

Тюрькина Ю.А.,

Студент 5 курс, Лечебный факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Россия, г. Москва

Конаныхин В.А.,

Студент 5 курс, Педиатрический факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Россия, г. Москва

Мануйлова Н.И.,

Студент 5 курс, Педиатрический факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Россия, г. Москва

Протченко Д.В.

Студент 5 курс, педиатрический факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России

Россия, г. Москва

ТАРГЕТНАЯ АКТИВАЦИЯ Т-КЛЕТОК В ИММУНООНКОЛОГИИ

Аннотация: За прошедшие 20 лет была совершена революция в иммуноонкологии, которая вызвана клиническим успехом ингибиторов контрольных точек иммунного ответа (ИКТИО). К сожалению, неспособность полностью активировать противоопухолевые Т-клетки отчасти способствует неудачному лечению. В этой статье рассматривается биология активации Т-клеток, факторы, регулирующие активацию, влияние Т-клетки на иммунотерапию опухолей, а также стратегии лечения, позволяющие потенциально повысить эффективность иммунотерапии.

Ключевые слова: Иммуноонкология, активация Т-клеток, ингибиторы контрольных точек иммунного ответа, ИКТИО, факторы некроза опухоли, ФНО, Толл-подобные рецепторы, онколитические вирусы.

Annotation: *The past 20 years have seen a revolution in immuno-oncology driven by the clinical success of immune checkpoint inhibitors (ICIS). Unfortunately, the inability to fully activate antitumor T cells contributes in part to treatment failure. This article reviews the biology of T cell activation, the factors that regulate activation, the impact of T cell activation on tumor immunotherapy, and treatment strategies to potentially improve the efficacy of immunotherapy.*

Key words: *Immuno-oncology, T-cell activation, immune checkpoint inhibitors, ICIS, tumor necrosis factor, TNF, TLR, oncolytic viruses.*

1. Введение

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа (ИКТИО) – антитела, направленные на гликопротеин цитотоксические Т-лимфоциты 4 (CTLA4, CD152), PD-1 (CD279) или PD-L1 (CD274), – произвели революцию в иммуноонкологии. Пациенты с опухолями различной гистологии получили преимущества в выживаемости после лечения препаратами ИКТИО по сравнению с предыдущими стандартными препаратами ^[1]. Несмотря на этот успех, реальность такова, что большинство пациентов, получающих лечение препаратами ИКТИО, не достигают значительного клинического ответа.

Хотя с клинической точки зрения отсутствие ответа на монотерапию ИКТИО у большинства пациентов разочаровывает, в контексте биологии Т-клеток это, пожалуй, неудивительно. В настоящее время известно, что функционирование Т-клеток контролируется множеством сложных регуляторных механизмов, особенно в контексте противоопухолевого иммунитета ^[2]. Ключевым фактором, определяющим успешную активацию Т-клеточного звена адаптивной иммунной системы, является требование согласованной активации врожденной иммунной системы, которая состоит из

таких клеток, как макрофаги, врожденные лимфоидные клетки, естественные клетки-киллеры и дендритные клетки (ДК). В частности, активация Т-клеток в значительной степени зависит от функционирования ДК, которые представляют антигены Т-клеткам и обеспечивают связь между активацией врожденной иммунной системы и адаптивной иммунной системой [3]. Здесь рассматривается регуляция активации Т-клеток в контексте иммунотерапии опухолей, а также освещаются возможности и терапевтические стратегии, направленные на повышение активации Т-клеток, что позволит повысить эффективность ИКТИО и других иммунотерапий.

2. Механизмы

Толерантность Т-клеток: равновесие

Фундаментальная задача Т-клеточного иммунитета заключается в том, чтобы система реагировала на всевозможные патогены, ограничивая при этом аутореактивность. Иммунная система должна быть в состоянии разработать репертуар Т-клеток, которые кодируют специфичность антигенных рецепторов, достаточно разнообразную для распознавания широкого спектра антигенов, потенциально присутствующих в патогенах. И наоборот, Т-клеточный ответ должен быть ограничен от реакции на антигены, присутствующие в собственных белках. Для Т-лимфоцитов этот балансирующий акт начинается в тимусе, во время происходящего в тимусе процесса, называемого «центральной толерантностью» [4].

В тимусе незрелые Т-клетки случайным образом перестраивают сегменты генов своих Т-клеточных рецепторов (ТКР), создавая огромное количество специфичностей ТКР [5]. Чтобы Т-клетка созрела и покинула тимус, в результате перестройки различных сегментов должен появиться ТКР, способный распознавать пептидные антигены, представленные в контексте собственных молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС, человеческий лейкоцитарный антиген). Этот процесс называется «позитивной

селекцией», поскольку в ходе него отбираются Т-клетки, экспрессирующие рецепторы, необходимые для выживания и дифференцировки. С другой стороны, Т-клетки, экспрессирующие ТКР, которые реагируют с высокой аффинностью на комплексы МНС, присутствующие в тимусе, получают указание, в процессе, называемом «негативным отбором», подвергнуться клеточной смерти. Таким образом, негативная селекция – это механизм, предотвращающий выход аутореактивных Т-клеток из тимуса и их потенциальную аутоиммунную реакцию.

К сожалению, отрицательный отбор не совершенен, и зрелые аутореактивные клетки можно обнаружить за пределами тимуса, даже у людей, не проявляющих признаков аутоиммунного заболевания ^[6]. Соответственно, для предотвращения индукции аутоиммунитета аутореактивными клонами, избежавшими удаления тимуса, необходимы другие регуляторные механизмы. Другие клетки иммунной системы, такие как специализированные Т-регуляторные клетки (Трег, Т-супрессоры), и клетки врожденной иммунной системы, такие как ДК, играют ключевую роль в регулировании активации или индукции иммунной толерантности для клонов, покинувших тимус.

