Бином, 2011. 952 с.
39. Corbett E.F., Michalak M. // *Trends Biochem. Sci*. 2000. V. 25. № 7. P. 307–311.
40. Michalak M., Groenendyk J., Szabo E., Gold L.I., Opas M. // *Biochem. J*. 2009. V. 417. № 3. P. 651–666.
41. Mery L., Mesaeli N., Michalak M., Opas M., Lew D.P., Krause K.H. // *J. Biol. Chem*. 1996. V. 271. № 16. P. 9332–9339.
42. Gao B., Adhikari R., Howarth M., Nakamura K., Gold M.C., Hill A.B., Knee R., Michalak M., Elliott T. // *Immunity*. 2002. V. 16. № 1. P. 99–109.
43. Gardai S.J., McPhillips K.A., Frasca S.C., Janssen W.J., Starefeldt A., Murphy-Ullrich J.E., Bratton D.L., Oldenborg P.-A., Michalak M., Henson P.M. // *Cell*. 2005. V. 123. № 2. P. 321–334.
44. Gold L.I., Rahman M., Blechman K.M., Greives M.R., Churgin S., Michaels J., Callaghan M.J., Cardwell N.L., Polins A.C., Michalak M., et al. // *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc*. 2006. V. 11. № 1. P. 57–65.
45. Goicoechea S., Pallero M.A., Eggleton P., Michalak M., Murphy-Ullrich J.E. // *J. Biol. Chem*. 2002. V. 277. № 40. P. 37219–37228.
46. Asadzadeh Z., Safarzadeh E., Safaei S., Baradaran A., Mohammadi A., Hajasgharzadeh K., Derakhshani A., Argentiario A., Silvestris N., Baradaran B. // *Cancers (Basel)*. 2020. V. 12. № 4. P. 1047.
47. Medina C.B., Ravichandran K.S. // *Cell Death Differ*. 2016. V. 23. № 6. P. 979–989.
48. Elliott M.R., Chekeni F.B., Trampont P.C., Lazarowski E.R., Kadl A., Walk S.F., Park D., Woodson R.L., Ostankovich M., Sharma P., et al. // *Nature*. 2009. V. 461. № 7261. P. 282–286.
49. Bours M.J.L., Swennen E.L.R., Di Virgilio F., Cronstein B.N., Dagnelie P.C. // *Pharmacol. Ther*. 2006. V. 112. № 2. P. 358–404.
50. Trautmann A. // *Sci. Signal*. 2009. V. 2. № 56. P. e6.
51. Agresti A., Bianchi M.E. // *Curr Opin Genet. Dev*. 2003. V. 13. № 2. P. 170–178.
52. Landsman D., Bustin M. // *Bioessays*. 1993. V. 15. № 8. P. 539–546.
53. Scaffidi P., Misteli T., Bianchi M.E. // *Nature*. 2002. V. 418. № 6894. P. 191–195.
54. Luo Y., Chihara Y., Fujimoto K., Sasahira T., Kuwada M., Fujiwara R., Fujii K., Ohmori H., Kuniyasu H. // *Eur. J. Cancer*. 2013. V. 49. № 3. P. 741–751.
55. Vu M., Kassouf N., Ofili R., Lund T., Bell C., Appiah S. // *International Journal of Oncology*. 2020. V. 57. № 1. P. 113–121.
56. Hartl F.U. // *Nature*. 1996. V. 381. № 6583. P. 571–579.
57. Buchner J. // *Trends in Biochemical Sciences*. 1999. V. 24. № 4. P. 136–141.
58. Wu J., Liu T., Rios Z., Mei Q., Lin X., Cao S. // *Trends Pharmacol Sci*. 2017. V. 38. № 3. P. 226–256.
59. Binder R.J., Srivastava P.K. // *Nat. Immunol*. 2005. V. 6. № 6. P. 593–599.
60. Dudek-Perić A.M., Ferreira G.B., Muchowicz A., Wouters J., Prada N., Martin S., Kiviluoto S., Winiarska M., Boon L., Mathieu C., et al. // *Cancer Res*. 2015. V. 75. № 8. P. 1603–1614.
61. Galluzzi L., Buqué A., Kepp O., Zitvogel L., Kroemer G. // *Cancer Cell*. 2015. V. 28. № 6. P. 690–714.
62. Twyman-Saint Victor C., Rech A.J., Maity A., Rengan R., Pauken K.E., Stelekati E., Benci J.L., Xu B., Dada H., Odorizzi P.M., et al. // *Nature*. 2015. V. 520. № 7547. P. 373–377.
63. Quail D.F., Joyce J.A. // *Cancer Cell*. 2017. V. 31. № 3. P. 326–341.
64. Ngwa W., Irabor O.C., Schoenfeld J.D., Hesser J., Demaria S., Formenti S.C. // *Nat. Rev. Cancer*. 2018. V. 18. № 5. P. 313–322.
65. Menger L., Vacchelli E., Adjemian S., Martins I., Ma Y., Shen S., Yamazaki T., Sukkurwala A.Q., Michaud M., Mignot G., et al. // *Science Translational Medicine*. 2012. V. 4. № 143. P. 143ra99–143ra99.
