

ИММУННАЯ СИСТЕМА ПРОТИВ РАКА

© В.Н. Цыган

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

Ключевые слова

иммунная система; рак; Т-клеточный иммунитет; НК-клетки; антигенные пептиды

Цыган В.Н. Иммунная система против рака // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. — 2004. — Т. 3, № 3. — С. 68–74.

С позиции преобладающего участия иммунной системы в генезе опухолеобразования рассмотрено значение врожденного иммунного ответа для опухолевого роста и роль в этих процессах индукции Т-клеточного иммунитета, вопросы распознавания опухолевых клеток НК-клетками, особенности возникновения опухолеспецифичных антигенных пептидов, распознаваемых Т-клетками, вовлечение опухолевых антигенов в развитие опухолей и метастазов и неэффективность в этот период Т-клеточного ответа на опухолевые клетки. Библ. 10 назв.

1. ВРОЖДЕННЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ НА ОПУХОЛЬ И ЕГО РОЛЬ В ИНДУКЦИИ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА

Гипотеза иммунного надзора предполагает, что иммунная система ведет мониторинг организма для обнаружения злокачественно трансформированных клеток, элиминирует многие или большинство из них и, возможно, подавляет рост других. Эта гипотеза подтверждается тем, что у людей с врожденным или приобретенным иммунодефицитом встречаемость опухолей значительно повышена. В соответствии с этой ролью многочисленные компоненты иммунной системы, такие как цитотоксические Т-лимфоциты (*cytotoxic T-lymphocyte, CTL*), естественные киллеры (*natural killer, NK*) и антитела, могут проявлять потенциальную активность против опухолевых клеток. Опухолевый иммунитет специфичен к иммунизирующим опухолевым клеткам и опосредован Т-лимфоцитами CD4 и/или CD8 при участии в некоторых случаях НК. Дополнительные доказательства существования опухолевого иммунитета получены в результате открытия Т-клеточных клонов, специфичных для опухолевых антигенов, и идентификации соответствующих опухолевых антигенов, презентируемых молекулами главного комплекса гистосовместимости (*major histocompatibility complex, MHC*). Эти антигены

происходят из собственных белков, которые гиперэкспрессируются или несоответственно экспрессируются опухолевыми клетками и становятся мишенью иммунной системы.

Большинство исследований противоопухолевого иммунитета выполнено на генетических линиях экспериментальных животных, в основном мышей, лишенных различных компонентов иммунной системы. Первое такое наблюдение показало, что у мышей с поврежденным геном рецептора IFN-γ, самого IFN-γ или транскрипционного фактора STAT1, необходимого для IFN-сигналинга, повышена частота спонтанных и канцероген-индуцированных опухолей. Опухоли, развивающиеся у мышей, дефектных по гену рецептора IFN-γ, менее чувствительны к Т-клеточному киллингу, чем опухоли нормальных по этому гену мышей. IFN-γ усиливает экспрессию молекул MHC и других белков, вовлеченных в процессинг антигенов. Многие опухолевые клетки теряют способность отвечать на IFN-γ, так как иммунная система избирательно элиминирует чувствительные к IFN-γ опухоли.

Важная роль адаптивного иммунитета в противоопухолевом надзоре продемонстрирована значительно повышенной частотой спонтанных опухолей у мышей, лишенных Т- и В-лимфоцитов в результате мутации гена Rag-2.

Повышение частоты спонтанных диссеминированных лимфом, канцероген-индуцированных сарком и опухолей, индуцированных онкогенными вирусами, выявлена у мышей, лишенных перфорина, пороформирующего белка, от которого зависит цитотоксическая функция NK и CTL.

Цитотоксичность NK-клеток может также быть обусловлена цитокинами семейства TNF, взаимодействующими со своими рецепторами на клетках-мишенях. Один из членов этого семейства, апоптоз-индуцирующий лиганд TRAIL, экспрессируется активированными NK-клетками *in vivo* и проявляет антиметастатическое действие. Протективный эффект TRAIL зависит от IFN-γ.

