

R. Majeti и соавт. продемонстрировали, что популяция CD90⁺CD45RA⁻ клеток пуповинной крови является мультипотентной, обладает ограниченной способностью к самообновлению и в гематопозитической иерархии находится на ступень ниже CD90⁺CD45RA⁻ клеточной популяции. По мнению авторов, CD90⁺CD45RA⁻ клетки представляют фракцию мультипотентных клеток-предшественниц в гемопоэзе человека.

В данном исследовании впервые был применен подход с использованием набора маркеров Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD90⁺CD45RA⁻ и новорожденных NOG мышей, что позволило выделить фракцию клеток с ГСК активностью в гораздо меньшем числе клеток, чем в предыдущих работах.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kondo M., Wagers A., Manz M. et al. Biology of hematopoietic stem cells and progenitors: Implications for clinical application. *Annu. Rev. Immunol.* 2003; 21: 759–806.
2. Ishikawa F., Yasukawa M., Lyons B. et al. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor {gamma} chain(null) mice. *Blood* 2005; 106: 1565–73.

Выделение новой фракции мультипотентных клеток предшественников может иметь большое значение для изучения и терапии острого миелобластного лейкоза. В серии экспериментов по ксенотрансплантации было показано, что стволовые клетки лейкоза (СКЛ) локализованы в Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD90⁺ фракции лейкозных клеток [3, 4]. Исследователи предполагают, что выделенная в данной работе фракция мультипотентных клеток-предшественников является теми самыми клетками, которые могут давать начало СКЛ. R. Majeti и соавт. надеются выявить генетические или эпигенетические изменения, которые ведут к трансформации МПП в способные к долговременному самообновлению СКЛ.

3. Blair A., Hogge D., Ailles E., Lansdorp P., Sutherland H. Lack of expression of Thy-1 (CD90) on acute myeloid leukemia cells with long-term proliferative ability in vitro and in vivo. *Blood* 1997; 89: 3104–12.
4. Miyamoto T., Weissman I., Akashi K. AML1/ETO expressing nonleukemic stem cells in acute myelogenous leukemia with 8;21 chromosomal translocation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2000; 97: 7521–6.

Подготовила А.Д. Краснодембская

По материалам: Majeti R, Park C., Weissman I. Identification of a hierarchy of multipotent hematopoietic progenitors. *Cell Stem Cell* 2007; 1: 635–45

КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ

Эффективность дендритноклеточных вакцин на основе дендритных клеток I типа: результаты клинических исследований

Противоопухолевая вакциноterapia – это лечебный и профилактический метод активной специфической иммунотерапии, основанный на использовании опухолевых антигенов как с адьювантом, так и без него для усиления противоопухолевого иммунного ответа. Особенностью действия противоопухолевых вакцин является индукция иммунного ответа, направленного на элиминацию иммунорезистентных опухолевых клеток. Противоопухолевый эффект достигается повторным введением антигенного материала в режиме вакцинотерапии [1].

Несмотря на то, что применение вакцин в терапии онкологических заболеваний в настоящий момент находится на стадии клинических испытаний, этот подход считается весьма перспективным. Дендритные клетки (ДК), как ключевое звено регуляции иммунных реакций, опосредованных Т-лимфоцитами [2], привлекают большой интерес в качестве возможных адьювантов для иммунной терапии различных заболеваний. В настоящее время результаты клинических исследований дендритноклеточных вакцин в терапии неоплазий были получены несколькими независимыми клиническими центрами. В большинстве проведенных тестов *in vivo* и *in vitro* было показано, что подобные вакцины стимулируют развитие

противоопухолевого иммунного ответа и не имеют тяжелых побочных эффектов [1, 3–5]. Однако до настоящего времени исследования были направлены на определение переносимости и токсичности вакцин, но не их эффективности.

Важным вопросом в разработке дендритноклеточных вакцин является вопрос о том, какие именно дендритные клетки следует использовать в качестве основы вакцины, а именно: зрелые или незрелые ДК. Использование зрелых ДК, как предполагают некоторые исследователи [6], более предпочтительно, так как они с меньшей вероятностью способны вызывать состояние толерантности к антигену. Незрелые дендритные клетки присутствуют в тканях организма, постоянно фагоцитируя антигены, находящиеся во внеклеточном матриксе [7, 8]. Связывание бактериальных продуктов с паттерн-распознающими рецепторами ДК [9], связывание рецептора CD40 на мембране ДК с его лигандом CD154 [10] на мембране Т-лимфоцита и IFN-γ [11] запускают процесс созревания дендритных клеток. В зависимости от природы антигена и, соответственно, от пути стимуляции незрелые ДК дифференцируются в ДК первого либо второго типа (ДК1 и ДК2 соответственно), которые мигрируют в регионарные лимфатические узлы [12].

