

КОИНГИБИРУЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ. КОНТРОЛЬНЫЕ ТОЧКИ (CHECKPOINTS) ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ Часть 2. Участие коингибирующих молекул в развитии инфекционной и онкологической патологии. Моноклональные антитела – блокаторы контрольных точек

© 2018 г. А. П. Топтыгина^{1,2,*}

*E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

¹ФБУН “Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. Г.Н. Габричевского” Роспотребнадзора, Москва, Россия;

²Кафедра иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВПО “Московский государственный
университет им. М.В. Ломоносова”, Москва, Россия

Поступила: 16.01.2017. Принята: 25.12.2017

*Первая часть обзора опубликована в Российском иммунологическом журнале,
2017, том 11(20), № 4*

Дифференцировка и протективные свойства антиген-специфических Т-клеток регулируются как позитивными, так и негативными сигналами. Молекулы семейства В7/CD28 очень важны для регуляции Т-клеточной активации и периферической толерантности. Особенно PD-1, CTLA-4 и другие ко-ингибирующие молекулы играют активную роль в ограничении чрезмерной иммунной активации, что чрезвычайно важно для успешного очищения от патогена без нанесения ущерба организму хозяина. Эти ко-ингибирующие молекулы (иммунологические контрольные точки) необходимы для дифференцировки индуцированных Treg и их функционирования. С другой стороны, гиперэкспрессия ко-ингибирующих молекул может приводить к формированию состояния “утомления” – exhaustion Т-клеток – адаптивного состояния Т-клеток, которое возникает при системной персистенции антигена. Такие “утомленные” Т-клетки описывают как Т-эффекторы с резко сниженной продукцией цитокинов и эффекторной функцией. В данном обзоре мы рассматриваем критически важную роль ко-ингибирующих молекул, которую они играют в иммунопатогенезе четырех иммунологических синдромов: аллергии, аутоиммунных заболеваний, хронических инфекций и рака. Обратимость состояния exhaustion Т-клеток с помощью блокады ко-ингибирующих путей открывает важную область терапевтического использования таких блокаторов в онкологии и при хронических вирусных инфекциях.

Ключевые слова: PD-1, CTLA-4, иммунные контрольные точки, exhaustion Т-клеток, аллергия, аутоиммунные заболевания, хронические инфекции, рак

DOI: 10.7868/S102872211801001X

Адрес: 125212, Россия, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10, МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского, Топтыгина Анна Павловна. Тел.: +7(495) 452-18-01 (раб.), +7(916)389-66-04 (моб.).

*E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Автор

Топтыгина А.П., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории цитокинов ФБУН “Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского” Роспотребнадзора, профессор кафедры иммунологии биологического факультета ФГБОУ ВПО “Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова”, Москва, Россия.

Инфекционная патология

В разобранных выше вариантах иммунопатологии вся проблема концентрировалась именно в нарушении баланса самой иммунной системы. Действительно, антигены (собственные белки организма или безобидные антигены пищи и окружающей среды) не причиняли никакого вреда организму и не способствовали развитию воспаления. С инфекционной патологией дело обстоит совершенно иначе. Болезнетворные микроорганизмы целенаправленно атакуют макроорганизм с целью получения

ниши для обитания и ресурсов для поддержания жизни и размножения. Микроорганизмы используют несколько тактик для достижения своей цели. Это может быть выделение агрессивных ферментов и токсинов, позволяющих быстро внедриться и нейтрализовать “передовые рубежи обороны”, представленные механизмами врожденного иммунитета. Это может быть очень высокая скорость размножения, выделения в окружающую среду и распространения среди восприимчивых организмов. Это может быть использование различных способов ускользания из-под контроля иммунитета, таких как высокая степень изменчивости (мутации генома), использование различных механизмов мимикрии под антигены организма хозяина, модуляция иммунного ответа хозяина в сторону менее эффективного иммунного ответа или вовсе торможение этого ответа за счет синтеза цитокиноподобных веществ. Обычно распознавание APC патогена с помощью TLR приводит к активации и созреванию DC, усилению их антигенпрезентирующих функций, повышению экспрессии костимулирующих молекул и продукции провоспалительных цитокинов. Все это обеспечивает три необходимых сигнала для активации Т-лимфоцитов, а активированные лимфоциты, в конечном счете, приводят к элиминации патогена. Следует также отметить, что взаимодействие APC и Т-лимфоцита – двустороннее, то есть APC активируют Т-лимфоцит, но и Т-лимфоцит активирует APC, что повышает устойчивость последних к атакам патогенов. К сожалению, многие внутриклеточные патогены, такие как *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), *Mycobacterium avium*, *M. leprae*, *Salmonella typhi* (*S. typhi*), *Helicobacter pylori* (*H. pylori*); многие вирусы, такие как ВИЧ, вирусы гепатита В и С, вирусы группы герпеса, вирус кори и даже внутриклеточные паразиты, такие как *Leishmania donovani*, *L. chagasi*, *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), *T. cruzi* и *Plasmodium falciparum*, способны инфицировать APC и модулировать в своих интересах экспрессию костимулирующих молекул. Эта модуляция может касаться снижения экспрессии костимулирующих молекул на APC, что приводит контактирующие с этими APC Т-лимфоциты в состояние анергии или апоптоза [93, 94, 95, 96], либо повышения экспрессии описанных нами выше коингибирующих молекул, что приводит Т-клетки в состояние утомления (exhaustion) [97, 98, 99, 100].

В зависимости от тактики атакующего микроорганизма иммунная система применяет свой

вариант защиты. Так, в эксперименте на мышах, инфицированных разными дозами одного и того же вируса хориоменингита I3 (lymphocytic choriomeningitis virus: LCMV) исследовали вопрос о влиянии исходной вирусной нагрузки или скорости репликации вируса на иммунный ответ. Было показано, что низкая вирусная нагрузка приводит к формированию эффективных CD8⁺ Т-эффекторов и процесс завершается минимальными повреждениями легких и печени и элиминацией вируса, то есть выздоровлением. Очень высокая доза вируса приводит к персистенции вируса, сниженной активности CD8⁺ клеток при слабо выраженной иммунопатологии, то есть вариант хронической рецидивирующей вяло текущей инфекции. Интересно, что промежуточная доза вируса приводила к очень сильному иммунному ответу (организм бился не на жизнь, а на смерть), в качестве исхода такой битвы описана высокая смертность животных в этой группе, а у тех, которые выжили, развивалась персистенция вируса на фоне тяжелых повреждений органов (массивные некрозы легких и печени) [101]. В зависимости от антигенной нагрузки Т-лимфоциты при хронической рецидивирующей инфекции могут прийти в одно из двух состояний: состояние, именуемое senescent (окончательно зрелые и даже “стареющие” лимфоциты) или exhausted (утомленные, истощенные лимфоциты) [102]. Состояние senescence развивается при низкой и продолжительной антигенной нагрузке, в результате может сформироваться бессимптомное носительство, что часто можно наблюдать при инфекции вирусами группы герпеса. При этом не возникает реального старения иммунной системы, просто клетки в состоянии senescence похожи по набору поверхностных маркеров на старые, подлежащие элиминации лимфоциты [103]. В то же время при высокой постоянной вирусной нагрузке, что можно наблюдать при инфицировании ВИЧ или вирусами гепатита В и С, формируется состояние exhaustion [104]. Возможно, что состояние exhaustion – одна из тактик иммунной системы, позволяющая, в случае невозможности полной элиминации патогена, избежать тяжелых повреждений организма вплоть до смерти.

