Онкоиммунология

© Коллектив авторов, 2020

Казанский Д.Б., Калинина А.А., Замкова М.А., Хромых Л.М.,
Персиянцева Н.А.

Феномен цепецентричности Т-клеточных рецепторов – возможности и проблемы применения в медицине

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 115478, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Кристаллографические исследования взаимодействия TCR с молекулами МНС сформировали общее представление, согласно которому в ходе взаимодействия рецептор приобретает диагональную ориентацию на молекуле МНС с тем, чтобы обеспечить взаимодействие остатков антигенного пептида, связанного этой молекулой, с наиболее вариабельными CDR3-участками α - и β -цепей Т-клеточного рецептора. Методами алаинового мутагенеза и рентгеноструктурного анализа в сочетании с методами плазмонного резонанса было показано участие во взаимодействии как аминокислотных остатков пептида, α -спиральных и β -складчатых структур молекул МНС, формирующих антиген-связывающую бороздку, так и всех 3 вариабельных регионов обеих цепей TCR. Открытия последних лет обнаружили новый необычный способ специфического распознавания комплексов HLA/пептид рецепторами Т-лимфоцитов. Его особенность состоит в том, что во взаимодействии с комплексом HLA/пептид участвует α -цепь рецептора, тогда как β -цепь играет пассивную роль, влияя лишь на общую avidность взаимодействия TCR с молекулой МНС, но не на его специфичность. Такой необычный способ распознавания способен в корне изменить ситуацию с практическим применением Т-клеточных рецепторов в медицине. Возможность идентификации одной цепи TCR, с которой связана специфичность, позволила отказаться от длительной и трудоемкой процедуры клеточного клонирования Т-лимфоцитов и применить NGS-секвенирование для анализа α -цепей поликлональных популяций Т-лимфоцитов и их ответов на антиген. Это существенно ускоряет процедуру поиска нужных α -цепей, что делает возможным использование данного подхода для персонализированной терапии онкологических заболеваний и оперативного формирования иммунной устойчивости организма к инфекциям.

Ключевые слова: Т-клеточный рецептор; α -цепь TCR; трансгенез; ретровирусная трансдукция; адаптивная иммунотерапия; противоопухолевый иммунитет; инфекционный иммунитет

Поступила 24.06.2020. Принята к печати 17.08.2020.

Для цитирования: Казанский Д.Б., Калинина А.А., Замкова М.А., Хромых Л.М., Персиянцева Н.А. Феномен цепецентричности Т-клеточных рецепторов – возможности и проблемы применения в медицине. Иммунология. 2020; 41 (5): 421–431. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-5-421-431>

Финансирование. Работа выполнена при поддержке Фонда перспективных исследований, договор № 6/053/2015-2018 от 20 октября 2015 г.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции
Казанский Дмитрий Борисович –
доктор биологических наук,
профессор, заведующий лабораторией
механизмов регуляции иммунитета
НИИ канцерогенеза,
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России,
Москва, Российская Федерация
E-mail: kazansky1@yandex.ru
<https://orcid.org/000-0002-4179-8421>

Kazansky D.B., Kalinina A.A., Zamkova M.A., Khromykh L.M.,
Persiyantseva N.A.

Chain-centricity of TCR phenomenon – opportunities and problems of application in medicine

N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Russian Federation

Abstract

Crystallographic studies of TCR interactions with MHC molecules formed the general conception that a TCR acquire diagonal orientation on an MHC molecule to provide interaction of an antigen peptide, presented by this MHC molecule with the most variable CDR3 regions of α - and β -chains of the TCR. Using alanine mutagenesis, X-ray crystallography, and methods of plasmon resonance researches demonstrated that amino acid residues of the peptide, α -helices and β -sheets of MHC that form the peptide-binding groove, and all three variable regions of both TCR chains take part in TCR-MHC/peptide interaction. Recent studies reveal a novel unusual mode of the specific recognition of HLA/peptide complexes by TCRs. The unique feature of such recognition is in the leading role of the α -chain TCR in interaction with HLA/peptide while the β -chain TCR plays a passive role, influencing the overall avidity of the TCR-MHC interaction but not its specificity. Such an unusual way of recognition could completely change the practical application of T-cell receptors in medicine. The possibility to identify one TCR chain, dictating the specificity allowed us to avoid long-term and labor-consuming T-cell cloning and apply NGS-sequencing to analyze α -chains in the polyclonal populations of T-cell and their response to the antigen. This approach could significantly fasten selection of therapeutic α -chains and open perspectives for personalized therapy for cancer patients and operative formation of immune resistance to infections.

Keywords: T-cell receptor; TCR α -chain; transgenesis; retroviral transduction; adoptive immunotherapy; antitumor immunity; anti-infectious immunity

Received 24.06.2020. **Accepted** 17.08.2020.

For citation: Kazansky D.B., Kalinina A.A., Zamkova M.A., Khromykh L.M., Persiyantseva N.A. Chain-centricity of TCR phenomenon – opportunities and problems of application in medicine. *Immunologiya*. 2020; 41 (5): 421–31. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-5-421-431> (in Russian)

Funding. The study was supported by Russian Foundation for Advanced Research Projects. Contract No. 6/053/2015-2018; October 20, 2015.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interests.

For correspondence

Dmitry B. Kazansky –
Dr.Sci, Professor, Head of Laboratory
of Regulatory Mechanisms
in Immunity,
Institute of Carcinogenesis,
N.N. Blokhin National Medical
Research Centre of Oncology
of the Ministry of Health
of Russian Federation,
Moscow, Russian Federation
E-mail: kazansky1@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-4179-8421>

Введение

До недавних пор у научного сообщества не было сомнений в том, что топология взаимодействий различных Т-клеточных рецепторов (TCR) с молекулами МНС сходна и призвана обеспечить контакт наиболее вариабельных фрагментов TCR CDR3 α и CDR3 β с аминокислотными остатками пептида. При этом CDR3 α взаимодействует с аминотерминальной частью пептида, а CDR3 β – с карбокситерминальной [1, 2]. Не было сомнений и в том, что во взаимодействии TCR с комплексом МНС/пептид обе цепи TCR участвуют равноправно и создают единый антиген-распознающий интерфейс. Тем не менее, этот интерфейс пластичен и заметно изменяется при взаимодействии рецептора с его лигандом, причем более значительным перестройкам подвергается область, сформированная аминокислотными остатками α -цепи [3, 4].

Одним из путей исследования таких взаимодействий является создание животных с трансгенными TCR. Но существующим моделям с трансгенным TCR α/β присущ ряд недостатков, которые становятся серьезным препятствием для использования в исследованиях биологии и гомеостаза Т-лимфоцитов. В числе таких недостатков – глубокие нарушения характера дифференцировки Т-лимфоцитов в тимусе и нефизиологически высокое содержание Т-лимфоцитов с одинаковой специфичностью, что вынуждает экспериментаторов использовать инвазив-

ные методы и схемы экспериментов, в частности – адоптивный перенос трансгенных Т-клеток лимфопеничным животным дикого типа [5]. Способом преодолеть это является трансгенез индивидуальных цепей Т-клеточного рецептора на уровне зиготы. Функциональные последствия такого трансгенеза различны в связи с тем, что экспрессия α - и β -цепей в различной степени подчинена правилам аллельного исключения. Экспрессия α -цепей ими не контролируется и поэтому приводит к расширению репертуара TCR. Экспрессия β -цепей им строго подчинена, в связи с чем экспрессия трансгена β -цепи приводит к образованию репертуара рецепторов, в подавляющем большинстве которых присутствует трансгенная β -цепь, сужающая разнообразие репертуара. Это побудило нас создать собственные трансгенные модели, в которых трансген кодирует одну из цепей TCR, допуская нормальную перестройку генов другой цепи и формирование разнообразного репертуара Т-лимфоцитов [6, 7].

Проведенная работа позволила выявить группу TCR, закономерности специфического взаимодействия которых с комплексами МНС/пептид не совсем обычны и диктуются лишь одной из 2 цепей TCR, входящих в их состав – цепоцентрических Т-клеточных рецепторов [8].

Т-клеточные рецепторы в развитии Т-лимфоцитов

Для адекватного понимания последствий трансгенеза цепей TCR имеет смысл привести основные све-

дения о развитии Т-лимфоцитов в тимусе. Согласно консенсусу, сложившемуся в 70–80-х гг. прошлого века, Т-лимфоцитом называют клетку, экспрессирующую TCR [9]. TCR представляют собой гетеродимеры, состоящие из 2 полипептидных цепей α и β (или γ и δ), связанных между собой дисульфидной связью и заякоренных в мембране Т-лимфоцита. Подобно антителам они имеют вариабельную структуру, формирующуюся в результате случайной рекомбинации генных сегментов V и J (для α - и δ -цепей) и V, D и J (для β - и γ -цепей). Сама по себе молекула TCR лишена сигнальных функций – для передачи сигнала о взаимодействии рецептора с антигеном ей необходим комплекс вспомогательных молекул, получивших название CD3, которые содержат в своей структуре мотивы для фосфорилирования по остаткам тирозина [10]. В свою очередь, для появления компонентов CD3 на клеточной поверхности необходим полностью сформированный гетеродимер TCR, так как формирование функционального комплекса TCR/CD3 зависит от трансмембранных аминокислотных остатков в структуре TCR [11]. В качестве антигена для комплекса TCR/CD3 выступает комплекс молекулы главного комплекса гистосовместимости с пептидом антигена, процессированного в антиген-презентирующей клетке. Такой пептид является интегральным компонентом комплекса МНС/пептид, так как в его отсутствие молекула МНС теряет стабильность и исчезает с поверхности клетки. Условием связывания пептида с молекулой МНС является наличие в его структуре мотива, специфичного для данного аллеля МНС класса II или нескольких аминокислотных остатков в определенных позициях [12].

