

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ БЛОКАДЫ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК И ЕЕ ПРИМЕНЕНИЕ В ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

© 2019 г. В. М. Мурай<sup>1</sup>, Е. Ю. Смирнов<sup>1</sup>, Н. А. Барлев<sup>1</sup>. \*

<sup>1</sup>Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

\*E-mail: nick.a.barlev@gmail.com

Поступила в редакцию 09.01.2019 г.

После доработки 08.05.2019 г.

Принята к публикации 13.05.2019 г.

Блокада иммунных контрольных точек способна вызывать устойчивые ответы в раковых клетках различных типов и является основой для разработки новых методов терапии рака. Тем не менее, история успешных ответов на иммунотерапию в данный момент ограничивается лишь небольшим количеством пациентов, свидетельствуя о необходимости разработки новых, более эффективных подходов. К настоящему моменту уже накоплены данные большого числа доклинических и клинических исследований, показывающих существенный терапевтический потенциал отрицательно и положительно ко-стимулирующих иммунитет молекул. Однако до сих пор в понимании основных биологических механизмов и функций этих молекул имеются значительные пробелы, при том что эти знания жизненно необходимы для предсказания и разработки методов иммунотерапии следующего поколения. В данном обзоре мы рассмотрим имеющиеся данные о механизмах ко-стимуляции Т-клеток и блокады контрольных точек, в первую очередь молекул CTLA4 и PD-1, а также отметим наиболее важные моменты, требующие дальнейшего изучения.

**Ключевые слова:** блокада иммунных контрольных точек, противоопухолевая терапия, CTLA4, PD-1, активация Т-клеток

**DOI:** 10.1134/S0041377119080030

В норме в организме присутствуют регуляторные механизмы, поддерживающие иммунный ответ в пределах желаемого физиологического диапазона и защищающие организм от аутоиммунных реакций. Иммунологическая толерантность достигается через множество различных механизмов, которые можно разделить на центральные и периферические. Центральная толерантность опосредована клональной делецией высокоаффинных самореактивных клонов в ходе отрицательной селекции в тимусе. Однако поскольку самореактивность выбирается в ходе положительной селекции в тимусе, для ограничения аутологической реактивности требуются дополнительные механизмы. Периферическая толерантность обеспечивается несколькими механизмами, включающими регуляторные Т-клетки (Treg), анергию Т-клеток, внеклеточные толерогенные сигналы и делецию периферических клонов. Иммунная система на протяжении развития опухоли оказывает на нее сильное избирательное давление, что приводит к иммунному

редактированию опухолевых клеток (Dunn et al., 2004). Как результат, злокачественные опухоли для защиты от иммунного ответа часто используют совместно механизмы иммуносупрессии и иммунотолерантности.

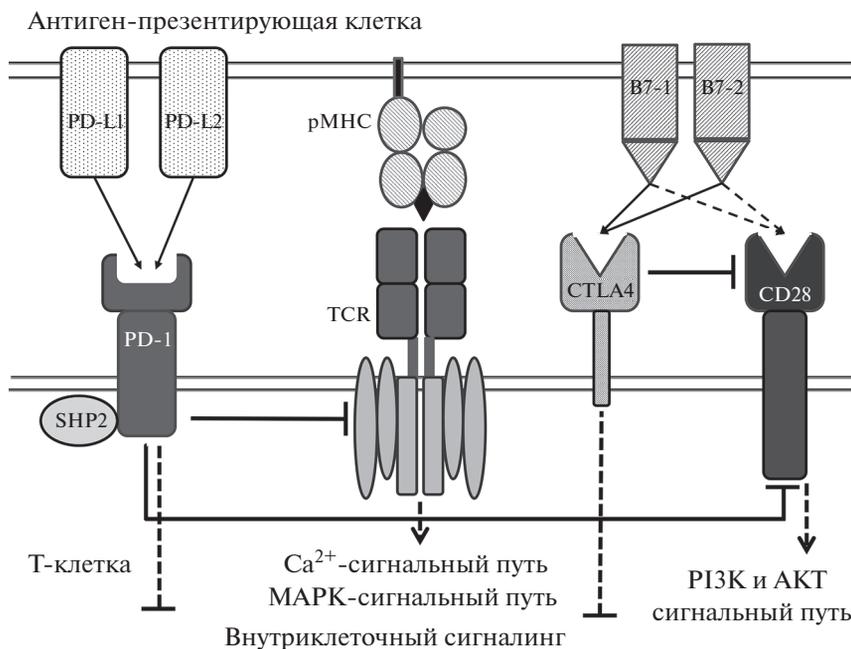
Одним из способов борьбы с иммуносупрессией является блокада иммунных контрольных точек. В широком смысле иммунными контрольными точками называют поступающие в Т-клетки ко-стимулирующие и ко-ингибирующие сигналы, находящиеся в динамическом балансе. Смещение данного баланса в ту или иную сторону вызывает развитие определенной фазы Т-клеточного иммунного ответа. Связывание ключевых белков, участвующих в регуляции баланса (CTLA4 и PD1; более подробно о них ниже), является перспективным методом лечения онкологических заболеваний и называется блокадой иммунных контрольных точек (или блокадой контрольных точек, далее – БКТ).

БКТ ингибирует отрицательную ко-стимуляцию Т-клеток, что позволяет опухоль-реактивным Т-клеткам формировать эффективный противоопухолевый ответ, основанный на распознавании опухолевых антигенов (Pardoll, 2012; Sharma, Allison, 2015; Topalian et al., 2015; Sharma et al., 2017; Tang J. et al., 2018; Ribas, Wolchok, 2018). В настоящее время мето-

**Принятые сокращения:** БКТ – блокада иммунных контрольных точек, APC – антиген-презентирующие клетки, ADCC – антитело-зависимая клеточная цитотоксичность, FDA – Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств, IgAЕ – нежелательные явления, связанные с иммунизацией, PLC – фосфолипаза С, TCR – Т-клеточный рецептор.

**Таблица 1.** Перечень типов опухолей и препаратов БКТ-терапии, получивших одобрение FDA

Тип опухоли	Терапевтический агент	Год апробации FDA
Меланома	Ипилимумаб	2011
Меланома	Ниволумаб	2014
Меланома	Пембролизумаб	2014
Немелкоклеточный рак легкого	Ниволумаб	2015
Немелкоклеточный рак легкого	Пембролизумаб	2015
Меланома (BRAF дикого типа)	Ипилимумаб + Ниволумаб	2015
Меланома (адьювант)	Ипилимумаб	2015
Почечно-клеточный рак	Ниволумаб	2015
Лимфома Ходжкина	Ниволумаб	2016
Уротелиальный рак	Атезолизумаб	2016
Плоскоклеточный рак головы и шеи	Ниволумаб	2016
Плоскоклеточный рак головы и шеи	Пембролизумаб	2016
Меланома (любой статус BRAF)	Ипилимумаб + Ниволумаб	2016
Немелкоклеточный рак легкого	Атезолизумаб	2016
Лимфома Ходжкина	Пембролизумаб	2017
Клеточная карцинома Меркеля	Авелумаб	2017
Уротелиальный рак	Авелумаб	2017
Уротелиальный рак	Дурвалумаб	2017
Уротелиальный рак	Ниволумаб	2017
Уротелиальный рак	Пембролизумаб	2017
MSI-высокие или MMR-дефицитные солидные опухоли любой гистологии	Пембролизумаб	2017
MSI-высокий, MMR-дефицитный метастатический колоректальный рак	Ниволумаб	2017
Детская меланома	Ипилимумаб	2017
Гепатоцеллюлярная карцинома	Ниволумаб	2017
Рак желудка и желудочно-кишечного тракта	Пембролизумаб	2017
Немелкоклеточный рак легкого	Дурвалумаб	2018
Почечно-клеточный рак	Ипилимумаб + Ниволумаб	2018



**Рис. 1.** Молекулярные механизмы CTLA4- и PD-1-опосредованного снижения уровня активации Т-клеток. Схема молекулярных взаимодействий и передачи сигналов внутрь клетки, индуцированных связыванием CTLA4 и PD-1 с их соответствующими лигандами. Указана возможность дополнительных внутриклеточных механизмов сигналинга, опосредованных CTLA4 или PD-1. SHP2 – протеинтирозиновая фосфатаза 2, PI3K – фосфоинозитид-3-киназа, AKT – протеинкиназа В.

ды лечения с применением БКТ получили одобрение Управления по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) для терапии широкого спектра раковых опухолей (табл. 1). В 2011 г. FDA впервые одобрило применение моноклонального терапевтического антитела ипилимумаба (ipilimumab, анти-CTLA4) для лечения метастатической меланомы. К настоящему времени для лечения большого количества типов опухолей санкционировано еще 5 методов терапии, основанных на БКТ и нацеленных на систему распознавания лиганд/рецептор (PD-L1/PD-1). Кроме того, комбинированное воздействие ипилимумабом и ниволумабом (nivolumab, анти-PD-1 моноклональное антитело) при терапии прогрессирующей меланомы показало более благоприятные результаты, чем монотерапия каждым из этих веществ по отдельности. Однако многие лекарства дают положительный эффект только в определенных типах рака, и механизмы их влияния на иммунные контрольные точки еще не ясны до конца.

В данном обзоре мы рассмотрим, как отрицательно ко-стимулирующие молекулы CTLA4 и PD-1 снижают уровень активации Т-клеток. В первую очередь мы обсудим известные данные о регуляторных механизмах CTLA4 и PD-1 и их терапевтическом применении. Мы также обсудим современные постулаты и важнейшие достижения, связанные с механизмами действия анти-PD-1 и анти-CTLA4 терапии в контексте противоопухолевого иммунитета. Понимание фундаментальных биологических яв-

ний, лежащих в основе анти-PD-1 и анти-CTLA4 терапии, критически необходимо для дальнейших эффективных трансляционных и клинических исследований. В контексте текущего состояния противораковой иммунотерапии, наиболее полное понимание механизмов анти-CTLA4 и анти-PD-1 блокады будет иметь решающее значение для их эффективного сочетания с другими иммунотерапевтическими, химиотерапевтическими и целевыми подходами.

### МЕХАНИЗМЫ CTLA4-ОПОСРЕДОВАННОЙ ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ КО-СТИМУЛЯЦИИ

Экспрессия и функция белка-рецептора CTLA4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4), также известного как CD152, неразрывно связаны с активацией Т-клеток. CTLA4 конститутивно экспрессируется на поверхности регуляторных Т-лимфоцитов, но в нормальных лимфоцитах отсутствует. Уровень экспрессии CTLA4 повышается сразу же после активации Т-клеточного рецептора (TCR) (сигнал 1), причем его экспрессия достигает пика через 2–3 сут после активации (Walunas et al., 1994; Brunner et al., 1999). Важно отметить, что CTLA4 конкурирует с другим рецептором, CD28, за связывание с мембранными белками семейства B7 – B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86), которые располагаются на поверхности дендритных или антиген-репрезентирующих клеток. В отличие от CD28, который стимулирует Т-лимфоциты, CTLA4, наоборот, ослабляет передачу сигналов через TCR. При этом CTLA4 связывается с CD80 и

CD86 с более высокой силой и аффинностью, чем CD28 (Linsley et al., 1991, 1994; van der Merwe et al., 1997; рис. 1). Оба рецептора дендритных клеток, B7-1 и B7-2, через связывание с CD28 обеспечивают положительные стимулирующие сигналы (Lanier et al., 1995; сигнал 2) для активации Т-клеток. Соответственно конкурентное ингибирование обеих этих молекул-рецепторов с помощью CTLA4 ведет к эффективному ослаблению уровня активации Т-клеток. Кроме того, связывание CD28 и CTLA4 с рецептором B7-1 происходит достаточно быстро (van der Merwe et al., 1997), что, в сочетании с различиями в силе связывания, также способствует конкурентному ингибированию CD28 за счет предпочтительного связывания с CTLA4, которое, наоборот, ведет к истощению Т-клеток.

На молекулярном уровне было показано, что при активации Т-клеток, помимо повышения уровня экспрессии, уже имеющийся во внутриклеточных везикулах, CTLA4 быстро переправляется в иммунный синапс (Egen, Allison, 2002). Степень увеличения содержания CTLA4 в иммунном синапсе напрямую коррелирует с силой TCR-опосредованного сигнала. После доставки в иммунный синапс CTLA4 стабилизируется за счет связывания с рецепторами B7, накапливается и эффективно вытесняет CD28 из B7-содержащих комплексов (Pentcheva-Noang et al., 2004). Благодаря этому механизму CTLA4 ослабляет CD28-опосредованную позитивную ко-стимуляцию Т-клеток. CD28-зависимая активация в основном оперирует через активацию киназ PI3K и АКТ (Kane et al., 2001; Pages et al., 1994). Из-за своей центральной роли в регуляции активации Т-клеток, CTLA4-опосредованная отрицательная ко-стимуляция критически важна для иммунной толерантности. В подтверждение этого полная генетическая делеция *Ctla4* в зиготах мыши приводит к массовой лимфопротиферации в возрасте от 3 до 4 нед. (Tivol et al., 1995; Waterhouse et al., 1995; Chambers et al., 1997).

В дополнение к внутриклеточным способам снижения активности Т-клеток, CTLA4 может модулировать их активацию с помощью нескольких внеклеточных механизмов. На наличие таких внеклеточных механизмов указывает эксперимент, в котором присутствие CTLA4-компетентных Т-клеток оказалось достаточным для предотвращения летальной лимфопротиферации при генетической делеции *Ctla4* (Bachmann et al., 1999). Экстра-клеточная ингибиторная функция CTLA4 осуществляется, главным образом, через регуляторные Т-лимфоциты (Tregs) (Read et al., 2006; Friedline et al., 2009). Специфическая потеря CTLA4 у Tregs вызывает aberrантную активацию Т-клеток и далее — аутоиммунный ответ (Wing et al., 2008; Jain et al., 2010). Это указывает на то, что CTLA4, экспрессируемый в Treg, необходим для поддержания иммунологической толерантности, хотя маловероятно, что одного CTLA4 в составе Tregs достаточно для поддержания Т-клеточной толерантности. Одна из гипотез предполагает, что

Treg-CTLA4-опосредованный внеклеточный механизм снижения уровня активации Т-клеток может осуществляться путем ограничения доступности лигандов B7-1 и B7-2 для связывания с CD28 на мембране взаимодействующих эффекторных Т-клеток. Во внеклеточной CTLA4-опосредованной регуляции участвуют и сами эффекторные клетки. Например, было показано, что CTLA4, экспрессируемый эффекторными Т-клетками, способен конкурировать за лиганды B7 в CTLA4-Т-клетках при одновременном внесении эффекторных клеток дикого типа (Corse, Allison, 2012). Кроме того, имеются данные, что CTLA4 также может ограничивать общую доступность лигандов B7 путем транс-эндоцитоза этих лигандов из антиген-презентирующих клеток (APC) (Qureshi et al., 2011). Степень, в которой эти внеклеточные процессы способствуют Т-клеточной толерантности, еще предстоит определить, особенно в контексте противоопухолевого иммунитета.

Недавняя работа Шарпа и его коллег (Paterson et al., 2015) продемонстрировала, что утрата CTLA4 у Tregs в зрелом состоянии неожиданно придает устойчивость к экспериментальному аутоиммунному энцефаломиелиту (ЕАЕ). Кондиционный нокаут *Ctla4* в Tregs является необходимым и достаточным условием для придания устойчивости к ЕАЕ. В связи с этим можно предположить, что неограниченная экспансия периферических Treg и (или) повышение активации Treg способны предотвращать аутоиммунный ответ. Важным следствием этого открытия является то, что сокращение количества Treg может объясняться вызванной CTLA4-опосредованной блокадой и, таким образом, повышать эффективность анти-CTLA4-терапии. Также можно предположить, что CTLA4 имеет различающиеся функции в конвенционных (т.е. экспрессирующих  $\alpha\beta$ TCR) и регуляторных Т-клетках в процессе развития и в зрелом состоянии. Очевидное расхождение в результатах, полученных на мышах с полным и конвенционным нокаутом *Ctla4*, может быть вызвано разницей в антигенной аффинности конвенционных Т-клеток и Tregs. Tregs экспрессируют TCR с более высокой аффинностью к белкам комплекса МНС, а поскольку экспрессия CTLA4 коррелирует с силой TCR-опосредованного сигнала, они (Tregs) имеют более высокий уровень CTLA4 (Doyle et al., 2001; Egen et al., 2002). Данный механизм ослабляет сильные сигналы, поступающие через TCR, но при этом позволяют сигналам средней силы полноценно активировать Т-клетки. Таким образом, нокаут CTLA4 может непропорционально влиять на Т-клетки с антиген-рецепторами высокой аффинности. В дальнейшем следует проанализировать точные функции нижестоящих участников сигнального пути и оценить их функциональный вклад в CTLA4-опосредованную регуляцию активности Т-клеток.