Для Т-клеток в состоянии senescence типична потеря экспрессии костимулирующих молекул, например, CD28 и приобретение молекул, свидетельствующих об их зрелости, например, CD57, молекул, говорящих об их высоком цитотоксическом потенциале, например, lectin-like receptor G1 (KLRG-1) (типично для цитотоксических клеток), снижение пролиферативного потенциала, а также высокая продукция

цитокинов TNF- α и IFN- γ [105]. Эти клетки очень эффективны в элиминации своего причинного антигена, нагружены цитотоксическими гранулами, снабжены цитотоксическими молекулами и соответствующими цитокинами. Для Т-клеток в состоянии exhaustion, напротив, типична постепенная потеря эффекторных функций. Снижается продукция IL-2 и способность таких клеток к пролиферации, угнетается продукция TNF- α , а затем и IFN- γ , падает цитотоксическая активность [106]. С поверхности лимфоцитов в состоянии exhaustion исчезают костимулирующие молекулы, зато высоко экспрессируются коингибирующие, такие как PD-1, CTLA-4, LAG-3, Tim-3, CD160. Часть клеток уходит в апоптоз, а те, что остаются живыми, функционально малоактивны [107]. На них даже появляется рецептор 2B4, типичный для натуральных киллеров [104]. Как senescent, так и exhausted Т-клетки отличаются по экспрессии транскрипционных факторов от Т-клеток памяти или эффекторных клеток. Senescent CD8⁺ Т-клетки человека экспрессируют T-bet в большом количестве и лишь немного EOMES [108]. Exhausted Т-клетки демонстрируют высокий уровень Blimp-1, отвечающего за экспрессию коингибирующих молекул [109]. Интересно, что экспрессия T-bet в exhausted Т-клетках важна для выживания и поддержания их остаточных функций [104], а высокий уровень EOMES типичен для терминальной стадии exhaustion [110]. Парадокс состоит в том, что до сих пор не обнаружено какого-то специфического транскрипционного фактора для exhausted Т-клеток, а те факторы, которые обнаружены, обычно вовлечены в совсем другие процессы, но будучи активированными в exhausted Т-клетках реализуют свои функции как-то иначе, чем в наивных, активированных, эффекторных Т-клетках или клетках памяти [111, 112].

Состояние exhaustion развивается и в CD4⁺ и в CD8⁺ постепенно. Обычно в ответ на антигенную стимуляцию формируются клетки-эффекторы, активно синтезирующие цитокины, нагруженные цитотоксическими гранулами и экспрессирующие цитотоксические молекулы. Считается, что наиболее эффективными являются клетки, способные синтезировать сразу несколько цитокинов, таких как IL-2, TNF- α и IFN- γ . В процессе развития состояния exhaustion прежде всего теряется способность синтезировать IL-2 и, соответственно, резко снижается пролиферативный потенциал клетки [113]. Затем постепенно снижается продукция TNF- α , и на конечной стадии — IFN- γ [114]. Прогрессивно

снижается цитотоксическая активность CD8⁺ клеток, а также способность CD4⁺ лимфоцитов выполнять хелперные функции. В то же время все больше клеток уходит в апоптоз, что может приводить к снижению уровня Т-лимфоцитов и их субпопуляций в крови, постепенно нарастает экспрессия Blimp-1 и повышается экспрессия на клеточной мембране коингибирующих молекул [115]. Первоначально полагали, что состояние exhaustion клонально рестриктировано, то есть клетки, распознающие антиген своим Т-клеточным рецептором при длительной постоянной стимуляции, постепенно приходят в состояние exhaustion. В начале так оно и есть, но постепенно в состояние exhaustion вовлекаются и другие клетки, с другой специфичностью Т-клеточного рецептора. Так, известно, что при прививках против вируса гепатита В примерно 10% привитых не отвечают на вакцину. Больных гепатитом С обязательно прививают против гепатита В, поскольку микст-инфекция приводит к быстрому прогрессированию и смерти больного. Оказалось, что среди больных гепатитом С, привитых против гепатита В, 50% не отвечало на вакцинацию [116]. Известно, что у больных гепатитом С высоко экспрессированы молекулы PD-1 и Tim-3 на Т-лимфоцитах и APC [117]. Оказалось, что при ответе на вакцину против вируса гепатита В у больных гепатитом С, не ответивших на прививку, была снижена продукция IL-2 и IL-12 и повышена продукция IL-23 и IL-17. Также была сильно повышена продукция IL-10 и TGF- β [116]. Это свидетельствует о том, что состояние exhaustion, развившееся в ответ на хроническую инфекцию вирусом гепатита С, распространилось и на клетки с другой специфичностью (антигены вируса гепатита В). По-видимому, состояние exhaustion, сформировавшись как клонально рестриктированное, постепенно вовлекает в зону своего влияния клетки других клонов, чем, возможно, объясняется повышенная восприимчивость пациентов с хронической инфекцией к другим инфекциям.

К счастью, оказалось, что состояние exhaustion обратимо. Показано, что блокада моноклональными антителами коингибирующих молекул восстанавливает функции exhausted Т-клеток. Введение анти-PD-L1 антител мышам с хронической LCMV-инфекцией и сформировавшимся состоянием exhaustion приводило к резкому увеличению количества вирус-специфических CD8⁺ Т-клеток и восстановлению их способности продуцировать IFN- γ и TNF- α , пролиферировать и убивать зараженные вирусом клетки. При этом вирусная нагрузка резко уменьшилась [118]. Поскольку

коингибирующие молекулы конститутивно высоко экспрессированы на Treg, было изучено влияние деплеции Treg на мышинной модели состояния exhaustion Т-клеток при хронической вирусной инфекции LCMV. Оказалось, что удаление Treg в несколько десятков раз усиливало экспансию антиген-специфических CD8⁺эффекторов, однако вирусная нагрузка при этом не уменьшилась. Оказалось, что одновременно резко повысилась экспрессия PD-L1 на клетках, зараженных вирусом, что останавливало атаку CD8⁺эффекторов. Только после блокады антителами PD-L1 удалось добиться резкого снижения титра вируса. Это свидетельствует о том, что Treg эффективно поддерживают состояние exhaustion CD8⁺эффекторов, но это не единственный механизм, зараженные вирусом клетки способны “защищаться” от атаки CD8⁺эффекторов, повышая на своей поверхности экспрессию PD-L1 и удерживая состояние exhaustion [119]. Эффективной оказалась блокада PD-1 у инфицированных ВИЧ, гепатитами В и С [120, 121, 122, 123]. Также эффективной у пациентов с гепатитом В была блокада CTLA-4 и Tim-3 [124, 125].

Таким образом, мы видим, что в ответ на инфекцию иммунная система может применить несколько тактических вариантов. В ответ на острую инфекцию развивается классический иммунный ответ наивных Т-клеток, включающий в себя распознавание антигена, активацию и дифференцировку в эффекторные клетки, которые мигрируют в пораженные ткани и осуществляют элиминацию антигена и разрешение воспаления. После этого большинство активированных клеток погибают путем апоптоза, а из меньшей части формируются клетки памяти (центральные и эффекторные), которые живут в организме многие годы и способны осуществить быструю иммунную защиту при повторной встрече с антигеном. Принципиально важным является то, что созревание и поддержание пула клеток памяти происходит в отсутствие стимуляции антигеном и без участия провоспалительного микроокружения. В случае хронизации инфекции, в условиях присутствия антигена и продолжающегося воспаления, иммунная система меняет тактику и вместо дифференцировки в клетки памяти начинает усиливать цитотоксические функции и созревание Т-эффекторов, формируя состояние senescent. Эта тактика позволяет удерживать под контролем внутриклеточные патогены, предотвращая рецидивирование, в случае, когда иммунная система по каким-то

причинам не может осуществить клиренс антигена. В случае непрерывно рецидивирующей инфекции, постоянной стимуляции антигеном и провоспалительными цитокинами иммунная система применяет тактику exhaustion. Для данного варианта типично постепенное угнетение эффекторных функций, повышение экспрессии коингибирующих молекул, изменение активности транскрипционных факторов и метаболизма клетки. Иммунная система как бы пытается “мирно сосуществовать” с патогеном, тем не менее, удерживая его от быстрой экспансии. Такая тактика позволяет избежать еще одного возможного исхода инфекционного заболевания – септического шока, когда война идет не на жизнь, а на смерть в буквальном смысле этого слова, и без интенсивной терапии нередко заканчивается смертельным исходом или серьезным повреждением внутренних органов. Тем не менее, состояние exhaustion является именно тактикой, позволяющей выжить в условиях постоянно длящегося, пусть и не очень быстрого, инфекционного процесса. К сожалению, такая тактика не позволяет полноценно держать патоген под контролем или вовсе элиминировать его и завершить процесс. Напротив, состояние exhaustion прогрессивно усугубляется, многие клетки гибнут через апоптоз, состояние пациента постепенно, пусть медленно, но неуклонно ухудшается и, в конце концов, заболевание побеждает. Поэтому тактику exhaustion нельзя считать стратегически выигрышной. По счастью, состояние exhaustion является обратимым, и при назначении правильной комплексной терапии возможно если не элиминировать антиген, то поставить его под контроль иммунной системы.