В ходе развития предшественников лимфоцитов, попавших в тимус, специализированный эпителий тимуса через рецептор Notch1 коммитирует их развитие в направлении Т-лимфоцитов. Он запускает продукцию рекомбиназ в тимоцитах и в дальнейшем развитие, контрольные точки и физиология Т-лимфоцитов в значительной степени зависят от того, насколько успешной была перестройка генных сегментов. Раньше всех начинается перестройка генов β - и δ -цепей, которая носит взаимоисключающий характер – образование продуктивной последовательности δ -цепи приводит к полному подавлению перестройки β -цепи, что определяет путь дальнейшего развития в сторону $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитов, которые лишены экспрессии корцепторов CD4 и CD8 и являются двойными негативными (DN – double negative). И наоборот, появление функциональной β -цепи полностью блокирует перестройку гена δ -цепи и коммитирует Т-лимфоцит к развитию в направлении $\alpha\beta$ -Т-клеток. Ввиду того, что вероятность успешной одновременной реаранжировки генов γ - и δ -цепей с образованием функционального рецептора невелика, большая часть Т-клеток становится $\alpha\beta$ -Т-лимфоцитами, так как в их развитии в этот момент присутствуют дополнительная контрольная точка – экспрессия суррогатной α -цепи. Неудачная реаранжировка гена β -цепи на одной хромосоме может быть компенсирована перестройкой

гена на другой. Этот период в развитии Т-лимфоцитов носит название β -селекции – он имеет место на стадиях DN3 и DN4 и сопряжен со значительными изменениями экспрессии поверхностных маркеров CD44 и CD25. $DN1(CD44^+CD25^-) \rightarrow DN2(CD44^+CD25^+) \rightarrow DN3(CD44^+CD25^+pT\alpha^+\beta^+) \rightarrow DN4(CD44^+CD25^+preTCR^+)$ [13]. Если реаранжировка гена β -цепи прошла успешно, образовавшиеся цепи соединяются с инвариантной суррогатной α -цепью и образуют комплексы (preTCR), которые неспособны попасть на поверхность клетки, но, возможно, обладают аутокаталитической активностью, сигнализирующей Т-лимфоциту о необходимости дальнейшего выживания. Если все попытки перестройки генов β -цепей оказались неудачными, суррогатная цепь не может найти партнера и генерировать сигнал для выживания Т-лимфоцита, что приводит к гибели Т-лимфоцита по механизму апоптоза. Появление функциональной β -цепи вызывает прекращение экспрессии рекомбиназ, перестройки гена на другой хромосоме и переход соответствующих областей ДНК другой хромосомы в гетерохроматиновые области. Этот механизм лежит в основе аллельного исключения экспрессии генов β -цепей, которые строго ему подчинены – в одной Т-клетке может экспрессироваться только один функциональный ген β -цепи. Прохождение Т-клеткой этой контрольной точки приводит к включению новой волны экспрессии рекомбиназ, перестройке гена α -цепи и началу экспрессии корцепторов CD4 и CD8. В отличие от генов β -цепей, гены α -цепей могут перестраиваться на обеих хромосомах – они не подвержены аллельному исключению, что приводит к появлению небольшого процента Т-лимфоцитов, на которых можно обнаружить два TCR, β -цепь у которых одинакова, а α -цепи различаются по первичной структуре [14, 15].

С образованием нормальной функциональной α -цепи возникает возможность для сборки полноценного TCR и его появления на клеточной поверхности в комплексе с белками CD3. Гены α -цепей способны перестраиваться неоднократно, так как допустимы повторные рекомбинации сегментов V и J, расположенных на хромосоме более дистально. Это происходит до тех пор, пока формирующийся гетеродимер не «увидит» окружение молекул МНС, в котором он находится. Если такой вариант TCR не образовался и все варианты формирующихся α -цепей оказались вне рамки считывания либо неспособными обеспечить взаимодействие TCR с молекулами МНС, Т-лимфоцит погибает «от забвения» по механизму апоптоза и поглощается макрофагом. Эта контрольная точка развития Т-лимфоцитов получила название позитивной селекции. Дальнейшее развитие Т-лимфоцитов становится критически зависимым от МНС-окружения, в котором они находятся [16]. Случайный характер формирования генов TCR допускает возможность образования клонов с аутореактивными рецепторами, способных разрушить организм, в котором развивается иммунная система. С целью предотвращения этого и приобретения иммунной системой способности различать «свое» и «чужое» в ходе ранних

стадий развития лимфоцитов работает механизм негативной селекции – гибель клонов, TCR которых сильно взаимодействуют с собственными молекулами МНС организма. Для того чтобы такое удаление происходило наиболее полно, в медуллярном эпителии тимуса функционирует ген *AIRE*, запускающий случайную экспрессию широкого ряда белков, включая сугубо тканеспецифические [17].

На стадии внутритимусной селекции тимоциты экспрессируют оба корецептора – CD4 и CD8, т.е. являются «двойными позитивными» (double positive, DP). Эти корецепторы определяют взаимодействие TCR соответственно с молекулами МНС класса II и молекулами МНС класса I. Между тем известно, что на зрелых периферических Т-лимфоцитах корецептор всегда один – CD4 или CD8, они являются «однопозитивными» (single positive, SP). Механизм выбора ими пути дифференцировки долгое время являлся предметом дискуссий, согласие в которых было достигнуто сравнительно недавно. В клетках DP киназа Lck, которая в периферических Т-лимфоцитах ассоциирована с корецепторами, связана главным образом с корецептором CD4 [18]. Корецептор CD8 в такой ситуации «молчит». В наших экспериментах мы наблюдали, как искусственная трансдукция в клетки тимомы 4G4 TCR, специфичного к молекуле МНС класса I и обоих корецепторов, приводила к тому, что ответ DP-трансфектантов становился зависимым от корецептора CD4 и его взаимодействия с молекулами МНС класса II на стимулирующих клетках. После получения сигнала к позитивной селекции Т-лимфоцит снижает экспрессию обоих корецепторов, а потом временно усиливает экспрессию CD4, становясь, таким образом, CD4⁺CD8^{low}. Если TCR такого Т-лимфоцита взаимодействует с эндогенной молекулой МНС класса II, получаемый Т-лимфоцитом на этой стадии стабильный и продолжительный сигнал служит указанием для его дифференцировки в SP-Т-лимфоцит CD4⁺CD8⁺. Слишком сильный сигнал в этот момент может не только привести к гибели Т-лимфоцита, но и вызвать иные функциональные последствия – дифференцировку в регуляторные Т-лимфоциты (Трег) или CD8-Т-лимфоциты. Таким образом организм пытается сохранить в репертуаре с таким трудом созданные и потенциально полезные специфичности TCR [19]. Действительно, когда мы создали Т-гибридомы из активированных периферических CD8⁺-Т-лимфоцитов мышей C57BL/6 (H-2^b) и клеток лимфомы, стабильно трансдуцированной геном *CD4*, значительная доля таких гибридом (от 15 до 25 %) начинала отвечать на сингенную молекулу МНС класса II (A^b) [20]. Если TCR взаимодействует с эндогенной молекулой МНС класса I, сигнал в виде молекулы Lck, связанной с корецептором CD4, не поступает и это становится указанием для превращения Т-лимфоцита в SP-CD4⁺CD8⁺ с утратой корецептора CD4 [21]. Появление SP-Т-лимфоцитов CD4 и CD8 предполагает завершение ими внутритимусной дифференцировки и селекции, превращение в ранние тимусные эмигранты и расселение в периферические

лимфоидные органы. В дальнейшем взаимодействие их рецепторов с молекулами гистосовместимости стимулирует выживание Т-лимфоцитов и тем самым поддерживает гомеостаз клеток иммунной системы [22, 23].

Клонирование рецептора клеток памяти и получение трансгенных животных с экспрессией индивидуальных цепей TCR

Для идентификации клеток памяти обычно используются 2 пути – оценка их функциональных свойств (способность к ускоренному ответу на низкие дозы антигена, простые условия активации, независимость от костимуляции, устойчивость к кортикостероидам и облучению) или спектра поверхностных маркеров, за редким исключением представляющих собой маркеры активации Т-лимфоцитов. Но одно не всегда совпадает со вторым – спектр активационных маркеров клеток памяти часто приобретают Т-лимфоциты в условиях лимфопении. Широкое распространение получили исследования, проводимые на TCR-трансгенных животных, а это означает, что в них используют Т-клетки с одинаковой структурой TCR и в фокусе внимания исследователей находятся лишь эпигенетические особенности клеток памяти [7]. В какой мере функциональные особенности клеток памяти определяются их генетикой (Т-клеточными рецепторами), остается неясным.

