

УДК 577.27

Противоопухолевые вакцины на основе дендритных клеток: от экспериментов на животных моделях до клинических испытаний

О. В. Марков*, Н. Л. Миронова†, В. В. Власов, М. А. Зенкова

Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, 630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

E-mail: *markov_oleg@list.ru; †mironova@niboch.nsc.ru

Поступила в редакцию 01.12.2016

Принята к печати 07.06.2017

РЕФЕРАТ Стандартные методы терапии опухолевых заболеваний обладают рядом недостатков, главные из которых неспецифичность и тяжелые побочные эффекты. Кроме того, опухолевые заболевания сопряжены с подавлением иммунной системы, что может быть причиной неэффективности стандартных методов лечения. Поэтому актуальной представляется разработка иммунотерапевтических подходов, обладающих специфическим противоопухолевым действием и приводящих к активации иммунной системы. Среди множества методов выделяются вакцины на основе дендритных клеток (ДК), нагруженных опухолевыми антигенами *ex vivo*, способные индуцировать противоопухолевый ответ цитотоксических Т-клеток. В настоящем обзоре рассмотрены подходы к приготовлению ДК-вакцин, а также результаты изучения противоопухолевой активности ДК-вакцин на мышинных моделях *in vivo* и в клинических испытаниях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА дендритные клетки, доставка опухолевых антигенов, клинические испытания, мышинные модели опухолевых заболеваний, противоопухолевые вакцины.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ АГ – антиген; АПК – антигенпредставляющие клетки; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; ДК – дендритные клетки; ИЛ – интерлейкин; ИФН – интерферон; НК – нуклеиновая кислота; ОАГ – опухолеассоциированные/опухолеспецифические антигены; ПКФ – простатическая кислая фосфатаза; Трег – регуляторные Т-клетки; УФ – ультрафиолет; ФНО – фактор некроза опухоли; ЦИК – цитокин-индуцированные киллерные клетки; ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты; ЦФ – циклофосфамид; ДТН – реакция гиперчувствительности (IV) типа; HLA – человеческий лейкоцитарный антиген; KLH – гемоцианин моллюска *Fissurella apertura*; OVA – овалбумин; SVV – сурвивин; TLR – толл-подобный рецептор; ЦТЛ – цитотоксические Т-лимфоциты.

ВВЕДЕНИЕ

Дендритные клетки (ДК) – профессиональные антигенпредставляющие клетки, главной функцией которых являются захват антигенов, процессинг и представление их наивным Т-лимфоцитам для активации иммунного ответа против захваченного антигена. Уникальная способность ДК активировать CD4⁺ Т-хелперные клетки и CD8⁺ цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) и определять таким образом направленность иммунных реакций привлекает все большее внимание при создании противоопухолевых вакцин, способных специфически действовать на определенные типы опухолей. Обнаружение опухолевых антигенов (ОАГ), т.е. белков, сверхэкспрессия которых специфична для определенных типов опухолей, стало толчком к их использованию для на-

грузки ДК. Сейчас известны ОАГ таких типов опухолей, как меланома (gp100, Melan-A/Mart-1, тирозиназа, MAGE-1 [1, 2]), рак предстательной железы (PSA [3], PSCA [4]) и др.

В настоящее время противоопухолевые ДК-вакцины активно изучают на мышинных моделях *in vivo* и в клинических испытаниях. В 2010 году Управлением по контролю качества пищевых продуктов и медикаментов США (FDA) была одобрена первая и пока единственная в мире терапевтическая клеточная вакцина Sipuleucel-T против устойчивого к кастрации метастатического рака предстательной железы на основе ДК, нагруженных рекомбинантным гибридным белком, состоящим из простатической кислой фосфатазы (ПКФ) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора

(ГМ-КСФ) [5]. Таким образом, существуют все основания для появления в ближайшем будущем высокоэффективных противоопухолевых иммунотерапевтических подходов, основанных на применении модифицированных дендритных клеток.

В настоящем обзоре стратегии применения ДК, активированных под действием разных ОАГ, рассмотрены на мышинных моделях опухолевых заболеваний *in vivo* и в клинических исследованиях.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ДК-ВАКЦИН

Можно выделить четыре главные группы подходов к терапии опухолей с использованием ДК: (1) инъекции ДК, нагруженных опухолевыми антигенами *ex vivo*; (2) системное введение опухолевых антигенов для нагрузки ДК *in vivo*; (3) инъекции немодифицированных зрелых ДК; (4) инъекции экзосом ДК. В настоящем обзоре мы остановимся на классических ДК-вакцинах, приготовленных путем нагрузки ДК опухолевыми антигенами *ex vivo*.

В качестве источников предшественников ДК (преДК) при приготовлении ДК-вакцин обычно используют клетки костного мозга (в работах с мышинными моделями) и моноциты периферической крови (в клинических исследованиях). Стандартный способ приготовления ДК-вакцин представляет собой инкубацию преДК в присутствии цитокинов ГМ-КСФ и ИЛ-4 в течение 6–8 дней, нагрузку незрелых ДК опухолевыми антигенами с последующей активацией созревания ДК с помощью воспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИФН- γ и др.) или ксеногенных факторов – ЛПС (бактериального липополисахарида), ОК432 (*Streptococcus pyogenes* низкой вирулентности), КЛН (гемоцианина моллюска *Fissurella apertura*) и др.

На эффективность противоопухолевого иммунного ответа, активируемого модифицированными ДК, большое влияние оказывают ОАГ, которыми нагружают незрелые ДК. В качестве источников ОАГ используют: лизаты опухолей [6–9], синтетические опухолеспецифические пептиды [10–13], опухолевые белки [14], апоптотические опухолевые клетки [15], нуклеиновые кислоты (ДНК [16], мРНК [17], суммарную опухолевую РНК [18, 19]) и вирусные векторы [15, 20], кодирующие ОАГ, а также иммуностимулирующие молекулы (ИЛ-12 [21, 22]), факторы пролиферации (ГМ-КСФ [23]) и хемотаксические сигналы (лимфотактин [24]).

Незрелые ДК способны захватывать опухолевые антигены с помощью множества механизмов, таких, как фагоцитоз, макропиноцитоз, рецепторопосредованный эндоцитоз и др., поэтому доставку опухолевых антигенов белковой природы (белки, пептиды

и лизаты) или апоптотических опухолевых клеток в ДК осуществляют путем пассивного добавления ОАГ к незрелым ДК.

В случае доставки в ДК нуклеиновых кислот (НК), кодирующих ОАГ, приходится использовать более сложные подходы. НК представляют собой гидрофильные полианионные молекулы, которые, во-первых, со слабой эффективностью электростатически взаимодействуют с отрицательно заряженной плазматической мембраной клетки, во-вторых, не способны проникать внутрь клетки через гидрофобный липидный бислой клеточной мембраны. Более того, в биологических жидкостях незащищенные НК быстро разрушаются нуклеазами. Также известно, что свободные мРНК способны взаимодействовать с толл-подобными рецепторами (TLR3, TLR7, TLR8), что приводит зачастую к нежелательной активации иммунной системы [25]. Поэтому для доставки НК в ДК используют физические методы (электропорация [16, 26–28], сонопорация [29, 30]); вирусные системы (аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, лентивирусы, вирус осповакцины и др.) [31–38]; невирусные системы (поликатионные полимеры [31, 39–41], катионные липосомы [28, 42–45]).

ПРИМЕНЕНИЕ ДК, НАГРУЖЕННЫХ ОАГ, В ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

В табл. 1 и 2 представлены результаты изучения противоопухолевых ДК-вакцин на мышинных моделях (работы 2010–2015 гг.) и в клинических испытаниях (работы 2005–2015 гг.). При отборе исследований учитывали разнообразие заболеваний, подвергавшихся лечению ДК-вакцинами, а также источники ОАГ для нагрузки ДК. Следует отметить высокое разнообразие источников ОАГ, используемых для нагрузки ДК, в работах с мышинными моделями опухолевых заболеваний, начиная от классических опухолевых пептидов и лизатов и заканчивая производными нейраминовой кислоты и живыми опухолевыми клетками. В клинических испытаниях в качестве основных источников ОАГ для нагрузки ДК использовали, прежде всего, АГ белковой природы – лизаты опухолевых клеток, белки и пептиды. Использовали также разные способы введения вакцины (внутрикожные, внутривенные, в лимфатические узлы и т.д.) [46].

