

ЭКСПРЕССИЯ TIM-3 НА ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ МОНОЦИТАРНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Черных Е.Р.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

Резюме. Ингибиторный чекпойнт-рецептор TIM-3 (T cell immunoglobulin domain and mucin domain-containing molecule-3), являющийся одним из важнейших рецепторов, регулирующих реакции клеточного иммунитета, был идентифицирован как рецептор негативной регуляции Т-клеток. Исследования последнего времени продемонстрировали, что TIM-3 экспрессируется на клетках врожденного иммунитета, в том числе и на дендритных клетках (ДК), причем даже на более высоком уровне по сравнению с Т-клетками. Значительная часть ДК в зоне опухолевого микроокружения имеет моноцитарное происхождение. У человека моделями для изучения таких ДК *in vitro* являются культуры ДК, генерированные из моноцитов в присутствии ростовых факторов. Настоящее исследование было направлено на изучение экспрессии TIM-3 в IFN α -индуцированных ДК моноцитарного происхождения (ИФН-ДК), а также влияния активации ДК на экспрессию TIM-3. ДК генерировали путем культивирования прилипающей фракции мононуклеарных клеток здоровых доноров в течение 4 суток в присутствии GM-CSF и IFN α с последующим созреванием в течение 24 ч с ЛПС. В качестве активационного стимула в культуры интактных ИФН-ДК на этапе созревания совместно с ЛПС добавляли препарат на основе двуцепочечной ДНК человека (dsDNA, 5 мкг/мл). Уровень экспрессии мембранной формы TIM-3 определяли методом проточной цитофлюориметрии, уровень экспрессии мРНК TIM-3 – методом RT-PCR в режиме реального времени с обратной транскрипцией.

Получены данные о том, что интактные ИФН-ДК доноров на высоком уровне экспрессировали мембранную форму TIM-3 (более 70% клеток). Добавление ЛПС в качестве созревающего стимула снижало почти в два раза экспрессию TIM-3 ($p_w < 0,05$), не влияя при этом на экспрессию мРНК HAVCR2/TIM-3. Экзогенная dsDNA (совместно с ЛПС) увеличивала более чем в три раза экспрессию мРНК HAVCR2/TIM-3 ($p_w = 0,05$) на фоне снижения количества TIM-3⁺ДК ($p_w = 0,003$), что свидетельствует о наличии механизмов, поддерживающих экспрессию данного ингибиторного чекпойнт-рецептора в условиях активации ДК.

Дальнейшие исследования регуляции экспрессии TIM-3 дендритными клетками моноцитарного происхождения позволят расширить представления о биологической значимости ингибиторных рецепторов на ДК с точки зрения иммунного ответа, а также в перспективе повысить эффективность уже существующих подходов в лечении опухоли с помощью ИФН-ДК и ингибиторов чекпойнт-молекул.

Ключевые слова: дендритные клетки, чекпойнт-молекулы, TIM-3, IFN α , липополисахарид, двуцепочечная ДНК

Адрес для переписки:

Тыринова Тамара Викторовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 228-21-01.
E-mail: tyrinova@bk.ru

Address for correspondence:

Tamara V. Tyrinova
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
14 Yadrintsevskaya St
Novosibirsk
630099 Russian Federation
Phone: +7 (383) 228-21-01.
E-mail: tyrinova@bk.ru

Образец цитирования:

Т.В. Тыринова, О.Ю. Леплина, Е.Р. Черных «Экспрессия
TIM-3 на дендритных клетках моноцитарного
происхождения» // Медицинская иммунология, 2024.
Т. 26, № 5. С. 1115-1120.
doi: 10.15789/1563-0625-TEO-16647

© Тыринова Т.В. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.V. Tyrinova, O.Yu. Leplina, E.R. Chernykh “TIM-3
expression on monocyte-derived dendritic cells”, *Medical
Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2024,
Vol. 26, no. 5, pp. 1115-1120.
doi: 10.15789/1563-0625-TEO-16647

