

# Иммунотерапия на основе дендритных клеток в лечении рака мочевого пузыря

А.С. Ильницкая<sup>1</sup>, А.Б. Данилова<sup>2</sup>, И.А. Балдуева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>НИИ канцерогенеза ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России; Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

**Контакты:** Алла Станиславовна Ильницкая [alla.ilnitskaya@inbox.ru](mailto:alla.ilnitskaya@inbox.ru)

Разработка противоопухолевой вакцины для терапии рака мочевого пузыря на основе аутологических дендритных клеток (ДК) на сегодняшний день весьма актуальна в связи с доказанной высокой иммуногенностью этого вида опухолей. Вакцинация препаратами на основе ДК демонстрирует эффективность в борьбе с онкологическими заболеваниями в качестве монотерапии и в сочетании с другими методами лечения. Применение таких вакцин считается безопасным, так как связанные с ним побочные эффекты незначительны и могут быть охарактеризованы как нежелательные явления I или II степени. При создании ДК-вакцин возникает ряд аспектов, который необходимо тщательно проработать. Среди них следует особенно выделить проблему подбора потенциальных мишеней для воздействия вакцинотерапии, способов усиления иммуногенности вакцины, выбора технологии получения достаточного количества функциональных ДК. В обзоре уделено внимание вопросам использования аутологичного и аллогенного антигенного материала для активации ДК, результатам экспериментальных и клинических исследований ДК-вакцин при раке мочевого пузыря.

**Ключевые слова:** рак мочевого пузыря, иммунотерапия, дендритно-клеточная вакцина, клинические исследования

**Для цитирования:** Ильницкая А.С., Данилова А.Б., Балдуева И.А. Иммунотерапия на основе дендритных клеток в лечении рака мочевого пузыря. Успехи молекулярной онкологии 2018;5(2):16–23.

DOI: 10.17650/2313-805X-2018-5-2-16-23

## Immunotherapy based on dendritic cells in bladder cancer treatment

A.S. Ilnitskaya<sup>1</sup>, A.B. Danilova<sup>2</sup>, I.A. Baldueva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>2</sup>N.N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 68 Leningradskaya St., Pesochniy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia

The development of an antitumor vaccine based on autologous dendritic cells (DCs) for bladder cancer treatment is extremely relevant today due to the proven high immunological potency of this type of tumor. Vaccination with DCs-based drugs as a monotherapy or in combination with other methods of treatment has shown to be effective in cancer therapy. The vaccine administration is considered to be safe, the associated side effects are insignificant and can be characterized as undesirable phenomena of 1<sup>st</sup> or 2<sup>nd</sup> degree. There are a number of issues that arise while creating DCs vaccines that need to be carefully resolved. Among them, the problem of selecting potential targets for the vaccine treatment, the ways to enhance the potency of the vaccine, and the selection of technology for obtaining a sufficient number of functional DCs should be specifically mentioned. The review focuses on the use of autoantigen or alloantibody material for the activation of DCs, and the results of experimental and clinical studies of DCs vaccines in bladder cancer.

**Key words:** bladder cancer, immunotherapy, dendritic-cell vaccine, clinical trials

**For citation:** Ilnitskaya A.S., Danilova A.B., Baldueva I.A. Immunotherapy based on dendritic cells in bladder cancer treatment. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2018;5(2):16–23.

### Введение

Согласно мировой статистике рак мочевого пузыря (РМП) занимает 4-е место среди наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований у мужчин и 11-е место у женщин. Ежегодно по всему миру диагностируют около 400 тыс. новых случаев

этого заболевания [1]. По данным R.L. Siegel и соавт., в США на 79 030 новых эпизодов РМП приходится 16 870 случаев летального исхода. В структуре онкологических заболеваний в России опухоли мочевого пузыря составляют 2,8 % [2]. Приблизительно в 75 % случаев РМП выявляют поверхностный, неинвазивный

гистологический тип опухоли, однако у половины пациентов с неинвазивным РМП, которым была проведена трансуретральная резекция, впоследствии регистрируют рецидив заболевания, и у 5–25 % этих больных наблюдается прогрессирование до мышечно-инвазивной стадии после повторных рецидивов [3].

Уротелиальную карциному можно отнести к одной из наиболее агрессивных форм злокачественных новообразований. Безусловно, хирургические методы, химио- и лучевая терапия являются стандартом лечения данного вида злокачественных опухолей, однако их высокая способность к метастазированию и формирование лекарственной устойчивости создают предпосылки для поиска и создания новых терапевтических подходов. Схемы химиотерапии, применяющиеся при лечении РМП, нередко сопровождаются серьезными нежелательными явлениями, а использование лучевой терапии для оптимизации борьбы с опухолями малого таза не всегда оправдано и часто не дает желаемого эффекта [4, 5]. Кроме того, вынужденное применение радикальных операций, таких как цистэктомия с различными методами деривации мочи, тяжело переносится пациентами в силу сопутствующей соматической патологии, тяжести операционной травмы, объема кровопотери и возраста больного [6]. На сегодняшний день накопленные данные экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о том, что иммунотерапия (ИТ) может служить мощным оружием для элиминации метастатического процесса, так как ее действие напрямую нацелено на опухолевые клетки. Индукция противоопухолевого иммунного ответа потенциально направлена на уничтожение опухоли в различных труднодоступных органах тела, что не всегда может быть достигнуто другими методами [7].