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДК-ВАКЦИН НА МЫШИНЫХ МОДЕЛЯХ *in vivo*

Нами рассмотрены результаты 15 исследований ДК-вакцин, выполненных с 2010 по 2015 год на мышинных моделях. Среди них восемь посвящены терапевтическим ДК-вакцинам, в которых ДК вводили

Таблица 1. Эффективность ДК-вакцин на мышинных моделях опухолей *in vivo*

Тип опухоли	Тип АГ	Схема лечения*	Результат	Ссылка
Рак толстого кишечника	Пептид AN1 (фрагмент gp70); хелперный белок овалальбумин (OVA)	п/к, 5×10^5 клеток/мышь; 2 раза с интервалом 7 сут	↓ размеров опухоли СТ26; ↑ пролиферации ЦТЛ; ↑ продолжительности жизни животных	[47]
	Аденовирусные векторы, кодирующие СЕА и SVV; гибридный белок CAR-TAT	п/к, 1×10^6 клеток/мышь; 2–3 раза с интервалом 7 сут	Для ДК, экспрессировавших одновременно СЕА и SVV: ↑ реактивности спленоцитов против МС38/СЕА2 <i>in vitro</i> ; ↓ роста опухоли, более эффективное в присутствии CAR-TAT	[48]
Гепатоцеллюлярная карцинома	Аденовирусный вектор, кодирующий FAT10; ФНО- α	Профилактическая: п/к, 1×10^6 кл/мышь; 3 раза спустя 3 сут после п/к введения Нер3G клеток	↑ цитотоксичности ЦТЛ против Нер3G; ↓ размеров опухоли Нер3G; ↑ продолжительности жизни животных	[49]
	Гибридный белок Ca9-AbOmpA, или лизат клеток RENCA-Ca9	п/к, 1×10^6 клеток/мышь; 3 раза с интервалом 7 сут	↓ роста опухоли в 1.5–3 раза ↑ секреции ИЛ-2, ИФН- γ и ФНО- α Т-клетками <i>in vitro</i> ; ↑ реактивности спленоцитов против RENCA-Ca9	[50]
Лимфома Дальтона	Лизат клеток лимфомы Дальтона; ИЛ-15; комбинация с кукурбитаценом I, ИЛ-15	в/б, 1×10^6 клеток/мышь; 6 раз с интервалом 4 сут в/б, 10 инъекций (1 мг/кг) кукурбитаценом I с интервалом 1 сут в течение 19 сут в/в, 5 инъекций ИЛ-15 (8 мкг/кг) с 25 по 33 сут	Группа ДК/лизат/ИЛ-15 + кукурбитаценом I: ↑ выживаемости животных (51 сут), контроль – 22 сут; нет полного выздоровления. Группа ДК/лизат/ИЛ-15 + кукурбитаценом I + ИЛ-15: ↑ выживаемости животных, 70% живых животных к 60-му дню, полное излечение от опухоли. Аккумуляция CD4 ⁺ и CD8 ⁺ Т-лимфоцитов в метастазах	[51]
Лимфома EL4	Лизат клеток EL4; полисахарид G1-4A <i>Tinospora cordifolia</i>	Профилактическая: п/к, 5×10^5 клеток/мышь; 3 раза с интервалом 7 сут; терапевтическая: п/к, 5×10^5 клеток/мышь; на 3, 7 и 10 дни развития опухоли	↓ размера опухоли в 2.2–3.8 раза в профилактической схеме; ↓ размера опухоли в 2.1–2.6 раза в терапевтической схеме	[52]
Лейкоз FBL3, меланома B16F10 (модифицированные, экспрессируют N-фенилацетил-D-нейраминовую кислоту)	GM3NPhAc-KLN; комбинация с ManNPhAc	Профилактическая: п/к, 1×10^6 клеток/мышь; 3 раза с интервалом 7 сут; в/б ManNPhAc (50 мг/кг веса) 7 раз каждый день после трансплантации опухоли	↑ цитотоксичности ЦТЛ против модифицированных клеток FBL3; ↓ размера опухоли FBL3 в 2.5 раза; ↑ продолжительности жизни животных; ↓ количества легочных метастазов B16F10 в 2 раза	[53]
Опухоль молочной железы 4T1	Лизат клеток 4T1, siRNK против IDO	в/в, 2×10^6 клеток/мышь; 3 раза с интервалом 7 сут	↓ размера опухоли в 2 раза; ↓ апоптоз CD4 ⁺ и CD8 ⁺ Т-лимфоцитов; ↑ пролиферации ЦТЛ; ↓ количество Трег-клеток	[54]

Меланома B16	мРНК β_2m -опухолевый пептид-TLR4 (электропорация)	Профилактическая: в/б, 2.5×10^6 клеток/мышь, 3 раза с интервалом 7 сут; терапевтическая: в/б, 2.5×10^6 клеток/мышь, 3 раза с интервалом 7 сут	Созревание ДК. Активация ЦТЛ. Полная защита от развития опухоли в профилактической схеме. \uparrow продолжительности жизни животных в терапевтической схеме	[55]
	Суммарный белок клеток меланомы (сонопорация)	Профилактическая: п/к, 1×10^6 клеток/мышь; 2 раза с интервалом 7 сут	\downarrow количества легочных метастазов в 4 раза	[30]
	Живые клетки B16; ЛПС	Профилактическая: в/в, 5×10^6 клеток/мышь; 2 раза с интервалом 14 сут	Полное отсутствие опухоли B16; \uparrow количества ЦТЛ	[56]
	Живые или апоптотические клетки B16, пептиды gp100 ²⁵⁻³³ и TRP ¹⁸¹⁻¹⁹⁸ , ЛПС и ИФН- γ	в/в, 5×10^6 клеток/мышь; 2 раза с интервалом 7 сут	\downarrow количества легочных метастазов в 14.3 раза (ДК-живые клетки B16); \downarrow количества легочных метастазов в 2–2.7 раза (ДК-пептиды и апоптотические клетки B16)	[57]
Карцинома легких Льюис (LLC)	Аденовирусный вектор, кодирующий ливин α человека	Профилактическая: п/к, 5×10^5 клеток/мышь; 3 раза с интервалом 7 сут; терапевтическая: п/к, 5×10^5 клеток/мышь; 3 раза с интервалом 4 сут	\uparrow цитотоксичности ЦТЛ; полная выживаемость животных в профилактической схеме; \downarrow роста опухоли в 2 раза и \uparrow выживаемости мышей в терапевтической схеме	[58]
	Лизат клеток LLC	в/б, 1×10^5 клеток/мышь; 2 раза с интервалом 7 сут	\downarrow количества легочных метастазов в 2–7.5 раза	[59]
Плоскоклеточный рак легких SCCVII	Апоптотические клетки SCCVII	п/к, 1×10^6 клеток/мышь; 2 раза с интервалом 7 сут	\downarrow количества легочных метастазов в 3.9 раза; \uparrow выживаемости мышей в 2.4 раза; \uparrow цитотоксичности ЦТЛ	[60]

* – Лечение по терапевтической схеме, если не указано другое.

мышам, носителям опухолей; четыре – профилактическим ДК-вакцинам, в которых ДК вводили животным до трансплантации опухоли, и три исследования – обоим типам ДК-вакцин. Противоопухолевый потенциал ДК изучали на мышинных моделях таких опухолей, как опухоли толстого кишечника [47, 48], гепатоцеллюлярная карцинома [49, 50], лимфомы Дальтона [51] и EL4 [52], лейкоз FBL3 [53], опухоли молочной железы 4T1 [54], меланома B16 [30, 55–57], карцинома легких Льюис [58, 59] и плоскоклеточный рак легкого SCCVII [60] (табл. 1). Практически во всех рассмотренных работах ДК получали инкубацией костномозговых предшественников ДК в присутствии цитокинов ГМ-КСФ и ИЛ-4. Как терапевтические, так и профилактические ДК-вакцины животным обычно вводили 2–3 раза с интервалом в 7 дней преимущественно с помощью подкожных инъекций,

реже применяли внутрибрюшинные или внутривенные инъекции.

В качестве источника ОАГ для нагрузки ДК чаще всего использовали антигены белковой природы, прежде всего лизат и суммарный белок опухолевых клеток. Используемые вакцины можно разделить на: (1) ДК-вакцины без дополнительных стимулов (меланома B16 [30], карцинома легких Льюис [59]); (2) ДК-вакцины, дополнительно обработанные siРНК против иммуносупрессорного фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (опухоль молочной железы 4T1 [54]) или полисахаридным иммуностимулятором растительного происхождения (лимфома EL4 [52]); (3) ДК-вакцины, комбинированные с инъекциями кукурбитацина I, селективного ингибитора STAT3 опухолевых клеток (лимфома Дальтона [51]). Кроме того, на модели рака толстого кишечника в качестве

источника ОАГ использовали опухолевый пептид АН1 (фрагмент gr70) в сочетании с хелперным белком неопухолевой природы (овальбумин), основная функция которого заключалась в увеличении стабильности и эффективности презентации антигенов ДК Т-лимфоцитам [47]. В случае модели гепатоцеллюлярной карциномы для нагрузки ДК использовали гибридный белок, представляющий собой карбоангидразу 9, соединенную с мембранным белком бактерии *Acinetobacter baumannii* [50].

Еще один достаточно распространенный источник ОАГ для нагрузки ДК – апоптотические опухолевые клетки, использовали в модели плоскоклеточного рака легкого SCCVII [60].

ДК модифицировали также генетическими конструкциями, а именно аденовирусными векторами, кодирующими ОАГ (рак толстого кишечника [48], гепатоцеллюлярная карцинома [49], карцинома легких Льюис [58]), или мРНК, кодирующей гибридный полипептид β_2m -опухолевый пептид-TLR4, содержащий ОАГ, соединенный с компонентами как МНС I, так и толл-подобного рецептора TLR4 (меланома B16 [55]).

