

doi : 10.52485/19986173_2023_4_77

УДК : 616-006.04-092:612.017

¹Четверяков А.В., ²Крюкова В.В., ²Цепелев В.Л.

**РОЛЬ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК В ФОРМИРОВАНИИ
ОПУХОЛЕВОЙ ИММУНОСУПРЕССИИ У БОЛЬНЫХ
СО ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫМИ НОВООБРАЗОВАНИЯМИ**

*¹Государственное учреждение здравоохранения «Краевой онкологический диспансер» г. Читы,
672000, г. Чита, ул. Ленинградская 104;*

*²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Читинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения
Российской Федерации, 672000, г. Чита, ул. Горького 39 а*

Резюме. В обзоре обобщены данные литературы о вкладе иммунных контрольных точек в развитие опухолевой иммуносупрессии у пациентов со злокачественными новообразованиями различных локализаций. Описана молекулярная характеристика иммунных контрольных точек, а также особое внимание уделено иммунотерапии рака, основанной на блокировании иммунных контрольных точек.

Ключевые слова: злокачественная опухоль, иммунные контрольные точки, канцерогенез, опухолевая иммуносупрессия

¹Chetveryakov A.V., ²Krykova V.V., ²Tsepelev V.L.

**THE ROLE OF THE IMMUNE CONTROL POINTS IN THE GENERATION OF
IMMUNOSUPPRESSION OF TUMOR IN PATIENTS WITH CANCER**

¹Regional Oncology Dispensary, 104 Leningradskaya str., Chita, Russia; 672000;

²Chita State Medical Academy, 39A Gorky str., Chita, Russia; 672000

Summary. The review summarizes literature data about role of immune control points to the development of immunosuppression in patients with cancer. The molecular characteristics of immune control points are described, and special attention is paid to the cancer immunotherapy based on blocking immune control points.

Key words: cancer, immune control points, carcinogenesis, immunosuppression of tumor

Иммунная система играет важную роль в обнаружении и уничтожении опухолевых клеток. Однако злокачественные клетки способны «ускользнуть» от иммунного ответа, изменяя свои характеристики или манипулируя клетками в своем окружении [1]. Эти механизмы уклонения представляют особую область интереса и берут своё начало из концепции иммунного редактирования, положения которой начали высказываться в 1950-х годах [1]. Концепция, согласно которой иммунная система способна обнаруживать и уничтожать опухолевые клетки, была разработана независимо друг от друга учеными М. Brunet и Л. Thomas [2, 3]. Первым серьезным толчком в раскрытии механизмов «ускользания» атипичных клеток от иммунного надзора стало открытие и описание различных типов Т- и В-лимфоцитов в 1960-х годах [4]. Были определены ключевые роли В-клеток и Т-клеток в иммунном ответе. Выполнено детальное изучение поверхности В- и Т-лимфоцитов, что привело к обнаружению разнообразных поверхностных белков и дополнительных молекул, которые играют существенную роль в регулировании иммунного ответа [5]. Позже был открыт и изучен мембранный белок CD28, который участвует в стимуляции и активации Т-клеток [6].

Исследования, связанные с изучением рецепторов, влияющих на активацию или угнетение иммунного ответа при различных патологических процессах, были продолжены учеными Brunet и Linsley в 1980-х годах. В 1987 году группа американских ученых во главе с Джеймсом Эллисоном обнаружила на поверхности Т-лимфоцитов интегральный белок CTLA-4, а также установила его способность негативно влиять на активность клеток иммунной системы, в особенности на Т-клеточный иммунный ответ [7]. Отрицательное регулирование CTLA-4 было доказано при изучении антигенпрезентирующих клеток (АПК) с высокой экспрессией лиганда В7, пула Т-лимфоцитов с высокой экспрессией CD28 и растворимой формы CTLA-4, которая препятствовала взаимодействию CD28 и В7, что опосредовало истощение Т-лимфоцитов.

В 1992 году японский иммунолог Тасуку Хондзэ при изучении Т-лимфоцитов выявил еще один интегральный белок – PD-1. Позже в 1999 году были опубликованы данные исследований японского ученого Н. Nishimura, которые подробно описывали функции PD-1 [6]. В 2018 году Джеймс Эллисон и Тасуку Хондзэ были удостоены Нобелевской премии за вклад в развитие иммунологии. Эти открытия стали революцией в иммунологии и иммунотерапии злокачественных опухолей. Было введено новое понятие – иммунные контрольные точки (ИКТ, immune control points), которые включают в себя ряд ко-стимулирующих и ко-ингибирующих молекул, образующих многофункциональную систему регуляции иммунных процессов, направленную на предотвращение повреждения собственных тканей активированными клетками иммунитета [6].

Наибольший интерес вызывает тот факт, что ИКТ активно участвуют в «ускользании» опухолевых клеток от иммунного надзора. Поэтому был пересмотрен и дополнен процесс иммунного редактирования, который условно разделили на три фазы: элиминация (elimination), равновесие (equilibrium) и уклонение (escape). В фазу элиминации происходит разрушение опухолевых клеток врожденной иммунной системой и представление их антигенных структур АПК и Т-лимфоцитам. Фаза равновесия наступает, когда опухолевые клетки «выживают» после стадии элиминации, но не способны прогрессировать, так как любая активность приведет к конфликту с иммунной системой. Стадия уклонения или ускользания наступает, когда количество опухолевых клеток начинает увеличиваться на фоне потери контроля иммунной системой.

Раковые клетки экспрессируют на своей поверхности ряд рецепторов, которые способны взаимодействовать с ИКТ на поверхности Т-клеток, что приводит к ингибированию иммунного ответа [8]. В 1996 г. ученые Leach D.R., Krummel M.F., Allison J.P. сообщили, что применение моноклональных антител, блокирующих CTLA-4, способствуют регрессии опухоли на мышинных моделях [6]. Эти препараты стали известны как ингибиторы иммунных контрольных точек (immune checkpoint inhibitors, ICIs). Вышеописанные лекарственные средства обладают мощным терапевтическим эффектом, однако число локализаций опухоли для применения этих препаратов ограничено. Также исследования последних лет не способны раскрыть все особенности канцерогенеза, основанного на ИКТ при различных локализациях, и требуют дальнейшего изучения. Особое внимание в изучении заслуживают нозологические единицы, занимающие ведущие места в структуре заболеваемости онкологических пациентов, такие как колоректальный рак, рак легкого и молочной железы [9].

Цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный белок (CTLA-4) и его лиганд (B7-2). Цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный белок (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4, CTLA-4, CD152) – это трансмембранный гликопротеин, который является одной из иммунных контрольных точек и экспрессируется преимущественно на поверхности CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток. Белок CTLA-4 состоит из 223 аминокислот, принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов, структура включает в себя внеклеточную часть, трансмембранный домен и цитоплазматический хвост. Лигандами к CTLA-4 являются B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86), которые экспрессируются преимущественно антигенпрезентирующими клетками (АПК, antigen-presenting cell), а также опухолевыми клетками. Лиганд B7-2 – мембранный белок, принадлежащий к семейству иммуноглобулинов, его можно обнаружить на АПК, дендритных клетках, макрофагах и активированных В-лимфоцитах [10].

Белок CTLA-4 – это ингибирующая молекула, которая контролирует активность Т-клеточного иммунитета и является важнейшим регулятором иммунного ответа в целом. Конкурентное взаимодействие CTLA-4 со своими лигандами является важным и общепринятым механизмом в регулировании деятельности Т-клеток. Наряду с CTLA-4 существует молекула CD28, которая схожа по структуре с CTLA-4, но отвечает за стимуляцию и активацию Т-клеток. Белок CTLA-4 выигрывает у CD28 конкуренцию за взаимодействие с лигандами [11]. Это происходит из-за константы аффинности CTLA-4 и CD28 к B7-1 и B7-2. Молекула CTLA-4 связывается с молекулой CD80 и CD86 в 16 раз сильнее, чем CD28. Механизм ингибирующей иммунной регуляции осуществляется при взаимодействии CTLA-4 с лигандами B7-1 или B7-2, которые находятся на поверхности АПК или опухолевой клетки. Угнетение активности Т-клеточного иммунного ответа происходит благодаря сигналам, исходящим из цитоплазматического домена CTLA-4 [12]. Однако, несмотря на проведенные

исследования, механизмы, которые индуцируются цитоплазматическим доменом, остаются до конца неизученными. Известно, что цитоплазматический домен CTLA-4 состоит из 36 аминокислот и имеет четыре основных функциональных мотива: лизин, тирозин-201, пролин и тирозин-29. Тирозиновые мотивы были изучены больше других. Оба мотива связываются с внутриклеточными белками Т-клеток, такими как фосфатидилинозитол-3-киназой (PI3K) и фосфатаза, имеющими домен SH2, и инициируют дальнейшее развитие сигнального каскада истощения Т-лимфоцитов [10, 11].

Изучение свойств и функций CTLA-4 позволило рассмотреть эту молекулу как терапевтическую мишень в лечении рака. Джеймс Эллисон и его коллеги изучили применение моноклональных антител к CTLA-4 на мышинных моделях с трансплантированной фибросаркомой и раком толстой кишки [13]. Было установлено, что блокирование CTLA-4 способствует регрессии опухолевого очага. Однако гетерогенность различных локализаций рака показала противоречивые результаты. После эффективного применения моноклональных антител к CTLA-4 на мышинных моделях было анонсировано несколько крупных исследований эффективности блокирования CTLA-4 у пациентов с меланомой и раком молочной железы. Применение моноклональных антител к CTLA-4 оказалось эффективным в клинических испытаниях у пациентов с нерезектабельной формой меланомы III и IV стадий. Применение препарата опосредовало выраженный некроз опухолевого очага и уменьшение его размеров, также было отмечено увеличение общей выживаемости пациентов на 3 месяца. При изучении долгосрочных данных было отмечено, что у 22% больных общая выживаемость составила более 3 лет [14, 15]. В 2011 году моноклональные антитела к CTLA-4 (ипилиумаб, ниволумаб) были одобрены управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств на территории США (U.S., Food and Drug Administration, FDA) и включены в линии иммунотерапевтического лечения пациентов с меланомой и раком молочной железы [15]. Ингибирование CTLA-4 усиливает ответ Т-клеток на связанные с опухолью антигены. Большое количество антигенов на поверхности опухолевых клеток способствует выраженному Т-клеточному ответу. На мышинных моделях было отмечено истощение регуляторных Т-клеток и смещения баланса от иммуносупрессии к активации. Однако это явление требует дальнейшего изучения.

Особое внимание заслуживает уровень CTLA-4 в сыворотке крови и ткани новообразования при различных локализациях рака. Также важно, какая популяция Т-лимфоцитов активно экспрессирует данную молекулу. В исследовании Bagbudar S. (2022) детально изучен количественный состав Т-клеток (tumor infiltrating lymphocytes, TILs) в ткани опухоли у пациентов с меланомой, а также экспрессия CTLA-4 на этих Т-лимфоцитах. Результаты исследования показывают, что высокое количество TILs с выраженной экспрессией CTLA-4 имеет корреляционную связь с благоприятным исходом у пациентов, которые получали моноклональные антитела к CTLA-4 [16].

При исследовании белка CTLA-4 у больных раком молочной железы, особое внимание было уделено концентрации этой молекулы в сыворотке крови и ткани опухоли. Отмечалось увеличение уровня CTLA-4 в сыворотке крови в 7 раз в сравнении с контрольной группой. В ткани опухоли исследуемый белок также превышал показатели группы контроля [17, 18]. Ряд других исследований показал, что высокая концентрация CTLA-4 в ткани новообразования (рак молочной железы, меланома) ответственна за создание среды, которая способствует предотвращению элиминации клеток рака. При изучении уровня CTLA-4, PD-1 и TIM-3 в ткани опухоли при раке молочной железы именно значения CTLA-4 преобладали над остальными, поэтому было выдвинуто предположение, что сигнальный путь через белок CTLA-4 является основным в канцерогенезе при раке молочной железы [16].

Белок CTLA-4 является важной ко-ингибирующей молекулой. Дальнейшее изучение экспрессии CTLA-4 на различных Т-лимфоцитах, а также сигнальных механизмов цитоплазматического домена внутри Т-лимфоцита позволит более эффективно воздействовать на эту «мишень».