Молекулярные механизмы специфического распознавания опухолевых клеток NK и другими иммунными клетками, осуществляющими противоопухолевый надзор, известны лишь частично. Два основных механизма описаны для NK: 1) NK предпочтительно распознают клетки, в которых подавлена экспрессия молекул MHC класса I (ошибочное распознавание «своего»), и 2) NK распознают структуры, экспрессия которых специфически усилена на опухолевых клетках, включая группу бел-

ков, отдаленно родственных молекулам МНС класса I и связывающихся со стимуляторным рецептором NKG2D.

1.1. Распознавание опухолевых клеток NK-клетками

Ошибочное распознавание «своего»

Нормальные клетки человека экспрессируют молекулы МНС класса I, которые ингибируют NK. Идентифицированы два семейства ингибиторных рецепторов таких молекул: KIR (члены суперсемейства иммуноглобулинов) и CD94/NKG2A. KIR связываются с интактными молекулами класса I, тогда как CD94/NKG2A — с пептидами, происходящими из сигнальных последовательностей молекул класса I, презентированных неклассическими молекулами класса I (HLA-E).

Различные классы специфичных к молекулам класса I ингибиторных рецепторов экспрессируются на перекрывающихся подтипах NK-клеток, что создает сложный комбинированный репертуар NK-специфичностей к молекулам класса I и гарантирует их ауто толерантность, но позволяет проявлять цитотоксичность против клеток-мишеней, лишенных некоторых или всех молекул класса I.

У людей, переживших взрыв атомной бомбы или Чернобыльскую аварию, повышена частота мутаций многих генов, за исключением генов HLA-системы в Т-лимфоцитах. Это наблюдение косвенно подтверждает, что мутантные по HLA-системе клетки элиминируются иммунной системой. Что касается опухолей, множество исследований ясно продемонстрировало, что трансплантированные опухолевые клетки, дефектные по генам МНС класса I, отбраковываются NK-клетками. Восстановление экспрессии молекул класса I уничтожает этот эффект.

Лиганд-рецепторные системы

NK-клетки используют и другие стратегии распознавания опухолевых клеток. Они наделены рецепторами, такими как NKG2D, распознающими индуцированные собственные лиганды. Эти лиганды не экспрессируются большинством нормальных клеток, но экспрессируются трансформированными, инфицированными или подвергшимися стрессу клетками, чтобы вызвать иммунную атаку против этих потенциально вредных для организма клеток.

Костимуляторный рецептор NKG2D экспрессируется в различных типах иммунных клеток: всех Т-лимфоцитах CD8, активированных через TCR, всех нестимулированных Т-клетках CD8 и TRC $\gamma\delta$ периферической крови и всех макрофагах, активированных различными стимулами, включая интерфероны. Перекрестное связывание NKG2D на NK и активированных макрофагах стимулирует продукцию цитокинов (IFN- γ в NK и TNF- α в макрофагах). Он

может функционировать как костимуляторный рецептор на Т-лимфоцитах CD8 или как рецептор первичного распознавания на макрофагах и NK. NKG2D выполняет эту двойную задачу, ассоциируясь с различными адапторными белками на клетках различных типов.

NKG2D связывается с многочисленными лигандами, имеющими гомологию с молекулами МНС класса I. В их числе белок MIC (*MHC class I chain related protein*), который экспрессируется на клетках опухолей эпителиального происхождения, белок Rae1 (*retinoic acid early inducible*), который не экспрессируется в большинстве нормальных тканей, но активируется на клетках опухолей лимфоидного и эпителиального происхождения, и другие.

Почти все опухоли человека эпителиального происхождения проявляют усиленную экспрессию MIC. Лиганды NKG2D, экспрессируемые опухолевыми клетками, эффективно праймируют Т-лимфоциты CD8, которые проявляют специфичность к опухолевым антигенам. Механизм праймирования цитотоксических лимфоцитов клетками, экспрессирующими лиганды NKG2D, еще не установлен. Различные лиганды NKG2D часто усиленно экспрессируются в различных клеточных линиях опухолевого происхождения и могут несколько варьировать иммунный ответ, который они активируют, однако иммуноселекция приводит к потере одного или более лигандов и к развитию опухоли.

