

УДК 616-092

Кросс-презентация антигена макрофагами

Малышев И.Ю.^{1,2}, Кузнецова Л.В.¹, Чернышова О.О.¹, Буданова О.П.², Бахтина Л.Ю.²

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

² Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».

125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

В обзоре рассматриваются механизмы кросс-презентации антигена и особенности этого процесса в макрофагах. Представлено сравнение особенностей кросс-презентации в дендритных клетках и разных фенотипах макрофагов. Описаны пути кросс-презентации – протеасомный и вакуолярный. Протеасомный путь состоит из следующих стадий: 1) захват антигена в фагосому; 2) сохранение антигена в фагосоме; 3) перенос антигена в цитозоль и его расщепление в протеасоме до олигопептидов; 4) перенос олигопептидов в компартменты, содержащие главный комплекс гистосовместимости I типа (major histocompatibility complex I, MHC I); 5) загрузка олигопептида на MHC-I и перенос на поверхность клетки. Вакуолярный путь начинается сходно с протеасомным, но отличается в том, что захваченный антиген не покидает фагосому, а там же расщепляется и нагружается на MHC-I. Макрофаги могут использовать любой из этих путей. Макрофаги, происходящие из моноцитов крови, используют вакуолярный путь, макрофаги красной пульпы селезенки – протеасомный, а перитонеальные – и тот, и другой. Эффективность кросс-презентации макрофагов зависит от его тканевого типа. При разработке методов иммунотерапии, основанной на макрофагах, важно понимать стадии обоих путей кросс-презентации, поскольку каждая из них может рассматриваться как мишень для повышения эффективности кросс-презентации антигена и соответственно, эффективности иммунотерапии рака.

Ключевые слова: макрофаги; кросс-презентация; клеточная иммунотерапия; цитотоксические Т-лимфоциты.

Для цитирования: Малышев И.Ю., Кузнецова Л.В., Чернышова О.О., Буданова О.П., Бахтина Л.Ю. Кросс-презентация антигена макрофагами. *Патогенез* 2021; 19(3): 14-23.

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.14-23

Для корреспонденции: Малышев Игорь Юрьевич; e-mail: iymalyshev1@gmail.com

Финансирование: Обзор поддержан Грантом Госзадания Министерства здравоохранения РФ, Соглашение от 17 декабря 2020 г. № 056-00035-21-00, и грантом Московского государственного медико-стоматологического университета имени А.И. Евдокимова.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Поступила: 24.05.2021.

Antigen cross-presentation by macrophages

Malyshev I.Yu.^{1,2}, Kuznetsova L.V.¹, Chernyshova O.O.¹, Budanova O.P.², Bakhtina L.Yu.²

¹ A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry,
Delegatskaya St. 20, Bldg. 1, Moscow 127473, Russian Federation

² Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Baltiyskaya St. 8, Moscow 125315, Russian Federation

This review focuses on mechanisms of antigen cross-presentation and features of this process in macrophages. Features of the cross-presentation in dendritic cells and in various macrophage phenotypes are compared. The cross-presentation can be the result of either the proteasomal or vacuolar pathway. The proteasomal pathway includes the following stages: 1) antigen capture into the phagosome; 2) antigen preservation in the phagosome; 3) antigen transfer to the cytosol and its cleavage in the proteasome to oligopeptides; 4) oligopeptide transfer into major histocompatibility complex (MHC) I-containing compartments; 5) oligopeptide loading onto the MHC I and transferring it to the cell surface. The vacuolar pathway begins in a similar way as the proteasomal pathway but differs in that the captured antigen does not leave the phagosome, but is cleaved there and loaded onto MHC I. Macrophages can use any of these pathways. Macrophages originating from blood monocytes use the vacuolar pathway; macrophages of the red pulp of the spleen use the proteasomal pathway, and peritoneal macrophages use both. The effectiveness of cross-presentation of macrophages depends on the macrophage tissue type. When developing macrophage-based methods of immunotherapy, it is important to understand the stages of both cross-presentation pathways since each of them can be considered as a target for increasing the efficiency of antigen cross-presentation and, accordingly, the effectiveness of cancer immunotherapy.

Key words: macrophages; cross-presentation; cellular immunotherapy; cytotoxic T lymphocyte.

For citation: Malyshev I.Yu., Kuznetsova L.V., Chernyshova O., Budanova O.P., Bakhtina L.Yu. [Antigen cross-presentation by macrophages]. *Patogenez [Pathogenesis]* 2021; 19(3): 14-23. (in Russian).

DOI: 10.25557/2310-0435.2021.03.14-23

For correspondence: Malyshev Igor Yurievich, e-mail: iymalyshev1@gmail.com

Funding: The review was supported by the grant for the fulfillment of the State task of the Ministry of Health of the Russian Federation of December 17, 2020 #056-00035-21-00 and the grant of A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Accepted: 24.05.2021.

Введение

Существует простая последовательность событий, которая определяет успех иммунной системы в уничтожении опухоли. Это: 1) обнаружение антигена опухолевой клетки; 2) захват опухолевого антигена антиген-презентирующей клеткой (АПК) и выставление антигена на свою поверхность; 3) презентация антигена CD8⁺ Т клеткам и их дифференцировка в цитотоксические Т-клетки (cytotoxic T-lymphocyte, CTL); 4) проникновение CTL в кровоток и доставка к опухоли; 5) проникновение CTL из кровотока в опухоль; 6) распознавание опухолевой клетки рецепторами CTL, и 7) уничтожение опухолевой клетки цитотоксическими продуктами CTL [1]. Методы иммунотерапии рака, как правило, усиливают или воспроизводят ту или иную стадию этой последовательности. Например, вакцины Sipuleucel-T [2], PROSTVAC [3] или ДНК-вакцины [4] повышают способность АПК презентовать антигены рака простаты CD8⁺ Т-клеткам, и благодаря этому усиливают иммунный ответ и увеличивают продолжительность жизни пациентов с раком простаты. Во всех случаях вакцинация была успешна только тогда, когда появлялись CTL. Поскольку образование CTL зависит от того, насколько хорошо АПК представят опухолевый антиген CD8⁺ Т-клеткам, стало очевидно, что процесс антиген-презентации исключительно важен для иммунотерапии рака.

Практически все типы клеток выставляют на свою поверхность определенные участки своих внутриклеточных белков. Выставленный пептид (свой антиген) является маркером принадлежности клетки к данному организму, и поэтому иммунная система не атакует такую клетку. У животных свой антиген выставляют комплексы главной гистосовместимости (Major Histocompatibility Complex, МНС), а у людей – человеческие лейкоцитарные антигены (Human Leukocyte Antigens, HLA). В отличие от всех клеток, дендритные клетки (ДК) и макрофаги могут с помощью МНС-I или HLA выставлять на поверхность не только свои, но и «чужие» пептиды, такие как антигены микробов или опухолевых клеток. Процесс представления чужих антигенов назвали кросс-презентацией, а дендритные клетки и макрофаги – профессиональными АПК. Если АПК, представившая антиген, имеет на своей поверхности костимулирующие молекулы CD80 и CD86 и продуцирует IL-12, она может активировать формирование из CD8⁺ Т-лимфоцитов CTL [5].

Вклад ДК в кросс-презентацию антигена и активацию CD8⁺ Т-клеток хорошо изучен. ДК захватывают антиген из крови и периферических тканей, затем кросс-презентируют его на свою поверхность, мигрируют в лимфоидные органы, и уже там активируют CD8⁺ Т-лимфоциты и образование из них CTL [6].

Макрофаги, также как и ДК, могут кросс-презентировать антиген [7] для активации CD8⁺ Т-лимфоцитов и CD8⁺ Т-лимфоцитов памяти [8]. Отличие между дву-

мя типами АПК состоит в том, что для активации CD8⁺ Т-лимфоцитов ДК должны дойти до лимфатических узлов, и там представить антиген лимфоциту, а макрофаги могут делать это на месте. У макрофагов эффективность кросс-презентации зависит от его тканевого типа. Так, макрофаги селезенки [9, 10] и лимфатических узлов [10, 11] кросс-презентируют антигены или самостоятельно, или передают их ДК. Макрофаги, инфильтрирующие опухоль, хотя и могут кросс-презентировать антиген, но делают это существенно хуже, чем ДК, а из-за утраты костимулирующих молекул CD80 и CD86 и способности продуцировать IL-12 не могут активировать Т-клеточные ответы [12, 13]. Макрофаги, происходящие из моноцитов, кросс-презентируют антиген более эффективно [14], а макрофаги печени [15] и перитонеальные макрофаги менее эффективно, по сравнению с ДК [16, 17].