Ранее мы нашли эффективный способ вызывать селективный ответ клеток памяти, специфичных к аллогенным молекулам МНС класса I без сопутствующей активации и вовлечения в ответ клонов наивных Т-лимфоцитов [24]. Для этого мы использовали смешанную культуру лимфоцитов животных, предварительно иммунизированных клетками аллогенных опухолей, в качестве отвечающих Т-лимфоцитов и аллогенные спленоциты, убитые острым тепловым шоком (45°C, 1 ч), в качестве стимулирующих клеток. Мы показали, что в такой экспериментальной системе избирательно пролиферируют CD8-Т-клетки памяти, специфичные к аллогенной молекуле МНС класса I и способные распознавать ее мутантные формы [25, 26]. Этот простой методический подход позволил получить клоны и Т-клеточные гибридомы клеток памяти, что в свою очередь открыло путь к молекулярной идентификации и клонированию их рецепторов [27]. Следующим нашим шагом стало получение животных с трансгенной экспрессией отдельных цепей TCR [6]. В силу полного или частичного (функционального) аллельного исключения α- и β-цепей TCR репертуар Т-клеток у таких животных оказывается в различной степени суженным, что дает возможность исследовать влияние индивидуальных цепей TCR на проявление широкого ряда феноменов иммунитета – таких как внутритимусная селекция Т-лимфоцитов, их выживание на периферии, аллогенное распознавание, аутоиммунитет и формирование Т-клеток памяти [7, 28].

Мы изучали последствия экспрессии трансгенов α- и β-цепей TCR Т-гибридомы клеток памяти, клониро-

ванной нами ранее. При исследовании тимусов трансгенных мышей мы не обнаружили нарушений в развитии Т-клеток, вызванных экспрессией трансгена. После прохождения внутритимусной селекции CD4⁺- и CD8⁺-лимфоциты, экспрессирующие трансген, выходят на периферию, успешно там рециркулируют и их нормальное соотношение не нарушается [7].

Экспрессия α -цепей не подвержена аллельному исключению и один Т-лимфоцит способен экспрессировать два TCR, если перестройка α -локусов на обеих хромосомах будет продуктивной.

В силу того, что обе цепи TCR формируют единый антиген-распознающий интерфейс, мы ожидали, что раздельный трансгенез α - и β -цепей TCR клеток памяти приведет к утрате способности трансгенных рецепторов к распознаванию исходного антигена, с которым реагировали клетки памяти – молекулы H-2K^b. Результаты исследования трансгенов α -цепи рецептора клеток памяти, получивших название 1D1a, нас сильно удивили. Хотя мышам 1D1a была перенесена лишь одна α -цепь TCR клеток памяти, они приобрели способность быстро отторгать клетки лимфомы EL4, несущие иммунизирующий антиген, как это происходит у иммунизированных животных, клетки памяти которых уже сформировались. Если мышам дикого типа на это требовалось 10–12 дней, у трансгенных животных практически полное отторжение клеток лимфомы имело место уже к 3–6-му дню. Интерпретировать это можно было одним единственным способом – получалось, что трансгенная α -цепь объединяется в Т-лимфоцитах с их случайно образованными эндогенными β -цепями и диктует им специфичность исходного TCR. А это, в свою очередь, означает, что антиген-распознающий интерфейс может быть сформирован аминокислотными остатками одной лишь α -цепи TCR. По всей видимости, роль β -цепи в этом случае сводится лишь к тому, чтобы сформировать с трансгенной α -цепью гетеродимер TCR, способный к транспорту и закреплению в клеточной мембране. Сложность в нашем случае была в том, что к содержащемуся в TCR 1D1a вариативному сегменту с последовательностью V α 11.3 в мире не создано коммерческих антител. Поэтому, чтобы показать присутствие и функциональность трансгенного белка на поверхности Т-лимфоцита, нам пришлось синтезировать конструкцию, обеспечивающую экспрессию слитого белка 1D1a-GFP, и трансдуцировать ее в активированные Т-лимфоциты [8]. Полученные трансфектанты действительно содержали трансгенную цепь на поверхности, экспрессировали различные эндогенные β -цепи TCR и приобретали способность как убивать клетки EL4 в культуре *in vitro*, так и подавлять рост опухоли при введении мышам с трансплантированной лимфомой EL4. Пролиферативный ответ спленоцитов трансгенных мышей в MLR со стимуляторами C57BL/6 (H-2^b) многократно превосходил таковой у животных дикого типа. Динамика иммунного ответа у трансгенных животных совпадала с его динамикой у иммунизированных животных дикого типа с уже сформированными клетками

памяти. Более того, мы обнаружили, что у трансгенных мышей даже в отсутствие иммунизации в лимфоидных органах обнаруживается достоверно более высокое количество Т-лимфоцитов с фенотипом CD44⁺CD62L⁺, характерным для клеток памяти, что говорит о том, что особенности TCR способны определить фенотип и функции Т-лимфоцита [8]. По всей видимости, ключевая роль в этом принадлежит взаимодействиям TCR с эндогенными комплексами МНС/пептид и их представленностью на путях миграции Т-клеток.

В целом полученные результаты указывали на то, что иммунную память можно перенести интактному организму, используя методики трансгенеза и трансдукции Т-лимфоцитов и, что может быть весьма новым и важным для медицинской и ветеринарной практики, делать это без применения вакцин. Это может быть полезно пациентам, подверженным вакцинофобии, имеющим противопоказания к вакцинации или к тем, кто по тем или иным причинам неспособен к развитию защитного иммунитета в ответ на введение вакцин. Другой областью применения результата может быть экстренное создание иммунной защиты от быстротекущих инфекций. В случае обычного иммунного ответа необходим период размножения антиген-специфических клонов, прежде чем иммунная система справится с атаковавшим ее патогеном. При трансгенезе же пул Т-клеток, специфичных к патогену, присутствует изначально (как у трансгенных животных) или создается искусственно с помощью трансдукции нормальных (нетрансгенных) Т-клеток нормального организма генами, кодирующими TCR. Полученные нами результаты свидетельствуют также о возможности предсуществования клеток памяти до контакта организма с антигеном. Это означает, что первичный иммунный ответ наряду с Т-клетками памяти включает набор Т-клеточных клонов с относительно невысокой специфичностью к патогену и на пике первичного иммунного ответа клетки памяти составляют совсем небольшую его часть. В ходе клональной конкуренции *in vivo* клетки памяти постепенно вытесняют другие типы Т-лимфоцитов из иммунного ответа. Это могло бы служить неплохим объяснением олигоклональности клеток памяти [29]. В этом случае теоретическая основа, описывающая биологию клеток памяти и эффекты вакцинации, потребует существенного пересмотра. В плане парадигмы, господствующей сейчас в иммунологии, предполагается разделение функций врожденного иммунитета – немедленного, но неспецифического, и адаптивного – специфического, но требующего времени для его развития. В развивающихся в трансгенном организме Т-лимфоцитах мы видим пример успешного объединения этих качеств и способности к выполнению функций специфического иммунитета врожденно.

Появление термина «центрический Т-клеточный рецептор»

Ключевые эксперименты, показывающие способность трансгенных мышей 1D1a ускоренно отторгать

клетки лимфомы EL4, были поставлены нами в мае-июне 2014 года. Именно тогда стало ясно, что клонированная нами α -цепь TCR клеток памяти обладает необычной способностью к доминированию над различными β -цепями в ответе на специфический антиген. Почти одновременно с нашими экспериментами, 07.07.2014 в редакцию «The Journal of Immunology» поступила статья группы N. Hirano из Princess Margaret Cancer Centre, University Health Network (Торонто, Канада), где были описаны похожие результаты, полученные на Т-клетках крови человека, трансдуцированных геном α -цепи SIG35 α со специфичностью к пептиду AA27-35, представленному в комбинации с молекулой гистосовместимости HLA-A2. В статье авторы показали, что трансдукция этой α -цепи в Т-лимфоциты человека с разнообразными β -цепями придает им специфичность к этому же антигену. Вместе с тем, различные партнерские β -цепи могли в значительной мере (на 2 порядка) изменять avidность результирующих рецепторов, не оказывая влияния на их специфичность [30]. Именно авторы данной статьи ввели в употребление термины «chain-centricity» (цепецентричность), «chain-centric TCR» (цепецентрический TCR). Для обозначения доминантной цепи такого TCR они ввели, на наш взгляд, менее удачный термин «centric hemichain». В последующих работах авторы показали, что доминантная цепь может диктовать МНС-рестриктированную специфичность без существенного вовлечения партнерской цепи. Они предположили, что cadeiaцентричность может быть использована для оптимизации противоопухолевых ответов – усиления противоопухолевого ответа и ослабления нежелательных перекрестных реакций на посторонние МНС/пептидные комплексы [31]. Путем трансфекции периферических Т-лимфоцитов геном α -цепи SIG35 α со специфичностью к пептиду AA27-35, представленному в комбинации с молекулой гистосовместимости HLA-A2, та же группа ученых обнаружила, что гены β -цепей, с которыми объединяется трансгенная цепь в CD4⁺-Т-клетках, могут являться источником для создания особенно высокоавидных CD8-независимых TCR. Они объясняют это негативной селекцией Т-клеток с такими вариантами β -цепей в ходе внутритимусного развития CD8⁺-Т-клеток [32]. Основываясь на полученных результатах, авторы опубликовали протокол поиска β -цепей с нужными свойствами для дизайна противоопухолевых TCR с требуемой аффинностью [33].