МЕХАНИЗМЫ PD-1-ОПОСРЕДОВАННОГО  
ОСЛАБЛЕНИЯ Т-КЛЕТОЧНОЙ АКТИВНОСТИ

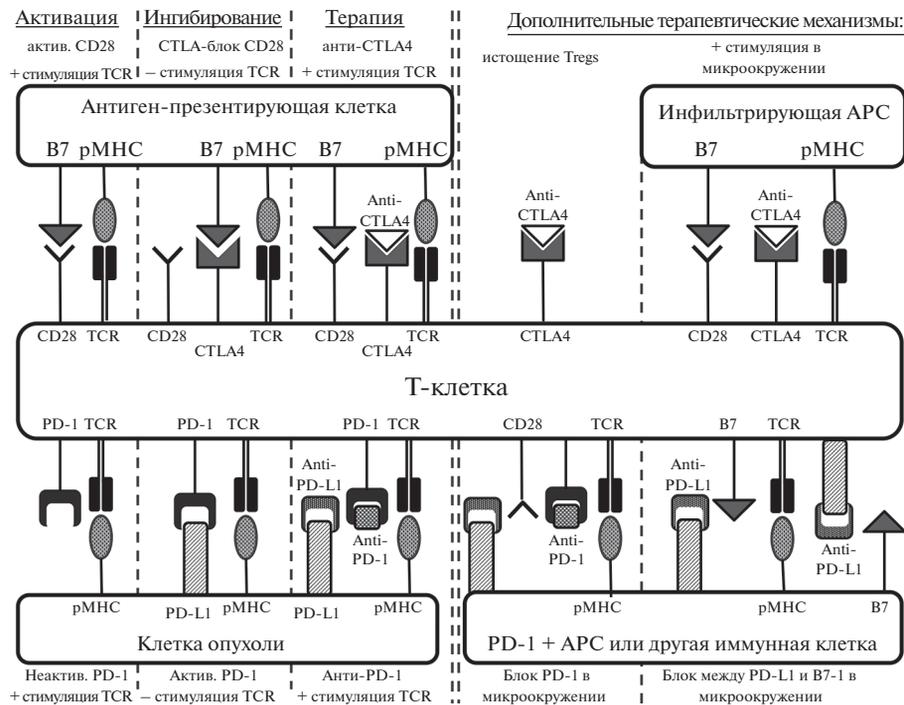
Основная биологическая функция мембранного ко-стимуляторного белка PD-1 состоит в поддержании периферической толерантности и сохранении Т-клеточных ответов в физиологическом диапазоне. Поскольку регуляторная система PD-1/PD-L1 индуцируется иммунным ответом (о чем более подробно будет сказано далее), это взаимодействие формирует петлю отрицательной обратной связи, что приводит к ослаблению локальных Т-клеточных ответов и минимизации повреждения тканей. Рецептор PD-1 регулирует активацию Т-клеток посредством взаимодействия со своими белками-лигандами PD-L1 и PD-L2, также принадлежащими к семейству B7 (Dong et al., 1999; Freeman et al., 2000; Latchman et al., 2001; рис. 1). PD-1 экспрессируется при активации Т- и В-лимфоцитов (Agata et al., 1996). Благодаря тому, что лиганды, специфические для PD-1, экспрессируются в широком спектре нелимфоидных тканей, то можно предположить, что PD-1 выполняет, главным образом, функцию подавления активации Т-клеток на периферии (Keir et al., 2006). Экспрессия PD-L1 и, в меньшей степени, экспрессия PD-L2 активируется в ответ на воспалительные цитокины, такие как IFN $\gamma$  (Freeman et al., 2000; Latchman et al., 2001). Таким образом, PD-1-регуляция Т-клеточной активности индуцируется в ответ на цитолитическую и эффекторную функцию Т-клеток (например, цитотоксических Т-лимфоцитов CD8<sup>+</sup> и хелперных Т-клеток типа 1 (Th1) CD4<sup>+</sup>). Предположительно, PD-1 после взаимодействия с лигандами PD-L1 и PD-L2 в первую очередь передает отрицательный ко-стимулирующий сигнал через тирозинфосфатазу SHP2, ослабляя Т-клеточную активацию. Связывание с SHP2 напрямую ослабляет передачу сигналов через TCR посредством дефосфорилирования проксимальных сигнальных элементов (Yokosuka et al., 2012).

Таким образом, наблюдается дихотомия в молекулярных механизмах CTLA4- и PD-1-опосредованной регуляции Т-клеточной активности (Parry et al., 2005). В отличие от CTLA4-опосредованной регуляции, PD-1 напрямую регулирует передачу сигналов через TCR для ослабления активности Т-клеток. Однако последние данные указывают на то, что основной мишенью для PD-1-опосредованного ингибирования Т-клеточного сигналинга является CD28 (Hui et al., 2017). Было показано, что связывание PD-1 с SHP2 приводит к преимущественному дефосфорилированию CD28, а не TCR. Этот результат свидетельствует о том, что и CTLA4 и PD-1, по крайней мере частично, действуют через схожий молекулярный механизм ингибирования CD28-опосредованной ко-стимуляции (сигнал 2). Таким образом, CD28-опосредованный сигналинг является точкой конвергенции механизмов действия CTLA4 и PD-1. Последние данные указывают также на то, что белок

SHP2 не является необходимым для ответов на анти-PD-1 терапию или для индукции Т-клеточного истощения *in vivo* (Rota et al., 2018). Это наводит на мысль о функциональной избыточности сигнальных путей ниже PD-1. Такая избыточность, скорее всего, опосредуется через дополнительные фосфатазы (помимо SHP1). Чтобы детально сравнить общности и различия в молекулярных механизмах этих Т-клеточных регуляторных путей необходимо более полно изучить молекулярные механизмы передачи сигнала ниже CTLA4 и PD-1.

PD-1 необходим для гомеостатического поддержания периферической толерантности, о чем свидетельствуют аутоиммунные патологии, возникающие при делеции гена *Pdcd1* (кодирующего PD-1). Например, утрата *Pdcd1* приводит к развитию волчанкоподобной аутоиммунной патологии у старых мышей C57BL/6 и аутоиммунной дилатационной кардиомиопатии у мышей BALB/c (Nishimura et al., 1999, 2001). Явная зависимость вида патологии от фенотипа нокаута PD-1 свидетельствует о том, что наблюдаемый аутоиммунитет может быть вызван распознаванием штамм-специфических антигенов в отсутствие ингибирующего сигнала PD-1; однако эту гипотезу еще предстоит окончательно доказать экспериментально. Важно отметить, что хотя PD-1 часто используется в качестве маркера истощения, его одного недостаточно, чтобы четко определить функционально истощенную популяцию клеток. PD-1 является маркером активированных Т-клеток, подмножеством которых являются истощенные Т-клетки. Истощенные Т-клетки часто определяются по совместной экспрессии маркеров PD-1, LAG3 и TIM3. При этом важно помнить, что истощенные Т-клетки (фенотипически детерминированные) все еще функционально активны, хотя их возможности ограничены. Таким образом, например, истощенные CD8-Т-клетки все еще способны вносить вклад в противоопухолевые иммунные ответы, но, вероятно, менее эффективны при расчете на отдельную клетку.

Истощение Т-клеток является важным механизмом, ограничивающим их активность в присутствии хронической антигенной стимуляции и сохраняющим клоны Т-клеток, которые в противном случае не выжили бы в таких условиях из-за вызванной активацией гибели клеток. В соответствии с этим постоянный PD-1-сигналинг индуцирует изменение метаболизма, которое ведет к истощению Т-клеток (Bengsch et al., 2016). После лигирования PD-1 ослабляет гликолиз, но одновременно способствует окислению жирных кислот и катаболизму липидов, тем самым воздействуя на пути выработки энергии (Patsoukis et al., 2015). Напротив, лигирование CTLA4 ослабляет гликолиз независимо от регуляции метаболизма липидов. Интересно, что этот метаболический переключатель вовлечен в выбор пути развития клетки в Т-эффектор или клетку памяти, и его регуляция имеет частично митохондриальную



**Рис. 2.** Схема молекулярных механизмов блокады CTLA4 и PD-1. Этапы активации Т-клеток, ингибирование активации нормальными регуляторными механизмами и снятие такого ингибирования при терапевтическом вмешательстве с использованием антител против CTLA4 или PD-1 (слева). В дополнение к внутриклеточным механизмам усиления эффекторной функции предполагается наличие нескольких механизмов, способствующих эффективности анти-CTLA4- и анти-PD-1-терапии (справа). Они включают опосредованное антителами истощение регуляторных Т-клеток (Tregs), усиление положительной костимуляции Т-клеток в микроокружении опухоли, блокаду сигналов PD-L1 из не опухолевой клетки хозяина в микроокружении опухоли (в отличие от PD-L1, происходящего из опухолевых клеток) и блокаду взаимодействий между PD-L1 и B7-1. pMHC – белки главного комплекса гистосовместимости.

природу (Buck et al., 2016). Вероятно, эти метаболические преобразования обусловлены эпигенетической регуляцией и изменениями в экспрессии генов, вызванными непрерывным влиянием PD-1. Действительно, хроническая антигенная стимуляция в вирусных системах приводит к значительным изменениям в регуляции генов и стабильному эпигенетическому перепрограммированию Т-клеток (Wherry et al., 2007; Pauken et al., 2016). Эти транскрипционные, эпигенетические и метаболические изменения вместе определяют переход Т-клеток в истощенное состояние. Последние данные свидетельствуют о том, что указанные эпигенетические факторы могут препятствовать восстановлению клеток из истощенного состояния при БКТ-терапии и, таким образом, ослаблять реакцию опухоли на терапию (Philip et al., 2017).

Недавние исследования выявили новые функциональные эффекты сигнального пути PD-1/PD-L1. Например, экспрессия макрофагами PD-L1 может привести к активному вытеснению Т-клеток из микроокружения опухоли (Kortlever et al., 2017). Это говорит о том, что в дополнение к регуляции активации и способности к цитолизу Т-клеток, передача сигналов PD-1 может также регулировать транспорт и миграцию Т-клеток. Сообщается также, что PD-1

может участвовать во внутриклеточной регуляции опухолевых клеток (Kleffel et al., 2015). Необходимы дальнейшие исследования для определения степени, в которой такие “неканонические” механизмы влияют на эффективность терапии.

## МЕХАНИЗМЫ НЕГАТИВНОЙ КО-СТИМУЛЯЦИИ ПРОТИВ МЕХАНИЗМОВ БЛОКАДЫ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК

Знания о естественной биологической роли и молекулярных механизмах действия ко-стимулирующих молекул напрямую способствуют пониманию механизмов действия противоопухолевой терапии, нацеленной на эти молекулы. Принимая во внимание приведенные выше данные о влиянии CTLA4 и PD-1 на активность Т-клеток, считается, что анти-CTLA4 и анти-PD-1 терапии действуют на разных стадиях цикла противоракового иммунитета (Chen, Mellman, 2013). Согласно данной модели предполагается, что блокада CTLA4 в основном действует в тех областях, в которых наблюдается положительная CD28-ко-стимуляция (например, в лимфоузлах, дренирующих опухоль), тогда как PD-1-опосредованная блокада в основном действует в воспаленных периферических тканях (например, в опухоли;

рис. 2). Недавнее исследование, которое более подробно будет рассмотрено далее, свидетельствует, что механизмы действия блокады CTLA4 и PD-1 могут не ограничиваться только этими участками ткани.

Многочисленные данные, полученные на вирусных системах, применимы и к опухолевому иммунитету, поскольку развитие рака похоже на течение инфекционного заболевания, при котором хроническая антигенная стимуляция приводит к истощению Т-клеток (Wherry, 2011). Например, блокада PD-1 является достаточной для восстановления активности истощенных Т-клеток при хронической вирусной инфекции и повышает коэффициент очищения от вируса (Barber et al., 2006). Последние результаты показывают, что CD28-опосредованная ко-стимуляция необходима при формировании ответа на PD-1-опосредованную блокаду, как в условиях вирусной инфекции, так и при отторжении опухоли (Kamphorst et al., 2017b). Из этого можно сделать вывод, что эффективность терапии зависит не только от предшествующей активации, но и от дополнительной положительной ко-стимуляции. Вероятно, PD-1 блокада осуществляется не только в периферических тканях (например, опухоли), но также в местах праймирования Т-лимфоцитов и дендритных клеток. Механизмы действия PD-1-опосредованной блокады, CTLA4-опосредованной блокады и нормальных биологических функций этих молекул очень сложны и изучены не до конца. Вполне вероятно, что тонкие нюансы в соответствующих аспектах таких механизмов (например, время, кинетика, тип клеток-мишеней, наличие родственных антигенов, анатомическое расположение) будут иметь существенное влияние на конечные результаты на уровне организма.

#### МЕХАНИЗМЫ ОТТОРЖЕНИЯ ОПУХОЛИ ЗА СЧЕТ CTLA4-ЗАВИСИМОЙ БЛОКАДЫ

Блокада CTLA4 вызывает отторжение опухоли с помощью нескольких различных механизмов. Основным механизмом, по-видимому, является прямая блокада конкурентного связывания CTLA4 с ко-стимулирующими лигандами В7-1 и В7-2, что, в свою очередь, активирует CD28-опосредованную положительную ко-стимуляцию Т-лимфоцитов. Действительно, кристаллографический структурный анализ комплекса между ипилимумабом и CTLA4 показывает, что эпитоп, связывающий антитело ипилимумаб, перекрывается с доменом связывания В7. Из этого следует, что в основе первичного механизма действия ипилимумаба лежит стерическое ингибирование связывания CTLA4 с В7 (Ramagopal et al., 2017). Поскольку опухолевые клетки не экспрессируют лиганды В7, действие ипилимумаба в основном происходит в дренирующих опухоль лимфатических узлах, в которых опухолевые антигены могут быть перекрестно представлены антигенпрезентирующи-

ми клетками (APC) для праймирования опухоль-реактивных Т-клеток. Возможно, что APC в микроокружении опухоли также могут перекрестно представлять опухолевые антигены, активируя родственные опухоль-реактивные Т-клетки. Гибель опухолевых клеток необходима для высвобождения антигенов опухолевых клеток (например, неоантигенов, антигенов, ассоциированных с опухолью), которые впоследствии могут быть процессированы и представлены APC.

В условиях эффективной презентации антигена блокада CTLA4 усиливает CD28-опосредованную ко-стимуляцию и, следовательно, активацию Т-лимфоцитов. Степень, в которой APC в микроокружении опухоли могут непосредственно процессировать и перекрестно представлять опухолевые антигены для праймирования (или репраймирования) Т-клеток *in situ*, остается неясной. Возможно также, что презентация антигена может происходить в ассоциированных с опухолью третичных лимфоидных структурах (TLS), присутствие которых обычно связано с улучшением выживаемости (Dieu-Nosjean et al., 2008; Engelhard et al., 2018). Однако роль TLS в противоопухолевом иммунитете сложна и, вероятно, зависит от клеточного контекста, поскольку было показано, что популяции Treg в TLS подавляют противоопухолевые Т-клеточные ответы (Joshi et al., 2015). Понимание того, когда и где противоопухолевые Т-клетки праймируются и затем регулируются (и, следовательно, становятся потенциально чувствительными к БКТ-терапии), критически важно и на данный момент не до конца сформировано.

Недавно полученные данные свидетельствуют о том, что анти-CTLA4 терапия не оказывает широкого действия на все Т-клетки. CTLA4-опосредованная блокада приводит к специфической экспансии опухолевых неоантиген-специфических CD8-Т-клеток в микроокружении опухоли, но не во вторичных лимфоидных органах (Fehlings et al., 2017). Соответственно, анти-CTLA4 терапия приводит к экспансии специфических популяций инфильтрирующих Т-клеток, включая подтип фенотипически истощенных Т-клеток CD8<sup>+</sup> и популяцию эффекторных PD-1<sup>+</sup>ICOS<sup>+</sup>TBET<sup>+</sup>-Th1-подобных CD4<sup>+</sup>-Т-клеток (Wei et al., 2017). Эта популяция, по-видимому, отличается от канонических клеток Th1 совместной экспрессией ICOS и PD-1, которые являются маркерами Т-фолликулярных хелперных клеток. Являются ли такие клетки отдельным типом Т-клеток, появляющихся после терапии, или альтернативно активированным фенотипом существующей ранее малой популяции, еще предстоит определить. Клинические данные во многих видах опухолей подтверждают увеличение количества ICOS<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-эффекторных Т-клеток после терапии ипилимумабом (Liakou et al., 2008; Chen et al., 2009; Carthon et al., 2010; Chaput et al., 2017), а также после лечения тремелимумабом (tremelimumab) – другим антителом против CTLA4 (Vonderheide et al., 2010).