#### **Виды иммунотерапии рака мочевого пузыря**

ИТ имеет относительно успешную историю в лечении рака мочеполовых путей: начиная с применения внутрипузырной ИТ противотуберкулезной вакциной Кальметта–Герена (БЦЖ) [2, 8–10], которая в настоящее время используется в качестве основной терапии для лечения поверхностного РМП после трансуретральной резекции. Тем не менее этот метод имеет ограниченную эффективность и высокий уровень токсичности и побочных эффектов [11]. Имуногенность РМП не вызывает сомнений, так как характерная его особенность — высокий уровень мутационной нагрузки [12].

В настоящее время весьма актуальными являются исследования блокаторов «иммунных точек» — моноклональных антител против PDL-1, PD-1 и CTLA-4 при лечении РМП [13]. По последним данным С. Grüllich, эффективность применения ингибиторов PD-1 при РМП составляет приблизительно 25 %, кроме того, отмечено увеличение общей выживаемости пациентов до 4 мес по сравнению с больными, в отношении которых использовались стандартные методы лечения [14]. Ввиду восприимчивости опухоли к ИТ в литературе

появляются сообщения об исследованиях, посвященных применению адаптивной ИТ с использованием аутологических Т-лимфоцитов, а также разработке противоопухолевых вакцин РМП, в том числе на основе дендритных клеток (ДК) [15–17].

По современным представлениям ДК являются наиболее эффективными индукторами противоопухолевого иммунитета [18] и уже более 20 лет находятся в центре внимания широкого круга исследований, основная цель которых — создание клеточных вакцин, способных модифицировать иммунный ответ у больных со злокачественными новообразованиями [19]. ДК — так называемые профессиональные антигенпрезентирующие клетки — играют фундаментальную роль в противоопухолевом иммунитете, так как обладают уникальной способностью захватывать, перерабатывать и представлять опухолевые антигены Т-лимфоцитам. Они могут стимулировать дифференцировку наивных Т-лимфоцитов в активированные, специфичные к опухоли эффекторные лимфоциты [20], а также усиливают противоопухолевую активность натуральных киллеров (NK-клеток) путем увеличения их цитолитических способностей и продукции ими интерферона гамма (IFN- $\gamma$ ) [21]. Помимо роли «дирижеров» врожденных и адаптивных иммунных реакций, ДК могут функционировать в качестве прямых цитотоксических эффекторов против опухолей [22, 23]. Использование вакцин, созданных на основе ДК, демонстрирует эффективность в лечении различных онкологических заболеваний и считается безопасным, так как побочные действия, связанные с их применением, относительно мягкие, кратковременные, обычно включают лихорадку, реакцию в месте инъекции, аденопатию, общее недомогание и могут быть классифицированы как нежелательные явления I и II степеней тяжести [19, 24].

#### **Мишени для воздействия дендритно-клеточной вакцинотерапии при раке мочевого пузыря.**

#### **Использование аутологичного и аллогенного антигенного материала для производства дендритно-клеточных вакцин против рака мочевого пузыря**

Успешное применение ДК-вакцин для лечения РМП зависит от использования в качестве мишеней соответствующих целевых антигенов и эффективных стратегий иммунизации. Известные на сегодняшний день потенциальные мишени для разработки методов вакцинотерапии уротелиальной карциномы включают рецептор эпидермального фактора роста человека 2 (HER2), опухолеассоциированные антигены (ОАА), среди которых особое значение имеют раковотестикулярные антигены (РТА), такие как NY-ESO-1, LAGE-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT7, CT10 и GAGE [15, 25], а также один из представителей семейства ингибиторов апоптоза сурвивин [7].

Молекулы, участвующие в регуляции апоптоза, могут быть потенциальными мишенями для терапии опухолей, в том числе ИТ. Известно, что сурвивин

(BIRC5), самый маленький, структурно уникальный член семейства ингибиторов апоптоза, часто гиперэкспрессирован в опухолях по сравнению с уровнем его экспрессии в нормальных дифференцированных тканях человека. Сурвивин участвует в процессах контроля деления клеток и ингибирования апоптоза, индуцирует ангиогенез и, таким образом, может играть ключевую роль в развитии опухолей [7]. Показана высокая степень экспрессии сурвивина в клетках уротелиальной карциномы [26].

Очень важным является выбор антигенного материала как точки приложения для активации специфического противоопухолевого иммунного ответа в контексте создания ДК-вакцины для лечения РМП [15, 27]. Прежде всего, потому что помимо известных ОАА могут быть презентованы и индивидуальные опухолевые антигены, характерные исключительно для конкретного пациента [28]. Предпочтительно использование цельных опухолевых клеток в качестве источника антигенов по сравнению с отдельно взятыми антигенами, так как можно ожидать формирование иммунного ответа, нацеленного одновременно на множественные опухолевые антигены, благодаря чему возможно обеспечить эффективное направленное действие на большинство малигнизированных клеток в растущей опухоли [29]. Создание таких вакцин сопряжено с необходимостью их стандартизации. В частности, нужно оптимизировать методику получения первичной культуры опухолевых клеток из индивидуального операционного материала.

Несмотря на преимущества использования аутологичного опухолевого материала в качестве антигенов при производстве ДК-вакцин, этот подход технически весьма ограничен, поскольку является трудоемким (в частности, из-за длительного культивирования первичных опухолевых клеток и возможности потенциальной микробиологической контаминации), дорогостоящим и непригодным для пациентов с низким статусом опухолевой нагрузки. Для того, чтобы преодолеть эти ограничения, в качестве альтернативного источника ОАА могут быть использованы аллогенные опухолевые клетки или опухолевые клеточные линии, полученные из опухолей различных локализаций [30]. Научная основа этого подхода состоит в том, что аллогенные линии опухолевых клеток могут экспрессировать те же основные ОАА, что и клетки аутологичной опухоли. Хорошо охарактеризованные аллогенные линии опухолевых клеток, имеющие высокую пролиферативную активность *in vitro*, способны экспрессировать достаточное количество ОАА для нагрузки и активации ДК, кроме того, их возможно стандартизировать и использовать в крупномасштабном производстве вакцин [31].