Белок запрограммированной клеточной гибели (PD-1) и его лиганд PD-L1. Белок запрограммированной клеточной гибели (Programmed cell death-1, PD-1, CD279) – мембранный рецептор, который является ко-ингибирующей иммунной контрольной точкой [19]. Роль PD-1 заключается в регулировании Т-клеточного ответа путем угнетения эффекторных функций Т-лимфоцитов (цитотоксичность, секреция цитокинов) и их пролиферации. Мембранный белок PD-1 состоит из 268

аминокислот. Структура PD-1 представлена тремя доменами: внеклеточным иммуноглобулиноподобным доменом V-типа (extracellular), трансмембранным (helical) и внутриклеточным (cytoplasmic). Экспрессия PD-1 отмечается на В-клетках, моноцитах, естественных киллерах (natural killer cells, NKs), дендритных клетках (dendritic cells, DCs) и активированных CD4⁺ и CD8⁺-Т-лимфоцитах [19]. Для реализации своих функций PD-1 взаимодействует со своими лигандами PD-L1 (Programmed cell death ligand 1, B7-H1, CD274) и PD-L2 (Programmed cell death ligand 2, B7-DC, CD273). Экспрессия PD-L1 отмечается на поверхности лимфоцитов, макрофагов и дендритных клеток. Лиганд PD-L2 экспрессируется только на макрофагах и дендритных клетках. В 2002 году была обнаружена экспрессия рецептора PD-L1 на поверхности опухолей. Это подтвердило вовлечение PD-1 в процесс «ускользания» злокачественных клеток от иммунного надзора [19].

Взаимодействие PD-1 с лигандами PD-L1 и PD-L2 запускает процесс апоптоза CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов. Осуществление этого процесса происходит через тирозин-фосфатазу SHP 1 и 2 (Src homology region 2 domain-containing phosphatase). Последняя ингибирует сигнальный путь PI3K (Phosphoinositide 3-kinases)/Akt, а также угнетает передачу сигналов Т-клеточного рецептора [20]. Кроме сигнального пути PI3K существует связь между сигнальным путём MAPK (Mitogen-activated protein kinase, MAPK) и осью PD-1/PD-L1. Сигнальный путь MAPK регулирует пролиферацию, дифференцировку и гибель многих клеток, в том числе и Т-лимфоцитов. Включает в себя ряд других сигнальных путей: ERK (Extracellular signal-regulated kinase), ERK-5 (Extracellular signal-regulated kinase 5), JNK (C-Jun N-terminal kinase) и p-38 (Mitogen-activated protein kinases) [21]. В исследованиях T.S. Stutvoet показано, что ингибирование сигнального пути MAPK препятствует экспрессии эпидермального фактора роста (Epidermal Growth Factor, EGF) и IFN-гамма-индуцированной мРНК гена CD274, а также самого белка PD-L1 [21]. Кроме этого, в исследованиях Jalali S. отмечена связь между блокированием PD-L1 и низкой экспрессией белков, относящихся к сигнальному каскаду MAPK в клетках лимфомы Ходжкина. При использовании моноклональных антител против PD-L1 отмечено снижение p-38 и p-ERK в клетках лимфомы Ходжкина [22]. Была выявлена связь между сигнальным путем JAK-STAT и экспрессией PD-L1. Сигнальный путь JAK-STAT является ключевым регулятором клеточной пролиферации, дифференцировки, миграции, апоптоза и передачи этих сигналов в ядро клетки с последующей активацией процессов клеточного деления и дифференцировки клеток [23]. В исследованиях учёного Toshifumi показано, что AG490, который является ингибитором JAK2 (один из белков сигнального пути JAK-STAT), подавляет повышенную экспрессию PD-L1 как на уровне мРНК, так и на уровне самого белка [24]. Эти результаты подтверждают, что путь JAK-STAT участвует в регуляции экспрессии PD-L1.

Молекулярная характеристика, а также большое количество сигнальных путей, которые зависят от оси PD-1/PD-L1, требуют изучения экспрессии белка PD-1 на различных Т-клетках. При детальном изучении ткани опухоли особое внимание уделяется Т-лимфоцитам (TILs). В исследованиях микроокружения опухоли у пациентов с меланомой отмечается высокая экспрессия PD-1 на Т-клетках, что подтверждает роль PD-1 в канцерогенезе. Именно препараты, основанные на блокировании оси PD-1/PD-L1, включены в первую линию лечения пациентов с меланомой, что значительно продлевает их жизнь [20]. В исследованиях, которые посвящены изучению оси PD-1/PD-L1 у пациентов с раком легкого особое внимание уделено концентрации PD-L1 в ткани новообразования. Несколько проведенных исследований (программа KEYNOTE) показывают высокую экспрессию PD-L1 на поверхности злокачественных клеток, поэтому FDA в ускоренном режиме одобрило применение моноклональных антител, блокирующих PD-L1. Включение этих препаратов в линию лечения пациентов с раком лёгкого демонстрирует увеличение общей выживаемости больных. Ещё одной важной особенностью является снижение количества CD8⁺-Т-клеток в ткани новообразования у пациентов с раком лёгкого на фоне высокой экспрессии PD-L1 на клетках опухоли. Эти данные свидетельствуют о вовлечении оси PD-1/PD-L1 в канцерогенез рака лёгкого путём формирования иммуносупрессивной среды и снижения активности цитотоксических лимфоцитов [24]. В 2022 году опубликованы данные мета-анализа применения ингибиторов оси PD-1/PD-L1 у пациентов с колоректальным раком. Блокирование взаимодействия PD-1 со своим лигандом в целом оказывает положительное влияние на лечение пациентов с запущенными

формами KPP, но не является ведущим звеном в патогенезе рака толстой кишки [25].

Белок-3, содержащий Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина (TIM-3) и его лиганд Galectin-9. Мембранный белок TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain 3) является трансмембранным белком I типа и ко-ингибирующей иммунной контрольной точкой. Функция TIM-3 заключается в снижении иммунного ответа путем истощения CD8+Т-лимфоцитов. Белок TIM-3 состоит из внеклеточного иммуноглобулиноподобного домена V-типа, в котором содержится 6 цистеиновых мотивов, отвечающих за высокую вариативность домена. Эта вариативность обусловлена наличием уникального связывающего кармана (FG-CC), благодаря чему белок TIM-3 способен взаимодействовать с лигандами, которых в настоящее время известно четыре. Также белок TIM-3 состоит из трансмембранного муцинового домена и внутриклеточного цитоплазматического хвоста, на котором находится Bat3 (HLA-b, связанный транскрипт 3) и остатки тирозина. Экспрессия TIM-3 отмечается на Т-лимфоцитах, NK-клетках и АПК [26]. Молекула TIM-3 имеет четыре лиганда: Galectin-9, который активно экспрессируется на опухолевых клетках, Phosphatidylserine (PtdSer), HMGB1 (High mobility group protein B1), и Ceacam-1 (Carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1). Взаимодействие TIM-3 и его лигандов опосредует повышение концентрации ионов кальция внутри Т-клетки. Концентрация ионов кальция инициирует процессы фосфорилирования тирозиновых остатков на внутриклеточной части TIM-3, что приводит к отрыву Bat3 от внутриклеточной части TIM-3. Отрыв Bat3 ингибирует TCR-сигнализацию и усиливает иммунную супрессию путём истощения CD8+Т-лимфоцитов [27]. Высокая экспрессия TIM-3 на Т-клетках определяется у пациентов с меланомой, раком желудка, В-клеточной неходжкинской лимфомой [27].