Изучение кросс-презентации в макрофагах сталкивается с несколькими проблемами. Одна из проблем – технически сложное выделение макрофагов, в связи с тем, что поверхностные маркеры разных клеток могут перекрываться, происходит загрязнение другими типами клеток и удается выделить лишь небольшое количество макрофагов [18].

Другая проблема – использование маркеров активации CD8⁺ Т-лимфоцитов, таких как CD25, CD40, CD44, CD80, CD86, и выделение IFN- γ , IL-2, гранзима А и перфорина [13, 15], наличие контакта между АПК и Т-лимфоцитами [19] и/или пролиферации CD8⁺ Т-лимфоцитов *in vitro* [20] в качестве единственных способов оценки кросс-презентации. Однако, надо иметь в виду, что отсутствие активации Т-клеток не всегда означает отсутствие способности АПК к кросс-презентации. Например, происходящие из асцитных моноцитов макрофаги CD1a⁺ CD16⁺ эффективно презентовали эпитоп MelanA клону LT12 CD8⁺ Т-клеток *in vitro*, но не активировали CD8⁺ Т-клетки, судя по отсутствию пролиферации и продукции гранзима А, перфорина и IFN- γ [13]. Причина была в том, что эти макрофаги лишены костимулирующих молекул CD80 и CD86, и почти не продуцируют IL-12, необходимые для активации CD8⁺ Т-клеток. Механизмы костимуляции обычно более развиты в ДК, чем в макрофагах, и практически отсутствуют в противовоспалительных макрофагах. Использование активации Т-клеток в качестве единственного критерия может привести к ложному представлению об отсутствии кросс-презентации в макрофагах, которые не обеспечивают костимуляцию. Вместе с тем такая кросс-презентация может играть роль, в поддержании иммунной толерантности, как например, это происходит в клетках Купфера и противовоспалительных макрофагах [21]. Поэтому, оценка кросс-презентации макрофагов должна проводиться с большей точностью, например, дополнительно с использованием антител к представленному на АПК антигену [22].

При оценке кросс-презентации макрофагов надо учитывать, что эти клетки чрезвычайно пластичны

и способны приобретать любой фенотип в континууме от М1 провоспалительного и противоопухолевого до М2 противовоспалительного, проопухолевого, ангиогенного и репаративного [23].

Показано, что М1 макрофаги благодаря эффективной кросс-презентации могут реактивировать СТЛ при инфекциях независимо от наличия костимуляторных молекул CD80, CD86 и CD28 [5]. Возможность активации СТЛ без костимуляторных молекул выгодно отличает макрофаги от ДК в контексте развития новых методов иммунотерапии, поскольку известно, что опухоль может блокировать костимуляторные молекулы ДК и таким образом препятствовать формированию СТЛ [24]. Под этим углом зрения возможно, что новой задачей иммунотерапии рака должно стать формирование механизма захвата антигена макрофагами или передачи опухолевого антигена с ДК на М1 макрофаги.

Кросс-презентация антигена М2 макрофагами может быть вовлечена в формирование иммунной толерантности [7] к комменсальным микробам (микробы, сосуществующие с организмом, не причиняя ему вреда) и компонентам пищи. Не исключено, что опухоль, репрограммируя макрофаги на М2 фенотип [25], обеспечивает таким образом иммунную толерантность к своим клеткам.

В этом обзоре мы рассмотрим механизмы кросс-презентации антигена и особенности этого процесса в макрофагах.

Пути и стадии кросс-презентации антигена в профессиональных АПК

Кросс-презентация может осуществляться по протеасомному или вакуолярному пути. Протеасомный путь состоит из следующих стадий: 1) захват антигена в фагосому; 2) сохранение антигена в фагосоме; 3) перенос антигена в цитозоль и его расщепление в протеасоме до олигопептидов; 4) перенос олигопептидов в МНС-I-содержащие компартменты; 5) загрузка олигопептида на МНС-I и перенос на поверхность клетки. Вакуолярный путь начинается, как и протеасомный, но отличается тем, что захваченный антиген расщепляется и нагружается на МНС-I не покидая фагосому [26].

Макрофаги могут использовать любой из этих путей кросс-презентации. Например, макрофаги, происходящие из моноцитов крови, используют вакуолярный путь, макрофаги красной пульпы селезенки – протеасомный, а перитонеальные – и тот и другой [7]. ДК используют как вакуолярный, так и цитозольный пути.

Протеасомный путь кросс-презентации антигена

Захват антигена

Чужой антиген или клетки с таким антигеном (микробы и раковые клетки) могут быть обнаружены в лимфе, крови и тканях. Поэтому, захватывать их будут те АПК, которые контактируют со средой распространения ан-

тигена. Так, макрофаги лимфатических узлов [27] могут поглощать антигены из лимфы, а макрофаги селезенки – из крови [28]. Поэтому, зная по какой системе, лимфатической или кровеносной, перемещается антиген, можно предположить каким макрофагом он будет захвачен.

АПК захватывают чужой антиген, в основном с помощью рецептор-опосредованного эндоцитоза и фагоцитоза. При эндоцитозе клеточная мембрана инвагинирует внутрь клетки вместе с макромолекулами, связавшимися с рецепторами. После инвагинации мембраны образуется эндосома, и антигены попадают внутрь клетки [29]. Но при эндоцитозе клетка может захватить только макромолекулы, но не бактерии и мертвые клетки. Поэтому наиболее эффективным способом доставки антигенов в АПК является фагоцитоз [30]. При фагоцитозе мембрана АПК выпячивается псевдоподии и захватывает не только макромолекулы, но и микробы и мертвые клетки. Вокруг поглощаемого объекта образуется большая вакуоль – фагосома. Поскольку с помощью фагоцитоза АПК могут захватывать вирус-инфицированные и опухолево-трансформированные клетки, АПК могут кросс-презентировать антигены этих клеток для CD8⁺ Т клеток. Это позволяет иммунной системе следить за появлением патогенных клеток [31]. В литературе также есть указания, что АПК могут получать антигены с помощью поглощения экзосом [32] и «откусывания» от живой клетки [33].

Понимание поступления антигенов в АПК подсказало, как можно повысить эффективность иммунотерапии. Так, было обнаружено, что антиген, конъюгированный с антителами к рецепторам макрофагов, вызывал более сильные Т-клеточные ответы, чем один антиген [34], а конъюгирование антигенов, продуцируемых вакцинами, с лигандами рецепторов эндоцитоза или фагоцитоза, улучшило захват антигенов, кросс-презентацию и эффекты вакцинирования [35–37].

Сохранение антигена в фагосомах

После образования фагосомы с захваченным объектом, она сливается с лизосомой, и в фагосому попадают гидролитические ферменты, которые могут разрушить антиген и сделают невозможным кросс-презентацию [38]. Значимость негативного влияния ферментов лизосом подтвердили ингибиторы гидролитических ферментов, которые существенно повышали способность клеток к кросс-презентации [39]. АПК в ходе эволюции разработали свои собственные механизмы снижения активности гидролаз для сохранения антигена в фагосомах. Один из таких механизмов ограничивает слияние лизосом с фагосомами [40], а другой – привлекает к фагосоме NOX2/NADPH-оксидазу, которая продуцирует свободные радикалы и повышает рН в фагосомах. Это приводит к угнетению активности кислых протеаз [38].

Перенос антигена в цитозоль и его расщепление в протеасоме до олигопептидов

Для того, чтобы быть представленным на поверхность клетки, поглощенный антиген должен быть рас-

щеплен до олигопептидов и нагружен на МНС-I [41]. Одна из возможностей расщепления реализуется в цитоплазме в протеасомах. Чтобы антиген попал в протеасому, он должен сначала попасть в цитоплазму. В англоязычной литературе этот путь обозначается как «из фагосомы в цитозоль» или P2C (Phagosome-to-Cytosol pathway). P2C использует два механизма для высвобождения антигена из фагосомы в цитозоль. Первый механизм для высвобождения антигена использует особый канал [42]. Этот канал формируют те же самые белки, которые образуют каналы выхода белков из эндоплазматического ретикулума (ЭР), такие как TAP, Calnexin, Syntaxin 18 и Sec61 [41]. Другой механизм обусловлен разрывом мембран фагосом [43] под действием свободных радикалов, которые продуцируют или митохондрии [44] или NADPH оксидаза в фагосомах [45]. Как только чужой антиген попал в цитоплазму, он расщепляется цитоплазматической протеасомой до небольших олигопептидов.

