

УДК 616.831-006.04:612.014:615.37(048.8)

Использование дендритных клеток в иммунотерапии злокачественных опухолей головного мозга

Медяник И.А., Фраерман А.П., Боков А.Е.

Нижегородский межобластной нейрохирургический центр, г. Нижний Новгород, Россия

Лечение злокачественных опухолей головного мозга (ЗОГМ) — одна из основных проблем нейроонкологии. Эффективные методы терапии ЗОГМ не разработаны, увеличение средней продолжительности жизни пациентов на несколько недель или месяцев считается важным достижением. Наиболее перспективным, превышающим эффективность всех существующих и применяемых в настоящее время в нейроонкологии методов лечения является иммунотерапия. Перспективным направлением развития этого метода является создание вакцин с использованием дендритных клеток (ДК). Несмотря на то, что механизмы нарушения разных звеньев иммунитета при ЗОГМ неизвестны, эмпирические результаты все же убеждают в эффективности, важности и перспективности разработки этого направления исследований. Многие аспекты создания и применения вакцин на основе ДК в нейроонкологии неизвестны или недостаточно отработаны.

Ключевые слова: *злокачественные опухоли головного мозга, иммунотерапия, вакцина, дендритные клетки.*

Ограниченные возможности лечения больных с ЗОГМ с помощью хирургического вмешательства, химиотерапии и лучевой терапии обуславливают актуальность поиска и разработки новых способов сохранения, продолжения и улучшения качества их жизни. В частности, большие надежды возлагают на методы иммунотерапии. В настоящее время активно разрабатываются методы, направленные на активацию естественного противоопухолевого иммунитета, в частности, методы специфической активной иммунотерапии. Одним из наиболее перспективных направлений иммунотерапии онкологических заболеваний является применение противоопухолевых вакцин на основе ДК. ДК представляют собой единую систему иммунофенотипически и функционально отличных клеточных популяций, образующихся из различных гемопоэтических предшественников и локализующихся в некоторых органах и тканях. Выделяют 4 типа ДК. У человека ДК образуются преимущественно в красном костном мозге из предшественников миелоидного ряда или в тимусе — из лимфоидных предшественников [36]. Предшественники ДК обнаружены в периферической крови и крови из пуповины человека [17]. В процессе дифференцировки предшественников миелоидного ряда образуются близкородственные типы ДК — клетки Лангерганса и интерстициальные ДК [40].

ДК миелоидного ряда распознают и представляют Т- и В-лимфоцитам антигены (АГ), индуцируя первичный и вторичный иммунный ответ, поддерживают жизнеспособность и дифференцировку Т-лимфоцитов, регулируют баланс между подклассами Т-хелперов, в том

числе между Т-хелперами 1 и 2 типа (Th1 и Th2) Ответ Th1 опосредован цитотоксическими клетками, а Th2 — антителами.

ДК являются наиболее эффективными из известных сегодня антиген-представляющих клеток (АПК). Другие АПК активируют только клетки памяти. Сочетание макропиноцитоза и особенности продукции антигена (АГ) обуславливают необычайно эффективное представление ими АГ. Направленная миграция ДК в лимфоидные органы и увеличение поверхности ДК за счет образования цитоплазматических отростков в процессе созревания, а также чрезвычайно высокое содержание комплексов МНС-АГ (МНС — major histocompatibility complex) в 10–100 раз больше, чем на других АПК, позволяют ДК представлять АГ одновременно большому количеству Т-лимфоцитов [24]. Кроме того, ДК экспрессируют более широкий набор молекул адгезии и костимуляции, чем другие АПК, и, в зависимости от условий, могут секретировать различные цитокины. Все эти особенности делают ДК в 100–1000 раз более активными, чем макрофаги и В-лимфоциты в индукции иммунного ответа на чужеродные АГ и способными предотвращать иммунный ответ на ауто-АГ [2].

Центральная роль ДК в иммунорегуляции обусловлена их уникальной способностью инициировать АГ специфический иммунный ответ. Это и обусловило все возрастающий интерес исследователей к ДК с точки зрения терапии опухолевых заболеваний в общей онкологии и нейроонкологии в частности [1, 5–8, 13, 22].

Одной из причин нарушения противоопухолевого иммунного ответа у пациентов с

онкологическими заболеваниями считают слабое распознавание опухолеспецифических антигенов (ОСА) лимфоцитами из-за отсутствия у клеток опухоли спектра поверхностных молекул, необходимых для эффективного представления АГ Т-лимфоцитам, и костимулирующих молекул [4].