Активация Т-клеток

Стимуляция ТКР в зрелой Т-клетке когнитивным комплексом антиген-МНС может привести к противоположным результатам. Сигналы от ТКР могут индуцировать активацию Т-клеток, если они доставляются вместе с соответствующими дополнительными ко-стимулирующими сигналами. И наоборот, сигналы от ТКР могут индуцировать толерантность Т-клеток, вызывая удаление Т-клеток или индукцию клеток, демонстрирующих гипореактивное состояние, называемое «анергией», отличительными признаками которой являются отсутствие пролиферации и низкая продукция интерлейкина 2 (ИЛ-2) ^[7,8]. Функциональное состояние ДК стало ключевым фактором, определяющим решение между активацией Т-клеток и

толерантностью. Незрелые или неактивированные ДК имеют низкий уровень МНС-комплексов и ко-стимуляторных лигандов. После созревания ДК резко увеличивают экспрессию пептидных комплексов МНС и ко-стимулирующих лигандов в дополнение к Т-клеточно-стимулирующим цитокинам. Таким образом, современная модель активации Т-клеток заключается в том, что незрелые ДК являются толерогенными и вызывают толерантность Т-клеток путем удаления или анергии, а зрелые ДК являются активирующими и вызывают мощный иммунный ответ против антигенов, которые они презентуют [9,10].

Семейство рецепторов распознавания паттерна (PRR) играет центральную роль в опосредовании активации ДК. Представители семейства PRR экспрессируются на незрелых ДК и вызывают созревание и активацию ДК при связывании своего лиганда [3]. Толл-подобные рецепторы (TLR) представляют собой одну из наиболее изученных групп членов семейства PRR. TLR распознают уникальные молекулы бактерий или вирусов, называемые патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (PAMP). Однако совсем недавно было обнаружено, что, помимо PAMP, некоторые эндогенные молекулы могут активировать PAMP. Эти молекулярные фрагменты, ассоциированные с повреждениями (DAMP), могут быть молекулами, обычно расположенными в ядре (например, ДНК или гистоны), цитозольными молекулами (например, АТФ) и молекулами, полученными из внеклеточного матрикса (например, бигликан) [11]. DAMP могут распознаваться различными членами семейства PRR, включая некоторые из TLR и другие рецепторы, такие как MDA5 и cGAS-STING, что приводит к индукции местного воспаления и созреванию ДК. Таким образом, воздействие на ДК PAMP и DAMP влияет на статус активации ДК и, впоследствии, на активацию или толерантность Т-клеток.

При активации ДК подают Т-клеткам многочисленные ко-стимулирующие сигналы. Эти сигналы могут подаваться путем лигирования

специализированных ко-стимулирующих рецепторов, экспрессируемых на Т-клетке, или путем подачи воспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 12 (ИЛ-12), или и того, и другого ^[12]. Было доказано, что множество рецепторов, экспрессируемых на Т-клетках, обеспечивают ко-стимулирующие сигналы для активации Т-клеток ^[13]. Большинство этих рецепторов относятся либо к суперсемейству иммуноглобулинов (например, CD28), либо к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухоли (например, 4-1BB (CD137 или TNFRSF9) и OX40 (TNFSF4)). Все эти ко-стимулирующие рецепторы содержат внутриклеточные сигнальные домены, которые синергируют с сигналами от ТКР и вызывают пролиферацию, эффекторную функцию и выживание Т-клеток. Точная роль, которую отдельные пары ко-стимулирующих рецепторов и лигандов играют в активации и дифференцировке Т-клеток, еще не до конца выяснена и в настоящее время является областью активных исследований.

3. Терапевтические возможности

Таргетинг путей активации ДК и Т-клеток

Таргетинг рецепторов семейства PRR. В контексте иммунотерапии опухолей возник интерес к использованию PAMP и DAMP для повышения активации ДК и противоопухолевого иммунитета. В отличие от патогенов, опухоли не экспрессируют традиционные вирусные или бактериальные PAMP, вызывающие активацию ДК. Наиболее прямой стратегией преодоления отсутствия традиционных PAMP является прямое введение этих молекул. Впервые эта концепция была клинически продемонстрирована в начале 1980-х годов: местный иммунологический ответ против рака мочевого пузыря был вызван внутрипузырной инстилляцией ослабленной бактерии бациллы Кальметта-Герена ^[14]. Более поздние сообщения, полученные на доклинических моделях, свидетельствуют о том, что интратуморальное лечение лигандами TLR может усилить противоопухолевый иммунитет как на

местном уровне, так и в отдаленных от места инъекции участках опухоли, особенно в сочетании с другими иммуностимулирующими методами лечения, такими как блокада контрольных точек. В мышинных моделях такие внутриопухолевые инъекции могут активировать ДК в микроокружении опухоли, которые после активации мигрируют в региональные лимфатические узлы, чтобы стимулировать противоопухолевый Т-клеточный ответ. Таким образом, реакция, вызванная инъекциями, может привести к регрессии опухоли в местах, удаленных от инъецированных очагов ^[15,16]. В настоящее время проводятся многочисленные клинические испытания клинической эффективности внутриопухолевых инъекций агонистов TLR, в основном в комбинации с другими иммуноонкологическими препаратами ^[17].

Альтернативная стратегия усиления активации ДК заключается в создании синтетических лигандов для PAMP. Из всех рецепторов, изученных до сих пор, сигнальный путь cGAS-STING оказался особенно привлекательным для такого подхода. Цитозольный PRR, cGAS активируется ниже по течению от цитозольной ДНК. После активации cGAS активирует STING, что приводит к активации ДК и экспрессии провоспалительных цитокинов, таких как интерфероны I типа ^[18]. Недавняя работа на мышах показала, что активация STING внутри ДК в микроокружении опухоли имеет решающее значение для выработки интерферонов I типа и генерации противоопухолевого Т-клеточного ответа ^[19]. Важно отметить, что недавно выявленные агонистические соединения STING, которые можно вводить системно, а не путем внутриопухолевой инъекции, в доклинической модели вызывают впечатляющую регрессию опухоли, зависящую от STING ^[20]. Эти агенты обещают стать терапевтическим средством, способным вызывать созревание ДК даже в опухолях, не поддающихся внутриопухолевому лечению.

