



О.Е. Молчанов 
Д.Н. Майстренко 
А.А. Станжевский 

Возможности тераностики в визуализации микроокружения опухоли и элиминации его иммуносупрессивных компонентов

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Российский научный центр радиологии и хирургических
технологий имени академика А.М. Гранова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Ленинградская ул., д. 70, Санкт-Петербург, п. Песочный, 197758,
Российская Федерация

✉ Молчанов Олег Евгеньевич; molchanovo@mail.ru

РЕЗЮМЕ

Одним из перспективных направлений ядерной медицины является тераностика — использование радиофармпрепаратов для диагностики и лечения онкологических заболеваний, особое направление тераностики — иммунотераностика. Цель работы — обобщить возможности тераностики в визуализации микроокружения опухоли и элиминации его иммуносупрессивных компонентов. В статье представлены данные о составе и взаимодействии различных субпопуляций клеток в микроокружении опухоли, а также о роли стволовых опухолевых клеток в его формировании. Описаны дефекты сигнальных путей и потенциальные мишени для тераностики стволовых опухолевых клеток, а также механизм взаимодействия опухоли и иммунной системы в процессе канцерогенеза. Подробно разобраны подходы к оценке типа микроокружения с целью индивидуализации лечения и разработки рационального дизайна клинических исследований тераностических пар. Приведены собственные данные о характере распределения субпопуляций лимфоцитов и супрессорных клеток миелоидного происхождения у пациентов с метастатическими формами различных опухолей. Рассмотрены нюансы создания и использования различных молекул адресной доставки при разработке диагностических и терапевтических радиофармпрепаратов. Описаны наиболее перспективные диагностические и терапевтические изотопы с точки зрения возможности оценки микроокружения и воздействия на него. В статье освещены современные и перспективные методы предварительного таргетинга для снижения токсичности и повышения эффективности тераностики. Рассмотрены также достоинства и недостатки тераностики по сравнению с другими методами системного лечения метастатических форм опухолей. Обозначены пути преодоления недостатков тераностики.

Ключевые слова: микроокружение; тераностика; иммуноонкология; радиофармпрепараты; предварительный таргетинг

Для цитирования: Молчанов О.Е., Майстренко Д.Н., Станжевский А.А. Возможности тераностики в визуализации микроокружения опухоли и элиминации его иммуносупрессивных компонентов. *Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2022;12(4):425–443. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-4-425-443>

O.E. Molchanov 
D.N. Maystrenko 
A.A. Stanzhevskiy 

Potential of Theranostics in Visualisation of the Tumour Microenvironment and Elimination of Its Immunosuppressive Components

A.M. Granov Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies,
70 Leningradskaya St., Pesochny, St. Petersburg 197758, Russian Federation

✉ Oleg E. Molchanov; molchanovo@mail.ru

ABSTRACT

Theranostics is a promising branch of nuclear medicine that uses radiopharmaceuticals for diagnosis and treatment of cancer, and immunotheranostics is a special area in it. The aim of the study was to summarise the potential of theranostics for visualisation of the tumour microenvironment and elimination of its immunosuppressive components. The article presents up-to-date information on the composition and interaction of various cell subpopulations in the tumour microenvironment, as well as on the role of cancer stem cells in its formation. It describes defects of signalling pathways and potential targets for theranostics of cancer stem cells. Also, the article provides a description of the mechanism of interaction between the tumour and the immune system in the process of carcinogenesis. The review offers a detailed analysis of approaches to assessing the type of tumour microenvironment in order to individualise treatment and develop a rational design of clinical studies of theranostic couples. The authors present their own data on the distribution of subpopulations of lymphocytes and myeloid-derived suppressor cells in patients with metastatic tumours. The authors have considered the nuances of creating and using various molecules for targeted delivery in the development of diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals. The most promising diagnostic and therapeutic isotopes are described from the point of view of assessing the microenvironment and the possibility of influencing it. The article highlights modern and promising methods of pre-targeting to reduce the toxicity and increase the effectiveness of theranostics. Furthermore, having compared the advantages and disadvantages of theranostics with those of other systemic treatment options for metastatic tumours, the authors outline possible ways to overcome the shortcomings of theranostics.

Key words: microenvironment; theranostics; immunooncology; radiopharmaceuticals; pre-targeting

For citation: Molchanov O.E., Maystrenko D.N., Stanzhevskiy A.A. Potential of theranostics in visualisation of the tumour microenvironment and elimination of its immunosuppressive components. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya. Regulyatornye issledovaniya i ekspertiza lekarstvennykh sredstv = Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2022;12(4):425–443. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2022-12-4-425-443>

Введение

В последнее десятилетие отмечается рост числа людей с онкологическими заболеваниями. И хотя в лечении многих патологий достигнуты существенные успехи благодаря внедрению новых подходов к терапии, на поздних стадиях увеличивается доля пациентов с опухолями, резистентными ко многим вариантам лечения [1, 2]. Стратегическая задача, которая стоит перед онкологами, — превратить рак в длительно текущее хроническое заболевание, хорошо контролируемое низкотоксичными методами. В реализации этой задачи прослеживаются три направления исследований: 1) поиск ключевых мишеней для создания таргетных препаратов;

2) индивидуализация лечебных программ, основанная на молекулярно-биологических характеристиках опухоли и прогнозе заболевания; 3) разработка новых вариантов лечения, обеспечивающих повышение эффективности за счет увеличения концентрации действующих веществ в очаге и снижения их токсичности.

Канцерогенез — многоступенчатый многокомпонентный процесс, затрагивающий изменения апоптоза, пролиферации, энергетики клетки, что приводит к формированию патологического микроокружения [3, 4]. Мульти-modalность канцерогенеза обуславливает необходимость применения комбинированных методов терапии, направленных на разные мишени. Ограничения

подобного подхода связаны с большой частотой побочных эффектов, высокой стоимостью лечения, а также достаточно коротким периодом времени, в течение которого указанная комбинация остается эффективной. Последнее обстоятельство связано с динамикой микроокружения опухоли, подробно описанной G.P. Dunn и соавт. в 2004 г. [5]. Согласно предложенной ими модели существуют три этапа взаимодействия опухолевых клеток и иммунной системы: элиминация, равновесие и ускользание. Каждый из них характеризуется определенным соотношением компонентов микроокружения и, в определенной степени, коррелирует с прогнозом заболевания. Опухолевое микроокружение состоит из экстрацеллюлярного матрикса и его продуцентов (фибробласты, мезенхимальные стромальные клетки, перicytes, адипоциты, эндотелиоциты), эффекторных и супрессорных компонентов иммунной системы. Даже малое количество опухолевых клеток, особенно если они представлены стволовыми или покоящимися, формирует микроокружение, резистентное к лучевой и лекарственной терапии [6–8].

Одним из перспективных направлений ядерной медицины является тераностика — использование радиофармпрепаратов для диагностики и лечения онкологических заболеваний, основной принцип которой — последовательная визуализация мишени и доставка терапевтического агента к ней. Иммунотераностика — современное направление тераностики, которое развивается в последние десять лет. Мишенями для иммунотераностики являются супрессорные компоненты микроокружения опухоли. Диагностический компонент может быть использован при разработке прогностических систем, а терапевтический должен со временем войти в стандарты лечения различных нозологических форм [9].

Цель работы — обобщить информацию о возможностях тераностики в визуализации микроокружения опухоли и элиминации его иммуносупрессивных компонентов.

Мишени для тераностики, связанные с микроокружением опухоли

Стволовые опухолевые клетки. С каждым днем появляется все больше свидетельств того, что наличие стволовых опухолевых клеток (cancer stem cells, CSC) обуславливает высокий риск метастазирования и резистентность опухоли к лекарственной терапии. CSC являются одним из перспективных биомаркеров прогноза при различных опухолях, а дефектные сигнальные пути являются мишенями для таргетных

препаратов. CSC представляют собой небольшую субпопуляцию клеток с поверхностным фенотипом CD44⁺CD24[−], высоким уровнем экспрессии альдегиддегидрогеназы (ALDH), высоким пролиферативным потенциалом, инвазивностью и эпителиально-мезенхимальным переходом (epithelial-mesenchymal transition, EMT). До сих пор остается неясным, образуются ли эти клетки из опухолевых или в результате мутации резидентных стволовых клеток. В клинических исследованиях продемонстрировано, что экспрессия CD44⁺CD24^{−/low} коррелирует с низкой эффективностью химиотерапии, высокой частотой отдаленного метастазирования, поражения лимфатических узлов, появлением рецидивов, в то время как уровень экспрессии ALDH является независимым прогностическим фактором в отношении отдаленных результатов лечения [10].

Самообновление CSC и, как следствие, другие свойства, обеспечивающие инвазивность опухоли, резистентность к терапии и высокий метастатический потенциал, обусловлены гиперактивацией ряда сигнальных путей, компоненты которых могут быть мишенями для радиофармпрепаратов: Notch, Wnt/ β -катенин, HH, STAT3, TGF- β , JAK/STAT.

Notch — сигнальный каскад, включающий семейство трансмембранных лигандов и их рецепторов, функционирование которых критично для пролиферации, дифференцировки клеток и поддержания гомеостаза. Дефекты этого каскада выявляются у пациентов с раком легкого, предстательной железы, колоректальным раком, раком молочной железы и гемобластомами. У человека семейство Notch состоит из 4 Notch-рецепторов (Notch 1–4) и 5 лигандов (Delta-like (DLL) 1,3,4; Jagged (JAG) 1, 2). Рецепторы локализованы на поверхности мембраны. При взаимодействии с лигандом за счет металлопротеиназ (ADAM 17, ADAM 10) происходит отщепление внутриклеточного Notch-домена (NICD), который инактивирует супрессор CBF-1 (в норме он инактивирован комплексом SMART), что приводит к дерепрессированию экспрессии генов-мишеней *Hes1* и *Hey1*. Рецепторы и лиганды сигнального каскада Notch участвуют в реализации ключевых процессов, обеспечивающих злокачественный потенциал опухоли: Notch-1 участвует в регуляции пролиферации, формировании инвазивности и химиорезистентности, Notch-2 — в инициации опухолевой трансформации, Notch-3 — в регуляции пролиферации и миграции клеток, формировании химиорезистентности, Notch-4 контролирует EMT

и формирование резистентности к эндокринной терапии, DLL-1 регулирует процессы межклеточного взаимодействия, DLL-3 блокирует индукцию апоптоза, DLL-4 активирует сигнальный путь NF-κB, обеспечивая экспрессию VEGF, JAG-1 способствует активации ангиогенеза, JAG-2 при взаимодействии с Notch-2 активирует пролиферацию опухолевых клеток. Ген-мишень *Hes1* запускает каскад реакций, участвующих в регуляции пролиферации и дифференцировки, а *Hey1* – неопластического ангиогенеза [11].