Основными эффекторами противоопухолевого иммунитета являются НК-клетки и цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты. ДК могут участвовать в активации НК-клеток несколькими путями: 1) интерфероны α , β (ИФН), продуцируемые лимфоидными пре-ДК и ДК, активируют НК-клетки [14]; 2) интерлейкины (ИЛ) — ИЛ-12, ИЛ-15 и ИЛ-18, вырабатываемые миелоидными ДК, стимулируют цитотоксичность, пролиферацию и продукцию ИФН- γ НК-клетками [26]; 3) костимуляторные молекулы, экспрессируемые ДК (CD40, CD80, CD86), запускают или усиливают эффекторную активность НК-клеток [47]. ДК могут также активировать противоопухолевые CD8⁺ Т-лимфоциты, захватывая клетки опухоли, находящиеся в состоянии апоптоза, и представляя опухолевые АГ в комплексе с МНС 1 класса (перекрестное представление). При гистологическом исследовании опухолей было отмечено, что инфильтрация опухоли ДК коррелирует с увеличением показателя выживаемости больных и уменьшением частоты появления метастазов при различных опухолях [18]. Но этот признак не всегда свидетельствует о благоприятном прогнозе. Накопление ДК в опухолевой ткани может быть “ловушкой” для них. Так, ДК, изолированные из прогрессирующих и метастатических опухолей, как правило, имеют низкую иммуностимулирующую активность [20]. Низкая АГ-представляющая способность ДК обусловлена снижением экспрессии костимулирующих поверхностных молекул CD80 и CD86 [3]. Известно также, что гиалуроновая кислота, выделяемая глиомой, при взаимодействии с CD44 активирует NO-синтазу, что обуславливает синтез NO ДК, вследствие чего происходит индукция апоптоза самих АПК [52]. Кроме того, опухоли, продуцируя ИЛ-10 и ряд других цитокинов, могут подавлять функции ДК либо переключать их с ДК1, индуцирующих Th1 ответ, на ДК2, которые индуцируют Th2 ответ, либо индуцировать толерогенные ДК. Более того, ИЛ-10 может вызывать АГ специфическую анергию как наивных Т-лимфоцитов, так и АГ-специфических цитотоксических клеток [43]. Созреванию ДК в опухоли может также препятствовать фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), секретируемый многими злокачественными опухолями. Этот фактор, кроме того, нарушает дифференцировку гемопоэтических предшественников в ДК.

В связи с этим одной из основных задач иммунотерапии злокачественных опухолей, очевидно, является повышение активности ДК. Использование различных цитокинов и их сочетаний для нормализации созревания и функционирования ДК у пациентов с онкологическими заболеваниями является перспективным направлением их иммунотерапии. Получены предварительные данные, позволяющие сделать вывод, что такие цитокины, как ИЛ-12, ИЛ-15, фактор некроза опухоли (ФНО- α) и CD40L (молекула, которую экспрессируют активированные Т-лимфоциты, стимулирующая созревание ДК и необходимая для активации синтеза их цитокинов), могут способствовать защите ДК от индуцируемого клетками опухоли апоптоза и, следовательно, усилению иммунного ответа [41].

Некоторые цитокины обладают синергичным действием, значительно активизируя функцию ДК. Так, ИЛ-1 β может значительно увеличить секрецию цитокинов, индуцированную CD40L [29]. Установлено, что Flt-3L (Fms-like tyrosine kinase 3 ligand) совместно с ИЛ-3, ИЛ-6, гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ) или c-KitL (stem cell factor) стимулируют пролиферацию полипотентных предшественниц ДК в костном мозге [41]. Для усиления распознавания клеток опухоли Т-лимфоцитами разрабатываются противоопухолевые вакцины, методология создания которых основана на использовании ДК.

Цель ДК-терапии злокачественных опухолей — стимуляция иммунного ответа против опухолевых АГ. Показано, что сингенные ДК при их нагрузке опухолевыми АГ способны рестимулировать лимфоциты и повышать их специфическую противоопухолевую активность. Общая схема лечения предполагает получение ДК у больного в условиях *in vivo* или их генерацию *in vitro* из предшественников, их нагрузку соответствующими опухолевыми АГ и введение больному. Важной находкой последних лет явилась возможность “мобилизации” ДК (создание искусственного “дендритоцитоза”) *in vivo* путем введения цитокинов, Flt-3L или ГМ-КСФ. Введение Flt3L человеку (10–20 мкг/кг подкожно в течение 10 дней) способствует увеличению содержания CD11c⁺ (пре-ДК) в крови в 48 раз, CD11c⁻ — в 13 раз; введение ГМ-КСФ повышает экспансию только CD11c⁻ пре-ДК в 7 раз и более [33]. В основе этого эффекта, очевидно, лежит пролиферация ранних предшественников ДК. “Мобилизация” *in vivo* — потенциальный способ получения большого количества ДК для терапевтических целей. Кроме того, сам по себе “дендритоцитоз” может оказывать терапевтическое влияние. Так, при введении Flt-3L мышам отмечали инфильтрацию опухоли ДК и

даже спонтанный регресс некоторых злокачественных опухолей [30]. Увеличение количества ДК в опухолевом микроокружении после инъекций Flt-3L, отмеченное у некоторых онкологических больных, способствовало активации специфического противоопухолевого иммунного ответа и более благоприятному течению заболевания [28].