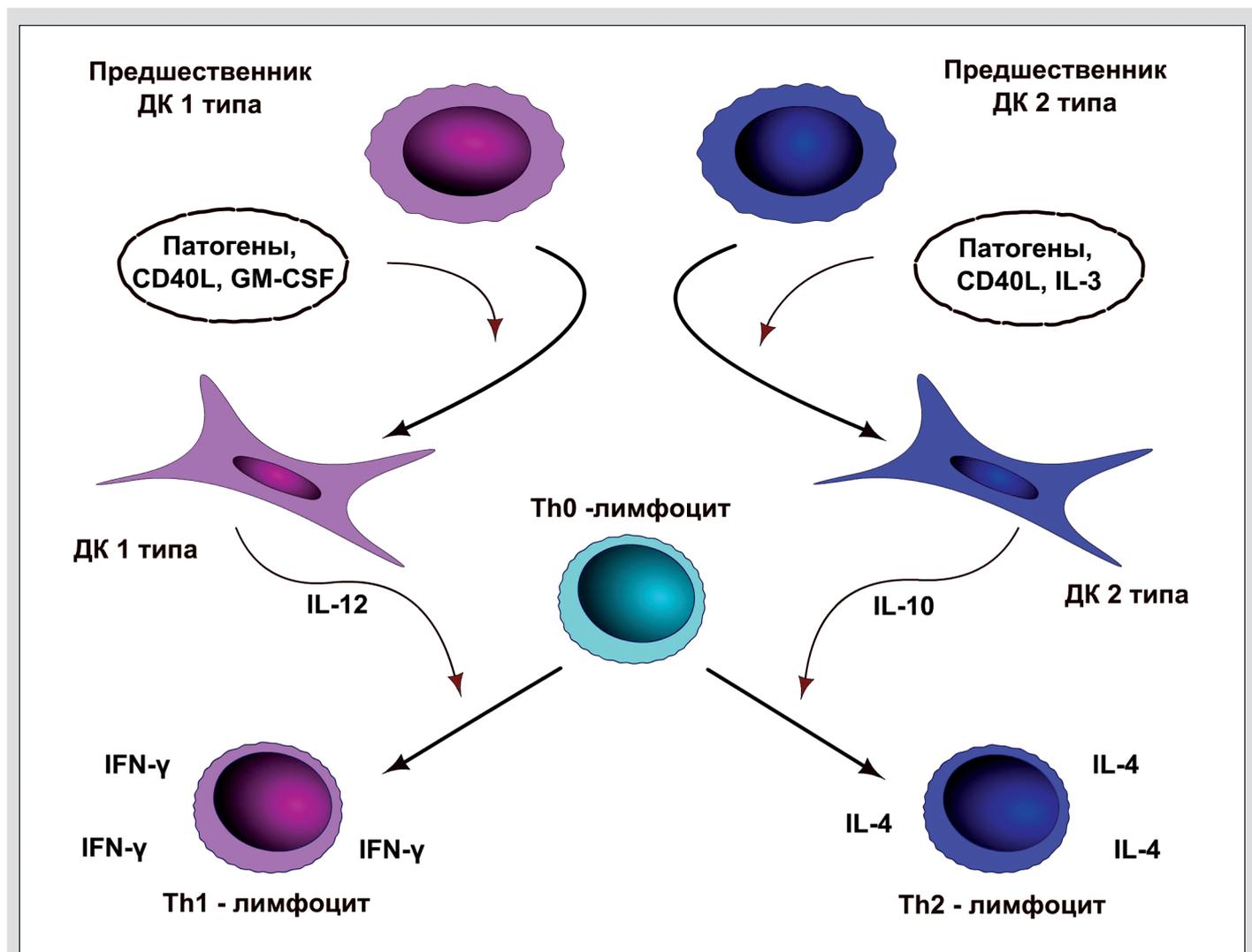
ДК1 характеризуются продукцией IL-12, главного фактора дифференцировки IFN- γ -продуцирующих Т-лимфоцитов-хелперов первого типа (Th1) (рис.). ДК2, напротив, не продуцируют IL-12 и стимулируют в основном, дифференцировку незрелых Т-лимфоцитов в Т-лимфоциты-хелперы второго типа (Th2), секретирующие IL-4 [13]. Th1-опосредованный иммунный ответ характеризуется клеточными иммунными реакциями и активацией цитотоксических лимфоцитов; Th2 индуцируют развитие гуморальных иммунных реакций, то есть, главным образом, продукцию антиген-специфических иммуноглобулинов В-лимфоцитами [14].