Рецептор CD27, член суперсемейства TNF-рецепторов, экспрессируется на большинстве Т-клеток и на всех NK-клетках. Проводя костимуляторный сигнал в Т-клетки, CD27 индуцирует продукцию IFN- γ . Его лиганд, молекула CD70, экспрессируется на лимфомных клетках и Т-клетках, инфицированных вирусом иммунодефицита человека, но не на большинстве нормальных клеток. Эктопическая экспрессия CD70 на лимфомных Т-клетках приводит к отбраковке этих клеток, опосредованной NK-клетками и/или Т-клетками в зависимости от типа опухолевых клеток. Иммунизация CD70-экспрессирующими опухолевыми клетками приводит к индукции Т-клеточной памяти.

Самое важное то, что врожденная система иммунного распознавания потенциально индуцирует адаптивный иммунный ответ, специфичный к уникальным опухолевым антигенам. Распознавание индуцированных «своих» лигандов может рассматриваться как важная стратегия врожденного иммунитета наравне с распознаванием «не своих» лигандов и «ошибочных своих».

1.2. Опухолеспецифичные антигенные пептиды, распознаваемые Т-клетками

Злокачественные опухоли человека несут высокоспецифичные для этих опухолей антигены, которые распознаются аутологичными Т-лимфоцитами.

■ Таблица 1. Опухолеспецифичные гены

Наименование семейства	Число членов	Хромосомная локализация
MAGE-A	15	Xq28
MAGE-B	17	Xp21.3
MAGE-C	4	Xq26-27
BAGE	4	13, 21
GAGE	9	Xp11.2-3
LAGE, NY-ESO-1	3	Xq28
SAGE	1	Xq28
HAGE	1	Xq12-13
SSX	10	Xp11.2
SCPI	3	1p13

ми. Некоторые из этих антигенов являются общими для многих опухолей разных гистологических типов. Большинство известных опухолеспецифичных антигенов кодируется генами, которые «молчат» в нормальных тканях, за исключением мужских половых клеток, и экспрессируются во множестве разнообразных опухолей. Эти антигены строго специфичны для трансформированных клеток, несмотря на экспрессию в мужских половых клетках, так как эти клетки не экспрессируют молекулы MHC и, следовательно, не способны презентировать антигены Т-лимфоцитам. Первое сообщение о клонировании опухолевого антигена человека, получившего название MAGE-1 (*melanoma antigen-1*), было опубликовано в 1991. Данный антиген вызывает CTL-ответ у аутологичных больных. В настоящее время идентифицированы десять семейств опухолеспецифичных генов (табл. 1).

Общий паттерн экспрессии опухолеспецифичных генов подсказывает общий механизм транскрипционного контроля, который заключается в гипометилировании их промоторов как случайном следствии деметилирования генома мужских половых клеток, а также злокачественных опухолей.

Чтобы идентифицировать антигенные пептиды, распознаваемые цитотоксическими лимфоцитами, тестировали генные сегменты в экспериментах по трансфекции. Иммуногенные пептиды MAGE-A1, BAGE-1 и GAGE-1 стимулировали только CTL CD8, но не CD4, следовательно, они относятся к пептидам, презентруемым молекулами MHC класса I. Эти антигенные пептиды составляют только малую часть всех пептидов, кодируемых антигенными последовательностями.

Многие исследования продемонстрировали важную роль Т-лимфоцитов CD4 в индукции и поддержании противоопухолевого иммунитета. Эффективность Т-клеток CD4 может быть результатом прямого распознавания антигенов, презентруемых молекулами MHC класса II на поверхности опухолевых клеток, и проявляется в деструкции этих клеток. Другой способ действия Т-клеток CD4 может быть результатом распознавания опухолевых антигенов на макрофагах или дендритных клетках, которые содержат остатки опухолевых клеток, подвергнутых эндоцитозу. Такое распозна-

вание может стимулировать Т-клетки CD4 и усилить иммунный ответ.

Чтобы идентифицировать пептиды, распознаваемые Т-клетками CD4, несколько групп исследователей провели скрининг антигенных последовательностей на присутствие пептидов, несущих сайты связывания с молекулами MHC класса II. Затем оценивали сродство этих пептидов с соответствующими HLA-молекулами, и «хорошие связыватели» использовали для стимулирования лимфоцитов крови. В некоторых случаях были получены стабильные Т-клеточные линии, распознающие клетки, несущие соответствующие протеины, или опухолевые клетки, экспрессирующие соответствующие гены. Оказалось, что Т-клетки CD4 распознают ряд пептидов MAGE-3 и NY-ESO-1/LAGE-2.

