

Ukr Neurosurg J. 2022;28(3):25-32  
doi: 10.25305/unj.258544

## Цитомегаловірусна інфекція пухлин головного мозку та цитомегаловірусна імунотерапія

Лісяний М.І., Ключникова А.І., Лісяний О.М., Бельська Л.М., Кот Л.А., Станецька Д.М.

Відділ нейроімунології,  
Інститут нейрохірургії ім. акад.  
А.П. Ромоданова НАМН України,  
Київ, Україна

Надійшла до редакції 08.06.2022  
Прийнята до публікації 12.08.2022

### Адреса для листування:

Лісяний Микола Іванович,  
Відділ нейроімунології,  
Інститут нейрохірургії ім. акад.  
А.П. Ромоданова, вул. Платона  
Майбороди, 32, Київ, 04050,  
Україна, e-mail: nitun.neuro@gmail.  
com

**Мета:** дослідити роль цитомегаловірусу (ЦМВ) в індукції та стимуляції росту пухлин головного мозку.

**Матеріали і методи.** Досліджено 256 зразків біотичного матеріалу тканин різних пухлин головного мозку. Гістологічно діагностовано у 123 спостереженнях гліальні пухлини різного ступеня злоякісності, у 51 – менінгіоми, у 25 – медулобластоми, у 16 – олігодендроастроцитоми II ступеня злоякісності, у 14 – метастатичні пухлини. Фрагменти пухлин отримано з біопсійного матеріалу через 1,5–2,0 год після операційного видалення. Для виявлення наявності ЦМВ у тканині пухлини проводили полімеразну ланцюгову реакцію в режимі реального часу з використанням наборів «ДНК-сорб А та В» («Амплісенс», РФ) згідно з інструкцією виробника та приладу BioRal (США) зі стандартними наборами для визначення ДНК ЦМВ («ДНК-технологія», РФ). Із фрагментів тканини пухлин отримували також цитологічні відбитки на предметному склі, які досліджували непрямим імуофлуоресцентним методом з моноклональними антитілами до протеїну рР-65 ЦМВ за допомогою набору «МоноСкан ЦМВ» (РФ).

**Результати.** Частота виявлення в тканині пухлин головного мозку антигену ЦМВ або його ДНК залежить від методу дослідження. Імуофлуоресцентний метод виявляє антиген рР-65 за допомогою моноклональних антитіл у 2,0–2,5 разу частіше, ніж полімеразна ланцюгова реакція ЦМВ у тканині пухлин. У тканині різних за гістогенезом пухлин головного мозку з різною частотою виявляють як антиген рР-65, так і ДНК ЦМВ. Найчастіше ЦМВ визначали в пухлинах гліального генезу та медулобластомах. У периферичній крові хворих з пухлинами головного мозку на момент госпіталізації для обстеження та хірургічного лікування не виявляли ДНК ЦМВ, що вказує на більш ранню контамінацію пухлинного вогнища цим вірусом. Наведено дані про механізми ЦМВ-індукції та стимуляцію росту пухлин шляхом активації проліферації клітин, зокрема нервових стовбурових клітин. Докладно проаналізовано роботи з використанням специфічної протівірусної терапії та ЦМВ-специфічної клітинної імунотерапії для лікування гліом.

**Висновки.** Визначення ЦМВ-інфекції в пухлинах головного мозку має важливе клінічне та прогностичне значення. Необхідно використовувати ЦМВ-клітинну імунотерапію при комбінованому лікуванні злоякісних пухлин мозку.

**Ключові слова:** цитомегаловірус; пухлини головного мозку; ЦМВ-імунотерапія

### Вступ

Серед способів хірургічного та нехірургічного комбінованого лікування злоякісних пухлин людини, зокрема новоутворень головного мозку, важливе місце посідають методи імунотерапії, які вважають найбільш перспективним і фізіологічним методом боротьби зі злоякісними пухлинами. Існує велика кількість імунотерапевтичних способів лікування, які розділяють на специфічні та неспецифічні, активні та пасивні, клітинні та антигенні, інфекційні та молекулярно-генетичні тощо. Велику увагу приділяють вивченню можливості створення високоактивних імунотерапевтичних препаратів, які б мали високу антигенність за рахунок ад'ювантів та вірусів і

здатність спричинити специфічну протипухлинну відповідь в організмі [1, 2]. Варті уваги дослідження з вивчення та створення імунотерапевтичних препаратів із інфікованих вірусами пухлин, які мають як високу антигенність, так і сильну здатність стимулювати цитотоксичну активність імунних клітин в умовах пухлинної імуносупресії [1, 2].

Завдяки застосуванню молекулярно-генетичних та вдосконаленню імуногістохімічних методів дослідження отримано багато даних про зв'язок між вірусами та злоякісними пухлинами людини (рак молочної залози, кишечника, простати, слинної залози, гліобластоми та медулобластоми головного мозку) [2–6].

Copyright © 2022 Лісяний М.І., Ключникова А.І., Лісяний О.М., Бельська Л.М., Кот Л.А., Станецька Д.М.



Робота опублікована під ліцензією Creative Commons Attribution 4.0 International License  
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Припущення про роль вірусів, зокрема цитомегаловірусу (ЦМВ), в індукції пухлин людини існує давно. Дослідження, проведені в середині 1970-х років [7, 8], виявили наявність ЦМВ у пухлинах, але роль цього вірусу в онкогенезі остаточно не з'ясовано. Так, P.S. More і J. Chang у 2010 р. стверджували, що лише 7 вірусів є абсолютно онкогенними та спричиняють пухлини людини (10–15% від усіх новоутворень, відомих у світі) [9]. На думку цих авторів, онкологію можна розділити на інфекційну та неінфекційну. Зіставляючи вірусну інфекцію та онкогенез, можна знайти багато спільних характеристик, таких як запалення, реакції вродженого імунітету, супресія імунітету тощо [9].

Незважаючи на наявність у пухлини вірусних антигенів, які визначають імуногістологічними методами, виділити та культивувати ЦМВ класичними вірусологічними методами *in vitro* вдається рідко, що змусило прихильників вірусної теорії онкогенезу запропонувати гіпотезу «hit and run» (удар і тікай), яка пояснювала часту відсутність вірусу в пухлині [10]. Пізніше запропоновано термін «мікроінфекція» ЦМВ у пухлини для пояснення суперечливих даних про роль вірусу в індукції новоутворень [11–13]. Причиною суперечливих даних є недосконалі застарілі методи досліджень. Однак навіть застосування методів сучасної імуногістохімії, генно-молекулярних методів типу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) не завжди давало змогу виявляти ЦМВ-інфекцію у пухлинах [14]. Інтерес становить робота німецьких учених, які за допомогою сучасних методик при дослідженні 22 гліальних пухлин, 6 аденокарцином молочної залози і товстого кишечника, 6 пухлин легені та 4 зразків нормальної тканини мозку в жодному зразку не виявили ЦМВ у пухлинній тканині [15]. Теорія про етіологічну роль ЦМВ в онкогенезі злоякісних пухлин мозку визнається не всіма дослідниками та потребує подальшого вивчення.