В настоящее время стала возможной генерация ДК *in vitro* в количестве, достаточном для терапевтического применения. ДК получают у человека либо из малочисленных CD34⁺-предшественниц ДК путем стимуляции их пролиферации цитокинами ГМ-КСФ и ФНО- α или из непролиферирующих предшественниц — CD14⁺-клеток (моноцитов) периферической крови при их стимуляции с помощью комбинации цитокинов, ГМ-КСФ и ИЛ-04 [34]. CD34⁺-клетки выделяют из одноклеточной суспензии костного мозга или крови из пуповины путем флуоресцентного или магнитного сортирования. При культивировании этих клеток в сывороточной среде с 200 ЕД/мл (100 нг/мл) ГМ-КСФ, 50 ЕД/мл (2,5 нг/мл) ФНО- α и 10 ЕД/мл ФСК (фактор стволовых клеток) на 6-е сутки образуются два подтипа про-ДК — CD1a⁻CD14⁺ и CD1a⁺CD14⁻, которые при необходимости можно разделить методом сортирования [17]. К 12-м суткам эти про-ДК превращаются, соответственно, в миелоидные ДК и клетки Лангерганса. При добавлении к несортированным 6-дневным культурам (1 нг/мл) ТФР- β (трансформирующего фактора роста) получают только клетки Лангерганса [16]. Полученные таким образом клетки Лангерганса, как и миелоидные ДК, способны представлять АГ иммунокомпетентным клеткам и вызывать иммунный ответ на этот АГ [15].

Метод получения ДК из CD14⁺ лимфоцитов чаще всего используют в экспериментальных исследованиях, он наиболее подходит для целей иммунотерапии, поскольку нет необходимости дополнительно вводить цитокины для увеличения количества CD34⁺ лимфоцитов в периферической крови. ДК, получаемые таким способом, отличаются большей гомогенностью и являются более дифференцированными [4]. В качестве источника CD14⁺ клеток используют фракцию, получаемую при лейкоферезе, а не путем повторного взятия периферической крови. Моноциты выделяют из суспензий мононуклеаров крови методами адгезии к пластику, центрифугирования на перколле, противочной элютирания, а также методом флуоресцентного или магнитного сортирования (в порядке возрастания чистоты получаемых моноцитов). При культивировании моноцитов с ГМ-КСФ 500–1000 ЕД/мл и ИЛ-4 250–1000 ЕД/мл в сывороточной среде на 5–7-е сутки образуются незрелые миелоид-

ные ДК [35]. ИЛ-4 можно заменить на ИЛ-13, поскольку он не стимулирует пролиферацию лимфоцитов, но способствует дифференцировке моноцитов в ДК [42].

В связи с необходимостью получения ДК человека в большом количестве для последующего использования в клинике в целях вакцинации пациентов с онкологическими заболеваниями разработан “закрытый цикл” процедуры получения ДК, в котором для обеспечения стерильности их выделяют в таких же специальных пластиковых мешках, какие используют при плазмаферезе. Кроме того, для исключения контаминации культур ДК разработаны методы с использованием бессывороточных сред вместо фетальной сыворотки. При этом мононуклеарные лейкоциты получают путем лейкофереза. Выход ДК при этой процедуре составляет 62×10^6 клеток [44].

Описано выделение популяции ДК из периферической крови с использованием иммуномагнитного носителя, покрытого моноклональными антителами (МоАТ) M-DC8 [37]. M-DCS⁺-клетки, по-видимому, занимают промежуточное положение между зрелыми и незрелыми ДК и при культивировании *in vitro* с ГМ-КСФ приобретают свойства зрелых ДК (зДК). Использование зДК для иммунотерапии предпочтительнее, чем незрелых, по ряду причин. Так, зДК, в отличие от незрелых, устойчивы к действию ингибирующих факторов, таких как ИЛ-10 или VEGF. Кроме того, при введении “нагруженных” определенным АГ незрелых ДК отмечали угнетение иммунного ответа на этот АГ, тогда как при введении “нагруженных” зДК иммунный ответ усиливался [11].

Для оценки способности ДК к АГ представлению и стимуляции Т-лимфоцитов применяют следующие методы исследования. Аллогенная смешанная лейкоцитарная реакция (СЛР), оцениваемые параметры — реакция бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ) или продукция цитокинов Т-лимфоцитами; Ауто-СЛР, оцениваемые параметры — РБТЛ или продукция цитокинов Т-лимфоцитами; нагрузка ДК АГ и оценка АГ специфического Т-клеточного ответа, оцениваемые параметры — РБТЛ или продукция цитокинов Т-лимфоцитами; Th1|Th2 поляризирующая способность ДК, оцениваемые параметры — продукция Th1-цитокинов или Th2-цитокинов Т-хелперами [9].

Для введения АГ в ДК используют следующие способы: 1) инкубацию с пептидами ОСА [32]; 2) ко-инкубацию с ДНК или РНК, кодирующими нужный АГ [32]; 3) инкубацию с опухолевыми лизатами [49]; 4) слияние ДК с клетками опухоли [21]; 5) трансфекцию ДК с использованием вирусных векторов, содер-

жащих генетическую информацию об интересующем гене ОСА. В качестве векторов, как правило, используют ретровирусы и аденовирусы [50].