Клетки могут презентировать пептиды на молекулах MHC класса II в результате эндоцитоза внешних антигенных белков. Полученные в результате расщепления этих белков протеазами пептиды ассоциируются с молекулами класса II и трансформируются на клеточную поверхность. Мембраноассоциированные или секретированные белки также могут следовать этим путем, давая клеткам возможность презентировать на молекулах HLA класса II пептиды, происходящие из внутренних клеточных белков.

2. ВОВЛЕЧЕННОСТЬ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ В РАЗВИТИЕ ОПУХОЛЕЙ И МЕТАСТАЗОВ

Идентификация генов, способствующих развитию опухоли и метастазов, и перевод этих открытий в программы эффективного лечения и профилактики рака имеют фундаментальное значение в онкологии. Многие гены идентифицированы на основе их онкогенной или опухолесупрессорной природы. Поскольку рак — это болезнь, вызванная появлением клеточных клонов, накапливающих мутации и фенотипические изменения, представляется, что опухолевые клетки более иммуногенны, нежели их нормальные двойники. Идентификация опухолевых антигенов, распознаваемых Т-лимфоцитами, открыла новые пути исследования биологических функций опухолевого антигена в контексте опухолевой биологии. Действительно, биологические функции некоторых мутантных антигенов, распознаваемых Т-клетками, подсказывают, что продукты этих мутантных генов способствуют не только развитию опухоли, но и ее прогрессии и метастазированию. Хотя большинство опухолевых антигенов, распознаваемых Т-клетками CD8, представляют собой немутантные аутоантигены, некоторые из них мутируют, создавая Т-клеточные эпитопы для Т-клеточного распознавания. Например, мутантные CDK4, β -катенин и каспаза 8 идентифицированы как опухолевые антигены, рестриктивные молекулами

МНС класса I и распознаваемые Т-клетками CD8. Циклинзависимая киназа 4 CDK4 (*cyclin-dependent kinase 4*) — ключевой фермент контроля клеточного цикла. Нормальная CDK4 формирует комплекс с циклином D1 и фосфорилирует белок Rb, от которого зависит прогрессия клеточного цикла из фазы G1 в S-фазу. Сборка циклинового комплекса CDK4/циклин D1 и его киназная активность ингибируются белком p16^{ink4}, который не может связываться с мутантной CDK4 и ингибировать киназную активность циклинового комплекса. Таким образом, мутация гена CDK4 приводит к потере контроля клеточного цикла и является онкогенной. Анализ последовательности ДНК показал, что точечная мутация, приводящая к замене цистеина на аргинин в 24-м кодоне CDK4, проявляется в возникновении нового эпитопа, распознаваемого цитотоксическими лимфоцитами.

Продукт мутантного гена β-катенина идентифицирован у больных меланомой и распознается опухоль-инфильтрирующими Т-лимфоцитами (*tumor infiltrating T-lymphocytes, TIL*). β-Катенин — цитоплазматический протеин, который взаимодействует с молекулой клеточной адгезии Е-кадерином. В различных опухолях обнаружен ряд мутаций β-катенина. Утрата функционально активных молекул клеточной адгезии играет роль в процессе метастазирования. Усиление экспрессии или стабилизация β-катенина может способствовать канцерогенезу и опухолевой прогрессии в результате мутаций опухолесупрессорного белка APC (*adenomatous polyposis coli*) или β-катенина.

Мутантный ген CASP-8 идентифицирован цитотоксическими лимфоцитами, специфичными к клеткам плоскоклеточной карциномы человека. Данный ген кодирует каспазу 8, необходимую для индукции рецепторного пути апоптоза. Т-клеточный эпитоп возник в С-терминальной части белка в результате нуклеотидной замены.