Новыми источниками ОАГ, применявшимися для активации ДК, стали N-фенилацетил-D-нейраминавая кислота – искусственно синтезированное производное нейраминавой кислоты (модели лейкоза FBL3 и меланомы B16 [53]), а также живые опухолевые клетки (модель меланомы B16 [56, 57]).

Все рассмотренные ДК-вакцины обладали значительной эффективностью и приводили к снижению размеров опухоли в 1.5–3 раза относительно контроля [47–50, 52–54, 58], причем введение ДК-вакцин, нагруженных опухолевым лизатом, в комбинации с инъекциями кукурбитамина I приводило к полному исчезновению лимфомы Дальтона [51]. Кроме того, наблюдалась полная защита животных от развития меланомы B16 после введения профилактических ДК-вакцин, трансфицированных мРНК, кодирующей полипептид β_2m -опухолевый пептид-TLR4 [55], или приготовленных с использованием живых клеток меланомы B16 в качестве источника ОАГ [56]. Противоопухолевые ДК-вакцины значительно снижали количество метастазов у мышей [30, 53, 57, 59, 60], существенно увеличивали продолжительность жизни животных-опухоленосителей [47, 49, 51, 53, 55, 58, 60], а также индуцировали развитие сильного противоопухолевого ответа цитотоксических Т-клеток [47–50, 53–56, 58, 60].

Таким образом, полученные на мышинных моделях опухолевых заболеваний многообещающие результаты как терапевтического, так и профилактического применения ДК-вакцин указывают на их высокую перспективность и позволяют надеяться

на появление эффективных противоопухолевых ДК-вакцин.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДК-ВАКЦИН В КЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЯХ

Многообещающие результаты, полученные на мышинных моделях *in vivo*, побудили исследователей еще в конце 90-х годов прошлого века перейти к клиническим испытаниям противоопухолевых ДК-вакцин. В клинических испытаниях, проводимых в течение почти 20 лет, задокументирована безопасность противоопухолевой иммунотерапии с помощью ДК. Вакцинация ДК хорошо переносится организмом [61], вызывает слабые побочные эффекты, такие, как локальные воспалительные реакции в местах инъекций и лимфатических узлах [62, 63], иногда наблюдаются проявления, сходные с симптомами гриппа [63, 64]. Тем не менее, несмотря на свою безопасность и перспективность, иммуновакцинация онкологических больных ДК-вакцинами в большинстве случаев оказалась менее эффективной, чем в экспериментах на мышинных моделях. Это может быть связано с различными причинами, в том числе с тем, что в большинстве исследований ДК-вакцинацию применяют у пациентов с последними стадиями заболеваний, имеющими крайне агрессивные опухоли, не отвечающие на стандартную терапию, а также с более сильной иммуносупрессорной активностью опухолей человека. Несмотря на отсутствие большого количества впечатляющих клинических результатов, дальнейшая разработка противоопухолевых ДК-вакцин не прекращается: углубляется понимание функционирования ДК, испытываются новые источники опухолевых антигенов и иммуностимулирующие агенты для нагрузки и активации ДК, оцениваются возможности комбинации ДК-вакцин с другими подходами.

Мы попытались оценить разнообразие и клиническую эффективность ДК-вакцин в случае опухолей различного происхождения. С этой целью проанализированы результаты 20 работ, выполненных за период с 2005 по 2015 год, в большинстве из которых ДК-вакцины проходили фазы I и II клинических исследований (табл. 2). Эти исследования проводили на заболеваниях различных нозологических форм, в них использовали различные опухолевые антигены, нагружаемые в ДК, а также схемы лечения и комбинации ДК-вакцин с другими терапевтическими подходами.

Три ДК-вакцины прошли фазу III исследований, причем одна из них, Sipuleucel-T, применявшаяся при кастрационно-резистентном раке предстательной железы, была впоследствии одобрена FDA под коммерческим названием Provenge® [5].

Противоопухолевый потенциал ДК-вакцин оценивали на пациентах с опухолями органов пищеварения (печень, поджелудочная железа и толстая кишка), головного мозга (глиобластома), крови (миелолейкоз, лимфоцитарный лейкоз, лимфома), костной ткани (остеосаркома), репродуктивных органов (яичники, предстательная железа), кожи (меланома) и легких (немелкоклеточный рак) как после хирургического удаления опухолей и прохождения стандартных курсов химио- или радиотерапии, так и не получавших предварительного лечения (табл. 2). Результативность ДК-вакцин оценивали по двум критериям – иммунологическому и клиническому. Основными иммунологическими характеристиками, измеряемыми в клинических исследованиях ДК-вакцин, были реакция иммунной системы на ОАГ (реакция гиперчувствительности типа IV на опухолевые антигены (ДТН-реакция)), присутствие комплексов HLA с опухолевыми антигенами на поверхности ДК, экспрессия перфорина/гранзима CD8⁺ Т-лимфоцитами, активность цитотоксических CD8⁺ Т-лимфоцитов против опухолевых клеток, уровень синтеза ИФН- γ Т-лимфоцитами, количество регуляторных Т-клеток в крови и опухолевых клеток в костном мозге, концентрация опухолевых маркеров (PSA, CEA) в сыворотке крови и т.д. (табл. 2). Клинический ответ на иммунотерапию ДК-вакцинами оценивали по выживаемости пациентов, наличию ремиссии/рецидивов заболевания, причем признаком прогрессии заболевания считали увеличение размеров опухоли на 20%, стабильного состояния – отсутствие видимых изменений размера опухоли, частичного ответа, или частичной ремиссии – снижение размеров опухоли на 30%, полного ответа, или полной ремиссии – исчезновение опухоли (табл. 2).

В большинстве рассмотренных нами работ ДК получали из мононуклеарных клеток периферической крови, которые культивировали в присутствии цитокинов ГМ-КСФ и ИЛ-4. В одном случае для приготовления ДК-вакцины использовали ГМ-КСФ и ИЛ-13 [79]. В качестве противоопухолевых вакцин, прошедших фазу III испытаний, использовали неклассические ДК-вакцины: ДК, выделенные из легочных лимфоузлов, применяли при немелкоклеточном раке легкого [81]; вакцину Sipuleucel-T, представляющую собой клеточный препарат, выделенный из лейкоцитарного материала, в состав которого входили, в том числе ДК, применяли при раке предстательной железы [5, 83].

В качестве источников ОАГ для нагрузки ДК чаще всего использовали антигены белковой природы – пептиды, синтетические белки, а также лизаты опухолевых клеток (в 15 работах из 20). Пептидные

ОАГ применяли как в виде одиночного антигена (WT-1 или MUC1 при опухолях поджелудочной железы [65, 66]), так и смеси антигенов (MAGE1, TRP-2, gp100, HER-2, ИЛ-13R α 2 при глиобластомах [67]; gp100, тирозиназу, MAGE-A1,-A2,-A3, MART-1 при меланоме [79]; Тах-пептиды вируса HTLV-1 при Т-клеточном лейкозе и лимфоме [72]; а также фрагменты hTERT, Her2/neu и PADRE при раке яичников [75]). Также для нагрузки ДК использовали мРНК, которые кодировали один антиген (CEA при раке толстого кишечника [68]) или набор антигенов (MAGE-A1,-A3,-C2, тирозиназа, MelanA/MART-1 и gp100 при меланоме [77]). При гепатоцеллюлярной карциноме ДК нагружали химерными белками, содержащими такие ОАГ, как α -фетопротеин, глипикан-3 и MAGE-3, каждый из которых был соединен с пептидом цитоплазматической трансдукции [69]. Другой гибридный белок, содержащий PSA, соединенный с ГМ-КСФ, использовали для нагрузки вакцины Sipuleucel-T [5, 83]. Лизаты опухолевых клеток использовали для приготовления ДК-вакцин против остеосаркомы [74] и меланомы [76, 78, 80], причем чаще всего лизат готовили из аутологичных опухолевых клеток. ДК часто нагружали также апоптотическими опухолевыми клетками, например, в ДК-вакцинах против миелоидного [71] и лимфоцитарного лейкоза [73] и рака предстательной железы [82]. В ДК-вакцине против немелкоклеточного рака легкого ДК вообще не нагружали ОАГ, а использовали вместе с лимфоцитами после совместной инкубации в присутствии ИЛ-2 [81].

Как известно, введение в организм-опухолениватель незрелых ДК может вызвать развитие толерантности иммунной системы к опухолевым антигенам, что, в конечном итоге, приведет к еще большей опухолевой прогрессии [84]. Поэтому практически во всех клинических испытаниях ДК-вакцин большое внимание уделяется агентам, стимулирующим созревание ДК. С этой целью использовали как одиночные провоспалительные цитокины (ФНО- α или ИФН- γ), так и коктейли, содержащие набор провоспалительных цитокинов, простагландин E2, а также в некоторых случаях поли (I : C)-олигонуклеотиды, бактерии *S. pyogenes* низкой вирулентности (OK432), бактерии *Klebsiella pneumoniae* или гемоцианин *F. apertura* (KLH) (табл. 2).