Вакцинальные подходы. Вакцинация – еще одна терапевтическая стратегия, позволяющая вызвать созревание ДК и Т-клеточный иммунитет.

Исторически сложилось так, что опухолевые вакцины не продемонстрировали значительной клинической эффективности, особенно при лечении метастатических заболеваний ^[21]. Однако более глубокое понимание биологии ДК и Т-клеток привело к созданию новых вакцин с лучшим выбором антигенов-мишеней опухоли и адъювантов вакцины, которые запускают PAMP, обеспечивая созревание ДК ^[22]. Большой интерес вызывает изучение возможности использования опухолевых "неоантигенов" в качестве мишеней для вакцин.

Неоантигены опухолей возникают в результате несинонимичных мутаций, приводящих к аминокислотным заменам и образованию новых пептидов, которые потенциально могут распознаваться иммунной системой. Клинический ажиотаж вокруг неоантигенов вызван наблюдением, что опухоли с высоким мутационным бременем – а значит, и с большим количеством неоантигенов – демонстрируют повышенную чувствительность к терапии ИКТИО ^[23,24]. В недавнем исследовании была продемонстрирована корреляция между увеличением мутационного бремени опухоли и выживаемостью пациентов после ИКТИО терапии при различных типах опухолей ^[25]. Однако до сих пор неясно, являются ли неоантигены сами по себе прямыми мишенями противоопухолевого иммунитета, как предполагают некоторые результаты доклинических моделей ИКТИО терапии ^[26], или же они являются суррогатным маркером опухолей с генетической нестабильностью, для которых высокий мутационный груз опухоли может запускать врожденную иммунную систему с помощью неоантиген-независимых механизмов. Несмотря на неопределенность, стратегии персонализированных вакцин, нацеленные на специфические для пациента неоантигены, показали определенные перспективы в испытаниях ранней фазы ^[27,28]. Кроме того, усовершенствованные вакцинные платформы, использованные в соответствующих исследованиях, способны вызывать

активацию ДК и Т-клеток и усиливать противоопухолевый иммунитет к нескольким различным антигенам-мишеням.

Онколитические вирусы. Другие терапевтические агенты, которые потенциально могут действовать, вызывая активацию ДК и Т-клеток, включают модифицированные вирусы. Эти модифицированные ("онколитические") вирусы первоначально разрабатывались как агенты, вызывающие прямой лизис опухолевых клеток. Однако дальнейшие исследования показали, что основным механизмом противоопухолевого действия вирусов является стимуляция противоопухолевого иммунного ответа ^[29]. Онколитические вирусы стимулируют противоопухолевый иммунный ответ с помощью множества механизмов. Поскольку они являются вирусами, они кодируют вирусные PAMP, которые потенциально могут напрямую активировать ДК. Они также инфицируют опухолевые клетки и приводят к их лизису, тем самым способствуя высвобождению DAMP и опухолевых антигенов. Онколитические вирусы также могут быть сконструированы таким образом, чтобы экспрессировать воспалительные цитокины и хемокины. Например, Талимоген Лагерпарепвек (T-VEC) - это модифицированный вирус простого герпеса типа 1, предназначенный для избирательной репликации в опухолевых клетках и их лизиса. Вирус также кодирует ген для кодирования человеческого гранулоцит-макрофагального колониестимулирующего фактора для привлечения и активации ДК. Талимоген Лагерпарепвек – первый в своем классе онколитический вирус, одобренный для клинического применения Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств США. Это разрешение было получено на основании продемонстрированного терапевтического эффекта от инъекций у пациентов с неоперабельной меланомой III-IV стадий ^[30]. В настоящее время продолжаются испытания других онколитических вирусов, которые могут оказаться полезными инструментами для индукции противоопухолевого Т-клеточного ответа ^[29].

Цитокины. Во многих случаях иммунный ответ у пациентов уже был вызван естественным иммунным контролем, что привело к обнаружению инфильтрации CD8⁺ Т-клеток в опухоль. Ранние методы иммунной терапии, такие как введение цитокинов, были направлены на улучшение этих естественных механизмов наблюдения, специфичных для опухоли. Исторически высокие дозы ИЛ-2 и интерферона альфа использовались для лечения почечно-клеточной карциномы и меланомы с ограниченной пользой [31]. Совсем недавно в ранних клинических испытаниях были протестированы другие цитокины, улучшающие выживаемость и функцию Т-клеток и естественных клеток-киллеров, такие как ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-21 [32]. Токсичность системного введения этих цитокинов была основной проблемой в большинстве испытаний. В попытке минимизировать токсичность, но сохранить эффективность, разрабатываются модифицированные версии цитокинов. Например, Бемпегалдеслейкин, рекомбинантный ИЛ-2, конъюгированный с полиэтиленгликолем, продемонстрировал противоопухолевую активность и приемлемую токсичность на животных моделях рекомбинантный [33] и в настоящее время проходит испытания в клинике в комбинации с ИКТИО.

Ко-стимуляторные агонисты. Исследование новых мишеней. Учитывая важность ко-стимуляторных сигналов для активации Т-клеток, агонистические антитела, направленные на такие рецепторы, как 4-1BB и OX40, были исследованы в качестве дополнительной стратегии для усиления активации Т-клеток. В доклинических моделях агонистические антитела, направленные на многие из этих ко-стимулирующих рецепторов, продемонстрировали способность повышать активацию Т-клеток и способствовать уничтожению опухоли, что привело к тому, что многие из них были протестированы в клинических испытаниях [34]. В настоящее время задача состоит в том, чтобы полностью понять контекстно-зависимую роль, которую каждый из этих ко-стимулирующих рецепторов играет в Т-клеточном

ответе против различных типов опухолей, и выяснить, какие группы пациентов потенциально выиграют от лечения с помощью того или иного агонистического антитела. Токсичность также была проблемой при клинической разработке некоторых из этих агентов. Например, гепатотоксичность была главной проблемой при разработке агонистического анти-4-1BB антитела урелумаба ^[35]. Таким образом, необходимы дальнейшие исследования для определения и оптимизации клинического применения этих агентов в качестве инструментов для активации Т-клеток и противоопухолевого иммунитета.