Таким образом, экспансия ICOS<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>-эффекторных Т-клеток может быть использована в качестве фармакодинамического маркера анти-CTLA4-терапии (Tang H. et al., 2018). Более того, экспансия специфических типов CD4<sup>+</sup>-эффекторных Т-клеток свидетельствует о возможном влиянии анти-CTLA4 терапии не только на активацию Т-клеток, но также на дифференцировку Т-клеток. Степень, в которой влияние на выбор Т-клеточных линий может вносить вклад в механизмы и эффективность БКТ-терапии, остается неясной. Тем не менее, эти и другие данные, рассматриваемые ниже, указывают на то, что CTLA4-опосредованная блокада повышает противоопухолевый иммунитет за счет модуляции и экспансии определенных популяций Т-клеток.

В дополнение к механизмам отторжения опухоли, вызванного CTLA4-опосредованной блокадой, истощение популяций Treg также является механизмом действия анти-CTLA4-терапии на моделях опухолей у мышей (Simpson et al., 2013; Selby et al., 2013; Bulliard et al., 2013). По-видимому, истощение Treg частично способствует эффективности противоопухолевой терапии, так как у Fc-гамма-RIV-нокаутных C57BL/6 мышей наблюдался значимый терапевтический эффект (Simpson et al., 2013). Интересно, что истощение популяций Treg происходит с различной эффективностью в зависимости от контекста. Лечение истощающими анти-CTLA4 клонами уменьшает внутриопухолевые, но не периферические популяции клеток Treg (Selby et al., 2013). Это может быть объяснено повышенной экспрессией CTLA4 во внутриопухолевых Tregs или, возможно, различиями в каждом отдельном случае в количестве и активности клеточных популяций, экспрессирующих Fc-рецепторы (например, в ассоциированных с опухолью макрофагах). В недавнем исследовании утверждается, что эффективность анти-CTLA4-терапии полностью независима от регуляции им лиганда B7, а напротив, происходит исключительно от опосредованного антителами истощения Treg (Du et al., 2018). Этот вывод противоречит результатам предыдущей работы, и представленные в нем экспериментальные наблюдения недостаточны для окончательного решения вопроса.

Противоречивые результаты могут быть объяснены техническими ограничениями используемых биологических систем, а не независимостью между анти-CTLA4-терапией и ингибированием связывания лиганда B7. Кроме того, гипотеза о независимости регуляции B7 находится в прямом противоречии с данными структурного анализа, показывающими, что ипилимумаб связывает CTLA4 именно в области взаимодействия последнего с B7, чтобы обеспечить стерическое ингибирование (Ramagopal et al., 2017). Хотя некоторые предшествующие исследования (подробнее рассмотренные ниже) действительно показывают, что истощение Treg вносит вклад в механизм действия анти-CTLA4-терапии, значитель-

ный объем других данных свидетельствует, что регуляция связывания лиганда B7 является основным механизмом. Примечательно, что для эффективного отторжения опухоли необходима блокада экспрессии CTLA4 как в эффекторных, так и в регуляторных Т-клеточных компартментах (Peggs et al., 2009). Однако представленных данных все еще недостаточно для детального и тщательного определения относительного вклада каждого из механизмов действия анти-CTLA4-терапии, особенно при изучении иммунитета человека.

Относительный вклад внутриклеточного усиления эффекторной функции в сравнении с истощением Treg в эффективность терапией ипилимумабом у людей остается неясным. Ипилимумаб был целенаправленно выбран в качестве блокирующего антитела, исходя из гипотезы, что ингибирование CTLA4 приведет к усилению активности Т-клеток. Таким образом, хотя ипилимумаб является полностью антителом человека (IgG), он не был разработан как истощающее антитело. В соответствии с этим, у пациентов, получавших ипилимумаб не обнаружено явных показателей истощения Treg. Сообщалось, что ипилимумаб может индуцировать антитело-зависимую клеточную цитотоксичность (ADCC) — опосредованное уничтожение Tregs неклассическими моноцитами в культурах *ex vivo* (Romano et al., 2015). Более того, последние данные указывают, что присутствие зародышевых линий с полиморфизмом в Fc-рецепторе высокой аффинности (CD16a-V158F) коррелирует с усилением ответа на ипилимумаб (Arce Vargas et al., 2018). Это говорит о том, что Fc-опосредованное истощение клеток отчасти способствует механизму ипилимумаба. Напротив, сходство в показателях ответа двух антител против CTLA4 (тремелимумаба и ипилимумаба), несмотря на разные изоформы антител, подтверждает мнение о том, что эффективность терапии обусловлена усилением эффекторной функции, а не истощением.

Тремелимумаб является специфическим антителом класса IgG2 человека, тогда как ипилимумаб является специфическим антителом класса IgG1 человека, что важно, поскольку антитела IgG1 более эффективно опосредуют ADCC, чем антитела IgG2, на основании их повышенной аффинности связывания с Fc-рецепторами клеток человека (Bruhns et al., 2009). Хотя действие тремелимумаба не достигло статистической значимости при оценке общей выживаемости клеток метастатической меланомы в запланированном втором промежуточном анализе III фазы клинического испытания, последующие анализы показали, что ответы на тремелимумаб примерно сопоставимы с таковыми у ипилимумаба (Ribas et al., 2013). Объединенные анализы I и II фазы клинических испытаний показывают выживаемость 20% пациентов с метастатической меланомой через 5 лет после терапии тремелимумабом (Eroglu et al., 2015), что аналогично 21% выживаемости через 3 года после терапии у пациентов, получавших ипили-

муаб (Schadendorf et al., 2015). Эти данные подтверждают модель, в которой анти-CTLA4-терапия усиливает внутриклеточную эффекторную функцию клетки посредством блокады БТК и одновременно вызывает Fc-опосредованное клеточное истощение.

Модуляция репертуара TCR также может способствовать терапевтическому эффекту блокировки связывания CTLA4. Например, лечение ипилимумабом приводит к ремоделированию и расширению репертуара периферических TCR (Cha et al., 2014; Robert et al., 2014). В соответствии с этими данными, терапия ипилимумабом расширяет функциональную реактивность CD8<sup>+</sup>-Т-клеток периферической крови на антигены меланомы (Kvistborg et al., 2014). Интересно, что расширение репертуара TCR также коррелирует с нежелательными явлениями, связанными с иммунитетом (immune-related adverse events, irAE), вызванными лечением ипилимумабом (Oh et al., 2017), хотя еще предстоит определить, сходны ли основные механизмы и родственные антигены, участвующие в терапевтической эффективности и в irAE. Вообще, проблема повышенной цитотоксичности иммунотерапии является весьма насущной проблемой современной экспериментальной медицины (Titov et al., 2018). Вместе эти наблюдения показывают, что расширение репертуара TCR из-за блокады CTLA4 имеет важное клиническое значение. Механистически, потеря CTLA4 может снизить порог для лигирования TCR, которое необходимо для эффективной активации Т-клеток, учитывая, что CTLA4 обычно ослабляет силу сигнала TCR. После блокады CTLA4 становится возможным ответ на антигены с низким уровнем сигнала, которого обычно не достаточно для генерации эффективного Т-клеточного ответа. Такие клоны Т-клеток могут распознавать опухоль-специфичные антигены (например, субдоминантные неоантигены) или опухоль-ассоциированные антигены. Кроме того, благодаря этому механизму активность высокоаффинных опухолево-реактивных клонов также будет повышена путем CTLA4-опосредованной блокады.

Учитывая сказанное выше, можно предположить, что блокада CTLA4 ведет к увеличению ко-стимуляции Т-клеток множеством различных способов, обеспечивая более устойчивую активацию опухолевых реактивных Т-клеток. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что мутационная нагрузка опухоли (ТМВ) связана с усилением реакции на БКТ (Snyder et al., 2014; Le et al., 2015, 2017; Van Allen et al., 2015; Hellmann et al., 2018). Это наблюдение подтверждает модель, в которой неоантигены являются основным фактором иммуногенности опухоли. С другой стороны, некоторые типы опухолей, такие как почечно-клеточный рак, проявляют чувствительность к БКТ, несмотря на низкую мутационную нагрузку (Yarchoan et al., 2017). Возможно также, что опухоли с низким ТМВ, которые отвечают на БКТ-терапию, содержат также низкое количество высокоиммуногенных опухолеспецифических неоанти-

генов. Вероятно, в основе положительных ответов на терапию опухолей с низкой ТМВ могут лежать различия в механизмах противоопухолевых иммунных ответов. При этом относительный вклад общих антигенов (например, сверхэкспрессированных генов, которые aberrантно экспрессируются на поверхности раковых клеток) и частных антигенов (специфичных для опухолей, например, неоантигенов) в противоопухолевый иммунный ответ остается до сих пор ключевым невыясненным вопросом.

### МЕХАНИЗМЫ ОТТОРЖЕНИЯ ОПУХОЛИ ЗА СЧЕТ PD-1-ИНДУЦИРУЕМОЙ БЛОКАДЫ

PD-1-опосредованная блокада способна вызывать отторжение опухоли за счет повторной активации Т-клеток CD8<sup>+</sup>, повышая их функциональную активность. Блокада сигнальной оси PD-1 предотвращает PD-1-опосредованное затухание проксимального TCR-сигналинга, позволяя восстановить активность истощенных эффекторных клеток CD8<sup>+</sup>. Таким образом, несмотря на продолжающуюся экспрессию PD-L1 в микроокружении опухоли, истощенные Т-клетки способны восстанавливать свою активность и формировать эффективный иммунный ответ. Клинические данные подтверждают модель, согласно которой блокада сигнальной оси PD-1 наиболее эффективна в опухолях, в которых эндогенный Т-клеточный ответ уже достигнут, но подавлен за счет связывания PD-1 с его лигандами PD-L1 и PD-L2. (Herbst et al., 2014; Tumei et al., 2014). Однако результаты, полученные на некоторых PD-L1-отрицательных опухолях, указывают, что наличие более раннего иммунного ответа, определяемое присутствием инфильтрирующих опухоль Т-клеток, не требуется для индукции отторжения опухоли посредством блокады PD-1. Последние данные свидетельствуют о том, что за пролиферативную экспансию, развивающуюся сразу после блокады PD-1 ответственна подгруппа CD8-Т-клеток CXCR5<sup>+</sup>PD-1<sup>+</sup> (Im et al., 2016).

Профилирование периферической крови у пациентов, прошедших анти-PD-1-терапию, обнаружило экспансию PD-1<sup>+</sup>CD8-Т-клеток с кинетикой, соответствующей этому предположению (Huang et al., 2017). Антигенная специфичность Т-клеток, опосредующих ответы на БКТ-терапию, остается слабо изученной. Недавние данные неоадьювантного исследования действия ниволумаба в модели немелкоклеточного рака легкого подтверждают мнение, что анти-PD-1-терапия усиливает неоантиген-специфические Т-клеточные ответы (Forde et al., 2018). Вполне вероятно, что только специфические популяции Т-клеток (определяемые антиген-специфичностью и (или) фенотипом) функционально опосредуют ответы на БКТ-терапию. Соответственно, истощенные Т-клетки могут обладать отличающимся эпигенетическим профилем, и это эпигенетическое

перепрограммирование может ограничивать восстановление активности Т-клеток (Pauken et al., 2016; Sen et al., 2016; Ghoneim et al., 2017; Philip et al., 2017). Основываясь на этих данных, можно предположить, что блокада PD-1 может быть недостаточной для восстановления функционального состояния Т-клеток, если они достигают порогового уровня истощения. Недавние работы демонстрируют высокую степень фенотипической и функциональной гетерогенности в истощенных CD8<sup>+</sup>Т-клетках (Bengsch et al., 2018). Принципиально важно понять, как функциональная неоднородность истощенных Т-клеток влияет на механизмы действия и эффективность специфической БКТ-терапии.

Несмотря на активное изучение и интерес к этой области, нюансы молекулярных и клеточных событий, обеспечивающих усиление противоопухолевого иммунитета посредством блокады PD-1, остаются не полностью понятными. Недавно проведенные исследования выявили детали, которые могут иметь очень важные последствия для терапевтической эффективности и рациональной разработки новых подходов. Например, было обнаружено, что хотя блокада PD-1 в основном приводит к увеличению популяции CD8<sup>+</sup>-Т-клеток, для эффективного противоопухолевого ответа необходимы также CD4<sup>+</sup>-Т-клетки (Spitzer et al., 2017). Этот результат не удивителен, учитывая важную роль, которую CD4-хелперы играют в широком спектре процессов, включая формирование клеточной памяти и выработку антител.

Остается неясным, какие специфические свойства CD4-хелперов необходимы для клинических ответов на БКТ. Возможно, что помимо облегчения формирования Т-клеточной памяти, CD4-Т-клетки могут также усиливать противоопухолевый иммунитет за счет увеличения проникновения Т-клеток CD8<sup>+</sup> и антител в сайты периферической ткани, что наблюдалось в моделях противовирусного иммунитета (Nakanishi et al., 2009; Iijima, Iwasaki, 2016).

Помимо неоднозначности на клеточном уровне, появляются все новые данные о молекулярных механизмах блокады PD-1. В дополнение к восстановлению активности Т-клеток посредством модуляции TCR-сигналинга и экспрессии генов, блокада сигнальной оси PD-1 способна обратить вспять соответствующую метаболическую программу, частично напоминая повторную активацию Т-клеток (Bengsch et al., 2016). В соответствии с этими данными, методом анализа представленности функциональных групп генов (GSEA) опухолевых антиген-специфических инфильтрирующих лимфоцитов было показано, что воздействие анти-PD-1 регулирует метаболическую функцию клеток (Gubin et al., 2014). Напротив, блокада CTLA4 в первую очередь приводит к изменениям в генах, связанных с пролиферацией и клеточным циклом. Помимо снятия ингибирования Т-клеточной активации, блокада PD-1 может также действовать через дополнительные ме-

ханизмы, частично способствующие его терапевтической эффективности. Сообщается, что PD-1, экспрессирующийся в клетках опухоли, может способствовать росту меланомы (Kleffel et al., 2015).

Помимо прямой блокады PD-1, присутствие PD-L1-специфичных антител также достаточно для инициации отторжения опухоли. Предполагается, что блокада PD-L1 в значительной степени фенокопирует блокаду PD-1, принимая во внимание преобладание экспрессии PD-L1. Экспрессия лигандов PD-L1 индуцируется цитокинами Th1 (например, IFN $\gamma$ ), предположительно через JAK-STAT-путь (Xue et al., 2019), тогда как экспрессия PD-L2 индуцируется цитокинами Th2 (Loke, Allison, 2003). Возможно, именно с помощью этой дифференциальной регуляции частично можно объяснить эффективность блокады PD-L1.

В отличие от антител против PD-1, эффективность блокады PD-L1 также может частично обуславливаться ADCC. Недавно было продемонстрировано, что связывание Fc-рецептора важно для эффективности терапии анти-PD-L1, но не анти-PD-1 в мышинных моделях регрессии опухоли, индуцированной антителом (Dahan et al., 2015). Другим осложняющим аспектом является то, что в дополнении к описанным “каноническим” взаимодействиям, B7-1 и PD-L1 также взаимодействуют между собой, что приводит к ингибированию активности Т-клеток (Butte et al., 2007). Эти данные свидетельствуют о том, что терапии анти-PD-1 и анти-PD-L1 не являются полностью механистически эквивалентными. Недавние исследования показывают, что для отторжения опухоли, вызванного блокадой PD-L1, необходима экспрессия PD-L1 непосредственно в клетках хозяина (Tang H. et al., 2018; Lin et al., 2018). Однако другие данные указывают на то, что экспрессии PD-L1 в опухоли достаточно для ингибирования противоопухолевого иммунитета путем ослабления цитотоксичности CD8-Т-клеток (Juneja et al., 2017). Как связать эти явно несопоставимые выводы, еще предстоит понять. Тем не менее, они дают основание предполагать, что PD-L1 способен ингибировать опосредованное Т-клетками уничтожение опухолевых клеток как с помощью клеточных, так и гуморальных механизмов.

## КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

Несмотря на значительный прогресс, достигнутый с помощью монотерапии, существует необходимость в повышении эффективности терапии при действии на широкий спектр опухолей. Представления о том, какие аспекты микроокружения опухоли функционально ограничивают ответы на БКТ-терапию, в данный момент активно развиваются. Первичным аспектом такого рода является компенсаторная активация дополнительных молекул иммунных контрольных точек, которая ограничивает терапевтическую эффективность монотерапевтиче-

ских подходов. Например, повышенная экспрессия PD-L1 (и вовлечение PD-1) может частично объяснить, почему анти-CTLA4-монотерапия не приводит к значительному увеличению силы ответа при терапии меланомы, но не других типов опухолей. В соответствии с этим представлением и данными о том, что PD-1 и CTLA4 ослабляют активацию Т-клеток с помощью различных механизмов, комбинаторная блокада PD-1 и CTLA4 улучшает терапевтическую эффективность по сравнению с любой монотерапией (Wolchok et al., 2013; Postow et al., 2015; Larkin et al., 2015). Эти результаты отражают повышение эффективности терапии, также наблюдаемое в доклинических моделях (Cugran et al., 2010).

Примечательно, что при комбинированном лечении пациенты с меланомой достигают требуемых ответов более чем в половине случаев (Larkin et al., 2015). Объединенный анализ клинического испытания во II и III фазах через 3 года после терапии меланомы показал 57% общей выживаемости в группе ипилимумаб плюс ниволумаб (Postow et al., 2017). Исходя из этих данных, можно предполагать, что стойкость ответов на комбинированную терапию по прошествии 3-х лет будет по меньшей мере равной или превышающей таковую в ответ на монотерапию ипилимумабом (Schadendorf et al., 2015), а значит возможно, что более половины пациентов с метастатической меланомой, получавших комбинацию ипилимумаба и ниволумаба могут достичь долгосрочных ответов на протяжении 10 или более лет. Терапия ниволумабом совместно с ипилимумабом также увеличивает общую выживаемость по сравнению со стандартным лечением сунитинибом (sunitinib) при прогрессирующем почечно-клеточном раке (Motzer et al., 2018). Таким образом, комбинированная терапия может иметь высокую терапевтическую эффективность.

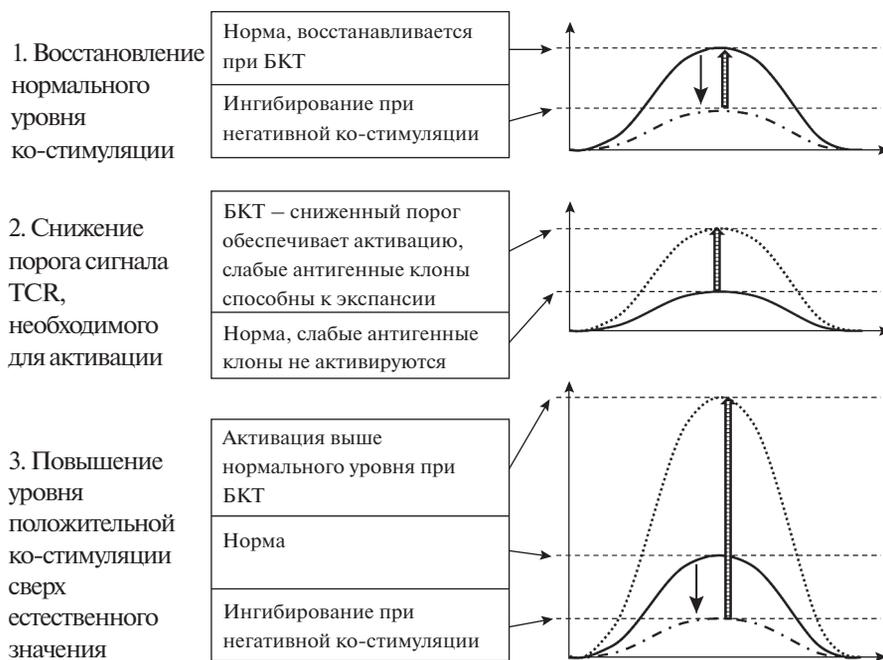
Важно отметить, что в недавнем клиническом исследовании было показано значительное увеличение риска заболевания пневмонией у больных, прошедших последовательные курсы лечения блокаторами PD-1 и CTLA4 (ипилимумабом), однако при комбинированной терапии PD-1- и CTLA4-блокаторами, как и при монотерапии одним из препаратов, увеличения риска заболевания не было замечено (Su et al., 2019).

Остается неясным, обусловлена ли повышенная эффективность комбинированной терапии (анти-PD-1-анти-CTLA4) аддитивным взаимодействием клеточных и молекулярных механизмов соответствующих монотерапий или механизмами, отличными от компонентных монотерапий. Данные профилирования периферической крови поддерживают модель, в которой PD-1 и CTLA4 действуют через независимые механизмы, причем комбинированное ингибирование PD-1 и CTLA4 приводит к отчетливым иммунным реакциям (Das et al., 2015). Интересно, что сходные эксперименты показали иммуноло-

гические изменения в периферических В-клетках, связанные с развитием irAE (Das et al., 2018). Эти данные поддерживают представление о том, что комбинированная терапия вызывает отличные от монотерапий клеточные и молекулярные изменения, хотя пока не известно, являются ли эти механизмы прямыми или косвенными. Учитывая, что PD-1 и CTLA4 ослабляют активность Т-клеток посредством различных молекулярных механизмов и что блокада этих соответствующих молекул регулирует различные клеточные популяции (Wei et al., 2017), существует множество механизмов, лежащих в основе повышенной эффективности комбинации анти-CTLA4 и анти-PD-1 терапии. Определение конкретных клеточных и молекулярных механизмов комбинированной терапии анти-CTLA4-анти-PD-1 имеет ключевое значение.

Учитывая, что и CTLA4, и PD-1 обладают внутриклеточной регуляторной активностью, одновременная блокада обеих молекул может приводить к функциональной конвергенции через усиление активности Т-клеток (как за счет ко-регуляции CD28, так и за счет других сигнальных путей, участвующих в активации Т-клеток). Предположительно, эта конвергенция проходит по не взаимоисключающим сценариям. В первом сценарии мишенями являются одновременно и CTLA4, и PD-1 в одной и той же клетке, что ведет к аддитивному увеличению ко-стимуляции CD28 и активности Т-клеток. Во втором сценарии сочетанная терапия воздействует на Т-клетки в разное время относительно активации и (или) переноса. Оба этих сценария частично основаны на предположении, что анти-PD-1 и анти-CTLA4 нацелены на одну и ту же клеточную популяцию. Остается неясным, что же делает БКТ: восстанавливает ли уровень положительной ко-стимуляции до нормального максимального уровня (рис. 3а), расширяет ли диапазон клонов Т-клеток, способных активироваться путем снижения порога ко-стимуляции (рис. 3б), или, возможно, увеличивает активность в расчете на клетку за счет усиления ко-стимулирующих сигналов выше нормальных физиологических уровней (рис. 3в).

Повышению эффективности комбинированной терапии анти-CTLA4-анти-PD-1, в дополнение к двойному взаимодействию конвергентных молекулярных путей, может также способствовать участие дополнительных клеточных механизмов. Действительно, анти-CTLA4-, но не анти-PD-1-БКТ приводит к экспансии популяции проникающей в опухоль ICOS<sup>+</sup>-Th1-подобных CD4<sup>+</sup>-эффекторных клеток (Wei et al., 2017). Дополнительные данные (Daud et al., 2016; Im et al., 2016; Huang et al., 2017; Kamphorst et al., 2017a) свидетельствуют о том, что анти-PD-1-терапия в основном направлена на популяции CD8<sup>+</sup>-Т-клеток. Это существенное различие в механизмах анти-CTLA4 и анти-PD-1 свидетельствует о том, что повышенная эффективность комбинированной терапии обуслов-



**Рис. 3** Потенциальные модели восстановления положительной ко-стимуляции и модулирования активности Т-клеток посредством блокады иммунных контрольных точек. Представлены три не исключающие друг друга теоретические модели того, как блокада контрольных точек может регулировать силу положительной ко-стимуляторной передачи сигналов и повышать противоопухолевый иммунитет. 1 – БКТ восстанавливает положительную ко-стимуляторную передачу сигналов до уровня, аналогичного достигнутому до ингибирования, например, с помощью PD-1 или CTLA4; предполагается, что повышенная эффективность активации под действием БКТ в основном получена за счет увеличения числа активированных и цитолитических Т-клеток. 2 – Усиленная положительная ко-стимуляция, полученная в результате блокады отрицательных ко-стимулирующих молекул, снижает эффективный порог, необходимый для генерации TCR-опосредованного сигнала. Благодаря этому могут активироваться и размножаться более слабые клоны Т-клеток (с низкой аффинностью и авидностью), в норме не участвующие в активации. 3 – БКТ приводит к увеличению положительных ко-стимулирующих сигналов сверх естественного физиологического уровня. В этой модели повышенная эффективность осуществляется благодаря увеличению числа активированных Т-клеток и (или) приобретению новых или усилению имеющихся функциональных свойств благодаря надфизиологическим уровням ко-стимулирующих сигналов.

лена вовлечением большого количества различных клеточных популяций. Следовательно, множественные не взаимоисключающие механизмы могут способствовать повышению эффективности комбинированной терапии.

Положительный эффект последовательного применения анти-CTLA4- и анти-PD-1 терапий может быть обусловлен вовлечением эффекторных молекул CD4, приводящих к экспансии Th1-подобных CD4-эффекторов после анти-CTLA4-, но не PD-1 терапии. Увеличение количества CD4-хелперов на стадии примирования и ранней активации в результате блокады CTLA4, вероятно, усилит формирование Т-клеточной памяти, а также инфильтрацию в периферические ткани (например, опухоль). Однако при попадании в микроокружение опухоли эффекторные Т-клетки Th1 и CD8 будут индуцировать экспрессию PD-L1 в опухолевых клетках и стромальных клетках, ослабляя активность Т-клеток. Таким образом, последовательная комбинация сначала блокады CTLA4, а затем блокады PD-1 потенциально может индуцировать Т-клеточную инфильтрацию в иммунологически неактивных опухолях и

позволит Т-клеткам сохранять эффективную цитолитическую активность в микроокружении опухоли. Напротив, результаты клинического исследования фазы II на прогрессирующей меланоме предполагают, что ниволумаб, за которым следует ипилимумаб, обладает большей эффективностью по сравнению с ипилимумабом, за которым следует ниволумаб (Weber et al., 2016).

Эти наблюдения еще надо подтвердить, и остается открытым вопрос о том, могут ли быть разработаны последовательные терапии, основанные только на механизмах действия монотерапии, а также вопрос, в какой степени необходимо учитывать такие свойства, как кинетика ответа. Кроме того, эти наблюдения предполагают, что анти-CTLA4-индуцированные CD4-хелперы не обязательны для отторжения уже хорошо инфильтрированных опухолей (например, меланомы). Тем не менее, последовательная терапия может минимизировать иГЭ, связанные с одновременным комбинированным лечением. С другой стороны, одновременная комбинированная терапия увеличивает общую силу ответа при меланоме по сравнению с монотерапией (Larkin

et al., 2015; Postow et al., 2017). Поэтому ключевой вопрос, остающийся пока без ответа – имеет ли последовательная терапия такие же показатели ответа и долгосрочную эффективность, как и одновременная комбинированная терапия.

В более широком смысле, относительный вклад каждого из нескольких известных молекулярных механизмов блокады CTLA4 и PD-1 в терапевтическую эффективность остается неясным. Различия могут проявляться в определенных требованиях для индукции эффективных иммунных ответов в контексте каждой терапии. Например, имеются данные, что перекрестное праймирование, опосредованное CD103<sup>+</sup>-BATF3-зависимыми дендритными клетками, необходимо для эффективного противоопухолевого иммунитета и ответов на БКТ (Salmon et al., 2016; Sanchez-Paulete et al., 2016; Spranger et al., 2017). В самом деле, популяция дендритных клеток CD103<sup>+</sup>, по-видимому, является основной клеточной популяцией, эффективно поглощающей опухолевый антиген и представляющей его в дренирующем лимфатическом узле (Roberts et al., 2016). Неясно, важны ли одинаковые способы презентации антигена для анти-CTLA4- и анти-PD-1 терапии. Различия в механизмах этих методов лечения могут налагать определенные требования в зависимости от клеточного контекста и временной динамики презентации антигена.

Каким образом БКТ взаимодействует с традиционными методами лечения (например, хирургическим вмешательством, химиотерапией, облучением, таргетной терапией) и другими видами терапии на основе иммунитета (например, терапией химерного антигенного рецептора Т-клеток, другими методами адаптивного переноса, цитокиновой терапией, персонализированными противоопухолевыми вакцинами) и является критически важным предметом и областью активного исследования. Например, было показано, что радиационная обработка и блокада сигнальной оси PD-1/PD-L1 имеет аддитивные эффекты через безызбыточные механизмы (Dovedi et al., 2014; Twyman-Saint Victor et al., 2015). Примечательно, что после одновременного облучения и блокады CTLA4 наблюдали ингибирующую реакцию, что подчеркивает потенциальную механистическую основу для синергетической эффективности этих методов (Demaria et al., 2005; Golden et al., 2013).

Таргетное ингибирование иммуносупрессивных миелоидных популяций в сочетании с БКТ-терапией также приводит к повышению эффективности воздействия (De Henau et al., 2016). Дополнительные клинические факторы и индивидуальные характеристики пациента также могут оказаться существенными модуляторами ответа на иммунотерапию. Например, недавняя работа выяснила роль кишечного микробиома в определении реакции опухоли на иммунотерапию: показали, что колонизация специфическими штаммами комменсальных бактерий моду-

лирует эффективность БКТ-терапии в доклинических и клинических условиях (Sivan et al., 2015; Vetzou et al., 2015; Gopalakrishnan et al., 2018; Routy et al., 2018). Это подчеркивает, как разнообразный набор свойств хозяина, в дополнение к характеристикам опухоли, может способствовать чувствительности к иммунотерапии.

## ЗА ПРЕДЕЛАМИ CTLA4- И PD-1-РЕГУЛЯЦИИ

Большая группа ко-стимуляторных молекул Т-клеток представлена белками, различными по структуре и принадлежащими к нескольким суперсемействам. Терапевтический потенциал многих из этих костимуляторов в настоящее время исследуется доклинически и клинически. Среди них белки LAG3, TIM3, TIGIT, VISTA и ICOS из суперсемейства иммуноглобулинов (IgSF) и белки OX40, GITR, 4-1BB, CD40 и CD27 из суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (TNFRSF). Однако общее понимание фундаментальной биологической роли этих молекул остается неудовлетворительным и нередко отстает от результатов новых клинических исследований. Существует множество дополнительных костимулирующих молекул, обладающих потенциальной терапевтической ценностью, включая недавно идентифицированных членов семейства лигандов B7 (Janakiram et al., 2017; Ni, Dong, 2017), а также, несомненно, большое количество пока не охарактеризованных регуляторных молекул (Pentcheva-Noang et al., 2009). Краткая сумма известных функций этих молекул приведена в табл. 2.

Знание основных биологических ролей ко-стимулирующих молекул критически необходимо для развития новых методов БКТ-терапии. Например, даже в случае успешно проведенных клинических исследований, нередко остается неясным, что является ассоциированным лигандом (или лигандами) или рецептором (рецепторами). Порой неясно даже, является ли мишень рецептором или лигандом. И в большинстве случаев точные молекулярные механизмы остаются неясными. В дополнение к случаям, когда биология взаимодействия просто остается неизвестной, присутствует еще и путаница, вызванная явно несогласованными данными. Отражают ли такие результаты сложность механизмов взаимодействия или технические различия в экспериментальных системах – еще неясно.