Основываясь на этих данных, исследователи из группы А.М. Dohnal предположили, что именно Th1-опосредованные цитолитические иммунные реакции являются основными в элиминации опухолевых клеток, то есть реакции, запускаемые IL-12-продуцирующими ДК1. Исходя из этого, они сочли, что противоопухолевая вакцина, разработанная на основе ДК1, будет наиболее эффективна. В клиническом эксперименте приняли участие двадцать два пациента детского и подросткового возраста с различными видами неоплазий: остеосаркомой (с метастазами в костях и лёгких), гепатоцеллюлярной карциномой (с метастазами в кости), саркомой Юинга (с метастазами в лёгких), почечной карциномой и фибросаркомой. Все пациенты до начала

вакцинации получали стандартную противоопухолевую терапию.

Дендритные клетки были получены из моноцитов, выделенных из аутогенного аферезного продукта крови и стимулированы бактериальным липополисахаридом (ЛПС) и IFN- γ для максимизации продукции IL-12 [15]. Поскольку продукция IL-12 происходит только в первые 24 часа после созревания ДК [16], культивирование клеток в присутствии стимуляторов продолжалось в большинстве случаев не более 6 часов (за исключением ДК для первых восьми пациентов), после чего в культуру помещали суспензию опухолевых клеток пациента, полученную из биопсийного материала. Для активации фагоцитоза, процессинга и презентации опухолевых антигенов в культуру в качестве адьюванта добавляли также высокоиммуногенный белок – гемоцианин морского моллюска фиссуреллии (keyhole limpet hemocyanin, KLH).

Вакцинацию производили либо подкожно (14 пациентов), либо непосредственно в регионарные лимфатические узлы (8 пациентов). Каждый пациент получал по девять инъекций по следующей схеме: три инъекции производились ежедневно в течение трёх недель, после чего следовал трёхнедельный перерыв в вакцинации для развития стойкого клеточного иммунитета. Части пациентов, получавших подкожные инъекции вакцины, производились также инъекции рекомбинантного IFN- γ человека.



Регуляция развития иммунного ответа по Th-1 или Th-2 типам разными субпопуляциями дендритных клеток

Для определения эффективности вакцинации были проведены тесты на гиперчувствительность замедленного типа, в которых было показано развитие позитивной реакции на KLH и опухолевые антигены у шести из девяти пациентов, вакцинированных подкожно, и четырёх из шести пациентов, вакцинированных интранодально. Реакция была статистически более выраженной при интранодальном пути вакцинации, нежели при подкожном. Ярко выраженная реакция на опухолевые антигены была отмечена у трёх из шести интранодально вакцинированных пациентов и лишь у двух из девяти пациентов, вакцинированных подкожно. Была также оценена продукция IFN- γ T-лимфоцитами до и после вакцинации и получены статистически достоверные данные о том, что активность Th1-лимфоцитов после применения дендритноклеточной вакцины существенно повышается у всех пациентов, вакцинированных интранодально, и только

у трёх пациентов, получивших подкожные инъекции. Серьёзных побочных эффектов вакцинации выявлено не было, однако в целом не было отмечено какого-либо положительного эффекта на клиническое течение заболевания. Тем не менее, в данной фазе исследования трудно что-либо говорить о какой-либо эффективности.