Особый интерес представляет то обстоятельство, что большинство МНС класс II-рестриктированных опухолевых антигенов, идентифицированных опухолерепрессивными Т-клетками CD4, обнаруженных у онкологических больных, представляет собой мутантные или «слитные» (возникающие в результате генетической транслокации) белки. Белок CDC27 является субъединицей анафазного комплекса, функционирующего в переходе клетки из фазы G2 в митоз. Мутантный CDC27 идентифицирован как опухолевый антиген при использовании опухолерепрессивных Т-клеток CD4 в качестве зонда. Подобно CDK4 и β-катенину, мутантный CDC27 может иметь значение в развитии опухоли.

Общеизвестно, что опухолевые клетки с высоким метастатическим потенциалом мигрируют из первичной опухоли и инвазируют отдаленные органы и ткани, где дают начало вторичным опухолям. Идентифицирована новая мутантная форма фибронектина как опухолевого антигена, распознаваемого опухоль-инфильтрирующими Т-лимфоцитами CD4.

Фибронектин формирует комплекс с рецепторными интегринами и инициирует формирование. Потеря способности формировать фибронектинсодержащий экстраклеточный матрикс считается признаком трансформированного клеточного фенотипа, а восстановление формирования экстраклеточного матрикса коррелирует с редуцированным онкогенным потенциалом опухолевой клетки. Установлена связь между экспрессией мутантного фибронектина и метастазированием. Точечная мутация в гене фибронектина, проявляющаяся в замене лизина на глутамин, ответственна за превращение опухолевой клетки в высокометастатическую.

Совокупность всех этих данных свидетельствует о том, что мутантные опухолевые антигены, распознаваемые Т-лимфоцитами CD4 и CD8, играют активную роль в развитии злокачественной опухоли и ее метастазов. Идентификация опухолевых антигенов не только помогает понять природу иммунного ответа на опухолевые клетки, но и предоставляет мишени для иммунотерапии рака.

3. НЕЭФФЕКТИВНОСТЬ Т-КЛЕТОЧНОГО ОТВЕТА НА ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ

Несмотря на присутствие антигенспецифичных CTL CD8 в опухолевых инфильтратах, признаки опухолевой деструкции отсутствуют по той причине, что микросреда опухолевого поражения ингибирует цитотоксическую активность антигенспецифичных Т-лимфоцитов. Неэффективность антиген-специфичных опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов может быть обусловлена отсутствием терминальной дифференцировки. Т-клетки памяти CD8 проявляют склонность к извращенному процессу созревания в преждевременно дифференцированное состояние. Чтобы активировать иммунную систему онкологических больных, использовали иммунизацию Т-клеточными эпитопами. Вакцины, созданные на основе антигенных эпитопов, вводили больным в попытке нарушить толерантность к нормальным протеиновым антигенам или промотировать экспансию уже праймированных, но клинически неэффективных противоопухолевых Т-клеток. Более чем у 50% пациентов удалось получить антигенспецифичный Т-клеточный ответ. Это означает, что некоторые вакцины действительно способны нарушить толерантность и генерировать значительный уровень деструкции опухолевых клеток, достаточный для клинического улучшения.

Можно заключить, что Т-клеточная атака против опухолевых клеток совершенно неэффективна по ряду причин, но огромный потенциал борьбы с опухолью, скрытый в нашем организме, может быть активизирован с помощью вакцинации.

К молекулярным механизмам, ассоциированным со слабой противоопухолевой активностью специфических Т-клеток у онкологических больных, от-

носятся потеря опухолевыми клетками экспрессии костимуляторных молекул, выброс иммуносупрессирующих факторов, экспрессия *de novo* проапоптотических цитокинов, таких как FasL, слабое процессирование/презентация антигенов и вариабельность экспрессии антигенов HLA-системы и опухолевых антигенов.

Опухолевые поражения могут быть инфильтрированы различными субпопуляциями иммунных клеток. Такие инфильтраты содержат антигенспецифичные Т-лимфоциты и в некоторых случаях имеют благоприятное прогностическое значение. Число иммунных клеток в метастазах обычно ограничено, и наоборот, регрессирующие после иммунотерапии опухоли сильно инфильтрированы лимфоцитами и другими иммунными клетками, подтверждая, что высокое соотношение эффектор:мишень в опухоли необходимо для достижения иммунной деструкции опухоли.