На экспериментальной модели изучена эффективность трансфекции ДК ДНК опухоли и генами цитокинов. Использовали вирусный вектор SFV (Semliki Forest Virus — РНК-вирус, относящийся к семейству ретровирусов). Установлено, что применение вакцины на основе ДК, в которые внесена с помощью вектора SFV ДНК комплементарная ДНК опухоли, более эффективно при сочетании с системным назначением ИЛ-12 и ИЛ-18, что способствовало формированию сильного противоопухолевого иммунного ответа. При совместном назначении ДК вакцины, ИЛ-12 и ИЛ-18 отмечали значительное увеличение продукции ИНФ- γ . Противоопухолевый эффект при такой сочетанной терапии опосредован CD4, CD8 и NK клетками [50]. При трансфекции ДК с помощью вектора SFV, несущего ген ИЛ-12, их внутриопухолевое введение не требовало предварительной нагрузки АГ опухоли для индукции противоопухолевого иммунитета [51]. Кроме того, выявлено, что SFV способен индуцировать апоптоз ДК, что облегчает захват клеток, находящихся в состоянии апоптоза, другими ДК. Это способствовало усилению иммунного ответа. Вместе с тем, при использовании вирусных векторов для трансфекции ДК остается открытым вопрос о возможной опухолевой трансформации самих ДК.

Инкубация ДК с экстрактами опухоли, слияние ДК с клетками опухоли и использование препаратов суммарной ДНК и РНК клеток опухоли предполагают возможность исходного получения опухолевого материала у больного. Перспективным представляется использование с этой целью РНК клеток опухоли, но этот путь очень дорогой. Наиболее доступно использование лизатов аутологичных клеток опухоли. Преимуществом метода является использование всего спектра ОСА и индивидуализация лечения, но остается открытым вопрос о возможности возникновения аутоиммунного процесса, поскольку не исключается возможность иммунного ответа против тканеспецифических АГ. Чаще используют следующие способы приготовления опухолевого лизата: 1) клетки опухоли облучают, затем разрушают путем повышения рН среды. Полученный экстракт белков используют для активации ДК [6]; 2) производят дезагрегацию, осуществляя последовательные циклы замораживания и оттаивания клеток опухоли с последующим центрифугированием клеточного детрита. Для активации ДК используют надосадочную жидкость [1]. В организме взаимодействие ДК, обработанных ОСА с Т-лимфоцитами,

обуславливает появление клонов цитотоксических лимфоцитов, активных в отношении клеток опухоли, экспрессирующих эти ОСА.

При иммунотерапии с использованием ДК иммунологи чаще всего применяют метод ELISPOT, позволяющий оценивать количество опухолеспецифических Т-лимфоцитов в периферической крови [23]. Метод определения АГ специфических лимфоцитов основан на изучении секреции цитокинов в ответ на распознавание Т-лимфоцитами специфических АГ. Цитокины при этом определяют с помощью иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA). Для определения количества специфических CD8 Т-лимфоцитов в ELISPOT-тесте определяют содержание ИНФ- γ и/или ФНО- α . Чувствительность метода очень высока (близка к 100%), что подтверждает целесообразность его использования для прямой количественной оценки АГ специфических Т-лимфоцитов периферической крови в процессе вакцинации [38].

Несмотря на постоянное совершенствование хирургической техники, методов лучевой терапии и химиотерапии, прогноз при ЗОГМ, как правило, неблагоприятный. Очевидно, нейрохирургическое вмешательство и химио-лучевая терапия имеют свои ограничения, связанные с невозможностью абсолютно радикального удаления опухоли, низкой чувствительностью (или нечувствительностью) многих злокачественных новообразований головного мозга к химио-лучевой терапии и осложнениями при ее применении. Одним из наиболее обещающих методов иммунотерапии злокачественной глиомы является применение вакцин на основе ДК, нагруженных АГ опухоли. Несмотря на то, что глиома экспрессирует ОСА и потенциально способна вызвать иммунный ответ, действие многих иммуносупрессивных факторов подавляет иммунный ответ. Поэтому большинство подходов к иммунотерапии глиомы были недостаточно успешными. В настоящее время получены обнадеживающие результаты при исследовании вакцин на основе ДК как в модели заболевания на животных, так и в клинических исследованиях.

Результаты исследований позволяют предположить, что иммуносупрессивное действие злокачественной глиомы может быть преодолено. Проводятся исследования на экспериментальных моделях, направленные на повышение эффективности ДК вакцинотерапии. Так, при подкожном введении ДК вакцины экспериментальным животным, которым интрацеребрально имплантировали глиомы линии 9L, отмечена индукция противоопухолевого иммунитета, что способствовало увеличению продолжительности их жизни. Причем, по данным гистологического

исследования выявлена значительная инфильтрация опухоли CD4 и CD8 лимфоцитами [27]. Введение вакцины мышам, которым интрацеребрально имплантировали опухоль, более чем на 160% увеличивало медиану выживаемости, 50% животных жили в течение длительного времени. При гистологическом исследовании выявляли только очаги демиелинизации в области имплантации опухоли, признаков индукции ДК вакциной аутоиммунного энцефаломиелимита не было [22].