Стратегии терапии adoptивными Т-клетками. Вместо того чтобы пытаться стимулировать активацию Т-клеток *in vivo*, другой терапевтической стратегией является перенос активированных опухолеспецифических Т-клеток *ex vivo* в рамках adoptивной клеточной терапии. Ранние испытания с использованием поликлональных Т-клеток, полученных из инфильтрирующих опухоль лимфоцитов, продемонстрировали впечатляющие показатели ответа у пациентов с меланомой еще до того, как появилась система ИКТИО ^[36]. Более поздние итерации этих клеточных методов лечения включают использование модифицированных Т-клеток, которые были генетически модифицированы для распознавания опухолевых клеток. К таким технологиям относятся химерные Т-клетки с антигенными рецепторами, которые обещают произвести революцию в лечении гематологических злокачественных опухолей ^[37]. Регрессия опухоли также была достигнута при солидных опухолях с помощью Т-клеток, созданных для экспрессии высокоаффинного ТКР, который распознает пептид, полученный из белка, экспрессия которого повышена при определенных опухолях, например, при раке яичка, при плоскоклеточной карциноме пищевода ^[38,39]. Эти протоколы клеточного лечения также предоставляют захватывающую возможность использовать генетические или фармакологические средства для дальнейшего усиления активации Т-клеток *ex vivo* до введения Т-клеток.

Негативная регуляция Т-клеток

Ингибиторы контрольных точек: за пределами PD-1 и PD-L1.

Активности костимулирующих рецепторов противостоят многочисленные негативные регуляторные рецепторы (например, PD-1), которые экспрессируются Т-клетками. Многие из негативных регуляторных рецепторов, также называемые иммунными контрольными точками или ко-ингибиторными рецепторами, экспрессируются на Т-клетках только после активации. Ко-ингибиторные рецепторы (сродни ко-стимулирующим рецепторам) также в основном принадлежат либо к суперсемейству иммуноглобулинов, либо к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухоли и имеют как минимум 1 идентифицированный лиганд ^[13].

Лигирование ко-ингибиторных рецепторов приводит к внутриклеточной активации сигнальных молекул, таких как фосфатазы, которые противостоят активации Т-клеток, частично нацеливаясь на сигналы от ко-стимулирующих рецепторов. Например, было показано, что лигирование PD-1 на активированных Т-клетках антагонизирует активирующие сигналы от ко-стимулирующих рецепторов, в частности CD28 ^[40]. Интересно, что хотя ко-ингибиторные рецепторы блокируют сигналы от ко-стимуляторных рецепторов, они не связаны с индукцией анергии или делеции Т-клеток. Было установлено, что в условиях персистирующего антигена и воспаления сигналы, поступающие от ингибирующих рецепторов, ограничивают активацию Т-клеток, вызывая гипофункциональное состояние, называемое Т-клеточным истощением (Тех).

Тех – это отдельное клеточное состояние, которое можно определить по уникальным метаболическим, эпигенетическим и транскрипционным признакам и которое четко отличается как от активированного, так и от анергического состояния ^[41,42]. Функциональные характеристики Тех лучше всего описаны на примере CD8⁺ Т-клеток, поскольку они были впервые

определены в модели хронической инфекции, вызванной нецитопатическим вирусом хориоменингита клона 13. У мышей с хроническим вариантом этой инфекции вирус-специфические CD8⁺ Т-клетки, которые накапливались в течение инфекции, демонстрировали сниженную функциональность [43,44]. У этих мышей наблюдалась иерархическая потеря эффекторной функции, которая зависела от персистенции когнитивного антигена и накопления экспрессии негативных регуляторных рецепторов. Такая последовательность потери функций, которая начинается со снижения выработки ИЛ-2, затем переходит к дефектам выработки фактора некроза опухоли α и, наконец, к выработке интерферона γ и цитотоксичности, является отличительной чертой развития Т_{ех} как при хронических инфекциях, так и при раке. Считается, что потеря функции Т_{ех} является механизмом периферической толерантности, который предотвращает иммунопатологию перед лицом персистирующего антигена. И наоборот, функциональная потеря Т_{ех}, вероятно, также является барьером для продуктивного противоопухолевого иммунитета.

Открытие того, что отрицательные регуляторные рецепторы представляют собой «лекарственные» мишени для модуляции функции Т-клеток, стало важным достижением в области иммуноонкологии. Первые работы на модели опухоли и нецитопатического лимфоцитарного хориоменингита продемонстрировали, что использование блокирующих антител к одному из рецепторов контрольных точек иммунитета, PD-1, или его лиганду, PD-L1, для предотвращения сигналов к CD8⁺ Т-клеткам может улучшить эффекторную функцию Т-клеток и способствовать снижению активности опухоли или вируса [45,46]. Однако основной проблемой в области иммуноонкологии является полное понимание функций всех рецепторов иммунных контрольных точек. Как обсуждалось ранее, помимо сигнальной оси PD-1/-L1, Т-клетки экспрессируют множество других негативных регуляторных рецепторов в условиях активации и истощения. Терапевтические антитела против многих негативных регуляторных

рецепторов – например, LAG-3 и TIGIT – уже разработаны и в настоящее время проходят клинические испытания.