Ограниченное количество Т-лимфоцитов, определяемое в опухолях, подсказывает, что опухолевая микросреда подавляет иммунную реакцию. Одним из механизмов подавления является экспрессия проапоптотического лиганда FasL, которая придает опухолевым клеткам цитотоксические свойства по отношению к активированным Fas-позитивным Т-лимфоцитам. FasL в норме экспрессируется большинством иммунных клеток и является ключевой молекулой нормального развития, гомеостаза и функционирования иммунной системы. Опухолевые клетки уклоняются от губительного воздействия этого оружия благодаря их резистентности к Fas-индуцированному апоптозу. На основании этих особенностей (резистентности к апоптозу и сопутствующей способности нейтрализовать противоопухолевые Т-лимфоциты) опухолевым клеткам удается избегать иммунологической защиты организма, несмотря на экспрессию антигенных детерминант. Эта гипотеза при всей своей привлекательности не может объяснить присутствие опухолеспецифичных Т-лимфоцитов, инфильтрирующих опухолевую ткань, и возможность получения клинической регрессии, как только TIL, активированные *ex vivo*, реимплантируют пациентам. Тем не менее экспрессия FasL и сопутствующее присутствие апоптотических Т-лимфоцитов в опухолевых поражениях является негативным прогностическим признаком у пациентов при опухолях молочной железы, яичников, печени и меланом.

Т-клеточные клоны CD4 и CD8, резистентные к FasL-зависимому апоптозу, могут быть изолированы из метастатических поражений. Это означает, что могут возникнуть субпопуляции противоопухолевых Т-клеток, способные пережить Fas-опосредованную опухолевую контратаку. Этот признак может быть связан с состоянием Т-клеточной анергии, которое описано для антигенспецифичных Т-клеток в опухолях. Состояние анергии позволяет им выжить в условиях опухолевой индукции апоптоза. Было также обнаружено, что опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, выделенные из опухолевых поражений, ли-

шены специфической ζ (zeta)-цепи, которая является компонентом комплекса TCR/CD3, необходимым для прохождения ими Fas-зависимого апоптоза. Резистентность к Fas-зависимому апоптозу по причине отсутствия ζ -цепи согласуется с природой долгоживущих клеток памяти.

Потеря экспрессии антигенов системы HLA и опухолевых антигенов — классический путь для опухолевых клеток избежать иммунного распознавания

Злокачественные опухоли часто утрачивают экспрессию HLA класса I. Потеря или подавление экспрессии этих молекул уничтожает возможность антигенного распознавания и киллинга опухолевых клеток цитотоксическими лимфоцитами CD8 и является наиболее распространенной стратегией, используемой опухолевыми клетками, чтобы избежать Т-клеточного контроля.

Полная потеря экспрессии всех аллелей HLA класса I обычно является следствием потери β 2-микроглобулина, общим и необходимым компонентом всех антигенов HLA-системы класса I. В клетках меланомы потеря β 2-микроглобулина обусловлена мутациями, а при колоректальных карциномах она наблюдается обычно в опухолях с микросателлитной нестабильностью и является следствием микроделеций или микроинсерций в повторяющихся последовательностях гена β 2-микроглобулина. Во всех этих случаях потеря экспрессии молекул HLA класса I необратима и может быть восстановлена только генным трансфером нормальной копии гена β 2-микроглобулина. Альтернативный механизм, приводящий к тотальной потере HLA класса I в опухолях, — гиперметилирование всей генетической области MHC класса I. В этих случаях подавление экспрессии HLA класса I является обратимым при обработке клеток деметилирующими агентами.

Потеря гаплотипа (гемизиготная потеря всех аллелей HLA-A, B и C, либо отцовских, либо материнских) обычно обусловлена большой делецией в хромосоме 6, вероятно, в результате хромосомной реаранжировки. Этот тип генетического повреждения также часто встречается в опухолевых клетках.

Потеря единичных аллелей HLA-системы может происходить вследствие широкого спектра генетических дефектов в отдельных генах, которые обнаружены в различных клеточных мишенях опухолевого происхождения.

При сопоставлении всех типов генетических дефектов установлено, что частичная или полная потеря экспрессии молекул HLA класса I определяется приблизительно в 2/3 опухолей разных типов.