Действие ДК вакцины изучено также в эксперименте при терапии глиомы, которая возникает спонтанно у мышей линии VM/Dk. Эта астроцитома фенотипически и морфологически сходна с глиомой человека. Как и глиома человека, опухоль секретирует ТФР- β и цитокины, обладающие иммуносупрессивным действием. При использовании для нагрузки ДК комплекса липосом и экстракта опухоли отмечена большая эффективность ДК вакцины, чем при нагрузке только экстрактом опухоли [13]. Нагрузка ДК РНК аутологичной опухоли способствовала индукции противоопухолевого иммунитета, отмечена значительная инфильтрация опухоли CD4 и CD8 лейкоцитами [25].

Иммунный ответ, обуславливающий регресс опухоли, может быть также индуцирован длительным локальным подкожным введением ГМ-КСФ совместно с инактивированными клетками опухоли [46].

Противоопухолевый иммунитет может быть индуцирован при введении ДК, не нагруженных АГ, в ложе удаленной опухоли. Интракраниально введенные ДК дренировались в ипсилатеральные глубокие лимфатические узлы шеи, что ассоциировалось с повышением локальной и системной противоопухолевой активности. Результаты исследования показали эффективность такого способа терапии [19].

В настоящее время проводятся клинические испытания вакцин на основе ДК при ЗОГМ. Как показали исследования, ДК, генерированные из моноцитов периферической крови пациентов со злокачественной глиомой, культивированные с лизатом опухоли, стимулировали сильную цитотоксическую активность в отношении клеток аутологичной глиомы. Вакцина на основе ДК может быть инициатором АГ специфического ответа на глиальную опухоль [53]. При вакцинации пациентов со злокачественной глиомой отмечали увеличение количества CD16 и CD56 лимфоцитов и повышение продукции ИНФ- γ [48]. У некоторых пациентов после проведения вакцинации отмечено повышение общей цитотоксической активности. У пациентов, которым выполняли повторную операцию, выявлена значительная инфильтрация опухоли

цитотоксическими клетками и клетками памяти [48, 54].

Применение ДК, нагруженных м-РНК аутологичной опухоли, может вызвать специфичный цитотоксический CD8 иммунный ответ у пациентов со злокачественной глиомой. У некоторых пациентов установлена умеренная цитотоксическая активность Т-лимфоцитов в отношении клеток аутологичной глиомы. CD8 лимфоциты, выделенные при неэффективной инициации иммунного ответа, секретировали большое количество ИЛ-10 и меньшее количество ИФН- γ . Этот тип ответа CD8 лимфоцитов объясняет нарушение функции эффекторных клеток у этих пациентов. Иначе говоря, препятствием для иммунотерапии может служить высокий уровень опухолиспецифической толерантности [26].

Учитывая, что многим пациентам с ЗОГМ проводят гормональную терапию с использованием дексаметазона, изучено его влияние на эффективность иммунотерапии ДК. Установлено, что дексаметазон не нарушает представление поверхностных АГ, фагоцитоз, не подавляет противоопухолевый иммунитет, индуцированный ДК [45].

Обработка ДК доксорубицином, но не митомидином С, не влияет или даже усиливает АГ-представляющую активность ДК [5]. В литературе этот феномен объяснения не имеет.

Для лечения ЗОГМ предложен метод комбинированного лечения, включающий оперативное вмешательство, лучевую терапию и химиотерапию с последующей иммунотерапией. У больных, которым проводили специфическую противоопухолевую иммунотерапию, продолжительность жизни после последней операции превысила интервал между последними вмешательствами, чего не наблюдали до начала иммунотерапии [6–8]. Тактика комбинированного лечения позволила достичь показателя выживаемости до 1 года — 66%, 3 лет — 20%, 5 лет — 11% [7].

При внутривенном введении ДК-вакцины возможно возникновение осложнений: наиболее часто наблюдали лихорадку II–III степени (у 58,3%), гепатотоксичность I–II степени (у 40%), астению I–II степени (у 85%). При подкожном или внутрикожном введении ДК-вакцин у некоторых пациентов возникала кожная реакция в виде гиперемии, у некоторых — болезненность мышц. У отдельных больных в день введения вакцины температура тела повышалась до 39°C. При комбинированном подкожно-внутрикожном введении возможно возникновение астении I степени [1]. Специального лечения указанные реакции не требовали, исчезали самостоятельно через 1–2 сут [6]. Получены данные, что ДК

поглощают клетки опухоли, находящиеся в состоянии апоптоза, дренируются в регионарные лимфатические узлы и могут вызвать цитотоксический иммунный ответ на тканеспецифические АГ [12]. Кроме того, остается открытым вопрос о возможности возникновения аутоиммунного процесса, особенно при иммунотерапии опухолей головного мозга. В эксперименте при подкожной инъекции АГ миелина происходит индукция аллергического энцефаломиелимита [10]. У некоторых больных отмечены аутоиммунные реакции в виде витилиго [31]. В целом, большинство авторов считают метод безопасным и эффективным.