Wnt/β-катенин – сигнальный путь, имеющий ключевое значение в опухолевой инициации, EMT, формировании пула CSC и в метастазировании. В опухолевых клетках нарушено нормальное функционирование как канонического, так и неканонического Wnt/β-катенин пути. Канонический путь связан со стабилизацией β-катенина. У человека он включает 19 Wnt рецепторов и корецепторы (10 Frizzled (FZD)) и белок, связанный с липопротеином низкой плотности (LRP 5/6), а также ряд лигандов (WNT5A, WNT11, WNT3A), связанных с процессами миграции и инвазии. В отсутствие рецепторов β-катенин быстро разрушается мультипротеиновым «деструктурирующим комплексом». Связывание Wnt с рецепторами и корецепторами приводит к разрушению этого комплекса, что приводит к стабилизации β-катенина, транслокации его в ядро и активации транскрипционного фактора TCF/LEF. В дополнение к каноническому описанию два неканонических β-катенин независимых сигнальных пути, играющих существенную роль в процессе гаструляции. Один из них обеспечивает полярность клеток (planar cell polarity, PCP), а другой (Wnt/Ca²⁺) – внутриклеточный транспорт Ca²⁺, а также участвует в миграции клеток, адгезии и сепарации тканей в процессе эмбриогенеза [12].

HH (Hedgehog) – сигнальный путь, контролирующий самообновление популяции CSC при канцерогенезе. Семейство HH включает три секреторных лиганда: SHH (Sonic), экспрессируемый в эмбриональных клетках; IHH (Indian), выявляемый преимущественно в гемопоэтических стволовых клетках; DHH (Desert) – в клетках периферической нервной системы и яичках. HH, помимо лиганда, включает трансмембранный рецептор (PTCH) и корецептор (SMO), а также три транскрипционных фактора (GLI1-3), регулирующих экспрессию генов-мишеней, вовлеченных в формирование химиорезистентности и регуляцию ангиогенеза. В отсутствие лиганда SMO активирует фосфорилирование GLI1 протеин-киназой A (PKA), киназой гликоген-синтазы 3 (GSK3),

киназой казеина 1 (CK1), в результате чего образуется репрессор (GLIR), подавляющий экспрессию генов-мишеней. При взаимодействии лиганда с PTCH происходит фосфорилирование корецептора PKA и CK1, в результате чего образуется активатор (GLIA), активирующий экспрессию генов-мишеней. Гиперэкспрессия компонентов HH (SHH, GLI1/2, SMO) связана с инвазией, EMT, ангиогенезом и химиорезистентностью и ассоциирована с неблагоприятным прогнозом. Компоненты этого сигнального пути, особенно SMO и GLI, – мишени для препаратов, находящихся на разных этапах доклинических и клинических исследований [13].

TGF-β – член суперсемейства цитокинов, включающего более 30 функционально связанных факторов роста, в том числе 3 изоформы TGF-β (TGF-β1-3), которые принимают участие в регуляции процессов пролиферации, адгезии, апоптоза, дифференцировки и иммунорегуляции. Он ингибирует секрецию и регуляцию функций ряда цитокинов, включая IFN-γ, TNF-α, IL-2. Роль TGF-β в процессах канцерогенеза заключается в стимуляции эпителиально-мезенхимального перехода, пролиферации, ангиогенеза, EMT, иммуносупрессии. TGF-β секретируется клетками микроокружения, поддерживая CSC и запуская патологические процессы в опухолевых клетках, которые, в свою очередь, способствуют альтернативной поляризации предшественников иммунокомпетентных клеток [14].

Сигнальный путь JAK/STAT играет важную роль во многих биологических процессах, связанных с канцерогенезом. Он включает в себя киназы, активаторы транскрипции и различные лиганды. JAK – семейство безрецепторных тирозинкиназ, состоящее из четырех компонентов: JAK1, JAK2, JAK3 и TYK2. JAK1, JAK2 и TYK2 экспрессируются во многих клетках, JAK3 – в гемопоэтических стволовых клетках. STAT (signal transducer and activator of transcription) – семейство активаторов транскрипции: STAT 1–4, 5α, 5β, 6. В канцерогенезе наиболее изучена роль компонента STAT3. Он состоит из N-концевого домена, спирального участка, ДНК-связывающего домена, SH2 и трансактивационного доменов. Спиральный участок обеспечивает взаимодействие с другими транскрипционными факторами. Фосфорилирование тирозина в его составе, происходящее при контакте с лигандами, необходимо для димеризации, транслокации в ядро и связывания ДНК. JAK-киназы активируются при лиганд-рецепторном взаимодействии различных цитокинов (интерлейкины IL-6, IL-11, IL-27, IL-31), хемокинов (IL-8, CXCR12, CXCR7),

факторов роста (TGF- β , EGF, IGF, PDGF-C), пептидных гормонов (гастрин). Под действием цитокинов и факторов роста (IL-6, IL-8, TGF- β , IGF, EGF) происходит активация комплекса JAK/STAT3, который стимулирует экспрессию ряда генов, обеспечивающих эпителиально-мезенхимальный переход [15].

Мембранные антигены и компоненты сигнальных путей CSC — перспективные мишени для создания радиофармпрепаратов. Элиминация этого типа клеток приведет к исчезновению основных пусковых сигналов альтернативной поляризации миелоидных и лимфоидных предшественников клеток микроокружения.

Компоненты микроокружения опухоли с противоопухолевыми и проопухолевыми эффектами

Клеточные элементы в микроокружении могут способствовать иммунологической деструкции или росту опухоли. Под действием факторов опухоли и микроокружения изменяются функциональные свойства ряда иммунокомпетентных клеток, наиболее изученными из которых на данный момент являются опухоль-ассоциированные макрофаги (МФ, TAM), супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSCs), Т-регуляторные клетки (Treg), нейтрофилы (НФ), дендритные клетки (DC) и врожденные лимфоидные клетки (ILC). Ключевая роль в деструкции опухоли принадлежит макрофагам (субпопуляция M1), натуральным киллерам (NK), цитотоксическим лимфоцитам (CTL, CD8⁺).

В микроокружении опухоли и периферической крови существует две субпопуляции МФ — M1 и M2. M1 — классически активируемые МФ, поляризация которых из предшественников происходит под действием липополисахарида, IFN- γ и TNF- α . M2 — сборное название группы клеток макрофагального ряда (M2a, M2b, M2c, M2d), индуцирующихся под влиянием IL-4, IL-13, IL-10, TGF- β , Fc-рецепторов, комплемента и глюкокортикоидов. M2 образуются из моноцитов периферической крови, рекрутированных в очаг хемокиновыми лигандами (CCL-2, MCP-1), колониестимулирующими факторами (M-CSF, CSF-1) и сосудистым эндотелиальным фактором роста (VEGF), концентрация которых повышена в зонах с низким давлением кислорода. В зонах хронической гипоксии в макрофагах синтезируются гипоксия-индуцированные факторы (HIF-1 и HIF-2). Они дерепрессируют синтез ряда белков, повышающих инвазивный потенциал, стимулирующих ангиогенез (VEGF, bFGF, PDGF), метастазирование и EMT (MMP, CCL2, CCL18).

Кроме того, в них отмечается избыточная экспрессия аргиназы (Arg) и индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), снижающих концентрацию аргинина и триптофана, необходимых для нормального функционирования Т-лимфоцитов и NK.

MDSC (супрессорные клетки миелоидного происхождения) представляют собой гетерогенную группу клеток, образующихся из кроветворного предшественника — незрелых миелоидных клеток (iMC, CD31⁺CD11b⁺CD15⁺). В норме их созревание происходит в костном мозге и селезенке. В микроокружении под действием гуморальных факторов (VEGF, IL-3, IL-4, IL-6) и лигандов хемокинов (CXCL 2, 5, 12; CCL 2, 5) блокируется их дальнейшая дифференцировка, в результате чего они накапливаются в первичных и метастатических опухолевых очагах. У человека выявляется две субпопуляции MDSC: гранулоцитарные MDSC (gMDSC, CD11b⁺CD14⁺CD15⁺CD33⁺) и моноцитарные MDSC (mMDSC, CD11b⁺CD14⁺CD15⁺CD33⁺HLADR^{low}). MDSC — ключевые компоненты в индукции иммуносупрессии на фоне хронического воспаления. За счет активных метаболитов кислорода и азота они индуцируют анемию эффекторных клеток, способствуя рекрутингу Treg (Т-регуляторных клеток) в опухоль и поляризации предшественников МФ в сторону M2. Кроме того, MDSC стимулируют ангиогенез и способствуют поддержанию популяции CSC [16].

DC (дендритные клетки) — это высокоспециализированная субпопуляция, основной функцией которой является поглощение, процессинг и презентация антигенов в составе главного комплекса гистосовместимости I и II типа (MHC I и II) в комбинации с ко-стимулирующими молекулами Th (CD4⁺) непосредственно и опосредованно — CTL. В настоящее время в литературе описано как минимум шесть субпопуляций DC с разным биологическим потенциалом. Их активация происходит под действием «сигналов опасности», исходящих от опухолевых клеток, включающих хемокины и неоантигены. Созревание DC, помимо презентации антигенов, сопровождается экспрессией костимулирующих молекул (CD40, ICAM I, CD80/86, CD83), секретацией широкого спектра цитокинов (IFN- γ , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13) и миграцией в лимфатические узлы, где происходит запуск программы активации Th. У человека морфологически и функционально различают две субпопуляции DC: миелоидные (mDC) и плазмацитоидные (pDC). mDC — классические DC, имеющие фенотип CD11c⁺CD4⁺CD45RO⁺, экспрессирующие MHC I, II и запускающие иммунный ответ при контакте

с растворимыми антигенами. pDC с фенотипом CD11c⁺CD4⁺CD45RA⁺CD123⁺ и экспрессией МНС I поглощают клеточно-ассоциированные антигены [17].

Treg (Т-регуляторные клетки) — субпопуляция, составляющая примерно 5–10% от общего числа периферических лимфоцитов здорового человека и примерно 50% от популяции лимфоцитов с маркерами CD4⁺CD25⁺. Впервые описаны S. Sakaguchi и соавт. в 1995 г. В настоящее время им отводят ключевую роль в предотвращении развития аутоиммунных реакций в физиологических процессах и иммуносупрессии в канцерогенезе. Среди CD4⁺CD25⁺FoxP3 выделяются две субпопуляции. Одна из них имеет фенотип CD4⁺CD25^{hi}CTLA^{hi}FoxP3 и образуется в тимусе из недифференцированных лимфоцитов, другая, с фенотипом CD4⁺CD25^{variable}CTLA^{hi}FoxP3, возникает из периферических Т-хелперов под действием избыточной концентрации глюкокортикоидов, эстрогенов, IL-2 и TGF-β. Однако по функциям они идентичны. Механизм действия их связан с контактным ингибированием, секрецией супрессорных цитокинов (IL-10, IL-35, TGF-β), а также прямым лизисом иммунокомпетентных клеток [18].