Прибічники ЦМВ-теорії нейроонкогенезу наводять багато доказів на її користь. Так, показано, що US-28 – хемокіновий рецептор ЦМВ може зв'язуватися з хемокіновими рецепторами клітин, що спричиняє їх активацію і стимуляцію проліферації та синтезу проангіогенних факторів, зокрема, судинного ендотеліального фактора росту. Введення мишам клітин глії, що експресують протеїн US-28, призводило до розвитку у них пухлин [16] і активувало транскрипційний фактор трансдукції та активації клітини – STAT-3 [17]. Також показано, що надранні протеїни ЦМВ, що кодуються генами 23/122, які відповідають за вірусну реплікацію, здатні індукувати ріст гліобластом [18]. На клітинних лініях гліобластом отримано неоднозначні результати із виявлення зазначених генів. Так, експресія цих генів у одних клітинних лініях спричиняла посилення проліферації клітин, а в інших – гальмувала їх проліферацію, блокуючи розподіл клітин [19]. Показано, що ЦМВ-інфекція індукує фосфорильовання внутрішньоклітинного кіназа, а ІЕ-2 протеїн ЦМВ поєднується з гістоновою деацетилазою-2, яка посилює транскрипційну активність клітин [20]. У клітині ЦМВ-інфекція здатна з'єднуватися з мікро-РНК, які відіграють важливу роль в індукції пухлин [21, 22].

З наведених даних можна зробити висновок, що наявність у гліомах ЦМВ – це не випадковий лабораторний феномен, зумовлений забрудненням

вірусними антигенами пухлини, ЦМВ відіграє важливу роль, якщо не в індукції пухлини, то принаймні в онкомодульовальній дії. Не зрозумілий вплив ЦМВ на інші внутрішньопухлинні процеси, зокрема його роль у розвитку внутрішньопухлинної імуносупресії. Не відомо також, чи створює супресія умови для розвитку та збереження ЦМВ у пухлині або навпаки ЦМВ-інфекція індукує імуносупресію у пухлині і таким чином призводить до росту пухлини і гальмування протипухлинного імунітету. Так, протеїн ЦМВ pp-65, що кількісно переважає серед білків вірусу, здатний пригнічувати активність природних кілерів (NK-клітин) та синтез  $\gamma$ -інтерферону, руйнувати HLA-DR молекули на мембрані лімфоцитів [23]. Інфіковані ЦМВ моноцити крові починають синтезувати так званий ЦМВ-залежний інтерлейкін (ІЛ)-10, який зв'язується з відповідним рецептором на клітині та активує транскрипційний фактор STAT-3 [24,25], що є ключовою молекулою в канцерогенезі та імунної супресії в пухлині [26].

Як відомо, фактор STAT-3 важливий для активації та міграції нервових стовбурових клітин (НСК) [28,29]. Крім того, ЦМВ-індукований ІЛ-10 пригнічує синтез прозапальних цитокінів [30] і гальмує проліферацію попередників моноцитів [31]. Цей фактор спричиняє перетворення прозапальних моноцитів M1 на імуносупресивні моноцити M2, які пригнічують функції імунних клітин [32,33]. Вважають, що наявність моноцитів M2 у пухлині є несприятливою прогностичною ознакою [33]. Ці дані свідчать про те, що ЦМВ-інфекція в пухлинному вогнищі може бути не лише прямою етіологічною причиною розвитку пухлини, а і опосередковано впливати на ріст гліоми через імунні механізми. ЦМВ зв'язується з НСК і моноцитами, які синтезують ІЛ-10 та інші фактори, що спричиняють імуносупресію та утворення моноцитів M2, а також впливають на ангиогенез у пухлині, активують STAT-3 і стимулюють проліферацію пухлинних клітин [1, 2].

Виділяють два етапи взаємодії ЦМВ та пухлини. На першому етапі ЦМВ з'єднується через рецептор тромбоцитарного фактора росту з НСК і активує в ній фактор STAT-3, який забезпечує міграцію цих клітин та синтез ІЛ-10. Останній впливає на моноцити, перетворюючи їх на клітини M2. Другий етап пов'язаний з клітинами M2, які накопичуються в пухлинному вогнищі та опосередковано стимулюють ріст пухлини, впливаючи на ангиогенез, імунну відповідь, міграцію та інвазію пухлинних клітин [1, 28, 34].

Можна стверджувати, що взаємодія ЦМВ та клітин організму, в яких цей вірус персистує, може призвести до індукції пухлини або її онкомодуляції, що реалізується різними внутрішньоклітинними механізмами, які спричиняють блокаду та гальмування одних процесів і стимуляцію інших (**Рис. 1**).

Згідно із сучасними теоріями онкогенезу гліобластоми та медулобластоми розвиваються із стовбурових пухлинних клітин [34, 35], які можуть виникати внаслідок порушення нормального диференціювання НСК в астроцити під впливом мутагенних чинників та вірусів [36]. Так, відомо, що НСК мозку експресують рецептор тромбоцитарного фактора росту, з яким з'єднується один з протеїнів gB ЦМВ, що призводить до проникнення вірусу в стовбурові клітини та його розмноження в клітині з подальшою активацією фосфоінозитидин-3-кіназного



**Рис. 1.** Вплив протеїнів цитомегаловірусу на клітинні процеси, які здатні спричинити індукцію пухлин чи онкостимуляцію [3]

(PI3K) сигнального шляху, який відповідає за процеси проліферації [37]. Показано також, що ЦМВ може інфікувати НСК здорових осіб. З огляду на їхні плюрипотентні властивості не виключена можливість їх трансформації в пухлинні стовбурові клітини, в яких міститиметься ЦМВ [38]. Підтвердженням гіпотези про роль ЦМВ в інфікуванні НСК в онкогенезі гліобластом є те, що переважні культури клітин гліобластом, в яких не виявляють пухлинні стовбурові клітини, не містять також ЦМВ, і, навпаки, клітинні культури гліобластом, у яких наявні НСК, містять протеїни ЦМВ. Додатковим непрямим доказом наявності зв'язку між ЦМВ і НСК, є те, що ці клітини розташовуються у субвентрикулярній зоні головного мозку, де може довго персистувати ЦМВ, як встановлено на мишах, інфікованих цим вірусом [39].