Онкологические заболевания

С точки зрения иммунологии, опухолевой процесс — это результат повышенной толерантности к собственным измененным (малигнизированным) антигенам. Иммунная система либо “не видит” опухолевую клетку, либо не расценивает ее как потенциально опасную. Поэтому иммунотерапия опухолей всегда выглядела как очень перспективное направление. К сожалению, повышенные ожидания неоднократно сменялись серьезными разочарованиями. Виной тому — наши несовершенные знания о природе опухолевого процесса и тех нарушений в иммунной системе, которые его сопровождают. Например, казавшееся весьма перспективным воздействие с помощью IL-2 на иммунные клетки онкологического больного давало весьма неоднозначные

результаты. Теперь понятно, что IL-2, помимо того, что он хороший цитокин-активатор Т-клеток, является также отличным активатором Treg, которые тормозят и без того угнетенный противоопухолевый иммунитет [126]. Дендритноклеточные вакцины оказались довольно слабы [127], наращивание и активация цитотоксического клона — процесс дорогой, длительный и индивидуальный [128], трансфекция генно-инженерных конструкций тоже индивидуальна, неоднозначна и дорога. Молекулярная таргетная терапия существенно улучшила ситуацию, показав хорошие результаты у тех пациентов, у которых были выявлены соответствующие мутации, однако даже она не смогла существенно повысить 5-летнюю выживаемость большинства пациентов, например, с немелкоклеточным раком легкого [129].

С другой стороны, далеко не каждая переродившаяся клетка превращается в опухоль. Иммунная система достаточно эффективно контролирует процесс малигнизации, распознает и элиминирует перерожденную клетку. В этом процессе активно участвуют NK-, NKT-клетки и цитотоксические лимфоциты, а контроль осуществляют Treg. Однако иногда опухолевым клеткам удается избежать надзора иммунной системы, например, благодаря способности снижать экспрессию опухолевых антигенов или снижать экспрессию комплекса МНС, представляющего эти антигены. Часто в результате такого избегания наступает фаза равновесия, когда малигнизированная клетка как бы “дремлет”, а иммунная система ее как бы контролирует. Эта фаза может длиться годами. Не вполне понятно, что приводит к нарушению равновесия, но в результате происходит либо активация иммунной системы и элиминация такой клетки, либо ускользание клетки из-под контроля иммунной системы и опухолевый рост [130]. Как удастся опухоли выжить? Как уже говорилось, происходит иммуноредактирование опухолевых клеток в сторону неиммуногенных раковых клеток, и не последнюю роль в этом играет контроль со стороны иммунной системы, которая выбраковывает иммуногенные опухолевые клетки. Далее, незрелые DC, не получая сигналов опасности через TLR от вроде бы “своих” опухолевых клеток, созревают не в антиген-презентирующие, а в толерогенные DC, именуемые также myeloid-derived suppressor cells (MDSC), обладающие иммуносупрессивными функциями [131]. Поскольку раковые клетки несут много черт принадлежности к своему организму, в область опухолевого роста активно привлекаются Treg, задача

которых не допустить повреждения собственных тканей. Активность Treg как в плане синтеза ингибирующих цитокинов (IL-10 и TGF- β), так и экспрессии коингибирующих молекул способствует созданию микроокружения вокруг опухолевых клеток, способствующего торможению эффекторных клеток [132]. Наконец, сами опухолевые клетки начинают синтезировать различные иммуносупрессивные вещества, например indoleamine-2,3-deoxygenase (IDO), галектины, IL-10 и TGF- β , повышать экспрессию антиапоптотических молекул и экспрессировать коингибирующие молекулы, что приводит к дифференцировке макрофагов в сторону M2 и подавлению цитотоксического иммунного ответа [133, 134]. Есть еще одна негативная особенность — в ситуации с опухолью мы имеем слабую, но постоянную стимуляцию опухолевыми антигенами, что очень напоминает ситуацию с хронически рецидивирующей инфекцией, а это приводит к тому, что иммунная система выбирает тактику exhaustion. Действительно, экспрессия PD-1 резко повышена на инфильтрирующих опухоль CD8⁺ Т, что коррелирует со снижением продукции цитокинов (IL-2, IFN- γ и TNF- α) при различной опухолевой патологии [135, 136, 137, 138, 139]. Также обнаружена повышенная экспрессия CTLA-4, LAG-3, Tim-3 и других коингибирующих молекул на опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах, что свидетельствует о том, что Т-лимфоциты в микроокружении опухоли находятся в состоянии exhaustion [140, 141]. Более того, PD-L1 хорошо экспрессирован на опухолевых клетках, что способствует поддержанию состояния exhaustion у опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов с одной стороны, и позволяет раковым клеткам избегать атаки цитотоксических лимфоцитов [142]. Выявлены четкие корреляции между повышенной экспрессией PD-L1 на опухолевых клетках и клетках микроокружения и негативным прогнозом заболевания для раковых опухолей различных локализаций [143, 144, 145, 146, 147, 148].

Таким образом, можно констатировать, что в случае онкологических заболеваний иммунная система выбирает тактику exhaustion, позволяющую организму хоть как-то выживать, но не дающую возможности иммунной системе эффективно бороться с опухолью. Все это приводит к постепенному прогрессированию заболевания, заканчивающегося, к сожалению, смертью больного. Высокая экспрессия PD-L1 на клетках опухоли и ее микроокружения, а также PD-1 на опухоль-инфильтрирующих

цитотоксических Т-лимфоцитах позволяет рассматривать сигнальный путь контрольной точки PD-1/PD-L1 как одну из основных причин неэффективности как самой иммунной системы больного, так и многих методов терапии рака. Другая контрольная точка — молекула CTLA-4 также высоко экспрессирована в микроокружении опухолей многих локализаций, и этот сигнальный путь, как и другие коингибирующие молекулы, также может быть точкой приложения для иммунотерапии опухолей.

ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА — БЛОКАТОРЫ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

Тактика exhaustion, используемая иммунной системой в случае невозможности полного контроля и элиминации антигена, к сожалению, приводит к постепенному, но неуклонному утяжелению состояния больного и прогрессированию заболевания. Действительно, заболевания, при которых четко показано формирование состояния exhaustion, такие как ВИЧ-инфекция, хронические гепатиты В и С и онкологические заболевания, относятся к заболеваниям с негативным прогнозом, которые крайне редко самопроизвольно завершаются выздоровлением больного. Даже современная массивная терапия далеко не гарантирует не только выздоровления, но и даже продления жизни таких пациентов. То есть состояние exhaustion позволяет больному не умереть сразу, но не дает ему возможности победить болезнь. В тех случаях, когда четко известна молекула-мишень, весьма эффективно использовать технологию создания терапевтических моноклональных антител, способных избирательно блокировать целевую молекулу. На сегодняшний момент уже зарегистрирован FDA и разрешен для клинического применения при миеломе препарат ипилимумаб (ipilimumab; Yervoy, Bristol-Myers Squibb), блокирующий сигнальный путь контрольной точки CTLA-4, представляющий собой человеческое моноклональное антитело IgG1 изотипа [149]. При схеме введения препарата 3 мг/кг с интервалом в 3 недели была достигнута максимальная выживаемость 27,8 месяца, а средняя выживаемость составила 10,1 месяца (против 6,4 месяца в контрольной группе), что было для пациентов с III/IV стадией прогрессирующей меланомы очень хорошим результатом. В то же время другой блокатор CTLA-4 тремелиумаб, являющийся человеческим моноклональным антителом субкласса IgG2, оказался

менее эффективным при терапии меланомы в ходе III фазы клинических испытаний и работы над ним на данный момент прекращены [150]. Клинические испытания II фазы по применению ипилимумаба при метастазирующей карциноме почек проводили для двух схем введения: высокая доза (3 мг/кг с интервалом в 3 недели) и низкая доза (первое введение 3 мг/кг, а далее 1 мг/кг с интервалом в 3 недели). При этом регрессия опухоли была достигнута в 12% в первой группе и не выявлена во второй, но серьезным осложнением оказались выявленные случаи также в первой группе остро развившейся аутоиммунной патологии [151], в результате данный препарат не был рекомендован для лечения карциномы почек.