66. Spisek R., Charalambous A., Mazumder A., Vesole D.H., Jagannath S., Dhodapkar M.V. // *Blood*. 2007. V. 109. № 11. P. 4839–4845.
67. Senovilla L., Vitale I., Martins I., Tailler M., Pailleret C., Michaud M., Galluzzi L., Adjemian S., Kepp O., Niso-Santano M., et al. // *Science*. 2012. V. 337. № 6102. P. 1678–1684.
68. Huang F.-Y., Lei J., Sun Y., Yan F., Chen B., Zhang L., Lu Z., Cao R., Lin Y.-Y., Wang C.-C., et al. // *Oncoimmunology*. 2018. V. 7. № 7. P. e1446720.
69. Zhu H., Shan Y., Ge K., Lu J., Kong W., Jia C. // *Cell Oncol. (Dordr)*. 2020. V. 43. № 6. P. 1203–1214.
70. Sun L., Shen F., Tian L., Tao H., Xiong Z., Xu J., Liu Z. // *Adv. Mater*. 2021. V. 33. № 18. P. e2007910.
71. Liu X., Jiang J., Chang C.H., Liao Y.-P., Lodico J.J., Tang I., Zheng E., Qiu W., Lin M., Wang X., et al. // *Small*. 2021. V. 17. № 14. P. e2005993.
72. Wen C.-C., Chen H.-M., Chen S.-S., Huang L.-T., Chang W.-T., Wei W.-C., Chou L.-C., Arulselvan P., Wu J.-B., Kuo S.-C., et al. // *Journal of Biomedical Science*. 2011. V. 18. № 1. P. 44.
73. Xiang Y., Chen L., Li L., Huang Y. // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2020. V. 12. № 1. P. 1606–1616.
74. Forveille S., Zhou H., Sauvat A., Bezu L., Müller K., Liu P., Zitvogel L., Pierron G., Rekdal O., Kepp O., et al. // *Cell Cycle*. 2015. V. 14. № 21. P. 3506–3512.
75. Eike L.-M., Yang N., Rekdal O., Sveinbjørnsson B. // *Oncotarget*. 2015. V. 6. № 33. P. 34910–34923.
76. Pasquereau-Kotula E., Habault J., Kroemer G., Poyet J.-L. // *PLoS One*. 2018. V. 13. № 8. P. e0201220.
77. Jagot-Lacoussiere L., Kotula E., Villoutreix B.O., Bruzzoni-Giovanelli H., Poyet J.-L. // *Cancer Res*. 2016. V. 76. № 18. P. 5479–5490.
78. DUEWELL P., STEGER A., LOHR H., BOURHIS H., HOELZ H., KIRCHLEITNER S.V., STIEG M.R., GRASSMANN S., KOBOLD S., SIVEKE J.T., et al. // *Cell Death Differ*. 2014. V. 21. № 12. P. 1825–1837.

79. Koval O.A., Tkachenko A.V., Fomin A.S., Semenov D.V., Nushtaeva A.A., Kuligina E.V., Zavjalov E.L., Richter V.A. // *PLoS One*. 2014. V. 9. № 4. P. e93921.
80. Semenov D.V., Fomin A.S., Kuligina E.V., Koval O.A., Matveeva V.A., Babkina I.N., Tikunova N.V., Richter V.A. // *Protein J*. 2010. V. 29. № 3. P. 174–180.
81. Troitskaya O., Varlamov M., Nushtaeva A., Richter V., Koval O. // *Molecules*. 2020. V. 25. № 12. P. 2804.
82. Donnelly O.G., Errington-Mais F., Steele L., Hadac E., Jennings V., Scott K., Peach H., Phillips R.M., Bond J., Pandha H., et al. // *Gene Ther*. 2013. V. 20. № 1. P. 7–15.
83. Miyamoto S., Inoue H., Nakamura T., Yamada M., Sakamoto C., Urata Y., Okazaki T., Marumoto T., Takahashi A., Takayama K., et al. // *Cancer Res*. 2012. V. 72. № 10. P. 2609–2621.
84. Heinrich B., Klein J., Delic M., Goepfert K., Engel V., Geberzahn L., Luskay M., Erbs P., Preville X., Moehler M. // *OTT*. 2017. V. 10. P. 2389–2401.
85. Ma J., Ramachandran M., Jin C., Quijano-Rubio C., Martikainen M., Yu D., Essand M. // *Cell Death Dis*. 2020. V. 11. № 1. P. 48.
86. Dai P., Wang W., Yang N., Serna-Tamayo C., Ricca J.M., Zamarin D., Shuman S., Merghoub T., Wolchok J.D., Deng L. // *Sci. Immunol*. 2017. V. 2. № 11. P. eaal1713.
87. Koval O., Kochneva G., Tkachenko A., Troitskaya O., Sivolobova G., Grazhdantseva A., Nushtaeva A., Kuligina E., Richter V. // *BioMed Research International*. 2017. V. 2017. P. 1–14.