NK (натуральные киллеры) образуются из общего лимфоидного предшественника в костном мозге, откуда в дальнейшем распространяются в первичные и вторичные лимфоидные органы, а также в легкие, печень, кровь. У человека выявляются две субпопуляции NK: CD56^{bright}CD16⁻ (цитокин-продуцирующая) и CD56^{dim}CD16⁺ (цитотоксическая). Кроме того, выделяют несколько групп NK в зависимости от степени зрелости, определяемой экспрессией маркеров CD27 и CD11b. Незрелые NK их не экспрессируют. В процессе созревания сначала появляется CD27, затем CD11b. NK с фенотипом CD27⁺ обладают наилучшей способностью к секреции цитокинов, с фенотипом CD11b⁺CD27⁻ — максимальной цитолитической активностью. NK могут элиминировать клетки, не экспрессирующие МНС I, а этот механизм используют зрелые клетки опухоли и CSC для предотвращения атаки со стороны цитотоксических лимфоцитов. Потенциально NK являются наиболее эффективными звеном в борьбе с опухолью, но под действием факторов микроокружения (TGF-β, аденозин) они приобретают фенотип CD56^{bright}CD16⁻ и начинают экспрессировать проангиогенные регуляторы: матриксные металлопротеиназы (MMP9) и сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF-A), что повышает инвазивный потенциал опухоли

и приводит к истощению Т-клеток. Под влиянием CSC на мембране NK снижается экспрессия активирующих (NKp30, NKG2D, DNAM1) и повышается экспрессия ингибирующих (NKG2A, CD85j) рецепторов [19].

Прогностическая значимость субпопуляций Т-лимфоцитов (CD4⁺; CD8⁺) у больных с разными нозологическими формами отражена во многих публикациях. Авторы отмечают выраженность молекулярных дефектов этих клеток, приводящих к снижению цитолитической функции и ухудшению распознавания чужеродных антигенов. Преобладание в периферической крови зрелых форм по сравнению с недифференцированными (CD45RA⁺CD95⁻CD27⁺CD28⁺) и клетками памяти у больных с отдаленными метастазами является благоприятным фактором прогноза в отношении общей выживаемости [20].

Данные о предиктивной и прогностической роли различных субпопуляций В-лимфоцитов (CD19⁺, CD20⁺, CD38⁺) противоречивы. До сих пор остаются неясными детали взаимодействия В-лимфоцитов с опухолевыми клетками. Высокая плотность CD38⁺ в микроокружении опухоли и высокая концентрация в периферической крови — благоприятный прогностический фактор в отношении безрецидивной выживаемости у больных с меланомой и колоректальным раком. Недавно описана субпопуляция клеток с регуляторным потенциалом — B_{reg}. Они продуцируют IL-10 и TGF-β, способствуя генерации пула Treg [21].

Существует еще одна популяция лимфоидных клеток, влияющих на канцерогенез и формирование иммуносупрессивного микроокружения, — врожденные лимфоидные клетки (ILC). ILC возникают из общего лимфоидного предшественника с другими лимфоцитами. К настоящему времени выделяют три типа ILC: ILC1, ILC2, ILC3. Под действием IL-12, IL-15 и IL-18 изменяется профиль экспрессии этих клеток: ILC1 секретируют IFN-γ, стимулируя МФ и DC; ILC2 секретируют IL-5, IL-9, IL-13 и амфирегулин, усиливая секреторную активность Treg; ILC3 стимулируют стромальные клетки. ILC1 обладают противоопухолевой активностью. ILC3 вместе со стромальными клетками способствуют формированию лимфогенных метастазов. Высокая концентрация ILC2 связана с высокой частотой возникновения метастазов в легких и печени [22, 23].

Типы микроокружения опухоли

Визуализация мишеней, ассоциированных с противоопухолевыми эффектами, может служить инструментом прогноза заболевания, в то время

как поверхностные антигены иммуносупрессорных компонентов микроокружения, стволовых опухолевых клеток и стромы являются мишенями для разработки комплексов диагностических и терапевтических препаратов [24–30].

Использование тераностических пар является компонентом персонализированной медицины, но для получения данных об эффективности подобного подхода необходимо проведение клинических исследований, дизайн которых должен базироваться на знаниях о механизмах взаимного влияния компонентов микроокружения, его типе, а также особенностях клеточного состава при различных нозологических формах. В последнее десятилетие в связи с развитием новых методов исследования, а также с появлением иммуноонкологических препаратов повысился интерес к изучению количественных и качественных аспектов микроокружения опухоли, а также значения его для прогноза и предсказания эффективности различных видов лечения. Изучением этих вопросов занимается множество научных групп по всему миру.

Наличие лимфоидной инфильтрации, составляющей 50–60% от объема стромы, говорит о хорошем прогнозе и потенциальной чувствительности к иммуноонкологическим препаратам и химиотерапии. В 2016 г. X. Yu и соавт. провели метаанализ 17 публикаций результатов клинических исследований с участием 12 968 пациентов и пришли к заключению, что наличие опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TIL) является благоприятным прогностическим фактором в отношении безрецидивной выживаемости и предиктором ответа на неоадьювантную терапию. Наличие PD-1⁺TIL и Foxp3⁺TIL является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении общей выживаемости, а CD8⁺TIL — благоприятным в отношении общей и безрецидивной выживаемости [31].

В ходе изучения чувствительности опухоли к иммунотерапии было предложено несколько классификаций, основанных на составе, плотности и локализации иммунокомпетентных клеток. Единственная классификация, которая вошла в широкую клиническую практику, — иммунологический индекс, который используется для прогнозирования у больных колоректальным раком. Сущность его заключается в подсчете субпопуляций CD3⁺ и CD8⁺ в центре и в инвазивном крае опухоли. Индекс варьирует от 0 (низкая плотность и отсутствие обоих типов клеток в обоих регионах) до 14 (высокая плотность и локализация обоих типов

клеток в обоих регионах). В литературе эти два крайних варианта получили название «горячая» и «холодная» опухоль. Позднее тем же автором была предложена более совершенная классификация, включающая 4 подтипа опухолей с разными клеточными и молекулярно-биологическими характеристиками: 1) горячие опухоли: высокая степень инфильтрации Т-клетками, гиперэкспрессия костимулирующих и коингибирующих молекул: CTLA-4, TIM-3, LAG-3; 2) измененные иммуносупрессивные: инфильтрация Т-лимфоцитами низкая или отсутствует, присутствуют растворимые иммуносупрессивные медиаторы (IL-10, TGF-β), присутствуют MDSC, гиперэкспрессированы CTLA-4, TIM-3, LAG-3; 3) измененные иммуно-исключенные: инфильтрация Т-лимфоцитами отсутствует, выражены гипоксия и неоангиогенез, гиперэкспрессированы онкогены; 4) холодные опухоли: отсутствует инфильтрация Т-лимфоцитами, нет признаков реализации иммунного ответа [32, 33].

Данные, полученные в ФГБУ «РНЦРХТ им. акад. А.М. Гранова» Минздрава России, выявили различия в субпопуляционном составе клеток микроокружения опухоли при различных нозологических формах, что необходимо учитывать при разработке рационального дизайна клинических исследований радиофармпрепаратов (табл. 1).

Полученные данные позволяют прийти к заключению о том, что у больных с опухолями, традиционно считающимися наиболее чувствительными к иммунотерапии (меланома, почечно-клеточный рак), в первую очередь целесообразно использовать диагностические радиофармпрепараты к коингибирующим молекулам (PD-L1, CTLA-4) для оценки целесообразности лечения ингибиторами контрольных точек и к эффекторным компонентам микроокружения (цитотоксические лимфоциты, Т-хелперы I типа) для прогнозирования эффективности лечения. Кроме того, особенности клеточного состава микроокружения при этих патологиях позволяют предполагать, что эффективными могут оказаться тераностические пары к антигенам Т-регуляторных клеток. У больных с опухолями, которые всегда считались наиболее резистентными к различным вариантам иммунотерапии (трижды негативный рак молочной железы), с большой вероятностью можно получить клинический эффект при использовании препаратов, направленных на супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC).

Таблица 1. Относительные показатели иммунологических компонентов микроокружения опухоли**Table 1.** Relative values of immunological components of the tumour microenvironment

Субпопуляции клеток <i>Cell subpopulations</i>	ПКР <i>RCC, ME (RQ)</i>	РМП <i>MIBC, ME (RQ)</i>	ТНРМЖ <i>TNBC, ME (RQ)</i>	Меланома <i>Melanoma, ME (RQ)</i>
CD3 ⁺ CD16 ⁻	71,1 (71,0; 87,1)	68,9 (65,0; 87,1)	71,2 (69,0; 80,1)	71,1 (70,0; 87,0)
CD3 ⁺ CD8 ⁺	23,1 (19,0; 30,1)	32,2 (22,0; 36,2)	22,2 (19,0; 27,9)	23,7 (21,0; 26,1)
CD3 ⁺ CD4 ⁺	32,1 (27,0; 40,1)	33,6 (29,0; 37,6)	30,0 (27,6; 35,0)	33,8 (30,1; 34,0)
CD4 ⁺ CD8 ⁺	0,2 (0,0; 1,0)	0,4 (0,3; 1,2)	0,2 (0,0; 2,9)	0,4 (0,0; 0,9)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	10,2 (7,6; 11,1)	9,2 (8,6; 11,3)	10,2 (8,4; 11,2)	10,7 (9,1; 11,4)
CD16 ⁺ CD56 ⁺ HLADR ⁺	2,7 (0,0; 3,2)	3,6 (2,2; 4,7)	2,9 (1,5; 3,7)	4,1 (0,0; 3,2)
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	2,4 (1,2; 3,2)	3,3 (3,1; 4,6)	3,7 (2,2; 4,1)	3,2 (2,5; 3,9)
CD3 ⁺ CD19 ⁺	7,4 (5,2; 8,2)	9,6 (8,2; 10,4)	8,7 (7,9; 9,4)	8,6 (8,1; 9,3)
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	18,4 (9,2; 21,1)	11,4 (10,2; 13,0)	12,1 (10,2; 18,0)	17,7 (10,0; 19,3)
αβT	64,1 (59,0; 77,1)	65,2 (60,7; 74,0)	63,7 (61,0; 69,1)	78,2 (75,6; 83,0)
γδT	7,7 (5,9; 8,1)	8,4 (6,9; 8,7)	8,1 (7,6; 8,9)	8,4 (7,9; 9,2)
LIN ⁺ HLADR ⁺ CD33 ⁺ CD66b ⁺ CD14 ⁺ CD15 ⁺	0,22 (0,04; 0,40)	0,12 (0,00; 0,32)	0,032 (0,025; 0,150)	0,18 (0,10; 0,34)
LIN ⁺ HLADR ⁺ CD33 ⁺ CD66b ⁺ CD14 ⁺ CD15 ⁻	0,74 (0,62; 1,40)	0,62 (0,49; 1,80)	0,96 (0,45; 1,65)	0,77 (0,69; 1,57)

Примечание. ПКР — почечноклеточный рак; РМП — рак мочевого пузыря; ТНРМЖ — трижды негативный рак молочной железы; ME — медиана; RQ — межквартильный размах; CD3⁺CD16⁻ — зрелые Т-лимфоциты; CD3⁺CD8⁺ — цитотоксические лимфоциты; CD3⁺CD4⁺ — Т-хелперы; CD4⁺CD8⁺ — дубль-позитивные Т-клетки; CD3⁺CD16⁺CD56⁺ — натуральные киллеры; CD16⁺CD56⁺HLADR⁺ — активированные натуральные киллеры; CD3⁺CD16⁺CD56⁺ — TNK-клетки; CD3⁺CD19⁺ — В-лимфоциты; CD4⁺CD25⁺CD127⁻ — Т-регуляторные клетки; αβT — альфа/бета Т-клетки; γδT — гамма/дельта Т-клетки; LIN⁺HLADR⁺CD33⁺CD66b⁺CD14⁺CD15⁺ — гранулоцитарные супрессорные клетки миелоидного происхождения; LIN⁺HLADR⁺CD33⁺CD66b⁺CD14⁺CD15⁻ — моноцитарные супрессорные клетки миелоидного происхождения.