Несмотря на разнообразие протоколов иммунотерапии опухолей с помощью ДК-вакцин, в них можно выявить и общие черты. ДК вводят в основном внутрикожно или подкожно 3–4 раза с интервалом 7–14 сут. Объем дозы составляет в среднем 10⁶–10⁷ ДК. В некоторых случаях ДК-вакцинация может сочетаться с химиотерапией (гемцитабин при опу-

Таблица 2. Иммуноterapia опухолей с помощью ДК в клинических испытаниях

Тип опухоли	Фаза	Кол-во пациентов	Тип АГ; стимул созревания	Схема лечения	Результат	Ссылка
Опухоль поджелудочной железы	I	10	Пептид WT-1. Комбинация с гемцитабином	День 1, 8, 15 – в/в, гемцитабин (1 г/м ²). День 8-й, 22-й – в/к, 1×10 ⁷ ДК. Три цикла	ДТН+ реакция (3/10). Положительный HLA/WT-1 тетрамерный тест (6/10). Положительный ИФН-γ ELISPOT (7/10). Отсутствие клинического ответа	[65]
Опухоль поджелудочной железы и желчных протоков	I/II	12	Пептид MUC-1; ФНО-α*, ИЛ-1β*, ИЛ-16*	в/к – п/к, 1×10 ⁶ кл, 3 раза с интервалом 21 сут и 1 раз через 6 мес. после последней вакцинации	↑ экспрессии перфорина и гранзима CD8 ⁺ Т-лимфоцитами; ↑ средней выживаемости до 26 мес. (8/12) и более 7 лет (4/12)	[66]
Глиобластома	I	21	Пептиды MAGE1, TRP-2, gp-100, HER-2, ИЛ-13Rα2; ФНО-α*	в/к, 1×10 ⁷ кл, 3 раза с интервалом 14 сут	Медиана выживаемости 40.1 мес.; средняя выживаемость без прогрессии 16.9 мес.; средняя общая выживаемость 38.4 мес.; 24-месячная выживаемость без прогрессии 43.8%; 36-месячная общая выживаемость 55.6%	[67]
Рак толстого кишечника	I	16	мРНК СЕА (электропорация) (5/16) или САР-1, пептид (11/16); цитокиновый коктейль 1*	в/к – в/в, 5×10 ⁶ кл, 3 раза с интервалом 7 сут	СЕА-специфические Т-клетки (8/11, пептидная группа; 0/5, РНК-группа); ↑ уровня СЕА в крови (7/11, пептидная группа; 2/5, РНК-группа); средняя выживаемость без прогрессии 18 мес. (пептидная группа) и 26 мес. (РНК-группа)	[68]
Гепатоцеллюлярная карцинома	I/II	5	Гибридный белок (α-фетопроtein, глипикан-3, MAGE-3, пептид цитоплазматической трансдукции); цитокиновый коктейль 2*	п/к, 4×10 ⁷ кл, 4 раза с интервалом 14 сут и 2 раза на 12 и 14 нед. с начала вакцинации	Опухольспецифический Т-клеточный ответ (5/5); стабильное заболевание (1/5)	[69]
Опухоль печени (III и IV стадии)	I	67	Опухолевый лизат аутологичных и аллогенных опухолевых клеток; ФНО-α. Комбинация с цитокин-индуцированными клетками (ЦИК)	ДК: внутрь лимфоузлов, >10 ⁶ кл на 10 и 12 дни. ЦИК: в/в, >1×10 ¹⁰ кл на 12 и 14 дни	Полное выздоровление (0/67); частичная ремиссия (5/67); стабильное заболевание (29/67). ДК-ЦИК подавляют пролиферацию клеток HerG2	[70]
Миелоидный лейкоз	I	4	Апоптотические лейкозные клетки; KLN, OK432*	в/к, 5 раз с интервалом 14 сут	Антилейкозный CD8 ⁺ Т-клеточный ответ (2/4); ↓ количества лейкозных клеток в костном мозге в 2.1 раза (1/4)	[71]
Т-клеточный лейкоз, лимфома	I	3	Тах-пептиды LLFGYPVYV или SFHSLHLLY; ФНО-α, KLN, OK432	п/к, 5×10 ⁶ кл, 3 раза с интервалом 14 сут	Тах-специфический ЦТЛ-ответ на 16–20 нед. (3/3); полная ремиссия (1/3); частичная ремиссия (1/3); стабильное заболевание (1/3)	[72]
Лимфоцитарный лейкоз	I	15	Аутологичные апоптотические В-клетки; ФНО-α*	ДК: в/к (1×10 ⁷ кл), 4 раза с интервалом 14 сут, 1 раз спустя 14 нед. после первой ДК-вакцины; ГМ-КСФ: 4 раза; после ДК-вакцины; ЦФ: за 2 сут до введения ДК. когорта 1: ДК когорта 2: ДК+ГМ-КСФ когорта 3: ДК+ГМ-КСФ +ЦФ	Антилейкозный CD8 ⁺ Т-клеточный ответ 1) 2/5; 2) 3/5; 3) 5/5	[73]
Остеосаркома	I	12	Лизат аутологичной опухоли; KLN; ПГЕ ₂ *	в/к, 10 ⁵ –10 ⁶ кл, 3 раза с интервалом 7 сут. После ДК-терапии п/к инъекции ИЛ-2 6 раз с интервалом 1 сут	Противоопухолевый CD8 ⁺ Т-клеточный ответ (2/12). Отсутствие клинического ответа	[74]
Рак яичников	I/II	11	Пептиды hTERT 988Y, Her2/neu 369VV2V9, Her2/neu 689 и PADRE; Klebsiella pneumoniae*; ИФН-γ*	в/к, 3.5×10 ⁷ кл, 4 раза с интервалом 21 сут; ЦФ в/в	Рецидив заболевания в течение вакцинации (2/11); рецидив заболевания после вакцинации (3/11); отсутствие признаков заболевания в течение >36 мес. (6/11); 36-месячная общая выживаемость 90%	[75]

ОБЗОРЫ

Меланома	I	8	Лизат аутологичной меланомы; ФНО- α . Комбинация с опухоль-инфильтрирующими лимфоцитами. Предварительная химиотерапия	ДК: в/к, 3 раза с интервалом 14 сут. Лимфоциты: в/в, 1–3 раза с интервалом 7 сут спустя 14 сут после последней ДК-вакцинации	Полная ремиссия (1/8). Стабильное заболевание в течение 2 и 10 мес. (2/8). Прогрессирующее заболевание (7/8)	[76]
	I	30	mРНК, кодирующая химерный белок, содержащий ОАГ (MAGE-A1, -A3, -C2, тирозиназу, MelanA/MART-1 и gp100) и HLA II-направляющие последовательности (электропорация); Поли (I : C) или TriMix. Комбинация с инъекциями ИФН- α 2b	в/к, $2,4 \times 10^7$ кл., 4–6 раз с интервалом 14 сут ИФН- α 2b п/к 3 раза в нед.	Иммунный ответ против меланома-ассоциированных антигенов (4/10). Полная ремиссия (10/30). Рецидив меланомы (20/30). Средняя выживаемость без рецидива 22 мес. Двухлетняя выживаемость 93%. Четырехлетняя выживаемость 70%	[77]
	I	20: 5 – III 15 – IV	Лизат аутологичной меланомы; ФНО- α^*	в/к, $1-5 \times 10^6$ кл., 4 раза с интервалом 10 сут	\uparrow продукции ИФН- γ (10/20); \uparrow цитотоксичности ЦТЛ (4/20); DTH $^+$ -реакция (11/20); \uparrow времени опухолевой прогрессии в 4.1 раза (группа DTH $^+$ -реакция по сравнению с группой DTH $^-$ -реакцией); \uparrow выживаемости в 2.9 раза (группа DTH $^+$ -реакция по сравнению с DTH $^-$ -реакцией)	[78]
	II	24	Пептиды gp100, тирозиназа, MAGE-A2, MAGE-A3, MART-1, MAGE-A1; KLH	п/к, $1-5 \times 10^7$ кл., 4 раза с интервалом 7 сут, далее 1 раз через 14 сут и 5 раз с интервалом 1 мес.	\uparrow опухолеспецифических CD8 $^+$ Т-клеток (18/24); активация Th1-ответа (12/24); DTH $^+$ -реакция на ОАГ – 41% пациентов; DTH $^+$ -реакция на KLH – 64% пациентов; \uparrow выживаемости пациентов в 1.9 раза; частичный ответ (1/24); стабильное заболевание (7/24); прогрессирующее заболевание (16/24)	[79]
		33	Лизаты клеток аллогенных линий меланомы M44, COLO829, SK-MEL28; ИФН- γ^*	Около лимфатических узлов, $2,5 \times 10^7$ кл., 6 раз с интервалом 14 сут, далее 2 раза с интервалом 42 сут	\uparrow опухолеспецифических CD8 $^+$ Т-клеток в крови (26/33). Полная ремиссия (1/33), частичный ответ (2/33), стабильное заболевание (6/33)	[80]
Немелкоклеточный рак легкого	III	103	ДК ОАГ не нагружали. Вакцина – ДК и лимфоциты, из легочных лимфоузлов, инкубированные в присутствии ИЛ-2, с добавлением лимфоцитов периферической крови	Группа А: химиотерапия 4 мес. курса, ДК-вакцина через 1 нед. после каждого курса химиотерапии + 1 раз в мес. (в течение 6 мес.) + 1 раз в 2 мес. (в течение 14 мес.). Группа Б: химиотерапия 4 мес. курса	Двухлетняя общая выживаемость в группах А и Б – 93.4 и 66.0%; пятилетняя общая выживаемость в группах А и Б – 81.4 и 48.3%; 2- и 5-летняя выживаемость без рецидивов – 68.5 и 41.4% (группа А); 56.8 и 26.2% (группа Б).	[81]
Рак предстательной железы	I/II	25	Клетки LNCaP, обработанные УФ-излучением; поли (I : C). Комбинация с химиотерапией	1. Циклофосфамид 7 сут. 2. ДК п/к, 10^7 кл., 12 раз в течение 1-го года (2 раза с интервалом 2 нед.) 3. Доцетаксел через каждые 3 нед. до достижения токсичности. 4. ДК п/к, 10^7 кл., 10 раз с интервалом 6 нед.	\downarrow PSA на $\geq 50\%$ (8/23) \downarrow PSA на 20–50% (5/23) \downarrow Т-регуляторных клеток в крови. Индукция PSA-специфических ЦТЛ. Средняя выживаемость 19 мес.	[82]
	III	127	ПКФ-ГМ-КСФ, гибридный белок	в/в, $3,7 \times 10^9$ кл., 3 раза с интервалом 14 сут	Прогрессирующее заболевание (115/127); \uparrow времени прогрессии заболевания в 1.2 раза; \uparrow средней выживаемости в 1.2 раза	[83]
	III	512	ПКФ-ГМ-КСФ, гибридный белок	в/в, $3,7 \times 10^9$ кл., 3 раза с интервалом 14 сут	\downarrow риска смерти на 22%; \uparrow средней выживаемости в 1.2 раза; \uparrow 36-месячной выживаемости в 1.4 раза; активация Th1-ответа	[5]