Таким образом, противоопухолевая вакцинация дендритноклеточными вакцинами эффективна для стимуляции цитотоксических реакций и безопасна для пациентов. Это первая работа, в которой для вакцинации использовались ДК1. ДК1 могут быть получены в достаточном количестве из продукта афереза крови пациента. Дальнейшие клинические испытания должны проводиться на более однородных группах пациентов для определения эффективности применения IL12-секретирующих ДК1 в терапии отдельных форм неоплазий.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Моисеенко В.М., Балдуева И.А., Орлова Р.В. и др. Способ иммунотерапии опухолевым лизатом с адьювантом беталейкин больных с солидными опухолями. Патент РФ RU2267326.
2. Banchereau J., Briere F., Caux C. et al. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 767–811.
3. Felzmann T., Gadner H., Holter W. Dendritic cells as adjuvants in antitumor immune therapy. *Onkologie.* 2002; 25: 456–64.
4. Geiger J.D., Hutchinson R.J., Hohenkirk L.F. et al. Vaccination of pediatric solid tumor patients with tumor lysate-pulsed dendritic cells can expand specific T cells and mediate tumor regression. *Cancer Res.* 2001; 61: 8513–9.
5. Dagher R., Long L.M., Read E.J. et al. Pilot trial of tumor-specific peptide vaccination and continuous infusion interleukin-2 in patients with recurrent Ewing sarcoma and alveolar rhabdomyosarcoma: an inter-institute NIH study. *Med. Pediatr. Oncol.* 2002; 38: 158–64.
6. Labeur M.S., Roters B., Pers B. et al. Generation of tumor immunity by bone marrow-derived dendritic cells correlates with dendritic cell maturation stage. *J Immunol.* 1999; 162: 168–75.
7. Mazzaccaro R.J., Gedde M., Jensen E.R. et al. Major histocompatibility class I presentation of soluble antigen facilitated by Mycobacterium tuberculosis infection. *PNAS.* 1996; 93: 11786–91.
8. Simmons C.P., Mastroeni P., Fowler R. et al. MHC class I-restricted cytotoxic lymphocyte responses induced by enterotoxin-based mucosal adjuvants. *J Immunol.* 1999; 163: 6502–10.

9. Cho H.J., Takabayashi K., Cheng P.M. et al. Immunostimulatory DNA-based vaccines induce cytotoxic lymphocyte activity by a T-helper cell-independent mechanism. *Nat Biotechnol.* 2000; 18: 509–14.
10. Ridge J.P., Di-Rosa F., Matzinger P. A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4+ T-helper and a T-killer cell. *Nature.* 1998; 393: 474–8.
11. Sigal L.J., Crotty S., Andino R., Rock K.L. Cytotoxic T-cell immunity to virus-infected non-haematopoietic cells requires presentation of exogenous antigen. *Nature.* 1999; 398: 77–80.
12. Liu Y.-J., Kanzler H., Soumelis V., Gilliet M. Dendritic cell lineage, plasticity and cross-regulation. *Nat. Immunol.* 2001; 2: 585–9.
13. Kalinski P., Hilkens C.M., Wierenga E.A., Kapsenberg M.L. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today.* 1999; 20: 561–7.
14. Mosmann T.R., Coffman R.L. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu. Rev. Immunol.* 1989; 7: 145–73.
15. Felzmann T., Huttner K.G., Breuer S.K. et al. Semi-mature IL-12 secreting dendritic cells present exogenous antigen to trigger cytolytic immune responses. *Cancer Immunol. Immunother.* 2005; 54: 769–80.
16. Langenkamp A., Messi M., Lanzavecchia A., Sallusto F. Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of TH1, TH2 and nonpolarized T cells. *Nat. Immunol.* 2000; 1: 311–6.

Подготовила А.С. Григорян

По материалам: Dohnal A.M., Witt V., Huegel H. et al. Phase I study of tumor Ag-loaded IL-12 secreting semi-mature DC for the treatment of pediatric cancer. *Cytotherapy* 2007; 9: 755–70

Котрансплантации гемопоэтических и мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток при онкогематологических заболеваниях увеличивают риск развития рецидивов

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) является общепринятым методом терапии многих заболеваний [1–3]. Одно из самых частых и тяжёлых осложнений этого метода – реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Даже в случае полной HLA-совместимости донора и реципиента острая РТПХ развивается в 35% случаев, а хроническая – в 50% [4, 5]. Иммуносупрессивная терапия кортикостероидными препаратами достаточно эффективна для предотвращения острой РТПХ, однако она, в свою очередь, может приводить к осложнениям, среди

которых наиболее значимо возникновение тяжёлых сопутствующих инфекций. Также существуют тяжёлые формы РТПХ, устойчивые к стероидам, которые на данный момент остаются практически неизлечимыми [6]. Полное удаление из трансплантата донорских T-лимфоцитов, снижая интенсивность РТПХ, одновременно повышает риск развития рецидива основного заболевания и несостоятельности трансплантата [7, 8].

Помимо ГСК, костный мозг млекопитающих содержит ещё одну популяцию стволовых клеток – мультипотентных