Можливо, мікрооточення в пухлинному вогнищі (макрофагально-моноцитарні клітини та НСК) може бути резервуаром вірусу в пухлині [40].

Незважаючи на клініко-теоретичні дослідження зв'язку між ЦМВ та нейроонкогенезом, зберігається скептичне ставлення до наявності та ролі ЦМВ в індукції злоякісних пухлин мозку [14].

**Мета:** дослідити роль цитомегаловірусу (ЦМВ) в індукції та стимуляції росту пухлин головного мозку.

### Матеріали і методи

#### Учасники дослідження

Досліджено 256 зразків біотичного матеріалу різних пухлин головного мозку пацієнтів, прооперованих в Інституті нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України у 2014–2017 рр.

Від усіх хворих отримана усвідомлена та добровільна письмова згода на участь у дослідженні.

Проведення дослідження схвалене комісією з етики та біоетики Інституту нейрохірургії імені акад.

А.П. Ромоданова НАМН України (протокол №1 від 14 квітня 2013 р.).

#### Критерії залучення у дослідження

Вік пацієнтів від 16 до 55 років, відсутність хронічних захворювань (туберкульоз, діабет), імунодефіцитних і алергічних захворювань, вірусних гепатитів та інших інфекційних захворювань.

#### Характеристика груп

Серед 256 пухлин гістологічно за міжнародною класифікацією ВООЗ пухлин центральної нервової системи (2007) діагностовано 123 гліальні пухлини різного ступеня анаплазії, 51 менингіому, 25 медулобластом, 16 олігодендроастроцитом II ступеня анаплазії, 14 метастатичних пухлин.

#### Дизайн дослідження

У роботі використано фрагменти пухлин, отримані з біопсійного матеріалу через 1,5–2,0 год після операційного видалення. Для виявлення наявності ДНК вірусу у тканині пухлини застосовували молекулярно-генетичний метод ПЛР у режимі реального часу з використанням наборів «ДНК-сорб А та В» («Амплиценс», РФ) згідно з інструкцією виробника та приладу BioRal (США) зі стандартними наборами для визначення ДНК ЦМВ («ДНК-технологія», РФ). Позитивними пробами вважалися зразки, в яких реакція ПЛР відбувалася до 36-го циклу, як зазначено в інструкції виробника. Також із фрагментів тканини пухлин отримували цитологічні відбитки на предметних стеклах, які після висушування та фіксації 96% етиловим спиртом досліджували непрямим імунофлуоресцентним методом з моноклональними антитілами до рР-65 протеїну ЦМВ за допомогою набору «МоноСкан ЦМВ»(РФ).

У крові 60 нейроонкологічних хворих, госпіталізованих для хірургічного лікування, у доопераційний період визначали наявність ДНК ЦМВ методом ПЛР у режимі реального часу.

### Статистичний аналіз

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакета комп'ютерних програм Microsoft Excel з визначенням t-критерію Стьюдента.

### Результати та їх обговорення

При імунофлюорисцентному вивченні вмісту протеїну pP-65 ЦМВ у клітинах різних за гістоструктурою пухлин головного мозку встановлено, що експресія протеїну pP-65 у клітинах пухлин варює в широкому діапазоні: 80,0 % (20 із 25) – у медулобластомах, 68,7% (114 із 166) – у гліомах, 65,0% (13 із 20) – у менингіомах, 35,7% 5 із 14,  $p < 0,05$  порівняно з іншими групами пухлин) – у метастазах раку, 60,9% 14 із 23) – в інших пухлинах.

Серед гліальних пухлин протеїн pP-65 виявлено у 68,7% досліджених зразків, у гліобластомах і анапластичних астроцитомах – у 1,5–2,0 рази частіше, ніж у диференційованих доброякісних астроцитомах (у 76,2% (48 із 63) гліобластом IV ступеня анаплазії, 66,3% (57 із 86) анапластичних астроцитом III ступеня анаплазії, 52,0% (9 із 17) фібрилярно-протоплазматичних астроцитом II ступеня анаплазії). Різниця між групою гліобластом та групою фібрилярно-протоплазматичних астроцитом була статистично значущою ( $p < 0,05$ ). У нормальній речовині головного мозку у жодному разі не виявлено наявності протеїну pP-65.

Отже, можна зробити висновок про значну персистенцію протеїну pP-65 ЦМВ у різних як за гістоструктурою, так і за ступенем анаплазії гліом головного мозку.

При дослідженні методом ПЛР наявності у тканині пухлини ДНК вірусу отримано дещо інші результати. Лише у 23,8% зразків виявлено ДНК ЦМВ, що втричі менше порівняно з визначенням протеїну pP-65 ЦМВ імунофлюоресцентним методом. У різних за гістогенезом пухлинах головного мозку ДНК ЦМВ виявляли з різною частотою. Найчастіше ДНК визначали у пухлинах гліального походження (33,3% (41 із 123)), дещо менше – у медулобластомах та інших пухлинах (20,0 % (5 із 225) та 18,75% (6 із 32) відповідно). У менингіомах, що виникають з оболонок мозку, ЦМВ виявлено лише у 5,88% (3 із 51) спостережень ( $p < 0,05$  порівняно з іншими групами пухлин). У жодному зразку нормальної речовини мозку ДНК ЦМВ не виявлено. Отримані нами дані щодо частоти персистенції ЦМВ у пухлинах головного мозку узгоджуються з літературними даними про переважну контамінацію ЦМВ пухлин гліального ряду [5, 6].

Таким чином, ЦМВ можна визначити за наявністю як антигенів, так і вірусної ДНК у клітинах пухлин. В інших первинних та метастатичних пухлинах головного мозку частіше виявляють вірусні протеїни, зокрема pP-65, рідше – вірусну ДНК, що, ймовірно, свідчить про короткочасну персистенцію вірусу в цих пухлинах. Також не виключають системну активацію хронічної ЦМВ-інфекції у хворих з пухлинами мозку та механічне транзиторне перенесення вірусу з крові в судини пухлини та пухлинне вогнище.