© Tyrinova T.V. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-TEO-16647

TIM-3 EXPRESSION ON MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS

Tyrinova T.V., Leplina O.Yu., Chernykh E.R.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The T cell immunoglobulin domain and mucin domain-containing molecule-3 (TIM-3), an inhibitory checkpoint receptor, has been identified as a crucial regulator of cellular immune responses. TIM-3 has been discovered as a receptor involved in the negative regulation of T cells. Recent studies have demonstrated that TIM-3 is expressed on innate immune cells, including dendritic cells (DCs), even at a higher level than T cells. In the tumor microenvironment, the majority of DCs have a monocytic origin. Models for studying such DCs *in vitro* are DC cultures generated from monocytes in the presence of growth factors. The present study aimed to investigate the expression of TIM-3 in IFN α -induced monocyte-derived DCs (IFN-DCs) and the impact of DC activation on TIM-3 expression. DCs were obtained by culturing the adherent fraction of mononuclear cells from healthy donors for 4 days in the presence of GM-CSF and IFN α , followed by LPS addition for 24 hours. Human double-stranded DNA (dsDNA, 5 μ g/mL) was added as an activation stimulus to intact IFN-DCs at the stage of maturation, along with LPS. Expression of the membrane TIM-3 molecule was determined by flow cytometry, and the level of expression of TIM-3 mRNA – by real-time RT-PCR with reverse transcription. Intact donor IFN-DCs expressed the membrane TIM-3 molecule at a high level (more than 70% of cells). The addition of LPS as a maturation stimulus almost halved the expression of TIM-3 ($p_w < 0.05$) without affecting the expression of HAVCR2/TIM-3 mRNA. Exogenous dsDNA (along with LPS) increased the expression of HAVCR2/TIM-3 mRNA by more than three times ($p_w = 0.05$) with a decrease in the number of TIM-3+DCs ($p_w = 0.003$). Our findings indicate the presence of mechanisms that support expression of this inhibitory checkpoint receptor under conditions of DC activation. Further studies of the regulation of TIM-3 expression by monocyte-derived dendritic cells will expand the understanding of the biological significance of inhibitory receptors on DCs from the point of view of the immune response, as well as, in the future, increase the effectiveness of current approaches in cancer immunotherapy using IFN-DCs and inhibitors of checkpoint molecules.

Keywords: dendritic cells, checkpoint molecules, TIM-3, IFN α , lipopolysaccharide, double-stranded DNA

Работа выполнена при поддержке РФФ (грант № 23-25-00354, <https://rscf.ru/project/23-25-00354/>).

Введение

Среди различных молекул, регулирующих функции иммунных клеток, большое внимание в последние годы привлекают ингибиторные чекпойнт-молекулы [7]. При этом блокирование чекпойнт-молекул сопровождается выраженной активацией эффекторных Т-клеток, что, в свою очередь, стало основой для разработки нового направления в иммунотерапии злокачественных опухолей [4, 9].

Среди ингибиторных чекпойнт-молекул TIM-3 (T cell immunoglobulin domain and mucin domain-containing molecule-3) является одним из важнейших рецепторов, регулирующих реакции клеточного иммунитета. Изначально TIM-3 был идентифицирован как рецептор негативной регуляции, экспрессируемый на активированных Th1-клетках [8]. При различных типах солидных опухолей экспрессия TIM-3 в опухоли-инфильт-

рирующих лимфоцитах сопряжена с плохим прогнозом и низкой выживаемостью [2].

Исследования последнего времени демонстрируют, что TIM-3 экспрессируется на клетках врожденного иммунитета, в том числе и на дендритных клетках (ДК), причем даже на более высоком уровне по сравнению с Т-клетками [3]. Можно предположить, что TIM-3 на ДК выступает в роли негативного регулятора их функциональной активности и обеспечивает проявление толерогенных свойств ДК. Поскольку ДК играют ключевую роль в запуске антиген-специфического иммунного ответа и индукции эффекторных CD8⁺Т-клеток, то TIM-3-позитивные ДК могут быть мишенью при терапии ингибиторами чекпойнт молекул, однако это вопрос остается недостаточно исследованным.