Недавние исследования показали, что высокий уровень белка TIM-3 зарегистрирован в сыворотке крови и ткани опухоли у пациентов с меланомой. К тому же при анализе поверхности Т-лимфоцитов в ткани опухоли отмечалась высокая экспрессия TIM-3 на цитотоксических лимфоцитах, что коррелирует с истощением CD8+Т-клеток. Изучение микроокружения опухоли показало низкий уровень цитокинов и хемокинов, продуцируемых этим пулом Т-клеток [28]. Применение моноклональных антител к TIM-3 на мышиных моделях привело к получению интересных эффектов. На модели с аденокарциномой толстой кишки в комбинации с моноклональными антителами к PD-1 был зафиксирован выраженный регресс новообразования. Применение данной комбинации препаратов было обусловлено высоким уровнем экспрессии этих ИКТ на пуле CD8+Т-клеток. Было произведено сравнение полученных данных с моделями рака молочной железы, где также были получены данные о высокой экспрессии TIM-3 и PD-1. К тому же изучаемый пул Т-клеток в исследовании был распределен на различные субпопуляции (наивные, клетки эффекторной и центральной памяти, TEMRA) [28]. При применении препарата на лабораторных мышах с раком предстательной железы отмечалось уменьшение размеров опухоли [29].

В исследовании Pagliano O. изучали блокирование TIM-3 на мышиных моделях с раком яичников, к тому же была выполнена сопутствующая активация CD137 (4-1BB). Внутри брюшной полости была имплантирована опухоль, также внутри брюшной полости вводили моноклональные антитела к TIM-3. Особое внимание уделялось общей выживаемости мышей и составу опухолевой ткани. В 60% случаев была замечена регрессия опухолевой ткани до полного ее исчезновения и отсутствие рецидива в течение трёх месяцев. Также было отмечено увеличение количества CD4+ и CD8+Т-клеток. Установлено, что совместная блокада TIM-3 и активация CD137 оказывают выраженное действие [30]. В настоящее время ведется исследование моноклонального антитела к TIM-3 (INCAGN02390) в группе пациенток с раком яичников. Другим зарегистрированным исследованием, в которое включены 219 больных с различными локализациями рака, является клиническое изучение препарата MBG453 (гуманизированное антитело к TIM-3) [31].

Повышенный уровень белка TIM-3 в ткани опухоли коррелировал с прогрессированием заболевания и ранним метастазированием у пациентов с раком желудка и В-клеточной лимфомой. В исследованиях, посвященных изучению роли TIM-3 в прогрессировании В-клеточной лимфомы, показано, что CD4+ и CD8+ Т-клетки с повышенной экспрессией TIM-3 на поверхности проявляют пониженную способность к пролиферации в ответ на активацию TCR. Кроме того, у этих популяций клеток была отмечена низкая продукция цитокинов [26]. Эти результаты подтверждают роль TIM-3 в ингибировании Т-клеточного

иммунного ответа и неблагоприятном влиянии на прогноз заболевания у пациентов. В другом исследовании отмечался высокий уровень TIM-3 на поверхности NK-клеток у пациентов с раком желудка по сравнению с контрольной группой. Высокая концентрация TIM-3 также коррелировала с поздней стадией заболевания, что послужило предположением о роли TIM-3 в ингибировании Т-клеточного иммунного ответа. В данных международного института противоопухолевых исследований (Нью-Джерси, США), опубликованных в 2021 году, высказывается предположение, что рецептор TIM-3 снижает функцию Т-клеток в микроокружении опухоли при КРР, что возможно является патогенетическим звеном роста и прогрессирования рака этой локализации [31].

В настоящее время белок TIM-3 признан отрицательным регулятором противоопухолевого иммунного ответа. Это делает его идеальной мишенью для иммунотерапии. Выявление определённых популяций Т-клеток, которые активно экспрессируют данный белок, обеспечит избирательную терапию, что позволит избежать системной токсичности. Концентрация этой молекулы в ткани опухоли и сыворотке крови при различных локализациях требует изучения.

Ген активации лимфоцитов-3 (LAG-3). Ген активации лимфоцитов-3 (Lymphocyte-activation gene 3, LAG-3, CD223) – это мембранный белок суперсемейства иммуноглобулинов, который был открыт в 1990 году и является ко-ингибирующей иммунной контрольной точкой. Основная функция LAG-3 заключается в подавлении активности Т-лимфоцитов и снижении секреции цитокинов [32]. Отмечено, что LAG-3 эффективно предупреждает развитие аутоиммунных реакций. Молекулярная структура LAG-3 представлена внеклеточной частью, трансмембранным доменом и цитоплазматическим хвостом. Внутриклеточная часть или цитоплазматический хвост имеет уникальную структуру и состоит из трёх доменов [32]. Первый состоит из аминокислоты серина, второй представлен уникальным мотивом KIEELE, третий – глутаминовым повтором пролина. Именно мотив KIEELE препятствует переходу Т-клеток в S-фазу, в которой происходит репликация ДНК, следовательно, количество Т-клеток снижается [33]. Экспрессия LAG-3 отмечается на поверхности различных TILs, активированных CD4+ и CD8+ Т-клетках, регуляторных Т-лимфоцитах (Tregs), NK-клетках и дендритных клетках. Отмечается, что LAG-3 имеет близкое родство с белком CD4 благодаря схожим аминокислотным составам. Белок LAG-3 взаимодействует с главным комплексом гистосовместимости-II (Major histocompatibility complex-II, МНС-II) [150]. Функции LAG-3 осуществляются, когда происходит взаимодействие LAG-3 с МНС-II на поверхности антигенпрезентирующих клеток, что исключает взаимодействие Т-клеточного рецептора (T-cell receptor, TCR) с МНС-II и приводит к подавлению активации Т-клеток [33]. Однако рецептор МНС-I на поверхности опухолевых клеток используется ими для взаимодействия с LAG-3 и осуществления «ускользания» от иммунного ответа [33]. Точный механизм передачи сигналов, опосредуемых LAG-3 до конца не изучен. Высокая экспрессия LAG-3 на Т-клетках способствует выживанию клеток меланомы благодаря сигнальным путям MAPK/ERK и PI3K/AKT [33]. Экспрессирующие LAG-3 на своей поверхности Tregs способны косвенно ингибировать дендритные клетки (DCs) через мотив ITAM [32]. Однако последние исследования показали, что в некоторых случаях модулирование иммунного ответа происходит без участия МНС-I, это стало причиной поиска дополнительных лигандов к LAG-3. Полученные данные указывают на наличие еще 2 лигандов к LAG-3 – это Galectin-3 и LSECtin. Взаимодействие с последним опосредует снижение уровня IFN- γ активированными Т-клетками [33].