Для діагностики активації хронічної ЦМВ-інфекції вивчено 60 зразків периферичної крові хворих з пухлинами головного мозку на момент госпіталізації до стаціонару для обстеження та хірургічного лікування. Частота виявлення ДНК вірусу у периферичній крові становила 6% (по одному спостереженню при

гліобластомі, медулобластомі, аденомі гіпофіза та менингіомі) [41].

Отримані результати свідчать про відсутність активації латентної ЦМВ-інфекції у хворих з пухлинами мозку на момент госпіталізації до стаціонару, а також про те, що контамінація пухлин ЦМВ відбулася значно раніше, а виявлення вірусних протеїнів і ДНК у клітинах тканини пухлин не є наслідком транзиторного чи механічного перенесення вірусу із крові у пухлинне вогнище.

Механізм активації та перенесення вірусів з крові в пухлинне вогнище та їх тривале або короткочасне перебування в тканині пухлини вивчено мало, хоча багато авторів вказують на важливу роль у цих процесах специфічного противірусного імунітету, пригнічення якого може призвести до активації хронічних інфекцій, зокрема ЦМВ.

Клінічне значення феномену експресії протеїнів ЦМВ у пухлинах мозку досліджено недостатньо. Є лише поодинокі роботи, в яких проаналізовано тривалість життя хворих і наявність ЦМВ-інфекції. Найповніший аналіз виживання 80 пацієнтів з гліобластомами наведено у праці Н. Rahbar та співавт. (2012) [42]. Хворих розподілили на дві групи: з тривалістю життя до 18 міс (40 осіб) та понад 18 міс (40 осіб). Установлено таку закономірність: що менша експресія ЦМВ у пухлині, то більша тривалість життя пацієнта. При аналізі даних слід урахувати низку чинників (хіміотерапія, радіохірургічне лікування, локалізація пухлини та обсяг оперативного втручання), а також інші причини, які здатні суттєво вплинути на тривалість життя хворих. Автори, провівши складний статистичний аналіз, дійшли висновку, що малий вміст інфікованих ЦМВ клітин пухлини є сприятливим прогностичним показником, який визначає тривалість життя хворих, і навпаки, високий рівень ЦМВ у пухлинній тканині є несприятливою прогностичною ознакою. Для остаточного висновку необхідно провести додаткові дослідження можливості прогнозування тривалості життя на підставі інфікування пухлин ЦМВ [42].

Раніше показано, що ЦМВ індукує синтез у пухлині циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) та простагландину E-2 (PGE-2) [39]. У деяких зразках медулобластом та гліобластом виявлено високий рівень ЦОГ-2, що асоціюється із поганим клінічним прогнозом [39, 43, 44]. Застосування інгібітора ЦОГ-2 і целотокситу у поєднанні з велорином (цимевеном) сприяло гальмуванню росту медулобластом на 40–50% в експерименті на мишах, а вміст ЦМВ протеїнів у цьому випадку знижувався на 80% у тканині ксенотрансплантатів цих пухлин [43, 45]. Не виключено, що в клініці поєднане застосування антивірусної терапії та інгібіторів ЦОГ-2 забезпечить позитивний результат при лікуванні ЦМВ пухлин. Здійснено перші спроби лікування хворих із гліомами такою терапією. Понад 40 хворих з гліобластомами додатково до традиційного лікування отримували антивірусну і антиЦОГ-2-терапію у поєднанні з радіотерапією та хіміотерапією [46,47]. Однак питання про специфічне противірусне лікування (цимевеном, ганцикловіром тощо) пацієнтів з гліобластомами залишається суперечливим, незважаючи на значну кількість публікацій [46–48]. Так, ретроспективний аналіз виживання 50 пацієнтів з гліобластомами, які отримували ганцикловір додатково до стандартного лікування, виявив, що їхнє загальне виживання

становило 25,0 міс порівняно з 13,5 міс у контрольній групі ( $p < 0,001$ ) [48]. У невеликому дослідженні, в якому порівнювали лікування комбінацією ганцикловіру і бевацизумабу під час рецидиву гліобластоми з терапією лише бевацизумабом, виявлено лише тенденцію до поліпшення загальної виживаності (відповідно 13,1 та 8,7 міс) [49].

Таким чином, користь від специфічного для ЦМВ противірусного лікування гліобластом є сумнівною, тому використання противірусного лікування у пацієнтів із гліобластомами не є рутинним методом терапії та потребує проведення як експериментальних, так і клінічних досліджень.

Триває дослідження іншого методичного підходу, а саме використання ЦМВ як корисної мішені при імунотерапевтичному лікуванні злоякісних пухлин. K.G. Lucas та співавт. першими виявили, що специфічні до ЦМВ Т-клітини здатні розпізнавати та лізувати клітини гліобластом, інфіковані ЦМВ, в умовах *in vitro* [49]. Імунотерапевтичні стратегії для націлювання імунних клітин на ЦМВ передбачають такі методи, як адоптивне перенесення Т-клітин і вакцин на основі ЦМВ. Адоптивна Т-клітинна терапія досліджена переважно з використанням ЦМВ-специфічних Т-клітин від пацієнтів з гліомами, які активувались *ex vivo*. Виявлено, що Т-клітини погано функціонують в аналізах *ex vivo*. Однак їх функціональність відновлювалася *in vitro* за допомогою пептидних антигенів ЦМВ і впливу ІЛ-2 [50]. Т-клітини, специфічні до антигену ЦМВ, можуть бути виділені із крові пацієнтів з гліобластомами [51]. Вони можуть розмножуватися і активуватися за допомогою антигенів ЦМВ та дендритних клітин. Т-клітини спричиняли потужну протипухлинну антиген-специфічну відповідь лише *in vitro* при спільному культивуванні з аутологічними пухлинними клітинами гліоми. Ці результати продемонстрували, що ендogenous рівень антигенів ЦМВ у клітинах гліом має бути досить високим, щоб бути мішенню для ЦМВ-специфічних Т-клітин, індукованих *in vitro*. У дослідженні з рецидивною гліобластоною такі ЦМВ-специфічні Т-клітини ввели 11 пацієнтам у вигляді внутрішньовенних інфузій у поєднанні з хіміотерапією. Загальне виживання було нетривалим – лише 13,4 міс [50]. Уперше у 2014 р. A. Schuessler та співавт. завершили фазу I клінічного випробування ЦМВ-імунотерапії. Вони провели 13 пацієнтам з рецидивом гліобластоми 3-4 внутрішньовенні інфузії аутологічних ЦМВ-специфічних Т-клітин у дозах від  $25$  до  $40 \cdot 10^6$ . Установлено, що ЦМВ-специфічна терапія збільшувала медіану загальної виживаності ( $>57$  тиж), медіану виживання без прогресування ( $>35$  тиж) та частоту без прогресування на 40% після першого рецидиву з ускладненнями легкого та середнього ступеня тяжкості (головний біль або втома), жоден з яких не був серйозним [52]. Стадія захворювання впливає на ефективність ЦМВ- імунотерапії. Так, введення пацієнтам ЦМВ-специфічних Т-клітин до рецидиву пухлини, а не після нього, спричинило продовження життя в 2,5 разу (10 та 4 міс відповідно) та середню загальну виживаність 23 і 14 міс [53]. Більше того, SK Naig та співавт. у доклінічному дослідженні припустили, що аутологічні Т-клітини пацієнта, стимульовані аутологічними дендритними клітинами (ДК), можуть стимулювати проліферацію та ЦМВ рР65-специфічні Т-клітини в 10–20 разів зі значним підвищенням рівня