Более успешными оказались препараты, блокирующие сигнальный путь контрольной точки PD-1. В эту группу нужно отнести получившие разрешение FDA для клинического применения анти PD-1 препараты ниволумаб (nivolumab человеческое моноклональное антитело субкласса IgG4) и пембролизумаб (pembrolizumab — гуманизированное моноклональное антитело субкласса IgG4) и завершающий III фазу клинических испытаний анти PD-L1 атезолизумаб (atezolizumab). Кроме того, есть еще несколько препаратов, проходящих разные фазы клинических испытаний. Разрешенные анти PD-1 препараты оказались эффективными при прогрессирующей меланоме, немелкоклеточном раке легкого, гепатоцеллюлярной карциноме, метастазирующей карциноме почек, раке яичников, груди, желудка, карциноме головы и шеи, глиобластоме, хронической лимфоме [152, 153, 154, 155, 156]. По сравнению с общепринятыми схемами лечения, например досетаксел (docetaxel) при лечении немелкоклеточного рака легкого, и анти PD-1, и анти PD-L1 препараты показали свое значимое преимущество и в средней выживаемости пациентов и по продолжительности безрецидивного течения [157, 158].

Терапия моноклональными антителами, блокирующими сигнальные пути контрольных точек, имеет некоторые особенности, способные озадачить химиотерапевта. Так, ожидается, что применение нового эффективного препарата должно сразу дать уменьшение массы опухоли. На деле оказывается, что вначале может наблюдаться “псевдопрогрессирование”, то есть увеличение объема опухоли, что является прогностически благоприятным фактом. Это увеличение связано с разблокировкой противоопухолевого клеточного иммунитета,

привлечением дополнительно CD8⁺ цитотоксических лимфоцитов в микроокружение опухоли и развитием цитотоксической реакции на ткани опухоли, вызывающей воспаление и отек. Ожидается, что введение препарата должно увеличить продолжительность жизни пациентов, а на деле оказывается, что в начале терапии кривая выживаемости леченых и нелеченых не различается, и только спустя несколько курсов отмечается “сглаживание” кривой выживаемости с постепенным выходом на плато [159]. Это связано с тем, что блокаторы контрольных точек действуют не непосредственно на опухолевые клетки, а опосредованно: постепенно разблокируют цитотоксические функции иммунной системы, которая активизируется и атакует опухолевые клетки.

Любой метод терапии опухолей дает достаточно высокий процент нежелательных явлений, связанных с токсическим воздействием как самих препаратов, так и продуктов распада разрушающейся опухоли. Однако при лечении блокаторами контрольных точек возникают помимо таких ожидаемых нежелательных явлений [160] еще дополнительно повышенное количество аллергических реакций [161] и остро развившейся аутоиммунной патологии [162]. Тут следует вспомнить, что описываемые препараты являются либо чисто человеческими, либо гуманизированными антителами. На аналогичные препараты другой специфичности аллергические реакции возникают не так часто, а внезапно развившееся аутоиммунное заболевание, такое как Д1Т, аутоиммунное поражение надпочечников, щитовидной железы, гипопифиза, аутоиммунная миастения, тромбоцитопения, гемолитическая анемия и так далее — вообще редкость, но при терапии блокаторами контрольных точек такие нежелательные явления, причем развившиеся фульминантно, возникают с удивительным постоянством [163, 164, 165, 166]. Учитывая роль контрольных точек в регуляции иммунной системы, понятно, что применение блокаторов сигнальных путей контрольных точек при онкологических заболеваниях способствует снижению ранее завышенной толерантности иммунной системы к собственным малигнизированным антигенам, что приводит к активации противоопухолевого иммунитета. Однако такое “распрямление” ранее подавленного иммунитета чревато “переразгибанием”, гиперактивацией иммунной системы и отклонением в сторону сниженной толерантности уже к собственным нормальным антигенам (аутоиммунная патология) или к безобидным антигенам окружающей среды (аллергия). Препарат назначают всем в одной

схеме и одной дозе, не делая межиндивидуальных различий, а ведь состояние exhaustion развивается постепенно и у каждого пациента глубина нарушения иммунорегуляции разная. Возможно, персонализированный подход к назначению схемы лечения блокаторами контрольных точек мог бы снизить процент аллергических и аутоиммунных нежелательных явлений.

Ожидается, что препарат должен одинаково влиять на пациентов с одним клиническим и гистологическим диагнозом, но реально оказывается, что есть пациенты, которые очень хорошо идут на терапии блокаторами контрольных точек, а есть — совершенно не отвечающие на такую терапию. Это говорит о неоднородности группы пациентов с одним и тем же диагнозом и поднимает вопрос о биомаркерах — неких параметрах, позволяющих до назначения лечения разделить группу пациентов на отвечающих (подлежащих такому лечению) и не отвечающих, для которых нужно искать другую схему терапии. Казалось бы, такой биомаркер лежит на поверхности — это уровень экспрессии PD-1 или PD-L1 (для анти PD-L1 препаратов) на клетках опухоли и ее микроокружения. Действительно, блокаторы контрольных точек оказываются более эффективными у тех больных, у которых в биоптатах опухоли обнаружена экспрессия PD-1 (или PD-L1). И чем выше процент PD-1-экспрессирующих клеток, тем лучше пациенты отвечают на терапию соответствующими блокаторами. Есть, правда, одно НО. Даже среди PD-1 (или PD-L1) негативных пациентов есть, хоть и немного, пациенты, хорошо отвечающие на терапию блокаторами контрольных точек. И даже в группе пациентов, экспрессирующих более 50% PD-L1, далеко не все хорошо идут на терапию блокаторами. Другими словами, оценка экспрессии PD-1 (или PD-L1) в биоптате опухоли не дает четкого критерия, кто ответит на терапию блокаторами контрольных точек [157].

Для повышения эффективности терапии блокаторами было предпринято клиническое исследование комбинированной терапии больных с прогрессирующей меланомой ипилимумабом и ниволумабом против монотерапии этими препаратами. Средняя выживаемость при комбинированной терапии составила 11,5 месяца, для монотерапии ниволумабом — 6,9 месяца, а для ипилимумаба 3,8 месяца. Интересно, что если экспрессия PD-L1 в биоптате опухоли была более 5%, то средняя выживаемость как при комбинированной, так и при монотерапии ниволумабом составила 14 месяцев,

а для ипилимумаба — 3,9 месяца, а если экспрессия PD-L1 в биоптате была менее 5%, то комбинированная терапия давала 11,2 месяца, монотерапия ниволумабом — 5,3 месяца, а ипилимумабом — 2,8 месяца [167]. Отсутствие существенного увеличения периода средней выживаемости пациентов на комбинированной терапии сопровождалось повышенным количеством нежелательных явлений 3–4 степени тяжести [168], поэтому такая комбинация не рассматривается как особенно удачная. Напротив, комбинация блокатора контрольных точек с лучевой или цитостатической терапией может дать благоприятную суммацию эффектов. Цитостатическая или лучевая терапия дает преимущественное поражение опухолевых клеток непосредственно в момент воздействия, что дает результат в ранние сроки лечения, тогда как для блокаторов контрольных точек типичен “скрытый период” — пока препарат разблокирует подавленные цитотоксические клетки и те начнут работать. Второе немаловажное преимущество такой комбинации — цитостатики и облучение непосредственно разрушают опухолевые клетки, что способствует большей доступности опухолевых антигенов для распознавания цитотоксическими лимфоцитами и активации последних [169, 170].

Несмотря на убедительные доказательства эффективности блокады *in vitro* и *ex vivo* сигнальных путей контрольных точек у пациентов с хроническими рецидивирующими инфекциями, этот метод лечения пока не получил одобрения для клинического применения, поскольку существуют серьезные риски для здоровья при таком лечении. Тем не менее, описаны случаи, когда, например, ипилимумаб применяют, согласно протоколу, при множественной миеломе у ВИЧ-инфицированных пациентов. Такие наблюдения позволяют оценить воздействие анти-CTLA-4 терапии на течение ВИЧ-инфекции. Так, показано, что после терапии ипилимумабом (4 инъекции в дозе 3 мг/кг с интервалом в 3 недели) вирусная нагрузка снизилась с 60 до 5 копий/мл, уровень CD4+ лимфоцитов повысился с 400 до 900 кл/мкл [171].