Note. RCC — renal cell carcinoma; MIBC — muscle-invasive bladder cancer; TNBC — triple-negative breast cancer; ME — median; RQ — interquartile range; CD3⁺CD16⁻ — T-lymphocytes; CD3⁺CD8⁺ — cytotoxic lymphocytes; CD3⁺CD4⁺ — T-helper cells; CD4⁺CD8⁺ — double-positive T-cells; CD3⁺CD16⁺CD56⁺ — natural killers; CD16⁺CD56⁺HLA DR⁺ — activated natural killers; CD3⁺CD19⁺ — B-lymphocytes; CD3⁺CD16⁺CD56⁺ — TNK cells; CD4⁺CD25⁺CD127⁻ — regulatory T-cells; αβT — alpha/beta T-cells; γδT — gamma/delta T-cells; LIN⁺HLADR⁺CD33⁺CD66b⁺CD14⁺CD15⁺ — granulocyte myeloid-derived suppressor cells; LIN⁺HLADR⁺CD33⁺CD66b⁺CD14⁺CD15⁻ — monocyte myeloid-derived suppressor cells.

Диагностические и терапевтические радиофармпрепараты с мишенями в микроокружении опухоли

Изотопы в составе радиофармпрепаратов могут доставляться без носителя или в составе комплексов с пептидами, полноразмерными антителами или их компонентами, липосомальными наноструктурами, а также стеклянными или резиновыми микросферами [34]. Для визуализации и элиминации компонентов микроокружения используются пептиды, антитела и их производные [35, 36]. Липосомальные наноструктуры исследуются в эксперименте. Микросферы применяются у больных гепатоцеллюлярным и колоректальным раком с метастазами в печень.

Молекулы адресной доставки радиофармпрепаратов к компонентам микроокружения опухоли. Моноклональные антитела с момента появления рассматривались как наиболее перспективные

нацеливающие модули для создания онкологических препаратов. В процессе их клинического использования специалисты выявили ряд проблем, связанных с иммуногенностью, что привело к развитию технологии получения фрагментов антител, сохраняющих способность селективного связывания с мишенью. Для создания радиофармпрепаратов помимо полноразмерных иммуноглобулинов используются также фрагменты антител, альтернативные каркасные белки и аптамеры (табл. 2).

Полноразмерные иммуноглобулины характеризуются длительным периодом полужизни в плазме, которая составляет 1–3 недели, что делает их идеальными кандидатами для создания терапевтических радиофармпрепаратов. В то же время для диагностики этот вид носителя малоприменим. Требуется несколько суток для достижения оптимального показателя опухоль/фон. Кроме того, печеночный клиренс

Таблица 2. Характеристики нацеливающих модулей, используемых для создания радиофармпрепаратов

Table 2. Characteristics of targeting modules used to create radiopharmaceuticals

Молекула <i>Molecule</i>	Состав <i>Composition</i>	Молекулярная масса (кДа) <i>Molecular weight (kDa)</i>	Период полураспада в плазме крови; Тип клиренса <i>Plasma half-life period; Clearance route</i>	Захват опухолью <i>Tumour uptake</i>
Антитела и их фрагменты <i>Antibodies and their fragments</i>				
IgG [37]	$(V_H \cdot V_L)_2$	150–160	7–20 сут; Печень <i>7–20 days; Liver</i>	+++++
F(ab') ₂ [38]	$(V_H C_H 1 \cdot V_L \cdot C_L)_2$	110	8–10 ч; Печень/почки <i>8–10 h; Liver/kidney</i>	++++
Минибоди [39] <i>Minibody [39]</i>	$(scFv \cdot C_H 1)_2$	75	5–10 ч; Печень <i>5–10 h; Liver</i>	++++
Fab'' [40]	$V_H C_H 1 \cdot V_L \cdot C_L$	50–55	12–20 ч; Почки <i>12–20 hours; Kidney</i>	+++
Диабоди [41] <i>Diabody [41]</i>	$(scFv)_2$	50	3–5 ч; Почки <i>3–5 h; Kidney</i>	+++
scFv [42]	$V_H \cdot V_L$	28	4–5 ч; Почки <i>4–5 h; Kidney</i>	++
Нанободи [43] <i>Nanobody [43]</i>	V_H или V_L <i>V_H or V_L</i>	12–15	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	++
Альтернативные каркасные белки <i>Alternative protein scaffolds</i>				
Аффибоди [44] <i>Affibody [44]</i>	Z домен белка A <i>S. aureus</i> <i>Z domain of S. aureus protein A</i>	7	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Домен типа ингибитора Кунитца [45, 46] <i>Kunitz-type protease inhibitors [45, 46]</i>	Протеазный ингибитор <i>Protease inhibitor</i>	7	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Антикалин® [47] <i>Anticalin® [47]</i>	Липокалины <i>Lipocalins</i>	18–20	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Дарпины [48] <i>DARPin [48]</i>	Анкириновые повторы <i>Ankyrin repeat proteins</i>	14–21	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Аднектин (монободи) [49] <i>Adnectin (monobody) [49]</i>	Десятый домен фибронектина-3 <i>10th fibronectin type III domain</i>	10	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Кноттин [46] <i>Knottin [46]</i>	Ингибитор узла цистеина <i>Inhibitor cystine knot</i>	2–3	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Альбумин-связывающий домен протеина стрептококка G (ADAPT) [45] <i>Albumin-binding domain of streptococcal protein G (ADAPT) [45]</i>	Альбумин-связывающий домен <i>Albumin-binding domain</i>	5	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Авимер [50] <i>Avimer [50]</i>	A домен мембранных рецепторов <i>A domain of membrane receptors</i>	4	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+
Центирин [46] <i>Centyrin [46]</i>	FnIII домен человеческого тенасцина С <i>FnIII domain of human tenascin-C</i>	10	30–60 мин; Почки <i>30–60 min; Kidney</i>	+

Примечание. Ig – иммуноглобулин (антитело); Fab – Fab-фрагменты антител; scFv – фрагмент антитела, включающий вариабельные участки обеих цепей; V_H , V_L – вариабельные участки тяжелых и легких цепей; CH1 – константный домен тяжелой цепи иммуноглобулина; + – +++++ – интенсивность накопления в опухоли.

Note. Ig – immunoglobulin (antibody); Fab – F(ab) fragments of antibodies; scFv – antibody fragment including variable regions of both chains; V_H , V_L – variable regions of the heavy and light chains; CH1 – constant domain of the heavy chain of immunoglobulin. + – +++++ – intensity of accumulation in the tumour.

может привести к радиационному повреждению гепатоцитов [36].

Классическое антитело состоит из двух тяжелых и двух легких цепей, каждая из которых содержит переменные (V) и константные (C) домены. Тяжелые цепи включают один переменный (V_H) и три константных домена (C_{H1} , C_{H2} , C_{H3}). Легкие цепи — один переменный (V_L) и один константный домены (C_L). V-домены обеспечивают связывание с антигеном, а C-домены — эффекторные функции. Переменные домены легких и тяжелых цепей (V_H , V_L) вместе с прилежащими к ним константными (C_{H1} , C_L) образуют Fab-фрагменты антител (fragment antigen binding), а оставшиеся — Fc-фрагменты (fragment crystallisable), с помощью которых антитело связывается с Fc-рецепторами на иммунокомпетентных клетках и реализует биологические функции.

Расщепление молекулы антитела папаином или пепсином приводит к образованию одновалентных Fab'- или бивалентных F(ab')₂-фрагментов. При дальнейших расщеплениях и комбинациях получают одноцепочечный фрагмент (scFv), где переменные участки тяжелых и легких цепей соединены коротким пептидом. Димеризация этого фрагмента с помощью короткого линкера приводит к формированию бивалентного диабоды. Существует также техническая возможность дальнейшей полимеризации с получением трехвалентного трибоды и четырехвалентного тетрабоды. Формирование связи за счет дисульфидного мостика приводит к образованию димера (dsFv), который также может быть дополнен пептидом (scdsFv). При связывании двух фрагментов scFv с помощью компонента тяжелых цепей образуется минибоды (scFv- C_{H1}). Нанободы (V_H или V_L) представляет собой одноцепочечный переменный домен легких или тяжелых цепей. В природе встречается у представителей семейства верблюдовых и акул. При снижении молекулярной массы фрагментов увеличивается глубина проникновения в ткани, но снижается захват опухолью и период полураспада в плазме [36].

Одновалентные Fab'- и бивалентные F(ab')₂-фрагменты по своим свойствам сходны с нативными антителами, но отличаются меньшей иммуногенностью. Они также являются хорошими кандидатами для создания терапевтических радиофармпрепаратов [38].

Помимо антител и их фрагментов для создания радиофармпрепаратов используются альтернативные каркасные белки (скаффолды). Они включают компактную и относительно жесткую

структуру, связанную с переменным, легко модифицированным фрагментом. Их отличает способность к хорошему проникновению в ткани и низкая стоимость производства. В настоящее время выделяют более тридцати типов альтернативных каркасных белков, но клинически значимыми являются аффибоды, Антикалин®, дарпин, аднектин, авимер, кноттин и домен типа ингибитора Кунитца. Препараты, созданные на их основе, с мишенями, относящимися к микроокружению опухоли, в настоящее время находятся на этапе доклинических исследований [45, 46].

Аффибоды представляет собой участок домена иммуноглобулин-связывающего белка A *Staphylococcus aureus*. Это наиболее изученный тип альтернативных каркасных белков. Они использованы в качестве нацеливающих модулей для создания препаратов, направленных на визуализацию ряда компонентов микроокружения опухоли: IL-1, 6, 8, 17, PD-L1, CD28 [44, 46].

Антикалин® создан на основе липокалинов — небольших экстрацеллюлярных белков, участвующих в трансдукции сигнала от гормонов и цитокинов. Мишенями для конструкций на их основе послужили VEGF-A, CTLA-4, CD137, CD98, IL-17, 23 [46, 47].