Примечания: * – факторы созревания ДК; п/к – подкожно; в/б – внутривенно; в/в – внутривенно; в/к – внутривенно; ДТН-реакция – реакция гиперчувствительности замедленного (IV) типа; KLH – keyhole limpet hemocyanin, гемоцианин *Fissurella apertura*; OK432 – смесь группы A *Streptococcus pyogenes* низкой вирулентности; цитокиновый коктейль 1 – ПГЕ $_2$, ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6; цитокиновый коктейль 2 – ПГЕ $_2$, ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИФН- γ , OK432, поли (I : C); TriMix – мРНК, кодирующая CD40L, CD70 и конститутивно активный TLR4; ЦФ – циклофосфамид; стабильное заболевание – нет видимых изменений в размере опухоли; прогрессирующее заболевание – увеличение размеров опухоли на 20%; частичный ответ – снижение размеров опухоли на 30%; полный ответ – исчезновение опухоли.

холи поджелудочной железы [65]; циклофосфамид при лимфоцитарном лейкозе [73] и раке яичников [75], доцетаксел при раке предстательной железы [82]), с применением других иммунных клеток (цитокин-индуцированных киллерных клеток, т.е. Т-лимфоцитов и натуральных киллеров, активированных ИЛ-1, ИЛ-2, ИФН- γ и анти-CD3-антителами при опухолях печени [70]; опухольинфильтрирующих лимфоцитов при меланоме [76]), а также с инъекциями цитокинов (ГМ-КСФ при лимфоцитарном лейкозе [73], ИЛ-2 при остеосаркоме [74], ИФН- α -2b при меланоме [77]).

Практически во всех рассмотренных нами работах показано, что введение ДК-вакцин приводит к активации противоопухолевого иммунного ответа: нарабатываются опухолеспецифические цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты, усиливается экспрессия перфорина и гранзима, а также продукция ИФН- γ , у части пациентов развивается реакция гиперчувствительности на опухолевые антигены (DTH-реакция), снижается количество регуляторных Т-клеток и т.д. Однако, несмотря на довольно значительный иммунологический ответ, клиническая результативность противоопухолевой терапии с помощью ДК является менее впечатляющей. Клинический ответ либо довольно слабый, либо отсутствует, что выражается в большом количестве рецидивов и прогрессии опухолей. Низкой эффективностью обладает даже Sipuleucel-T – единственная противоопухолевая ДК-вакцина, получившая одобрение FDA. Иммуноterapia с использованием этой вакцины не привела к ремиссии ни у одного пациента, в подавляющем большинстве случаев заболевание прогрессировало, хотя выживаемость пациентов увеличилась в 1.2 раза по сравнению с группой, получавшей плацебо [83]. Таким образом, можно сделать вывод, что активация опухолеспецифического иммунного ответа после ДК-вакцинации не всегда приводит к значимым клиническим результатам. Это можно объяснить, прежде всего, негативным действием опухоли на иммунную систему. Даже при условии, что противоопухолевые Т-лимфоциты будут надлежащим образом активированы ДК-вакцинами, иммуноterapia может потерпеть неудачу, поскольку опухоль способна уходить от иммунного надзора путем подавления функциональной активности иммунокомпетентных клеток, в том числе Т-лимфоцитов и ДК, используя различные механизмы [85].

На клиническую значимость ДК-вакцинации указывает ремиссия опухолей у ряда пациентов. Так, например, более чем у половины больных раком яичников (6/11) иммуноterapia ДК, нагруженными смесью опухолеспецифических пептидов (hTERT

988Y, Her2/neu 369VV2V9, Her2/neu 689 и PADRE), в комбинации с инъекциями циклофосфамида, привела к отсутствию признаков заболевания в течение 36 мес., 36-месячная выживаемость составила 90% [75]. Это один из самых высоких показателей клинической результативности ДК-вакцин в работах, рассмотренных в настоящем обзоре.

Большое количество ремиссий отмечено у пациентов с меланомой, получавших ДК-вакцины, нагруженные смесью мРНК, кодирующих ОАГ MAGE-A1, -A3, -C2, тирозиназу, MelanA/MART-1 и gp100, связанные с HLA II-направляющими последовательностями, в комбинации с инъекциями ИФН- α -2b [77]. За средний период наблюдения (6.4 года) полная ремиссия наблюдалась у 10 из 30 пациентов. Средняя безрецидивная выживаемость составила 22 мес. Средняя двух- и четырехлетняя выживаемость – 93 и 70% соответственно. Иммунный ответ против ассоциированных с меланомой антигенов наблюдался у четырех из 10 пациентов [77].

К полной или частичной ремиссии меланомы приводило также применение ДК-вакцин, в которых в качестве источника ОАГ для нагрузки ДК использовали лизаты как аутологических клеток меланомы (1/8 пациентов) [76], так и аллогенных клеточных линий M44, COLO829, SK-MEL28 (полный ответ у 1 из 33, частичный – у 2 из 33 пациентов) [80]. Следует отметить, что меланома довольно часто используется для клинического исследования противоопухолевой активности ДК и относительно лучше поддается иммунотерапии, чем другие типы опухолей.

Высокая эффективность ДК-вакцин отмечена также в пилотном клиническом исследовании ДК против Т-клеточного лейкоза и лимфомы, в котором принимали участие три пациента [72]. В качестве ДК-вакцин использовали ДК, нагруженные Так-пептидами Т-лимфотропного вируса человека типа 1 (LLFGYPVYV и SFHSLHLLY), которые созревали под действием стандартного стимула – ФНО- α в комбинации с ксеногенными факторами KLN и OK432. После ДК-вакцинации у всех трех пациентов наблюдали значимые клинические ответы: полную ремиссию (1/3), частичную ремиссию (1/3) и стабилизацию заболевания (1/3). Эффективный клинический ответ был связан с развитием Так-специфического ответа ЦТЛ у всех пациентов [72].

Выживаемость пациентов также является важным показателем эффективности противоопухолевой ДК-вакцинации. Следует отметить, что практически все клинические исследования показывают, что введение ДК-вакцин больным с опухолями различного типа приводит к увеличению их выживаемости и продолжительности жизни по сравнению с пациентами, не получавшими ДК-вакцины. Так, в рассмо-

тренных нами работах одно из самых значительных увеличений выживаемости достигнуто у пациентов с опухолями поджелудочной железы и желчных протоков, которым вводили ДК, нагруженные пептидом МУС-1 и стимулированными для созревания цитокинами ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-16 – у четырех из 12 пациентов средняя выживаемость составила более 7 лет [66].