Использование cadeiaцентрических TCR для противодействия инфекционным патогенам

Из экспериментов с трансгенной линией животных стало ясно, что эти животные рождаются с подготовленным иммунитетом к клеткам лимфомы EL4, который убивает опухоль в считанные дни. Логично было предположить, что α -цепи cadeiaцентрических TCR могут быть применены для создания иммунитета против инфекций. Теоретические основания для

этого представлены в обзорах [34, 35]. В качестве таких инфекций были выбраны патогенные микроорганизмы *Salmonella typhimurium* и *Listeria monocytogenes* с внутриклеточной локализацией. Этой цели был подчинен наш проект «Трансген», поддержанный Фондом перспективных исследований. В ходе его выполнения важно было понять, насколько уникален обнаруженный нами рецептор 1D1a. Очевидно, что подход мог бы сработать, если частота таких cadeiaцентрических рецепторов в репертуаре достаточно высока. Поскольку этот подход исключает необходимость молекулярного клонирования β -цепей TCR, а стало быть, получения Т-клеточных клонов, одноклеточного секвенирования или обширного перебора вариантов в поисках необходимой комбинации α - и β -цепей, мы решили использовать NGS-секвенирование α -цепей поликлональных антиген-специфических Т-лимфоцитов, выделенных из культур, стимулированных антигенами *in vitro*, используя методические подходы, описанные Д.М. Чудаковым и соавторами, в модификации, дополненной бар-кодированием для более точного определения частот последовательностей, относящихся к тому или иному клонотипу [36–38]. Такой подход способен многократно ускорить и упростить самую трудоемкую и методически сложную часть работы – поиск TCR с заданной специфичностью, пригодных для адоптивной иммунотерапии. Увеличение частоты определенных клонотипов под воздействием антигенной стимуляции по сравнению с нестимулированными культурами давало нам основание считать такие клонотипы специфичными к стимулирующему антигену. Такие клонотипы отбирали и на основе последовательностей их CDR3-участков клонировали полные последовательности кодирующих кДНК, вставляли в ретровирусные векторы и с помощью ретровирусной трансдукции вводили в лимфоциты мышей. После этого определяли, изменилась ли их реакция на исходный иммунизирующий антиген. Оказалось, что трансдукция примерно 20 % вариантов α -цепей приводит к стимуляции ответов на антиген [39]. Это означает, что трансдукция каждой их таких цепей привела к их синтезу, объединению с эндогенными β -цепями TCR и образованию функциональных cadeiaцентрических TCR, способных к взаимодействию с комплексом пептида патогенного белка с молекулой гистосовместимости.

Наши первые попытки ввести трансдуцированные Т-лимфоциты инфицированным мышам в дозах, отработанных в противоопухолевой системе ($1-20 \cdot 10^6$ на мышь) оказались неудачными – вместо защитного и терапевтического эффектов вводимых клеток мы наблюдали увеличение бактериальной нагрузки в органах-мишенях и даже гибель животных. Поскольку данный эффект наблюдался при введении нетрансдуцированных, но активированных Т-лимфоцитов, мы предположили, что причиной негативного воздействия на организм реципиента является цитокиновый шторм, вызываемый введением активированных Т-лимфоцитов

на фоне инфекции. Его последствия удалось снять, снизив на порядок дозы трансдуцированных клеток, используемых при адоптивном переносе. Как при введении до, так и после инфицирования адоптивный перенос трансдуцированных клеток приводил к снижению бактериальной нагрузки в печени и селезенке на 2–3 порядка [39].

Последствия трансгенеза β -цепей TCR

Из изложенного выше следует, что исследованный нами TCR 1D1-клеток памяти является цепцентрическим. По этой причине мы решили включить в данный обзор сведения, полученные при исследовании функциональных свойств его β -цепи.

В развитии трансгенез β -цепей TCR приводит к подавлению собственных перестроек генов β -цепей и в значительной мере зависит от времени начала экспрессии трансгенной цепи. Используемый нами промотор hCD2 приурочивает начало экспрессии трансгена ко времени начала перестроек генов эндогенных β -цепей. К этому времени присутствует небольшой процент Т-клеток, у которых перестройка собственных генов β -цепей уже прошла, и экспрессия трансгена в них подавляется. В итоге репертуар Т-клеток трансгенного организма состоит из двух частей – 10–20 % Т-клеток, экспрессирующих гены эндогенных, случайным образом перестроенных β -цепей и 80–90 % Т-клеток, экспрессирующих трансгенную β -цепь. Одной из основных задач нашего исследования была оценка взаимосвязи структуры Т-клеточного рецептора с фенотипическими особенностями Т-лимфоцитов, так как неясно, в какой мере они определяются структурой TCR. Важно было выяснить, влияет ли экспрессия трансгенной β -цепи TCR клеток памяти на поверхностный активационный фенотип Т-клеток. При цитофлуориметрическом анализе субпопуляции наивных Т-клеток, эффекторов и Т-клеток памяти мыши обычно идентифицируют, основываясь на экспрессии маркеров CD44 и CD62L. При этом фенотип CD44-CD62L⁺ характеризует наивные Т-клетки, CD44⁺CD62L⁺ – центральные клетки памяти (central memory cells) и CD44⁺CD62L⁻ – эффекторные клетки памяти (effector memory cells). Цитофлуориметрический анализ экспрессии этих маркеров Т-клетками селезенки созданных нами мышей трансгенной линии показал выраженное снижение доли Т-клеток с фенотипом активированных клеток и увеличение доли клеток с фенотипом наивных Т-лимфоцитов. Таким образом, мы установили, что баланс субпопуляций наивных и активированных Т-клеток может меняться под воздействием экспрессии трансгена β -цепи TCR. Самым интересным открытием этой работы стало то, что Т-лимфоциты трансгенных животных, экспрессирующие эндогенные цепи TCR, приобретают фенотип активированных Т-клеток, что обычно имеет место в условиях лимфопении, вызванной облучением или воздействием цитостатиков [7, 40, 41]. Это наблюдение

позволило нам предположить, что в отсутствие иммунизации активационный фенотип Т-лимфоцитов может зависеть от успешности их конкуренции за эндогенные МНС/пептидные комплексы. Очевидно, что такая конкуренция ослабевает в условиях лимфопении и избыток эндогенных МНС/пептидных комплексов даст Т-лимфоцитам возможность к более частому взаимодействию с ними и приобретению фенотипа активированных Т-лимфоцитов. У трансгенных же животных две части репертуара (с трансгенными и нормально перестроенными TCR) оказываются в различных условиях. Трансген β -цепи TCR существенно снижает разнообразие специфичностей, распознаваемых Т-лимфоцитами с трансгенными β -цепями и приводит к усилению их конкуренции за взаимодействие с эндогенными комплексами МНС/пептид, что, в свою очередь, приводит к приобретению Т-лимфоцитами фенотипа наивных клеток. Малая же часть Т-лимфоцитов с эндогенно перестроенными генами β -цепей оказывается в ситуации искусственного избытка эндогенных комплексов, с которыми они могут взаимодействовать, и поэтому приобретает фенотип активированных клеток и клеток памяти. Иммунизация посторонним антигеном приводит к увеличению числа комплексов МНС/пептид, с которыми способны взаимодействовать специфичные к ним Т-лимфоциты, и в результате они приобретают фенотип активированных клеток и клеток памяти, как и в условиях лимфопении. Если это действительно так, то приобретение Т-клетками фенотипа активированных клеток в ответ на иммунизацию антигеном следует рассматривать как эпифеномен их гомеостатических взаимодействий со «своими» комплексами МНС/пептид. В любом случае, очевидно, что полученные нами результаты свидетельствуют о наличии тесной взаимосвязи между особенностями структуры Т-клеточных рецепторов и поверхностным активационным фенотипом отдельных Т-клеток. Такая перестройка репертуара у трансгенов по β -цепям TCR оказывается фатальной для успешного распознавания аллогенных молекул гистосовместимости – у обеих полученных нами трансгенных линий животных присутствовали дефекты в распознавании молекул гистосовместимости аллогенных опухолей [42]. По всей видимости, причиной этому служит аллельное исключение, правилам которого подчинена экспрессия β -цепей TCR. У полученных нами мышей 1D1bFM на генетической основе линии R101 можно наблюдать все три фазы взаимодействия опухоли с иммунной системой хозяина – элиминацию, равновесие и ускользание от контроля со стороны иммунной системы, тогда как у мышей дикого типа можно наблюдать только фазу элиминации. Во всяком случае, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что непреходимой пропасти между трансплантационным и противоопухолевым ответами не существует. По всей видимости, мы получили новую перспективную биологическую модель,

пригодную для изучения биологии противоопухолевого иммунного ответа и поиска способов его модуляции. Недавно эта модель была использована нами для демонстрации стимулирующих свойств циклофилина А в противоопухолевом иммунном ответе [43].