88. Kochneva G., Sivolobova G., Tkacheva A., Grazhdantseva A., Troitskaya O., Nushtaeva A., Tkachenko A., Kuligina E., Richter V., Koval O. // *Oncotarget*. 2016. V. 7. № 45. P. 74171–74188.
89. Koks C.A., Garg A.D., Ehrhardt M., Riva M., Vandenberk L., Boon L., De Vleeschouwer S., Agostinis P., Graf N., van Gool S.W. // *Int. J. Cancer*. 2015. V. 136. № 5. P. E313–325.
90. Diaconu I., Cerullo V., Hirvonen M.L.M., Escutenaire S., Ugolini M., Pesonen S.K., Bramante S., Parviainen S., Kanerva A., Loskog A.S.I., et al. // *Cancer Res*. 2012. V. 72. № 9. P. 2327–2338.
91. Golden E.B., Demaria S., Schiff P.B., Chachoua A., Formenti S.C. // *Cancer Immunol. Res*. 2013. V. 1. № 6. P. 365–372.
92. Golden E.B., Frances D., Pellicciotta I., Demaria S., Helen Barcellos-Hoff M., Formenti S.C. // *Oncoimmunology*. 2014. V. 3. P. e28518.
93. Adkins I., Sadilkova L., Hradilova N., Tomala J., Kovar M., Spisek R. // *Oncoimmunology*. 2017. V. 6. № 5. P. e1311433.
94. Guo S., Jing Y., Burcus N.I., Lassiter B.P., Tanaz R., Heller R., Beebe S.J. // *Int. J. Cancer*. 2018. V. 142. № 3. P. 629–640.
95. Zirnheld J.L., Zucker S.N., DiSanto T.M., Berezney R., Etemadi K. // *IEEE Trans. Plasma Sci*. 2010. V. 38. № 4. P. 948–952.
96. Georgescu N., Lupu A.R. // *IEEE Trans. Plasma Sci*. 2010. V. 38. № 8. P. 1949–1955.
97. Schweigert I., Zakrevsky D., Gugin P., Yelak E., Golubitskaya E., Troitskaya O., Koval O. // *Applied Sciences*. 2019. V. 9. № 21. P. 4528.
98. Golubitskaya E.A., Troitskaya O.S., Yelak E.V., Gugin P.P., Richter V.A., Schweigert I.V., Zakrevsky D.E., Koval O.A. // *Acta Naturae*. 2019. V. 11. № 3. P. 16–19.
99. Liedtke K.R., Bekeschus S., Kaeding A., Hackbarth C., Kuehn J.-P., Heidecke C.-D., von Bernstorff W., von Woedtke T., Partecke L.I. // *Scientific Reports*. 2017. V. 7. № 1. P. 8319.
100. Chen Z., Lin L., Cheng X., Gjika E., Keidar M. // *Biointerphases*. 2016. V. 11. № 3. P. 031010.
101. Kumar N., Attri P., Choi E.H., Uhm H.S. // *RSC Adv*. 2015. V. 5. № 19. P. 14670–14677.
102. Conway G.E., Casey A., Milosavljevic V., Liu Y., Howe O., Cullen P.J., Curtin J.F. // *British Journal of Cancer*. 2016. V. 114. № 4. P. 435–443.
103. Azzariti A., Iacobazzi R.M., Di Fonte R., Porcelli L., Gristina R., Favia P., Fracassi F., Trizio I., Silvestris N., Guida G., et al. // *Sci. Rep*. 2019. V. 9. № 1. P. 4099.
104. Van Loenhout J., Flieswasser T., Freire Boulosa L., De Waele J., Van Audenaerde J., Marcq E., Jacobs J., Lin A., Lion E., Dewitte H., et al. // *Cancers*. 2019. V. 11. № 10. P. 1597.
105. Troitskaya O., Golubitskaya E., Biryukov M., Varlamov M., Gugin P., Milakhina E., Richter V., Schweigert I., Zakrevsky D., Koval O. // *IJMS*. 2020. V. 21. № 14. P. 5128.
106. Lin A.G., Xiang B., Merlino D.J., Baybutt T.R., Sahu J., Fridman A., Snook A.E., Miller V. // *Oncoimmunology*. 2018. V. 7. № 9. P. e1484978.
107. Барышников А.Ю. // *Практическая онкология*. 2003. T. 4. № 3. С. 127–130.
108. Gabrilovich D.I., Ostrand-Rosenberg S., Bronte V. // *Nat. Rev. Immunol*. 2012. V. 12. № 4. P. 253–268.
109. Munn D.H. // *Science*. 1998. V. 281. № 5380. P. 1191–1193.
110. Soliman H., Mediavilla-Varela M., Antonia S. // *The Cancer Journal*. 2010. V. 16. № 4. P. 354–359.
111. Beckermann K.E., Dudzinski S.O., Rathmell J.C. // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2017. V. 35. P. 7–14.
112. Chao M.P., Jaiswal S., Weissman-Tsukamoto R., Alizadeh A.A., Gentles A.J., Volkmer J., Weiskopf K., Willingham S.B., Raveh T., Park C.Y., et al. // *Sci. Transl. Med*. 2010. V. 2. № 63. P. 63ra94.