Так, хотя ранее сообщалось, что главный комплекс гистосовместимости II (MHC-II) является лигандом ко-ингибирующего рецептора LAG3 (Huard et al., 1995), появились данные, что мембранный лектин LSECtin также является дополнительным лигандом для LAG3 (Xu et al., 2014). LSECtin экспрессируется клетками печени и опухолевыми клетками, и взаимодействие с ним может объяснять биологическую роль LAG3 в CD8<sup>+</sup>- и естественных киллерных (NK) клетках, поскольку ни один из этих типов клеток не взаимодействует с MHC-II. Еще более сложная си-

**Таблица 2.** Краткий перечень биологических и молекулярных функций Т-клеточных ко-стимулирующих молекул

Молекула	Лиганд	Место экспрессии рецептора	Биологическая функция	Молекулярная функция	Источник литературы
<b>Ко-ингибиторы</b>					
CTLA4	B7-1 (CD80), B7-2 (CD86)	Активированные Т-клетки, Treg	Отрицательная ко-стимуляция Т-клеток (в основном, при прайминге); прерывает тонические сигналы и (или) ингибирует клоны с высокой аффинностью	Конкурентное ингибирование положительной ко-стимуляции CD28 (связывание с B7-1 и B7-2)	Walunas et al., 1994; Linsley et al., 1991; Linsley et al., 1994; van der Merwe et al., 1997; Parry et al., 2005
PD-1	PD-L1, PD-L2	Активированные Т-клетки, НК-клетки, NKT-клетки, В-клетки, макрофаги, подтипы дендритных клеток	Отрицательная ко-стимуляция Т-клеток (в основном, на периферии); ингибирует периферическую активность, предохраняет Т-клетки в условиях хронической антигенной стимуляции	Ослабляет проксимальный TCR-сигналинг, ослабляет CD28-сигналинг	Latchman et al., 2001; Freeman et al., 2000; Dong et al., 1999; Agata et al., 1996; Parry et al., 2005; Hui et al., 2017; Barber et al., 2006
PD-L1	PD-1, B7-1 (CD80)	Дендритные клетки, моноциты, макрофаги, мастоциты, Т-клетки, В-клетки, НК-клетки	Ингибирует Т-клеточную активность в воспаленных периферических тканях	Связывание PD-1; внутриклеточный механизм неясен	Freeman et al., 2000; Dong et al., 1999; Butte et al., 2007
LAG3	MHC-II, LSECtin	Активированные Т-клетки CD4 и CD8, НК-клетки, Treg	Ингибирует экспансию Т-клеток; регулирует гомеостаз Т-клеток; активирует дендритные клетки	Конкурентное связывание с MHC-II; проксимальный механизм LSECtin неизвестен	Huard et al., 1995; Xu et al., 2014
TIM3	Galectin-9, PtdSer, HMGB1, CEACAM-1	Th1-CD4 и Tc1-CD8, Treg, дендритные клетки, НК-клетки, моноциты	Отрицательная регуляция иммунитета 1 типа; поддержание периферической толерантности	Ингибирование проксимальных компонентов TCR; различия между лигандами точно неизвестны	Zhu et al., 2005; DeKruyff et al., 2010; Chiba et al., 2012; Huang et al., 2015; Ndhlovu et al., 2012
TIGIT	PVR (CD155), PVRL2 (CD112)	CD4- и CD8-клетки, Treg, TFH, НК-клетки	Отрицательная регуляция активности Т-клеток; функция стабильности дендритных клеток	Конкурентное ингибирование DNAM1 (CD226) ко-стимулирующее связывание (путем ассоциации с PVR), DNAM1 в cis-положении; внутриклеточный ITIM-отрицательный сигналинг	Johnston et al., 2014; Joller et al., 2011

Таблица 2. Окончание

Молекула	Лиганд	Место экспрессии рецептора	Биологическая функция	Молекулярная функция	Источник литературы
VISTA	Лиганд неизвестен	Т-клетки и активированные Treg, миелоидные клетки, зрелые APC	Отрицательная регуляция активности Т-клеток; подавление активности CD4-Т-клеток	Повышение порога TCR-сигналинга, индукция синтеза FOXP3; проксимальный сигналинг неизвестен	Wang et al., 2011; Flies et al., 2014; Gao et al., 2017; Liu et al., 2015

Ко-стимуляторы

ICOS	ICOSL	Активированные Т-клетки, В-клетки, ILC2	Положительная ко-стимуляция; иммунный ответ типа I и II; регуляция Treg; дифференцировка TFH	Связывание p50 PI3K (AKT-сигналинг); усиление активности PLCγ).	Yoshinaga et al., 2019; McAdam et al., 2000
Ox40	Ox40L	Активированные Т-клетки, Treg, NK-клетки, NKT-клетки, нейтрофилы	Поддержание и усиление CD4 Т-клеточных ответов; регуляция CD8 Т-клеток и Tregs	Регуляция BCL2/XL (выживание); усиление PI3K/AKT- сигналинга	Rogers et al., 2001; Paterson et al., 1987
GITR	GITRL	Активированные Т-клетки, Treg, В-клетки, NK клетки, макрофаги	Ингибирование Tregs; ко-стимуляция активированных Т-клеток, активация NK-клеток	TRAF5-сигналинг	Gurney et al., 1999; McHugh et al., 2002
4-1BB (CD137)	4-1BBL	Активированные Т-клетки, Treg, NK-клетки, моноциты, дендритные клетки, В-клетки	Положительная ко-стимуляция Т-клеток; активация дендритных клеток	Сигналинг посредством TRAF1, TRAF2	Kwon, Weissman, 1989; Futagawa et al., 2002
CD40	CD40L	APC, В-клетки, моноциты, негематопоэтические клетки (фибробласты, клетки эндотелия)	Обучение APC	Сигналинг посредством TRAF2, 3, 5, 6; TRAF-независимые механизмы?	Banchereau et al., 1995; Ahonen et al., 2002
CD27	CD70	CD4 и CD8 Т-клетки, В-клетки, NK-клетки	Ко-стимуляция лимфоцитов и NK-клеток; образование Т-клеточной памяти	Сигналинг посредством TRAF2, TRAF5	Goodwin et al., 1993; Hendriks et al., 2000

туация наблюдается в отношении ко-ингибирующего рецептора TIM3, поскольку на сегодняшний день известно о четырех его лигандах: Galectin-9 (Zhu et al., 2005), PtdSer (DeKruyff et al., 2010), HMGB1 (Chiba et al., 2012) и CEACAM1 (Huang et al., 2015).

Как регулируется взаимодействие лигандов, влияют ли они на связывание друг друга, и активирует ли каждый лиганд свой уникальный сигнальный путь, остается неясным. Кроме того, хотя TIM3 считается в первую очередь маркером активации и истощения Т-клеток, TIM3 также способствует ослаблению цитотоксичности НК-клеток (Ndhlovu et al., 2012). Это открытие предполагает, что и другие ко-стимулирующие молекулы выполняют биологически значимые функции в клетках разных типов. Белок VISTA представляет собой еще одну молекулу с двойной функцией: исследования описывают его и в качестве лиганда на APC (с гомологией к PD-L1) с неизвестным рецептором (Wang et al., 2011), и как рецептор на Т-клетках с неизвестным лигандом (Flies et al., 2014). Точно так же остаются неопределенными биологические роли нескольких членов семейства B7-лигандов, включая их контр-рецепторы. Считается, что B7-H3 играет как ко-стимулирующую, так и ко-ингибирующую роль, что возможно, зависит от контекста его экспрессии. Однако и его рецептор, и молекулярные механизмы его пост-транскрипционной регуляции остаются неясными (Schildberg et al., 2016).

Большой вклад в понимание функций ко-стимулирующих молекул внесли доклинические и клинические исследования с использованием иммуномодулирующих агентов. Например, белки TIGIT и PD-1 ко-экспрессируются NY-ESO-1-специфичными CD8<sup>+</sup>-Т-клетками, инфильтрирующимися в меланому человека (Chauvin et al., 2015), что согласуется с доклиническими данными о том, что двойная блокада может усиливать функцию опухоль-инфильтрирующих эффекторных CD8<sup>+</sup>-Т-клеток и стимулировать отторжение опухоли (Johnston et al., 2014). Это подтверждается более ранними наблюдениями о том, что TIGIT индуцируется при активации и регулирует пути активации TCR внутриклеточно (Joller et al., 2011). Все вместе эти наблюдения показывают, что TIGIT- и PD-1-блокады могут действовать однонаправленно, но через аддитивные механизмы, усиливающие активность Т-клеток.

Исследования также выявили потенциальные комбинаторные стратегии, действующие через другие избыточные факторы (место действия в ткани, конкретную популяцию иммунных клеток или биологический процесс) противоракового иммунитета (Chen, Mellman, 2013). Анализ клинических образцов свидетельствует, что трансмембранный белок I типа VISTA (V-domain Ig suppressor of T cell activation) экспрессируется главным образом на макрофагах M2 после воздействия ипилимумабом при терапии рака простаты (Gao et al., 2017). Кроме того, было по-

казано, что VISTA и PD-1/PD-L1 оказывают непрерывающийся ингибирующий эффект на Т-клетки (Liu et al., 2015). Вовлечение врожденного иммунитета представляет собой еще один аспект, который можно использовать для развития эффективного противоопухолевого ответа. Например, лечение агонистическими антителами к CD40 усиливает функцию APC и вместе с химиотерапией может индуцировать эффективные Т-клеточнозависимые иммунные ответы на иммунологически “холодные” опухоли (Vonderheide, Glennie, 2013; Byrne, Vonderheide, 2016). Именно такие исследования и комбинирующие методы лечения с различающимися и (в идеале) синергичными механизмами действия будут иметь решающее значение для разработки новых методов комбинированной терапии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итак, мы рассмотрели совокупность имеющихся в настоящее время знаний о биологических функциях ко-стимулирующих молекул Т-клеток и механизмах их блокады, посредством которой возможно вызывать иммунное отторжение опухоли. Мы затронули, главным образом, блокаду иммунных контрольных точек CTLA4 и PD-1, а также рассмотрели дополнительные ко-стимулирующие молекулы, представляющие терапевтический интерес. Многие детали того, как CTLA4, PD-1 и другие ко-стимулирующие молекулы действительно ослабляют активацию Т-клеток на молекулярном, клеточном и физиологическом уровнях, по-прежнему остаются неизвестными. Понимание механизмов осуществления биологических функций этих молекул будет иметь решающее значение для разработки новых терапевтических подходов и их дальнейшего совершенствования. Вполне вероятно, что в будущем комбинированная терапия, использующая одну или несколько иммунотерапевтических процедур, станет стандартным методом лечения опухолей широкого спектра.

Одной из важнейших нерешенных проблем остается причина появления иgAEs и их взаимосвязь с проводимой БКТ-терапией. Если будет установлено, что в основе терапевтической эффективности и причин появления иgAE лежат разные механизмы, то можно подобрать такие условия, при которых они могут быть изолированы. Понимание этиологии иgAE также важно в контексте комбинированной терапии, которая, по крайней мере в случае комбинирования анти-CTLA4 и анти-PD-1, имеет более высокие показатели иgAE, чем монотерапия. Профиль безопасности комбинированной терапии ипилимумабом и ниволумабом приведен в литературе (Sznol et al., 2017). Хотя большинство иgAE, ассоциированных с БКТ-терапией, не свидетельствуют о возникновении аутоиммунного ответа, новые данные указывают на то, что с очень низкой частотой могут развиваться серьезные аутоиммунные состояния, такие как диабет 1 типа и миокардит.

Потенциальным редким побочным эффектом вследствие монотерапии анти-PD-1 и комбинации блокады CTLA4 и PD-1, как сообщается, может быть молниеносный миокардит (Johnson et al., 2016; Moslehi et al., 2018). Вероятность развития таких редких аутоиммунных irAE станет еще более значимой по мере увеличения частоты использования БКТ-терапии как в неоадьювантных (до операции), так и в адьювантных (после операции) клинических исследованиях. Поэтому для разделения основополагающих механизмов терапевтической эффективности и irAE очень важно понять, каким образом специфические методы БКТ-терапии модулируют репертуар Т-клеток и их функцию. Специфика методов отражается также в результатах, показывающих различные иммунологические профили колитов, вызванных анти-CTLA4- и анти-PD-1-терапиями (Coutzac et al., 2017).

Одним из существенных ограничений, которые в настоящее время мешают пониманию причин возникновения irAE, является отсутствие соответствующих доклинических моделей на животных. Разработка таких моделей, точно воспроизводящих irAE, совершенно необходима для дальнейшего исследования механизмов irAE, связанных с БКТ-терапией.

Кроме того важнейшим пунктом в программе изучения механизмов БКТ-терапии являются свойства самих антигенов, опосредующих иммунное отторжение опухоли. Сообщается, что у пациентов с меланомой Т-клеточный репертуар после анти-CTLA4-терапии расширяется (Robert et al., 2014). И наоборот, ответ на PD-1-терапию может коррелировать со сниженной внутриопухолевой клоноальностью Т-клеток (Tumeh et al., 2014). Это противоречие может отражать тот факт, что регрессия опухоли часто опосредована небольшим количеством доминантных неоэпитопов (Matsushita et al., 2012; Gubin et al., 2014). При этом сохранение обильных клонотипов связано с лучшим клиническим ответом на анти-CTLA4-терапию (Cha et al., 2014). Аналогичным образом агенты, блокирующие PD-1 (ниволумаб и пембролизумаб), обладают повышенной эффективностью в опухолях с нарушением системы репарации ошибок репликации и высокой микросателлитной нестабильностью у взрослых и у детей (Le et al., 2015, 2017; Overman et al., 2017).

Кроме того, что эти методы лечения первыми получили одобрение FDA для лечения опухолевых заболеваний, они также иллюстрируют пример того, как понимание механизмов терапии может предсказывать группы пациентов, наиболее подверженных терапии. Нужно отметить, что неоантигенная нагрузка представляет собой только один механизм, посредством которого опухоли могут распознаваться иммунной системой. Используя корреляцию между частотой ответов на анти-PD-1-терапию и распределением мутационной нагрузки (ТМВ) по типам опухолей, посчитали, что 55% различий в те-

рапевтической эффективности можно объяснить ТМВ (Yarchoan et al., 2017). Крайне важно понять дополнительные биологические свойства, присущие опухоли или зависящие от хозяина, которые также вносят вклад в модуляцию терапевтического ответа. Например, недавние исследования показывают, что геномные мутации в гене PBRM1, кодирующем компоненту ремоделирующего хроматин комплекса, связаны с ответом на БКТ (Miao et al., 2018), обеспечивая потенциальные альтернативные механизмы иммунного узнавания.

Несомненно, нас ждут дополнительные сюрпризы, поскольку каждый год выходят новые работы, расширяющие наше понимание иммунной системы и ее влияние на процессы опухолеобразования.

Примечание. Представлено по материалам ре-сурса: <https://www.accessdata.fda.gov>.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № МК 18-29-09144).

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Экспериментов с участием животных или людей авторы не проводили.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Agata Y., Kawasaki A., Nishimura H., Ishida Y., Tsubata T., Yagita H., Honjo T. 1996. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int. Immunol.* 8 : 765–72.
- Ahonen C., Manning E., Erickson L.D., O'Connor B., Lind E.F., Pullen S.S., Kehry M.R., Noelle R.J. 2002. The CD40-TRAF6 axis controls affinity maturation and the generation of long-lived plasma cells. *Nat. Immunol.* 3 : 451–456.
- Arce Vargas F., Furness A.J.S., Litchfield K., Joshi K., Rosenthal R., Ghorani E., Solomon I., Lesko M.H., Ruef N., Roddie C., Henry J.Y., Spain L., Aissa A.B., Georgiou A., Wong Y.N.S. et al. 2018. Fc effector function contributes to the activity of human anti-CTLA-4 antibodies. *Cancer Cell.* 33 : 649–63.e4.  
<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.02.010>
- Bachmann M.F., Kohler G., Ecabert B., Mak T.W., Kopf M. 1999. Cutting edge: Lymphoproliferative disease in the absence of CTLA-4 is not T cell autonomous. *J. Immunol.* 163 : 1128–1131.
- Banchereau J., Dubois B., Fayette J., Burdin N., Brière F., Miossec P., Risoan M.C., van Kooten C., Caux C. 1995. Functional CD40 antigen on B cells, dendritic cells and fibroblasts. *Adv. Exp. Med. Biol.* 378 : 79–83.