Значительная часть ДК в зоне опухолевого микроокружения имеет моноцитарное происхождение. У человека моделями для изучения таких ДК *in vitro* являются культуры ДК, генерированные из моноцитов в присутствии ростовых факторов. Важную роль в дифференцировке

моноцитарных ДК играют интерфероны I типа и, прежде всего, $IFN\alpha$, которые обеспечивают генерацию ДК (ИФН-ДК) с выраженной способностью индуцировать антиген-специфический иммунный ответ [5]. Это позволяет рассматривать ИФН-ДК в качестве перспективного подхода в иммунотерапии злокачественных опухолей. Однако для ИФН-ДК отсутствуют данные об экспрессии чекпойнт-рецептора TIM-3, который мог бы влиять на дифференцировку и функциональную активность ИФН-ДК. В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение экспрессии TIM-3 на $IFN\alpha$ -индуцированных ДК моноцитарного происхождения, а также влияние активации ДК на экспрессию TIM-3.

Материалы и методы

В исследование было включено 15 здоровых доноров обоего пола. Все исследования проводили после получения письменного информированного согласия.

ДК генерировали путем культивирования адгезивной к пластику фракции мононуклеарных клеток (МНК), выделенных из периферической крови в градиенте плотности фикола-урографина ($\rho = 1,077$), в присутствии GM-CSF (Sigma-Aldrich, США, 40 нг/мл), $IFN\alpha$ (Роферон-А, Roche, Швейцария 1000 Ед/мл) и 2,5% сыворотки крови плодородной коровы (ООО «БиолоТ», Санкт-Петербург) при 37 °С в CO_2 -инкубаторе при 5% CO_2 в течение 4 суток. Для индукции созревания на 4-е сутки вносили липополисахарид (ЛПС *E. coli* 0114: B4, 10 мкг/мл) и продолжали культивировать в течение 24 ч. Контрольными культурами являлись интактные ДК без добавления ЛПС (5-суточные культуры). В отдельной серии экспериментов в культуры ДК доноров совместно с ЛПС добавляли препарат на основе двуцепочечной ДНК человека (dsDNA, 5 мкг/мл).

Оценку экспрессии мембранной формы TIM-3 на ДК проводили методом проточной цитофлуориметрии (BD FACSCanto™, США) с использованием флуорохром-конъюгированных моноклональных анти-HLA-DR (PerCP; BD PharMingen, США) и анти-TIM-3 (Pe; BioLegend, США) антител. В качестве негативного контроля использовали изотипические антитела, конъюгированные с аналогичными флуорохромами. Процент позитивных клеток, экспрессирующих TIM-3, рассчитывали на 10 000 клеток в регионе HLA-DR-позитивных больших гранулярных лимфоцитов. Уровень экспрессии TIM-3 выражали в интенсивности флуоресценции моноклональных антител, связавшихся с соответствующим антигеном (MFI).

Для определения экспрессии мРНК TIM-3 применяли метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с обратной транскрипцией (RT-PCR). Праймеры к мРНК гена *HAVCR2/TIM-3* были подобраны с помощью онлайн-ресурса Primer-BLAST и синтезированы фирмой ООО «БИОССЕТ» (г. Новосибирск, Россия). В качестве референсного гена использовали ген «домашнего хозяйства» рибосомального белка P0 *RPLP0*.

Последовательности праймеров, использованных при проведении количественных ПЦР в реальном времени (for – прямой праймер, rev – обратный праймер):

TIM-3-for 5'-AATTGAACTGGGACCTGCACT-3'
TIM-3-rev 5'-ATGCTTTCACCTCAGCACCC-3'
RPLP0-for 5'-CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC-3'
RPLP0-rev 5'-CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA-3'

Условия реакции включали первоначальную денатурацию (95 °С) и последующие 40 циклов репликации (95 °С 15 сек, 58 °С 30 сек, 72 °С 60 сек). Расчет относительной экспрессии гена *HAVCR2/TIM-3* проводили методом сравнения пороговых уровней амплификации ($2^{-\Delta\Delta C_t}$), используя *RPLP0* в качестве нормировочного гена; группой контроля были интактные ДК (ДК₀), в которой уровень экспрессии целевого гена *HAVCR2/TIM-3* принимался за 1.