цитотоксичних інтерферону- $\gamma$  +/CD+ /CD8 + клітини [54]. Установлено, що одноразове внутрішньовенне введення  $3 \cdot 10^7$  ЦМВ рР65-специфічних Т-клітин/кг у поєднанні з трьома внутрішньошкірними інфузіями  $2 \cdot 10^7$  ДК порівняно з контрольною групою мало значний вплив на цитотоксичну активність ЦМВ-специфічних CD-8 лімфоцитів і синтез цитокінів [55].

Ефективність імунотерапії проти ЦМВ може бути зумовлена декількома механізмами [1,2,48]: спрямування імунної відповіді на клітини гліом, що експресують ЦМВ (пряма антигенспецифічна гіпотеза) і активація інших імунних клітин, що спричиняють додаткове знищення ЦМВ-негативних клітин (гіпотеза непрямої цитотоксичності) з перехресним праймуванням імунних клітин після знищення ЦМВ-позитивних пухлинних клітин (крос-праймінг).

Суть антигенспецифічної гіпотези щодо ролі ЦМВ-імунотерапії в індукції цитотоксичної імунної відповіді проти ЦМВ, що призводить до специфічної цитотоксичної загибелі ЦМВ-позитивних пухлинних, особливо стовбурових пухлинних ЦМВ-позитивних клітин, та гальмування прогресування пухлини [35, 36, 38, 39].

Гіпотеза непрямої цитотоксичності, яка ґрунтується на сильній активації імунітету в мікрооточенні пухлини, коли до антиген-специфічної імунної відповіді приєднуються природні кілери, макрофаги і Т-клітини пам'яті, а також спостерігається підсилення синтезу прозапальних цитокінів [56, 57]. Ці рекрутовані імунні ефекторні клітини можуть спричинити незалежно від наявності в пухлині ЦМВ знищення пухлинних клітин, що призводить до розвитку специфічної протипухлинної Т-клітинної відповіді, яка здатна контролювати пухлинний процес та ріст пухлини [2, 56].

Коли ЦМВ-специфічне імунне цитотоксичне знищення пухлинних клітин призводить до вивільнення клітинних та вірусних антигенів із апоптичних і некротичних клітин та перехресного праймування (крос-праймінг) і активації ДК імунної системи цими антигенами. Ці клітини індукують імунну відповідь і таким чином посилюють протипухлинну імунну відповідь та спричиняють знищення як ЦМВ-позитивних, так і ЦМВ-негативних пухлинних клітин.

Експериментальні та клінічні результати досліджень з використанням сучасних імунотерапевтичних стратегій ЦМВ-імунотерапії, ймовірно, пов'язані з одночасною дією цих механізмів, але багато питань залишаються невивченими, наприклад, роль та стан гематоенцефалічного бар'єра при проведенні імунотерапії, гетерогенність і низький рівень експресії протеїнів ЦМВ у пухлинних клітинах, поєднання ЦМВ-імунотерапії з хіміотерапією чи променевою терапією тощо.

Дослідження ЦМВ-імунотерапії при гліомі показали, що вірусний матеріал ЦМВ може бути виявлений у пухлинних клітинах, а вірусні білки можуть бути потужними мішенями для імунотерапії через їхню чужорідну антигенну природу. Всебічне вивчення особливостей ЦМВ-інфекції при злоякісних пухлинах головного мозку та вдосконалення препаратів для ЦМВ-імунотерапії дасть змогу ширше використовувати цей метод при комбінованому лікуванні пухлин.

Відомо, що ЦМВ може персистувати і в негладьких злоякісних пухлинах людини [3–7].

Імовірно, це універсальна властивість цього вірусу супроводжувати будь-які злоякісні процеси в організмі. Інакше кажучи, йдеться лише про асоціацію ЦМВ зі злоякісним пухлинним процесом в організмі. Пухлини, що містять ЦМВ, рекомендовано називати «ЦМВ-асоційованими гліобlastомами або медулобlastомами» [40]. Питання щодо можливості використання цієї асоціації для прогнозування чи лікування злоякісних пухлин мозку не вивчене належним чином. Вважають, що ЦМВ-імунотерапія є перспективним напрямом розвитку сучасних методів лікування пухлин головного мозку.

### Висновки

1. Частота виявлення у тканині пухлин головного мозку антигену ЦМВ або його ДНК залежить від методу досліджень: імунофлюоресцентний метод виявляє рР-65 протеїн за допомогою моноклональних антитіл у 2,0–2,5 рази частіше, ніж метод ПЛР ЦМВ у тканині пухлин, що дає підставу рекомендувати ці методи для діагностики у клінічній практиці.

2. У тканині різних за гістогенезом пухлин головного мозку з неоднаковою частотою визначають як рР-65 протеїн ЦМВ, так і ДНК ЦМВ. Найчастіше ДНК ЦМВ визначали в пухлинах гліального генезу та медулобlastомах, що опосередковано свідчить про можливу роль вірусу в розвитку злоякісних пухлин.

3. У периферичній крові хворих з пухлинами головного мозку на момент госпіталізації для обстеження та хірургічного лікування не визначається ДНК ЦМВ, що вказує на тривале збереження вірусу в пухлинному вогнищі та більш ранню контамінацію цим вірусом пухлин.

4. Отримані дані свідчать як про можливу етіологічну або онкостимулювальну роль ЦМВ у розвитку пухлин мозку, особливо злоякісних гліом, так і про прогностичну цінність визначення ступеня ЦМВ-інфікування клітин пухлини.