Дарпин — белок, включающий повторяющиеся домены длиной около 33 аминокислот, обладающие стабильной структурой из β -поворота и двух α -спиралей. На основе дарпинового каркаса получены белки, связывающие CD4, CD8, CD40, CD105, CD137, IL-4 [45, 46, 48].

Аднектин (монободы) — иммуноглобулиноподобный альтернативный каркасный белок представляющий собой десятый домен фибронектина III типа (¹⁰Fn3). Он обладает хорошей растворимостью и термостабильностью. На его основе созданы препараты для визуализации VEGFR-2, PD-L1, CD80, IL-6, IL-23, TNF- α [49].

Авимер — A-доменный белок, в первичной структуре которого имеется консервативный каркас, содержащий 6 остатков цистеина. На основе него сконструированы белки, связывающие IL-6, CD28, CD40L, cMet [45, 46, 50].

Другие альтернативные каркасные белки менее изучены. Есть лишь единичные сообщения о создании на их основе белков для связывания с радиофармпрепаратами. Кноттин относится к подклассу цистеин-связывающих протеинов, играющих важную роль в сигнальной трансдукции. Он послужил каркасом для создания

компонентов, связывающихся с CTLA-4, CXCR4, VEGF-A, IL-10. Домен типа ингибитора Кунитца относится к классу обратимых сериновых протеаз. Он состоит из 58 аминокислотных остатков, которые стабилизированы тремя дисульфидными связями. На его основе разработан елок, связывающийся с IL-6R [46].

В литературе описан ряд диагностических радиофармпрепаратов, созданных с использованием минибоди, диабоди и scFv, но наиболее перспективны для этих целей нанободи и аффибоди. Они полностью соответствуют требованиям, предъявляемым к этой группе лекарственных средств (табл. 3). Их низкая молекулярная масса, биологическая инертность, быстрый клиренс и отсутствие иммуногенности обеспечивают безопасность применения, возможность проведения позитронно-эмиссионной томографии / однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ПЭТ/ОФЭКТ) исследования в день введения препарата, а также хорошее соотношение сигнал/шум.

Диагностические изотопы, применяемые для визуализации компонентов микроокружения опухоли. Для создания диагностических радиофармпрепаратов в настоящее время применяются изотопы ^{11}C , ^{18}F , ^{68}Ga , ^{44}Sc , ^{64}Cu , ^{89}Zr , ^{124}I , $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Их физические свойства (период полураспада, энергия излучения) и особенности хелатирования определяет тип используемой молекулы-носителя [35, 51]. В иммуноонкологии

используются в основном ^{18}F , ^{68}Ga , ^{89}Zr , $^{99\text{m}}\text{Tc}$. Область их применения — визуализация мишеней в микроокружении и мониторинг CAR-T-терапии (табл. 4) [52].

При создании диагностических радиофармпрепаратов необходимо учитывать несколько важных моментов, связанных с особенностями визуализируемых мишеней. Во-первых, даже небольшие дозы облучения могут повлиять на функциональные свойства клеток, что особенно важно для препаратов, направленных на выявление Т-хелперов, натуральных киллеров и цитотоксических лимфоцитов. В целом, радиочувствительность уменьшается в следующем порядке: В-лимфоциты, недифференцированные Т-лимфоциты, Т-клетки памяти, натуральные киллеры с Т-клеточным рецептором, Т-регуляторные клетки. Клинические исследования ряда диагностических радиофармпрепаратов были прерваны вследствие радиотоксических эффектов в отношении цитотоксических лимфоцитов и Т-хелперов 1-го типа. В исследовании по мониторингу клеточной терапии с использованием химерных Т-клеточных рецепторов продемонстрировано, что изотопы вызывают апоптоз части клеток, хотя эффект этот выражен слабо и клинически был не значим [51, 52]. Во-вторых, хелатирование может изменять третичную структуру молекул адресной доставки, что особенно выражено при использовании низкомолекулярных компонентов (нанободи, аффибоди, пептиды). Это может приводить к изменениям

Таблица 3. Требования к молекулам адресной доставки в составе терапевтических и диагностических радиофармпрепаратов (по A.C. Freise, A.M. Wu [36], с изменениями)

Table 3. Requirements for molecules for targeted delivery of therapeutic and diagnostic radiopharmaceuticals (adapted from A.C. Freise, A.M. Wu [36])

Терапевтические радиофармпрепараты <i>Therapeutic radiopharmaceuticals</i>	Диагностические радиофармпрепараты <i>Diagnostic radiopharmaceuticals</i>
Низкая иммуногенность: человеческие или гуманизированные <i>Lack of immunogenicity: human or humanised</i>	
Сайт-специфическая конъюгация <i>Site-specific conjugation</i>	
Требование к мишени: высокий уровень экспрессии в опухоли, низкий — в здоровых тканях <i>Target requirements: high expression in disease state, low normal tissue background</i>	
Интернализация внутрь клетки: да — для конъюгатов, нет — для компонентов предварительного таргетинга <i>Target internalisation: yes for antibody–drug conjugates; no for pre-targeted applications</i>	Интернализация — необязательное условие <i>Target internalisation: residualising vs non-residualising labelling approaches available for either case</i>
Биологически активны <i>Biologically active</i>	Биологически инертны <i>Biologically inert</i>
Длительная персистенция в сыворотке крови <i>Long-lasting serum persistence</i>	Быстрый клиренс, высокая контрастирующая способность <i>Accelerated clearance, high contrast</i>
Печеночный клиренс <i>Normal hepatobiliary clearance</i>	Печеночный или почечный клиренс <i>Clearance directed via hepatobiliary or renal routes</i>

Таблица 4. Характеристики радионуклидов, используемых для создания диагностических радиофармпрепаратов к компонентам микроокружения опухоли (по D. Gosmann и соавт. [52], с изменениями)

Table 4. Characteristics of radionuclides used to create diagnostic radiopharmaceuticals targeting components of the tumour microenvironment (adapted from D. Gosmann et al. [52])

Радионуклид <i>Radionuclide</i>	ПЭТ/ОФЭКТ <i>PET/SPECT</i>	Период полураспада <i>Radionuclide half-life</i>	Энергия излучения (МэВ) <i>Positron energy (MeV)</i>	Способ производства <i>Production method</i>
¹⁸ F	ПЭТ <i>PET</i>	109,77 мин <i>109.77 min</i>	0,634	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
¹¹ C	ПЭТ <i>PET</i>	20,38 мин <i>109.77 min</i>	0,386	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁶⁸ Ga	ПЭТ <i>PET</i>	67,71 мин <i>67.71 min</i>	1,899	Генератор <i>Generator</i>
⁸⁹ Zr	ПЭТ <i>PET</i>	78,41 ч <i>78.41 h</i>	0,9	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁶⁴ Cu	ПЭТ <i>PET</i>	12,7 ч <i>12.7 h</i>	0,278	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁸⁶ Y	ПЭТ <i>PET</i>	14,7 ч <i>14.7 h</i>	0,66	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁵² Mn	ПЭТ <i>PET</i>	5,6 сут <i>5.6 days</i>	0,242	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁵⁵ Co	ПЭТ <i>PET</i>	17,5 ч <i>17.5 h</i>	0,57	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
¹⁵² Tb	ПЭТ <i>PET</i>	17,5 ч <i>17.5 h</i>	1,14	Протон-индуцированное расщепление <i>Proton-induced spallation</i>
⁹⁰ Nb	ПЭТ <i>PET</i>	14,6 ч <i>14.6 h</i>	0,62	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁷² As	ПЭТ <i>PET</i>	26 ч <i>26 h</i>	1,17	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
⁶⁹ Ge	ПЭТ <i>PET</i>	39,1 ч <i>39.1 h</i>	0,49	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
¹²⁴ I	ПЭТ <i>PET</i>	4,18 сут <i>4.18 days</i>	0,687	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
^{99m} Tc	ОФЭКТ <i>SPECT</i>	6,1 ч <i>6.1 h</i>	0,141	Генератор <i>Generator</i>
¹¹¹ In	ОФЭКТ <i>SPECT</i>	2,8 сут <i>2.8 days</i>	0,245	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
¹²³ I	ОФЭКТ <i>SPECT</i>	13,22 ч <i>13.22 h</i>	0,159	Циклотрон <i>Cyclotron</i>
¹³¹ I	ОФЭКТ <i>SPECT</i>	8,02 сут <i>8.02 days</i>	0,364	Реактор <i>Reactor</i>

Примечание. ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография; ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография.

Note. PET – positron emission tomography; SPECT – single-photon emission computed tomography.

прочности связывания с мишенью и функциональных свойств клеток-мишеней [53, 54].

¹⁸F – изотоп, который чаще других применяется для проведения ПЭТ-исследований. Низкая энергия излучения, производство с помощью циклотрона и почти двухчасовой период полураспада делает его пригодным для связывания со многими молекулами. Классический вариант фторирования, требующий высокой температуры и традиционных хелаторов NOTA и NODA,

может использоваться для термоустойчивых компонентов, в то время как комплекс [Al¹⁸F]²⁺ является альтернативным вариантом для термочувствительных фрагментов антител (Fab', scFv, диабоды, нанободы), где применимы другие варианты хелатирования (RESCA, FSB). На основе ¹⁸F созданы препараты для визуализации опухоли-инфильтрирующих клеток, несущих рецепторы к IL-2: Al[¹⁸F]F-RESCA-IL-2, [¹⁸F]-FSB-IL-2 [51].

^{68}Ga — радионуклид с примерно таким же периодом полужизни, что и у низкомолекулярных молекул-носителей (аффибоды, нанободы). Для хелатирования чаще всего применяют NOTA и DOTA, но в ряде случаев они могут быть заменены другими хелаторами (DFO, THP). На основе ^{68}Ga создан радиофармпрепарат для визуализации цитотоксических лимфоцитов: [^{68}Ga]Ga-NOTA-SNA006a [24].

^{89}Zr — радионуклид с периодом полужизни, позволяющим его конъюгировать с целыми молекулами иммуноглобулинов и фрагментами с периодом полужизни от часов до суток (Fab', минибоды). Для хелатирования чаще всего применяют DFO, реже — DOTA. На основе ^{89}Zr создан ряд диагностических препаратов для визуализации маркеров CD4, CD8, LAG3, CTLA-4, а также клеток с химерным антигенным рецептором (CAR-T): [^{89}Zr]Zr-Df-IAB22M2C, [^{89}Zr]Zr-malDFO-GK1.5cDb, [^{89}Zr]Zr-REGN3767, [^{89}Zr]Zr-Df-aTCRmu-F(ab')₂ [36, 51, 55].

$^{99\text{m}}\text{Tc}$ был исторически первым радиоизотопом, апробированным в иммуноонкологии. На его основе был создан препарат для визуализации рецепторов к IL-2 (CD25): HYNIC-IL2. Однако дальнейшие исследования продемонстрировали преимущества препарата, меченного ^{18}F [51].