Более подробно остановимся на трех клинических исследованиях противоопухолевых ДК-вакцин, находившихся в фазе III испытаний. В первом исследовании вакцину на основе ДК и активированных киллерных Т-лимфоцитов в комбинации с химиотерапией применяли у пациентов с немелкоклеточным раком легкого [81] после хирургического удаления опухоли. В исследовании приняли участие 103 пациента, которых разделили на две группы: группа А получала иммунохимиотерапию, группа Б – только химиотерапию. Использовали вакцину на основе ДК и активированных киллерных Т-клеток, которые выделяли из содержимого лимфатических узлов, расположенных в местах локализации опухолей, и культивировали в присутствии ИЛ-2 с последующим добавлением лимфоцитов периферической крови. Двухлетняя общая выживаемость в группах А и Б составила 93.4 и 66.0% соответственно; пятилетняя – 81.4 и 48.3% соответственно. Двух- и пятилетняя выживаемость без рецидивов составила 68.5, 41.4 и 56.8, 26.2% в группах А и Б соответственно [81].

В двух других исследованиях оценивали ДК-вакцину Sipuleucel-T, которую применяли при кастрационно-резистентном раке предстательной железы. Однако результаты клинических испытаний Sipuleucel-T оказались менее впечатляющими по сравнению с другими противоопухолевыми ДК-вакцинами [83]. Sipuleucel-T представляет собой клеточный препарат из продуктов лейкофереза, в состав которого входят и ДК. Клетки нагружали гибридным белком, состоящим из полноразмерного ПКФ и полноразмерного человеческого ГМ-КСФ (ПКФ-ГМ-КСФ). В исследовании принимали участие пациенты с бессимптомным метастатическим гормонорефрактерным раком предстательной железы. На фоне применения такой вакцины у большинства пациентов наблюдали прогрессию заболевания. Тем не менее, Sipuleucel-T приводил к 1.2-кратному увеличению средней выживаемости (25.8 мес. против 21.7 мес. в группе плацебо), а также к развитию иммунологического ответа на ПКФ и Т-клеточного ответа типа Th1 [5, 83]. Вскоре после публикации этих результатов Sipuleucel-T был одобрен Управлением по контролю качества продуктов и лекарств США (FDA USA) для лечения пациентов

и коммерциализирован под названием Provenge® [86].

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ДЕНДРИТНО-КЛЕТОЧНЫХ ВАКЦИН: ВОПРОСЫ И ОТВЕТЫ

Из рассмотренных нами работ видно, что большинство противоопухолевых ДК-вакцин, прошедших к настоящему времени клинические исследования, обладают ограниченной эффективностью. Некоторые исследователи полагают, что низкая эффективность ДК-вакцин может быть связана с тем, что их влияние на выживаемость пациентов становится заметным лишь спустя некоторое время после проведения лечения [5]. Однако главной причиной низкой эффективности ДК-вакцин, на наш взгляд, является сильное иммуносупрессорное действие опухоли, которое реализуется с помощью множества механизмов. Например, опухоль и ее окружение способны ослаблять проникновение Т-лимфоцитов в места локализации опухоли, снижать активность гранзимы В и подавлять экспрессию рецептора смерти CD95 Т-лимфоцитами, а также индуцировать анергию активированных Т-лимфоцитов путем усиления экспрессии ингибиторных рецепторов CTLA-4 и PD-1, так называемых иммунологических чекпойнтов, на поверхности Т-лимфоцитов [87]. Иммуносупрессорное действие CTLA-4 заключается в конкуренции со стандартным участником иммунологического синапса CD28 за связывание с костимуляторными молекулами ДК CD80 (B7.1) и CD86 (B7.2) и передаче ингибиторного сигнала Т-лимфоцитам, что приводит к ослаблению ТКР/CD28 сигнального пути Т-лимфоцитов, снижению продукции ИЛ-2 Т-клетками и, в конечном итоге, к задержке клеточного цикла [87, 88]. Рецептор PD-1 взаимодействует с молекулами B7-H1, которые экспрессируются на поверхности опухолевых клеток, что также приводит к нарушению ТКР/CD28 сигнального пути Т-лимфоцитов, индукции синтеза противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и, в конце концов, к активации иммуносупрессорных Трег и апоптозу опухолеспецифических Т-лимфоцитов [87, 89].

Для усиления эффективности ДК-вакцин разумно использовать дополнительные методы, направленные на снижение ингибирующего действия опухоли. Так, например, блокаторы CTLA-4, PD-1 и B7-H1 в комбинации с противоопухолевыми ДК-вакцинами позволяют снизить иммуносупрессорное действие опухоли, что может привести к значительному увеличению противоопухолевой активности ДК-вакцин. На сегодняшний день известны такие блокаторы иммунологических чекпойнтов, как Ipilimumab [90] для CTLA-4, Nivolumab [91] и Pembrolizumab

[92] для PD-1. Эти моноклональные антитела были не так давно одобрены FDA для иммунотерапии метастатической меланомы [93, 94]. Блокаторы B7-H1 в настоящее время проходят клинические испытания, но еще не получили разрешения на клиническое использование [95]. На сегодняшний день опубликована только одна работа, в которой противоопухолевые ДК-вакцины применяли в сочетании с блокаторами иммунологических чекпойнтов. В этом клиническом исследовании фазы II пациенты с меланомой получали комбинацию Ipilimumab с ДК-вакцинами, нагруженными TriMix РНК и мРНК, кодирующими антигены, ассоциированные с меланомой. Были получены многообещающие результаты – после прохождения курса терапии полную ремиссию наблюдали у восьми из 39 пациентов и частичный ответ – у семи [96]. Несомненно, что клинические исследования противоопухолевых ДК-вакцин в сочетании с блокаторами иммунологических чекпойнтов не заставят себя долго ждать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на разнообразные механизмы, которые опухоль использует для уклонения от иммунного ответа, удалось получить многообещающие результаты иммунотерапии рака с помощью модифицированных ДК. На мышинных моделях наблюдали уменьшение скорости роста опухоли, сокращение количества метастазов, увеличение выживаемости животных-опухоленосителей, запуск опухолеспецифического от-

вета ЦТЛ [50, 54, 57, 97, 98]. Результаты клинических испытаний противоопухолевых ДК-вакцин также были достаточно неплохими, однако менее впечатляющими по сравнению с полученными на мышинных моделях *in vivo*. Возможно, это связано с тем, что в большинстве случаев клинические испытания проводятся на больных, находящихся на терминальных стадиях заболевания, когда любое лечение малоэффективно. Кроме того, низкая эффективность ДК-вакцин может быть связана с более выраженным подавлением иммунной системы человека опухолью.

Остались нерешенными проблемы поиска наиболее иммуногенного источника ОАГ, недостаточной специфичности и эффективности доставки ОАГ в ДК, что может сказываться на презентации процессированных ОАГ в комплексах с молекулами МНС I/II на поверхности ДК и слабой поляризации противоопухолевых иммунных ответов. Поэтому дальнейшая разработка противоопухолевых вакцин на основе ДК, способных преодолеть негативное действие опухоли и ее окружения и инициировать эффективный противоопухолевый иммунный ответ, остается важной задачей. ●

*Работа выполнена при финансовой поддержке
ФЦНТП «Исследования и разработки
по приоритетным направлениям развития
научно-технологического комплекса России
на 2014–2020 годы» (соглашение № 14.607.21.0043,
уникальный идентификатор RFMEFI60714X0043).*

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Slingluff C.L.Jr., Petroni G.R., Yamshchikov G.V., Hibbitts S., Grosh W.W., Chianese-Bullock K.A., Bissonette E.A., Barnd D.L., Deacon D.H., Patterson J.W., et al. // *J. Clin. Oncol.* 2004. V. 22. P. 4474–4485.
2. Terheyden P., Schrama D., Pedersen L.O., Andersen M.H., Kampgen E., Straten P., Becker J.C. // *Scand. J. Immunol.* 2003. V. 58. P. 566–571.
3. Rožková D., Tišerová H., Fučíková J., Lašt'ovička J., Podrazil M., Ulčová H., Budínský V., Prausová J., Linke Z., Minárik I., et al. // *Clin. Immunol.* 2009. V. 131. P. 1–10.
4. Koh Y.T., Gray A., Higgins S.A., Hubby B., Kast W.M. // *Prostate.* 2009. V. 69. P. 571–584.
5. 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., et al. // *N. Engl. J. Med.* 2010. V. 363. P. 411–422.
6. Nestle F.O., Aligagic S., Gilliet M., Sun Y., Grabbe S., Dummer R., Burg G., Schadendorf D. // *Nat. Med.* 1998. V. 4. P. 328–332.
7. Fields R.C., Shimizu K., Mule J. // *J. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998. V. 95. P. 9482–9487.
8. Geiger J., Hutchinson R., Hohenkirk L., McKenna E., Chang A., Mule J. // *Lancet.* 2000. V. 356. P. 1163–1165.
9. Geiger J.D., Hutchinson R.J., Hohenkirk L.F., McKenna E.A., Yanik G.A., Levine J.E., Chang A.E., Braun T.M., Mule J.J. // *Cancer Res.* 2001. V. 61. P. 8513–8519.
10. Celluzzi C.M., Mayordomo J.I., Storkus W.J., Lotze M.T., Falo L.D. // *J. Exp. Med.* 1996. V. 183. P. 283–287.
11. Miconnet I., Coste I., Beermann F., Haeuw J.F., Cerottini J.C., Bonnefoy J.Y., Romero P., Renno T. // *J. Immunol.* 2001. V. 166. P. 4612–4619.
12. Wang H.Y., Fu T., Wang G., Zeng G., Perry-Laller D.M., Yang J.C., Restifo N.P., Hwu P., Wang R.F. // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 109. P. 1463–1470.
13. van Gisbergen K., Aarnoudse C., Meijer G., Geijtenbeek T., van Kooyk Y. // *Cancer Res.* 2005. V. 65. P. 5935–5944.
14. Curti A., Tosi P., Comoli P., Terragna C., Ferri E., Cellini C., Massaia M., D'Addio A., Giudice V., Di Bello C., et al. // *Br. J. Haematol.* 2007. V. 139. P. 415–424.
15. Jarnjak-Jankovic S., Pettersen R.D., Saeboe-Larssen S., Wesenberg F., Olafsen M.R., Gaudernack G. // *Cancer Gene Ther.* 2005. V. 12. P. 699–707.
16. van Tandeloo V., Ponsaerts P., Lardon F., Nijis G., Lenjou M., van Broeckhoven C., van Bockstaele D.R., Berneman Z.N. // *Blood.* 2001. V. 98. P. 49–56.
17. Suso E.M., Dueland S., Rasmussen A.M., Vetrhus T., Aamdal S., Kvalheim G., Gaudernack G. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2011. V. 60. P. 809–818.
18. Boczkowski D., Nair S.K., Nam J.H., Lyerly H.K., Gilboa E. // *Cancer Res.* 2000. V. 60. P. 1028–1034.
19. Heiser A., Maurice M.A., Yancey D.R., Wu N.Z., Dahm P.,