Известно, что TILs являются важным компонентом микроокружения опухоли, которое состоит из CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, Tregs, NK-клеток, В-клеток, макрофагов и дендритных клеток [34]. Высокий уровень LAG-3 на поверхности CD4+ Т-клеток опосредует снижение уровня выделяемых ими цитокинов, таких как IL-2, IL-7, IL-12 и IFN- γ . Благодаря LAG-3 подавляется эффекторная функция CD8+ Т-лимфоцитов, снижается пролиферация NK-клеток и подавляется активация DCs [35]. В клинических испытаниях установлена повышенная концентрация LAG-3 в ткани опухоли у пациентов с различными локализациями. Интересные сведения были показаны в исследовании уровня LAG-3 в ткани опухоли у пациентов со злокачественным новообразованием поджелудочной железы. Детально было изучено микроокружение опухоли и выявлено высокое количество TILs, на которых отмечалась высокая экспрессия LAG-3. Данные исследования указывают, что экспрессия LAG-3 свидетельствует об отрицательной прогностической роли у пациентов с раком поджелудочной железы, так как высокая

экспрессия коррелировала с поздней стадией заболевания и ранним метастазированием. К тому же, высокий уровень LAG-3 на поверхности Т-клеток, окружающих опухоль, может быть использован для взаимодействия белка LAG-3 и МНС на поверхности опухолевой клетки, что приводит к ингибированию Т-лимфоцитов.

В 2022 году исследовательская группа во главе с американским ученым Nicole E. James представила данные, свидетельствующие о потенциальной роли LAG-3 в патогенезе рака яичников. Фиксированные в парафине образцы ткани опухоли пациенток с раком яичников были изучены на предмет количества Treg в микроокружении опухоли. Известно, что Treg играют важную роль в патогенезе рака яичников. На поверхности регуляторных Т-клеток отмечалась высокая экспрессия LAG-3, что коррелировало с низкодифференцированной гистологической формой рака яичников. Однако высокая экспрессия LAG-3 на Treg связана с более длительной выживаемостью, что выглядит парадоксально [35]. В исследованиях Rhyner Agocs (2021) получены данные о высокой экспрессии LAG-3 на TILs в ткани опухоли у пациентов с колоректальным раком (КРР) и корреляционной связи с низкой выживаемостью пациентов с раком толстой кишки. Было выдвинуто предположение об использовании LAG-3 как прогностического маркера [36]. Дальнейшее изучение роли LAG-3 в канцерогенезе при колоректальном раке продолжается.

Белок-9 суперсемейства рецепторов фактора некроза опухолей (4-1BB). Гликопротеин 4-1BB (TNF-receptor superfamily 9, TNSFR9, CD137) – это мембранный адаптерный белок, член суперсемейства TNF-рецепторов (Tumor necrosis factor receptors). Белок 4-1BB является иммунной контрольной точкой, оказывает ко-стимулирующее действие на активированные Т-лимфоциты, способствует их пролиферации и выживанию, также усиливает эффекторные функции CD8+Т-клеток. Для индукции данного белка требуется 24 часа. Экспрессия 4-1BB обнаружена на поверхности CD4+ и CD8+ Т-клеток, НК-клетках, моноцитах, макрофагах, дендритных клетках, регуляторных Т-клетках [37]. Для осуществления функций 4-1BB требуется взаимодействие со своим лигандом (4-1BBL), который экспрессируется на антигенпрезентирующих клетках, дендритных клетках [38]. Для передачи сигналов в клетку 4-1BB использует адаптерные белки (TRAFs), ассоциированные с суперсемейством TNF-рецепторов, вместе они формируют сигналосому (молекулярные сигнальные комплексы). Белки TRAFs взаимодействуют с 4-1BB только после активации последнего, действуют как каркасные белки. Благодаря особому домену в структуре они способны проникать в различные структуры готовой сигналосомы, тем самым модулируя активность комплекса. Стимулирование Т-клеток происходит при активации таких путей, как NF- κ B1 и NF- κ B2, c-Jun и p-38 [37, 38].

Белок 4-1BB стал важной молекулярной мишенью в иммунотерапии рака благодаря своей способности стимулировать противоопухолевый иммунный ответ [39]. Были разработаны антитела к 4-1BB, которые показывали выраженную противоопухолевую активность. Первые доклинические модели были основаны на трансплантируемой саркоме в мышинных моделях. Было показано, что стимулирование 4-1BB повышало активность Т-клеток в микроокружении опухоли [39]. Наряду с успешным применением монотерапии сообщалось о широком исследовании различных комбинаций с моноклональными антителами к PD-1 и CTLA-4. Эффективность применения комбинации с PD-1 исследовалась у пациентов с раком яичников и легких. Полученные данные свидетельствуют об увеличении времени выживаемости эффекторных Т-клеток в микроокружении опухоли [39]. Комбинацию с моноклональными антителами к CTLA-4 изучали на лабораторных мышах с меланомой. Наблюдали усиление противоопухолевого эффекта и уменьшение размеров первичного очага. Усиление противоопухолевого иммунитета подтверждали прижизненной микроскопией образцов ткани [40]. В настоящее время ведутся клинические исследования по подбору оптимальной дозы [40].