5. Існують різні методи ЦМВ-імунотерапії пухлин головного мозку. Необхідно ширше використовувати методи противірусної ЦМВ-терапії при комбінованому лікуванні пацієнтів зі злоякісними пухлинами мозку, особливо якщо в пухлині виявлено ДНК та протеїни ЦМВ.

### Розкриття інформації

#### Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

#### Етичні норми

Усі процедури, виконані пацієнтам під час дослідження, відповідають етичним стандартам інституційного та національного комітетів з етики і Гельсінкської декларації 1964 року та її пізнішим поправкам або аналогічним етичним стандартам.

#### Інформована згода

Від усіх хворих отримана усвідомлена та добровільна письмова згода на участь у дослідженні.

#### Фінансування

Дослідження не мало спонсорської підтримки.

### Список літератури

- Rahman M, Dastmalchi F, Karachi A, Mitchell D. The role of CMV in glioblastoma and implications for immunotherapeutic strategies. *Oncoimmunology*. 2018 Oct 16;8(1):e1514921. doi: 10.1080/2162402X.2018.1514921
- Daei Sorkhabi A, Sarkesh A, Saeedi H, Marofi F, Ghaebi M, Silvestris N, Baradaran B, Brunetti O. The Basis and Advances in Clinical Application of Cytomegalovirus-Specific Cytotoxic T Cell Immunotherapy for Glioblastoma Multiforme. *Front Oncol*. 2022 Apr 19;12:818447. doi: 10.3389/fonc.2022.818447
- Soroceanu L, Cobbs CS. Is HCMV a tumor promoter? *Virus Res*. 2011 May;157(2):193-203. doi: 10.1016/j.virusres.2010.10.026
- Melnick M, Sedghizadeh PP, Allen CM, Jaskoll T. Human cytomegalovirus and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands: cell-specific localization of active viral and oncogenic signaling proteins is confirmatory of a causal relationship. *Exp Mol Pathol*. 2012 Feb;92(1):118-25. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.10.011
- Cobbs CS, Harkins L, Samanta M, Gillespie GY, Bharara S, King PH, Nabors LB, Cobbs CG, Britt WJ. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res*. 2002 Jun 15;62(12):3347-50.
- Scheurer ME, Bondy ML, Aldape KD, Albrecht T, El-Zein R. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas. *Acta Neuropathol*. 2008 Jul;116(1):79-86. doi: 10.1007/s00401-008-0359-1
- Geder L, Sanford EJ, Rohner TJ, Rapp F. Cytomegalovirus and cancer of the prostate: in vitro transformation of human cells. *Cancer Treat Rep*. 1977 Mar-Apr;61(2):139-46.
- Sanford EJ, Geder L, Laychock A, Rohner TJ Jr, Rapp F. Evidence for the association of cytomegalovirus with carcinoma of the prostate. *J Urol*. 1977 Nov;118(5):789-92. doi: 10.1016/s0022-5347(17)58194-x
- Moore PS, Chang Y. Why do viruses cause cancer? Highlights of the first century of human tumour virology. *Nat Rev Cancer*. 2010 Dec;10(12):878-89. doi: 10.1038/nrc2961
- Shen Y, Zhu H, Shenk T. Human cytomegalovirus IE1 and IE2 proteins are mutagenic and mediate "hit-and-run" oncogenic transformation in cooperation with the adenovirus E1A proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997 Apr 1;94(7):3341-5. doi: 10.1073/pnas.94.7.3341
- Cinatl J Jr, Vogel JU, Kotchetkov R, Wilhelm Doerr H. Oncomodulatory signals by regulatory proteins encoded by human cytomegalovirus: a novel role for viral infection in tumor progression. *FEMS Microbiol Rev*. 2004 Feb;28(1):59-77. doi: 10.1016/j.femsre.2003.07.005
- Samanta M, Harkins L, Klemm K, Britt WJ, Cobbs CS. High prevalence of human cytomegalovirus in prostatic intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *J Urol*. 2003 Sep;170(3):998-1002. doi: 10.1097/01.ju.0000080263.46164.97
- Harkins L, Volk AL, Samanta M, Mikolaenko I, Britt WJ, Bland KI, Cobbs CS. Specific localisation of human cytomegalovirus nucleic acids and proteins in human colorectal cancer. *Lancet*. 2002 Nov 16;360(9345):1557-63. doi: 10.1016/S0140-6736(02)11524-8
- Poltermann S, Schlehofer B, Steindorf K, Schnitzler P, Geletneky K, Schlehofer JR. Lack of association of herpesviruses with brain tumors. *J Neurovirol*. 2006 Apr;12(2):90-9. doi: 10.1080/13550280600654573
- Lau SK, Chen YY, Chen WG, Diamond DJ, Mamelak AN, Zaia JA, Weiss LM. Lack of association of cytomegalovirus with human brain tumors. *Mod Pathol*. 2005 Jun;18(6):838-43. doi: 10.1038/modpathol.3800352
- Maussang D, Verzijl D, van Walsum M, Leurs R, Holl J, Pleskoff O, Michel D, van Dongen GA, Smit MJ. Human cytomegalovirus-encoded chemokine receptor US28 promotes tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006 Aug 29;103(35):13068-73. doi: 10.1073/pnas.0604433103
- Slinger E, Maussang D, Schreiber A, Siderius M, Rahbar A, Fraile-Ramos A, Lira SA, Söderberg-Nauclér C, Smit MJ. HCMV-encoded chemokine receptor US28 mediates proliferative signaling through the IL-6-STAT3 axis. *Sci Signal*. 2010 Aug;3(133):ra58. doi: 10.1126/scisignal.2001180
- Sorg G, Stamminger T. Strong conservation of the constitutive activity of the IE1/2 transcriptional control region in wild-type strains of human cytomegalovirus. *J Gen Virol*. 1998 Dec;79 ( Pt 12):3039-47. doi: 10.1099/0022-1317-79-12-3039
- Cobbs CS, Soroceanu L, Denham S, Zhang W, Kraus MH.