- Barber D.L., Wherry E.J., Masopust D., Zhu B., Allison J.P., Sharpe A.H., Freeman G.J., Ahmed R. 2006. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*. 439 : 682–687.
- Bengsch B., Johnson A.L., Kurachi M., Odorizzi P.M., Pauken K.E., Attanasio J., Stelekati E.I., McLane L.M., Paley M.A., Delgoffe G.M., Wherry E.J. 2016. Bioenergetic insufficiencies due to metabolic alterations regulated by the inhibitory receptor PD-1 are an early driver of CD8(+) T cell exhaustion. *Immunity*. 45 : 358–373.
- Bengsch B., Ohtani T., Khan O., Setty M., Manne S., O'Brien S., Gherardini P.F., Herati R.S., Huang A.C., Chang K.-M., Newell E.W., Bovenschen N., Pe'er D., Albelda S.M., Wherry E.J. 2018. Epigenomic-guided mass cytometry profiling reveals disease-specific features of exhausted CD8 T cells. *Immunity*. 48 : 1029–1045 e1025. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.04.026>
- Bruhns P., Iannascoli B., England P., Mancardi D.A., Fernandez N., Jorieux S., Daëron M. 2009. Specificity and affinity of human Fc gamma receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood*. 113 : 3716–3725.
- Brunner M.C., Chambers C.A., Chan F.K., Hanke J., Winoto A., Allison J.P. 1999. CTLA-4-Mediated inhibition of early events of T cell proliferation. *J. Immunol.* 162 : 5813–5820.
- Buck M.D., O'Sullivan D., Klein Geltink R.I., Curtis J.D., Chang C.H., Sanin D., Qiu E.J., Kretz O., Braas D., van der Windt G., Chen Q., Huang S.C., O'Neill C.M., Edelson B.T., Pearce E.J. et al. 2016. Mitochondrial dynamics controls T cell fate through metabolic programming. *Cell*. 166 : 63–76.
- Bulliard Y., Jolicœur R., Windman M., Rue S.M., Ettenberg S., Knee D.A., Wilson N.S., Dranoff G., Brogdon J.L. 2013. Activating Fc gamma receptors contribute to the antitumor activities of immunoregulatory receptor-targeting antibodies. *J. Exp. Med.* 210 : 1685–1693.
- Butte M.J., Keir M.E., Phamduy T.B., Sharpe A.H., Freeman G.J. 2007. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity*. 27 : 111–122.
- Byrne K.T., Vonderheide R.H. 2016. CD40 stimulation obviates innate sensors and drives T cell immunity in cancer. *Cell Rep.* 15 : 2719–2732.
- Carthon B.C., Wolchok J.D., Yuan J., Kamat A., Ng Tang D.S., Sun J., Ku G., Troncso P., Logothetis C.J., Allison J.P., Sharma P. 2010. Preoperative CTLA-4 blockade: Tolerability and immune monitoring in the setting of a presurgical clinical trial. *Clin. Cancer Res.* 16 : 2861–2871.
- Cha E., Klinger M., Hou Y., Cummings C., Ribas A., Faham M., Fong L. 2014. Improved survival with T cell clonotype stability after anti-CTLA-4 treatment in cancer patients. *Sci. Translat. Med.* 6 : 238ra270. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008211>
- Chambers C.A., Cado D., Truong T., Allison J.P. 1997. Thymocyte development is normal in CTLA-4-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94 : 9296–92301.
- Chaput N., Lepage P., Coutzac C., Soularue E., Le Roux K., Monot C., Boselli L., Routier E., Cassard L., Collins M., Vaysse T., Marthey L., Eggermont A., Asvatourian V., Lanoy E. et al. 2017. Baseline gut microbiota predicts clinical response and colitis in metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Ann. Oncol.* 28 : 1368–1379.
- Chauvin J.M., Pagliano O., Fourcade J., Sun Z., Wang H., Sander C., Kirkwood J.M., Chen T.H., Maurer M., Korman A.J., Zarour H.M. 2015. TIGIT and PD-1 impair tumor antigen-specific CD8(+) T cells in melanoma patients. *J. Clin. Invest.* 125 : 2046–2058.
- Chen D.S., Mellman I. 2013. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*. 39 : 1–10.
- Chen H., Liakou C. I., Kamat A., Pettaway C., Ward J.F., Tang D.N., Sun J., Jungbluth A.A., Troncso P., Logothetis C., Sharma P. 2009. Anti-CTLA-4 therapy results in higher CD4+ICOShi T cell frequency and IFN-gamma levels in both nonmalignant and malignant prostate tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 106 : 2729–2734.
- Chiba S., Baghdadi M., Akiba H., Yoshiyama H., Kinoshita I., Dosaka-Akita H., Fujioka Y., Ohba Y., Gorman J.V., Colgan J.D., Hirashima M., Uede T., Takaoka A., Yagita H., Jinushi M. 2012. Tumor-infiltrating DCs suppress nucleic acid-mediated innate immune responses through interactions between the receptor TIM-3 and the alarmin HMGB1. *Nat. Immunol.* 13 : 832–842.
- Corse E., Allison J.P. 2012. Cutting edge: CTLA-4 on effector T cells inhibits in trans. *J. Immunol.* 189 : 1123–7.
- Coutzac C., Adam J., Soularue E., Collins M., Racine A., Muscusi C., Boselli L., Kamsukom N., Mateus C., Charrier M., Cassard L., Planchard D., Ribrag V., Fizazi K., Loriot Y. et al. 2017. Colon immune-related adverse events: Anti-CTLA-4 and anti-PD-1 blockade induce distinct immunopathological entities. *J. Crohns. Colitis.* 11 : 1238–1246.
- Curran M.A., Montalvo W., Yagita H., Allison J.P. 2010. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107 : 4275–4280.
- Dahan R., Sega E., Engelhardt J., Selby M., Korman A.J., Ravetch J.V. 2015. Fc gamma Rs modulate the anti-tumor activity of antibodies targeting the PD-1/PD-L1 axis. *Cancer Cell.* 28 : 285–295.
- Das R., Bar N., Ferreira M., Newman A.M., Zhang L., Bailur J.K., Bacchiocchi A., Kluger H., Wei W., Halaban R., Sznol M., Dhodapkar M.V., Dhodapkar K.M. 2018. Early B cell changes predict autoimmunity following combination immune checkpoint blockade. *J. Clin. Invest.* 128 : 715–720.
- Das R., Verma R., Sznol M., Boddupalli C.S., Gettinger S.N., Kluger H., Callahan M., Wolchok J.D., Halaban R., Dhodapkar M.V., Dhodapkar K.M. 2015. Combination therapy with anti-CTLA-4 and anti-PD-1 leads to distinct immunologic changes *in vivo*. *J. Immunol.* 194 : 950–959.
- Daud A.I., Loo K., Pauli M.L., Sanchez-Rodriguez R., Sandoval P.M., Taravati K., Tsai K., Nosrati A., Nardo L., Alvarado M.D., Algazi A.P., Pampaloni M.H., Lobach I.V., Hwang J., Pierce R.H. et al. 2016. Tumor immune profiling predicts response to anti-PD-1 therapy in human melanoma. *J. Clin. Invest.* 126 : 3447–3452.
- De Henau O., Rausch M., Winkler D., Campesato L.F., Liu C., Cymerman D.H., Budhu S., Ghosh A., Pink M., Tchaicha J., Douglas M., Tibbitts T., Sharma S., Proctor J., Kosmider N.

- et al.* 2016. Overcoming resistance to checkpoint blockade therapy by targeting PI3Kgamma in myeloid cells. *Nature*. 539 : 443–447.
- DeKruyff R.H., Bu X., Ballesteros A., Santiago C., Chim Y.L., Lee H.H., Karisola P., Pichavant M., Kaplan G.G., Umet-su D.T., Freeman G.J., Casasnovas J.M.* 2010. T cell/transmembrane, Ig, and mucin-3 allelic variants differentially recognize phosphatidylserine and mediate phagocytosis of apoptotic cells. *J. Immunol.* 184 : 1918–1930.
- Demaria S., Kawashima N., Yang A.M., Devitt M.L., Babb J.S., Allison J.P., Formenti S.C.* 2005. Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 11 : 728–734.
- Dieu-Nosjean M.C., Antoine M., Danel C., Heudes D., Wislez M., Poulot V., Rabbe N., Laurans L., Tartour E., de Chaisemartin L., Lebecque S., Fridman W.H., Cadranet J.* 2008. Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. *J. Clin. Oncol.* 26 : 4410–4417.
- Dong H., Zhu G., Tamada K., Chen L.* 1999. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat. Med.* 5 : 1365–1369.
- Dovedi S.J., Adlard A.L., Lipowska-Bhalla G., McKenna C., Jones S., Cheadle E.J., Stratford I.J., Poon E., Morrow M., Stewart R., Jones H., Wilkinson R.W., Honeychurch J., Illidge T.M.* 2014. Acquired resistance to fractionated radiotherapy can be overcome by concurrent PD-L1 blockade. *Cancer Res.* 74 : 5458–5468.
- Doyle A.M., Mullen A.C., Villarino A.V., Hutchins A.S., High F.A., Lee H.W., Thompson C.B., Reiner S.L.* 2001. Induction of cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) restricts clonal expansion of helper T cells. *J. Exp. Med.* 194 : 893–902.
- Du X., Tang F., Liu M., Su J., Zhang Y., Wu W., Devenport M., Lazarski C.A., Zhang P., Wang X., Ye P., Wang C., Hwang E., Zhu T., Xu T. et al.* 2018. A reappraisal of CTLA-4 checkpoint blockade in cancer immunotherapy. *Cell Res.* 28 : 416–432.
- Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D.* 2004. The three Es of cancer immunoeediting. *Ann. Rev. Immunol.* 22 : 329–360.
- Egen J.G., Allison J.P.* 2002. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 accumulation in the immunological synapse is regulated by TCR signal strength. *Immunity*. 16 : 23–35.
- Egen J.G., Kuhns M.S., Allison J.P.* 2002. CTLA-4: New insights into its biological function and use in tumor immunotherapy. *Nat. Immunol.* 3 : 611–8.
- Engelhard V.H., Rodriguez A.B., Mauldin I.S., Woods A.N., Peske J.D., Slingluff C.L. Jr.* 2018. Immune cell infiltration and tertiary lymphoid structures as determinants of antitumor immunity. *J. Immunol.* 200 : 432–442.
- Eroglu Z., Kim D.W., Wang X., Camacho L.H., Chmielowski B., Seja E., Villanueva A., Ruchalski K., Glaspy J.A., Kim K.B., Hwu W.J., Ribas A.* 2015. Long term survival with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade using tremelimumab. *Eur. J. Cancer.* 51 : 2689–2697.
- Fehlings M., Simoni Y., Penny H.L., Becht E., Loh C.Y., Gubin M.M., Ward J.P., Wong S.C., Schreiber R.D., Newell E.W.* 2017. Checkpoint blockade immunotherapy reshapes the high-dimensional phenotypic heterogeneity of murine intratumoral neoantigen-specific CD8(+) T cells. *Nat. Commun.* 8 : 562.
- Flies D.B., Han X., Higuchi T., Zheng L., Sun J., Ye J.J., Chen L.* 2014. Coinhibitory receptor PD-1H preferentially suppresses CD4(+) T cell-mediated immunity. *J. Clin. Invest.* 124 : 1966–1975.
- Forde P.M., Chaff J.E., Smith K.N., Anagnostou V., Cottrell T.R., Hellmann M.D., Zahurak M., Yang S.C., Jones D.R., Broderick S., Battafarano R.J., Velez M.J., Rekhman N., Olah Z., Naidoo J. et al.* 2018. Neoadjuvant PD-1 blockade in resectable lung cancer. *N. Engl. J. Med.* 378 : 1976–1986.
- Freeman G.J., Long A.J., Iwai Y., Bourque K., Chernova T., Nishimura H., Fitz L.J., Malenkovich N., Okazaki T., Byrne M.C., Horton H.F., Fouser L., Carter L., Ling V., Bowman M.R. et al.* 2000. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med.* 192 : 1027–1034.
- Friedline R.H., Brown D.S., Nguyen H., Kornfeld H., Lee J., Zhang Y., Appleby M., Der S.D., Kang J., Chambers C.A.* 2009. CD4+ regulatory T cells require CTLA-4 for the maintenance of systemic tolerance. *J. Exp. Med.* 206 : 421–434.
- Futagawa T., Akiba H., Kodama T., Takeda K., Hosoda Y., Yagita H., Okumura K.* 2002. Expression and function of 4-1BB and 4-1BB ligand on murine dendritic cells. *Int. Immunol.* 14 : 275–286.
- Gao J., Ward J.F., Pettaway C.A., Shi L.Z., Subudhi S.K., Vence L.M., Zhao H., Chen J., Chen H., Efstathiou E., Troncso P., Allison J.P., Logotheis C.J., Wistuba I.I., Sepulveda M.A. et al.* 2017. VISTA is an inhibitory immune checkpoint that is increased after ipilimumab therapy in patients with prostate cancer. *Nat. Med.* 23 : 551–555.
- Ghoneim H.E., Fan Y., Moustaki A., Abdelsamed H.A., Dash P., Dogra P., Carter R., Awad W., Neale G., Thomas P.G., Youngblood B.* 2017. *De novo* epigenetic programs inhibit PD-1 blockade-mediated T cell rejuvenation. *Cell.* 170 : 142–157 e119.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.06.007>
- Golden E.B., Demaria S., Schiff P.B., Chachoua A., Formenti S.C.* 2013. An abscopal response to radiation and ipilimumab in a patient with metastatic non-small cell lung cancer. *Cancer Immunol. Res.* 1 : 365–372.
- Goodwin R.G., Alderson M.R., Smith C.A., Armitage R.J., VandenBos T., Jerzy R., Tough T.W., Schoenborn M.A., Davis-Smith T., Hennen K. et al.* 1993. Molecular and biological characterization of a ligand for CD27 defines a new family of cytokines with homology to tumor necrosis factor. *Cell.* 73 : 447–456.
- Gopalakrishnan V., Spencer C.N., Nezi L., Reuben A., Andrews M.C., Karpinets T.V., Prieto P.A., Vicente D., Hoffman K., Wei S.C., Cogdill A.P., Zhao L., Hudgens C.W., Hutchinson D.S., Manzo T. et al.* 2018. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science.* 359 : 97–103.
- Gubin M.M., Zhang X., Schuster H., Caron E., Ward J.P., Noguichi T., Ivanova Y., Hundal J., Arthur C.D., Krebber W.J.,*