К сожалению, механистическое понимание сложной биологии каждого из ингибирующих рецепторов все еще отсутствует. Например, хотя антитела против LAG-3 в настоящее время проходят фазу II/III клинических испытаний, в недавнем докладе был выявлен новый лиганд для LAG-3, FGL-1, что свидетельствует о более сложной биологии, которую еще предстоит понять [47]. Соответственно, разработка клинических испытаний на основе рациональных комбинаций антител оказалась сложной задачей, поскольку точная роль каждого из негативных рецепторов в модуляции функции Т-клеток (или других клеток) еще не выяснена. Важно отметить, что комбинирование агентов, направленных на различные ингибирующие рецепторы, остается практическим подходом, и наиболее ярким примером является синергизм, продемонстрированный между анти-PD-1 и анти-CTLA-4 при лечении различных опухолей [48]. Таким образом, необходима дальнейшая работа по определению оптимальных комбинаций для терапевтических агентов, уже находящихся на различных фазах клинических испытаний.

Т-супрессоры. Помимо ко-ингибиторных рецепторов, активации Т-клеток противостоят многочисленные популяции регуляторных клеток. Одной из наиболее изученных популяций регуляторных клеток является подмножество CD4⁺ Т-клеток, которые экспрессируют определяющий линию транскрипции фактор FOXP3 в дополнение к конститутивно высоким уровням CD25 (α-цепь рецептора ИЛ-2) и CTLA-4. Эти клетки – Т-супрессоры – были впервые обнаружены Сакагучи и коллегами [49] и играют важную роль в развитии периферической толерантности и предотвращении аутоиммунитета. Сакагучи и др. продемонстрировали, что у мышей, лишенных CD4⁺CD25⁺ Т-клеток, развивалось мультисистемное аутоиммунное заболевание. Впоследствии было обнаружено, что FOXP3 является линейно-определяющим транскрипционным фактором, регулирующим развитие Т-супрессоров, и что

у мышей и людей с мутациями в гене, кодирующем FOXP3, также развивается глубокий аутоиммунитет^[50-52]. Механистически Т-супрессоры, по-видимому, обладают несколькими способами предотвращения аутоиммунитета. Т-супрессоры могут подавлять активацию Т-клеток, ингибируя активацию ДК. Т-супрессоры также могут непосредственно подавлять активацию Т-клеток, используя как плохо определенные механизмы, зависящие от контакта с клетками, так и механизмы, не зависящие от контакта, например, выработку иммуносупрессивных цитокинов, таких как трансформирующий фактор роста β 53.

Было установлено, что в контексте иммунотерапии и биологии опухолей Т-супрессоры также играют важную роль. Истощение Т-супрессоров из опухолей может привести к усиленному очищению опухоли в мышинных опухолевых моделях^[54,55]. У пациентов низкое соотношение эффекторов CD8+ Т-клеток и Т-супрессоров в микроокружении опухоли было связано с плохим прогнозом при различных типах опухолей^[56]. В совокупности работы многих исследователей продемонстрировали критическую роль CD4+ FOXP3+ Т-супрессоров во влиянии на функции Т-клеток в контексте как аутоиммунитета, так и рака.

Истощение негативных регуляторных клеток является привлекательной терапевтической стратегией для повышения активности Т-клеток. Предполагается, что истощение Т-супрессоров в микроокружении опухоли за счет антителозависимой клеточной цитотоксичности является частью противоопухолевого эффекта анти-CTLA-4 антитела ипилиумаба^[57,58], хотя этот механизм действия остается предметом дискуссий^[59]. Важной целью исследований в области иммунотерапии является поиск агентов, способных специфически истощать Т-супрессоры в микроокружении опухоли и тем самым усиливать противоопухолевый иммунный ответ. Проблема разработки таких агентов заключается в том, чтобы избежать системного истощения Т-супрессоров и индуцирования аутоиммунитета. Таргетинг хемокинового

рецептора CCR8 может иметь такой потенциал, поскольку два недавних исследования показали, что CCR8 специфически экспрессируется на Т-супрессорах в опухолевом микроокружении [60,61]. Исследования также показали, что антитела против CCR8 могут истощать Т-супрессоры в опухолевом микроокружении и улучшать иммунореакцию [62]. В настоящее время также активно разрабатываются мишени для уничтожения Т-супрессоры в опухолевом микроокружении с помощью других молекул, включая CD25 и CCR4 [55,63].

Клетки врожденного иммунитета. Помимо Т-супрессоров, другие клетки, присутствующие в микроокружении опухоли, могут модулировать активацию и функцию Т-клеток. Клетки миелоидной линии, такие как макрофаги и миелоидные супрессорные клетки (МС), играют важную роль в регуляции активации Т-клеток в опухолевом микроокружении [64,65]. Один из механизмов, который используют МС и опухоль-ассоциированные макрофаги (ТАМ) для подавления активации Т-клеток, – это выработка иммунорегулирующих ферментов IDO и аргиназы 1. Эти ферменты разрушают и лишают Т-клетки, соответственно, аминокислот триптофана и аргинина, которые необходимы для поддержания активации Т-клеток [66]. Кроме того, IDO приводит к выработке кинуренина и его метаболитов – молекул с новыми иммуномодулирующими функциями.

Помимо ТАМ и МС, продолжают описываться новые подмножества клеток с регуляторными свойствами. У пациентов с высокозлокачественным серозным раком яичников и немелкоклеточным раком легкого в недавних исследованиях была описана популяция врожденных лимфоидных клеток, которые продемонстрировали способность подавлять Т-клетки *ex vivo* [67,68]. Необходима дальнейшая работа для более точного определения роли всех этих типов супрессивных клеток в биологии опухоли и в периферической толерантности. Очевидно, что многочисленные популяции иммунных клеток

врожденной иммунной системы могут регулировать иммунный ответ, особенно в контексте опухолевого микроокружения.