Значения порогового цикла (C_t) рассчитывали как среднее значение триплетов каждого образца.

$$\Delta\Delta C_t(1,2) = (C_t \text{ *HAVCR2/TIM-3*} - C_t \text{ *RPLP0*})_1 - (C_t \text{ *HAVCR2/TIM-3*} - C_t \text{ *RPLP0*})_2,$$

где 1 – стимулированные ДК, 2 – ДК₀.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианы (Me) и значений интерквартильного диапазона (IQR; $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) или в виде средних значений и ошибки средней ($m \pm SE$). Для выявления значимых различий использовали критерий знаков для парных выборок. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Согласно полученным нами данным, в культурах незрелых ИФН-ДК доля TIM-3-позитивных клеток составляла 75,4% (Me; IQR 39,0-89,7%) (рис. 1А).

При добавлении в культуры ДК в качестве дозревающего стимула липополисахарида грамотрицательных бактерий (ЛПС *E. coli*) доля TIM-3+ ИФН-ДК снижалась почти в два раза ($p_w = 0,0006$; $n = 8$; рис. 1А). Кроме того, снижался и уровень экспрессии этой молекулы ($p_w = 0,059$; рис. 1Б).

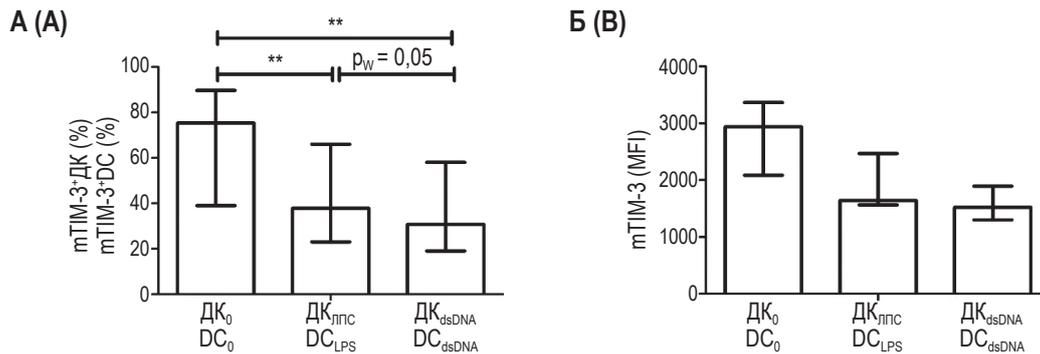


Рисунок 1. Экспрессия мембранной формы TIM-3 на ИФН-ДК доноров

Примечание. Данные представлены в виде медианы и диапазона 25-75% значений (Me; IQR) относительно количества TIM-3-позитивных ИФН-ДК (А) и уровня экспрессии TIM-3 на ИФН-ДК (Б). ДК₀ – интактные ИФН-ДК; ДК_{ЛПС} – ЛПС-стимулированные ИФН-ДК; ДК_{dsDNA} – ИФН-ДК, стимулированные ЛПС и dsDNA (5 мкг/мл). ** – значимость различий $p_w < 0,01$, $n = 6-9$ доноров.

Figure 1. Expression of membrane TIM-3 on donor IFN-DCs

Note. Data are presented as median and range 25-75% values (Me; IQR) of the relative number of TIM-3-positive IFN-DCs (A) and the level of TIM-3 expression on IFN-DCs (B). DC₀, intact IFN-DCs; DC_{LPS}, LPS-stimulated IFN-DCs; DC_{dsDNA}, IFN-DCs stimulated with LPS and dsDNA (5 μ g/mL); **, significance of differences $p_w < 0.01$; $n = 6-9$ donors.

В то же время анализ экспрессии мРНК показал, что в ответ на добавление ЛПС экспрессия гена *HAVCR2/TIM-3* практически не изменялась в большинстве случаев. Так, при сравнительном анализе экспрессии мРНК TIM-3 в культурах интактных и ЛПС-стимулированных ИФН-ДК здоровых доноров была проведена оценка значений пороговых циклов (табл. 1).

Количество пороговых циклов в образцах интактных ДК было сопоставимо и значимо не отличалось от аналогичных показателей в культурах ЛПС-стимулированных ДК ($p_w = 0,21$). Поскольку величина порогового цикла зависит от эффективности амплификации ДНК и обратно коррелирует с исходным количеством копий матрицы, полученные нами результаты могут свидетельствовать о сопоставимом количестве мРНК

TIM-3 в интактных и ЛПС-стимулированных ИФН-ДК.