Как показывают результаты экспериментальных и клинических исследований, использование ДК в иммунотерапии опухолей является перспективным методом. Особенно велика актуальность при лечении опухолей центральной нервной системы, в частности, ЗОГМ. Метод вакцинотерапии на основе ДК привлекателен тем, что с его помощью можно безопасно и эффективно индуцировать противоопухолевый иммунитет и обеспечить избирательную элиминацию оставшихся клеток опухоли. Анализ данных литературы свидетельствует, что вакцинотерапия на основе ДК — не до конца изученный метод. Однако положительные результаты в общей онкологии и нейроонкологии неоспоримы, и дальнейшее проведение исследований в этом направлении важно и необходимо.

Список литературы

- Болдуева И.Л. Противоопухолевые вакцины на основе дендритных клеток. Опыт НИИ онкологии им. проф. Н.Н. Петрова // I Всерос. науч.-практ. конф. "Биотерапия рака". — М., 2002. — С.10–13.
- Макаренкова В. П., Кост Н. В., Щурин М. Р. Система дендритных клеток: роль в индукции иммунитета, в патогенезе инфекционных, аутоиммунных и онкологических заболеваний // Иммунология. — 2002. — №2. — С.68–76.
- Молчанов О.Е. Попова И.А. Козлов В.К. Карелин М.И. Современные тенденции иммунотерапии злокачественных опухолей. — СПб, 2001. — 88 с.
- Москалева Е.Ю., Северин С.Е. Перспективы создания противоопухолевых вакцин с использованием дендритных клеток человека // Иммунология. — 2002. — №1. — С.8–15.
- Москалева Е.Ю., Родина А.В., Луценко С.В. и др. Теоретические основы и подготовительный этап использования дендритных клеток для биотерапии рака // I Всерос. науч.-практ. конф. "Биотерапия рака". — М., 2002. — С.66–68.
- Олюшин В.Е., Тиглиев Г.С., Острейко О.В., Филатов М.В. Иммунотерапия у пациентов с продолженным ростом глиобластом головного мозга // 6-й междунар. симп. "Современные минимально-инвазивные технологии". — СПб, 2001. — С.265–269.
- Острейко О.В. Продолженный рост злокачественных глиом супратенториальной локализации: повторные операции, катамнез и некоторые вопросы комбинированного лечения: Автореф. дис. ... канд. мед наук. — СПб, 2001. — 23 с.
- Острейко О.В., Олюшин В.Е., Тиглиев Г.С. и др. Противоопухолевая иммунотерапия у больных с продолженным ростом глиобластом: оценка результатов лечения // Нейрохирургия. — 2003. — №4. — С.40–44.
- Пащенко М.В., Пинегин Б.В. Основные свойства дендритных клеток // Иммунология. — 2001. — №4. — С.7–16.
- Пащенко М.В., Пинегин Б.В. Роль дендритных клеток в регуляции иммунного ответа // Иммунология. — 2002. — №5. — С.313–321.
- Чкадуа Г.З., Заботина Т.Н., Буркова А.Л. и др. Влияние условий культивирования на процентное содержание зрелых форм дендритных клеток человека // I Всерос. науч.-практ. конф. "Биотерапия рака". — М., 2002. — С.132–135.
- Albert M.L., Darnell J.C., Bender A. et al. Tumor-specific killer cells in paraneoplastic cerebellar degeneration // Nat. Med. — 1998. — V.4. — P. 321–324.
- Aoki H., Mizuno M., Natsume A. et al. Dendritic cells pulsed with tumor extract-cationic liposome complex increase the induction of cytotoxic T lymphocytes in mouse brain tumor // Cancer Immunol. Immunother. — 2001. — V.50. — P.463–468.
- Biron C.A. Role of early cytokines, including alpha and beta interferons (IFN-alpha/beta), in innate and adaptive immune responses to viral infections // Seminars. Immunol. — 1998. — V.10. — P.383–390.
- Caux C., Massacrier C., Dezutter-Dambuyant C. et al. Human dendritic Langerhans cells generated in vitro from CD34+ progenitors can prime naive CD4+ T cells and process soluble antigen // J. Immunol. — 1995. — V.155. — P.5427–5435.
- Caux C., Massacrier C., Dubois B. et al. Respective involvement of TGF-beta and IL-4 in the development of Langerhans cells and non-Langerhans dendritic cells from CD34+ progenitors // J. Leukoc. Biol. — 1999. — V.66. — P.781–791.
- Chaux P., Favre N., Martin M., Martin F. Tumor-infiltrating dendritic cells are defective in their antigen-presenting function and inducible B7 expression in rats // Int. J. Cancer. — 1997. — V.72. — P.619–624.
- Coppola D., Fu L., Nicosia S. V. et al. Prognostic significance of p53, bcl-2, vimentin, and S100 protein-positive Langerhans cells in endometrial carcinoma // Hum. Pathol. — 1998. — V.29. — P.455–462.
- Ehtesham M., Kabos P., Gutierrez M.A. et al. Intratumoral dendritic cell vaccination elicits potent tumoricidal immunity against malignant glioma in rats // J. Immunother. — 2003. — V.26 — P.107–116.
- Enk A. H., Jonuleit H., Saloga J., Knop J. Dendritic cells as mediators of tumor-induced tolerance in metastatic melanoma // Int. J. Cancer. — 1997. — V.73. — P.309–316.
- Gong J., Chen D., Kashiwaba M., Kufe D. Induction of antitumor activity by immunization with fusions