Перенос олигопептидов в МНС-I-содержащие компартменты

Олигопептиды, образовавшиеся после протеасомного расщепления транспортируются в МНС-I содержащие компартменты. ЭР является одним из таких компартментов. Перенос антигенных олигопептидов из цитозоля в ЭР происходит с участием транспортера пептидов TAP [46]. В ЭР аминокептидаза обрезает N-терминальную часть внесенного олигопептида, и затем олигопептид нагружается на МНС-I [47]. Предположение о втором МНС-I-содержащем компартменте – фагосомах – возникло, когда в этих вакуолях были обнаружены аминокептидаза, которая укорачивает олигопептид перед загрузкой на МНС-I [48], молекулы МНС-I [49] и TAP [50]. Таким образом, антиген, «сбежавший» из фагосомы, пройдя через протеасому, может вернуться обратно в эту вакуоль для продолжения кросс-презентации [49].

Как МНС-I попадают в фагосому, до конца непонятно. Есть предположения, что МНС-I попадает в фагосому с поверхности мембраны клетки при фагоцитозе [51], особенно при стимуляции Toll-like рецепторов [52], из ЭР [49] или из аппарата Гольджи [53].

Гипотеза о вовлечении МНС-I T-клетки в распознавание чужеродного антигена

Механизмы, с помощью которых олигопептиды нагружаются на МНС-I, и каким образом МНС-I с эпитопами переносятся на клеточную поверхность, во многом ещё не понятны. Но то, что уже известно о протеасомном пути, порождает интересный вопрос. Протеасома расщепляет чужеродный антиген также как и свой белок, в строго определенных местах до олигопептидов длиной 10-50 аминокислот [54]. Олигопептиды и из своих белков, и из «чужих» белков могут быть представлены МНС-I на поверхность клетки. Но на олигопептиды своих белков иммунная реакция не развивается, а на

олигопептид из «чужого» белка – развивается. Означает ли это, что «чужеродность» белка может быть «зашифрована» в последовательности из 10-50 аминокислот? Если да, то почему эта последовательность воспринимается одним организмом как «чужая», а другим организмом, источником этого белка, как «своя»? Где происходит распознавание «чужеродности» олигопептида: на МНС-I при загрузке, или при контакте олигопептида с T-клеточным рецептором T-клетки?

Мы выдвигаем следующую гипотезу. Одинаковость расщепления белков протеасомой во всех клетках означает, что на поверхности АПК, и на поверхности T-клетки будет представлен одинаковый олигопептид «своего» белка. На АПК, МНС-I дополнительно выставит олигопептид «чужого» белка. В процессе презентации антигена T-клетке происходит сравнение представляемого на АПК антигена со «своим» антигеном на T-клетке. Если представляемый антиген на АПК будет такой же, как и на T-клетке (то есть «свой»), T-клетка дифференцируется в регуляторную T-клетку и иммунная реакция на такие антигены развиваться не будет. Если представляемый антиген будет отличаться от «своего» антигена на T-клетке, T-клетка дифференцируется в антиген-специфический CTL, который будет уничтожать клетки, несущие «чужой» антиген. В контексте этой гипотезы «свой» антиген на МНС-I T-клетки играет роль «эталоны сравнения» на «чужеродность» представляемого антигена на АПК. Эта гипотеза позволяет понять, почему один и тот же олигопептид в одном организме воспринимается как «чужой», а в другом организме происхождения – как «свой». Происходит это потому, что в разных организмах на T-клетках МНС-I представляет разные эталоны сравнения. Если гипотеза верна, то это означает, что МНС-I T-клеток вовлечен в процесс антиген-зависимого образования CTL.

Протеасомный путь в макрофагах

Протеасомный путь кросс-презентации используют, например, макрофаги красной пульпы селезенки [55]. Макрофаги красной пульпы CD11c^{int}F4/80^{high} привлекли внимание, потому что они, как и ДК, экспрессируют CD11c, и их расположение в селезенке позволяет им захватывать антигены из крови. *In vitro* кросс-презентация флуоресцентно меченного овальбумина мышинными CD11c^{high}F4/80^{high}CD4-CD8-CD11b-CD80⁺CD86⁺МНСII⁺Gr1-MARCO⁻ макрофагами красной пульпы приводила к более быстрой пролиферации и более высокой активации T-клеток (по маркерам активации гранзим-В, TNF-α и продукция IFN-γ), по сравнению с CD11c^{high}CD8α⁺DEC205⁺ДК. Эти эксперименты доказали, что мышинные макрофаги CD11c^{int}F4/80^{high} красной пульпы селезенки способны к кросс-презентации [55]. Более того, после поглощения модельного антигена овальбумина с помощью рецепторов CD206, микроскопия показала, что флуоресцентно меченый овальбумин колокализуется с CD206 в ранних эндосомах, в поздних эндосомах его уже нет. Это можно интерпретировать как

выход антигена из ранних эндосом в цитоплазму. И, наконец, показано, что кросс-презентация Т-клеткам ОТ-I *in vitro* была почти полностью заблокирована ингибитором TAP UL49 и ингибитором протеасом эпоксимицином [55]. Это также указывает, что кросс-презентация антигена макрофагами красной пульпы происходит через протеасомный путь.

Вакуолярный путь

При вакуолярном пути антиген, захваченный в вакуоль, не покидает её, и расщепляется там же до олигопептидов лизосомальными протеазами, такими как катепсин S [56]. Связывание олигопептидов с МНС-I также происходит в фагосомах [5].

Вакуолярный путь в макрофагах

Вакуолярный путь кросс-презентации антигена используют мышинные макрофаги, происходящие из моноцитов. Это доказали эксперименты с ингибиторами лизосомальных протеаз, которые снижали активацию Т-клеток этими макрофагами, тогда как ингибиторы протеасом эпоксимицин или LLM не имели такого эффекта [14]. Данные о том, что макрофаги, происходящие из моноцитов, используют вакуолярный путь кросс-презентации, согласуется с данными о том, что в этих макрофагах активность NADPH-оксидазы NOX2, которая способствует разрыву мембран фагосом и выходу антигена в цитозоль, очень низкая [45]. Интересно, что в отличие этих макрофагов, ингибирование протеасом в ДК, полученных из тех же моноцитов, привело к снижению активации Т-клеток с помощью этих ДК [57]. Это означает, что макрофаги и ДК, полученные от одного клеточного предшественника, могут использовать разные пути кросс-презентации.

Человеческие макрофаги, происходящие из моноцитов крови, как и мышинные, могут кросс-презентировать антиген через вакуолярный путь. Исследование *in vitro*, показало, что ингибитор протеасом лактацистин не нарушает кросс-презентацию в таких макрофагах антигена MelanA для CD8⁺ Т-клеток, тогда как ингибирование лизосомальных протеаз с помощью ингибитора пан-катепсина предотвращало активацию Т-клеток [13].

Однако, кросс-презентация макрофагами человека эпителий ВИЧ была нарушена ингибиторами протеасом G132 или эпоксимицином, указывая, что макрофаги человека, происходящие из моноцитов, могут использовать также и протеасомный путь [58]. Эксперименты с разными антигенами (MelanA и эпителий ВИЧ) показали, что природа антигена может влиять на выбор пути кросс-презентации.

Изучение кросс-презентации в перитонеальных макрофагах показало, что протеасомный и вакуолярный пути не являются альтернативными и специфичными для какого-либо тканевого фенотипа макрофагов. Перитонеальные макрофаги могут использовать как тот, так и другой путь [16]. В перитонеальных макрофагах анги-

отензин-превращающий фермент (АСЕ), который является пептидазой генерирующей эпитопы для загрузки на МНС-I, обнаружена как в ЭР, так и в фагосомах [17]. Уже эти факты наводили на мысль, что перитонеальные макрофаги могут кросс-презентировать антиген, как по вакуолярному, так и по протеасомному пути. Доказательства того, что перитонеальные макрофаги могут кросс-презентировать через протеасомный путь, были получены в экспериментах с ингибитором протеасом лактацистином, который блокировал кросс-презентацию антигена, оцененную по продукции IL-2 и экспрессии CD40, CD80 и CD86 Т-клетками [59]. В других экспериментах установлено, что поглощение перитонеальными макрофагами *E. coli*, в которых экспрессируется овалбумин, активирует выработку IL-2 (маркер активации) Т-клетками линии В3Z CD8⁺, распознающей овалбумин [16]. Поскольку захваченные бактерии *E. coli* все время оставались в фагосомах, исследователи сделали вывод о возможности кросс-презентации через вакуолярный путь. Эксперименты с кросс-презентацией эпитопа р33 вируса лимфоцитарного хориоменингита показали отсутствие различий в активации CD8⁺ Т-клеток между TAP-дефицитными макрофагами и макрофагами дикого типа [60]. Это также доказывает возможность использования TAP-независимого вакуолярного пути кросс-презентации перитонеальными макрофагами.