- Pruitt S.K., Boczkowski D., Nair S.K., Ballo M.S., Gilboa E., et al. // *J. Immunol.* 2001. V. 166. P. 2953–2960.
20. Nair S.K., Boczkowski D., Morse M., Cumming R.I., Lyerly H.K., Gilboa E. // *Nat. Biotechnol.* 1998. V. 16. P. 364–369.
21. Nishioka Y., Hirao M., Robbins P.D., Lotze M.T., Tahara H. // *Cancer Res.* 1999. V. 59. P. 4035–4041.
22. Rodriguez-Calvillo M., Duarte M., Tirapu I., Berraondo P., Mazzolini G., Qian C., Prieto J., Melero I. // *Exp. Hematol.* 2002. V. 30. P. 195–204.
23. Nakamura M., Iwahashi M., Nakamori M., Ueda K., Matsuura I., Noguchi K., Yamaue H. // *Clin. Cancer Res.* 2002. V. 8. P. 2742–2749.
24. Zhang W., He L., Yuan Z., Xie Z., Wang J., Hamada H., Cao X. // *Hum. Gene Ther.* 1999. V. 10. P. 1151–1161.
25. van Lint S., Renmans D., Broos K., Dewitte H., Lentacker I., Heirman C., Breckpot K., Thielemans K. // *Expert Rev. Vaccines.* 2015. V. 14. P. 235–251.
26. Vari F., Hart D.N. // *Cytotherapy.* 2004. V. 6. P. 111–121.
27. Aarntzen E.H., Schreiber G., Bol K., Lesterhuis W.J., Croockewit A.J., de Wilt J.H., van Rossum M.M., Blokx W.A., Jacobs J.F., Duiveman-de Boer T., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2012. V. 18. P. 5460–5470.
28. Ibraheem D., Elaissari A., Fessi H. // *Int. J. Pharm.* 2014. V. 459. P. 70–83.
29. De Temmerman M.L., Dewitte H., Vandenbroucke R.E., Lucas B., Libert C., Demeester J., De Smedt S.C., Lentacker I., Rejman J. // *Biomaterials.* 2011. V. 32. P. 9128–9135.
30. Oda Y., Suzuki R., Otake S., Nishiie N., Hirata K., Koshima R., Nomura T., Utoguchi N., Kudo N., Tachibana K., et al. // *J. Control. Release.* 2012. V. 160. P. 362–366.
31. Chen Y.Z., Yao X.L., Tabata Y., Nakagawa S., Gao J.Q. // *Clin. Dev. Immunol.* 2010. V. 2010. P. 565643.
32. Yang J., Liu H., Zhang X. // *Biotechnol. Adv.* 2014. V. 32. P. 804–817.
33. Reeves M.E., Royal R.E., Lam J.S., Rosenberg S.A., Hwu P. // *Cancer Res.* 1996. V. 56. P. 5672–5677.
34. Nikitina E.Y., Clark J.I., van Beynen J., Chada S., Virmani A.K., Carbone D.P., Gabrilovich D.I. // *Clin. Cancer Res.* 2011. V. 7. P. 127–135.
35. Streitz J., Tormo D., Schweichel D., Tuting T. // *Cancer Gene Ther.* 2006. V. 13. P. 318–325.
36. Murakami T., Tokunaga N., Waku T., Gomi S., Kagawa S., Tanaka N., Fujiwara T. // *Clin. Cancer Res.* 2004. V. 10. P. 3771–3880.
37. Antonia S.J., Mirza N., Fricke I., Chiappori A., Thompson P., Williams N., Bepko G., Simon G., Janssen W., Lee J.H., et al. // *Clin. Cancer Res.* 2006. V. 12. P. 878–887.
38. Morse M.A., Clay T.M., Hobeika A.C., Osada T., Khan S., Chui S., Niedzwiecki D., Panicali D., Schlom J., Lyerly H.K. // *Clin. Cancer Res.* 2005. V. 11. P. 3017–3024.
39. Perche F., Benvegno T., Berchel M., Lebegue L., Pichon C., Jaffrès P.A., Midoux P. // *Nanomedicine.* 2011. V. 7. P. 445–453.
40. Moffatt S., Cristiano R.J. // *Int. J. Pharm.* 2006. V. 321. P. 143–154.
41. Tang R., Palumbo R.N., Nagarajan L., Krogstad E., Wang C. // *J. Control. Release.* 2010. V. 142. P. 229–237.
42. Maslov M.A., Kabilova T.O., Petukhov I.A., Morozova N.G., Serebrennikova G.A., Vlassov V.V., Zenkova M.A. // *J. Control. Release.* 2012. V. 160. P. 182–193.
43. Markov O.V., Mironova N.L., Maslov M.A., Petukhov I.A., Morozova N.G., Vlassov V.V., Zenkova M.A. // *J. Control. Release.* 2012. V. 160. P. 200–210.
44. Markov O.V., Mironova N.L., Sennikov S.V., Vlassov V.V., Zenkova M.A. // *PLoS One.* 2015. V. 10. P. e0136911.
45. Markov O.V., Mironova N.L., Shmendel E.V., Serikov R.N., Morozova N.G., Maslov M.A., Vlassov V.V., Zenkova M.A. // *J. Control. Release.* 2015. V. 213. P. 45–56.
46. Morrison B.J., Steel J.C., Gregory M., Morris J.C., Malyguine A.M. // *Dendritic Cells in Cancer* / Eds Shurin M.R., Satler R.D. New York: Springer Science & Business Media, 2009. P. 347–363.
47. Zarnani A.H., Torabi-Rahvar M., Bozorgmehr M., Zareie M., Mojtabavi N. // *Cancer Res. Treat.* 2015. V. 47. P. 518–526.
48. Kim H.S., Kim C.H., Park M.Y., Park J.S., Park H.M., Sohn H.J., Kim H.J., Kim S.G., Oh S.T., Kim T.G. // *Immunol. Lett.* 2010. V. 131. P. 73–80.
49. Yang Z., Wu D., Zhou D., Jiao F., Yang W., Huan Y. // *Cell. Immunol.* 2015. V. 293. P. 17–21.
50. Kim B.R., Yang E.K., Kim D.Y., Kim S.H., Moon D.C., Lee J.H., Kim H.J., Lee J.C. // *Clin. Exp. Immunol.* 2012. V. 167. P. 73–83.
51. Hira S.K., Mondal I., Manna P.P. // *Cytotherapy.* 2015. V. 17. P. 647–664.
52. Pandey V.K., Shankar B.S., Sanis K.B. // *Int. Immunopharmacol.* 2012. V. 14. P. 641–649.
53. Qiu L., Li J., Yu S., Wang Q., Li Y., Hu Z., Wu Q., Guo Z., Zhang J. // *Oncotarget.* 2015. V. 6. P. 5195–5203.
54. Zheng X., Koropatnick J., Chen D., Velenosi T., Ling H., Zhang X., Jiang N., Navarro B., Ichim T.E., Urquhart B., et al. // *Int. J. Cancer.* 2013. V. 132. P. 967–977.
55. Cafri G., Sharbi-Yunger A., Tzeheval E., Alteber Z., Gross T., Vadai E., Margalit A., Gross G., Eisenbach L. // *Mol. Ther.* 2015. V. 23. P. 1391–1400.
56. Matheoud D., Perié L., Hoeffel G., Vimeux L., Parent I., Marañón C., Bourdoncle P., Renia L., Prevost-Blondel A., Lucas B., et al. // *Blood.* 2010. V. 115. P. 4412–4420.
57. Matheoud D., Baey C., Vimeux L., Tempez A., Valente M., Louche P., Le Bon A., Hosmalin A., Feuillet V. // *PLoS One.* 2011. V. 6. P. e19104.
58. Xie J., Xiong L., Tao X., Li X., Su Y., Hou X., Shi H. // *Lung Cancer.* 2010. V. 68. P. 338–345.
59. Baek S., Lee S.J., Kim M.J., Lee H. // *Immune Network.* 2012. V. 12. P. 269–276.
60. Moon J.H., Chung M.K., Son Y.I. // *Laryngoscope.* 2012. V. 122. P. 2442–2446.
61. Van Tandeloo V.F., Ponsaerts P., Berneman Z.N. // *Curr. Opin. Mol. Ther.* 2007. V. 9. P. 423–431.
62. Su Z., Dannull J., Yang B.K., Dahm P., Coleman D., Yancey D., Sichi S., Niedzwiecki D., Boczkowski D., Gilboa E., et al. // *J. Immunol.* 2005. V. 174. P. 3798–3807.
63. Heiser A., Coleman D., Dannull J., Yancey D., Maurice M.A., Dahm P., Niedzwiecki D., Gilboa E., Vieweg J. // *J. Clin. Invest.* 2002. V. 109. P. 409–417.
64. Mazzolini G., Alfaro C., Sangro B., Feijoo E., Ruitz J., Benito A., Tirapu I., Arina A., Sola J., Herraiz M., et al. // *J. Clin. Oncol.* 2005. V. 23. P. 999–1010.
65. Mayanagi S., Kitago M., Sakurai T., Matsuda T., Fujita T., Higuchi H., Taguchi J., Takeuchi H., Itano O., Aiura K., et al. // *Cancer Sci.* 2015. V. 106. P. 397–406.
66. Lepisto A.J., Moser A.J., Zeh H., Lee K., Bartlett D., McKolanis J.R., Geller B.A., Schmotzer A., Potter D.P., Whiteside T., et al. // *Cancer Ther.* 2008. V. 6. P. 955–964.
67. Phuphanich S., Wheeler C.J., Rudnick J.D., Mazer M., Wang H., Nuño M.A., Richardson J.E., Fan X., Ji J., Chu R.M., et al. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2012. V. 62. P. 125–135.
68. Lesterhuis W.J., De Vries I.J., Schreiber G., Schuurhuis D.H., Aarntzen E.H., De Boer A., Scharenborg N.M., Van De Rakt M., Hesselink E.J., Figdor C.G., et al. // *Anticancer Res.* 2010. V. 30. P. 5091–5098.
69. Tada F., Abe M., Hirooka M., Ikeda Y., Hiasa Y., Lee Y., Jung N.C., Lee W.B., Lee H.S., Bae Y.S., et al. // *Int. J. Oncol.* 2012. V. 41. P. 1601–1609.