Как и в случае с терапией, направленной на удаление Т-супрессоров, разрабатываются реагенты для уничтожения TAM и MC из опухолевого микроокружения [69,70]. Например, недавно было показано, что агонистическое антитело, нацеленное на TRAIL-R2, способно выводить MC из опухолей примерно у половины пациентов, прошедших испытание I фазы [71]. Кроме того, в отличие от удаления TAM и MC из микроокружения опухоли, в настоящее время также изучаются реагенты для ингибирования ферментативной активности аргиназы 1 и IDO [66]. Большой клинический ажиотаж вызвали данные по эффективности ранней фазы комбинации анти-PD-1 агента и ингибитора IDO эпокадостата (он же INCB24360), в частности для лечения меланомы. К сожалению, исследование третьей фазы ECHO-301/KEYNOTE-252 было остановлено из-за отсутствия дополнительного клинического эффекта от комбинации по сравнению с одним анти-PD-1. Необходимы дальнейшие испытания, чтобы проверить, приведут ли другие ингибиторы IDO, потенциально обладающие более мощным ферментативным ингибированием, к клинической пользе или определить биомаркер, который будет предсказывать клинический ответ на ингибирование IDO. Тем не менее, воздействие на негативные регуляторные клетки или их эффекторные механизмы остается привлекательным терапевтическим направлением.

4. Новые размышления по поводу активации Т-клеток: Микробиом и метаболизм

Млекопитающие колонизированы миллиардами комменсальных бактерий, особенно в желудочно-кишечном тракте. Впервые в доклинических моделях было отмечено, что мыши с разной кишечной микробиотой по-разному реагируют на терапию анти-PD-1 при имплантации одной и той же

опухоли ^[72]. Затем этот вывод был распространен на людей, поскольку было обнаружено, что пациенты с меланомой, ответившие на терапию анти-PD-1, имеют более разнообразный микробиом кишечника, чем пациенты, не ответившие на лечение ^[73]. Аналогичным образом, в ходе ретроспективного анализа было установлено, что истощение микробиома с помощью антибиотиков снижает эффективность терапии ИКТИО при различных гистологиях опухолей ^[74]. В совокупности эти данные указывают на важную взаимосвязь между кишечными бактериями и иммунной системой. Однако точные механизмы, с помощью которых комменсальные бактерии влияют на эффективность терапии ИКТИО, пока не определены.

Интересно, что комменсальные бактерии участвуют в регулировании уровня циркулирующих метаболитов, в частности короткоцепочечных жирных кислот, таких как ацетат, бутират и пропионат ^[75]. В мышинных моделях было установлено, что все эти молекулы влияют на активацию Т-клеток ^[76,77]. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы выяснить, действительно ли эти регулируемые микроорганизмами метаболиты способствуют влиянию микробиома на терапию ИКТИО. Однако представляется вероятным, что будущие дополнения к ИКТИО будут направлены на изменение самого микробиома или его метаболитических продуктов.

Библиографический список:

1. Wallis CJD, Butaney M, Satkunasivam R, et al. Association of patient sex with efficacy of immune checkpoint inhibitors and overall survival in advanced cancers: a systematic review and meta-analysis. *JAMA Oncol.* 2019;5:529–36. doi: 10.1001/jamaoncol.2018.5904.
2. Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature.* 2017;541:321–30. doi: 10.1038/nature21349.
3. Steinman RM, Hemmi H. Dendritic cells: translating innate to adaptive immunity. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2006;311:17–58.
4. Daley SR, Teh C, Hu DY, Strasser A, Gray DHD. Cell death and thymic tolerance. *Immunol Rev.* 2017;277:9–20. doi: 10.1111/imr.12532.
5. Davis MM. T Cell receptor gene diversity and selection. *Annu Rev Biochem.* 1990;59:475–96. doi: 10.1146/annurev.bi.59.070190.002355.
6. Theofilopoulos AN, Kono DH, Baccala R. The multiple pathways to autoimmunity. *Nat Immunol.* 2017;18:716–24. doi: 10.1038/ni.3731.
7. Schwartz RH. T Cell anergy. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:305–34. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141110.
8. Miller JF, Morahan G. Peripheral T cell tolerance. *Annu Rev Immunol.* 1992;10:51–69. doi: 10.1146/annurev.iy.10.040192.000411.
9. Osorio F, Fuentes C, Lopez MN, Salazar-Onfray F, Gonzalez FE. Role of dendritic cells in the induction of lymphocyte tolerance. *Front Immunol.* 2015;6:535. doi: 10.3389/fimmu.2015.00535.
10. Audiger C, Rahman MJ, Yun TJ, Tarbell KV, Lesage S. The importance of dendritic cells in maintaining immune tolerance. *J Immunol.* 2017;198:2223–31. doi: 10.4049/jimmunol.1601629.
11. Schaefer L. Complexity of danger: the diverse nature of damage-associated molecular patterns. *J Biol Chem.* 2014;289:35237–45. doi: 10.1074/jbc.R114.619304.

12. Croft M, Dubey C. Accessory molecule and costimulation requirements for CD4 T cell response. *Crit Rev Immunol.* 2017;37:261–90. doi: 10.1615/CritRevImmunol.v37.i2-6.60.
13. Chen L, Flies DB. Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat Rev Immunol.* 2013;13:227–42. doi: 10.1038/nri3405.
14. Morales A. bcg: a throwback from the stone age of vaccines opened the path for bladder cancer immunotherapy. *Can J Urol.* 2017;24:8788–93.
15. Sagiv-Barfi I, Czerwinski DK, Levy S, et al. Eradication of spontaneous malignancy by local immunotherapy. *Sci Transl Med.* 2018;10 doi: 10.1126/scitranslmed.aan4488. pii:aan4488.
16. Sato-Kaneko F, Yao S, Ahmadi A, et al. Combination immunotherapy with tlr agonists and checkpoint inhibitors suppresses head and neck cancer. *JCI Insight.* 2017;2 doi: 10.1172/jci.insight.93397. pii:93397.
17. Iribarren K, Bloy N, Buque A, et al. Trial watch: immunostimulation with toll-like receptor agonists in cancer therapy. *Oncoimmunology.* 2015;5:e1088631. doi: 10.1080/2162402X.2015.1088631.
18. Barber GN. sting. Infection, inflammation and cancer. *Nat Rev Immunol.* 2015;15:760–70. doi: 10.1038/nri3921.
19. Woo SR, Fuertes MB, Corrales L, et al. sting-dependent cytosolic dna sensing mediates innate immune recognition of immunogenic tumors. *Immunity.* 2014;41:830–42. doi: 10.1016/j.immuni.2014.10.017.
20. Ramanjulu JM, Pesiridis GS, Yang J, et al. Design of amidobenzimidazole sting receptor agonists with systemic activity. *Nature.* 2018;564:439–43. doi: 10.1038/s41586-018-0705-y.
21. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol.* 2014;11:509–24. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.111.