Вакуолярный путь может генерировать и представлять такие же антигенные олигопептиды, что и протеасомный путь [61]. Однако, поскольку катепсины могут расщеплять пептиды в местах, отличных от мест расщепления в протеасомах, многие продукты расщепления вакуолярных протеаз не идентичны продуктам расщепления протеасом. Отличие в вакуолярных и протеасомных антигенных продуктах расщепления может объяснить ещё одно возможное патогенетическое звено в развитии толерантности Т-клеток к клеткам опухоли. Вакуолярный путь АПК может представить антигенный эпитоп опухолевого антигена, который будет отличаться от эпитопа, полученного в протеасомном пути опухолевой клетки. Тогда CTL, специфичные в эпитопу, полученному в вакуолях АПК, не будут распознавать раковые клетки по эпитопу, полученному протеасомой раковой клетки из того же антигена. Этим, вероятно, в некоторых случаях, можно объяснить неспособность CTL распознавать клетки опухоли.

Поэтому, при иммунотерапии рака, или антивирусной терапии, вероятно, целесообразно направлять кросс-презентацию по протеасомному пути, потому что это даёт более надёжную гарантию представления эпитопа, который доступен на клетке мишени. Как это сделать? Понимание путей кросс-презентации дает несколько подсказок. Чтобы усилить протеасомный путь, можно, например, активировать каналы выхода экзогенного пептида из фагосом и/или усилить разрыв фагосом дополнительной активацией NADH2/NOX2.

Вместе с тем, похоже, в природе уже есть механизмы, которые минимизируют эффект различия в расще-

плении антигена в протеасомах и вакуолях. Так, внутри фагосом были обнаружены активные протеасомы [62]. Как протеасомы попадают в фагосому – не понятно, но сама возможность протеасомного расщепления пептидов в фагосомах [63] позволяет получить идентичные эпитопы независимо от пути кросс-презентации. Однако, если это так, возникает резонный вопрос – какова биологическая целесообразность существования двух путей кросс-презентации в профессиональных АПК? Зачем нужен вакуолярный путь, если он может производить эпитопы, которых нет на клетках-мишенях, или производить эпитопы, которые и так может произвести протеасомный путь? Возможно, это просто подстраховка надежности кросс-презентации антигена при дефектах механизма расщепления белков в протеасомах или вакуолях.

Кроме этого, необходимо понять, в какой момент и почему клетка принимает решение направлять антиген по тому или иному пути? Зависит ли выбор пути от типа АПК (разные тканевые типы и фенотипы макрофагов и ДК), от характера антигена, от того с какими рецепторами связался антиген в процессе фагоцитоза, или ещё от каких-либо дополнительных факторов? Четких ответов пока нет. Но, сравнение особенностей кросс-презентации в ДК и разных фенотипах макрофагов, которое мы представили выше, позволяет положительно ответить на вопрос о зависимости пути кросс-презентации от типа и фенотипа АПК и от типа антигена.

При разработке методов иммунотерапии, основанной на макрофагах, важно понимать стадии обоих путей кросс-презентации, поскольку каждая из них может рассматриваться как мишень для повышения эффективности кросс-презентации антигена и, соответственно, эффективности иммунотерапии рака.

Список литературы

- Chen D.S., Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity*. 2013; 39(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012
- Kantoff P.W., Higano C.S., Shore N.D., Berger E.R., Small E.J., Penson D.F., Redfern C.H., Ferrari A.C., Dreicer R., Sims R.B., Xu Y., Frohlich M.W., Schellhammer P.F., IMPACT Study Investigators. Sipuleucel-T immunotherapy for castration – resistant prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363: 411-422. DOI: 10.1056/NEJMoa1001294
- Kantoff P.W., Schuetz T.J., Blumenstein B.A., Glode L.M., Bilhartz D.L., Wyand M., Manson K., Panicali D.L., Laus R., Schlom J., Dahut W.L., Arlen P.M., Gulley J.L., Godfrey W.R. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(7): 1099-1105. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.0597
- Colluru V.T., Johnson L.E., Olson B.M., McNeel D.G. Preclinical and clinical development of DNA vaccines for prostate cancer. *Urol. Oncol.* 2016; 34(4): 193-204. DOI: 10.1016/j.urolonc.2013.09.014
- Embgenbroich M., Burgdorf S. Current concepts of antigen cross-presentation. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1643. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01643
- Steinman R.M., Inaba K., Turley S., Pierre P., Mellman I. Antigen capture, processing, and presentation by dendritic cells: recent cell biological studies. *Hum. Immunol.* 1999; 60: 562-567. DOI: 10.1016/S0198-8859(99)00030-0
- Muntjewerff E.M., Meesters L.D., van den Bogaart G. Antigen Cross-Presentation by Macrophages. *Front. Immunol.* 2020; 11: 1276. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01276
- Martin M.D., Badovinac V.P. Defining memory CD8 T cell. *Front. Immunol.* 2018; 9: 2692. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02692
- Enders M., Franken L., Philipp M.-S., Kessler N., Baumgart A.-K., Eichler M., Wiertz E.J.H., Garbi N., Kurts C. Splenic red pulp macrophages cross-prime early effector CTL that provide rapid defense against viral infections. *J. Immunol.* 2020; 204: 87-100. DOI: 10.4049/jimmunol.1900021
- van Dinther D., Veninga H., Iborra S., Borg E.G.F., Hoogterp L., Olesek K., Beijer M.R., Schetters S.T.T., Kalay H., Garcia-Vallejo J.J., Franken K.L., Cham L.B., Lang K.S., van Kooyk Y., Sancho D., Crocker P.R., den Haan J.M.M. Functional CD169 on macrophages mediates interaction with dendritic cells for CD8⁺ T cell cross-priming. *Cell. Rep.* 2018; 22: 1484-1495. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.01.021
- Backer R., Schwandt T., Greuter M., Oosting M., Jüngerkes F., Tüting T., Boon L., O'Toole T., Kraal G., Limmer A., den Haan J.M.M. Effective collaboration between marginal metallophilic macrophages and CD8⁺ dendritic cells in the generation of cytotoxic T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2010; 107: 216-221. DOI: 10.1073/pnas.0909541107
- Blohm U., Roth E., Brommer K., Dumrese T., Rosenthal F.M., Pircher H. Lack of effector cell function and altered tetramer binding of tumor-infiltrating lymphocytes. *J. Immunol.* 2002; 169: 5522-5530. DOI: 10.4049/jimmunol.169.10.5522
- Tang-Huau T.-L., Gueguen P., Goudot C., Durand M., Bohec M., Baulande S., Pasquier B., Amigorena S., Segura E. Human *in vivo*-generated monocyte-derived dendritic cells and macrophages cross-present antigens through a vacuolar pathway. *Nat. Commun.* 2018; 9: 2570. DOI: 10.1038/s41467-018-04985-0
- Cruz-Leal Y., Grubaugh D., Nogueira C.V., Lopetegui-González I., Del Valle A., Escalona F., Laborde R.J., Alvarez C., Fernández L.E., Starnbach M.N., Higgins D.E., Lanio M.E. The vacuolar pathway in macrophages plays a major role in antigen cross-presentation induced by the pore-forming protein Sticholysin II encapsulated into liposomes. *Front. Immunol.* 2018; 5: 2473. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02473
- Ebrahimkhani M.R., Mohar I., Crispe I.N. Cross-presentation of antigen by diverse subsets of murine liver cells. *Hepatology.* 2011; 54: 1379-1387. DOI: 10.1002/hep.24508
- Pfeifer J.D., Wick M.J., Roberts R.L., Findlay K., Normark S.J., Harding C.V. Phagocytic processing of bacterial antigens for class I MHC presentation to T cells. *Nature.* 1993; 361: 359-362. DOI: 10.1038/361359a0
- Shen X.Z., Lukacher A.E., Billet S., Williams I.R., Bernstein K.E. Expression of angiotensin-converting enzyme changes major histocompatibility complex class I peptide presentation by modifying C termini of peptide precursors. *J. Biol. Chem.* 2008; 283: 9957-9965. DOI: 10.1074/jbc.M709574200
- Zhang X., Goncalves R., Mosser D.M. The isolation and characterization of murine macrophages. *Curr. Protoc. Immunol.* 2008; Chapter: Unit-14.1. DOI: 10.1002/0471142735.im1401s83
- Asano K., Nabeyama A., Miyake Y., Qiu C.-H., Kurita A., Tomura M., Kanagawa O., Fujii S., Tanaka M. CD169-positive macrophages dominate antitumor immunity by crosspresenting dead cell-associated antigens. *Immunity.* 2011; 34: 85-95. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.12.011
- Muraoka D., Harada N., Hayashi T., Tahara Y., Momose F., Sawada S., Mukai S., Akiyoshi K., Shiku H. Nanogel-based immunologically stealth vaccine targets macrophages in the medulla of lymph node and induces potent antitumor immunity. *ACS Nano.* 2014; 8: 9209-9218. DOI: 10.1021/nn502975r
- Grakoui A., Crispe I.N. Presentation of hepatocellular antigens. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13: 293-300. DOI: 10.1038/cmi.2015.109
- Chavez M., Silvestrini M.T., Ingham E.S., Fite B.Z., Mahakian L.M., Tam S.M., Ilovitsh A., Monjazeb A.M., Murphy W.J., Hubbard N.E., Davis R.R., Tepper C.G., Borowsky A.D., Ferrara K.W. Distinct immune signatures in directly treated and distant tumors result from TLR adjuvants and focal ablation. *Theranostics.* 2018; 8: 3611-3628. DOI: 10.7150/thno.25613
- Italiani P., Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Front. Immunol.* 2014; 5: 514. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00514