- Mulder G.E., Toebes M., Vesely M.D., Lam S.S., Korman A.J. et al. 2014. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens. *Nature*. 515 : 577–581.
- Gurney A.L., Marsters S.A., Huang R.M., Pitti R.M., Mark D.T., Baldwin D.T., Gray A.M., Dowd A.D., Brush A.D., Helledens A.D., Schow A.D., Goddard A.D., Wood W.I., Baker K.P., Godowski P.J., Ashkenazi A. 1999. Identification of a new member of the tumor necrosis factor family and its receptor, a human ortholog of mouse GITR. *Curr. Biol.* 9 : 215–218.
- Hellmann M.D., Nathanson T., Rizvi H., Creelan B.C., Sanchez-Vega F., Ahuja A., Ni A., Novik J.B., Mangarin L.M.B., Abuskeel M., Liu C., Sauter J.L., Rekhtman N., Chang E., Callahan M.K. et al. 2018. Genomic features of response to combination immunotherapy in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Cancer Cell*. 33 : 843–852. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2018.03.018>
- Hendriks J., Gravestien L.A., Tesselaar K., van Lier R.A., Schumacher T.N., Borst J. 2000. CD27 is required for generation and long-term maintenance of T cell immunity. *Nat. Immunol.* 1 : 433–440.
- Herbst R.S., Soria J.C., Kowanetz M., Fine G.D., Hamid O., Gordon M.S., Sosman J.A., McDermott D.F., Powderly J.D., Gettinger S.N., Kohrt H.E., Horn L., Lawrence D.P., Rost S., Leabman M. et al. 2014. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*. 515 : 563–567.
- Huang A.C., Postow M.A., Orlowski R.J., Mick R., Bengsch B., Manne S., Xu W., Harmon S., Giles J.R., Wenz B., Adamow M., Kuk D., Panageas K.S., Carrera C., Wong P. et al. 2017. T-cell invigoration to tumour burden ratio associated with anti-PD-1 response. *Nature*. 545 : 60–65.
- Huang Y.H., Zhu C., Kondo Y., Anderson A.C., Gandhi A., Russell A., Dougan S.K., Petersen B.S., Melum E., Pertel T., Clayton K.L., Raab M., Chen Q., Beauchemin N., Yazaki P.J. et al. 2015. CEACAM1 regulates TIM-3-mediated tolerance and exhaustion. *Nature*. 517 : 386–390.
- Huard B., Prigent P., Tournier M., Bruniquel D., Triebel F. 1995. CD4/major histocompatibility complex class II interaction analyzed with CD4- and lymphocyte activation gene-3 (LAG-3)-Ig fusion proteins. *Eur. J. Immunol.* 25 : 2718–2721.
- Hui E., Cheung J., Zhu J., Su X., Taylor M.J., Wallweber H.A., Sasmal D.K., Huang J., Kim J.M., Mellman I., Vale R.D. 2017. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition. *Science*. 355 : 1428–1433.
- Iijima N., Iwasaki A. 2016. Access of protective antiviral antibody to neuronal tissues requires CD4 T-cell help. *Nature*. 533 : 552–556.
- Im S.J., Hashimoto M., Gerner M.Y., Lee J., Kissick H.T., Burger M.C., Shan Q., Hale J.S., Lee J., Nasti T.H., Sharpe A.H., Freeman G.J., Germain R.N., Nakaya H.I., Xue H.H., Ahmed R. 2016. Defining CD8<sup>+</sup> T cells that provide the proliferative burst after PD-1 therapy. *Nature*. 537 : 417–421.
- Jain N., Nguyen H., Chambers C., Kang J. 2010. Dual function of CTLA-4 in regulatory T cells and conventional T cells to prevent multiorgan autoimmunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 107 : 1524–1528.
- Janakiram M., Shah U.A., Liu W., Zhao A., Schoenberg M.P., Zang X. 2017. The third group of the B7-CD28 immune checkpoint family: HHLA2, TMIGD2, B7x, and B7-H3. *Immunol. Rev.* 276 : 26–39.
- Johnson D.B., Balko J.M., Compton M.L., Chalkias S., Gorham J., Xu Y. et al. 2016. Fulminant myocarditis with combination immune checkpoint blockade. *N. Engl. J. Med.* 375 : 1749–1755.
- Johnston R.J., Comps-Agrar L., Hackney J., Yu X., Huseni M., Yang Y., Park S., Javinal V., Chiu H., Irving B., Eaton D.L., Grogan J.L. 2014. The immunoreceptor TIGIT regulates antitumor and antiviral CD8(+) T cell effector function. *Cancer Cell*. 26 : 923–937.
- Joller N., Hafler J.P., Brynedal B., Kassam N., Spoerl S., Levin S.D., Sharpe A.H., Kuchroo V.K. 2011. Cutting edge: TIGIT has T cell-intrinsic inhibitory functions. *J. Immunol.* 186 : 1338–1342.
- Joshi N.S., Akama-Garren E.H., Lu Y., Lee D.Y., Chang G.P., Li A., DuPage M., Tammela T., Kerper N.R., Farago A.F., Robbins R., Crowley D.M., Bronson R.T., Jacks T. 2015. Regulatory T cells in tumor-associated tertiary lymphoid structures suppress anti-tumor T cell responses. *Immunity*. 43 : 579–590.
- Juneja V.R., McGuire K.A., Manguso R.T., LaFleur M.W., Collins N., Haining W.N., Freeman G.J., Sharpe A.H. 2017. PD-L1 on tumor cells is sufficient for immune evasion in immunogenic tumors and inhibits CD8 T cell cytotoxicity. *J. Exp. Med.* 214 : 895–904.
- Kamphorst A.O., Pillai R.N., Yang S., Nasti T.H., Akondy R.S., Wieland A., Sica G.L., Yu K., Koenig L., Patel N.T., Behera M., Wu H., McCausland M., Chen Z., Zhang C. et al. 2017a. Proliferation of PD-1<sup>+</sup> CD8 T cells in peripheral blood after PD-1-targeted therapy in lung cancer patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 114 : 4993–4998.
- Kamphorst A.O., Wieland A., Nasti T., Yang S., Zhang R., Barber D.L., Konieczny B.T., Daugherty C.Z., Koenig L., Yu K., Sica G.L., Sharpe A.H., Freeman G.J., Blazar B.R., Turka L.A. et al. 2017b. Rescue of exhausted CD8 T cells by PD-1-targeted therapies is CD28-dependent. *Science*. 355 : 1423–1427.
- Kane L.P., Andres P.G., Howland K.C., Abbas A.K., Weiss A. 2001. Akt provides the CD28 costimulatory signal for up-regulation of IL-2 and IFN-gamma but not TH2 cytokines. *Nat. Immunol.* 2 : 37–44.
- Keir M.E., Liang S.C., Guleria I., Latchman Y.E., Qipo A., Albacker L.A., Koulmanda M., Freeman G.J., Sayegh M.H., Sharpe A.H. 2006. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T cell tolerance. *J. Exp. Med.* 203 : 883–895.
- Kleffel S., Posch C., Barthel S.R., Mueller H., Schlapbach C., Guenova E., Elco C.P., Lee N., Juneja V.R., Zhan Q., Lian C.G., Thomi R., Hoetzenecker W., Cozzio A., Dummer R. et al. 2015. Melanoma cell-intrinsic PD-1 receptor functions promote tumor growth. *Cell*. 162 : 1242–1256.
- Kortlever R.M., Sodir N.M., Wilson C.H., Burkhart D.L., Pellegrinet L., Brown Swigart L., Littlewood T.D., Evan G.I.

2017. Myc cooperates with ras by programming inflammation and immune suppression. *Cell*. 171 : 1301–1315.
- Kvistborg P., Philips D., Kelderman S., Hageman L., Ottensmeier C., Joseph-Pietras D., Welters M.J., van der Burg S., Kapiteijn E., Michielin O., Romano E., Linnemann C., Speiser D., Blank C., Haanen J.B., Schumacher T.N. 2014. Anti-CTLA-4 therapy broadens the melanoma-reactive CD8+ T cell response. *Sci. Translat. Med.* 6 : 254ra128.  
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3008918>
- Kwon B.S., Weissman S.M. 1989. cDNA sequences of two inducible T-cell genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 86 : 1963–1967.
- Lanier L.L., O'Fallon S., Somoza C., Phillips J.H., Linsley P.S., Okumura K., Ito D., Azuma M. 1995. CD80 (B7) and CD86 (B70) provide similar costimulatory signals for T cell proliferation, cytokine production, and generation of CTL. *J. Immunol.* 154 : 97–105.
- Larkin J., Chiarion-Sileni V., Gonzalez R., Grob J.J., Cowey C.L., Lao C.D., Schadendorf D., Dummer R., Smylie M., Rutkowski P., Ferrucci P.F., Hill A., Wagstaff J., Carlino M.S., Haanen J.B. et al. 2015. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N. Engl. J. Med.* 373 : 23–34.
- Latchman Y., Wood C.R., Chernova T., Chaudhary D., Borde M., Chernova I., Iwai Y., Long A.J., Brown J.A., Nunes R., Greenfield E.A., Bourque K., Boussiotis V.A., Carter L.L., Carreno B.M. et al. 2001. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat. Immunol.* 2 : 261–268.
- Le D.T., Durham J.N., Smith K.N., Wang H., Bartlett B.R., Aulakh L.K., Lu S., Kemberling H., Wilt C., Luber B.S., Wong F., Azad N.S., Rucki A.A., Laheru D., Donehower R. et al. 2017. Mismatch repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. 357 : 409–413.
- Le D.T., Uram J.N., Wang H., Bartlett B.R., Kemberling H., Eyring A.D., Skora A.D., Luber B.S., Azad N.S., Laheru D., Biedrzycki B., Donehower R.C., Zaheer A., Fisher G.A., Crocenzi T.S. et al. 2015. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N. Engl. J. Med.* 372 : 2509–2520.
- Liakou C.I., Kamat A., Tang D.N., Chen H., Sun J., Troncso P., Logothetis C., Sharma P. 2008. CTLA-4 blockade increases IFN $\gamma$ -producing CD4+ICOS $^+$  cells to shift the ratio of effector to regulatory T cells in cancer patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 105 : 14987–14992.
- Lin H., Wei S., Hurt E.M., Green M.D., Zhao L., Vatan L., Szeli-ga W., Herbst R., Harms P.W., Fecher L.A., Vats P., Chinnai-yan A.M., Lao C.D., Lawrence T.S., Wicha M., et al. 2018. Host expression of PD-L1 determines efficacy of PD-L1 pathway blockade-mediated tumor regression. *J. Clin. Invest.* 128 : 805–815.
- Linsley P.S., Brady W., Urnes M., Grosmaire L.S., Damle N.K., Ledbetter J.A. 1991. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J. Exp. Med.* 174 : 561–569.
- Linsley P.S., Greene J.L., Brady W., Bajorath J., Ledbetter J.A., Peach R. 1994. Human B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) bind with similar avidities but distinct kinetics to CD28 and CTLA-4 receptors. *Immunity*. 1 : 793–801.
- Liu J., Yuan Y., Chen W., Putra J., Suriawinata A.A., Schenk A.D., Miller H.E., Guleria I., Barth R.J., Huang Y.H., Wang L. 2015. Immune-checkpoint proteins VISTA and PD-1 nonredundantly regulate murine T-cell responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 112 : 6682–6687.
- Loke P., Allison J.P. 2003. PD-L1 and PD-L2 are differentially regulated by Th1 and Th2 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 100 : 5336–5341.
- Matsushita H., Vesely M.D., Koboldt D.C., Rickert C.G., Uppaluri R., Magrini V.J., Arthur C.D., White J.M., Chen Y.S., Shea L.K., Hundal J., Wendl M.C., Demeter R., Wylie T., Allison J.P. et al. 2012. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoeediting. *Nature*. 482 : 400–404.
- McAdam A.J., Chang T.T., Lumelsky A.E., Greenfield E.A., Boussiotis V.A., Duke-Cohan J.S., Chernova T., Malenkovich N., Jabs C., Kuchroo V.K., Ling V., Collins M., Sharpe A.H., Freeman G.J. 2000. Mouse inducible costimulatory molecule (ICOS) expression is enhanced by CD28 costimulation and regulates differentiation of CD4+ T cells. *J. Immunol.* 165 : 5035–5040.
- McHugh R.S., Whitters M.J., Piccirillo C.A., Young D.A., Shevach E.M., Collins M., Byrne M.C. 2002. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: Gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity*. 16 : 311–323.
- Miao D., Margolis C.A., Gao W., Voss M.H., Li W., Martini D.J., Norton C., Bossé D., Wankowicz S.M., Cullen D., Horak C., Wind-Rotolo M., Tracy A., Giannakis M., Hodi F.S. et al. 2018. Genomic correlates of response to immune checkpoint therapies in clear cell renal cell carcinoma. *Science*. 359 : 801–6.
- Moslehi J.J., Salem J.E., Sosman J.A., Lebrun-Vignes B., Johnson D.B. 2018. Increased reporting of fatal immune checkpoint inhibitor-associated myocarditis. *Lancet*. 391 : 933.
- Motzer R.J., Tannir N.M., McDermott D.F., Arén Frontera O., Melicher B., Choueiri T. K., Plimack E.R., Barthélémy P., Porta C., George S., Powles T., Donskov F., Neiman V., Kollmannsberger C.K., Salman P. et al. 2018. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in advanced renal-cell carcinoma. *N. Engl. J. Med.* 378 : 1277–1290.
- Nakanishi Y., Lu B., Gerard C., Iwasaki A. 2009. CD8(+) T lymphocyte mobilization to virus-infected tissue requires CD4(+) T-cell help. *Nature*. 462 : 510–513.
- Ndhlovu L.C., Lopez-Vergès S., Barbour J.D., Jones R.B., Jha A.R., Long B.R., Schoeffler E.C., Fujita T., Nixon D.F., Lanier L.L. 2012. Tim-3 marks human natural killer cell maturation and suppresses cell-mediated cytotoxicity. *Blood*. 119 : 3734–3743.
- Ng Tang D., Shen Y., Sun J., Wen S., Wolchok J.D., Yuan J., Allison J.P., Sharma P. 2013. Increased frequency of ICOS+ CD4 T cells as a pharmacodynamic biomarker for anti-CTLA-4 therapy. *Cancer Immunol. Res.* 1 : 229–234.
- Ni L., Dong C. 2017. New checkpoints in cancer immunotherapy. *Immunol Rev.* 276 : 52–65.
- Nishimura H., Nose M., Hiai H., Minato N., Honjo T. 1999. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption

- tion of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*. 11 : 141–151.
- Nishimura H., Okazaki T., Tanaka Y., Nakatani K., Hara M., Matsumori A., Sasayama S., Mizoguchi A., Hiai H., Minato N., Honjo T. 2001. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science*. 291 : 319–322.
- Oh D.Y., Cham J., Zhang L., Fong G., Kwek S.S., Klinger M., Faham M., Fong L. 2017. Immune toxicities elicited by CTLA-4 blockade in cancer patients are associated with early diversification of the T-cell repertoire. *Cancer Res.* 77 : 1322–1330.
- Overman M.J., McDermott R., Leach J.L., Lonardi S., Lenz H.J., Morse M.A., Desai J., Hill A., Axelson M., Moss R.A., Goldberg M.V., Cao Z.A., Ledezine J.M., Maglinte G.A., Kopetz S., André T. 2017. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): An open-label, multi-centre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 18 : 1182–1191.
- Pages F., Ragueneau M., Rottapel R., Truneh A., Nunes J., Imbert J., Olive D. 1994. Binding of phosphatidylinositol-3-OH kinase to CD28 is required for T-cell signalling. *Nature*. 369 : 327–329.
- Pardoll D.M. 2012. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer*. 12 : 252–264.
- Parry R.V., Chemnitz J.M., Frauwirth K.A., Lanfranco A.R., Braunstein I., Kobayashi S.V., Linsley P.S., Thompson C.B., Riley J.L. 2005. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol. Cell Biol.* 25 : 9543–9553.
- Paterson D.J., Jeffries W.A., Green J.R., Brandon M.R., Corthesy P., Puklavek M., Williams A.F. 1987. Antigens of activated rat T lymphocytes including a molecule of 50,000 Mr detected only on CD4 positive T blasts. *Mol. Immunol.* 24 : 1281–1290.
- Paterson A.M., Lovitch S.B., Sage P.T., Juneja V.R., Lee Y., Trombley J.D., Arancibia-Carcamo C.V., Sobel R.A., Rudensky A.Y., Kuchroo V.K., Freeman G.J., Sharpe A.H. 2015. Deletion of CTLA-4 on regulatory T cells during adulthood leads to resistance to autoimmunity. *J. Exp. Med.* 212 : 1603–1621.
- Patsoukis N., Bardhan K., Chatterjee P., Sari D., Liu B., Bell L.N., Karoly E.D., Freeman G.J., Petkova V., Seth P., Li L., Boussiotis V.A. 2015. PD-1 alters T-cell metabolic reprogramming by inhibiting glycolysis and promoting lipolysis and fatty acid oxidation. *Nat. Commun.* 6 : 6692.
- Pauken K.E., Sammons M.A., Odorizzi P.M., Manne S., Godec J., Khan O., Drake A.M., Chen Z., Sen D.R., Kurachi M., Barnitz R.A., Bartman C., Bengsch B., Huang A.C., Schenkel J.M. et al. 2016. Epigenetic stability of exhausted T cells limits durability of reinvigoration by PD-1 blockade. *Science*. 354 : 1160–1165.
- Peggs K.S., Quezada S.A., Chambers C.A., Korman A.J., Allison J.P. 2009. Blockade of CTLA-4 on both effector and regulatory T cell compartments contributes to the antitumor activity of anti-CTLA-4 antibodies. *J. Exp. Med.* 206 : 1717–1725.
- Pentcheva-Hoang T., Corse E., Allison J.P. 2009. Negative regulators of T-cell activation: Potential targets for therapeutic intervention in cancer, autoimmune disease, and persistent infections. *Immunol. Rev.* 229 : 67–87.
- Pentcheva-Hoang T., Egen J.G., Wójcicki K., Allison J.P. 2004. B7-1 and B7-2 selectively recruit CTLA-4 and CD28 to the immunological synapse. *Immunity*. 21 : 401–13.
- Philip M., Fairchild L., Sun L., Horste E.L., Camara S., Shakiba M., Scott A.C., Viale A., Lauer P., Merghoub T., Hellmann M.D., Wolchok J.D., Leslie C.S., Schietinger A. 2017. Chromatin states define tumour-specific T cell dysfunction and reprogramming. *Nature*. 545 : 452–456.
- 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. et al. 2015. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N. Engl. J. Med.* 372 : 2006–2017.
- Postow M. et al. 2017. 32nd annual meeting and pre-conference programs of the society for immunotherapy of cancer (SITC 2017): part one. Pooled 3-year overall survival data from phase II and phase III trials of nivolumab (NIVO) combined with ipilimumab (IPI) in advanced melanoma. *J. Immunother. Cancer*. 5 : 86.  
<https://doi.org/10.1186/s40425-017-0289-3>
- Qureshi O.S., Zheng Y., Nakamura K., Attridge K., Manzotti C., Schmidt E.M., Baker J., Jeffery L.E., Kaur S., Briggs Z., Hou T.Z., Futter C.E., Anderson G., Walker L.S., Sansom D.M. 2011. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: A molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*. 332 : 600–603.
- Ramagopal U.A., Liu W., Garrett-Thomson S.C., Bonanno J.B., Yan Q., Srinivasan M., Wong S.C., Bell A., Mankikar S., Rangan V.S., Deshpande S., Korman A.J., Almo S.C. 2017. Structural basis for cancer immunotherapy by the first-in-class checkpoint inhibitor ipilimumab. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 114 : E4223–E4232.
- Read S., Greenwald R., Izcue A., Robinson N., Mandelbrot D., Francisco L., Sharpe A. H., Powrie F. 2006. Blockade of CTLA-4 on CD4+CD25+ regulatory T cells abrogates their function in vivo. *J. Immunol.* 177 : 4376–4383.
- 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. et al. 2013. Phase III randomized clinical trial comparing tremelimumab with standard-of-care chemotherapy in patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol.* 31 : 616–622.
- Ribas A., Wolchok J.D. 2018. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*. 359 : 1350–1355.
- Robert L., Tsoi J., Wang X., Emerson R., Homet B., Chodon T., Mok S., Huang R.R., Cochran A.J., Comin-Anduix B., Koya R.C., Graeber T.G., Robins H., Ribas A. 2014. CTLA4 blockade broadens the peripheral T-cell receptor repertoire. *Clin. Cancer Res.* 20 : 2424–2432.
- Roberts E.W., Broz M.L., Binnewies M., Headley M.B., Nelson A.E., Wolf D.M., Kaisho T., Bogunovic D., Bhardwaj N., Krummel M.F. 2016. Critical role for