Распознавание опухолевых клеток антигенспецифичными цитотоксическими лимфоцитами зависит не только от экспрессии HLA класса I, но и от интактного антиген-процессирующего механизма, осуществляющего цитоплазматическую деграда-

цию опухолеассоциированных антигенов и транспорт антигенных пептидов в эндоплазматический ретикулум, где происходит их связывание с молекулами HLA. Различные компоненты механизма антигенного процессинга часто бывают утрачены опухолевыми клетками, например, белки пептидного транспорта TAP1 и TAP2 (*transporter associated with antigen processing*) и субъединицы протеосомы LMP-2 и LMP-7. Утрата экспрессии этих белков ассоциирована с прогрессом болезни и менее благоприятным прогнозом.

Молекулярные механизмы отсутствия экспрессии TAP еще недостаточно изучены. В большинстве случаев экспрессия TAP может быть восстановлена интерфероном- γ , что указывает на обратимую ингибицию генной транскрипции. В случае потери экспрессии вследствие точечных мутаций или микроинсерций в гене TAP-1 она может быть восстановлена только генным трансфером.

4. АНТИГЕННАЯ ВАКЦИНАЦИЯ КАК МЕТОД ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Молекулярная идентификация опухолевых антигенов, распознаваемых иммунными клетками, является основой для создания противоопухолевых вакцин, стимулирующих иммунную систему пациента на борьбу с болезнью. Иммуноterapia злокачественных опухолей испытала уже несколько волн энтузиазма и разочарования. Хотя многим, если не большинству больных онкологическими заболеваниями, экспериментальная иммуноterapia не принесла улучшения, у некоторых пациентов отмечается явная иммунная реакция на опухолевые антигены и регрессия опухоли. Наиболее информативны случаи, когда Т-клеточный ответ против отдельного опухоле-ассоциированного пептида индуцирован иммунизацией и метастазы, несущие данный антиген, подвергаются разрушению, в то время как другие метастазы, лишенные его, продолжают расти. Причина, по которой опухолевые клетки избегают иммунной реакции, кроется в их генетической и антигенной вариативности и отборе антигеннегативных клеток под давлением Т-клеточной агрессии. Поэтому иммунизация должна быть нацелена не на один или два, а на целый ряд различных антигенов одновременно (в идеале — на все антигены данной опухоли), чтобы минимизировать шансы опухолевой клетки на спасение. Однако иммунизация сложной смесью опухолевых антигенов потенциально опасна вероятностью индукции аутоиммунитета. Поэтому основное внимание сосредоточено на идентификации Т-клеточных эпитопов из антигенов, экспрессируемых клетками индивидуальной опухоли, и их использовании в синтетических пептидах для иммунизации. Большинство опухолевых антигенов, включая те, которые уже были использованы для иммунизации в клинических исследованиях, эк-

спрессируется не только в опухолях, но и в некоторых иммунопривилегированных органах, например, в яичках, или даже (на низком уровне) в других нормальных тканях.

Антигены и эпитопы, распознаваемые CTL, Th и В-клетками

Все типы опухолевых антигенов распознаются Т-клетками, антителами или теми и другими. Распознаваемые Т-клетками антигены используются для активной иммунизации, тогда как распознаваемые антителами — для пассивной. У некоторых пациентов наблюдается оба вида спонтанного ответа (В- и Т-клеточный) на один и тот же антиген, так как иммунизация распознаваемым Т-клетками антигеном или эпитопом может привести к вторичному ответу в виде продукции антител, особенно в случае Th-эпитопов. В данном контексте более важна идентификация эпитопа, который является частью антигена, распознаваемого Т-клетками. Т-клеточные эпитопы представляют собой пептиды, презентируемые молекулами MHC класса I или II, и могут быть синтезированы как химические вещества. Синтетические пептиды используются для экспериментальной вакцинации.

Какой формой антигена, пептидами, белками, нуклеиновыми кислотами, вирусными конструктами или дендритными клетками и каким способом следует иммунизировать индивидуального пациента? На этот вопрос нет готового ответа.