24. Малышев И.Ю., Буданова О.П., Бахтина Л.Ю. Рак предстательной железы и возможности иммунотерапии. *Патогенез*. 2019; 17(2): 4-15. DOI: 10.25557/2310-0435.2019.02.4-15
25. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез*. 2008; 6(4): 31-39.
26. Colbert J.D., Cruz F.M., Rock K.L. Cross-presentation of exogenous antigens on MHC I molecules. *Curr. Opin. Immunol.* 2020; 64: 1-8. DOI: 10.1016/j.coi.2019.12.005
27. Gray E.E., Cyster J.G. Lymph node macrophages. *J. Innate Immun.* 2012; 4: 424-436. DOI: 10.1159/000337007
28. A-Gonzalez N., Castrillo A. Origin and specialization of splenic macrophages. *Cell. Immunol.* 2018; 330: 151-158. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.05.005
29. Burgdorf S., Lukacs-Kornek V., Kurts C. The mannose receptor mediates uptake of soluble but not of cell-associated antigen for cross-presentation. *J. Immunol.* 2006; 176(11): 6770-6776. DOI: 10.4049/jimmunol.176.11.6770
30. Kovacovics-Bankowski M., Clark K., Benacerraf B., Rock K.L. Efficient major histocompatibility complex class I presentation of exogenous antigen upon phagocytosis by macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1993; 90: 4942-4946. DOI: 10.1073/pnas.90.11.4942
31. Sigal L.J., Crotty S., Andino R., Rock K.L. Cytotoxic T-cell immunity to virus-infected non-haematopoietic cells requires presentation of exogenous antigen. *Nature*. 1999; 398(6722): 77-80. DOI: 10.1038/18038
32. Wolfers J., Lozier A., Raposo G., Regnault A., Théry C., Masurier C., Flament C., Pouzieux S., Faure F., Tursz T., Angevin E., Amigorena S., Zitvogel L. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat. Med.* 2001; 7: 297-303. DOI: 10.1038/85438
33. Matheoud D., Perié L., Hoeffel G., Vimeux L., Parent I., Marañón C., Bourdoncle P., Renia L., Prevost-Blondel A., Lucas B., Feuillet V., Hosmalin A. Cross-presentation by dendritic cells from live cells induces protective immune responses in vivo. *Blood*. 2010; 115: 4412-4420. DOI: 10.1182/blood-2009-11-255935
34. Kratzer R., Mauvais F.-X., Burgevin A., Barilleau É., van Ender P. Fusion proteins for versatile antigen targeting to cell surface receptors reveal differential capacity to prime immune responses. *J. Immunol.* 2010; 184: 6855-6864. DOI: 10.4049/jimmunol.0902555
35. Yan S., Xu K., Li L., Gu W., Rolfe B.E., Xu Z.P. The pathways for layered double hydroxide nanoparticles to enhance antigen (Cross)-presentation on immune cells as adjuvants for protein vaccines. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 1060. DOI: 10.3389/fphar.2018.01060
36. Zhu D., Hu C., Fan F., Qin Y., Huang C., Zhang Z., Lu L., Wang H., Sun H., Leng X., Wang C., Kong D., Zhang L. Co-delivery of antigen and dual agonists by programmed mannose-targeted cationic lipid-hybrid polymersomes for enhanced vaccination. *Biomaterials*. 2019; 206: 25-40. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.012
37. Cruz L.J., Tacken P.J., van der Schoot J.M.S., Rueda F., Torensma R., Figdor C.G. ICAM3-Fc outperforms receptor-specific antibodies targeted nanoparticles to dendritic cells for crosspresentation. *Molecules*. 2019; 24(9): 1825. DOI: 10.3390/molecules24091825
38. Savina A., Jancic C., Hugues S., Guermonprez P., Vargas P., Moura I.C., Lennon-Dumenil A.M., Seabra M.C., Raposo G., Amigorena S. NOX2 controls phagosomal pH to regulate antigen processing during crosspresentation by dendritic cells. *Cell*. 2006; 126: 205-218. DOI: 10.1016/j.cell.2006.05.035
39. Han D., Liu J., Chen C., Dong L., Liu Y., Chang R., Huang X., Liu Y., Wang J., Dougherty U., Bissonnette M.B., Shen B., Weichselbaum R.R., Xu M.M., He C. Anti-tumour immunity controlled through mRNA m(6)A methylation and YTHDF1 in dendritic cells. *Nature*. 2019; 566: 270-274. DOI: 10.1038/s41586-019-0916-x
40. Alloati A., Kotsias F., Pauwels A.-M., Carpié J.-M., Jouve M., Timmerman E., Pace L., Vargas P., Maurin M., Gehrmann U., Joannas L., Vivar O.I., Lennon-Dumenil A.-M., Savina A., Gevaert K., Beyaert R., Hoffmann E., Amigorena S. Toll-like receptor 4 engagement on dendritic cells restrains phago-lysosome fusion and promotes cross-presentation of antigens. *Immunity*. 2015; 43(6): 1087-1100. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.11.006
41. Zehner M., Marschall A.L., Bos E., Schloetel J.-G., Kreer C., Fehrenschild D., Limmer A., Ossendorp F., Lang T., Koster A.J., Dübel S., Burgdorf S. The translocon protein Sec61 mediates antigen transport from endosomes in the cytosol for cross-presentation to CD8(+) T cells. *Immunity*. 2015; 42: 850-863. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.04.008
42. Ye Y., Shibata Y., Yun C., Ron D., Rapoport T.A. A membrane protein complex mediates retro-translocation from the ER lumen into the cytosol. *Nature*. 2004; 429(6994): 841-747. DOI: 10.1038/nature02656
43. Moore M.W., Carbone F.R., Bevan M.J. Introduction of soluble protein into the class I pathway of antigen processing and presentation. *Cell*. 1988; 54(6): 777-785. DOI: 10.1016/s0092-8674(88)91043-4
44. Oberkampf M., Guillerey C., Mourès J., Rosenbaum P., Fayolle C., Bobard A., Savina A., Ogier-Denis E., Enninga J., Amigorena S., Leclerc C., Dadaglio G. Mitochondrial reactive oxygen species regulate the induction of CD8(+) T cells by plasmacytoid dendritic cells. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 2241. DOI: 10.1038/s41467-018-04686-8
45. Dingjan I., Verboogen D.R., Paardekooper L.M., Revelo N.H., Sittig S.P., Visser L.J., von Mollard G.F., Henriët S.S., Figdor C.G., Beest M.T., van den Bogaart G. Lipid peroxidation causes endosomal antigen release for cross-presentation. *Sci Rep*. 2016; 6: 22064. DOI: 10.1038/srep22064
46. Huang A.Y., Bruce A.T., Pardoll D.M., Levitsky H.I. In vivo crosspriming of MHC class I-restricted antigens requires the TAP transporter. *Immunity*. 1996; 4(4): 349-355. DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80248-4
47. Firat E., Saveanu L., Aichele P., Staeheli P., Huai J., Gaedicke S., Nil A., Besin G., Kanzler B., van Ender P., Niedermann G. The role of endoplasmic reticulum-associated aminopeptidase 1 in immunity to infection and in cross-presentation. *J. Immunol.* 2007; 178: 2241-2248. DOI: 10.4049/jimmunol.178.4.2241
48. Saveanu L., Carroll O., Weimershaus M., Guermonprez P., Firat E., Lindo V., Greer F., Davoust J., Kratzer R., Keller S.R., Niedermann G., van Ender P. IRAP identifies an endosomal compartment required for MHC class I cross-presentation. *Science*. 2009; 325: 213-217. DOI: 10.1126/science.1172845
49. Cruz F.M., Colbert J.D., Rock K.L. The GTPase Rab39a matures phagosomes into MHC-I antigen-presenting compartments. *EMBO J*. 2020; 39(2): e102020. DOI: 10.15252/embj.2019102020
50. Ackerman A.L., Kyritsis C., Tampe R., Cresswell P. Early phagosomes in dendritic cells form a cellular compartment sufficient for cross presentation of exogenous antigens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003; 100(22): 12889-12894. DOI: 10.1073/pnas.1735556100
51. Lizee G., Basha G., Tiong J., Julien J.P., Tian M., Biron K.E., Jefferies W.A. Control of dendritic cell cross-presentation by the major histocompatibility complex class I cytoplasmic domain. *Nat. Immunol.* 2003; 4(11): 1065-1073. DOI: 10.1038/ni989
52. Nair-Gupta P., Baccarini A., Tung N., Seyffer F., Florey O., Huang Y., Banerjee M., Overholtzer M., Roche P.A., Tampé R., Brown B.D., Amsen D., Whiteheart S.W., Blander J.M. TLR signals induce phagosomal MHC-I delivery from the endosomal recycling compartment to allow crosspresentation. *Cell*. 2014; 158(3): 506-521. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.054
53. De Angelis Rigotti F., De Gassart A., Pforr C., Cano F., N'Guessan P., Combes A., Camossetto V., Lehner P.J., Pierre P., Gatti E. MARCH9-mediated ubiquitination regulates MHC I export from the TGN. *Immunol. Cell. Biol.* 2017; 95(9): 753-764. DOI: 10.1038/icb.2017.44
54. Kovacovics-Bankowski M., Rock K.L. A phagosome-to-cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules. *Science*. 1995; 267(5195): 243-246. DOI: 10.1126/science.7809629
55. Enders M., Franken L., Philipp M.-S., Kessler N., Baumgart A.-K., Eichler M., Wiertz E.J.H., Garbi N., Kurts C. Splenic red pulp macrophages cross-prime early effector CTL that provide rapid defense against viral infections. *J. Immunol.* 2020; 204: 87-100. DOI: 10.4049/jimmunol.1900021
56. Shen L., Sigal L.J., Boes M., Rock K.L. Important role of cathepsin S in generating peptides for TAP-independent MHC class I crosspresentation in vivo. *Immunity*. 2004; 21(2): 155-165. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.004
57. Tobian A.A.R., Canaday D.H., Boom W.H., Harding C.V. Bacterial heat shock proteins promote CD91-dependent class I MHC cross-presentation of chaperoned peptide to CD8+ T cells by cytosolic mechanisms in dendritic cells versus vacuolar mechanisms in macrophages. *J. Immunol.* 2004; 172: 5277-5286. DOI: 10.4049/jimmunol.172.9.5277
58. Dinter J., Duong E., Lai N.Y., Berberich M.J., Kourjian G., Bracho-Sanchez E., Chu D., Su H., Zhang S.C., Le Gall S. Variable processing and cross-presentation of HIV by dendritic cells and macrophages