#### **Способы усиления иммуногенности дендритно-клеточных вакцин**

Несостоятельность иммунного ответа при злокачественных новообразованиях, которая может быть

связана со способностью опухолевых клеток «ускользнуть» от воздействия клеток иммунной системы, в том числе за счет продукции разнообразных факторов, ингибирующих их нормальное функционирование, также находится в центре внимания. У пациентов с РМП выявлены «несостоятельные» ДК, которые демонстрируют низкую и/или дефектную экспрессию молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) и некоторых ко-стимулирующих молекул [32]. При создании вакцин на основе ДК очень важно получить достаточное количество функциональных клеток для инициации полноценного специфического иммунного ответа. Необходимо найти способы усиления этого иммунного ответа, генерируемого ДК. Известно, что ДК могут быть модифицированы для повышения их способности индуцировать иммунный ответ, и это может быть достигнуто за счет использования определенных белков-носителей, адъювантов, цитокинов или генетически модифицированных вирусов [33, 34].

С этих позиций может представлять интерес дыхательный пигмент гемоцианин брюхоногого моллюска *Fissurella latimarginata* (KLH), который обладает значимым иммуностимулирующим действием и может применяться в качестве адъюванта в иммуногенных композициях. KLH добавляют в ДК-вакцины для неспецифической стимуляции Т-хелперов и мониторинга вакцинированных иммунных реакций [35, 36]. Накапливаются доказательства того, что использование неспецифических вспомогательных агентов, таких как KLH, имеет решающее значение для индукции эффективного противоопухолевого ответа [37, 38]. KLH применяется в качестве самостоятельного местного средства для лечения РМП [34]. Не исключено, что использование данного пептида-иммуноносителя при производстве вакцин на основе ДК против уротелиальной карциномы в ближайшем будущем найдет свое применение.

В качестве адъюванта для усиления противоопухолевого иммунного ответа были успешно использованы олигонуклеотиды, содержащие неметилованные цитозин-гуаниновые мотивы (CpG), известный лиганд для TLR9 (внутриклеточного белка, обеспечивающего функционирование врожденного иммунитета). Усиление иммунного ответа при использовании CpG происходит посредством активации ДК, способствуя выработке цитокинов Т-хелперами 1 (Th1), растворимых факторов, а также экспрессии МНС класса I, МНС класса II, CD80 и CD86 [39, 40]. Известно прямое действие CpG-олигодезоксинуклеотидов (ОДН) на клетки РМП. Даже однократное введение CpG-ОДН в мочевой пузырь мышей с развившимся РМП уменьшало размеры опухоли [41]. Одним из новых направлений в противоопухолевой терапии является использование ДК, обработанных CpG-ОДН [42]. Очевидно, в ближайшие годы ученые смогут широко внедрить в клиническую практику метод, основанный на введении онкологическим больным ДК, обработанных ОДН и CpG-ДНК [43].

Интересные исследования посвящены изучению белка микобактерий Antigen85A (*Ag85A*), относящегося к семейству *Ag85*, который участвует в синтезе миколиновой кислоты в клеточной стенке [44]. Показано, что *Ag85A* существенно индуцирует пролиферацию Т-хелперных клеток и усиление продукции цитокинов Th1 у людей, вакцинированных БЦЖ, и мышей, инфицированных микобактериями [45]. У мышей, вакцинированных плазмидной ДНК, содержащей ген *Ag85A*, регистрировали повышенное содержание в крови IL-2, IFN- $\gamma$  и IgG2a, а также активность цитотоксических Т-лимфоцитов в ответ на микобактериальные белки БЦЖ, из которых *Ag85A* является основным компонентом [46, 47]. Иммунизация ДК, трансдуцированными с помощью ретровируса, несущего микобактериальный ген *Ag85A*, вызывает специфический клеточный иммунный ответ, включающий активность цитотоксических лимфоцитов [48].

Улучшить иммуногенность клеток опухоли, использующихся в технологическом процессе производства ДК-вакцины в качестве материала, активирующего ДК, можно путем радиационного облучения [49]. Этот прием способствует индукции высвобождения опухолевыми клетками ядерного негистонового белка HMGB-1, белка теплового шока HSP70 и других эндогенных «сигналов опасности», а также может регулировать экспрессию клетками антигенов МНС класса I, ICAM-1, VCAM-1 и других молекул адгезии. Все эти механизмы способствуют хемотаксису иммунных клеток к опухолевой ткани и имеют важное значение при разработке ДК-вакцин для активации врожденного и адаптивного иммунных ответов в организме больного.

Таким образом, на знании мишеней для воздействия вакцинотерапии при уротелиальной карциноме и способов усиления иммуногенности вакцин на основе ДК могут базироваться дальнейшие экспериментальные и клинические исследования ДК-вакцин при РМП.

#### **Экспериментальные и клинические исследования дендритно-клеточных вакцин при раке мочевого пузыря**

На сегодняшний день для лечения РМП разработан ряд противоопухолевых вакцин на основе ДК, которые проходят доклинические экспериментальные и клинические испытания.