Чтобы избежать презентации HLA класс I-рестриктированных эпитопов неантигенпрезентирующими клетками, которая может скорее привести к индукции толерантности, чем Т-клеточной активации, желательно использовать более длинные пептиды, которые были захвачены, процессированы и презентированы антигенпрезентирующими клетками. Эта проблема не возникает в случае, когда дендритные клетки «нагружают» пептидами *ex vivo*, но длительность презентации может стать несколько короче.

Главный недостаток пептидной иммунизации — зависимость от паттерна экспрессии HLA, специфичного для каждого пациента. По этой причине многие онкологические пациенты были исключены из клинических исследований. Использование протеинов для иммунизации имеет два преимущества: HLA-рестрикция не лимитирована и ответы Т-лимфоцитов CD4 и CD8 могут быть индуцированы, что обеспечивает эффективность иммунизации. Иммунизация пациентов рекомбинантными протеинами на основе опухолевых антигенов слишком сложна и трудоемка. То же относится к рекомбинантным вирусным конструктам. Иммунизация рекомбинантной ДНК имеет то преимущество над протеиновой иммунизацией, что такие конструкты легче получить, чем протеины. Однако ДНК-вакцинация в клинических исследованиях оказалась менее эффективной, чем можно было ожидать, исходя из результатов доклинических исследований на животных.

К тому же инъекции ДНК несут в себе риск неконтролируемой интеграции в геном. Этот риск минимален при использовании РНК, и действительно, у пациентов с карциномой предстательной железы, вакцинированных дендритными клетками, трансфектированными РНК PSA (*prostate specific antigen*), был получен PSA-специфичный Т-клеточный ответ. Даже прямая иммунизация РНК может индуцировать Т- и В-клеточный ответ, по крайней мере, у экспериментальных мышей.

Изучение молекулярных и клеточных событий, приводящих к активации, экспансии и тканевой инфильтрации опухолеспецифичных цитолитических Т-лимфоцитов позволит создать новое поколение терапевтических вакцин, которые будут имитировать наиболее успешные естественные триггеры активации дендритных клеток, пролиферации наивных СТЛ, а также выживания, экспансии и миграции активированных эффекторных клеток в опухолевую ткань.

Литература

1. Новик А.А., Камилова Т.А., Цыган В.Н. Введение в молекулярную биологию канцерогенеза: Учебное пособие / Под ред. Ю.Л. Шевченко — М.: Гэотар-мед, 2004. — 224 с.
2. Цыган В.Н., Булавин Д.В., Живолупов С.А. Роль глутатиона S-трансферазы P1-1 и системы глутатиона в регулировании клеточной пролиферации и апоптоза // Тр. Воен.-мед. акад., Т. 245. — СПб., 1998. — 232 с.
3. Baumann S., Krueger A., Kirchhoff S., Krammer P.H. Regulation of T cell apoptosis during the immune response // *Curr. Mol. Med.* — 2002. — Vol. 2, N 3. — P. 257–272.
4. Defrance T., Casamayor-Palleja M., Krammer P.H. The life and death of a B cell // *Adv. Cancer Res.* — 2002. — Vol. 86. — P. 195–225.
5. Krammer P.H. CD95's deadly mission in the immune system // *Nature*. 2000. — Vol. 407, N 6805. — P. 789–795.
6. Lenardo M., Ka-Ming Chan F., Hornung F. Mature T-lymphocyte apoptosis — immune regulation in a dynamic and unpredictable antigenic environment // *Annu. Rev. Immunol.* — 1999. — Vol. 17. — P. 221–253.
7. Simon H.-U. Neutrophil apoptosis pathways and their modifications in inflammation // *Immunol. Rev.* — 2003. — Vol. 193. — P. 101–110.
8. Viret C., Janeway C.A. MHC and T cell development // *J. Rev. Immunogenet.* — 1999. — Vol. 1, N 1. — P. 91–104.
9. Diefenbach A., Raulet D.H. The innate immune response to tumors and its role in the induction of T-cell immunity // *Immunol. Rev.* — 2002. — Vol. 188. — P. 9–21.
10. Rammensee H.-G., Weinschenk T., Gouttenfangeas C., Stevanovic S. Towards patient-specific tumor antigen selection for vaccination // *Immunol. Rev.* — 2002. — Vol. 188. — P. 164–176.