- of dendritic and carcinoma cells // *Nature*. — 1997. — V.3. — P.558–561.
22. Heimberger A.B., Crotty L.E., Archer G.E. et al. Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with tumor homogenate induce immunity against syngeneic intracerebral glioma // *J. Neuroimmunol.* — 2000. — V.103. — P.16–25.
 23. Herr W., Linn B., Leister N. et al. The use of computer-assisted video image analysis for the quantification of CD8⁺ T-lymphocytes producing tumor necrosis factor alpha spots in response to peptide antigens // *J. Immunol. Methods.* — 1997. — V.203. — P.141–152.
 24. Inaba K., Pack M., Inaba M. et al. High levels of a major histocompatibility complex II-self peptide complex on dendritic cells from the T-cell areas of lymph nodes // *J. Exp. Med.* — 1997. — V.186. — P.665–672.
 25. Insug O., Ku G., Ertl H.C. A dendritic cell vaccine induces protective immunity to intracranial growth of glioma // *Anticancer Res.* — 2002. — V.22. — P.613–621.
 26. Kobayashi T., Yamanaka R., Homma J. et al. Tumor mRNA-loaded dendritic cells elicit tumor-specific CD8(+) cytotoxic T cells in patients with malignant glioma // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2003. — V.52. — P.632–637.
 27. Liao L.M., Black K.L., Prins R.M. et al. Treatment of intracranial gliomas with bone marrow-derived dendritic cells pulsed with tumor antigens // *J. Neurosurg.* — 1999. — V.90. — P.1115–1124.
 28. Lotze M.T. Dendritic cells as therapeutic reagents for the treatment of patients with cancer // *Ann. Surg.* — 1997. — V.226. — P.1–5.
 29. Luft T., Jefford M., Luetjens P. et al. IL-1 beta enhances CD40 ligand-mediated cytokine secretion by human dendritic cells (DC): a mechanism for T cell-independent DC activation // *J. Immunol.* — 2002. — V.168. — P.713–722.
 30. Lynch D.H., Andreasen A., Maraskovsky E. et al. Flt3 ligand induces tumor regression and antitumor immune responses in vivo // *Nat. Med.* — 1997. — V.3. — P.625–631.
 31. Mackensen A., Herbst B., Chen J.L. et al. Phase I study in melanoma patients of a vaccine with peptide-pulsed dendritic cells generated in vitro from CD34(+) hematopoietic progenitor cells // *Int. J. Cancer.* — 2000. — V.86. — P.385–392.
 32. Nair S.K., Hull S., Coleman D. et al. Induction of carcinoembryonic antigen (CEA)-specific cytotoxic T-lymphocyte responses in vitro using autologous dendritic cells loaded with CEA peptide or CEA RNA in patients with metastatic malignancies expressing CEA // *Int. J. Cancer.* — 1999. — V.82. — P.121–124.
 33. Pulendran B., Banchereau J., Burkeholder S. et al. Flt3-ligand and granulocyte colony-stimulating factor mobilize distinct human dendritic cell subsets in vivo // *J. Immunol.* — 2000. — V.165. — P.566–572.
 34. Romani N., Reider D., Heuer M. et al. Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability // *J. Immunol. Methods.* — 1996. — V.196. — P.137–151.
 35. Sallusto P., Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha // *J. Exp. Med.* — 1994. — V.179. — P.1109–1118.
 36. Saunders D., Lukas K., Ismaili J. et al. Dendritic cell development in culture from thymic precursor cells in the absence of granulocyte/macrophage colony-stimulating factor // *J. Exp. Med.* — 1996. — V.184, N6. — P.2185–2196.
 37. Schakel K., Mayer E. L., Federle Ch. et al. A novel dendritic cell population in human blood: one-step immunomagnetic isolation by a specific mAb (M-DC8) and in vitro priming of cytotoxic T lymphocytes // *Europ. J. Immunol.* — 1998. — V.28. — P.4084–4093.
 38. Scheibenbogen C., Lee K.H., Stevanovic S. et al. Analysis of the T cell response to tumor and viral peptide antigens by an IFNgamma — ELISPOT assay // *Int. J. Cancer.* — 1997. — V.71. — P.932–936.
 39. Schreiber F., Nadler L. M. The central role of follicular dendritic cells in lymphoid tissues // *Adv. Immunol.* — 1992. — V.51. — P.243–283.
 40. Shortman K., Caux C. Dendritic cell development: multiple pathways to nature's adjuvants // *Stem Cells.* — 1997. — V.15. — P.409–419.
 41. Shurin M. R., Esche C., Lotze M. T. Flt3: receptor and ligand. Biology and potential clinical application // *Cytokine Growth Factor Rev.* — 1998. — V.9. — P.37–48.
 42. Steinbach F., Krause D. Development of accessory phenotype and function during the differentiation of monocyte-derived dendritic cells // *Res. Immunol.* — 1998. — V.149. — P.627–632.
 43. Steinbrink K., Jonuleit H., Muller G. et al. Interleukin-10-treated human dendritic cells induce a melanoma-antigen-specific anergy in CD8⁺ T-cells resulting in a failure to lyse tumor cells // *Blood.* — 1999. — V.93. — P.1634–1642.
 44. Stockwin K. H., McGonagle D., Martin I. G., Blair G. E. Dendritic cells: immunological sentinels with a central role in health and disease // *Immunol. Cell Biol.* — 2000. — V.78. — P.91–102.
 45. Takagi Y., Kikuchi T., Niimura M., Ohno T. Effects of glucocorticoids on antitumor effects of immunizations with fusions of dendritic and tumor cells // *Anticancer Res.* — 2003. — V.23. — P.2553–2558.
 46. Wallenfriedman M.A., Conrad J.A., DelaBarre L. et al. Effects of continuous localized infusion of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and inoculations of irradiated glioma cells on tumor regression // *J. Neurosurg.* — 1999. — V.90. — P.1064–1071.
 47. Wilson J. L., Charo J., Martin-Fontecha A. et al. NK cell triggering by the human costimulatory molecules CD80 and CD86 // *J. Immunol.* — 1999. — V.163. — P.4207–4212.
 48. Yamanaka R., Tsuchiya N., Yajima N. et al. Induction of an antitumor immunological response by an intratumoral injection of dendritic cells pulsed with genetically engineered Semliki Forest virus to produce interleukin-18 combined with the systemic