Свойства 4-1BB позволили использовать этот белок в адаптивной Т-клеточной терапии (cellular adoptive immune therapy), суть которой заключается в переносе Т-клеток, выращенных *in vitro* в организм пациента. Однако эффект такой терапии усиливается при использовании активирующих молекул, таких как 4-1BB. Применение адаптивной Т-клеточной терапии, основанной на активации 4-1BB показало высокую эффективность у пациентов с меланомой, раком яичников, мелкоклеточным раком легкого [39]. Первоначальные данные о тестировании таких препаратов стали показывать положительные результаты у пациентов с запущенными формами меланомы, но испытания были

остановлены из-за серьезных побочных эффектов, таких как гепатотоксичность. Комплексный анализ выявил, что развитие побочных явлений связано с дозой препарата (более 1 мг/кг). Уменьшение дозы препарата до 0,1 мг/кг и сочетание с моноклональными антителами к CTLA-4 и PD-1 показали лучшую переносимость и многообещающие клинические ответы у пациентов [41]. В работе Lian-sheng Cheng (2022) изучение эффективности стимуляции белка 4-1BB на мышинных моделях с колоректальным раком (КРР) продемонстрировало существенную противоопухолевую активность и послужило толчком для использования молекулы 4-1BB у пациентов с раком толстой кишки [42].

Таким образом, белок 4-1BB – это мощный ко-стимулирующий фактор при злокачественных новообразованиях различных локализаций. Молекулярная характеристика показывает его неограниченные возможности в адаптации и модулировании иммунного ответа. Доклинические испытания это подтвердили, однако клинические исследования сопровождались развитием осложнений, что заставило пересмотреть стратегии воздействия на 4-1BB. В настоящее время комбинация с моноклональными антителами к CTLA-4 и PD-1 показывает многообещающие клинические результаты.

Развитие области иммунотерапии злокачественных новообразований сместило фокус с лечения первичного очага на изучение специфических биологических характеристик опухоли и их взаимодействие с иммунной системой человека. Изучение патогенетических механизмов, основанных на модулировании опухоли нормальных клеток иммунитета, позволит выявить специфичные рычаги воздействия при разных локализациях. В частности, чтобы успешно и эффективно воздействовать на злокачественные новообразования с высоким уровнем распространения и смертности (рак прямой кишки, рак легкого и молочной железы), требуется последовательное и глубокое изучение опухолевого микроокружения этих локализаций.

Источник финансирования:

Отсутствует

Конфликт интересов:

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Сведения о вкладе каждого автора в работу:

Критерии авторства научной публикации:

Существенный вклад в научно-исследовательскую работу:

Четверяков А.В. – 40%

Крюкова В.В. – 40%

Цепелев В.Л. – 20%

Статья соответствует научной специальности – 3.3.3. Патологическая физиология

Список литературы:

1. Decker W. E. Cancer immunotherapy: historical perspective of a clinical revolution and emerging preclinical animal models. *Frontiers in immunology*. 2017. 8 (3). 829-835.
2. Burnet M. Cancer: a biological approach. III. Viruses associated with neoplastic conditions. IV Practical applications. *Br. Med. J.* 1957. 1. 841-847. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5023.841>.
3. Thomas L. Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States. New York: Hober-Harper. 1959. 529-532.
4. Morales A. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol.* 1976. 116. 180-183. DOI: <https://doi.org/10.1016/S0022-5347>.
5. Choi A.H. From benchtop to bedside: a review of oncolytic virotherapy. *Biomedicines*. 2016. 4. 18. DOI: <https://doi.org/10.3390.40300018>.
6. Krummel M.F. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J. Exp. Med.* 1995. 182 (2). 459-465. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.182.2.459>.
7. Eptaminitaki G.C. Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) in Response and Resistance to Cancer Immunosurveillance and Immunotherapy. *Cells*. 2021. 10 (12). 3313. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10123313>.

8. Li F. Immune checkpoint inhibitors and cellular treatment for lymphoma immunotherapy. *Clinical and Experimental Immunology*. 2021. 205(1). 1-11. DOI:<https://doi.org/10.1111/cei.13592>.
9. Lopez S.H. The gut wall's potential as a partner for precision oncology in immune checkpoint treatment. *Cancer Treatment Reviews*. 2022. 1. 102406. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2022.102406>.
10. Ghorbaninezhad F. CTLA-4 silencing in dendritic cells loaded with colorectal cancer cell lysate improves autologous T cell responses in vitro. *Front Immunol*. 2022. 13. 931316. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.931316>.
11. Guo X.J. CTLA-4 Synergizes with PD1/PD-L1 in the Inhibitory Tumor Microenvironment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. // *Front Immunol*. 2021. 12. 705378. DOI:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.705378>.
12. Borrie A.E. Lymphocyte-based cancer immunotherapeutics. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol*. 2018. 341. 201-276. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.05.010>.
13. Cohen E.E.W. The Society for Immunotherapy of Cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC). *Journal for immunotherapy of cancer*. 2019. 7 (1). 1-31. DOI:<https://doi.org/10.1186/s40425-019-0662-5>.
14. Korman A.J. The foundations of immune checkpoint blockade and the ipilimumab approval decennial. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2022. 21 (7). 509-528. DOI:<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00345-8>.
15. Moschos S.J. Melanoma Brain Metastases: An Update on the Use of Immune Checkpoint Inhibitors and Molecularly Targeted Agents. *Am J Clin Dermatol*. 2022. 23 (4). 523-545. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40257-022-00678-z>.
16. Bagbudar S. Prognostic Implications of Immune Infiltrates in the Breast Cancer Microenvironment: The Role of Expressions of CTLA-4, PD-1, and LAG-3. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2022. 30 (2). 99-107. DOI:<https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000978>.
17. Lin H.J. Breast cancer tumor microenvironment and molecular aberrations hijack tumoricidal immunity. *Cancers*. 2022. 14 (2). 285. DOI:<https://doi.org/10.3390/cancers14020285>.
18. Rowshanravan B. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood*. 2018. 131(1). 58-67. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-741033>.
19. Li X. Liposomal Co-delivery of PD-L1 siRNA/Anemoside B4 for Enhanced Combinational Immunotherapeutic Effect. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2022. 14(25). 28439-28454. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.2c01123>.
20. Andrieu G.P. BET protein targeting suppresses the PD-1/PD-L1 pathway in triple-negative breast cancer and elicits anti-tumor immune response. *Cancer letters*. 2019. 465. 45-58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.08.013>.
21. Doi T. The JAK/STAT pathway is involved in the upregulation of PD-L1 expression in pancreatic cancer cell lines. *Oncol Rep*. 2017. 37. 1545-1554. DOI:<https://doi.org/10.3892/or.2017.5399>.
22. Jalali S. Reverse signaling via PD-L1 supports malignant cell growth and survival in classical Hodgkin lymphoma. *Blood Cancer J*. 2019. 9 (22). DOI:<https://doi.org/10.1038/s41408-019-0185-9>.
23. Peng Q. Mitogen-activated protein kinase signaling pathway in oral cancer. *Oncol Lett*. 2018. 15. 1379-1388. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7491>.
24. Stutvoet T.S. MAPK pathway activity plays a key role in PD-L1 expression of lung adenocarcinoma cells. *J. Pathol*. 2019. 249. 52-64. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.5280>.
25. Zhang X. Clinical benefits of PD-1/PD-L1 inhibitors in patients with metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*. 2022. 20 (1). 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12957-022-02549-7>.
26. Zeidan A.M. TIM-3 pathway dysregulation and targeting in cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2021. 21 (5). 523-534. DOI:<https://doi.org/10.1080/14737140.2021.1865814>.
27. Li G. LncRNA DLEU2 is activated by STAT1 and induces gastric cancer development via targeting miR-23b-3p/NOTCH2 axis and Notch signaling pathway. *Life Sci*. 2021. 277. 119419. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119419>.
28. Philip M. CD8+ T cell differentiation and dysfunction in cancer. *Nature Reviews Immunology*. 2022. 22(4). 209-223. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00574-3>.