Заключение

Результаты наших исследований и данные литературы, представленные в этом обзоре, впервые обобщают сведения о ранее неизвестном свойстве части Т-клеточных рецепторов – цецепентричности, при котором специфичность ТCR к комплексу пептид/МНС определяет лишь одна из его цепей. Это свойство позволяет избежать длительных и трудоемких процедур клонирования Т-лимфоцитов в ходе поиска Т-клеточных рецепторов с нужной специфичностью и использовать высокопроизводительное (NGS) секвенирование поликлональных популяций Т-лимфоцитов для идентификации вариантов цепей ТCR, специфичных к антигену. Поиск среди них цецепентрических ТCR легко осуществить, используя трансдукцию отобранных генов в нормальные Т-лимфоциты с последующей оценкой приобретения ими нужной специфичности. Как оказалось, цецепентрические рецепторы в репертуаре клеток памяти не редкость и встречаются с частотой около 20 %, что делает вполне возможным их практическое использование.

В настоящее время наряду с химерными антигенными рецепторами (CAR-T) трансгенные ТCR используют, главным образом, в экспериментальной и клинической онкологии для того, чтобы осуществить специфическую иммунную атаку на опухолевые клетки. С этой целью в Т-лимфоциты экспериментальных животных или человека вводят гены ТCR со специфичностью к тому или иному опухолеассоциированному антигену, а затем модифицированные лимфоциты возвращают в организм больного. В этих областях адекватный выбор мишени является ключом к успеху адоптивной иммунотерапии [44–45]. С введением в практику методов NGS-секвенирования стало возможным идентифицировать не только опухолеассоциированные антигены, но и создаваемые мутациями опухолеспецифические (неоантигены). Оперативность идентификации ТCR, способных их распознать, приобретает в этих условиях особое значение – впервые появилась возможность персонализации проводимой терапии [46]. Следует отметить, что эндогенные ТCR зачастую становятся помехой для лечения трансгенными ТCR и химерными антигенными рецепторами, так как создают возможность образования в клетке целого ряда посторонних рецепторов из-за спаривания трансгенных цепей с эндогенными, что приводит к существенному снижению интенсивности генерируемого антиген-специфического сигнала [47, 48]. Очевидно, что цецепентрические рецепторы могли бы в значительной степени снизить остроту этой проблемы, так как в этом случае в донорский лимфоцит вводится лишь одна цепь ТCR, диктующая ему специфичность.

До настоящего времени применение трансгенных ТCR против инфекционных патогенов не практиковалось, так как ему существует сильная альтернатива в виде вакцинации. Вместе с тем, вакцинация срабатывает далеко не сразу – необходимо время для размножения антиген-специфических клонов. У части вакцинируемых не развивается иммунный ответ на вакцину. Случаются, хотя и редко, осложнения, связанные с аллергическими реакциями, ослабленным иммунитетом пациента или эффектами антителозависимого усиления проникновения патогена в клетки (ADE). Следует ожидать, что использование цецепентрических рецепторов будет ускорять появление защитного эффекта, сразу создавая пул эффекторных клеток со специфичностью к патогену в обход иммунного ответа реципиента. Нельзя исключить и того, что такие рецепторы могут стать приемлемой альтернативой вакцинации для пациентов, страдающих вакцинофобией. Безусловно, в этом направлении далеко не все проблемы нами решены – следует добиться увеличения длительности защитного эффекта (сейчас он исчисляется неделями) и снизить риски развития цитокинового шторма у реципиентов.

В целом описанные результаты свидетельствуют о том, что: 1) вклад α - и β -цепей ТCR в распознавание МНС/пептидных комплексов может быть независимым; 2) трансгенез α -цепей цецепентрических ТCR может быть использован для экстренного создания врожденного специфического иммунитета к антигенам опухолевых клеток и патогенным микроорганизмам; 3) функциональный потенциал клеток памяти может быть сформирован и реализован без первичной иммунизации реципиента; наличие в Т-лимфоците ТCR с соответствующей структурой является достаточным условием возникновения такого потенциала; 4) особенности феноменологии специфических противоопухолевых иммунных ответов могут быть воспроизведены в ответах на трансплантационные антигены опухолевых клеток путем ограничения репертуара Т-лимфоцитов.

Таким образом, используя способность цецепентрических α -цепей ТCR переносить специфичность иммунного ответа интактному реципиенту, можно существенно упростить и ускорить подготовительные этапы к адоптивной иммунотерапии онкологических больных и создавать персонализированные подходы и методики их лечения. Этот подход также может быть использован для создания экстренной иммунной защиты от инфекционных патогенов.

Вклад авторов

Руководство работой над статьей, написание текста обзора – Казанский Д.Б.; обсуждение статьи, подготовка англоязычного варианта резюме – Калинина А.А.; обсуждение статьи, научное редактирование – Замкова М.А.; обсуждение статьи, подбор цитируемой литературы – Хромых Л.М.; обсуждение статьи, подбор цитируемой литературы – Персиянцева Н.А.