Так, P. Zhang и соавт. провели исследование мышинной модели РМП [50]. Ученые использовали мышиную клеточную линию ДК DC 2.4, трансфицированную геном *Ag85A*, как субстрат для приготовления ДК-вакцины и изучили ее способность усиливать иммунный ответ против РМП. Были обнаружены цитотоксические свойства *Ag85A*-DC, нагруженных лизатом клеток опухоли мочевого пузыря линии MB49. Оценка иммунотерапевтического эффекта ДК-вакцины у мышей показала, что трансфицированные геном

*Ag85A* ДК экспрессировали высокие уровни ключевых поверхностных маркеров, таких как CD80, CD86 и антигены МНС класса II. Обнаружено существенное ингибирующее действие вакцины на рост опухоли. Количество опухолеинфильтрирующих CD4<sup>+</sup> или CD8<sup>+</sup> Т-клеток у вакцинированных *Ag85A*-DC мышей значительно увеличилось по сравнению с контрольными группами. Таким образом, на модели РМП была показана высокая активность ДК, модифицированных геном *Ag85A*, и разработанная технология может считаться перспективной в терапии РМП.

X.F. Xie и соавт. провели экспериментальные исследования вакцины, состоящей из ДК, нагруженных РТА опухолевых клеток, находящихся в состоянии радиационно-индуцированного апоптоза [49]. Установлен ингибирующий эффект такой ДК-вакцины на опухолевые клетки РМП у мышей линии C57BL/6. Проводили кокультивирование ДК в процессе созревания с предварительно облученными клетками опухоли мочевого пузыря линии MB49. Для моделирования РМП у самок мышей использовали ту же клеточную линию переходно-клеточного РМП MB49. Животных случайным образом распределяли в экспериментальную и контрольную группы. ДК-вакцину или забуференный фосфатом физиологический раствор вводили за 7 дней до инокуляции опухолевых клеток. Производили замеры объема опухолей и регистрировали выживаемость животных. По результатам исследования объем и средняя масса опухолей мышей, которым вводили РТА<sup>+</sup>ДК-вакцину, были значительно меньше, чем в контрольной группе. Срок жизни животных в экспериментальной группе также был более продолжительный, чем в контрольной. Кроме того, в экспериментальной группе у 2 мышей опухоли вообще не развились, эти животные были живы без признаков роста опухоли через 30 дней после подкожной инокуляции клеток MB49. Таким образом, данная ДК-вакцина оказывала противоопухолевый эффект и увеличивала выживаемость.

E.C. Hwang и соавт. провели исследование вакцины на основе ДК у пациентов мужского пола с РМП мышечно-неинвазивного типа [29]. Для этого ДК были нагружены антигенами подвергнутых ультрафиолетовому облучению аллогенных клеток РМП линии T24. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование аллогенной клеточной линии РМП в качестве источника опухолевых антигенов может генерировать специфический Т-клеточный ответ против аутологичных клеток РМП.

В России было проведено исследование адъювантной ИТ больных инвазивным переходно-клеточным РМП с применением вакцины на основе аутологичных ДК, нагруженных опухолевыми антигенами из аутологичного опухолевого материала. Показано, что использование этой вакцины в режиме внутрикожного введения больным, которым выполнено удаление первичного очага, не вызывает токсических или аутоиммунных

осложнений, способствует развитию клеточного иммунного ответа, который оценивался по наличию реакции гиперчувствительности замедленного типа и содержанию активированных цитотоксических Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов. Эти данные свидетельствуют об индукции системного иммунного ответа в отличие от сведений о пациентах контрольной группы, и могут указывать на перспективность данного метода лечения [6].

Также отечественными учеными отработаны оптимальные условия для сохранения жизнеспособности клеток уротелиальной карциномы в процессе их культивирования в целях создания на основе данного антигенного материала персонифицированных аутологичных противоопухолевых ДК-вакцин [16]. Определены параметры транспортировки и хранения биоматериала от больных РМП, нуждающихся в проведении ИТ ДК-вакцинами из отдаленных медицинских учреждений.

В качестве целевого антигена для активной специфической противоопухолевой иммунизации может быть рассмотрена молекула сурвивина с высокой степенью экспрессирующаяся в клетках уротелиальной карциномы [7]. Было продемонстрировано, что пептид сурвивин-2В80–88 может служить иммуногенной противоопухолевой вакциной при различных видах злокачественных образований, включая РМП [23]. На основе этих данных проведена I фаза клинических испытаний вакцинации пептидом сурвивин-2В80–88 в сочетании с IFN- $\alpha$  пациентов с распространенным или рецидивирующим уротелиальным раком, экспрессирующим сурвивин. Исследование показало иммунологическую эффективность данного типа вакцин в лечении пациентов с РМП, а также безопасность и хорошую переносимость данной терапии без серьезных побочных эффектов [51]. Весьма интересные исследования в области изучения и практического применения пептида сурвивин проведены К. Kikkawa и соавт. [52]. С помощью аденовирусного вектора, несущего ген сурвивина человека, получены активированные ДК, которые использовали для создания клонов сурвивинспецифичных цитотоксических лимфоцитов, демонстрирующих мощный специфический цитотоксический ответ *in vitro*. Таким образом, использование сурвивина как мишени для различных иммунотерапевтических подходов становится многообещающей терапевтической стратегией в отношении РМП.

Уротелиальная карцинома характеризуется высоким уровнем экспрессии различных РТА [25], в связи с чем продолжают исследования вакцин, нацеленных на них при РМП. В экспериментальных исследованиях *in vitro*, проведенных Х.З. Li и соавт., показана способность MAGE-3 сенсибилизированных ДК запускать иммунный ответ против клеток РМП линии ВU-87, экспрессирующих искомым антиген [53]. Введение ДК, активированных MAGE-3, вызывало существенное ингибирование роста опухоли на мышинной модели ксенотрансплантатов ВU-87.