- shapes CTL immunodominance and immune escape. *PLoS Pathog.* 2015; 11: e1004725. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004725
59. Goubau D., Romieu-Mourez R., Solis M., Hernandez E., Mesplède T., Lin R., Leaman D., Hiscott J. Transcriptional re-programming of primary macrophages reveals distinct apoptotic and anti-tumoral functions of IRF-3 and IRF-7. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39: 527-540. DOI: 10.1002/eji.200838832
 60. Ruedl C., Storni T., Lechner F., Bächli T., Bachmann M.F. Cross-presentation of virus-like particles by skin-derived CD8⁺ dendritic cells: adispensable role for TAP. *Eur. J. Immunol.* 2002; 32: 818-825. DOI: 10.1002/1521-4141(200203)32:3<818
 61. Ma W., Stroobant V., Heirman C., Sun Z., Thielemans K., Mulder A., van der Bruggen P., Van den Eynde B.J. The vacuolar pathway of long peptide cross-presentation can be TAP dependent. *J. Immunol.* 2019; 202(2): 451-459. DOI: 10.4049/jimmunol.1800353
 62. Sengupta D., Graham M., Liu X., Cresswell P. Proteasomal degradation within endocytic organelles mediates antigen cross-presentation. *EMBO J.* 2019; 38(16): e99266. DOI: 10.15252/embj.201899266
 63. Lawand M., Abramova A., Manceau V., Springer S., van Ender P. TAP-dependent and -independent peptide import into dendritic cell phagosomes. *J. Immunol.* 2016; 197(9): 3454-3463. DOI: 10.4049/jimmunol.1501925
- ## References
1. Chen D.S., Mellman I. Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle. *Immunity.* 2013; 39(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012
 2. Kantoff P.W., Higano C.S., Shore N.D., Berger E.R., Small E.J., Penson D.F., Redfern C.H., Ferrari A.C., Dreicer R., Sims R.B., Xu Y., Frohlich M.W., Schellhammer P.F., IMPACT Study Investigators. Sipuleucel-T immunotherapy for castration – resistant prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* 2010; 363: 411-422. DOI: 10.1056/NEJMoa1001294
 3. Kantoff P.W., Schuetz T.J., Blumenstein B.A., Glode L.M., Bihlartz D.L., Wyand M., Manson K., Pinali D.L., Laus R., Schlom J., Dahut W.L., Arlen P.M., Gulley J.L., Godfrey W.R. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28(7): 1099-1105. DOI: 10.1200/JCO.2009.25.0597
 4. Colluru V.T., Johnson L.E., Olson B.M., McNeel D.G. Preclinical and clinical development of DNA vaccines for prostate cancer. *Urol. Oncol.* 2016; 34(4): 193-204. DOI: 10.1016/j.urolonc.2013.09.014
 5. Embgenbroich M., Burgdorf S. Current concepts of antigen cross-presentation. *Front. Immunol.* 2018; 9: 1643. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01643
 6. Steinman R.M., Inaba K., Turley S., Pierre P., Mellman I. Antigen capture, processing, and presentation by dendritic cells: recent cell biological studies. *Hum. Immunol.* 1999; 60: 562-567. DOI: 10.1016/S0198-8859(99)00030-0
 7. Muntjewerff E.M., Meesters L.D., van den Bogaart G. Antigen Cross-Presentation by Macrophages. *Front. Immunol.* 2020; 11: 1276. DOI: 10.3389/fimmu.2020.01276
 8. Martin M.D., Badovinac V.P. Defining memory CD8 T cell. *Front. Immunol.* 2018; 9: 2692. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02692
 9. Enders M., Franken L., Philipp M.-S., Kessler N., Baumgart A.-K., Eichler M., Wiertz E.J.H., Garbi N., Kurts C. Splenic red pulp macrophages cross-prime early effector CTL that provide rapid defense against viral infections. *J. Immunol.* 2020; 204: 87-100. DOI: 10.4049/jimmunol.1900021
 10. van Dinther D., Veninga H., Iborra S., Borg E.G.F., Hoogterp L., Olesek K., Beijer M.R., Schetters S.T.T., Kalay H., Garcia-Vallejo J.J., Franken K.L., Cham L.B., Lang K.S., van Kooyk Y., Sancho D., Crocker P.R., den Haan J.M.M. Functional CD169 on macrophages mediates interaction with dendritic cells for CD8⁺ T cell cross-priming. *Cell. Rep.* 2018; 22: 1484-1495. DOI: 10.1016/j.celrep.2018.01.021
 11. Backer R., Schwandt T., Greuter M., Oosting M., Jüngerkes F., Tüting T., Boon L., O'Toole T., Kraal G., Limmer A., den Haan J.M.M. Effective collaboration between marginal metallophilic macrophages and CD8⁺ dendritic cells in the generation of cytotoxic T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2010; 107: 216-221. DOI: 10.1073/pnas.0909541107
 12. Blohm U., Roth E., Brommer K., Dumrese T., Rosenthal F.M., Pircher H. Lack of effector cell function and altered tetramer binding of tumor-infiltrating lymphocytes. *J. Immunol.* 2002; 169: 5522-5530. DOI: 10.4049/jimmunol.169.10.5522
 13. Tang-Huau T.-L., Gueguen P., Goudot C., Durand M., Bohec M., Baulande S., Pasquier B., Amigorena S., Segura E. Human *in vivo*-generated monocyte-derived dendritic cells and macrophages cross-present antigens through a vacuolar pathway. *Nat. Commun.* 2018; 9: 2570. DOI: 10.1038/s41467-018-04985-0
 14. Cruz-Leal Y., Grubaugh D., Nogueira C.V., Lopetegui-González I., Del Valle A., Escalona F., Laborde R.J., Alvarez C., Fernández L.E., Starnbach M.N., Higgins D.E., Lanio M.E. The vacuolar pathway in macrophages plays a major role in antigen cross-presentation induced by the pore-forming protein Sticholysin II encapsulated into liposomes. *Front. Immunol.* 2018; 5: 2473. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02473
 15. Ebrahimkhani M.R., Mohar I., Crispe I.N. Cross-presentation of antigen by diverse subsets of murine liver cells. *Hepatology.* 2011; 54: 1379-1387. DOI: 10.1002/hep.24508
 16. Pfeifer J.D., Wick M.J., Roberts R.L., Findlay K., Normark S.J., Harding C.V. Phagocytic processing of bacterial antigens for class I MHC presentation to T cells. *Nature.* 1993; 361: 359-362. DOI: 10.1038/361359a0
 17. Shen X.Z., Lukacher A.E., Billet S., Williams I.R., Bernstein K.E. Expression of angiotensin-converting enzyme changes major histocompatibility complex class I peptide presentation by modifying C termini of peptide precursors. *J. Biol. Chem.* 2008; 283: 9957-9965. DOI: 10.1074/jbc.M709574200
 18. Zhang X., Goncalves R., Mosser D.M. The isolation and characterization of murine macrophages. *Curr. Protoc. Immunol.* 2008; Chapter: Unit-14.1. DOI: 10.1002/0471142735.im1401s83
 19. Asano K., Nabeyama A., Miyake Y., Qiu C.-H., Kurita A., Tomura M., Kanagawa O., Fujii S., Tanaka M. CD169-positive macrophages dominate antitumor immunity by crosspresenting dead cell-associated antigens. *Immunity.* 2011; 34: 85-95. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.12.011
 20. Muraoka D., Harada N., Hayashi T., Tahara Y., Momose F., Sawada S., Mukai S., Akiyoshi K., Shiku H. Nanogel-based immunological stealth vaccine targets macrophages in the medulla of lymph node and induces potent antitumor immunity. *ACS Nano.* 2014; 8: 9209-9218. DOI: 10.1021/nn502975r
 21. Grakoui A., Crispe I.N. Presentation of hepatocellular antigens. *Cell. Mol. Immunol.* 2016; 13: 293-300. DOI: 10.1038/cmi.2015.109
 22. Chavez M., Silvestrini M.T., Ingham E.S., Fite B.Z., Mahakian L.M., Tam S.M., Ilovitsh A., Monjazeb A.M., Murphy W.J., Hubbard N.E., Davis R.R., Tepper C.G., Borowsky A.D., Ferrara K.W. Distinct immune signatures in directly treated and distant tumors result from TLR adjuvants and focal ablation. *Theranostics.* 2018; 8: 3611-3628. DOI: 10.7150/thno.25613
 23. Italiani P., Boraschi D. From monocytes to M1/M2 macrophages: phenotypical vs. functional differentiation. *Front. Immunol.* 2014; 5: 514. DOI: 10.3389/fimmu.2014.00514
 24. Malyshev I.Yu., Budanova O.P., Bakhtina L.Yu. [Prostate cancer and possibilities of immunotherapy]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2019; 17(2), 4-15. DOI: 10.25557/2310-0435.2019.02.4-15 (in Russian)
 25. Monastyrskaya E.A., Lyamina S.V., Malyshev I.Yu. [M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in immune response and pathology]. *Patogenez [Pathogenesis].* 2008; 6(4): 31-39. (in Russian)
 26. Colbert J.D., Cruz F.M., Rock K.L. Cross-presentation of exogenous antigens on MHC I molecules. *Curr. Opin. Immunol.* 2020; 64: 1-8. DOI: 10.1016/j.coi.2019.12.005
 27. Gray E.E., Cyster J.G. Lymph node macrophages. *J. Innate Immun.* 2012; 4: 424-436. DOI: 10.1159/000337007
 28. A-Gonzalez N., Castrillo A. Origin and specialization of splenic macrophages. *Cell. Immunol.* 2018; 330: 151-158. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.05.005
 29. Burgdorf S., Lukacs-Kornek V., Kurts C. The mannose receptor mediates uptake of soluble but not of cell-associated antigen for cross-presentation. *J. Immunol.* 2006; 176(11): 6770-6776. DOI: 10.4049/jimmunol.176.11.6770
 30. Kovacsics-Bankowski M., Clark K., Benacerraf B., Rock K.L. Efficient major histocompatibility complex class I presentation of exogenous antigen upon phagocytosis by macrophages. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1993; 90: 4942-4946. DOI: 10.1073/pnas.90.11.4942