■ Литература

1. Ding Y.H., Smith K.J., Garboczi D.N., Utz U., Biddison W.E., Wiley D.C. Two human T cell receptors bind in a similar diagonal mode to the HLA-A2/Tax peptide complex using different TCR amino acids. *Immunity*. 1998; 8 (4): 403–11. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80546-4](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80546-4)
2. Garcia K.C., Degano M., Pease L.R., Huang M., Peterson P.A., Teyton L., Wilson I.A. Structural basis of plasticity in T cell receptor recognition of a self peptide-MHC antigen. *Science*. 1998; 279 (5354): 1166–72. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.279.5354.1166>
3. Reiser J.B., Darnault C., Grégoire C., Mosser T., Mazza G., Kearney A., van der Merwe P.A., Fontecilla-Camps J.C., Housset D., Malissen B. CDR3 loop flexibility contributes to the degeneracy of TCR recognition. *Nat. Immunol.* 2003; 4 (3): 241–7. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni891>
4. Sant'Angelo D.B., Waterbury G., Preston-Hurlburt P., Yoon S.T., Medzhitov R., Hong S.C., Janeway C.A. Jr. The specificity and orientation of a TCR to its peptide-MHC class II ligands. *Immunity*. 1996; 4 (4): 367–76. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(00\)80250-2](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(00)80250-2)
5. Schuhbauer D., Müller B., Mitchison A. Unrepresentative behavior of T cell receptor-transgenic CD4+ T cells upon adoptive transfer: lack of need for priming and an extended booster dose-response. *Immunobiology*. 1996; 195 (2): 152–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1074-7613\(96\)80035-0](https://doi.org/10.1016/s1074-7613(96)80035-0)
6. Звездова Е.С., Силаева Ю.Ю., Вагид М.С., Марюхнич Е.В., Дейкин А.В., Ермолевич Т.Г., Кадулин С.Г., Садчикова Е.Р., Гольдман И.Л., Казанский Д.Б. Создание трансгенных животных, экспрессирующих α - и β -цепи аутореактивного ТCR. *Молекулярная биология*. 2010; 44 (2): 311–22.
7. Силаева Ю.Ю., Калинин А.А., Вагид М.С., Хромых Л.М., Дейкин А.В., Ермолевич Т.Г., Садчикова Е.Р., Гольдман И.Л., Казанский Д.Б. Сокращение пула Т-лимфоцитов с поверхностным фенотипом эффекторов и клеток памяти под воздействием экспрессии трансгена β -цепи Т-клеточного рецептора. *Биохимия*. 2013; 78 (5): 714–26.
8. Zamkova M., Kalinina A., Silaeva Y., Persiyantseva N., Bruter A., Deikin A., Khromykh L., Kazansky D. Dominant role of the α -chain in rejection of tumor cells bearing a specific alloantigen in TCR α transgenic mice and in vitro experiments. *Oncotarget*. 2019; 10 (47): 4808–21. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27093>
9. Miller J.F. Discovering the origins of immunological competence. *Annu. Rev. Immunol.* 1999; 17: 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.17.1.1>
10. Irving B.A., Weiss A. The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell*. 1991; 64 (5): 891–901. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90314-o](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90314-o)
11. Call M.E., Wucherpfennig K.W. Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor-CD3 complex. *Mol. Immunol.* 2004; 40 (18): 1295–305. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2003.11.017>
12. Natarajan K., Jiang J., May N.A., Mage M.G., Boyd L.F., McShan A.C., Sgourakis N.G., Bax A., Margulies D.H. The role of molecular flexibility in antigen presentation and T cell receptor-mediated signaling. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1657. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01657>
13. Ciofani M., Knowles G.C., Wiest D.L., von Boehmer H., Zúñiga-Pflücker J.C. Stage-specific and differential Notch dependency at the alphabeta and gammadelta T lineage bifurcation. *Immunity*. 2006; 25 (1): 105–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.05.010>
14. He X., Janeway C.A. Jr., Levine M., Robinson E., Preston-Hurlburt P., Viret C., Bottomly K. Dual receptor T cells extend the immune repertoire for foreign antigens. *Nat. Immunol.* 2002; 3 (2): 127–34. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni751>
15. Legrand N., Freitas A.A. CD8+ T lymphocytes in double alpha beta TCR transgenic mice. II. Competitive fitness of dual alpha beta TCR CD8+ T lymphocytes in the peripheral pools. *J. Immunol.* 2001; 167 (11): 6158–64. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.11.6158>
16. Szondy Z., Garabuczi É., Tóth K., Kiss B., Köröskényi K. Thymocyte death by neglect: contribution of engulfing macrophages. *Eur. J. Immunol.* 2012; 42 (7): 1662–7.
17. Anderson M.S., Su M.A. Aire and T cell development. *Curr. Opin. Immunol.* 2011; 23 (2): 198–206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.11.007>
18. Van Laethem F., Tikhonova A.N., Pobezinsky L.A., Tai X., Kimura M.Y., Le Saout C., Guinter T.I., Adams A., Sharrow S.O., Bernhardt G., Feigenbaum L., Singer A. Lck availability during thymic selection determines the recognition specificity of the T cell repertoire. *Cell*. 2013; 154 (6): 1326–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.009>
19. Xiong Y., Bosselut R. CD4-CD8 differentiation in the thymus: connecting circuits and building memories. *Curr. Opin. Immunol.* 2012; 24 (2): 139–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.02.002>
20. Побезинский Л.А., Побезинская Е.Л., Терещенко Т.С., Червонский А.В., Казанский Д.Б. Периферический пул Т-клеток CD8+ содержит лимфоциты с антигенспецифическими рецепторами, распознающими сингенные молекулы МНС класса II. *Онтогенез*. 2004; 35 (3): 183–9.
21. Singer A., Adoro S., Park J.H. Lineage fate and intense debate: myths, models and mechanisms of CD4- versus CD8-lineage choice. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8 (10): 788–801. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri2416>
22. Surh C.D., Sprent J. Homeostasis of naive and memory T cells. *Immunity*. 2008; 29 (6): 848–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.11.002>
23. Bains I., Yates A.J., Callard R.E. Heterogeneity in thymic emigrants: implications for thymectomy and immunosenescence. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e49554. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049554>
24. Казанский Д.Б., Петрищев В.Н., Штиль А.А., Чернышева А.Д., Сернова Н.В., Абронина И.Ф., Побезинский Л.А., Агафонова Е.Л. Использование теплового шока антигенпрезентирующих клеток для функционального тестирования аллоспецифических Т-клеток памяти. *Биоорганическая химия*. 1999; 25 (2): 117–28.
25. Казанский Д.Б., Чернышева А.Д., Сернова Н.В., Петрищев В.Н., Побезинский Л.А., Агафонова Е.Л. Природа эпителий, распознаваемых Т-лимфоцитами в аллогенном иммунном ответе. *Молекулярная биология*. 1998; 32 (4): 692–702.
26. Гриненко Т.С., Побезинская Е.Л., Побезинский Л.А., Батурина И.А., Звездова Е.С., Казанский Д.Б. Подавление клетками памяти CD8+ первичного аллогенного ответа. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2005; 140: 545–9.
27. Побезинская Е.Л., Побезинский Л.А., Силаева Ю.Ю., Анфалова Т.В., Хромых Л.М., Терещенко Т.С., Звездова Е.С., Казанский Д.Б. Кросс-реактивность Т-клеточного рецептора клона клеток памяти CD8+, полученного в ответе на иммунизацию клетками аллогенной опухоли. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2004; 137: 563–8.
28. Perkins D.L., Listman J.A., Wang Y., Ho S.S., Finn P.W., Rimm I.J. Differential expression of activation markers during tolerance induction by superantigens in T-cell receptor (beta-chain) transgenic mice. *Cell. Immunol.* 1994; 156 (2): 310–21. DOI: <https://doi.org/10.1006/cimm.1994.1177>
29. Fassò M., Anandasabapathy N., Crawford F., Kappler J., Fathman C.G., Ridgway W.M. T cell receptor (TCR)-mediated repertoire selection and loss of TCR vbeta diversity during the initiation of a CD4(+) T cell response in vivo. *J. Exp. Med.* 2000; 192 (12): 1719–30. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.192.12.1719>
30. Nakatsugawa M., Yamashita Y., Ochi T., Tanaka S., Chamoto K., Guo T., Butler M.O., Hirano N. Specific roles of each TCR hemichain in generating functional chain-centric TCR. *J. Immunol.* 2015; 194 (7): 3487–500. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401717>
31. Ochi T., Nakatsugawa M., Chamoto K., Tanaka S., Yamashita Y., Guo T., Fujiwara H., Yasukawa M., Butler M.O., Hirano N. Optimization of T-cell reactivity by exploiting TCR chain centrality for the purpose of safe and effective antitumor TCR gene therapy. *Cancer Immunol. Res.* 2015; 3 (9): 1070–81. DOI: <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0222>
32. Nakatsugawa M., Rahman M.A., Yamashita Y., Ochi T., Wnuk P., Tanaka S., Chamoto K., Kagoya Y., Saso K., Guo T., Anczurowski M., Butler M.O., Hirano N. CD4(+) and CD8(+) TCR β repertoires possess different potentials to generate extraordinarily high-avidity T cells. *Sci. Rep.* 2016; 6: 23821. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep23821>
33. Guo T., Ochi T., Nakatsugawa M., Kagoya Y., Anczurowski M., Wang C.H., Rahman M.A., Saso K., Butler M.O., Hirano N. Generating de novo antigen-specific human T cell receptors by retroviral transduction of centric hemichain. *J. Vis. Exp.* 2016; 116: 54697. DOI: <https://doi.org/10.3791/54697>
34. Kazansky D.B. Intrathymic selection: new insight into tumor immunology. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 601: 133–44. doi: DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-387-72005-0_14
35. Kazansky D.B. MHC restriction and allogeneic immune responses. *J. Immunotoxicol.* 2008; 5 (4): 369–84. DOI: <https://doi.org/10.1080/15476910802476708>
36. Egorov E.S., Merzlyak E.M., Shelenkov A.A., Britanova O.V., Sharonov G.V., Staroverov D.B., Bolotin D.A., Davydov A.N., Barsova E., Lebedev Y.B., Shugay M., Chudakov D.M. Quantitative profiling of immune repertoires for minor lymphocyte counts using unique molecular identifiers. *J. Immunol.* 2015; 194 (12): 6155–63.
37. Shugay M., Britanova O.V., Merzlyak E.M., Turchaninova M.A., Mamedov I.Z., Tuganbaev T.R., Bolotin D.A., Staroverov D.B., Putintseva E.V., Plevova K., Linnemann C., Shagin D., Pospisilova S., Lukyanov S., Schumacher T.N., Chudakov D.M. Towards error-free profiling of immune repertoires. *Nat. Methods*. 2014; 11 (6): 653–55.
38. Bolotin D.A., Poslavsky S., Mitrophanov I., Shugay M., Mamedov I.Z., Putintseva E.V., Chudakov D.M. MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. *Nat. Methods*. 2015; 2 (5): 380–1.
39. Казанский Д.Б., Хромых Л.М., Калинин А.А., Силаева Ю.Ю., Замкова М.А., Брутер А.В., Персиянцев Н.А., Чикилева И.О., Джолохова

Л.Х., Нестеренко Л.Н., Собянин К.А., Княжанская Е.С. Способ создания противоионфекционной иммунологической защиты к *Salmonella typhimurium* и *Listeria monocytogenes* с помощью трансгенеза Т-лимфоцитов. Патент на изобретение RU 2706554 13.12.2017. Россия, 2019.

40. Митин А.Н., Литвина М.М., Комогорова В.В., Шарова Н.И., Ярилин А.А. Вклад гомеостатической пролиферации и связанных с ней процессов в восстановление популяции периферических Т-клеток в условиях лимфопении, индуцированной облучением. *Иммунология*. 2013; 34 (5): 242–7.

41. Митин А.Н., Литвина М.М., Комогорова В.В., Шевелев С.В., Шарова Н.И., Ярилин А.А. Конверсия фенотипа наивных Т-клеток в Т-клетки памяти при адоптивном переносе сублетально облученным мышам. *Иммунология*. 2014; 35 (4): 225–9.