Еще в 1997 г. результаты исследования Ф. Tanaka и соавт. показали успешную индукцию противоопухолевых цитотоксических лимфоцитов синтетическим пептидом MAGE-3 с последовательностью *IMPAGLLI*, который обладает высокой аффинностью к молекулам HLA-A24 [54]. Затем проведено пилотное исследование вакцины на основе ДК, в котором аутологичные ДК пациентов активировали с помощью антигена MAGE-A3, а далее вводили пациентам с метастатическим РМП. В исследование были включены 4 больных метастатическим РМП с установленным иммунофенотипом HLA-A24<sup>+</sup>MAGE-3<sup>+</sup> [55]. Данные пациенты уже получили хирургическое лечение, химио- и лучевую терапию. Во время ДК-вакцинации не зафиксировано неблагоприятных побочных эффектов. У 1 пациента достигнут полный регресс опухоли, частичный регресс зарегистрирован у 2 больных, прогрессирование заболевания наблюдали в 1 случае. Таким образом, можно говорить о клинической эффективности данной вакцины.

По данным различных исследований установлено, что в 27,8–85,2 % случаев РМП обнаруживается онкобелок HER2, экспрессия которого коррелирует с метастатическим процессом и высоким уровнем летальности при этом заболевании [56]. В настоящее время опубликованы пилотные результаты II фазы рандомизированного клинического исследования аутологичной клеточной вакцины DN24–02 у больных HER2<sup>+</sup> уротелиальной карциномой с высокой степенью риска развития рецидива [57]. Вакцина была изготовлена из аутологичных антигенпрезентирующих клеток, активированных антигеном BA7072, представляющим собой рекомбинантный белок HER2. Пациенты получали трехкратное введение вакцины DN24–02 с 2-недельными интервалами. Предварительные результаты показали, что у 30 пациентов, получивших полный курс вакцинаций, увеличился HER2-специфический иммунологический ответ и повысился уровень провоспалительных цитокинов. Также у 92,3 % больных, включенных в исследование, развились побочные эффекты терапии I и II степеней тяжести.

Другой вакциной, зарегистрированной на сайте ClinicalTrials.gov, мишенью которой служит HER2, является ДК-вакцина AdHER2/Neu, изготовленная в условиях GMP из криоконсервированных моноцитов пациентов путем трансдукции ДК вектором, несущим ген искомого антигена. Вакцину вводили внутривенно 6 раз каждые 4 нед. В настоящее время данная аутологичная ДК-вакцина проходит клинические испытания I фазы у больных с HER2<sup>+</sup> метастатическими солидными опухолями, в том числе и РМП, в Национальных институтах здравоохранения США [58].

### Заключение

В наши дни современная онкология характеризуется принципиально новым подходом к лечению злокачественных новообразований, базирующимся на изучении иммунной системы в условиях опухолевого роста, со-

здании и использовании противоопухолевых клеточных вакцин. ДК-вакцины — один из видов ИТ, направленной на распознавание и уничтожение опухолевых клеток. Публикуются многочисленные данные о проведении и/или завершении клинических испытаний I, II, III фаз для вакцин на основе аутологичных ДК. Разработка противоопухолевых ДК-вакцин для лечения злокачественных новообразований, в том числе РМП, — актуальная проблема, охватывающая множество аспектов, среди которых наиболее важными являются подбор потенциальных мишеней для воздействия вакцинотерапии, способы усиления иммуногенности вакцины, выбор технологии получения достаточного количества функциональных ДК для инициации клеточ-