22. van der Burg SH, Arens R, Ossendorp F, van Hall T, Melief CJ. Vaccines for established cancer: overcoming the challenges posed by immune evasion. *Nat Rev Cancer*. 2016;16:219–33. doi: 10.1038/nrc.2016.16.
23. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non–small cell lung cancer. *Science*. 2015;348:124–8. doi: 10.1126/science.aaa1348.
24. Yarchoan M, Hopkins A, Jaffee EM. Tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition. *N Engl J Med*. 2017;377:2500–1. doi: 10.1056/NEJMc1713444.
25. Samstein RM, Lee CH, Shoushtari AN, et al. Tumor mutational load predicts survival after immunotherapy across multiple cancer types. *Nat Genet*. 2019;51:202–6. doi: 10.1038/s41588-018-0312-8.
26. Gubin MM, Zhang X, Schuster H, et al. Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens. *Nature*. 2014;515:577–81. doi: 10.1038/nature13988.
27. Li L, Goedegebuure SP, Gillanders WE. Preclinical and clinical development of neoantigen vaccines. *Ann Oncol*. 2017;28(suppl 12):xii11–17. doi: 10.1093/annonc/mdx681.
28. Keskin DB, Anandappa AJ, Sun J, et al. Neoantigen vaccine generates intratumoral T cell responses in phase I glioblastoma trial. *Nature*. 2019;565:234–9. doi: 10.1038/s41586-018-0792-9.
29. Lawler SE, Speranza MC, Cho CF, Chiocca EA. Oncolytic viruses in cancer treatment: a review. *JAMA Oncol*. 2017;3:841–9. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.2064.
30. Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, et al. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol*. 2015;33:2780–8. doi: 10.1200/JCO.2014.58.3377.
31. Waldmann TA. Cytokines in cancer immunotherapy. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2018;10doi: 10.1101/cshperspect.a028472. pii:a028472.

32. Floros T, Tarhini AA. Anticancer cytokines: biology and clinical effects of interferon- α 2, interleukin (il)-2, il-15, il-21, and il-12. *Semin Oncol.* 2015;42:539–48. doi: 10.1053/j.seminoncol.2015.05.015.
33. Charych DH, Hoch U, Langowski JL, et al. nktr-214, an engineered cytokine with biased il2 receptor binding, increased tumor exposure, and marked efficacy in mouse tumor models. *Clin Cancer Res.* 2016;22:680–90. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1631.
34. Mayes PA, Hance KW, Hoos A. The promise and challenges of immune agonist antibody development in cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17:509–27. doi: 10.1038/nrd.2018.75.
35. Segal NH, Logan TF, Hodi FS, et al. Results from an integrated safety analysis of urelumab, an agonist anti-CD137 monoclonal antibody. *Clin Cancer Res.* 2017;23:1929–36. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1272.
36. Hinrichs CS, Rosenberg SA. Exploiting the curative potential of adoptive T-cell therapy for cancer. *Immunol Rev.* 2014;257:56–71. doi: 10.1111/imr.12132.
37. June CH, O'Connor RS, Kawalekar OU, Ghassemi S, Milone MC. car T cell immunotherapy for human cancer. *Science.* 2018;359:1361–5. doi: 10.1126/science.aar6711.
38. Robbins PF, Morgan RA, Feldman SA, et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with ny-eso-1. *J Clin Oncol.* 2011;29:917–24. doi: 10.1200/JCO.2010.32.2537.
39. D'Angelo SP, Melchiori L, Merchant MS, et al. Antitumour activity associated with prolonged persistence of adoptively transferred ny-eso-1 ^{c259}T cells in synovial sarcoma. *Cancer Discov.* 2018;8:944–57. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-1417.

40. Hui E, Cheung J, Zhu J, et al. T Cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition. *Science*. 2017;355:1428–33. doi: 10.1126/science.aaf1292.
41. McLane LM, Abdel-Hakeem MS, Wherry EJ. CD8 T cell exhaustion during chronic viral infection and cancer. *Annu Rev Immunol*. 2019;37:457–95. doi: 10.1146/annurev-immunol-041015-055318.
42. Crespo J, Sun H, Welling TH, Tian Z, Zou W. T Cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol*. 2013;25:214–21. doi: 10.1016/j.coi.2012.12.003.
43. Zajac AJ, Blattman JN, Murali-Krishna K, et al. Viral immune evasion due to persistence of activated T cells without effector function. *J Exp Med*. 1998;188:2205–13. doi: 10.1084/jem.188.12.2205.
44. Gallimore A, Glithero A, Godkin A, et al. Induction and exhaustion of lymphocytic choriomeningitis virus-specific cytotoxic T lymphocytes visualized using soluble tetrameric major histocompatibility complex class I-peptide complexes. *J Exp Med*. 1998;187:1383–93. doi: 10.1084/jem.187.9.1383.
45. Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*. 2006;439:682–7. doi: 10.1038/nature04444.
46. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:12293–7. doi: 10.1073/pnas.192461099.
47. Wang J, Sanmamed MF, Datar I, et al. Fibrinogen-like protein 1 is a major immune inhibitory ligand of lag-3. *Cell*. 2019;176:334–347.e312. doi: 10.1016/j.cell.2018.11.010.
48. Esin E. Clinical applications of immunotherapy combination methods and new opportunities for the future. *Biomed Res Int*. 2017;2017 doi: 10.1155/2017/1623679. 1623679.

49. Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing il-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol.* 1995;155:1151–64.
50. Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (ipex) is caused by mutations of foxp3. *Nat Genet.* 2001;27:20–1. doi: 10.1038/83713.
51. Wildin RS, Ramsdell F, Peake J, et al. X-Linked neonatal diabetes mellitus, enteropathy and endocrinopathy syndrome is the human equivalent of mouse scurfy. *Nat Genet.* 2001;27:18–20. doi: 10.1038/83707.
52. Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat Genet.* 2001;27:68–73. doi: 10.1038/83784.
53. Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:531–64. doi: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623.
54. Shimizu J, Yamazaki S, Sakaguchi S. Induction of tumor immunity by removing CD25+CD4+ T cells: a common basis between tumor immunity and autoimmunity. *J Immunol.* 1999;163:5211–18.
55. Arce Vargas F, Furness AJS, Solomon I, et al. FC-optimized anti-CD25 depletes tumor-infiltrating regulatory T cells and synergizes with PD-1 blockade to eradicate established tumors. *Immunity.* 2017;46:577–86. doi: 10.1016/j.immuni.2017.03.013.
56. Shang B, Liu Y, Jiang SJ, Liu Y. Prognostic value of tumor-infiltrating foxp3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2015;5:15179. doi: 10.1038/srep15179.
57. Simpson TR, Li F, Montalvo-Ortiz W, et al. FC-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells co-defines the efficacy of anti-ctla-4 therapy against melanoma. *J Exp Med.* 2013;210:1695–710. doi: 10.1084/jem.20130579.

58. Romano E, Kusio-Kobialka M, Foukas PG, et al. Ipilimumab-dependent cell-mediated cytotoxicity of regulatory T cells ex vivo by nonclassical monocytes in melanoma patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112:6140–5. doi: 10.1073/pnas.1417320112.
59. Sharma A, Subudhi SK, Blando J, et al. Anti-ctla-4 immunotherapy does not deplete foxp3⁺ regulatory T cells (Tregs) in human cancers. *Clin Cancer Res*. 2019;25:1233–8. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0762.
60. De Simone M, Arrigoni A, Rossetti G, et al. Transcriptional landscape of human tissue lymphocytes unveils uniqueness of tumor-infiltrating T regulatory cells. *Immunity*. 2016;45:1135–47. doi: 10.1016/j.immuni.2016.10.021.
61. Plitas G, Konopacki C, Wu K, et al. Regulatory T cells exhibit distinct features in human breast cancer. *Immunity*. 2016;45:1122–34. doi: 10.1016/j.immuni.2016.10.032.
62. Villarreal DO, L’Huillier A, Armington S, et al. Targeting ccr8 induces protective antitumour immunity and enhances vaccine-induced responses in colon cancer. *Cancer Res*. 2018;78:5340–8. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1119.
63. Wing JB, Tanaka A, Sakaguchi S. Human foxp3⁺ regulatory T cell heterogeneity and function in autoimmunity and cancer. *Immunity*. 2019;50:302–16. doi: 10.1016/j.immuni.2019.01.020.
64. Yang M, McKay D, Pollard JW, Lewis CE. Diverse functions of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res*. 2018;78:5492–503. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1367.
65. Gabrilovich DI. Myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Immunol Res*. 2017;5:3–8. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0297.
66. Lemos H, Huang L, Prendergast GC, Mellor AL. Immune control by amino acid catabolism during tumorigenesis and therapy. *Nat Rev Cancer*. 2019;19:162–75. doi: 10.1038/s41568-019-0106-z.

67. Crome SQ, Nguyen LT, Lopez-Verges S, et al. A distinct innate lymphoid cell population regulates tumor-associated T cells. *Nat Med*. 2017;23:368–75. doi: 10.1038/nm.4278.
68. Picard E, Godet Y, Laheurte C, et al. Circulating NKp46⁺ natural killer cells have a potential regulatory property and predict distinct survival in non–small cell lung cancer. *Oncoimmunology*. 2019;8:e1527498. doi: 10.1080/2162402X.2018.1527498.
69. Poh AR, Ernst M. Targeting macrophages in cancer: from bench to bedside. *Front Oncol*. 2018;8:49. doi: 10.3389/fonc.2018.00049.
70. Anani W, Shurin MR. Targeting myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1036:105–28. doi: 10.1007/978-3-319-67577-0_8.
71. Dominguez GA, Condamine T, Mony S, et al. Selective targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer patients using DS-8273a, an agonistic trail-r2 antibody. *Clin Cancer Res*. 2017;23:2942–50. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1784.
72. Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumour immunity and facilitates anti–PD-L1 efficacy. *Science*. 2015;350:1084–9. doi: 10.1126/science.aac4255.
73. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al. Gut microbiome modulates response to anti–PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. 2018;359:97–103. doi: 10.1126/science.aan4236.
74. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2018;359:91–7. doi: 10.1126/science.aan3706.
75. Levy M, Thaiss CA, Elinav E. Metabolites: messengers between the microbiota and the immune system. *Genes Dev*. 2016;30:1589–97. doi: 10.1101/gad.284091.116.

76. Balmer ML, Ma EH, Bantug GR, et al. Memory CD8⁺ T cells require increased concentrations of acetate induced by stress for optimal function. *Immunity*. 2016;44:1312–24. doi: 10.1016/j.immuni.2016.03.016.

77. Luu M, Weigand K, Wedi F, et al. Regulation of the effector function of CD8⁺ T cells by gut microbiota-derived metabolite butyrate. *Sci Rep*. 2018;8:14430. doi: 10.1038/s41598-018-32860-x.