

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

мезенхимальных стромальных (ММСК), обладающих способностью к дифференцировке в клетки мезенхимного происхождения [9] и секретирующих ряд колониестимулирующих факторов и цитокинов, необходимых для гемопоэза [10]. В экспериментах *in vitro* и *in vivo*, а также в клинических испытаниях было показано, что ММСК обладают иммуносупрессивными свойствами [11–13]. Поскольку при внутривенных трансфузиях ММСК не было выявлено негативных побочных эффектов, эти исследования могут найти скорое применение в клинике. Клинические испытания котрансплантации ГСК и ММСК показали, что ММСК снижают риск несостоятельности трансплантата и возникновения РТПХ [14, 15].

В журнале *Leukemia* опубликованы результаты пилотного клинического исследования научной группы Н. Ning, целью которого было определение терапевтического потенциала и возможных побочных эффектов котрансплантации ГСК и ММСК пациентам с онкогематологическими заболеваниями. Несмотря на существующие положительные данные относительно котрансплантации этих двух типов стволовых клеток, исследователи задались вопросом об отдаленных последствиях введения ММСК, принимая во внимание их свойство системной иммуносупрессии. Ранее был продемонстрирован рост некоторых злокачественных новообразований у мышей–реципиентов на фоне системной иммуносупрессии, опосредованной ММСК [16].

В исследовании приняло участие 30 пациентов со следующими онкогематологическими заболеваниями: миелодиспластический синдром (МДС), неходжкинская лимфома (НХЛ), острый миелобластный лейкоз (ОМЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) и хронический миелобластный лейкоз (ХМЛ). Пациенты были случайным образом разделены на две равные группы. Пациентам из контрольной группы была проведена стандартная трансплантация ГСК, выделенных из костного мозга либо полученных из аферезного продукта периферической крови после процедуры мобилизации ГСК HLA–идентичных доноров. Остальные пациенты получили помимо трансплантации ГСК также внутривенные трансфузии ММСК от HLA–идентичных доноров. В статье не упоминается, были ли трансплантированные каждому пациенту из экспериментальной группы ГСК и ММСК получены от одного и того же донора, хотя этот вариант кажется наиболее очевидным.

Выделенные из костного мозга ММСК имели следующий иммунофенотип: CD73⁺/CD105⁺/CD29⁺/CD34⁻/

CD45⁻/CD14⁻. Их количество составляло от 0,3 до 15,3×10⁵ клеток на килограмм веса пациента в связи с индивидуальными различиями пролиферации культур ММСК *in vitro*. По этой причине в дальнейшем был проведен анализ зависимости развития РТПХ от количества пересаженных ММСК, однако значимой корреляции с эффектом выявлено не было.

Рецидивы основного заболевания наблюдались у пациентов, получивших наименьшую и наибольшую дозы ММСК. Тем не менее, в выводах исследователи этого не учитывают, говоря о рисках развития рецидивов основного заболевания вне зависимости от дозы трансплантированных ММСК и полагаясь на отсутствие статистически выявленной корреляции. В то же время результат в виде отсутствия статистически достоверной корреляции дозы ММСК и вероятности рецидива был предсказуем. Однако говорить об отсутствии фактической связи количества трансплантированных ММСК и вероятности рецидива заболевания было бы неверно. Вывод в этом случае может оказаться противоположным тому, который сделали из полученных результатов авторы, учитывая, что у пациентов, получивших 0,3 и 0,4×10⁵ клеток на килограмм веса, впоследствии развились рецидивы, в то время как у пациентов, получивших 3,4 и 11,0×10⁵ клеток на килограмм веса, рецидивов не наблюдалось.

Главным результатом этой работы можно считать вывод о том, что в случае котрансплантации ГСК и ММСК возрастает риск рецидива основного заболевания (табл.). В группе пациентов, получивших стандартную терапию, рецидивы наблюдались в 20% случаев. При трансфузии ММСК этот показатель возрастал до 60%. Период наблюдения составлял 4 года. Было показано, что при котрансплантации ММСК рецидив наступал значительно раньше: в среднем через 63 сут. после трансплантации, в то время как при стандартной трансплантации средний период до возникновения рецидива составлял 177 сут. Таким образом, это подтверждает данные о том, что аллогенные ММСК способствуют пролиферации и выживанию опухолевых клеток *in vivo* [16].

В то же время котрансплантация ММСК независимо от их концентрации с высокой вероятностью предотвращает развитие РТПХ. Все пациенты в качестве профилактики РТПХ получали стандартную терапию метотрексатом и циклоспорином. Острая РТПХ в контрольной группе развивалась в 53,3% случаев, а в экспериментальной группе этот показатель составил 11%. Хроническая РТПХ была отмечена в 28,6% и 14,3% случаев соответственно.

Клинические исходы у пациентов опытной (с введением ММСК) и контрольной групп.

Клинические исходы	Опытная группа (n = 10)	Контрольная группа (n = 15)
Восстановление гемопоэза (дни):		
– нейтрофилы > 0,5×10 ⁹ /л	16 (12–21)	15 (11–20)
– тромбоциты > 50×10 ⁹ /л	30 (16–45)	27 (15–64)
Острая РТПХ:		
– I–II степени	11,1% (1/9)	53,3% (8/15)
– III–IV степени	0	0
Хроническая РТПХ	14,3% (1/7)	28,6% (4/14)
Инфекционные осложнения	40,0% (4/10)	33,3% (6/15)
Рецидивы основного заболевания	60,0% (6/10)	20,0% (3/15)
Общая выживаемость (3 года)	40,0% (4/10)	66,7% (10/15)

Котрансплантация ГСК и ММСК, вопреки ожиданиям исследователей, не приводила к стимуляции восстановления кроветворения. Возможно, это было связано с недостаточным количеством ММСК, пересаженных пациентам. В других клинических исследованиях было показано, что при котрансплантации с аллогенными ГСК ММСК в количестве $1,0-2,8 \times 10^6$ клеток на килограмм веса пациента достигается ускоренное восстановление кроветворения в сравнении с контрольной группой [10].