Блокада PD-1 у пациентов с гепатитом С продемонстрировала восстановление функций противовирусных CD4 и CD8 Т-клеток и контроль вирусной репликации. Однако результаты сильно варьируют и зависят от глубины выраженности состояния *exhaustion* [172]. Также описаны клинические случаи. Например, у пациентки с гепатитом С была диагностирована меланома с метастазами в легкое и подмышечные лимфоузлы. Была назначена терапия

пембролизумабом 2 мг/кг каждые 3 недели. После 3 циклов уменьшился объем опухоли в легком, после 9 циклов отмечено значимое уменьшение основной опухоли и метастазов в легком и подмышечных лимфоузлах. При этом вирусная нагрузка (HCV) снизилась ниже уровня определения, нормализовались повышенные ранее уровни печеночных трансаминаз, лечение пембролизумабом основного заболевания продолжается с положительной динамикой (пройдено 15 циклов) [173]. Даже однократное введение анти PD-1 антител пациентам с гепатитом С в дозе 10 мг/кг приводило к снижению вирусной РНК ниже уровня определения у 11% пациентов с исходно низкой вирусной нагрузкой и у 15% пациентов с высокой вирусной нагрузкой [174].

Таким образом, у иммунитета имеется целая система коингибирующих рецепторов и их лигандов, регулирующих контактным способом многие иммунологические функции. Это касается функции гомеостатической поддержки клеток иммунной системы, в рамках которой сигнальные пути контрольных точек препятствуют активации лимфоцитов при распознавании антигенов собственных тканей. Также коингибирующие молекулы контролируют активацию лимфоидных клеток в процессе ответа на чужеродные антигены, способствуют дифференцировке iTreg и Tfh, ограничивают выработку адаптивного иммунного ответа при элиминации антигена. Кроме того, эти молекулы способствуют развитию состояния *exhaustion*, которое является приспособительной реакцией иммунной системы на невозможность окончательно подавить и элиминировать антиген. Тем не менее, состояние *exhaustion* позволяет организму не умереть быстро в борьбе с патогеном, а выживать в условиях постоянно рецидивирующей инфекции и все-таки, пусть и не оптимально, но контролировать инфекционный процесс.

К сожалению, нарушение сигнальных путей контрольных точек в ту или иную сторону приводит к развитию тяжелой хронической патологии. Так, снижение функции этих сигнальных путей приводит к снижению толерантности к собственным антигенам организма, а это — аутоиммунная патология; или к снижению толерантности к антигенам пищи, симбионтов или безопасным антигенам окружающей среды, таким как пыльца растений или шерсть животных, а это — широко распространенная в развитых странах аллергия. С другой стороны, гиперактивация сигнальных путей контрольных

точек чревата, напротив, повышением толерантности к антигенам патогенов, а это — хронизация инфекций; или повышением толерантности к собственным малигнизированным клеткам, а это, увы, — широко распространенные онкологические заболевания.

Учитывая такую глубокую вовлеченность коингибирующих молекул в регуляцию иммунной системы и патогенез многих тяжелых заболеваний, составляющих основную массу причин инвалидизации и смерти пациентов, медикаментозное воздействие на сигнальные пути контрольных точек может коренным образом изменить исходы терапии указанной патологии. Понятно, что для коррекции аллергических и аутоиммунных заболеваний необходимы агонисты контрольных точек, а для воздействия на тяжелые хронические инфекции и онкологические заболевания — соответствующие блокаторы. Разработки в этой области идут полным ходом. К настоящему моменту уже имеются разрешенные FDA для клинического применения при онкологических заболеваниях блокаторы CTLA-4, PD-1 и PD-L1 и еще несколько препаратов проходят клинические испытания, например блокаторы LAG-3 и TIM-3. Понятно, что данный вид лечения не является панацеей. Часть пациентов не отвечают на терапию блокаторами контрольных точек. Однако обнадеживает тот факт, что кривая выживаемости тех пациентов, которые ответили на эту терапию, постепенно выходит на плато и находится в таком положении уже несколько лет наблюдений. Для тяжелых онкологических пациентов, у которых выживаемость прогнозируется в несколько месяцев, такие результаты можно расценить как рукотворное чудо. В настоящее время идет активное накопление и осмысление массива данных по клиническому применению этих препаратов, поиску эффективных биомаркеров, позволяющих до лечения выделить группу пациентов, способных хорошо ответить на данный тип лечения и поиску наиболее удачных схем комбинированной терапии, позволяющей нивелировать недостатки тех или иных видов лечения и достичь оптимального результата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

93. Bonato V.L., Medeiros A.I., Lima V.M., Dias A.R., Faccioliti L.H., Silva C.L. Downmodulation of CD18 and CD86 on macrophages and VLA-4 on lymphocytes in experimental tuberculosis. *Scand J Immunol.* 2001, 54, 564–573.
94. Murray R.A., Siddiqui M.R., Mendillo M., Krahenbuhl J., Kaplan G. *Mycobacterium leprae* inhibits dendritic cell activation and maturation. *J Immunol.* 2007, 178, 338–344.
95. Chaudhry A., Das S.R., Hussain A., Mayor S., George A., Bal V., Jameel S., Rath S. The Nef protein of HIV-1 induces loss of cell surface costimulatory molecules CD80 and CD86 in APCs. *J Immunol.* 2005, 175, 4566–4574.
96. Servet-Delprat C., Vidalain P.O., Bausinger H., Manié S., Le Deist F., Azocar O., Hanau D., Fischer A., Rabourdin-Combe C. Measles virus induces abnormal differentiation of CD40 ligand-activated human dendritic cells. *J Immunol.* 2000, 164, 1753–1760.
97. Sakai S., Kawamura I., Okazaki T., Tsuchiya K., Uchiyama R., Mitsuyama M. PD-1-PD-L1 pathway impairs T(h)1 immune response in the late stage of infection with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin. *Int Immunol.* 2010, 22, 915–925.
98. Anderson K.M., Czinn S.J., Redline R.W., Blanchard T.G. Induction of CTLA-4-mediated anergy contributes to persistent colonization in the murine model of gastric *Helicobacter pylori* infection. *J Immunol.* 2006, 176, 5306–5313.
99. Petrovas C., Casazza J.P., Brenchley J.M., Price D.A., Gostick E., Adams W.C., Precopio M.L., Schacker T., Roederer M., Douek D.C., Koup R.A. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8+ T cell survival in HIV infection. *J Exp Med.* 2006, 203, 2281–2292.
100. Bengsch B., Seigel B., Ruhl M., Timm J., Kuntz M., Blum H.E., Pircher H., Thimme R. Coexpression of PD-1, 2B4, CD160 and KLRG1 on exhausted HCV-specific CD8+ T cells is linked to antigen recognition and T cell differentiation. *PLoS Pathog.* 2010, 6, e1000947.
101. Cornberg M., Kenney L.L., Chen A.T., Waggoner S.N., Kim S.-K., Dienes H.P., Welsh R.M., Selin L.K. Clonal Exhaustion as a Mechanism to Protect Against Severe Immunopathology and Death from an Overwhelming CD8 T Cell Response. *Front Immunol.* 2013, 4, 475–479.
102. Akbar A.N., Henson S.M. Are senescence and exhaustion intertwined or unrelated processes that compromise immunity? *Nat Rev Immunol.* 2011, 11(4), 289–295.
103. Plunkett F.J., Franzese O., Finney H.M., Fletcher J.M., Belaramani L.L., Salmon M., Dokal I., Webster D., Lawson A.D., Akbar A.N. The loss of telomerase activity in highly differentiated CD8+CD28-CD27- T cells is associated with decreased Akt (Ser473) phosphorylation. *J Immunol.* 2007, 178(12), 7710–7719.
104. Wherry E.J. T cell exhaustion. *Nat Immunol.* 2011, 12(6), 492–499.
105. Henson S.M., Franzese O., Macaulay R., Libri V., Azevedo R.I., Kiani-Alikhan S., Plunkett F.J., Masters J.E., Jackson S., Griffiths S.J., Pircher H.P., Soares M.V., Akbar A.N. KLRG1 signaling induces defective Akt (ser473) phosphorylation and