Перспективные терапевтические изотопы для элиминации иммуносупрессивных компонентов микроокружения опухоли. Известно около трехсот радионуклидов, которые имеют потенциал применения в биологии и медицине. Свойства основных радионуклидов, применяемых в клинической практике, отражены в таблице 5.

Терапевтические радионуклиды, применяемые в онкологии, представлены α -эмиттерами (ядра гелия) и β -эмиттерами (электроны). Дополнительное фотонное и позитронное излучение позволяет визуализировать распределение терапевтических изотопов с помощью гамма-камер, однофотонной эмиссионной и позитронно-эмиссионной томографии.

β -эмиттеры лучше изучены в клинической практике. Пробег электронов в тканях составляет 1–5 мм. С точки зрения элиминации иммуносупрессивных компонентов микроокружения наиболее перспективным β -эмиттером является ^{177}Lu . Период полураспада (6 сут) и отрабатанные режимы хелатирования позволяют комбинировать его с иммуноглобулинами и их фрагментами. Кроме того, фотонное излучение с энергией 100–200 кэВ позволяет визуализировать распределение. Радиофармпрепараты с ^{177}Lu применяются для лечения рака предстательной железы и нейроэндокринных опухолей.

Пробег α -частиц в тканях составляет 50–100 мкм. При этом их энергия в 400 раз больше, чем у электронов. Воздействие α -частиц приводит к нерепарируемым двухцепочечным разрывам ДНК. Наибольший интерес с точки зрения иммуноонкологии представляет ^{225}Ac . Он применяется при лимфопролиферативных заболеваниях, но для лечения солидных опухолей пока не создано препаратов на его основе. Как известно, для элиминации опухолевых клеток необходима доза 50–80 Гр, а для большинства лимфом достаточно 3 Гр. По своим свойствам иммунные клетки микроокружения сходны с клетками лимфом, что делает ^{225}Ac пригодным для создания радиофармпрепаратов, направленных на иммуносупрессивные компоненты микроокружения [9, 34].

Таблица 5. Характеристики радионуклидов, применяемых для создания радиофармпрепаратов (по G. Sgourus и соавт. [34], с изменениями)

Table 5. Characteristics of radionuclides used to create radiopharmaceuticals (adapted from G. Sgourus et al. [34])

Радионуклид <i>Radionuclide</i>	α/β -эмиттер <i>Therapeutic emission</i>	Приблизительный пробег в тканях (мм) [50] <i>Approximate emission range in tissue (mm) [50]</i>	Период полураспада [51, 52] <i>Radionuclide half-life [51, 52]</i>
^{90}Y	β^-	5,3	64,1 ч / h
^{131}I	β^-	0,8	8,0 сут / days
^{153}Sm	β^-	0,4	46,5 ч / h
^{177}Lu	β^-	0,62	6,6 сут / days
^{211}At	α	0,05	7,2 ч / h
^{223}Ra	α	0,05–0,08	11,4 сут / days
^{225}Ac	α	0,05–0,08	10,0 сут / days
^{227}Th	α	0,05–0,08	18,7 сут / days

Большинство разработанных к настоящему времени радиофармпрепаратов используются для микроокружения и прогнозирования эффективности лечения ингибиторами контрольных точек (табл. 6). Терапевтические радиофармпрепараты разрабатываются во многих научных центрах и находятся в основном на доклиническом этапе исследований.

Пути повышения эффективности радиоиммунотерапии

Несмотря на очевидные преимущества радиоиммунотерапии по сравнению с другими вариантами системного лечения опухолей, существует ряд ограничений, препятствующих широкому внедрению этого метода в клиническую практику. Помимо требований радиационной безопасности, а также высокой стоимости

Таблица 6. Диагностические и терапевтические радиофармпрепараты с мишенями в микроокружении опухоли

Table 6. Diagnostic and therapeutic radiopharmaceuticals with targets in the tumour microenvironment

Мишень <i>Target</i>	Характеристика мишени <i>Target characteristics</i>	Молекула адресной доставки <i>Targeted delivery molecule</i>	Диагностический изотоп <i>Diagnostic isotope</i>	Терапевтический изотоп <i>Therapeutic isotope</i>
CD4 [9]	Маркер TH <i>TH marker</i>	IgG	^{99m} Tc	–
CD8 [9, 24, 51]	Корецептор TCR; маркер CTL <i>TCR co-receptor; CTL marker</i>	Диабоды, нанободы <i>Diabody, nanobody</i>	⁸⁹ Zr, ⁶⁴ Cu, ⁶⁸ Ga	–
CD2 [51]	Маркер Т-лимфоцитов и NK <i>T-lymphocyte and NK marker</i>	F(ab') ₂	⁸⁹ Zr	–
CD3 [51]	Основной корецептор TCR <i>Main TCR co-receptor</i>	IgG	⁸⁹ Zr	–
CD7 [51]	Рецептор Т-лимфоцитов <i>T-lymphocyte receptor</i>	F(ab') ₂	⁸⁹ Zr	–
CD20 [36]	Корецептор; маркер В-лимфоцитов <i>Co-receptor; B-lymphocyte marker</i>	IgG	⁶⁴ Cu	–
CD22 [34]	Рецептор В-лимфоцитов <i>B-lymphocyte receptor</i>	IgG	–	²²⁷ Th
CD56 (NCAM1) [36]	Маркер NK <i>NK marker</i>	IgG	Квантовые точки <i>Quantum dots</i>	–
CD206 [27, 28, 59]	Маннозный рецептор; маркер М и DC <i>Mannose receptor; M and DC marker</i>	IgG, scFv	¹²⁵ I, ¹⁸ F	–
FAP [29, 30]	Белок активации фибробластов <i>Fibroblast activation protein</i>	Производное хинолина <i>Chinoline derivative</i>	⁶⁸ Ga	–
PD-L1 (B7-H1, CD274) [25, 26]	Лиганд коингибитора PD-1 <i>PD-L1 co-inhibitor</i>	IgG	⁸⁹ Zr, ¹⁸ F	–
CTLA-4 [36]	Коингибитор CTL <i>CTL co-inhibitor</i>	IgG	⁶⁴ Cu, ⁸⁹ Zr	–
LAG-3 (CD 223) [55]	Коингибитор CTL <i>CTL co-inhibitor</i>	Нанободы <i>Nanobody</i>	^{99m} Tc	–
CAR-T [52]	Химерный антигенный рецептор Т-клеток <i>T-cell chimeric antigen receptor</i>	–	⁸⁹ Zr	–
IL-2 [51]	Цитокин; продукт TH1 <i>Cytokine; TH1 product</i>	–	^{99m} Tc, ¹⁸ F	–
Гранзим В [51] <i>Granzyme B [51]</i>	Сериновая протеаза; эффекторный белок NK и CTL <i>Serine protease; NK and CTL effector protein</i>	–	⁶⁸ Ga	–

Примечание. TCR – Т-клеточный рецептор; CTL – цитотоксический лимфоцит; NK – натуральный киллер; М – макрофаги; DC – дендритные клетки; TH – Т-хелперы; TH1 – Т-хелперы I типа; «–» – препараты не разработаны.

Note. TCR – T-cell receptor; CTL – cytotoxic lymphocyte; NK – natural killer; M – macrophage; DC – dendritic cell; TH – T-helper cell; TH1 – T-helper cell type I; «–» – medicinal products are not developed.

лечения, есть ряд технических проблем, решением которых занимается несколько научных групп в мире. Полноразмерные антитела характеризуются длительной персистенцией в крови, что может сопровождаться радиационным повреждением здоровых тканей, особенно выраженным при применении β -эмиттеров. Низкомолекулярные компоненты быстро элиминируются из крови и часто не могут обеспечить адекватное накопление радионуклида в опухоли. Для преодоления этих препятствий предложена стратегия претаргетинга, которая подразумевает двух- или трехэтапное введение компонентов терапевтического комплекса.

Концепция претаргетинга предполагает на первом этапе введение вектора, специфически связывающегося с мишенью, на втором — аккумуляцию в очаге и клиренс не связанных фрагментов, на третьем — введение радионуклида, конъюгированного с низкомолекулярным компонентом, связывающимся с молекулой адресной доставки. В течение последних десятилетий предложено четыре варианта претаргетинга, реализованных в нескольких проектах: система стрептавидин-биотин, биспецифические антитела, олигонуклеотиды, технологии биоортогональной химии.

Первым вариантом претаргетинга, который был предложен еще в девяностых годах двадцатого века, была система стрептавидин-биотин. Вначале вводится длительно персистирующий конъюгат моноклонального антитела и стрептавидина. Примерно через 20 ч с помощью поливалентной макромолекулы элиминируются несвязанные остатки антител. Еще через 1 ч вводится биотин, конъюгированный с терапевтическим изотопом, который образует прочную связь со стрептавидином. Эта стратегия реализована при создании препаратов для лечения гемобластозов, экспрессирующих CD20 и CD45. В качестве молекулы-носителя были выбраны фрагменты антител scFv, а терапевтические изотопы были представлены β -эмиттерами ^{90}Y и ^{177}Lu . Без претаргетинга соотношение активности опухоль:кровь составляло примерно 7:1, а с системой стрептавидин-биотин — 65:1 [60].

Технология применения биспецифических антител для претаргетинга была разработана практически одновременно с системой стрептавидин-биотин. Антитело связывается с антигеном на поверхности опухолевой клетки и с гаптеном, конъюгированным с изотопом. В качестве гаптена первоначально использовался этилендиаминтетраацетат, а в более поздних работах — диэтилтриаминпентаацетат

и гистидин-сукцинил-глицин. Эта технология была применена для лечения колоректального рака и В-клеточной лимфомы изотопами ^{131}I и ^{177}Lu [61].

В 2010 г. было предложено использовать олигонуклеотидную гибридизацию, включающую антитела, специфичные к опухолевым антигенам, изотопы и цепочки комплементарных олигонуклеотидов. На основе нее был создан ряд диагностических ($^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{111}In) и терапевтических препаратов (^{90}Y , ^{188}Re) [62].

Реакции биоортогональной химии основаны на быстром образовании прочной ковалентной связи между азидными и алкиновыми группировками. Претаргетинг реализуется за счет взаимодействия фосфиновой оболочки изотопа и азидной группы моноклонального антитела. Реакции биоортогональной химии легли в основу создания диагностических (^{68}Ga , ^{89}Zr) и терапевтических (^{177}Lu) препаратов, которые на моделях колоректального рака в эксперименте показали соотношение накопления в опухоли и крови 20:1 [63]. В настоящее время в нескольких лабораториях проводятся работы по модернизации этой технологии. Суть их заключается в том, что экспериментальным животным в корм добавляют синтетические моносахариды с азидными группами, которые в результате метаболических процессов оказываются на поверхности мембраны в составе гликокаликса. Азидные группы взаимодействуют с дибензоциклоактином (DBCO), конъюгированным с липосомами или другими наночастицами, несущими изотопы [62].