42. Silaeva Y.Y., Grinenko T.S., Vagida M.S., Kalinina A.A., Khromykh L.M., Kazansky D.B. Immune selection of tumor cells in TCR β -chain transgenic mice. *J. Immunotoxicol.* 2014; 11 (4): 393–9. DOI: <https://doi.org/10.3109/1547691X.2013.861548>

43. Калинина А.А., Силаева Ю.Ю., Казанский Д.Б., Хромых Л.М. Роль рекомбинантного циклофилина А человека в развитии противоопухолевого иммунного ответа. *Acta Naturae*. 2019; 11 (2): 63–7.

■ References

1. Ding Y.H., Smith K.J., Garboczi D.N., Utz U., Biddison W.E., Wiley D.C. Two human T cell receptors bind in a similar diagonal mode to the HLA-A2/Tax peptide complex using different TCR amino acids. *Immunity*. 1998; 8 (4): 403–11. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80546-4](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80546-4)

2. Garcia K.C., Degano M., Pease L.R., Huang M., Peterson P.A., Teyton L., Wilson I.A. Structural basis of plasticity in T cell receptor recognition of a self peptide-MHC antigen. *Science*. 1998; 279 (5354): 1166–72. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.279.5354.1166>

3. Reiser J.B., Darnault C., Grégoire C., Mosser T., Mazza G., Kearney A., van der Merwe P.A., Fontecilla-Camps J.C., Housset D., Malissen B. CDR3 loop flexibility contributes to the degeneracy of TCR recognition. *Nat. Immunol.* 2003; 4 (3): 241–7. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni891>

4. Sant'Angelo D.B., Waterbury G., Preston-Hurlburt P., Yoon S.T., Medzhitov R., Hong S.C., Janeway C.A. Jr. The specificity and orientation of a TCR to its peptide-MHC class II ligands. *Immunity*. 1996; 4 (4): 367–76. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1074-7613\(00\)80250-2](https://doi.org/10.1016/S1074-7613(00)80250-2)

5. Schuhbauer D., Müller B., Mitchison A. Unrepresentative behavior of T cell receptor-transgenic CD4⁺ T cells upon adoptive transfer: lack of need for priming and an extended booster dose-response. *Immunobiology*. 1996; 195 (2): 152–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0171-2985\(96\)80035-0](https://doi.org/10.1016/S0171-2985(96)80035-0)

6. Zvezdova E.S., Silaeva Y.Y., Vagida M.S., Maryukhnich E.V., Deykin A.V., Ermolkevich T.G., Kadulin S.G., Sadchikova E.R., Gol'dman I.L., Kazanskiy D.B. Generation of transgenic animals, expressing alpha- and beta-chains of autoreactive TCR. *Molekulyarnaya biologiya*. 2010; 44 (2): 311–22. (in Russian)

7. Silaeva Y.Y., Kalinina A.A., Vagida M.S., Khromykh L.M., Deykin A.V., Ermolkevich T.G., Sadchikova E.R., Gol'dman I.L., Kazanskiy D.B. Decrease in pool of T lymphocytes with surface phenotypes of effector and central memory cells under influence of TCR transgenic β -chain expression. *Biokhimiya*. 2013; 78 (5): 714–26. (in Russian)

8. Zamkova M., Kalinina A., Silaeva Y., Persiyantseva N., Bruter A., Deikin A., Khromykh L., Kazansky D. Dominant role of the α -chain in rejection of tumor cells bearing a specific alloantigen in TCR α transgenic mice and in vitro experiments. *Oncotarget*. 2019; 10 (47): 4808–21. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27093>

9. Miller J.F. Discovering the origins of immunological competence. *Annu. Rev. Immunol.* 1999; 17: 1–17. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.17.1.1>

10. Irving B.A., Weiss A. The cytoplasmic domain of the T cell receptor zeta chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways. *Cell*. 1991; 64 (5): 891–901. DOI: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(91\)90314-0](https://doi.org/10.1016/0092-8674(91)90314-0)

11. Call M.E., Wucherpfennig K.W. Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor-CD3 complex. *Mol. Immunol.* 2004; 40 (18): 1295–305. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2003.11.017>

12. Natarajan K., Jiang J., May N.A., Mage M.G., Boyd L.F., McShan A.C., Sgourakis N.G., Bax A., Margulies D.H. The role of molecular flexibility in antigen presentation and T cell receptor-mediated signaling. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1657. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01657>

13. Ciofani M., Knowles G.C., Wiest D.L., von Boehmer H., Zúñiga-Pflücker J.C. Stage-specific and differential Notch dependency at the alphabeta and gammadelta T lineage bifurcation. *Immunity*. 2006; 25 (1): 105–16. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2006.05.010>

14. He X., Janeway C.A. Jr., Levine M., Robinson E., Preston-Hurlburt P., Viret C., Bottomly K. Dual receptor T cells extend the immune repertoire

44. Киселевский М.В., Чикилева И.О., Ситдикова С.М., Власенко Р.Я., Караулов А.В. Перспективы применения генетически модифицированных лимфоцитов с химерным Т-клеточным рецептором (CAR-Т-клеток) для терапии солидных опухолей. *Иммунология*. 2019; 40 (4): 48–55.

45. Rosenberg S.A., Restifo N.P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science*. 2015; 348 (6230): 62–8. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaa4967>

46. Yamamoto T.N., Kishton R.J., Restifo N.P. Developing neoantigen-targeted T cell-based treatments for solid tumors. *Nat. Med.* 2019; 25 (10): 1488–99. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0596-y>

47. Yang Y., Kohler M.E., Chien C.D., Sauter C.T., Jacoby E., Yan C., Hu Y., Wanhainen K., Qin H., Fry T.J. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance. *Sci. Transl. Med.* 2017; 9 (417): eaag1209. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag1209>

48. Blichfeldt E., Munthe L.A., Røtnes J.S., Bogen B. Dual T cell receptor T cells have a decreased sensitivity to physiological ligands due to reduced density of each T cell receptor. *Eur. J. Immunol.* 1996; 26 (12): 2876–84. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.1830261211>

for foreign antigens. *Nat. Immunol.* 2002; 3 (2): 127–34. DOI: <https://doi.org/10.1038/ni751>

15. Legrand N., Freitas A.A. CD8⁺ T lymphocytes in double alpha beta TCR transgenic mice. II. Competitive fitness of dual alpha beta TCR CD8⁺ T lymphocytes in the peripheral pools. *J. Immunol.* 2001; 167 (11): 6158–64. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.11.6158>

16. Szondy Z., Garabuczi É., Tóth K., Kiss B., Köröskényi K. Thymocyte death by neglect: contribution of engulfing macrophages. *Eur. J. Immunol.* 2012; 42 (7): 1662–7.

17. Anderson M.S., Su M.A. Aire and T cell development. *Curr. Opin. Immunol.* 2011; 23 (2): 198–206. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2010.11.007>

18. Van Laethem F., Tikhonova A.N., Pobezinskiy L.A., Tai X., Kimura M.Y., Le Saout C., Guinter T.I., Adams A., Sharrow S.O., Bernhardt G., Feigenbaum L., Singer A. Lck availability during thymic selection determines the recognition specificity of the T cell repertoire. *Cell*. 2013; 154 (6): 1326–41. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.08.009>

19. Xiong Y., Bosselut R. CD4-CD8 differentiation in the thymus: connecting circuits and building memories. *Curr. Opin. Immunol.* 2012; 24 (2): 139–45. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2012.02.002>

20. Pobezinskiy L.A., Pobezinskaya E.L., Tereshchenko T.S., Chervonskiy A.V., Kazanskiy D.B. Peripheral pool of CD8⁺ T-cells contains lymphocytes with antigen-specific receptors that recognize syngeneic MHC class II molecules. *Ontogenez*. 2004; 35 (3): 183–9. (in Russian)

21. Singer A., Adoro S., Park J.H. Lineage fate and intense debate: myths, models and mechanisms of CD4- versus CD8-lineage choice. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8 (10): 788–801. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri2416>

22. Surh C.D., Sprent J. Homeostasis of naive and memory T cells. *Immunity*. 2008; 29 (6): 848–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2008.11.002>

23. Bains I., Yates A.J., Callard R.E. Heterogeneity in thymic emigrants: implications for thymectomy and immunosenescence. *PLoS One*. 2013; 8 (2): e49554. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049554>

24. Kazanskiy D.B., Petrishchev V.N., Shtil' A.A., Chernysheva A. D., Sernova N.V., Abronina I.F., Pobezinskiy L.A., Agafonova E.L. Heat shock of antigen-presenting cells as a method for functional testing of the cells of allo-specific memory. *Bioorganicheskaya khimiya*. 1999; 25 (2): 117–28. (in Russian)

25. Kazanskiy D.B., Chernysheva A.D., Sernova N.V., Petrishchev V.N., Pobezinskiy L.A., Agafonova E.L., Chervonskiy A.V. The nature of epitopes, recognized by T-lymphocytes in the allogeneic immune response. *Molekulyarnaya biologiya*. 1998; 32 (4): 692–702. (in Russian)