- proliferative dysfunction of highly differentiated CD8⁺ T cells. *Blood* 2009, 113(26), 6619–6628.
106. Wherry E.J., Blattman J.N., Murali-Krishna K., van der Most R., Ahmed R. Viral persistence alters CD8 T-cell immunodominance and tissue distribution and results in distinct stages of functional impairment. *J Virol.* 2003, 77(8), 4911–4927.
 107. Peretz Y., He Z., Shi Y., Yassine-Diab B., Goulet J.P., Bordi R., Filali-Mouhim A., Loubert J.B., El-Far M., Dupuy F.P., Boulassel M.R., Tremblay C., Routy J.P., Bernard N., Balderas R., Haddad E.K., Sékaly R.P. CD160 and PD-1 co-expression on HIV-specific CD8 T cells defines a subset with advanced dysfunction. *PLoS Pathog.* 2012, 8(8), e1002840.
 108. McLane L.M., Banerjee P.P., Cosma G.L., Makedonas G., Wherry E.J., Orange J.S., Betts M.R. Differential localization of T-bet and eomes in CD8 T cell memory populations. *J Immunol.* 2013, 190(7), 3207–3215.
 109. Shin H., Blackburn S.D., Intlekofer A.M., Kao C., Angelosanto J.M., Reiner S.L., Wherry E.J. A role for the transcriptional repressor Blimp-1 in CD8(+) T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity* 2009, 31(2), 309–320.
 110. Paley M.A., Kroy D.C., Odorizzi P.M., Johnnidis J.B., Dolfi D.V., Barnett B.E., Bikoff E.K., Robertson E.J., Lauer G.M., Reiner S.L., Wherry E.J. Progenitor and terminal subsets of CD8⁺ T cells cooperate to contain chronic viral infection. *Science.* 2012, 338, 1220–1225.
 111. Crawford A., Angelosanto J.M., Kao C., Doering T.A., Odorizzi P.M., Barnett B.E., Wherry E.J. Molecular and transcriptional basis of CD4⁺ T cell dysfunction during chronic infection. *Immunity.* 2014, 40, 289–302.
 112. Kurtschick P.D., Raziorrouh B., Schraut W., Backmund M., Wächter M., Wendtner C.M., Bengsch B., Thimme R., Denk G., Zachoval R., Dick A., Spannagl M., Haas J., Diepolder H.M., Jung M.C., Gruener N.H. Dysfunctional CD8(+) T cells in hepatitis B and C are characterized by a lack of antigen-specific T-bet induction *J Exp Med.* 2014, 211, 2047–2059.
 113. Fuller M.J., Khanolkar A., Tebo A.E., Zajac A.J. Maintenance, loss, and resurgence of T cell responses during acute, protracted, and chronic viral infections. *J. Immunol.* 2004, 172, 4204–4214.
 114. Mackerness K.J., Cox M.A., Lilly L.M., Weaver C.T., Harrington L.E., Zajac A.J. Pronounced virus-dependent activation drives exhaustion but sustains IFN- γ transcript levels. *J. Immunol.* 2010, 185, 3643–3651.
 115. Angelosanto J.M., Blackburn S.D., Crawford A., Wherry E.J. Progressive Loss of Memory T Cell Potential and Commitment to Exhaustion during Chronic Viral Infection. *J. Virol.* 2012, 86, 8161–8170.
 116. Moorman J.P., Zhang C.L., Ni L., Ma C.J., Zhang Y., Wu X.Y., Thayer P., Islam T.M., Borthwick T., Yao Z.Q. Impaired hepatitis B vaccine response during chronic hepatitis C infection: involvement of the PD-1 pathway in regulating CD4⁺ T cell responses. *Vaccine.* 2011, 29, 3169–3176.
 117. McMahan R.H., Golden-Mason L., Nishimura M.I., McMahon B.J., Kemper M., Allen T.M., Gretch D.R., Rosen H.R. Tim-3 expression on PD-1⁺ HCV-specific human CTLs is associated with viral persistence, and its blockade restores hepatocyte-directed in vitro cytotoxicity. *J. Clin. Invest.* 2010, 1172, 4546–2557.
 118. Barber D.L., Wherry E.J., Masopust D., Zhu B., Allison J.P., Sharpe A.H., Freeman G.J., Ahmed R. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature.* 2006, 439, 682–687.
 119. Penaloza-MacMaster P., Kamphorst A.O., Wieland A., Araki K., Iyer S.S., West E.E., O'Mara L., Yang S., Konieczny B.T., Sharpe A.H., Freeman G.J., Rudensky A.Y., Ahmed R. Interplay between regulatory T cells and PD-1 in modulating T cell exhaustion and viral control during chronic LCMV infection. *J Exp Med.* 2014, 211(9), 1905–1918.
 120. Day C.L., Kaufmann D.E., Kiepiela P., Brown J.A., Moodley E.S., Reddy S., Mackey E.W., Miller J.D., Leslie A.J., DePierres C., Mncube Z., Duraiswamy J., Zhu B., Eichbaum Q., Altfeld M., Wherry E.J., Coovadia H.M., Goulder P.J., Klennerman P., Ahmed R., Freeman G.J., Walker B.D. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006, 443(7109), 350–410.
 121. Boni C., Fisicaro P., Valdatta C., Amadei B., Di Vincenzo P., Giuberti T., Laccabue D., Zerbini A., Cavalli A., Missale G., Bertolotti A., Ferrari C. Characterization of hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell dysfunction in chronic HBV infection. *J Virol* 2007, 81(8), 4215–4225.
 122. Bengsch B., Seigel B., Ruhl M., Timm J., Kuntz M., Blum H.E., Pircher H., Thimme R. Coexpression of PD-1, 2B4, CD160 and KLRG1 on exhausted HCV-specific CD8⁺ T cells is linked to antigen recognition and T cell differentiation. *PLoS Pathog.* 2010, 6(6), e1000947.
 123. Kared H., Fabre T., Bédard N., Bruneau J., Shoukry N.H. Galectin-9 and IL-21 mediate cross-regulation between Th17 and Treg cells during acute hepatitis C. *PLoS Pathog.* 2013, 9(6), e1003422.
 124. Schurich A., Khanna P., Lopes A.R., Han K.J., Peppas D., Micco L., Nebbia G., Kennedy P.T., Geretti A.M., Dusheiko G., Maini M.K. Role of the coinhibitory receptor cytotoxic T lymphocyte antigen-4 on apoptosis-prone CD8 T cells in persistent hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2011, 53(5), 1494–1503.
 125. Nebbia G., Peppas D., Schurich A., Khanna P., Singh H.D., Cheng Y., Rosenberg W., Dusheiko G., Gilson R., ChinAleong J., Kennedy P., Maini M.K. Upregulation of the Tim-3/galectin-9 pathway of T cell exhaustion in chronic hepatitis B virus infection. *PLoS One* 2012, 7(10), e47648.
 126. Klapper J.A., Downey S.G., Smith F.O., Yang J.C., Hughes M.S., Kammula U.S., Sherry R.M., Royal R.E., Steinberg S.M., Rosenberg S. High-dose interleukin-2