Заключение

Основываясь на современных представлениях о микроокружении опухоли, можно прийти к заключению, что радиофармпрепараты по сравнению со стандартными иммуноонкологическими препаратами имеют ряд преимуществ и недостатков при применении в диагностике и лечении. К преимуществам относятся отсутствие необходимости напрямую блокировать функции клеток-мишеней, короткий курс лечения, возможность воздействия на конгломераты иммуносупрессивных клеток, а также абскопальный эффект.

При разработке иммуноонкологических препаратов в роли мишени должны выступать молекулы, блокировка которых приводит к нарушению функции клеток. Для радиофармпрепаратов подобных ограничений нет. Функции молекул адресной доставки (пептидов, антител, их фрагментов и других низкомолекулярных

компонентов) сводятся лишь к транспортировке изотопа к мишени. При использовании конъюгатов антител с химиопрепаратами требуется подбор мишени, которая бы транспортировалась внутрь клетки вместе с терапевтическим комплексом, что необходимо для реализации цитотоксического эффекта. В случае радиофармпрепаратов, в которых используются β -эмиттеры, достаточно лишь взаимодействия с мембранным рецептором клеток-мишеней.

Для достижения клинического эффекта при использовании различных вариантов химиотерапии, иммуноонкологических препаратов и конъюгатов, как правило, требуются длительные курсы лечения, что сопровождается высокой частотой развития нежелательных реакций. Терапевтические радиофармпрепараты требуют не более 5–6 введений, что снижает частоту осложнений в виде аллопеции, периферической нейропатии и слабости. Кроме того, при однократном введении радиофармпрепаратов вводится меньшее количество белковых субстанций по сравнению с иммуноонкологическими, что способствует снижению числа иммуноопосредованных нежелательных реакций [64, 65].

Иммунокомпетентные клетки работают в кооперации, а для реализации их функций требуется контактное и дистантное взаимодействие. Применение радиофармпрепарата с β -эмиттером позволяет элиминировать сразу несколько типов иммуносупрессивных клеток.

Введение радиофармпрепаратов приводит к реализации абскопального эффекта за счет разрушения иммуносупрессивных и, частично, опухолевых клеток с выходом во внеклеточное пространство низкомолекулярных и высокомолекулярных компонентов, воспри-

нимаемых иммунной системой как «сигналы опасности», что способствует активации иммунного ответа [66].

Недостатки радиофармпрепаратов по сравнению с другими вариантами системного лечения фактически обусловлены теми же свойствами, что и достоинства. Основной задачей терапии диссеминированных форм опухолей, по современным представлениям, является достижение стойкой стабилизации. Ограниченные по времени возможности введения радиофармпрепаратов, обусловленные их радиотоксическим действием, не позволяют рассчитывать на них как на самостоятельный метод лечения. Компенсация этого недостатка лежит в плоскости рациональной комбинации с другими вариантами системного лечения.

Излучение изотопов повреждает не только клетки-мишени, но и соседние. С одной стороны, это приводит к более выраженному противоопухолевому эффекту, как было уже отмечено, а с другой, в перспективе, может провоцировать запуск механизмов воспаления, что, в свою очередь, будет способствовать опухолевой прогрессии. Какой из механизмов в итоге будет превалировать, можно выяснить лишь при проведении клинических исследований.

Применение радиофармпрепаратов для визуализации микроокружения опухоли и элиминации иммуносупрессивных компонентов является перспективным направлением развития онкоиммунологии. Преимущества подобного подхода связаны с возможностями использования сразу нескольких групп препаратов, направленных на разные мишени, а также с большим потенциалом комбинации с другими вариантами системного лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209–49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
2. Каприн АД, Старинский ВВ, Шахзадова АО, ред. *Состояние онкологической помощи населению России в 2019 году*. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России; 2020. [Kaprin AD, Starinsky VV, Shahzadova AO. *Malignant neoplasms in Russia in 2019 (morbidity and mortality)*. Moscow: P.A. Herzen MNIIOI – branch of the Federal State Budgetary Institution “National Medical Research Center of Radiology” of the Ministry of Health of Russia; 2020 (In Russ.)]
3. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011;144(5):646–74. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
4. Yang L, Lin PS. Mechanisms that drive inflammatory tumor microenvironment, tumor heterogeneity, and metastatic progression. *Semin Cancer Biol.* 2017;47:185–95. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.08.001>
5. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:329–60. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803>
6. Deshmukh A, Deshpande K, Arfuso F, Newsholme P, Dharmarajan A. Cancer stem cell metabolism: a potential target for cancer therapy. *Mol Cancer.* 2016;15(1):69. <https://doi.org/10.1186/s12943-016-0555-x>

7. Buoncervello M, Gabriele L, Toschi E. The Janus face of tumor microenvironment targeted by immunotherapy. *Int J Mol Science*. 2019;20(17):4320. <https://doi.org/10.3390/ijms20174320>
8. Jarosz-Biej M, Smolarczyk R, Cihon T, Kulach N. Tumor microenvironment as a «Game Changer» in cancer radiotherapy. *Int J Mol Science*. 2019;20(13):3212. <https://doi.org/10.3390/ijms20133212>
9. Schaefer N, Prior JO, Schottelius M. From theranostics to immunotheranostics: the concept. *Nucl Med Mol Imag*. 2020;54(2):81–5. <https://doi.org/10.1007/s13139-020-00639-6>
10. Talukdar S, Bhoopathi P, Emdad L, Das S, Sarkar D, Fisher PB. Dormancy and cancer stem cells: an enigma for cancer therapeutic targeting. *Adv Cancer Res*. 2019; 141:43–84. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2018.12.002>
11. Masuko K, Masaru K. Precision medicine for human cancers with Notch signaling dysregulation (Review). *Int J Mol Med*. 2020;45(2):279–97. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4418>
12. Zhang Y, Wang X. Targeting the Wnt/ β -catenin signaling pathway in cancer. *J Hematol Oncol*. 2020;13(1):165. <https://doi.org/10.1186/s13045-020-00990-3>
13. Garbalo GB, Honorato JR, Farias de Lopes GP, de Sampaio e Spohr TCL. A highlight on Sonic hedgehog pathway. *Cell Commun Signal*. 2018;16(1):11. <https://doi.org/10.1186/s12964-018-0220-7>
14. Battle E, Massaquoi J. Transforming grown factor- β signaling in immunity and cancer. *Immunity*. 2019;50(4): 924–40. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2019.03.024>
15. Owen KL, Brockwell NK, Parker BS. JAK-STAT signaling: a double-edged sword of immune regulation and cancer progression. *Cancers (Basel)*. 2019;11(12):2002. <https://doi.org/10.3390/cancers11122002>
16. Locati M, Curtale G, Mantovani A. Diversity, mechanisms and significance of macrophage plasticity. *Annu Rev Pathol*. 2020;15:123–47. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012418-012718>
17. Wculek SK, Cueto FJ, Mujal AM, Melero I, Krummel MF, Sancho D. Dendritic cells in cancer immunology and immunotherapy. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(1):7–24. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0210-z>
18. Lorenzo-Sanz L, Munoz P. Tumor-infiltrating immunosuppressive cells in cancer-cell plasticity, tumor progression and therapy response. *Cancer Microenviron*. 2019;12(2–3):119–32. <https://doi.org/10.1007/s12307-019-00232-2>
19. Chiossone L, Dumas PY, Vienne M. Natural killer cells and other innate lymphoid cells in cancer. *Nat Rev Immunol*. 2018;18(11):671–88. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0061-z>
20. Ostroumov D, Fekete-Drimusz N, Saborowski M, Kuhnel F, Woller N. CD4 and CD8 T lymphocyte interplay in controlling tumor growth. *Cell Mol Life Sci*. 2018;75(4):689–713. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2686-7>
21. Michaud D, Steward CR, Mirlekar B, Pylayeva-Gupta Y. Regulatory B cells in cancer. *Immunol Rev*. 2021;299(1):74–92. <https://doi.org/10.1111/imr.12939>
22. Vivier E, Artis D, Colonna M, Dieffenbach A, Di Santo JP, Eberl G, et al. Innate lymphoid cells: 10 years on. *Cell*. 2018;174(5):1054–66. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.017>
23. Bruchard M, Ghiringhelli F. Deciphering the roles of innate lymphoid cells in cancer. *Front Immunol*. 2019;10:656. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00656>
24. Tavares R, Escuin-Ordinas H, Mok S, McCracken MN, Zettlitz KA, Salazar FB. An effective immuno-PET imaging method to monitor CD8-dependent responses to immunotherapy. *Cancer Res*. 2016;76(1):73–82. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-1707>
25. Bensch F, van der Veen EL, Lub-de Hooge MN, Jorritsma-Smit A, Boellaard R, Kok IC, et al. ^{89}Zr -atezolizumab imaging as a noninvasive approach to assess clinical response to PD-L1 blockade in cancer. *Nat Med*. 2018;24(12):1852–8. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0255-8>
26. Niemeijer AN, Leung D, Huisman MC, Bahce I, Hoekstra OS, van Dongen GAMS, et al. Whole body PD-1 and PD-L1 positron emission tomography in patients with non-small-cell lung cancer. *Nat Commun*. 2018;9(1):4664. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07131-y>
27. Zhang C, Yu X, Gao L, Zhao Y, Lai J, Lu D, et al. Noninvasive imaging of CD206-positive M2 macrophages as an early biomarker for post-chemotherapy tumor relapse and lymph node metastasis. *Theranostics*. 2017;7(17):4276–88. <https://doi.org/10.7150/thno.20999>
28. Klug F, Prakash H, Huber PE, Seibel T, Bender N, Halama N, et al. Low-dose irradiation programs macrophage differentiation to an iNOS $^{+}$ /M1 phenotype that orchestrates effective T cell immunotherapy. *Cancer Cell*. 2013;24(5):589–602. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.09.014>
29. Giesel FL, Kratochwil C, Lindner T, Marschalek MM, Loktev A, Lehnert W, et al. ^{68}Ga -FAPI PET/CT: biodistribution and preliminary dosimetry estimate of 2 DOTA-containing FAP-targeting agents in patients with various cancers. *J Nucl Med*. 2019;60(3):386–92. <https://doi.org/10.2967/jnumed.118.215913>
30. Calais J. FAP: the next billion dollar nuclear theranostics target? *J Nucl Med*. 2020;61(2):163–5. <https://doi.org/10.2967/jnumed.119241232>
31. Yu X, Zhang Z, Wang Z, Wu P, Qiu F, Huang J. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Oncol*. 2016;18(5):497–506. <https://doi.org/10.1007/s12094-015-1391-y>
32. Galon J, Mlecnik B, Bindea G, Angell HK, Berger A, Lagorce C, et al. Towards the introduction of the «immunoscore» in the classification of malignant tumors. *J Pathol*. 2014;232(2):199–209. <https://doi.org/10.1002/path.4287>
33. Galon J, Bruni D. Approaches to treat immune hot, altered and cold tumors with combination immunotherapies. *Nat Rev Drug Discov*. 2019;18(3):197–218. <https://doi.org/10.1038/s41573-018-0007-y>
34. Sgouros G, Bodei L, McDevitt MR, Nedrow JR. Radiopharmaceutical therapy in cancer: clinical advances and challenges. *Nat Rev Drug Discov*. 2020;19(9):589–608. <https://doi.org/10.1038/s41573-020-0073-9>
35. Fu R, Carrol L, Yahioğlu G, Aboagye EO, Miller PW. Antibody fragment and affibody immunoPET imaging agents: radiolabeling strategies and ap-