- Modulation of oncogenic phenotype in human glioma cells by cytomegalovirus IE1-mediated mitogenicity. *Cancer Res.* 2008 Feb 1;68(3):724-30. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2291
20. Park JJ, Kim YE, Pham HT, Kim ET, Chung YH, Ahn JH. Functional interaction of the human cytomegalovirus IE2 protein with histone deacetylase 2 in infected human fibroblasts. *J Gen Virol.* 2007 Dec;88(Pt 12):3214-3223. doi: 10.1099/vir.0.83171-0
  21. Kluiver J, Kroesen B, Poppema S, van den Berg A. The role of microRNAs in normal hematopoiesis and hematopoietic malignancies. *Leukemia.* 2006 Nov;20(11):1931-6. doi: 10.1038/sj.leu.2404387
  22. Huse JT, Brennan C, Hambardzumyan D, Wee B, Pena J, Rouhanifard SH, Sohn-Lee C, le Sage C, Agami R, Tuschl T, Holland EC. The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis in vivo. *Genes Dev.* 2009 Jun;23(11):1327-37. doi: 10.1101/gad.1777409
  23. Popkin DL, Watson MA, Karaskov E, Dunn GP, Bremner R, Virgin HW 4th. Murine cytomegalovirus paralyzes macrophages by blocking IFN gamma-induced promoter assembly. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003 Nov;100(24):14309-14. doi: 10.1073/pnas.1835673100
  24. Wehinger J, Gouilleum F, Groner B, Finke J, Mertelsmann R, Weber-Nordt RM. IL-10 induces DNA binding activity of three STAT proteins (Stat1, Stat3, and Stat5) and their distinct combinatorial assembly in the promoters of selected genes. *FEBS Lett.* 1996 Oct 7;394(3):365-70. doi: 10.1016/0014-5793(96)00990-8
  25. Spencer JV, Cadaoas J, Castillo PR, Saini V, Slobedman B. Stimulation of B lymphocytes by cmvIL-10 but not LAcmvIL-10. *Virology.* 2008 Apr 25;374(1):164-169. doi: 10.1016/j.virol.2007.11.031
  26. Abou-Ghazal M, Yang DS, Qiao W, Reina-Ortiz C, Wei J, Kong LY, Fuller GN, Hiraoka N, Priebe W, Sawaya R, Heimberger AB. The incidence, correlation with tumor-infiltrating inflammation, and prognosis of phosphorylated STAT3 expression in human gliomas. *Clin Cancer Res.* 2008 Dec 15;14(24):8228-35. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1329
  27. Brantley EC, Benveniste EN. Signal transducer and activator of transcription-3: a molecular hub for signaling pathways in gliomas. *Mol Cancer Res.* 2008 May;6(5):675-84. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-07-2180
  28. Sherry MM, Reeves A, Wu JK, Cochran BH. STAT3 is required for proliferation and maintenance of multipotency in glioblastoma stem cells. *Stem Cells.* 2009 Oct;27(10):2383-92. doi: 10.1002/stem.185
  29. Wei J, Barr J, Kong LY, Wang Y, Wu A, Sharma AK, Gumin J, Henry V, Colman H, Priebe W, Sawaya R, Lang FF, Heimberger AB. Glioblastoma cancer-initiating cells inhibit T-cell proliferation and effector responses by the signal transducers and activators of transcription 3 pathway. *Mol Cancer Ther.* 2010 Jan;9(1):67-78. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0734
  30. Spencer JV, Lockridge KM, Barry PA, Lin G, Tsang M, Penfold ME, Schall TJ. Potent immunosuppressive activities of cytomegalovirus-encoded interleukin-10. *J Virol.* 2002 Feb;76(3):1285-92. doi: 10.1128/jvi.76.3.1285-1292.2002
  31. Mildner A, Schmidt H, Nitsche M, Merkler D, Hanisch UK, Mack M, Heikenwalder M, Brück W, Priller J, Prinz M. Microglia in the adult brain arise from Ly-6ChiCCR2+ monocytes only under defined host conditions. *Nat Neurosci.* 2007 Dec;10(12):1544-53. doi: 10.1038/nn2015
  32. O'Farrell AM, Liu Y, Moore KW, Mui AL. IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and -independent pathways. *EMBO J.* 1998 Feb 16;17(4):1006-18. doi: 10.1093/emboj/17.4.1006
  33. Lin EY, Li JF, Gnatovskiy L, Deng Y, Zhu L, Grzesik DA, Qian H, Xue XN, Pollard JW. Macrophages regulate the angiogenic switch in a mouse model of breast cancer. *Cancer Res.* 2006 Dec 1;66(23):11238-46. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1278
  34. Alcantara Llaguno S, Chen J, Kwon CH, Jackson EL, Li Y, Burns DK, Alvarez-Buylla A, Parada LF. Malignant astrocytomas originate from neural stem/progenitor cells in a somatic tumor suppressor mouse model. *Cancer Cell.* 2009 Jan 6;15(1):45-56. doi: 10.1016/j.ccr.2008.12.006
  35. Luo MH, Schwartz PH, Fortunato EA. Neonatal neural progenitor cells and their neuronal and glial cell derivatives are fully permissive for human cytomegalovirus infection. *J Virol.* 2008 Oct;82(20):9994-10007. doi: 10.1128/JVI.00943-08
  36. Odeberg J, Wolmer N, Falci S, Westgren M, Sundström E, Seiger A, Söderberg-Nauclér C. Late human cytomegalovirus (HCMV) proteins inhibit differentiation of human neural precursor cells into astrocytes. *J Neurosci Res.* 2007 Feb 15;85(3):583-93. doi: 10.1002/jnr.21144
  37. Soroceanu L, Akhavan A, Cobbs CS. Platelet-derived growth factor-alpha receptor activation is required for human cytomegalovirus infection. *Nature.* 2008 Sep 18;455(7211):391-5. doi: 10.1038/nature07209
  38. Lucas KG, Bao L, Bruggeman R, Dunham K, Specht C. The detection of CMV pp65 and IE1 in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 2011 Jun;103(2):231-8. doi: 10.1007/s11060-010-0383-6
  39. Söderberg-Nauclér C. HCMV microinfections in inflammatory diseases and cancer. *J Clin Virol.* 2008 Mar;41(3):218-23. doi: 10.1016/j.jcv.2007.11.009
  40. Ranganathan P, Clark PA, Kuo JS, Salamat MS, Kalejta RF. Significant association of multiple human cytomegalovirus genomic loci with glioblastoma multiforme samples. *J Virol.* 2012 Jan;86(2):854-64. doi: 10.1128/JVI.06097-11
  41. Lisyaniy AN. [Antibodies to cytomegalovirus in blood serum and virus pp65 in neoplastic cells of patients with brain tumors]. *Onkologiya.* 2013;15(2):108-112. Russian.
  42. Rahbar A, Stragliotto G, Orrego A, Peredo I, Taher C, Willems J, Söderberg-Nauclér C. Low levels of Human Cytomegalovirus Infection in Glioblastoma multiforme associates with patient survival; -a case-control study. *Herpesviridae.* 2012 Mar 16;3:3. doi: 10.1186/2042-4280-3-3
  43. Baryawno N, Rahbar A, Wolmer-Solberg N, Taher C, Odeberg J, Darabi A, Khan Z, Sveinbjörnsson B, Fuskevåg OM, Segerström L, Nordenskjöld M, Siesjö P, Kogner P, Johnsen JI, Söderberg-Nauclér C. Detection of human cytomegalovirus in medulloblastomas reveals a potential therapeutic target. *J Clin Invest.* 2011 Oct;121(10):4043-55. doi: 10.1172/JCI57147
  44. Johnsen JI, Baryawno N, Söderberg-Nauclér C. Is human cytomegalovirus a target in cancer therapy? *Oncotarget.* 2011 Dec;2(12):1329-38. doi: 10.18632/oncotarget.383
  45. Söderberg-Nauclér C, Johnsen JI. Cytomegalovirus infection in brain tumors: A potential new target for therapy? *Oncoimmunology.* 2012 Aug 1;1(5):739-740. doi: 10.4161/onci.19441
  46. Hadaczek P, Ozawa T, Soroceanu L, Yoshida Y, Matlaf L, Singer E, Fiallos E, James CD, Cobbs CS. Cidofovir: a novel antitumor agent for glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2013 Dec 1;19(23):6473-83. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-1121
  47. Stragliotto G, Rahbar A, Solberg NW, Lilja A, Taher C, Orrego A, Bjurman B, Tammik C, Skarman P, Peredo I, Söderberg-Nauclér C. Effects of valganciclovir as an add-on therapy in patients with cytomegalovirus-positive glioblastoma: a randomized, double-blind, hypothesis-generating study. *Int J Cancer.* 2013 Sep 1;133(5):1204-13. doi: 10.1002/ijc.28111
  48. Söderberg-Nauclér C, Peredo I, Rahbar A, Hansson F, Nordlund A, Stragliotto G. Use of Cox regression with treatment status as a time-dependent covariate to re-analyze survival benefit excludes immortal time bias effect in patients with glioblastoma who received prolonged adjuvant treatment with valganciclovir. *Int J Cancer.* 2014 Jul 1;135(1):248-9. doi: 10.1002/ijc.28663
  49. Lucas KG, Bao L, Bruggeman R, Dunham K, Specht C. The detection of CMV pp65 and IE1 in glioblastoma multiforme. *J Neurooncol.* 2011 Jun;103(2):231-8. doi: 10.1007/s11060-010-0383-6
  50. Crough T, Beagley L, Smith C, Jones L, Walker DG, Khanna R. Ex vivo functional analysis, expansion and adoptive transfer of cytomegalovirus-specific T-cells in patients with glioblastoma multiforme. *Immunol Cell Biol.* 2012 Oct;90(9):872-80. doi: 10.1038/icb.2012.19
  51. Nair SK, De Leon G, Boczkowski D, Schmittling R, Xie