- for the treatment of metastatic renal cell carcinoma: a retrospective analysis of response and survival in patients treated in the Surgery Branch at the National Cancer Institute between 1986 and 2006. *Cancer*. 2008, 113(2), 293–301.
127. *Su Z., Dannull J., Heiser A., Yancey D., Pruitt S., Madden J., Coleman D., Niedzwiecki D., Gilboa E., Vieweg J.* Immunological and clinical responses in metastatic renal cancer patients vaccinated with tumor RNA-transfected dendritic cells. *Cancer Research*. 2003, 63(9), 2127–2133.
 128. *Krane R.J., Carpinito G.A., Ross S.D., Lavin P.T., Osband M.E.* Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autolymphocyte therapy. Low toxicity outpatient approach to adoptive immunotherapy without use of in vivo interleukin-2. *Urology*. 1990, 35(5), 417–422.
 129. *Ettinger D.S., Akerley W., Borghaei H., Chang A.C., Cheney R.T., Chirieac L.R., D'Amico T.A., Demmy T.L., Ganti A.K., Govindan R., Grannis Jr F.W., Horn L., Jahan T.M., Jahanzeb M., Kessinger A., Komaki R., Kong F.M., Kris M.G., Krug L.M., Lennes I.T., Loo Jr B.W., Martins R., O'Malley J., Osarogiagbon R.U., Otterson G.A., Patel J.D., Pinder-Schenck M.C., Pisters K.M., Reckamp K., Riely G.J., Rohren E., Swanson S.J., Wood D.E., Yang S.C., Hughes M., Gregory K.M.* Non-small cell lung cancer. *J Natl Compr Canc Netw*. 2012, 10, 1236–1271.
 130. *Mapara M., Sykes M.* Tolerance and cancer: mechanisms of tumor evasion and strategies for breaking tolerance. *J. Clin. Oncol.* 2004, 22(6), 1136–1151.
 131. *Liu Y., Zeng B., Zhang Z., Zhang Y., Yang R.* B7-H1 on myeloid-derived suppressor cells in immune suppression by a mouse model of ovarian cancer. *Clin Immunol.* 2008, 129, 471–481.
 132. *Nishikawa H., Sakaguchi S.* Regulatory T cells in tumor immunity. *Int J Cancer* 2010, 127, 759–767.
 133. *Lewis C.E., Pollard J.W.* Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res*. 2006, 66, 605–612.
 134. *Katz L.H., Li Y., Chen J.S., Munoz N.M., Majumdar A., Chen J., Mishra L.* Targeting TGF-beta signaling in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2013, 17, 743–760.
 135. *Yamamoto R., Nishikori M., Kitawaki T., Sakai T., Hishizawa M., Tashima M., Kondo T., Ohmori K., Kurata M., Hayashi T., Uchiyama T.* PD-1-PD-1 ligand interaction contributes to immunosuppressive microenvironment of Hodgkin lymphoma. *Blood* 2008, 111, 3220–3224.
 136. *Fourcade J., Kudela P., Sun Z., Shen H., Land S.R., Lenzner D., Guillaume P., Luescher I.F., Sander C., Ferrone S., Kirkwood J.M., Zarour H.M.* PD-1 is a regulator of NY-ESO-1-specific CD8+ T cell expansion in melanoma patients. *J Immunol*. 2009, 182, 5240–5249.
 137. *Ahmadzadeh M., Johnson L.A., Heemskerk B., Wunderlich J.R., Dudley M.E., White D.E., Rosenberg S.A.* Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 2009, 114, 1537–1544.
 138. *Gehring A.J., Ho Z.Z., Tan A.T., Aung M.O., Lee K.H., Tan K.C., Lim S.G., Bertoletti A.* Profile of tumor antigen-specific CD8 T cells in patients with hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2009, 137, 682–690.
 139. *Saito H., Kuroda H., Matsunaga T., Osaki T., Ikeguchi M.* Increased PD-1 expression on CD4+ and CD8+ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer. *J Surg Oncol*. 2013, 107, 517–522.
 140. *Fourcade J., Sun Z., Benallaoua M., Guillaume P., Luescher I.F., Sander C., Kirkwood J.M., Kuchroo V., Zarour H.M.* Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8+ T cell dysfunction in melanoma patients. *J Exp Med*. 2010, 207, 2175–2186.
 141. *Woo S.R., Turnis M.E., Goldberg M.V., Bankoti J., Selby M., Nirschl C.J., Bettini M.L., Gravano D.M., Vogel P., Liu C.L., Tangsombatvisit S., Grosso J.F., Netto G., Smeltzer M.P., Chaux A., Utz P.J., Workman C.J., Pardoll D.M., Korman A.J., Drake C.G., Vignali D.A.* Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res*. 2012, 72, 917–927.
 142. *Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R., Gettinger S.N., Smith D.C., McDermott D.F., Powderly J.D., Carvajal R.D., Sosman J.A., Atkins M.B., Leming P.D., Spigel D.R., Antonia S.J., Horn L., Drake C.G., Pardoll D.M., Chen L., Sharfman W.H., Anders R.A., Taube J.M., McMiller T.L., Xu H., Korman A.J., Jure-Kunkel M., Agrawal S., McDonald D., Kollia G.D., Gupta A., Wigginton J.M., Szol M.* Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*. 2012, 366, 2443–2454.
 143. *Ghebeh H., Mohammed S., Al-Omair A., Qattan A., Lehe C., Al-Qudaihi G., Elkum N., Alshabanah M., Bin Amer S., Tulbah A., Ajarim D., Al-Tweigeri T., Dermime S.* The B7-H1 (PD-L1) T lymphocyte-inhibitory molecule is expressed in breast cancer patients with infiltrating ductal carcinoma: correlation with important high-risk prognostic factors. *Neoplasia* 2006, 8, 190–198.
 144. *Yang C.Y., Lin M.W., Chang Y.L., Wu C.T., Yang P.C.* Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. *Eur J Cancer* 2014, 50, 1361–1369.
 145. *Thompson R.H., Kuntz S.M., Leibovich B.C., Dong H., Lohse C.M., Webster W.S., Sengupta S., Frank I., Parker A.S., Zincke H., Blute M.L., Sebo T.J., Cheville J.C., Kwon E.D.* Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. *Cancer Res*. 2006, 66, 3381–3385.
 146. *Nomi T., Sho M., Akahori T., Hamada K., Kubo A., Kanehiro H., Nakamura S., Enomoto K., Yagita H., Azuma M., Nakajima Y.* Clinical significance and therapeutic potential of the programmed death-1

- ligand/ programmed death-1 pathway in human pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2007, 13, 2151–2157.
147. Taube J.M., Anders R.A., Young G.D., Xu H., Sharma R., McMiller T.L., Chen S., Klein A.P., Pardoll D.M., Topalian S.L., Chen L. Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med.* 2012, 4, 127–137.
 148. Lin Y.-M., Sung W.-W., Hsieh M.-J., Tsai S.-C., Lai H.-W., Yang S.-M., Shen K.-H., Chen M.-K., Lee H., Yeh K.-T., Chen C.-J. High PD-L1 Expression Correlates with Metastasis and Poor Prognosis in Oral Squamous Cell Carcinoma. *PLoS One.* 2015, 10(11), e0142656.
 149. Hodi F.S., O'Day S.J., McDermott D.F., Weber R.W., Sosman J.A., Haanen J.B., Gonzalez R., Robert C., Schadendorf D., Hassel J.C., Akerley W., van den Eertwegh A.J., Lutzky J., Lorigan P., Vaubel J.M., Linette G.P., Hogg D., Ottensmeier C.H., Lebbé C., Peschel C., Quirt I., Clark J.I., Wolchok J.D., Weber J.S., Tian J., Yellin M.J., Nichol G.M., Hoos A., Uria W.J. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med.* 2010, 363, 711–723.
 150. Ribas A., Kefford R., Marshall M.A., Punt C.J., Haanen J.B., Marmol M., Garbe C., Gogas H., Schachter J., Linette G., Lorigan P., Kendra K.L., Maio M., Trefzer U., Smylie M., McArthur G.A., Dreno B., Nathan P.D., Mackiewicz J., Kirkwood J.M., Gomez-Navarro J., Huang B., Pavlov D., Hauschild A. Phase III randomized clinical trial comparing tremelimumab with standard-of-care chemotherapy in patient with advanced melanoma. *J Clin Oncol.* 2013, 31(5), 616–622.
 151. Yang J.C., Hughes M., Kammula U., Royal R., Sherry R.M., Topalian S.L., Suri K.B., Levy C., Allen T., Mavroukakis S., Lowy I., White D.E., Rosenberg S.A. Ipilimumab (anti-CTLA4 antibody) causes regression of metastatic renal cell cancer associated with enteritis and hypophysitis. *J. Immunother.* 2007, 30(8), 825–830.
 152. Truong P., Rahal A., Kallail K.J. Metastatic Hepatocellular Carcinoma Responsive to Pembrolizumab. *Cureus.* 2016, 8(6), e631.
 153. Motzer R.J., Escudier B., McDermott D.F., George S., Hammers H.J., Srinivas S., Tykodi S.S., Sosman J.A., Procopio G., Plimack E.R., Castellano D., Choueiri T.K., Gurney H., Donskov F., Bono P., Wagstaff J., Gaudier T.C., Ueda T., Tomita Y., Schutz F.A., Kollmannsberger C., Larkin J., Ravaud A., Simon J.S., Xu L.A., Waxman I.M., Sharma P. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 2015, 373, 1803–1813.
 154. Reardon D.A., Gokhale P.C., Klein S.R., Ligon K.L., Rodig S.J., Ramkissoon S.H., Jones K.L., Conway A.S., Liao X., Zhou J., Wen P.Y., Van Den Abbeele A.D., Hodi F.S., Qin L., Kohl N.E., Sharpe A.H., Dranoff G., Freeman G.J. Glioblastoma Eradication Following Immune Checkpoint Blockade in an Orthotopic, Immunocompetent Model. *Cancer Immunol Res.* 2016, 4(2), 124–135.
 155. Armand P., Shipp M.A., Ribrag V., Michot J.M., Zinzani P.L., Kuruvilla J., Snyder E.S., Ricart A.D., Balakumaran A., Rose S., Moskowitz C.H. Programmed Death-1 Blockade With Pembrolizumab in Patients With Classical Hodgkin Lymphoma After Brentuximab Vedotin Failure. *J Clin Oncol.* 2016, 27, pii: JCO673467.
 156. Garon E.B., Rizvi N.A., Hui R., Leighl N., Balmanoukian A.S., Eder J.P., Patnaik A., Aggarwal C., Gubens M., Horn L., Carcereny E., Ahn M.J., Felip E., Lee J.S., Hellmann M.D., Hamid O., Goldman J.W., Soria J.C., Dolled-Filhart M., Rutledge R.Z., Zhang J., Luncford J.K., Rangwala R., Lubiniecki G.M., Roach C., Emancipator K., Gandhi L. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015, 372(21), 2018–2028.
 157. Fehrenbacher L., Spira A., Ballinger M., Kowanzet M., Vansteenkiste J., Mazieres J., Park K., Smith D., Artal-Cortes A., Lewanski C., Braith F., Waterkamp D., He P., Zou W., Chen D.S., Yi J., Sandler A., Rittmeyer A. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet.* 2016, 387(10030), 1837–1846.
 158. Herbst R.S., Baas P., Kim D.W., Felip E., Pérez-Gracia J.L., Han J.Y., Molina J., Kim J.H., Arvis C.D., Ahn M.J., Majem M., Fidler M.J., de Castro Jr G., Garrido M., Lubiniecki G.M., Shentu Y., Im E., Dolled-Filhart M., Garon E.B. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet.* 2016, 387(10027), 1540–1550.
 159. Buchbinder E.I., Hodi F.S. Melanoma in 2015: Immune-checkpoint blockade – durable cancer control. *Nat Rev Clin Oncol.* 2016, 13(2), 77–78.
 160. Hofmann L., Forschner A., Loquai C., Goldinger S.M., Zimmer L., Ugurel S., Schmidgen M.I., Gutzmer R., Utikal J.S., Göppner D., Hassel J.C., Meier F., Tietze J.K., Thomas I., Weishaupt C., Leverkus M., Wahl R., Dietrich U., Garbe C., Kirchberger M.C., Eigentler T., Berking C., Gesierich A., Krackhardt A.M., Schadendorf D., Schuler G., Dummer R., Heinzerling L.M. Cutaneous, gastrointestinal, hepatic, endocrine, and renal side-effects of anti-PD-1 therapy. *Eur J Cancer.* 2016, 60, 190–209.
 161. Ludlow S.P., Kay N. Delayed dermatologic hypersensitivity reaction secondary to ipilimumab. *J Immunother.* 2015, 38(4), 165–166.
 162. Abdel-Wahab N., Shah M., Suarez-Almazor M.E. Adverse Events Associated with Immune Checkpoint Blockade in Patients with Cancer: A Systematic Review of Case Reports. *PLoS One.* 2016, 11(7), e0160221.
 163. Miyoshi Y., Ogawa O., Oyama Y. Nivolumab, an Anti-Programmed Cell Death-1 Antibody, Induces Fulminant Type 1 Diabetes. *Tohoku J Exp Med.* 2016, 239(2), 155–158.
 164. Min L., Hodi F.S., Giobbie-Hurder A., Ott P.A., Luke J.J., Donahue H., Davis M., Carroll R.S., Kaiser U.B. Systemic high-dose corticosteroid treatment does