В отдельной серии экспериментов было изучено влияние активации ИФН-ДК на экспрессию TIM-3. С этой целью в качестве активационного стимула в культуры интактных ИФН-ДК на этапе созревания совместно с ЛПС добавляли экзогенную dsDNA человека. В качестве экзогенной dsDNA использовали зарегистрированный фармакопейный препарат на основе dsDNA человека, представляющий собой смесь фрагментов ДНК, выделенных из плаценты здоровых рожениц, размером от 300 до 6000 п.н., и ранее продемонстрировавший стимулирующее влияние на функциональную активность ИФН-ДК [1, 10].

Согласно полученным нами данным (рис. 1А), в присутствии dsDNA (ИФН-ДК_{ЛПС + dsDNA}) сниже-

ТАБЛИЦА 1. ЗНАЧЕНИЯ ПОРОГОВЫХ ЦИКЛОВ ДЛЯ ГЕНА *HAVCR2/TIM-3* В ИФН-ДК ДОНОРОВ

TABLE 1. VALUES OF THRESHOLD CYCLES FOR THE *HAVCR2/TIM-3* GENE IN IFN-DC DONORS

Анализируемый ген Gene		ИФН-ДК ₀ IFN-DC ₀	ИФН-ДК _{ЛПС} IFN-DC _{LPS}
<i>HAVCR2/TIM-3</i>	Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$)	26,29 (25,97-27,55)	26,62 (25,73-26,91)
	$m \pm SE$	26,52 \pm 0,33	26,47 \pm 0,31
<i>RPLP0</i>	Me ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$)	11,20 (11,16-11,27)	11,23 (11,18-11,30)
	$m \pm SE$	11,27 \pm 0,08	11,26 \pm 0,09

Примечание. В виде медианы (Me), диапазона 25-75% квартильных значений ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$) и средних значений ($m \pm SE$) представлены данные о количестве пороговых циклов экспрессии гена *HAVCR2/TIM-3* и референсного гена *RPLP0* в культурах интактных ИФН-ДК (ИФН-ДК₀) и ЛПС-стимулированных ИФН-ДК (ИФН-ДК_{ЛПС}) здоровых доноров ($n = 9$).

Note. Data on the number of threshold cycles of expression of the *HAVCR2/TIM-3* gene and the reference gene *RPLP0* in cultures of intact IFN-DCs (IFN-DC₀) and LPS-stimulated IFN-DCs (IFN-DC_{LPS}) from healthy donors are presented in the form of median (Me), range of 25-75% quartile values ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$) and average values ($m \pm SE$); $n = 9$.

ние количества ДК, экспрессирующих мембранную форму TIM-3, было еще более выраженным по сравнению с интактными ИФН-ДК (Me 30,7% vs 75,4%; $p_w = 0,003$) и ЛПС-стимулированными ИФН-ДК без добавления dsDNA (ИФН-ДК_{ЛПС}) (Me 30,7% vs 37,8%; $p_w = 0,05$). При этом основные различия проявляясь именно в относительном количестве TIM-3⁺ДК, тогда как общий уровень экспрессии TIM-3 в ЛПС-стимулированных ИФН-ДК, культивируемых в отсутствие и присутствии dsDNA, был сопоставим (MFI Me 1641 vs 1520; $p_w = 0,5$; рис. 1Б).

Анализ экспрессии мРНК показал, что на фоне снижения мембранной формы TIM-3 экзогенная dsDNA человека (совместно с ЛПС) оказывала выраженный стимулирующий эффект (трехкратное увеличение) на экспрессию гена *HAVCR2/TIM-3* по сравнению с ЛПС-стимулированными ИФН-ДК (Me $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 3,1 vs 1.1; $p_w = 0,05$; рис. 2). Для расчета относительного уровня экспрессии гена *HAVCR2/TIM-3* в стимулированных ДК был применен метод сравнения пороговых уровней амплификации ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). При этом уровень экспрессии этого гена в интактных ИФН-ДК был принят за 1.