29. Gowan C.C. The Combination of TIM3 - Based Checkpoint Blockade and Oncolytic Virotherapy Regresses Established Solid Tumors. *Journal of Immunotherapy*. 2023. 46 (1). 1-4. DOI: <https://doi.org/10.1097/CJI.0000000000000444>.
30. Pagliano O. Tim-3 mediates T cell trogocytosis to limit antitumor immunity. *The Journal of clinical investigation*. 2022. 132 (9). e152864. DOI:10.3390/biomedicines10112826.
31. Curigliano G. Phase I/Ib Clinical Trial of Sabatolimab, an Anti-TIM-3 Antibody, Alone and in Combination with Spatalizumab, an Anti-PD-1 Antibody, in Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res*. 2021. 27 (13). 3620-3629. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4746>.
32. Long L. The promising immune checkpoint LAG-3: from tumor microenvironment to cancer immunotherapy. *Genes Cancer*. 2018. 9 (6). 176-189. DOI:<https://doi.org/10.18632/genesandcancer.180>.
33. Garrido F. The urgent need to recover MHC class I in cancers for effective immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. 2016. 39. 44-51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2015.12.007>.
34. Guy C. LAG3 associates with TCR-CD3 complexes and suppresses signaling by driving co-receptor-Lck dissociation. *Nature Immunology*. 2022. 23 (5). 757-767. DOI:<https://doi.org/10.1038/s41590-022-01176-4>.
35. Jonkman T.H. Functional genomics analysis identifies T and NK cell activation as a driver of epigenetic clock progression. *Genome biology*. 2022. 23 (1). 1-21. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02585-8>.
36. Rhyner Agocs G. LAG-3 Expression Predicts Outcome in Stage II Colon Cancer. *Journal of personalized medicine*. 2021. 11 (8).749. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm11080749>.
37. Stirling E.R. Metabolic Implications of Immune Checkpoint Proteins in Cancer. *Cells*. 2022. 11 (1). 179. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11010179>.
38. Upadhyaya P. Discovery and optimization of a synthetic class of Nectin-4-targeted CD137 agonists for immuno-oncology. 2022. 65 (14). 9858-9872. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00505>.
39. Meier S.L. Bystander T-cells in cancer immunology and therapy. *Nature Cancer*. 2022. 3 (2). 143-155. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43018-022-00335-8>.
40. Gardner T.A. Sipuleucel-T (Provenge) autologous vaccine approved for treatment of men with asymptomatic or minimally symptomatic castrate-resistant metastatic prostate cancer. *Hum Vaccin Immunother*. 2012. 8. 534-539. DOI: <https://doi.org/10.4161/hv.19795>.
41. Cheng H. Emerging targets of immunotherapy in gynecologic cancer. *Onco Targets Ther*. 2020. 13. 11869-11882. DOI: <https://doi.org/10.2147/OTT.S282530>.
42. Wu J. Role of TNFSF9 bidirectional signal transduction in antitumor immunotherapy. *European Journal of Pharmacology*. 2022. 928. 175097. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175097>.

References:

1. Decker W.E. Cancer immunotherapy: historical perspective of a clinical revolution and emerging preclinical animal models. *Frontiers in immunology*. 2017. 8(3). 829-835.
2. Burnet M. Cancer: a biological approach. III. Viruses associated with neoplastic conditions. IV Practical applications. *Br Med J*. 1957. 1. 841-847. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5023.841>.
3. Thomas L. Cellular and Humoral Aspects of the Hypersensitive States. New York: Hober-Harper. 1959. 529-532.
4. Morales A. Intracavitary Bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol*. 1976. 116. 180-183. DOI: <https://doi.org/10.1016/S0022-5347>.
5. Choi A.H. From benchtop to bedside: a review of oncolytic virotherapy. *Biomedicines*. 2016. 4. 18. DOI: <https://doi.org/10.3390.40300018>.
6. Krummel M.F. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J. Exp. Med*. 1995. 182(2). 459-465. DOI:<https://doi.org/10.1084/jem.182.2.459>.
7. Eptaminitaki G.C. Long Non-Coding RNAs (lncRNAs) in Response and Resistance to Cancer Immunosurveillance and Immunotherapy. *Cells*. 2021. 10(12). 3313. DOI:<https://doi.org/10.3390/cells10123313>.