31. Sigal L.J., Crotty S., Andino R., Rock K.L. Cytotoxic T-cell immunity to virus-infected non-haematopoietic cells requires presentation of exogenous antigen. *Nature*. 1999; 398(6722): 77-80. DOI: 10.1038/18038
32. Wolfers J., Lozier A., Raposo G., Regnault A., Théry C., Masurier C., Flamant C., Pouzieux S., Faure F., Tursz T., Angevin E., Amigorena S., Zitvogel L. Tumor-derived exosomes are a source of shared tumor rejection antigens for CTL cross-priming. *Nat. Med.* 2001; 7: 297-303. DOI: 10.1038/85438
33. Matheoud D., Perié L., Hoeffel G., Vimeux L., Parent I., Marañón C., Bourdoncle P., Renia L., Prevost-Blondel A., Lucas B., Feuillet V., Hosmalin A. Cross-presentation by dendritic cells from live cells induces protective immune responses in vivo. *Blood*. 2010; 115: 4412-4420. DOI: 10.1182/blood-2009-11-255935
34. Kratzer R., Mauvais F.-X., Burgevin A., Barilleau É., van Endert P. Fusion proteins for versatile antigen targeting to cell surface receptors reveal differential capacity to prime immune responses. *J. Immunol.* 2010; 184: 6855-6864. DOI: 10.4049/jimmunol.0902555
35. Yan S., Xu K., Li L., Gu W., Rolfé B.E., Xu Z.P. The pathways for layered double hydroxide nanoparticles to enhance antigen (Cross)-presentation on immune cells as adjuvants for protein vaccines. *Front. Pharmacol.* 2018; 9: 1060. DOI: 10.3389/fphar.2018.01060
36. Zhu D., Hu C., Fan F., Qin Y., Huang C., Zhang Z., Lu L., Wang H., Sun H., Leng X., Wang C., Kong D., Zhang L. Co-delivery of antigen and dual agonists by programmed mannose-targeted cationic lipid-hybrid polymersomes for enhanced vaccination. *Biomaterials*. 2019; 206: 25-40. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.012
37. Cruz L.J., Tacken P.J., van der Schoot J.M.S., Rueda F., Torensma R., Figdor C.G. ICAM3-Fc outperforms receptor-specific antibodies targeted nanoparticles to dendritic cells for crosspresentation. *Molecules*. 2019; 24(9): 1825. DOI: 10.3390/molecules24091825
38. Savina A., Jancic C., Hugues S., Guernonprez P., Vargas P., Moura I.C., Lennon-Dumenil A.M., Seabra M.C., Raposo G., Amigorena S. NOX2 controls phagosomal pH to regulate antigen processing during crosspresentation by dendritic cells. *Cell*. 2006; 126: 205-218. DOI: 10.1016/j.cell.2006.05.035
39. Han D., Liu J., Chen C., Dong L., Liu Y., Chang R., Huang X., Liu Y., Wang J., Dougherty U., Bissonnette M.B., Shen B., Weichselbaum R.R., Xu M.M., He C. Anti-tumour immunity controlled through mRNA m(6A) methylation and YTHDF1 in dendritic cells. *Nature*. 2019; 566: 270-274. DOI: 10.1038/s41586-019-0916-x
40. Alloatti A., Kotsias F., Pauwels A.-M., Carpié J.-M., Jouve M., Timmerman E., Pace L., Vargas P., Maurin M., Gehrman U., Joannas L., Vivar O.I., Lennon-Duménil A.-M., Savina A., Gevaert K., Beyaert R., Hoffmann E., Amigorena S. Toll-like receptor 4 engagement on dendritic cells restrains phago-lysosome fusion and promotes cross-presentation of antigens. *Immunity*. 2015; 43(6): 1087-1100. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.11.006
41. Zehner M., Marschall A.L., Bos E., Schloetel J.-G., Kreer C., Fehrenschild D., Limmer A., Ossendorp F., Lang T., Koster A.J., Dübel S., Burgdorf S. The translocon protein Sec61 mediates antigen transport from endosomes in the cytosol for cross-presentation to CD8(+) T cells. *Immunity*. 2015; 42: 850-863. DOI: 10.1016/j.immuni.2015.04.008
42. Ye Y., Shibata Y., Yun C., Ron D., Rapoport T.A. A membrane protein complex mediates retro-translocation from the ER lumen into the cytosol. *Nature*. 2004; 429(6994): 841-747. DOI: 10.1038/nature02656
43. Moore M.W., Carbone F.R., Bevan M.J. Introduction of soluble protein into the class I pathway of antigen processing and presentation. *Cell*. 1988; 54(6): 777-785. DOI: 10.1016/s0092-8674(88)91043-4
44. Oberkampf M., Guillerey C., Mouriès J., Rosenbaum P., Fayolle C., Bobard A., Savina A., Ogier-Denis E., Enninga J., Amigorena S., Leclerc C., Dadaglio G. Mitochondrial reactive oxygen species regulate the induction of CD8(+) T cells by plasmacytoid dendritic cells. *Nat. Commun.* 2018; 9(1): 2241. DOI: 10.1038/s41467-018-04686-8
45. Dingjan I., Verboogen D.R., Paardekooper L.M., Revelo N.H., Sittig S.P., Visser L.J., von Mollard G.F., Henriët S.S., Figdor C.G., Beest M.T., van den Bogaart G. Lipid peroxidation causes endosomal antigen release for cross-presentation. *Sci Rep.* 2016; 6: 22064. DOI: 10.1038/srep22064
46. Huang A.Y., Bruce A.T., Pardoll D.M., Levitsky H.I. In vivo crosspriming of MHC class I-restricted antigens requires the TAP transporter. *Immunity*. 1996; 4(4): 349-355. DOI: 10.1016/s1074-7613(00)80248-4
47. Firat E., Saveanu L., Aichele P., Staeheli P., Huai J., Gaedicke S., Nil A., Besin G., Kanzler B., van Endert P., Niedermann G. The role of endoplasmic reticulum-associated aminopeptidase 1 in immunity to infection and in cross-presentation. *J. Immunol.* 2007; 178: 2241-2248. DOI: 10.4049/jimmunol.178.4.2241