26. Grinenko T.S., Pobezinskaya E.L., Pobezinskiy L.A., Baturina I.A., Zvezdova E.S., Kazanskiy D.B. Suppression of primary allogeneic response by CD8⁺ memory cells. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2005; 140: 545–9. (in Russian)

27. Pobezinskaya E.L., Pobezinskiy L.A., Silaeva Y.Y., Anfalova T.V., Khromykh L.M., Tereshchenko T.S., Zvezdova E.S., Kazanskiy D.B. Cross reactivity of T cell receptor on memory CD8⁺ cells isolated after immunization with allogeneic tumor cells. *Byulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny*. 2004; 137: 563–8. (in Russian)

28. Perkins D.L., Listman J.A., Wang Y., Ho S.S., Finn P.W., Rimm I.J. Differential expression of activation markers during tolerance induction by superantigens in T-cell receptor (beta-chain) transgenic mice. *Cell. Immunol.* 1994; 156 (2): 310–21. DOI: <https://doi.org/10.1006/cimm.1994.1177>

29. Fassò M., Anandasabapathy N., Crawford F., Kappler J., Fathman C.G., Ridgway W.M. T cell receptor (TCR)-mediated repertoire selection and loss of TCR β diversity during the initiation of a CD4(+) T cell response in

vivo. *J. Exp. Med.* 2000; 192 (12): 1719–30. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.192.12.1719>

30. Nakatsugawa M., Yamashita Y., Ochi T., Tanaka S., Chamoto K., Guo T., Butler M.O., Hirano N. Specific roles of each TCR hemichain in generating functional chain-centric TCR. *J. Immunol.* 2015; 194 (7): 3487–500. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1401717>

31. Ochi T., Nakatsugawa M., Chamoto K., Tanaka S., Yamashita Y., Guo T., Fujiwara H., Yasukawa M., Butler M.O., Hirano N. Optimization of T-cell reactivity by exploiting TCR chain centrality for the purpose of safe and effective antitumor TCR gene therapy. *Cancer Immunol. Res.* 2015; 3 (9): 1070–81. DOI: <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-14-0222>

32. Nakatsugawa M., Rahman M.A., Yamashita Y., Ochi T., Wnuk P., Tanaka S., Chamoto K., Kagoya Y., Saso K., Guo T., Anczurowski M., Butler M.O., Hirano N. CD4(+) and CD8(+) TCR β repertoires possess different potentials to generate extraordinarily high-avidity T cells. *Sci. Rep.* 2016; 6: 23821. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep23821>

33. Guo T., Ochi T., Nakatsugawa M., Kagoya Y., Anczurowski M., Wang C.H., Rahman M.A., Saso K., Butler M.O., Hirano N. Generating de novo antigen-specific human T cell receptors by retroviral transduction of centric hemichain. *J. Vis. Exp.* 2016; 116: 54697. DOI: <https://doi.org/10.3791/54697>

34. Kazansky D.B. Intrathymic selection: new insight into tumor immunology. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 601: 133–44. doi: DOI: https://doi.org/10.1007/978-0-387-72005-0_14

35. Kazansky D.B. MHC restriction and allogeneic immune responses. *J. Immunotoxicol.* 2008; 5 (4): 369–84. DOI: <https://doi.org/10.1080/15476910802476708>

36. Egorov E.S., Merzlyak E.M., Shelenkov A.A., Britanova O.V., Sharonov G.V., Staroverov D.B., Bolotin D.A., Davydov A.N., Barsova E., Lebedev Y.B., Shugay M., Chudakov D.M. Quantitative profiling of immune repertoires for minor lymphocyte counts using unique molecular identifiers. *J. Immunol.* 2015; 194 (12): 6155–63.

37. Shugay M., Britanova O.V., Merzlyak E.M., Turchaninova M.A., Mamedov I.Z., Tuganbaev T.R., Bolotin D.A., Staroverov D.B., Putintseva E.V., Plevova K., Linnemann C., Shagin D., Pospisilova S., Lukyanov S., Schumacher T.N., Chudakov D.M. Towards error-free profiling of immune repertoires. *Nat. Methods.* 2014; 11 (6): 653–55.

38. Bolotin D.A., Poslavsky S., Mitrophanov I., Shugay M., Mamedov I.Z., Putintseva E.V., Chudakov D.M. MiXCR: software for comprehensive adaptive immunity profiling. *Nat. Methods.* 2015; 2 (5): 380–1.

39. Kazanskiy D.B., Khromykh L.M., Kalinina A.A., Silaeva Yu.Yu., Zamkova M.A., Bruter A.V., Persiyantseva N.A., Chikileva I.O., Dzholokhava L.K., Nesterenko L.N., Sobyatin K.A., Knyazhanskaya E.S. Method for creating anti-infectious immunological protection against *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* using transgenesis of T-lymphocytes. Patent No. RU 2706554. Russia, 2019. (in Russian)

40. Mitin A.N., Litvina M.M., Komogorova V.V., Sharova N.I., Yarin A.A. Contribution of homeostatic proliferation and related processes to restoration of peripheral T cell population in irradiation induced lymphopenia. *Immunologiya.* 2013; 34 (5): 242–7. (in Russian)

41. Mitin A.N., Litvina M.M., Komogorova V.V., Shevelev S.V., Sharova N.I., Yarin A.A. Phenotypic conversion of naive T-cells in central memory T-cells after adoptive transfer to sublethally irradiated mice. *Immunologiya.* 2014; 35 (4): 225–9. (in Russian)

42. Silaeva Y.Y., Grinenko T.S., Vagida M.S., Kalinina A.A., Khromykh L.M., Kazansky D.B. Immune selection of tumor cells in TCR β -chain transgenic mice. *J. Immunotoxicol.* 2014; 11 (4): 393–9. DOI: <https://doi.org/10.3109/1547691X.2013.861548>

43. Kalinina A.A., Silaeva Y.Y., Kazanskiy D.B., Khromykh L.M. The Role of Recombinant Human Cyclophilin A in the Antitumor Immune Response. *Acta Naturae.* 2019; 11 (2): 63–7. DOI: <https://doi.org/10.32607/20758251-2019-11-2-63-67> (in Russian)

44. Kiselevskiy M.V., Chikileva I.O., Sitdikova S.M., Vlasenko R.Ya., Karaulov A.V. Prospectives of application of the genetically modified lymphocytes with chimeric T-cell receptor (CAR-T-cells) for the therapy of solid tumors. *Immunologiya.* 2019; 40 (4): 48–55. (in Russian)

45. Rosenberg S.A., Restifo N.P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science.* 2015; 348 (6230): 62–8. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaa4967>

46. Yamamoto T.N., Kishton R.J., Restifo N.P. Developing neoantigen-targeted T cell-based treatments for solid tumors. *Nat. Med.* 2019; 25 (10): 1488–99. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0596-y>

47. Yang Y., Kohler M.E., Chien C.D., Sauter C.T., Jacoby E., Yan C., Hu Y., Wanhainen K., Qin H., Fry T.J. TCR engagement negatively affects CD8 but not CD4 CAR T cell expansion and leukemic clearance. *Sci. Transl. Med.* 2017; 9 (417): eaag1209. DOI: <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aag1209>

48. Blichfeldt E., Munthe L.A., Røtnes J.S., Bogen B. Dual T cell receptor T cells have a decreased sensitivity to physiological ligands due to reduced density of each T cell receptor. *Eur. J. Immunol.* 1996; 26 (12): 2876–84. DOI: <https://doi.org/10.1002/eji.1830261211>

Сведения об авторах

Казанский Дмитрий Борисович – д.б.н., проф., заведующий лабораторией механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; Москва, Российская Федерация; e-mail: kazansky1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4179-8421>

Калинина Анастасия Андреевна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; Москва, Российская Федерация; e-mail: aakalinina89@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-6912-5579>

Замкова Мария Анатольевна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; Москва, Российская Федерация; e-mail: zamkovam@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4687-7444>

Хромых Людмила Менделевна – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; Москва, Российская Федерация; e-mail: lkhromykh@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5793-0271>

Персиянцева Надежда Александровна – к.б.н., научный сотрудник лаборатории механизмов регуляции иммунитета НИИ канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Блохина» Минздрава России; Москва, Российская Федерация; e-mail: nadushka99@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2097-5986>

Authors' information

Dmitry B. Kazansky – Dr.Sci, Prof., Head of Laboratory of Regulatory Mechanisms in Immunity, Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: kazansky1@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4179-8421>

Anastasiya A. Kalinina – PhD, Researcher at the Laboratory of Regulatory Mechanisms in Immunity, Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: aakalinina89@gmail.com; <http://orcid.org/0000-0002-6912-5579>

Maria A. Zamkova – Researcher at the Laboratory of Regulatory Mechanisms in Immunity, Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: zamkovam@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-4687-7444>

Lyudmila M. Khromykh – PhD, Leader Researcher at the Laboratory of Regulatory Mechanisms in Immunity, Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: lkhromykh@list.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5793-0271>

Nadezhda A. Persiyantseva – PhD, Researcher at the Laboratory of Regulatory Mechanisms in Immunity, Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation; e-mail: nadushka99@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0002-2097-5986>