Заключение

В целом можно заключить, что ДК, генерированные в культуре *in vitro* в присутствии IFN α , на высоком уровне экспрессируют на своей мембране TIM-3, уровень которого снижается при добавлении дозревающих и активационных стимулов. При этом надо отметить, что среди Т-лимфоцитов, согласно данным литературы, доля TIM-3-позитивных клеток значительно меньше [6]. Согласно полученным нами данным, созревание ИФН-ДК в присутствии ЛПС снижает почти в два раза экспрессию мембранной формы TIM-3, что, по-видимому, играет важную роль с точки зрения регуляции иммунного ответа. При этом анализ экспрессии гена *HAVCR2/TIM-3* демонстрирует, что в ответ на добавление ЛПС уровень экспрессии мРНК TIM-3 не изменяется, что может свидетельствовать о сохранении потенциала ДК к продукции TIM-3. В присутствии dsDNA снижение количества ДК, экспрессирующих мембранную форму TIM-3, было еще более выраженным по сравнению с интактными ИФН-ДК (нестимулированными) и ЛПС-стимулированными ИФН-ДК без добавления dsDNA. Характерно, что основные различия проявляясь именно в относительном количестве TIM-3⁺ДК. На фоне снижения экспрессии мембранной TIM-3 на ИФН-ДК экспрессия гена *HAVCR2/TIM-3* в dsDNA-модифицированных

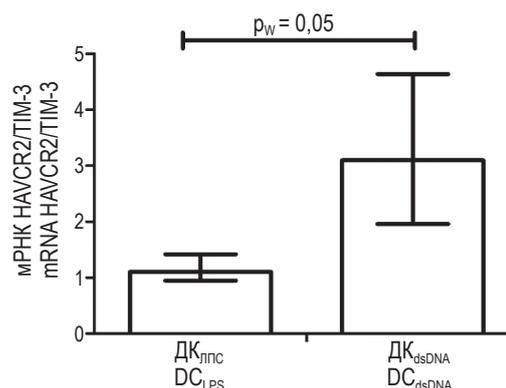


Рисунок 2. Экспрессия мРНК TIM-3 в ИФН-ДК доноров
Примечание. Представлены медиана (Me) и диапазон 25-75% квартильных значений ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) относительного уровня экспрессии мРНК TIM-3 в ЛПС-стимулированных ИФН-ДК доноров без добавления (ДК_{ЛПС}; n = 9) и при добавлении dsDNA (ДК_{dsDNA}; n = 5), нормализованного по методу $2^{-\Delta\Delta Ct}$ с референс-геном RPLP0.

Figure 2. Expression of mRNA TIM-3 in donor IFN-DCs
Note. Data are presented as median and range 25-75% values (Me; IQR) of the expression level of mRNA *HAVCR2/TIM-3* in LPS-stimulated donor IFN-DCs without addition (DC_{LPS}; n = 9) and with addition of dsDNA (DC_{dsDNA}; n = 5), normalized by the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method with the reference gene *RPLP0*.

ИФН-ДК, наоборот, значимо повышалась. Не исключено, что в условиях активации могут также существовать механизмы, которые поддерживают экспрессию ингибиторного чекпойнт-рецептора TIM-3. Однако это предположение требует дополнительных исследований.

Как известно, молекула TIM-3 может присутствовать на поверхности клеток, а также секретироваться в виде растворимой формы после шеддинга мембранной формы при участии ряда конвертаз, в том числе ADAM17/TACE [2]. Созревание ДК сопровождается усилением активности ADAM17/TACE [10], что может, в свою очередь, регулировать экспрессию TIM-3. Учитывая изменения в экспрессии TIM-3 на уровне мРНК и самого белка, не исключено, что в процессе созревания и активации происходит изменение баланса мембранной и растворимой форм TIM-3.

Дальнейшие исследования регуляции экспрессии TIM-3 дендритными клетками моноцитарного происхождения позволит расширить представления о биологической значимости ингибиторных рецепторов на ДК с точки зрения иммунного ответа, а также в перспективе повысить эффективность уже существующих подходов в лечении опухоли с помощью ИФН-ДК и ингибиторов чекпойнт-молекул.