- W, Staats J, Liu R, Johnson LA, Weinhold K, Archer GE, Sampson JH, Mitchell DA. Recognition and killing of autologous, primary glioblastoma tumor cells by human cytomegalovirus pp65-specific cytotoxic T cells. *Clin Cancer Res.* 2014 May 15;20(10):2684-94. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3268
52. Schuessler A, Smith C, Beagley L, Boyle GM, Rehan S, Matthews K, Jones L, Crough T, Dasari V, Klein K, Smalley A, Alexander H, Walker DG, Khanna R. Autologous T-cell therapy for cytomegalovirus as a consolidative treatment for recurrent glioblastoma. *Cancer Res.* 2014 Jul 1;74(13):3466-76. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0296
53. Smith C, Lineburg KE, Martins JP, Ambalathingal GR, Neller MA, Morrison B, Matthews KK, Rehan S, Crooks P, Panikkar A, Beagley L, Le Texier L, Srihari S, Walker D, Khanna R. Autologous CMV-specific T cells are a safe adjuvant immunotherapy for primary glioblastoma multiforme. *J Clin Invest.* 2020 Nov 2;130(11):6041-6053. doi: 10.1172/JCI138649
54. Nair SK, De Leon G, Boczkowski D, Schmittling R, Xie W, Staats J, Liu R, Johnson LA, Weinhold K, Archer GE, Sampson JH, Mitchell DA. Recognition and killing of autologous, primary glioblastoma tumor cells by human cytomegalovirus pp65-specific cytotoxic T cells. *Clin Cancer Res.* 2014 May 15;20(10):2684-94. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3268
55. Reap EA, Suryadevara CM, Batich KA, Sanchez-Perez L, Archer GE, Schmittling RJ, Norberg PK, Herndon JE 2nd, Healy P, Congdon KL, Gedeon PC, Campbell OC, Swartz AM, Riccione KA, Yi JS, Hossain-Ibrahim MK, Saraswathula A, Nair SK, Dunn-Pirio AM, Broome TM, Weinhold KJ, Desjardins A, Vlahovic G, McLendon RE, Friedman AH, Friedman HS, Bigner DD, Fecci PE, Mitchell DA, Sampson JH. Dendritic Cells Enhance Polyfunctionality of Adoptively Transferred T Cells That Target Cytomegalovirus in Glioblastoma. *Cancer Res.* 2018 Jan 1;78(1):256-264. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-0469
56. Ma HL, Whitters MJ, Konz RF, Senices M, Young DA, Grusby MJ, Collins M, Dunussi-Joannopoulos K. IL-21 activates both innate and adaptive immunity to generate potent antitumor responses that require perforin but are independent of IFN-gamma. *J Immunol.* 2003 Jul 15;171(2):608-15. doi: 10.4049/jimmunol.171.2.608
57. Dhanji S, Teh HS. IL-2-activated CD8+CD44high cells express both adaptive and innate immune system receptors and demonstrate specificity for syngeneic tumor cells. *J Immunol.* 2003 Oct 1;171(7):3442-50. doi: 10.4049/jimmunol.171.7.3442
58. Tietze JK, Wilkins DE, Sckisel GD, Bouchlaka MN, Alderson KL, Weiss JM, Ames E, Bruhn KW, Craft N, Wiltrout RH, Longo DL, Lanier LL, Blazar BR, Redelman D, Murphy WJ. Delineation of antigen-specific and antigen-nonspecific CD8(+) memory T-cell responses after cytokine-based cancer immunotherapy. *Blood.* 2012 Mar 29;119(13):3073-83. doi: 10.1182/blood-2011-07-369736