8. Li F. Immune checkpoint inhibitors and cellular treatment for lymphoma immunotherapy. *Clinical and Experimental Immunology*. 2021. 205(1). 1-11. DOI:<https://doi.org/10.1111/cei.13592>.
9. Lopez S.H. The gut wall's potential as a partner for precision oncology in immune checkpoint treatment. *Cancer Treatment Reviews*. 2022. 1. 102406. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2022.102406>.
10. Ghorbaninezhad F. CTLA-4 silencing in dendritic cells loaded with colorectal cancer cell lysate improves autologous T cell responses in vitro. *Front Immunol*. 2022. 13. 931316. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.931316>.
11. Guo X.J. CTLA-4 Synergizes with PD1/PD-L1 in the Inhibitory Tumor Microenvironment of Intrahepatic Cholangiocarcinoma. // *Front Immunol*. 2021. 12. 705378. DOI:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.705378>.
12. Borrie A.E. Lymphocyte-based cancer immunotherapeutics. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol*. 2018. 341. 201-276. DOI: <https://doi.org/10.1016/bs.ircmb.2018.05.010>.
13. Cohen E.E.W. The Society for Immunotherapy of Cancer consensus statement on immunotherapy for the treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck (HNSCC). *Journal for immunotherapy of cancer*. 2019. 7(1). 1-31. DOI:<https://doi.org/10.1186/s40425-019-0662-5>.
14. Korman A.J. The foundations of immune checkpoint blockade and the ipilimumab approval decennial. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2022. 21(7). 509-528. DOI:<https://doi.org/10.1038/s41573-021-00345-8>.
15. Moschos S.J. Melanoma Brain Metastases: An Update on the Use of Immune Checkpoint Inhibitors and Molecularly Targeted Agents. *Am J Clin Dermatol*. 2022. 23(4). 523-545. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40257-022-00678-z>.
16. Bagbudar S. Prognostic Implications of Immune Infiltrates in the Breast Cancer Microenvironment: The Role of Expressions of CTLA-4, PD-1, and LAG-3. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2022. 30(2). 99-107. DOI:<https://doi.org/10.1097/PAI.0000000000000978>.
17. Lin H.J. Breast cancer tumor microenvironment and molecular aberrations hijack tumoricidal immunity. *Cancers*. 2022. 14(2). 285. DOI:<https://doi.org/10.3390/cancers14020285>.
18. Rowshanravan B. CTLA-4: a moving target in immunotherapy. *Blood*. 2018. 131(1). 58-67. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-741033>.
19. Li X. Liposomal Co-delivery of PD-L1 siRNA/Anemoside B4 for Enhanced Combinational Immunotherapeutic Effect. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2022. 14(25). 28439-28454. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.2c01123>.
20. Andrieu G.P. BET protein targeting suppresses the PD-1/PD-L1 pathway in triple-negative breast cancer and elicits anti-tumor immune response. *Cancer letters*. 2019. 465. 45-58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2019.08.013>.
21. Doi T. The JAK/STAT pathway is involved in the upregulation of PD-L1 expression in pancreatic cancer cell lines. *Oncol Rep*. 2017. 37. 1545-1554. DOI:<https://doi.org/10.3892/or.2017.5399>.
22. Jalali S. Reverse signaling via PD-L1 supports malignant cell growth and survival in classical Hodgkin lymphoma. *Blood Cancer J*. 2019. 9(22). DOI:<https://doi.org/10.1038/s41408-019-0185-9>.
23. Peng Q. Mitogen-activated protein kinase signaling pathway in oral cancer. *Oncol Lett*. 2018. 15. 1379-1388. DOI: <https://doi.org/10.3892/ol.2017.7491>.
24. Stutvoet T.S. MAPK pathway activity plays a key role in PD-L1 expression of lung adenocarcinoma cells. *J Pathol*. 2019. 249. 52-64. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.5280>.
25. Zhang X. Clinical benefits of PD-1/PD-L1 inhibitors in patients with metastatic colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *World Journal of Surgical Oncology*. 2022. 20(1). 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12957-022-02549-7>.
26. Zeidan A.M. TIM-3 pathway dysregulation and targeting in cancer. *Expert Review of Anticancer Therapy*. 2021. 21(5). 523-534. DOI:<https://doi.org/10.1080/14737140.2021.1865814>.
27. Li G. LncRNA DLEU2 is activated by STAT1 and induces gastric cancer development via targeting miR-23b-3p/NOTCH2 axis and Notch signaling pathway. *Life Sci*. 2021. 277. 119419. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119419>.
28. Philip M. CD8+ T cell differentiation and dysfunction in cancer. *Nature Reviews Immunology*. 2022. 22(4). 209-223. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00574-3>.

29. Gowan C.C. The Combination of TIM3 - Based Checkpoint Blockade and Oncolytic Virotherapy Regresses Established Solid Tumors. *Journal of Immunotherapy*. 2023. 46(1). 1-4. DOI: <https://doi.org/10.1097/CJI.0000000000000444>.
30. Pagliano O. Tim-3 mediates T cell trogocytosis to limit antitumor immunity. *The Journal of clinical investigation*. 2022. 132(9). e152864. DOI:10.3390/biomedicines10112826.
31. Curigliano G. Phase I/Ib Clinical Trial of Sabatolimab, an Anti-TIM-3 Antibody, Alone and in Combination with Spatalizumab, an Anti-PD-1 Antibody, in Advanced Solid Tumors. *Clin Cancer Res*. 2021. 27(13). 3620-3629. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-20-4746>.
32. Long L. The promising immune checkpoint LAG-3: from tumor microenvironment to cancer immunotherapy. *Genes Cancer*. 2018. 9(6). 176-189. DOI:[https://doi.org/10.18632/ genesandcancer.180](https://doi.org/10.18632/genesandcancer.180).
33. Garrido F. The urgent need to recover MHC class I in cancers for effective immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. 2016. 39. 44-51. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2015.12.007>.
34. Guy C. LAG3 associates with TCR-CD3 complexes and suppresses signaling by driving co-receptor-Lck dissociation. *Nature Immunology*. 2022. 23(5). 757-767. DOI:<https://doi.org/10.1038/s41590-022-01176-4>.
35. Jonkman T.H. Functional genomics analysis identifies T and NK cell activation as a driver of epigenetic clock progression. *Genome biology*. 2022. 23(1). 1-21. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13059-021-02585-8>.
36. Rhyner Agocs G. LAG-3 Expression Predicts Outcome in Stage II Colon Cancer. *Journal of personalized medicine*. 2021. 11(8).749. DOI: <https://doi.org/10.3390/jpm11080749>.
37. Stirling E.R. Metabolic Implications of Immune Checkpoint Proteins in Cancer. *Cells*. 2022. 11(1). 179. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells11010179>.
38. Upadhyaya P. Discovery and optimization of a synthetic class of Nectin-4-targeted CD137 agonists for immuno-oncology. 2022. 65(14). 9858-9872. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c00505>.
39. Meier S.L. Bystander T-cells in cancer immunology and therapy. *Nature Cancer*. 2022. 3(2). 143-155. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43018-022-00335-8>.
40. Gardner T.A. Sipuleucel-T (Provenge) autologous vaccine approved for treatment of men with asymptomatic or minimally symptomatic castrate-resistant metastatic prostate cancer. *Hum Vaccin Immunother*. 2012. 8. 534-539. DOI: <https://doi.org/10.4161/hv.19795>.
41. Cheng H. Emerging targets of immunotherapy in gynecologic cancer. *Onco Targets Ther*. 2020. 13. 11869-11882. DOI: <https://doi.org/10.2147/OTT.S282530>.
42. Wu J. Role of TNFSF9 bidirectional signal transduction in antitumor immunotherapy. *European Journal of Pharmacology*. 2022. 928. 175097. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2022.175097>.