70. Li Q.Y., Shi Y., Huang D.H., Yang T., Wang J.H., Yan G.H., Wang H.Y., Tang X.J., Xiao C.Y., Zhang W.J., et al. // *Int. J. Clin. Exp. Med.* 2015. V. 8. P. 5601–5610.
71. Kitawaki T., Kadowaki N., Fukunaga K., Kasai Y., Maekawa T., Ohmori K., Itoh T., Shimizu A., Kuzushima K., Kondo T., et al. // *Exp. Hematol.* 2011. V. 39. P. 424–433.
72. Suehiro Y., Hasegawa A., Iino T., Sasada A., Watanabe N., Matsuoka M., Takamori A., Tanosaki R., Utsunomiya A., Choi I., et al. // *Br. J. Haematol.* 2015. V. 169. P. 356–367.
73. Palma M., Hansson L., Choudhury A., Näsman-Glaser B., Eriksson I., Adamson L., Rossmann E., Widén K., Horváth R., Kokhaei P., et al. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2012. V. 61. P. 865–879.
74. Himoudi N., Wallace R., Parsley K.L., Gilmour K., Barrie A.U., Howe K., Dong R., Sebire N.J., Michalski A., Thrasher A.J., et al. // *Clin. Transl. Oncol.* 2012. V. 14. P. 271–279.
75. Chu C.S., Boyer J., Schullery D.S., Gimotty P.A., Gamerman V., Bender J., Levine B.L., Coukos G., Rubin S.C., Morgan M.A., et al. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2012. V. 61. P. 629–641.
76. Poschke I., Lövgren T., Adamson L., Nyström M., Andersson E., Hansson J., Tell R., Masucci G.V., Kiessling R. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2014. V. 63. P. 1061–1071.
77. Wilgenhof S., Corthals J., Van Nuffel A.M., Benteyn D., Heirman C., Bonehill A., Thielemans K., Neyns B. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2015. V. 64. P. 381–388.
78. Escobar A., López M., Serrano A., Ramirez M., Pérez C., Aguirre A., González R., Alfaro J., Larrondo M., Fodor M., et al. // *Clin. Exp. Immunol.* 2005. V. 142. P. 555–568.
79. Oshita C., Takikawa M., Kume A., Miyata H., Ashizawa T., Iizuka A., Kiyohara Y., Yoshikawa S., Tanosaki R., Yamazaki N., et al. // *Oncol. Reports.* 2012. V. 28. P. 1131–1138.
80. Ribas A., Camacho L.H., Lee S.M., Hersh E.M., Brown C.K., Richards J.M., Rodriguez M.J., Prieto V.G., Glaspy J.A., Osseguera D.K., et al. // *J. Transl. Med.* 2010. V. 8. P. 89.
81. Kimura H., Matsui Y., Ishikawa A., Nakajima T., Yoshino M., Sakairi Y. // *Cancer Immunol. Immunother.* 2015. V. 64. P. 51–59.
82. Podrazil M., Horvath R., Becht E., Rozkova D., Bilkova P., Sochorova K., Hromadkova H., Kayserova J., Vavrova K., Las-tovicka J., et al. // *Oncotarget.* 2015. V. 6. P. 18192–18205.
83. Small E., Schellhammer P.F., Higano C.S., Redfern C.H., Nemunaitis J.J., Valone F.H., Verjee S.S., Jones L.A., Hershberg R.M. // *J. Clin. Oncol.* 2006. V. 24. P. 3089–3094.
84. Mahnke K., Schmitt E., Bonifaz L., Enk A.H., Jonuleit H. // *Immunol. Cell Biol.* 2002. V. 80. P. 477–483.
85. Vinay D.S., Ryan E.P., Pawelec G., Talib W.H., Stagg J., Elkord E., Lichtor T., Decker W.K., Whelan R.L., Kumara H.M., et al. // *Semin. Cancer Biol.* 2015. (35. Suppl.) P. S185–S198.
86. Galluzzi L., Senovilla L., Vacchelli E., Eggermont A., Fridman W.H., Galon J., Sautès-Fridman C., Tartour E., Zitvogel L., Kroemer G. // *Oncoimmunology.* 2012. V. 1. P. 1111–1134.
87. Töpfer K., Kempe S., Müller N., Schmitz M., Bachmann M., Cartellieri M., Schackert G., Temme A. // *J. Biomed. Biotechnol.* 2011. V. 2011. P. 918471.
88. Walunas T.L., Lenschow D.J., Bakker C.Y., Linsley P.S., Freeman G.J., Green J.M., Thompson C.B., Bluestone J.A. // *Immunity.* 1994. V. 1. P. 405–413.
89. Fife B.T., Pauken K.E. // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011. V. 1217. P. 45–59.
90. Starz H. // *Expert Opin. Biol. Ther.* 2012. V. 12. P. 981–982.
91. Sundar R., Cho B.C., Brahmer J.R., Soo R.A. // *Ther. Adv. Med. Oncol.* 2015. V. 7. P. 85–96.
92. Dang T.O., Ogunniyi A., Barbee M.S., Drilon A. // *Expert Rev. Anticancer. Ther.* 2015. V. 10. P. 1–8.
93. Chmielowski B. // *J. Skin Cancer.* 2013. V. 2013. P. 423829.
94. Ivashko I.N., Kolesar J.M. // *Am. J. Hlth. Syst. Pharm.* 2016. V. 73. P. 193–201.
95. Boyerinas B., Jochems C., Fantini M., Heery C.R., Gulley J.L., Tsang K.Y., Schlom J. // *Cancer Immunol. Res.* 2015. V. 3. P. 1148–1157.
96. Wilgenhof S., Corthals J., Heirman C., van Baren N., Lucas S., Kvistborg P., Thielemans K., Neyns B. // *J. Clin. Oncol.* 2016. V. 34. P. 1330–1338.
97. Koido S., Kashiwaba M., Chen D., Gendler S., Kufe D., Gong J. // *J. Immunol.* 2000. V. 165. P. 5713–5719.
98. Yang B.B., Jiang H., Chen J., Zhang X., Ye J.J., Cao J. // *Head Neck.* 2010. V. 32. P. 626–635.