ного иммунного ответа. При разработке ДК-вакцины особое внимание необходимо уделять использованию адъювантов, цитокинов, способов доставки антигенного материала для усиления активации зрелых ДК. Уже сегодня для лечения РМП разработаны и проходят доклинические экспериментальные и клинические исследования противоопухолевые вакцины на основе ДК, активированных различными способами. Однако таких разработок еще крайне мало. Недостаточно изучен иммуномодулирующий эффект вакцинотерапии, а также ее отдаленные результаты. Тем не менее клеточная ИТ на основе ДК при уротелиальной карциноме является весьма многообещающим направлением в лечении этой категории онкологических больных.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kamat A.M., Bağcıoğlu M., Huri E. What is new in non-muscle-invasive bladder cancer in 2016? *Turkish J Urol* 2017;43(1):9–13. DOI: 10.5152/tud.2017.60376. PMID: 28270945.
2. Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer Statistics. *CA Cancer J Clin* 2017;67(1):7–30. DOI: 10.3322/caac.21387. PMID: 28055103.
3. Cookson M.S., Herr H.W., Zhang Z.F. et al. The treated natural history of high risk superficial bladder cancer: 15-year outcome. *J Urol* 1997;158(1):62–7. DOI: 10.1097/00005392-199707000-00017. PMID: 9186324.
4. Chua K.L., Kusumawidjaja G., Murgic J., Chua M.L. Adjuvant treatment following radical cystectomy for muscle-invasive urothelial carcinoma and variant histologies: Is there a role for radiotherapy? *ESMO Open* 2017;1(6):e000123. DOI: 10.1136/esmoopen-2016-000123. PMID: 28848661.
5. Долгих Д.В., Широкопад В.И., Долгих В.Т. Лечение больных раком мочевого пузыря. *Сибирский медицинский журнал* 2016;(1):5–12. [Dolgikh D.V., Shirokorad V.I., Dolgikh V.T. Treatment of patients with bladder cancer. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal = Siberian Medical Journal* 2016;(1):5–12. (In Russ.)].
6. Шоуа А.Б. Иммунотерапия с использованием дендритных клеток в лечении рецидивного инвазивного переходноклеточного рака мочевого пузыря. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2009. [Shoua A.B. Dendritic cell immunotherapy in treatment of invasive transitional cell carcinoma of the bladder. Author's abstract of thesis ... of candidate medical sciences. Moscow, 2009. (In Russ.)].
7. Garg H., Suri P., Gupta J.C. et al. Survivin: a unique target for tumor therapy. *Cancer Cell Int* 2016;16:49. DOI: 10.1186/s12935-016-0326-1. PMID: 27340370.
8. Donin N.M., Lenis A.T., Holden S. et al. Immunotherapy for the treatment of urothelial carcinoma. *J Urol* 2017;197(1):14–22. DOI: 10.1016/j.juro.2016.02.3005. PMID: 27460757.
9. Redelman-Sidi G., Glickman M.S., Bochner B.H. The mechanism of action of BCG therapy for bladder cancer — a current perspective. *Nat Rev Urol* 2014;11(3):153–62. DOI: 10.1038/nrurol.2014.15. PMID: 24492433.
10. Brausi M., Witjes J.A., Lamm D. et al. A review of current guidelines and best practice recommendations for the management of nonmuscle invasive bladder cancer by the international Bladder Cancer Group. *J Urology* 2011;186(6):2158–67. DOI: 10.1016/j.juro.2011.07.076. PMID: 22014799.
11. Muthigi A., George A.K., Brancato S.J., Agarwal P.K. Novel immunotherapeutic approaches to the treatment of urothelial carcinoma. *Ther Adv Urol* 2016;8(3):203–14. DOI: 10.1177/1756287216628784. PMID: 27247630.
12. Zabolotneva A.A., Zhavoronkov A., Garazha A.V. et al. Characteristic patterns of microRNA expression in human bladder cancer. *Front Genet* 2013;3:310. DOI: 10.3389/fgene.2012.00310. PMID: 23316212.
13. Massari F., Di Nunno V., Cubelli M. et al. Immune checkpoint inhibitors for metastatic bladder cancer. *Cancer Treat Rev* 2018;64:11–20. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.12.007. PMID: 29407369.
14. Grülllich C. Immuntherapien ALS moderne tumor therapien. *Radiologe* 2017;57(10):822–5. DOI: 10.1007/s00117-017-0298-8. PMID: 28871357.
15. Сальникова С.В., Славянская Т.А., Балдуева И.А. и др. Инновационные технологии в лечении рака мочевого пузыря. *Аллергология и иммунология* 2016;17(1):21–6. [Sal'nikova S.V., Slavyanskaya T.A., Baldueva I.A. et al. Innovation techniques in bladder cancer treatment. *Allergologiya i immunologiya = Allergy and Immunology* 2016;17(1):21–6. (In Russ.)].
16. Славянская Т.А., Авдонкина Н.А., Сальникова С.В. Оптимизация условий получения жизнеспособной первичной культуры клеток уротелиальной карциномы. *Аллергология и иммунология* 2016;17(3):176–9. [Slavyanskaya T.A., Avdonkina N.A., Sal'nikova S.V. Optimization of the conditions for obtaining the viability of primary cell cultures of urothelial carcinoma. *Allergologiya i immunologiya = Allergy and Immunology* 2016;17(3):176–9. (In Russ.)].
17. Славянская Т.А., Авдонкина Н.А. Современные подходы и достижения в лечении рака мочевого пузыря. *Аллергология и иммунология* 2016;17(1):50–1. [Slavyanskaya T.A., Avdonkina N.A. Current approaches and accomplishments in bladder cancer treatment. *Allergologiya i immunologiya = Allergy and Immunology* 2016;17(1):50–1. (In Russ.)].
18. Thompson D.B., Siref L.E., Feloney M.P. et al. Immunological basis in the pathogenesis and treatment of bladder cancer. *Expert Rev Clin Immunol* 2015;11(2):265–79. DOI: 10.1586/1744666X.2015.983082. PMID: 25391391.
19. Constantino J., Gomes C., Falcao A. et al. Antitumor dendritic cell-based vaccines: lessons from 20-years of clinical trials and