- plications. *ChemMedChem*. 2018;13(23):2466–78. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201800624>
36. Freise AS, Wu AM. *In vivo* imaging with antibodies and engineered fragments. *Mol Immunol*. 2015;67(2 Pt A):142–52. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.04.001>
 37. Ogasawara A, Tinianow JN, Vanderbilt AN, Gill HS, Yee S, Flores JE, et al. ImmunoPET imaging of phosphatidylserine in pro-apoptotic therapy treated tumor models. *Nucl Med Biol*. 2013;40(1):15–22. <https://doi.org/10.1016/j.nucmedbio.2012.09.001>
 38. Lütje S, Franssen GM, Sharkey RM, Laverman P, Rossi EA, Goldenberg DM, et al. Anti-CEA antibody fragments labeled with [¹⁸F]AlF for PET imaging of CEA-expressing tumors. *Bioconjug Chem*. 2014;25(2):335–41. <https://doi.org/10.1021/bc4004926>
 39. Tavaré R, McCracken MN, Zettlitz KA, Knowles SM, Salazar FB, Olafsen T, et al. Engineered antibody fragments for immuno-PET imaging of endogenous CD8⁺ T cells in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(3):1108–13. <https://doi.org/10.1073/pnas.1316922111>
 40. Chakravarty R, Goel S, Valdovinos HF, Hernandez R, Hong H, Nickles RJ, Cai W. Matching the decay half-life with the biological half-life: immunoPET imaging with Sc-labeled Cetuximab Fab fragment. *Bioconjug Chem*. 2014;25(12):2197–204. <https://doi.org/10.1021/bc500415x>
 41. Tavaré R, Wu WH, Zettlitz KA, Salazar FB, McCabe KE, Marks JD, Wu AM. Enhanced immunoPET of ALCAM-positive colorectal carcinoma using site-specific Cu-DOTA conjugation. *Protein Eng Des Sel*. 2014;27(10):317–24. <https://doi.org/10.1093/protein/gzu030>
 42. Kim HY, Wang X, Wahlberg B, Edwards WB. Discovery of hapten-specific scFv from a phage display library and applications for HER2-positive tumor imaging. *Bioconjug Chem*. 2014;25(7):1311–22. <https://doi.org/10.1021/bc500173f>
 43. Bannas P, Well L, Lenz A, Rissiek B, Haag F, Schmid J, et al. In vivo near-infrared fluorescence targeting of T cells: comparison of nanobodies and conventional monoclonal antibodies. *Contrast Media Mol Imaging*. 2014;9(2):135–42. <https://doi.org/10.1002/cmml.1548>
 44. Strand J, Varasteh Z, Eriksson O, Abrahmsen L, Orlova A, Tolmachev V, et al. Gallium-68-labeled antibody molecule for PET imaging of PDGFR β expression in vivo. *Mol Pharm*. 2014;11(11):3957–64. <https://doi.org/10.1021/mp500284t>
 45. Брагина ОД, Чернов ВИ, Зельчан РВ, Синилкин ИГ, Медведева АА, Ларькина МС. Альтернативные каркасные белки в радионуклидной диагностике злокачественных новообразований. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019;18(3):125–33. [Bragina OD, Chernov VI, Zelchan RV, Sinilkin IG, Medvedeva AA, Larkina MC. Alternative scaffold proteins in radionuclide diagnostics of malignant neoplasms. *Bulleten sibirskoy meditsiny* = *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019;18(3):125–33 (In Russ.)] <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-3-125-133>
 46. Luo R, Liu H, Cheng Z. Protein scaffolds: antibody alternatives for cancer diagnosis and therapy. *RSC Chem Biol*. 2022;3(7):830–47. <https://doi.org/10.1039/D2CB00094F>
 47. Gille H, Hulsmeier M, Trentmann S, Matschiner G, Christian HJ, Meyer T, et al. Functional characterization of a VEGF-A-targeting Anticalin, prototype of a novel therapeutic human protein class. *Angiogenesis*. 2016;19(1):79–94. <https://doi.org/10.1007/s10456-015-9490-5>
 48. Williams GS, Mistry B, Guillard S, Ulrichsen JC, Sandcock AM, Wang J, et al. Phenotypic screening reveals TNFR2 as a promising target for cancer immunotherapy. *Oncotarget*. 2016;7(422):68278–91. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11943>
 49. Sirois AR, Deny DA, Li Y, Fall YD, Moore SJ. Engineered Fn3 protein has targeted therapeutic effect on mesothelin-expressing cancer cells and increases tumor cell sensitivity to chemotherapy. *Biotechnol Bioeng*. 2020;117(2):330–41. <https://doi.org/10.1002/bit.27204>
 50. Kohnehrouz BB, Talischian A, Dehnad A, Nayeri S. Novel recombinant traceable c-Met antagonist-avimer antibody mimetic obtained by bacterial expression analysis. *Avicenna J Med Biotech*. 2018;10(1):9–14. PMID: 29296261
 51. Gosmann D, Russelli L, Weber WA, Schwager M, Krackhardt AM, D'Alessandria C. Promise and challenges of clinical non-invasive T-cell tracking in the era of cancer immunotherapy. *EJNMMI Res*. 2022;12:5. <https://doi.org/10.1186/s13550-022-00877-z>
 52. Shao F, Long Y, Ji H, Jiang D, Lei P, Lan X. Radionuclide-based molecular imaging allows CAR-T cellular visualization and therapeutic monitoring. *Theranostics*. 2021;11(14):6800–17. <https://doi.org/10.7150/thno.56989>
 53. Turner JH. Recent advances in theranostics and challenges for the future. *Br J Radiol*. 2018;91(1091):20170893. <https://doi.org/10.1259/bjr.20170893>
 54. Slebe M, Pouw JEE, Hashemi SMS, Menke-van der Houven van Oordt C, Yaqub MM, Bahce I. Current state and upcoming opportunities for immunoPET biomarkers in lung cancer. *Lung Cancer*. 2022;169:84–93. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2022.05.017>
 55. Lecocq Q, Zeven K, Vlaeminck YD, Martens S, Massa S, Goyvaerts C, et al. Noninvasive imaging of the immune checkpoint LAG-3 using nanobodies, from development to clinical use. *Biomolecules*. 2019;9(10):548. <https://doi.org/10.3390/biom9100548>
 56. Eckerman K, Endo A. ICRP publication 107. Nuclear decay data for dosimetric calculations. *Ann ICRP*. 2008;38(3):7–96. <https://doi.org/10.1016/j.icrp.2008.10.004>
 57. Papadimitroulas P, Loudos G, Nikiforidis GC, Kagadis GC. A dose point kernel database using GATE Monte Carlo simulation toolkit for nuclear medicine applications: comparison with other Monte Carlo codes. *Med Phys*. 2012;39(8):5238–47. <https://doi.org/10.1118/1.4737096>
 58. Sgouros J, Bolch WE, Chiti A, Dewaraja YK, Emfietzoglou D, Hobbs RF, et al. ICRU report 96, dosimetry-guided radiopharmaceutical therapy. *J Int Comm Rad Units Meas*. 2021;21:1–212. <https://doi.org/10.1177/14736691211060117>
 59. Blykers A, Schoonooghe S, Xavier C, D'hoë K, Laoui D, D'Huyvetter M, et al. PET imaging of macrophage

- mannose receptor-expressing macrophages in tumor stroma using ^{18}F -radiolabeled camelid single-domain antibody fragments. *J Nucl Med*. 2015;56(8):1265–71. <https://doi.org/10.2967/jnumed.115.156828>
60. Goodwin DA, Meares CF, Osen M. Biological properties of biotin-chelate conjugates for pretargeted diagnosis and therapy with the avidin/biotin system. *J Nucl Med*. 1998;39(10):1813–8. PMID: 9776294
61. Boerman OC, van Schaijk FG, Oyen WJG, Corstens FHM. Pretargeted radioimmunotherapy of cancer: progress step by step. *J Nucl Med*. 2003;44(3):400–11. PMID: 12621007
62. Verhoeven M, Seimbille Y, Dalm SU. Therapeutic applications of pretargeting. *Pharmaceutics*. 2019;11(9):434. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11090434>
63. Knight JC, Cornelissen B. Bioorthogonal chemistry: implications for pretargeted nuclear (PET/SPECT) imaging and therapy. *Am J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;4(2):96–113. <https://doi.org/10.3390/biom9100548>
64. Wong CH, Siah KW, Lo AW. Estimation of clinical trial success rates and related parameters. *Biostatistics*. 2018;20(2):273–86. <https://doi.org/10.1093/biostatistics/kxx069>
65. Lin A, Giuliano CJ, Palladino A, John KM, Abramowicz C, Yuan ML, et al. Off-target toxicity is a common mechanism of action of cancer drugs undergoing clinical trials. *Sci Transl Med*. 2019;11(509):eaaw8412. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaw8412>
66. Jagodinsky JC, Morris ZS. Priming and propagating anti-tumor immunity: Focal hypofractionated radiation for in situ vaccination and systemic targeted radionuclide theranostics for immunomodulation of tumor microenvironments. *Semin Radiat Oncol*. 2020;30(2):181–6. <https://doi.org/10.1016/j.semradonc.2019.12.008>

Вклад авторов. О.Е. Молчанов — подготовка и редактирование текста рукописи; Д.Н. Майстренко — утверждение окончательного варианта рукописи; А.А. Станжевский — подготовка и редактирование текста рукописи.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства здравоохранения РФ (Государственное задание Э.03-2021; 121040200136-0).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. Oleg E. Molchanov — drafting and editing of the text of the manuscript; Dmitry N. Maystrenko — approval of the final version of the manuscript; Andrey A. Stanzhevskiy — drafting and editing of the text of the manuscript.

Acknowledgements. The work was carried out with the financial support of the Ministry of Health of the Russian Federation (State assignment Э.03-2021; 121040200136-0).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Молчанов Олег Евгеньевич, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3882-1720>
molchanovo@mail.ru

Майстренко Дмитрий Николаевич, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8174-7461>
may64@inbox.ru

Станжевский Андрей Алексеевич, д-р мед. наук.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1630-0564>
stanzhevsky@yandex.ru

Oleg E. Molchanov, Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3882-1720>
molchanovo@mail.ru

Dmitry N. Maystrenko, Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8174-7461>
may64@inbox.ru

Andrey A. Stanzhevskiy, Dr. Sci. (Med.).

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1630-0564>
stanzhevsky@yandex.ru

Статья поступила 24.10.2022

После доработки 31.10.2022

Принята к печати 21.11.2022

Article was received 24 October 2022

Revised 31 October 2022

Accepted for publication 21 November 2022