Список литературы / References

1. Alyamkina E.A., Dolgova E.V., Likhacheva A.S., Rogachev V.A., Sebeleva T.E., Nikolin V.P., Popova N.A., Kiseleva E.V., Orishchenko K.E., Sakhno L.V., Gelfgat E.L., Ostanin A.A., Chernykh E.R., Zagrebelniy S.N., Bogachev S.S., Shurdov M.A. Exogenous allogenic fragmented double-stranded DNA is internalized into human dendritic cells and enhances their allostimulatory activity. *Cell. Immunol.*, 2010, Vol. 262, no. 2, pp. 120-126.
2. Bailly C., Thuru X., Goossens L., Goossens J.F. Soluble TIM-3 as a biomarker of progression and therapeutic response in cancers and other of human diseases. *Biochem. Pharmacol.*, 2023, Vol. 209, 115445. doi: 10.1016/J.BCP.2023.115445.
3. de Mingo Pulido Á., Hänggi K., Celias D.P., Gardner A., Li J., Batista-Bittencourt B., Mohamed E., Trillo-Tinoco J., Osunmakinde O., Peña R., Onimus A., Kaisho T., Kaufmann J., McEachern K., Soliman H., Luca V.C., Rodriguez P.C., Yu X., Ruffell B. The inhibitory receptor TIM-3 limits activation of the cGAS-STING pathway in intra-tumoral dendritic cells by suppressing extracellular DNA uptake. *Immunity*, 2021, Vol. 54, pp. 1154-1167.
4. Dyck L., Mills K.H.G. Immune checkpoints and their inhibition in cancer and infectious diseases. *Eur. J. Immunol.*, 2017, Vol. 47, no. 5, pp. 765-779.
5. Lapenta C., Santini S.M., Spada M., Donati S., Urbani F., Accapezzato D., Franceschini D., Andreotti M., Barnaba V., Belardelli F. IFN- α -conditioned dendritic cells are highly efficient in inducing cross-priming CD8⁺ T cells against exogenous viral antigens. *Eur. J. Immunol.*, 2006, Vol. 36, p. 2046-2060.
6. Liu H., Zhi L., Duan N., Su P. Abnormal expression of Tim-3 antigen on peripheral blood T cells is associated with progressive disease in osteosarcoma patients. *FEBS Open Bio*, 2016, Vol. 6, no. 8, pp. 807-815.
7. Liu S., Sun Q., Ren X. Novel strategies for cancer immunotherapy: counter-immunoediting therapy. *J. Hematol. Oncol.*, 2023, Vol. 16, 38. doi: 10.1186/S13045-023-01430-8.
8. Sánchez-Fueyo A., Tian J., Picarella D., Domenig C., Zheng X.X., Sabatos C.A., Manlongat N., Bender O., Kamradt T., Kuchroo V.K., Gutiérrez-Ramos J.-C., Coyle A.J., Strom T.B. Tim-3 inhibits T helper type 1-mediated auto- and alloimmune responses and promotes immunological tolerance. *Nat. Immunol.*, 2003, Vol. 4, no. 11, p. 1093-1101.
9. Sharma P., Hu-Lieskovan S., Wargo J.A., Ribas A. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell*, 2017, Vol. 168, pp. 707-723.
10. Tyrinova T., Leplina O., Mishinov S., Tikhonova M., Dolgova E., Proskurina A., Stupack V., Bogachev S., Ostanin A., Chernykh E. Defective regulation of membrane TNF α expression in dendritic cells of glioblastoma patients leads to the impairment of cytotoxic activity against autologous tumor cells. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, Vol. 21, no. 8, 2898. doi: 10.3390/ijms21082898.

Авторы:

Тыринова Т.В. — д.б.н., ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

Леплина О.Ю. — д.м.н., ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН,
заведующая лабораторией ФГБНУ «Научно-
исследовательский институт фундаментальной
и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Tyrinova T.V., PhD, MD (Biology), Leading Research
Associate, Research Institute of Fundamental and Clinical
Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Leplina O.Yu., PhD, MD (Medicine), Leading Research
Associate, Research Institute of Fundamental and Clinical
Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chernykh E.R., PhD, MD (Medicine), Professor,
Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head
of Laboratory, Research Institute of Fundamental and Clinical
Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 26.03.2024

Отправлена на доработку 27.03.2024

Принята к печати 30.03.2024

Received 26.03.2024

Revision received 27.03.2024

Accepted 30.03.2024