- future perspectives. *Transl Res* 2016;168:74–95.  
DOI: 10.1016/j.trsl.2015.07.008.  
PMID: 26297944.
20. Kitadani J., Ojima T., Iwamoto H. et al. Cancer vaccine therapy using carcinoembryonic antigen – expressing dendritic cells generated from induced pluripotent stem cells. *Sci Rep* 2018;8(1):4569.  
DOI: 10.1038/s41598-018-23120-z.  
PMID: 29545628.
  21. Fernandez N.C., Lozier A., Flament C. et al. Dendritic cells directly trigger NK-cell functions: cross-talk relevant in innate anti-tumor immune responses in vivo. *Nat Med* 1999;5(4):405–11.  
DOI: 10.1038/7403. PMID: 10202929.
  22. Hanke N., Alizadeh D., Katsanis E., Larmonier N. Dendritic cell tumor killing activity and its potential applications in cancer immunotherapy. *Crit Rev Immunol* 2013;33(1):1–21.  
PMID: 23510023.
  23. Bagaev A., Pichugin A., Nelson E.L. et al. Anticancer mechanisms in two murine bone marrow-derived dendritic cell subsets activated with tlr4 agonists. *J Immunol* 2018;200(7):2656–69.  
DOI: 10.4049/jimmunol.1701126.  
PMID: 29500244.
  24. Sabado R.L., Balan S., Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Res* 2017;27(1):74–95.  
DOI: 10.1038/cr.2016.157.  
PMID: 28025976.
  25. Sharma P., Shen Y., Wen S. et al. Cancer-testis antigens: expression and correlation with survival in human urothelial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006;12(18):5442–7.  
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0527.  
PMID: 17000678.
  26. Hirohashi Y., Torigoe T., Maeda A. et al. An HLA-A24-restricted cytotoxic T-lymphocyte epitope of a tumor-associated protein, survivin. *Clin Cancer Res* 2002;8(6):1731–9. PMID: 12060610.
  27. Ragai R.M., Robin D.H. Human cell culture protocols. 3rd edn. *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, 2012. Pp. 31–43.
  28. Балдуева И.А., Славянская Т.А., Пипиа Н.П. и др. Особенности культивирования клеток уротелиальной карциномы, пригодных для создания персонифицированной дендритно-клеточной вакцины против рака мочевого пузыря. II Российский онкологический форум с международным участием «Белые Ночи – 2016». Сборник тезисов, 2016. С. 228.  
[Baldueva I.A., Slavyanskaya T.A., Pipia N.P. et al. Features of culture growth of urothelial carcinoma cells suitable for development of personalized dendritic cell vaccine against bladder cancer. II Russian Oncological Forum with International Participation “White Nights – 2016”. Abstracts, 2016. P. 228. (In Russ.)].
  29. Hwang E.C., Jung S.I., Lee H.J. et al. Generation of potent cytotoxic T lymphocytes against in male patients with non-muscle invasive bladder cancer by dendritic cells loaded with dying T24 bladder cancer cells. *Int Braz J Urol* 2017;43(4):615–27. DOI: 10.1590/S1677-5538.IBJU.2016.0274.  
PMID: 28266813.
  30. Palucka A.K., Ueno H., Connolly J. et al. Dendritic cells loaded with killed allogeneic melanoma cells can induce objective clinical responses and MART-1 specific CD8+ T-cell immunity. *J Immunother* 2006;29(5):545–57.  
DOI: 10.1097/01.cji.0000211309.90621.8b. PMID: 16971810.
  31. Koido S. Dendritic-tumor fusion cell-based cancer vaccines. *Ed T. Dittmar. Int J Mol Sci* 2016;17(6):828.  
<https://doi.org/10.3390/ijms17060828>.
  32. Troy A.J., Davidson P.J., Atkinson C.H., Hart D.N. CD1a dendritic cells predominate in transitional cell carcinoma of bladder and kidney but are minimally activated. *J Urol* 1999;161(6):1962–7.  
PMID: 10332481.
  33. Engleman E.G. Dendritic cell-based cancer immunotherapy. *Semin Oncol* 2003;30(3 Suppl 8):23–9.  
PMID: 12881809.
  34. Aarntzen E.H., de Vries I.J., Göertz J.H. et al. Humoral anti-KLH responses in cancer patients treated with dendritic cell-based immunotherapy are dictated by different vaccination parameters. *Cancer Immunol Immunother* 2012;61(11):2003–11.  
DOI: 10.1007/s00262-012-1263-z.  
PMID: 22527252.
  35. Leonhartsberger N., Ramoner R., Putz T. et al. Antigen-independent immune responses after dendritic cell vaccination. *Cancer Immunol Immunother* 2007;56(6):897–903.  
DOI: 10.1007/s00262-006-0245-4.  
PMID: 17106716.
  36. Weide B., Pascolo S., Scheel B. et al. Direct injection of protamine-protected mRNA: results of a phase 1/2 vaccination trial in metastatic melanoma patients. *J Immunother* 2009;32(5):498–507.  
DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181a00068.  
PMID: 19609242.
  37. Pizarro-Bauerle J., Maldonado I., Sosoniuk-Roche E. et al. Molluscan hemocyanins activate the classical pathway of the human complement system through natural antibodies. *Front Immunol* 2017;8:188. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00188. PMID: 28286504.
  38. Engell-Noerregaard L., Hansen T.H., Andersen M.H. et al. Review of clinical studies on dendritic cell-based vaccination of patients with malignant melanoma: assessment of correlation between clinical response and vaccine parameters. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58(1):1–14.  
DOI: 10.1007/s00262-008-0568-4.  
PMID: 18719915.
  39. Jakob T., Walker P.S., Krieg A.M. et al. Activation of cutaneous dendritic cells by CpG-containing oligodeoxynucleotides: a role for dendritic cells in the augmentation of Th1 responses by immunostimulatory DNA. *J Immunol* 1998;161(6):3042–9.  
PMID: 9743369.
  40. Sparwasser T., Koch E.S., Vabulas R.M. et al. Bacterial DNA and immunostimulatory CpG oligonucleotides trigger maturation and activation of murine dendritic cells. *Eur J Immunol* 1998;28(6):2045–54.  
DOI: 10.1002/(SICI)1521-4141(199806)28:06<#60;2045::AID-IMMU2045>#62;3.0.CO;2-8.  
PMID: 9645386.
  41. Hegele A., Dalpke A., Heeg K. et al. Immunostimulatory CpG oligodeoxynucleotides reduce tumor burden after intravesical administration in an orthotopic murine bladder cancer model. *Tumor Biol* 2005;26(5):274–80.
  42. Arab S., Motamedi M., Khansari N. et al. Dendritic cell Maturation with CpG for tumor Immunotherapy. *Iran J Immunol* 2006;3(3):99–105. DOI: IJIV3i3A1.  
PMID: 18698118.
  43. Беседнова Н.Н., Федянина Л.Н. Противоопухолевое действие экзогенной дезоксирибонуклеиновой кислоты. Тихоокеанский медицинский журнал 2009;(3):12–8. [Besednova N.N., Fedyanina L.N. Anticancer effect of exogenous deoxyribonucleic acid. Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal = Pacific Medical Journal 2009;(3):12–8. (In Russ.)].
  44. Belisle J.T., Vissa V.D., Sievert T. et al. Role of the major antigen of Mycobacterium tuberculosis in cell wall biogenesis. *Science* 1997;276(5317):1420–2. PMID: 9162010.
  45. Huygen K., Content J., Denis O. et al. Immunogenicity and protective efficacy of a tuberculosis DNA vaccine. *Nat Med* 1996;2(8):893–8. PMID: 8705859.
  46. Borremans M., de Wit L., Volckaert G. et al. Cloning, sequence determination, and expression of a 32-kilodalton-protein gene of Mycobacterium tuberculosis. *Infect Immun* 1989;57(10):3123–30.  
PMID: 2506131.
  47. Montgomery D.L., Huygen K., Yawman A.M. et al. Induction of humoral and cellular immune responses by vaccination with M. tuberculosis antigen 85 DNA. *Cell Mol Biol (Noisy-le-Grand)* 1997;43(3):285–92. PMID: 9193782.
  48. Nakano H., Nagata T., Suda T. et al. Immunization with dendritic cells retrovirally transduced with mycobacterial antigen 85A gene elicits the specific cellular immunity including cytotoxic T-lymphocyte activity specific to an epitope on antigen 85A. *Vaccine* 2006;24:2110–9.