- CD103(+)/CD141(+) dendritic cells bearing CCR7 for tumor antigen trafficking and priming of T cell immunity in melanoma. *Cancer Cell*. 30 : 324–336.
- Rogers P.R., Song J., Gramaglia I., Killeen N., Croft M. 2001. OX40 promotes Bcl-xL and Bcl-2 expression and is essential for long-term survival of CD4 T cells. *Immunity*. 15 : 445–55.
- Romano E., Kusio-Kobialka M., Foukas P.G., Baumgaertner P., Meyer C., Ballabeni P., Michielin O., Weide B., Romero P., Speiser D.E. 2015. Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells *ex vivo* by nonclassical monocytes in melanoma patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 112 : 6140–6145.
- Rota G., Niogret C., Dang A.T., Barros C.R., Fonta N.P., Alfei F., Morgado L., Zehn D., Birchmeier W., Vivier E., Guarda G. 2018. Shp-2 is dispensable for establishing T cell exhaustion and for PD-1 signaling *in vivo*. *Cell Reports*. 23 : 39–49.
- Routy B., Le Chatelier E., Derosa L., Duong C.P.M., Alou M.T., Daillère R., Fluckiger A., Messaoudene M., Rauber C., Roberti M.P., Fidelle M., Flament C., Poirier-Colame V., Opolon P., Klein C. *et al.* 2018. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 359 : 91–97.
- Salmon H., Idoyaga J., Rahman A., Leboeuf M., Remark R., Jordan S., Casanova-Acebes M., Khudoynazarova M., Agudo J., Tung N., Chakarov S., Rivera C., Hogstad B., Bosenberg M., Hashimoto D. *et al.* 2016. Expansion and activation of CD103(+) dendritic cell progenitors at the tumor site enhances tumor responses to therapeutic PD-L1 and BRAF inhibition. *Immunity*. 44 : 924–938.
- Sanchez-Paulete A.R., Cueto F.J., Martínez-López M., Labiano S., Morales-Kastresana A., Rodríguez-Ruiz M.E., Jure-Kunkel M., Azpilikueta A., Aznar M.A., Quetglas J.I., Sancho D., Melero I. 2016. Cancer immunotherapy with immunomodulatory anti-CD137 and anti-PD-1 monoclonal antibodies requires BATF3-Dependent dendritic cells. *Cancer Discov*. 6 : 71–79.
- Schadendorf D., Hodi F.S., Robert C., Weber J.S., Margolin K., Hamid O., Patt D., Chen T.T., Berman D.M., Wolchok J.D. 2015. Pooled analysis of long-term survival data from phase II and phase III trials of ipilimumab in unresectable or metastatic melanoma. *J. Clin. Oncol*. 33 : 1889–1894.
- Schildberg F.A., Klein S.R., Freeman G.J., Sharpe A.H. 2016. Coinhibitory pathways in the B7-CD28 ligand-receptor family. *Immunity*. 44 : 955–972.
- Selby M.J., Engelhardt J.J., Quigley M., Henning K.A., Chen T., Srinivasan M., Korman A.J. 2013. Anti-CTLA-4 antibodies of IgG2a isotype enhance antitumor activity through reduction of intratumoral regulatory T cells. *Cancer Immunol. Res*. 1 : 32–42.
- Sen D.R., Kaminski J., Barnitz R.A., Kurachi M., Gerdemann U., Yates K.B., Tsao H.W., Godec J., LaFleur M.W., Brown F.D., Tonnerre P., Chung R.T., Tully D.C., Allen T.M., Frahm N. *et al.* 2016. The epigenetic landscape of T cell exhaustion. *Science*. 354 : 1165–1169.
- Sharma P., Allison J.P. 2015. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 348 : 56–61.
- Sharma P., Hu-Lieskovan S., Wargo J.A., Ribas A. 2017. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell*. 168 : 707–723.
- Simpson T.R., Li F., Montalvo-Ortiz W., Sepulveda M.A., Bergerhoff K., Arce F., Roddie C., Henry J.Y., Yagita H., Wolchok J.D., Peggs K.S., Ravetch J.V., Allison J.P., Quezada S.A. 2013. Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma. *J. Exp. Med*. 210 : 1695–1710.
- Sivan A., Corrales L., Hubert N., Williams J.B., Aquino-Michaels K., Earley Z.M., Benyamin F.W., Lei Y.M., Jabri B., Alegre M.L., Chang E.B., Gajewski T.F. 2015. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 350 : 1084–1089.
- Snyder A., Makarov V., Merghoub T., Yuan J., Zaretsky J.M., Desrichard A., Walsh L.A., Postow M.A., Wong P., Ho T.S., Hollmann T.J., Bruggeman C., Kannan K., Li Y., Elipenahli C. *et al.* 2014. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N. Engl. J. Med*. 371 : 2189–2199.
- Spitzer M.H., Carmi Y., Reticker-Flynn N.E., Kwek S.S., Madhiredy D., Martins M.M., Gherardini P.F., Prestwood T.R., Chabon J., Bendall S.C., Fong L., Nolan G.P., Engleman E.G. 2017. Systemic immunity is required for effective cancer immunotherapy. *Cell*. 168 : 487–502 e415. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.12.022>
- Spranger S., Dai D., Horton B., Gajewski T.F. 2017. Tumor-residing Batf3 dendritic cells are required for effector T cell trafficking and adoptive T cell therapy. *Cancer Cell*. 31 : 711–723. e714.
- Su Q., Zhu E., Wu J., Li T., Hou Y., Wang D., Gao Z. 2019. Risk of pneumonitis and pneumonia associated with immune checkpoint inhibitors for solid tumors: A systematic review and meta-analysis. *Front. Immunol*. 10 : 108.
- Sznol M., Ferrucci P.F., Hogg D., Atkins M.B., Wolter P., Guidoboni M., Lebbé C., Kirkwood J.M., Schachter J., Daniels G.A., Hassel J., Cebron J., Gerritsen W., Atkinson V., Thomas L. *et al.* 2017. Pooled analysis safety profile of nivolumab and ipilimumab combination therapy in patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol*. 35 : 3815–3822.
- Tang H., Liang Y., Anders R.A., Taube J.M., Qiu X., Mulgaonkar A., Liu X., Harrington S.M., Guo J., Xin Y., Xiong Y., Nham K., Silvers W., Hao G., Sun X. *et al.* 2018. PD-L1 on host cells is essential for PD-L1 blockade-mediated tumor regression. *J. Clin. Invest*. 128 : 580–588.
- Tang J., Shalabi A., Hubbard-Lucey V.M. 2018. Comprehensive analysis of the clinical immuno-oncology landscape. *Ann. Oncol*. 29 : 84–91.
- Titov A., Petukhov A., Staliarova A., Motorin D., Bulatov E., Shuvalov O., Soond S., Piacentini M., Melino G., Zaritskey Y., Barlev N. 2018. The biological basis and clinical symptoms of CAR-T therapy-associated toxicities. *Cell Death Dis*. 9 : 897.
- Tivol E.A., Borriello F., Schweitzer A.N., Lynch W.P., Bluestone J.A., Sharpe A.H. 1995. Loss of CTLA-4 leads to massive lymph-

- oproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity*. 3 : 541–547.
- Topalian S.L., Drake C.G., Pardoll D.M.* 2015. Immune checkpoint blockade: A common denominator approach to cancer therapy. *Cancer Cell*. 27 : 450–461.
- Tumeh P.C., Harview C.L., Yearley J.H., Shintaku I.P., Taylor E.J., Robert L., Chmielowski B., Spasic M., Henry G., Ciobanu V., West A.N., Carmona M., Kivork C., Seja E., Cherry G. et al.* 2014. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature*. 515 : 568–571.
- 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., Herati R.S., Mansfield K.D., Patsch D., Amaravadi R.K., Schuchter L.M. et al.* 2015. Radiation and dual checkpoint blockade activate non-redundant immune mechanisms in cancer. *Nature*. 520 : 373–377.
- Van Allen E.M., Miao D., Schilling B., Shukla S.A., Blank C., Zimmer L., Sucker A., Hillen U., Foppen M.H.G., Goldinger S.M., Utikal J., Hassel J.C., Weide B., Kaehler K.C. et al.* 2015. Genomic correlates of response to CTLA-4 blockade in metastatic melanoma. *Science*. 350 : 207–211.
- van der Merwe P.A., Bodian D.L., Daenke S., Linsley P., Davis S.J.* 1997. CD80 (B7-1) binds both CD28 and CTLA-4 with a low affinity and very fast kinetics. *J. Exp. Med.* 185 : 393–403.
- Vetizou M., Pitt J.M., Daillère R., Lepage P., Waldschmitt N., Flament C., Rusakiewicz S., Routy B., Roberti M.P., Duong C.P., Poirier-Colame V., Roux A., Becharef S., Formenti S., Golden E. et al.* 2015. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. *Science*. 350 : 1079–1084.
- Vonderheide R.H., Glennie M.J.* 2013. Agonistic CD40 antibodies and cancer therapy. *Clin. Cancer Res.* 19 : 1035–1043.
- Vonderheide R.H., LoRusso P.M., Khalil M., Gartner E.M., Khaira D., Soulieres D., Dorazio P., Trosko J.A., Rüter J., Mariani G.L., Usari T., Domchek S.M.* 2010. Tremelimumab in combination with exemestane in patients with advanced breast cancer and treatment-associated modulation of inducible costimulator expression on patient T cells. *Clin. Cancer Res.* 16 : 3485–3494.
- Walunas T.L., Lenschow D.J., Bakker C.Y., Linsley P.S., Freeman G.J., Green J.M., Thompson C.B., Bluestone J.A.* 1994. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity*. 1 : 405–413.
- Wang L., Rubinstein R., Lines J.L., Wasiuk A., Ahonen C., Guo Y. et al.* 2011. VISTA, a novel mouse Ig superfamily ligand that negatively regulates T cell responses. *J. Exp. Med.* 208 : 577–592.
- Waterhouse P., Penninger J. M., Timms E., Wakeham A., Shahinian A., Lee K.P., Thompson C.B., Griesser H., Mak T.W.* 1995. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctl4. *Science*. 270 : 985–988.
- Weber J.S., Gibney G., Sullivan R.J., Sosman J.A., Slingluff C.L.Jr., Lawrence D.P., Logan T.F., Schuchter L.M., Nair S., Fecher L., Buchbinder E.I., Berghorn E., Ruisi M., Kong G., Jiang J., Horak C., Hodi F.S.* 2016. Sequential administration of nivolumab and ipilimumab with a planned switch in patients with advanced melanoma (CheckMate 064): An open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 17 : 943–955.
- Wei S.C., Levine J.H., Cogdill A.P., Zhao Y., Anang N.A.S., Andrews M.C., Sharma P., Wang J., Wargo J.A., Pe'er D., Allison J.P.* 2017. Distinct cellular mechanisms underlie anti-CTLA-4 and anti-PD-1 checkpoint blockade. *Cell*. 170 : 1120–1133. e1117. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.07.024>
- Wherry E.J.* 2011. T cell exhaustion. *Nat. Immunol.* 12 : 492–499.
- Wherry E.J., Ha S.J., Kaech S.M., Haining W.N., Sarkar S., Kalia V., Subramaniam S., Blattman J.N., Barber D.L., Ahmed R.* 2007. Molecular signature of CD8+ T cell exhaustion during chronic viral infection. *Immunity*. 27 : 670–684.
- Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P., Yamaguchi T., Miyara M., Fehervari Z., Nomura T., Sakaguchi S.* 2008. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science*. 322 : 271–275.
- Wolchok J.D., Kluger H., Callahan M.K., Postow M.A., Rizvi N.A., Lesokhin A.M., Segal N.H., Ariyan C.E., Gordon R.A., Reed K., Burke M.M., Caldwell A., Kronenberg S.A., Agunwamba B.U., Zhang X. et al.* 2013. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.* 369 : 122–133.
- Xu F., Liu J., Liu D., Liu B., Wang M., Hu Z., Du X., Tang L., He F.* 2014. LSECtin expressed on melanoma cells promotes tumor progression by inhibiting antitumor T-cell responses. *Cancer Res.* 74 : 3418–3428.
- Xue W., Li W., Zhang T., Li Z., Wang Y., Qiu Y., Wang Y., Chen C., Fu D., Zhang M.* 2019. Anti-PD1 up-regulates PD-L1 expression and inhibits T-cell lymphoma progression: Possible involvement of an IFN- $\gamma$ -associated JAK-STAT pathway. *Onco Targets Ther.* 12 : 2079–2088.
- Yarchoan M., Hopkins A., Jaffee E.M.* 2017. Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition. *N. Engl. J. Med.* 377 : 2500–2501.
- Yoshinaga S.K., Whoriskey J.S., Khare S.D., Sarmiento U., Guo J., Horan T., Shih G., Zhang M., Coccia M.A., Kohno T., Tafuri-Bladt A., Brankow D., Campbell P., Chang D., Chiu L. et al.* 1999. T-cell co-stimulation through B7RP-1 and ICOS. *Nature*. 402 : 827–832.
- Yokosuka T., Takamatsu M., Kobayashi-Imanishi W., Hashimoto-Tane A., Azuma M., Saito T.* 2012. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J. Exp. Med.* 209 : 1201–1217.
- Zhu C., Anderson A.C., Schubart A., Xiong H., Imitola J., Khoury S.J., Zheng X.X., Strom T.B., Kuchroo V.K.* 2005. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat. Immunol.* 6 : 1245–1252.

## MECHANISMS OF IMMUNE CHECKPOINT BLOCKADE IN ANTI-TUMOR THERAPY

V. M. Muray<sup>a</sup>, E. Yu. Smirnov<sup>a</sup>, and N. A. Barlev<sup>a</sup>, \*

<sup>a</sup>*Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064 Russia*

*\*E-mail: nick.a.barlev@gmail.com*

The immune checkpoint blockade is able to induce sustained responses in various types of cancer cells and it could be potential basis for the development of new cancer therapies. However, well-marked responses to immunotherapy are currently limited to only a small proportion of patients and cases, indicating the need to develop new and effective approaches. At the moment, data of a large number of preclinical and clinical studies have already been accumulated, showing significant therapeutic potential of negatively and positively co-stimulating molecules. However, there are significant gaps in the understanding of the basic biological mechanisms and functions of these molecules. And this knowledge is vital for predicting and developing next-generation immunotherapy methods. Here we review the available information on the mechanisms of T-cell co-stimulation and immune checkpoint blockade, primarily CTLA4 and PD-1-mediated, and highlight the most important points that require further study.

**Keywords:** immune checkpoint blockade, antitumor therapy, CTLA4, PD-1, T-cell activation