Несмотря на то, что это клиническое исследование было пилотным и в нём приняло участие всего 30 пациентов с разными заболеваниями, его результаты указывают на определенный риск подобных котрансплантаций при онкогематологических заболеваниях. При этом подтверждаются данные доклинических экспериментов на клетках животных и более ранних клинических исследований, в которых была

показана способность ММСК снижать риск развития и остроту РТПХ [14,15].

Исследователи предполагают, что ММСК могут препятствовать развитию реакции «трансплантат против опухоли», подавляя иммунокомпетентные клетки, образующиеся из трансплантированных пациенту ГСК. Этим также может быть объяснено повышение частоты рецидивов основного заболевания. Авторы считают, что котрансплантация ММСК может быть более эффективна и иметь больший терапевтический эффект при незлокачественных заболеваниях крови, делая на основании полученных данных вывод об опасности трансплантации ММСК в случае присутствия в организме пациента опухолевых клеток. Таким образом, для подтверждения данных настоящего исследования требуется проведение более широкомасштабного рандомизированного клинического исследования.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Armitage J.O. Bone marrow transplantation. N. Engl. J. Med. 1994; 330: 827-38.
2. Yeager A.M.. Allogeneic hematopoietic cell transplantation in inborn metabolic diseases. Ann. Hematol. 2002; 81: 16-9.
3. Burt R.K., Traynor A.E., Craig R., Marmont A.M. The promise of hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases. Bone Marrow Transplant. 2003; 31: 521-4.
4. Wingard J.R., Vogelsang G.B., Deeg H.J. Stem cell transplantation: supportive care and long-term complications. Hematology 2002, 422-44.
5. Tabbara I.A., Zimmerman K., Morgan C., Nahleh Z. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: complications and results. Arch. Intern. Med. 2002; 162: 1558-66.
6. Antin J.H., Chen A.R., Couriel D.R. et al. Novel approaches to the therapy of steroid-resistant acute graft-versus-host disease. Biol. Blood Marrow Transplant. 2004; 10: 655-68.
7. Ferrara J.L., Deeg H.J. Graft-versus-host disease. N. Engl. J. Med. 1991; 324: 667-74.
8. Marmont A.M., Horowitz M.M., Gale R.P. et al. Depletion of HLA-identical transplants in leukemia. Blood 1991; 78: 2120-30.
9. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999; 284: 143-7.
10. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. et al. Rapid hematopoietic recovery

after co-infusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy. J. Clin. Oncol. 2000; 18: 307-16.

11. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M. et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. Exp. Hematol. 2002; 30: 42-8.
12. Krampera M., Glennie S., Dyson J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. Blood 2003; 101: 3722-9.
13. Tse W.T., Pendleton J.D., Beyer W.M. et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow Leukemia stromal cells: implications in transplantation. Transplantation 2003; 75: 389-97.
14. Frassoni F., Labopin M., Bacigalupo A. et al. Expanded mesenchymal stem cells (MSC), coinfused with HLA identical hematopoietic stem cells transplants, reduce acute and chronic graft-versus-host disease: a matched pair analysis in hematologic malignancy patients. Bone Marrow Transplant. 2002; 29 (suppl 2): S2 [Abstract 75].
15. Le Blanc K., Rasmusson I., Sundberg B. et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. Lancet 2004; 363: 1439-41.
16. Djouad F., Plence P., Bony C. et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. Blood 2003; 102: 3837-44.

Подготовила А.С. Григорян

По материалам: Ning H., Yang F., Jiang M. et al. The correlation between cotransplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: outcome of a pilot clinical study. Leukemia 2008; 22: 593-9

Кратковременная селективная деплеция Т-лимфоцитов может приводить к регрессии метастазов у пациентов с меланомой

Одной из наиболее приоритетных прикладных задач современной иммунологии является разработка новых методов лечения злокачественных новообразований. Несмотря на то, что прогресс в данной области пока невелик, в настоящее время сформировалось несколько направлений противоопухолевой иммунотерапии, находящихся на стадии клинических испытаний или уже внедренных в клиническую практику. Наиболее эффективными из них является адаптивная клеточная терапия (адаптивная иммунотерапия) [1].

Адаптивная клеточная терапия (АКТ) заключается в идентификации *ex vivo* ауто- или аллогенных лимфоцитов с противоопухолевой активностью, их экспансию и последующее введение пациентам совместно с факторами роста,

стимулирующими выживание и пролиферацию клеток *in vivo* (рис.). Важным этапом в разработке АКТ стала публикация в 1987 году научной группой S. Rosenberg результатов исследования, согласно которым специфичные в отношении опухолевых антигенов лимфоциты, инфильтрирующие меланому (tumour-infiltrating lymphocytes, TIL), были подвергнуты экспансии *in vitro* в присутствии IL-2 [2]. Первые клинические испытания показали относительно высокую эффективность АКТ у тяжелых пациентов с IV стадией меланомы, частота объективного клинического ответа у которых достигала 35% [3]. Однако, в этих же испытаниях был обнаружен ряд существенных недостатков АКТ с использованием TIL, одним из которых являлась короткая продолжительность