- not improve the outcome of ipilimumab-related hypophysitis: a retrospective cohort study. *Clin Cancer Res.* 2015, 21(4), 749–755.
165. Hsieh A.H., Ferman M., Brown M.P., Andrews J.M. Vedolizumab: a novel treatment for ipilimumab-induced colitis. *BMJ Case Rep.* 2016, 2016, pii: bcr2016216641.
 166. Kong B.Y., Micklethwaite K.P., Swaminathan S., Kefford R.F., Carlino M.S. Autoimmune hemolytic anemia induced by anti-PD-1 therapy in metastatic melanoma. *Melanoma Res.* 2016, 26(2), 202–204.
 167. Postow M.A., Chesney J., Pavlick A.C., Robert C., Grossmann K., McDermott D., Linette G.P., Meyer N., Giguere J.K., Agarwala S.S., Shaheen M., Ernstoff M.S., Minor D., Salama A.K., Taylor M., Ott P.A., Rollin L.M., Horak C., Gagnier P., Wolchok J.D., Hodi F.S. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med.* 2015, 372, 2006–2017.
 168. Larkin J., Hodi F.S., Wolchok J.D. Combined Nivolumab and Ipilimumab or Monotherapy in Untreated Melanoma. *N Engl J Med.* 2015, 373(13), 1270–1271.
 169. Yamazaki N., Uhara H., Fukushima S., Uchi H., Shibagaki N., Kiyohara Y., Tsutsumida A., Namikawa K., Okuyama R., Otsuka Y., Tokudome T. Phase II study of the immune-checkpoint inhibitor ipilimumab plus dacarbazine in Japanese patients with previously untreated, unresectable or metastatic melanoma. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2015, 76(5), 969–975.
 170. de Velasco G., Krajewski K.M., Albiges L., Awad M.M., Bellmunt J., Hodi F.S., Choueiri T.K. Radiologic Heterogeneity in Responses to Anti-PD-1/PD-L1 Therapy in Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Cancer Immunol Res.* 2016, 4(1), 12–17.
 171. Wightman F., Solomon A., Kumar S.S., Urriola N., Gallagher K., Hiener B., Palmer S., Mcneil C., Garsia R., Lewin S.R. Effect of ipilimumab on the HIV reservoir in an HIV-infected individual with metastatic melanoma. *AIDS.* 2015, 29(4), 504–506.
 172. Fuller M.J., Callendret B., Zhu B., Freeman G.J., Hasselschwert D.L., Satterfield W., Sharpe A.H., Dustin L.B., Rice C.M., Grakoui A., Ahmed R., Walker C.M. Immunotherapy of chronic hepatitis C virus infection with antibodies against programmed cell death-1 (PD-1). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2013, 110, 15001–15006.
 173. Davar D., Wilson M., Pruckner C., Kirkwood J.M. PD-1 Blockade in Advanced Melanoma in Patients with Hepatitis C and/or HIV. *Case Rep Oncol Med.* 2015, 2015, 737389.
 174. Gardiner D., Lalezari J., Lawitz E., DiMicco M., Ghalib R., Reddy K.R., Chang K.M., Sulkowski M., Marro S.O., Anderson J., He B., Kansra V., McPhee F., Wind-Rotolo M., Grasela D., Selby M., Korman A.J., Lowy I. A randomized, double-blind, placebo-controlled assessment of BMS-936558, a fully human monoclonal antibody to programmed death-1 (PD-1), in patients with chronic hepatitis C virus infection. *PLoS One.* 2013, 8, e63818.

CO-INHIBITORY MOLECULES IN NORMAL AND PATHOLOGICAL CONDITIONS. IMMUNOLOGICAL CHECKPOINTS.

Part 2. Co-inhibitory molecules part in oncology and infectious diseases. Checkpoints' blockers monoclonal antibodies

A. P. Topygina^{1,2*}

*E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

¹G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology,
Moscow, Russia;

²Chair of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

*E-mail: toptyginaanna@rambler.ru

Received 16.01.2017. Accepted: 25.12.2017

The differentiation and protective capacity of antigen-specific T-cells are regulated by both positive and negative signals. Molecules of the B7/CD28 family are very important for regulating T-cell activation and peripheral tolerance. In particular, PD-1, CTLA-4 and other co-inhibitory molecules play an active role in dampening of excessive immune activation which is critical for successful clearance of a pathogen without harm to the host. These co-inhibitory molecules (immunological checkpoints) are essential for inducible Treg differentiation and function. On the other hand, overexpression of co-inhibitory molecules can lead to T-cell exhaustion, an adaptive property that occurs in T-cells due to persistent systemic antigen exposure. Exhausted T-cells are described as effector T-cells with decreased cytokine expression and effector function. Here, we review a critical role of co-inhibitory molecules which they play in immunopathogenesis of four immunological syndromes: allergy, autoimmune diseases, chronic infection, and cancer. Reversal of exhausted T-cells by blocking co-inhibitory pathways has become an important area due to its therapeutic applications in oncology and chronic viral infections.

Key words: PD-1, CTLA-4, immunological checkpoints, T-cell exhaustion, allergy, autoimmune diseases, chronic infection, cancer

Authors:

Toptygina A.P.,  PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cytokines, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology; Professor Chair of Immunology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow, Russia. 125212 Moscow, Admirala Makarova ul., 10, G.N. Gabrichevsky Research Institute for Epidemiology and Microbiology. Tel.: +7(495) 452-18-01 (off.), +7(916)389-66-04 (mob.). **E-mail:** toptyginaanna@rambler.ru