48. Saveanu L., Carroll O., Weimershaus M., Guernonprez P., Firat E., Lindo V., Greer F., Davoust J., Kratzer R., Keller S.R., Niedermann G., van Endert P. IRAP identifies an endosomal compartment required for MHC class I cross-presentation. *Science*. 2009; 325: 213-217. DOI: 10.1126/science.1172845
49. Cruz F.M., Colbert J.D., Rock K.L. The GTPase Rab39a matures phagosomes into MHC-I antigen-presenting compartments. *EMBO J.* 2020; 39(2): e102020. DOI: 10.15252/embj.2019102020
50. Ackerman A.L., Kyritsis C., Tampe R., Cresswell P. Early phagosomes in dendritic cells form a cellular compartment sufficient for cross presentation of exogenous antigens. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2003; 100(22): 12889-12894. DOI: 10.1073/pnas.1735556100
51. Lizée G., Basha G., Tiong J., Julien J.P., Tian M., Biron K.E., Jefferies W.A. Control of dendritic cell cross-presentation by the major histocompatibility complex class I cytoplasmic domain. *Nat. Immunol.* 2003; 4(11): 1065-1073. DOI: 10.1038/ni989
52. Nair-Gupta P., Baccarini A., Tung N., Seyffer F., Florey O., Huang Y., Banerjee M., Overholtzer M., Roche P.A., Tampé R., Brown B.D., Amsen D., Whiteheart S.W., Blander J.M. TLR signals induce phagosomal MHC-I delivery from the endosomal recycling compartment to allow crosspresentation. *Cell*. 2014; 158(3): 506-521. DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.054
53. De Angelis Rigotti F., De Gassart A., Pforr C., Cano F., N'Guessan P., Combes A., Camossetto V., Lehner P.J., Pierre P., Gatti E. MARCH9-mediated ubiquitination regulates MHC I export from the TGN. *Immunol. Cell. Biol.* 2017; 95(9): 753-764. DOI: 10.1038/icb.2017.44
54. Kovacovics-Bankowski M., Rock K.L. A phagosome-to-cytosol pathway for exogenous antigens presented on MHC class I molecules. *Science*. 1995; 267(5195): 243-246. DOI: 10.1126/science.7809629
55. Enders M., Franken L., Philipp M.-S., Kessler N., Baumgart A.-K., Eichler M., Wiertz E.J.H., Garbi N., Kurts C. Splenic red pulp macrophages cross-prime early effector CTL that provide rapid defense against viral infections. *J. Immunol.* 2020; 204: 87-100. DOI: 10.4049/jimmunol.1900021
56. Shen L., Sigal L.J., Boes M., Rock K.L. Important role of cathepsin S in generating peptides for TAP-independent MHC class I crosspresentation in vivo. *Immunity*. 2004; 21(2): 155-165. DOI: 10.1016/j.immuni.2004.07.004
57. Tobian A.A.R., Canaday D.H., Boom W.H., Harding C.V. Bacterial heat shock proteins promote CD91-dependent class I MHC cross-presentation of chaperoned peptide to CD8+ T cells by cytosolic mechanisms in dendritic cells versus vacuolar mechanisms in macrophages. *J. Immunol.* 2004; 172: 5277-5286. DOI: 10.4049/jimmunol.172.9.5277
58. Dinter J., Duong E., Lai N.Y., Berberich M.J., Kourjian G., Bracho-Sanchez E., Chu D., Su H., Zhang S.C., Le Gall S. Variable processing and cross-presentation of HIV by dendritic cells and macrophages shapes CTL immunodominance and immune escape. *PLoS Pathog.* 2015; 11: e1004725. DOI: 10.1371/journal.ppat.1004725
59. Goubau D., Romieu-Mourez R., Solis M., Hernandez E., Mesplède T., Lin R., Leaman D., Hiscott J. Transcriptional re-programming of primary macrophages reveals distinct apoptotic and anti-tumoral functions of IRF-3 and IRF-7. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39: 527-540. DOI: 10.1002/eji.200838832
60. Ruedl C., Storni T., Lechner F., Bächli T., Bachmann M.F. Cross-presentation of virus-like particles by skin-derived CD8- dendritic cells: adispensable role for TAP. *Eur. J. Immunol.* 2002; 32: 818-825. DOI: 10.1002/1521-4141(200203)32:3<818
61. Ma W., Stroobant V., Heirman C., Sun Z., Thielemans K., Mulder A., van der Bruggen P., Van den Eynde B.J. The vacuolar pathway of long peptide cross-presentation can be TAP dependent. *J. Immunol.* 2019; 202(2): 451-459. DOI: 10.4049/jimmunol.1800353
62. Sengupta D., Graham M., Liu X., Cresswell P. Proteasomal degradation within endocytic organelles mediates antigen cross-presentation. *EMBO J.* 2019; 38(16): e99266. DOI: 10.15252/embj.201899266
63. Lawand M., Abramova A., Manceau V., Springer S., van Endert P. TAP-dependent and -independent peptide import into dendritic cell phagosomes. *J. Immunol.* 2016; 197(9): 3454-3463. DOI: 10.4049/jimmunol.1501925

Сведения об авторах:

Мальшев Игорь Юрьевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации; заведующий лабораторией регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <http://orcid.org/0000-0002-2381-9612>

Кузнецова Лариса Вячеславовна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных биотехнологий Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Чернышева Ольга Олеговна — студент Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Буданова Ольга Петровна — старший научный сотрудник лаборатории регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»; <https://orcid.org/0000-0002-6650-5082>

Бахтина Лидия Юрьевна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории регуляторных механизмов стресса и адаптации Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»