49. Xie X.F., Ding Q., Hou J.G., Chen G. Inhibitory effects of a dendritic cell vaccine loaded with radiation-induced apoptotic tumor cells on tumor cell antigens in mouse bladder cancer. *Genet Mol Res* 2015;14(3):7548–55. DOI: 10.4238/2015.July.3.30. PMID: 26214433.
50. Zhang P., Wang J., Wang D. et al. Dendritic cell vaccine modified by *Ag85A* gene enhances anti-tumor immunity against bladder cancer. *Int Immunopharmacol* 2012;14(3):252–60. DOI: 10.1016/j.intimp.2012.07.014. PMID: 22884511.
51. Tanaka T., Kitamura H., Inoue R. et al. Potential survival benefit of anti-apoptosis protein: survivin-derived peptide vaccine with and without interferon alpha therapy for patients with advanced or recurrent urothelial cancer — results from phase I clinical trials. *Clin Dev Immunol* 2013;2013:262967. DOI: 10.1155/2013/262967. PMID: 24363758.
52. Kikkawa K., Fujii R., Kuramoto T. et al. Dendritic cells with transduced survivin gene induce specific cytotoxic T-lymphocytes in human urologic cancer cell lines. *Urology* 2009;74(1):222–8. DOI: 10.1016/j.urology.2008.12.045. PMID: 19285711.
53. Li X.Z., Han Y., Tian J. et al. Enhancement of dendritic cells with melanoma-associated antigen 3 for inducing cytotoxicity by cytotoxic T-lymphocytes on bladder cancer BIU-87 cells. *Genet Mol Res* 2016;15(3). DOI: 10.4238/gmr.15039001. PMID: 27706668.
54. Tanaka F., Fujie T., Tahara K. et al. Induction of antitumor cytotoxic T-lymphocytes with a MAGE-3-encoded synthetic peptide presented by human leukocytes antigen-A24. *Cancer Res* 1997;57(20):4465–8. PMID: 9377553.
55. Nishiyama T., Tachibana M., Horiguchi Y. et al. Immunotherapy of bladder cancer using autologous dendritic cells pulsed with human lymphocyte antigen-A24-specific MAGE-3 peptide. *Clin Cancer Res* 2001;7(1):23–31. PMID: 11205913.
56. Zhao J., Xu W., Zhang Z. et al. Prognostic role of HER2 expression in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol* 2015;47(1):87–94. DOI: 10.1007/s11255-014-0866-z. PMID: 25384433.
57. Bajorin F., Sharma P., Gomella G. et al. NeuACT, a phase II randomized, open-label trial of DN24-02: updated analysis of HER2 expression, immune responses, product parameters, and safety in patients with surgically resected HER2+ urothelial cancer. *J Clin Oncol* 2014;32(4):296.
58. Clinical Trials.gov identifier: NCT01730118.

#### Вклад авторов

А.С. Ильницкая: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;

А.Б. Данилова: разработка дизайна исследования;

И.А. Балдуева: обзор публикаций по теме статьи.

#### Authors' contributions

A.S. Ilnitskaya: reviewing of publications of the article's theme, article writing;

A.B. Danilova: developing the research design;

I.A. Baldueva: reviewing of publications of the article's theme.

#### ORCID авторов

А.С. Ильницкая: <https://orcid.org/0000-0001-8925-440X>

А.Б. Данилова: <https://orcid.org/0000-0003-4796-0386>

И.А. Балдуева: <https://orcid.org/0000-0002-7472-4613>

#### ORCID of authors

A.S. Ilnitskaya: <https://orcid.org/0000-0001-8925-440X>

A.B. Danilova: <https://orcid.org/0000-0003-4796-0386>

I.A. Baldueva: <https://orcid.org/0000-0002-7472-4613>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Статья поступила:** 03.04.2018. **Принята к публикации:** 26.04.2018

**Article received:** 03.04.2018. **Accepted for publication:** 26.04.2018