- administration of interleukin-12 // *J. Neurosurg.* — 2003. — V.99. — P.746–753.
49. Yamanaka R., Yajima N., Abe T. et al. Vaccination of recurrent glioma patients with tumour lysate-pulsed dendritic cells elicits immune responses: results of a clinical phase I/II trial // *Int. J. Oncol.* — 2003. — V.23. — P.5–15.
50. Yamanaka R., Yajima N., Tsuchiya N. et al. Administration of interleukin-12 and -18 enhancing the antitumor immunity of genetically modified dendritic cells that had been pulsed with Semliki forest virus-mediated tumor complementary DNA // *J. Neurosurg.* — 2002. — V.97. — P.1184–1190.
51. Yamanaka R., Zullo S.A., Tanaka R. et al. Enhancement of antitumor immune response in glioma models in mice by genetically modified dendritic cells pulsed with Semliki forest virus-mediated complementary DNA // *J. Neurosurg.* — 2001. — V.94. — P.474–481.
52. Yang T., Witham T.F., Villa L. et al. Glioma-associated hyaluronan induces apoptosis in dendritic cells via inducible nitric oxide synthase: implications for the use of dendritic cells for therapy of gliomas // *Cancer Res.* — 2002. — V.62. — P.2583–2591.
53. Yoshida S., Morii K., Watanabe M. et al. The generation of anti-tumoral cells using dendritic cells from the peripheral blood of patients with malignant brain tumors // *Cancer Immunol. Immunother.* — 2001. — V.50. — P.321–327.
54. Yu J.S., Wheeler C.J., Zeltzer P.M. et al. Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration // *Cancer Res.* — 2001. — V.61. — P.842–847.

Використання дендритних клітин в імунотерапії злоякісних пухлин головного мозку

Медяник І.А., Фраерман А.П., Боков А.Є.

Лікування злоякісних пухлин головного мозку (ЗПГМ) продовжує залишатися однією з основних проблем нейроонкології. Дотепер не розроблені ефективні методи терапії цієї патології, і збільшення середньої тривалості життя пацієнтів на тижні або місяці вважається важливим досягненням. Як показують результати останніх досліджень, найперспективнішим, перевищуючим ефективність всіх відомих і вживаних в даний час в нейроонкології методів лікування, є імунотерапія. Одним з найперспективніших напрямків розвитку цього методу є створення вакцин з використанням дендритних клітин (ДК). Не зважаючи на деякі невідомі механізми порушення різних ланок імунітету при ЗПГМ, переважно емпіричні результати, переконують своєю ефективністю у важливості й перспективності розробки цього напрямку досліджень. В той же час багато аспектів створення і застосування вакцин на основі ДК в нейроонкології залишаються невідомі й недостатньо відпрацьовані.

Use of dendritic cells in the immunotherapy of malignant brain tumors

Medyanik I.A., Fraerman A.P., Bokov A.E.

Use of the vaccines prepared from dendritic cells, is the most perspective method of development of immunotherapy of malignant tumors of a brain. Now this method of treatment is the most effective in comparison to all of others and is used in neurooncology.

However many mechanisms of immunological disturbances due to malignant tumors of the brain have not been completely investigated. There are poorly known and demand perfection techniques in the preparation of vaccines. Therefore today, this problem is rather actual and demands its careful studying and investigation.