

ИММУНОТЕРАПИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА (ОБЗОР)

УДК 616.831–006.6:615.37
Поступила 16.06.2014 г.



К.С. Яшин, аспирант;
И.А. Медяник, к.м.н., старший научный сотрудник

Приволжский федеральный медицинский исследовательский центр, Н. Новгород, 603155,
Верхне-Волжская набережная, 18

Проведен анализ отечественных и зарубежных публикаций, посвященных стремительно развивающемуся методу лечения злокачественных опухолей головного мозга — иммунотерапии. Представлен современный взгляд на основную концепцию противоопухолевого иммунитета, на проблему взаимодействия иммунной системы с опухолью в целом и в условиях иммунологической привилегированности центральной нервной системы, обозначены теоретические предпосылки эффективности использования метода иммунотерапии против злокачественных опухолей головного мозга (способность антигенов опухоли и активированных лимфоцитов проникать через гематоэнцефалический барьер). Указана роль трансформирующего ростового фактора β , интерлейкина 10, циклооксигеназы-2, простагландина E2, белка MCP-1, взаимодействия Fas-рецептор/Fas-лиганд, антигена-4 цитотоксических Т-лимфоцитов в развитии опухолевой иммунорезистентности. Приведена современная классификация видов активной и пассивной иммунотерапии, каждый из которых рассмотрен в отдельности с указанием особенностей, результатов проведенных доклинических и клинических испытаний его эффективности, возможных побочных действий. Особое внимание уделено новой концепции ключевой роли опухолевых стволовых клеток в патогенезе глиальных опухолей головного мозга и таргетному воздействию на эти клетки.

Ключевые слова: злокачественные опухоли головного мозга; глиобластома; иммунотерапия опухолей; опухолевые стволовые клетки.

English

Brain Cancer Immunotherapy (Review)

K.S. Yashin, Postgraduate;
I.A. Medyanik, PhD, Senior Research Worker

Privolzhsky Federal Medical Research Center, Verkhne-Volzhsaya naberezhnaya St., 18, Nizhny Novgorod,
Russian Federation, 603155

The review analyzes Russian and foreign reports concerned with a rapidly developing brain cancer treatment technique — immunotherapy. There has been presented a current view on the basic concept of antitumor immunity, on the problem of immune system interaction with a tumor in general and under the conditions of an immunologically privileged nervous system, shown the theoretical background of efficiency of immunotherapy used against brain cancer (the capability of tumor antigens and activated lymphocytes to penetrate the blood-brain barrier). There has been demonstrated the role of a transforming growth factor β , interleukin 10, cyclooxygenase-2, prostaglandin E2, protein MCP-1, interactions Fas-receptor/Fas-ligand, antigen-4 cytotoxic T-lymphocytes in tumor immunoresistance development. The review presents a current classification of the types of active and passive immunotherapy, each of the types being considered separately specifying the characteristics, the results of preclinical and clinical trials of each type efficiency, and possible side effects. Special attention has been paid to a new concept of a key role of tumor stem cells in the pathogenesis of cerebral gliomas and the target action on these cells.

Key words: malignant brain tumors; glioblastoma; cancer immunotherapy; tumor stem cells.

Для контактов: Яшин Константин Сергеевич, e-mail: jashinmed@gmail.com

Результаты традиционного подхода в лечении злокачественных опухолей головного мозга с медианой выживаемости пациентов с диагнозом «глиобластома» (Grade IV) порядка 15 мес и 2-летней выживаемостью 26,5% пациентов нельзя назвать удовлетворительными [1]. Выбор метода лечения осуществляется прежде всего на основании гистологической картины опухоли, учитывающей отличие опухолевых клеток от нормальных на макроскопическом уровне и наличие клеточно-ядерного полиморфизма, эндотелиальной пролиферации, митозов, некрозов, тромбозов сосудов [2]. Однако остаются нерешенными многие вопросы, в частности, почему в одних случаях наблюдается хороший ответ на комплексную терапию, а в других он минимален. В последнее время заметен прогресс в изучении биологии злокачественных опухолей различной локализации, в том числе и головного мозга. Современные исследования направлены на изучение патогенетических механизмов опухолевого роста на молекулярном и генетическом уровнях, что позволяет обнаруживать принципиальные различия опухолей, имеющих одинаковое гистологическое строение. Такие различия могут иметь определенное прогностическое значение, и в настоящее время в рекомендательные протоколы по лечению опухолей головного мозга уже включены новые молекулярные и генетические прогностические критерии: наличие метилированной метил-гуанин-метил-трансферазы (MGMT), делеций 1p/19q, мутаций IDH1/IDH2 [3].

Успехи в изучении природы злокачественных опухолей и клинической значимости выявленных молекулярных и генетических признаков опухоли определяют поиск принципиально новых методов лечения, в основе которых лежит избирательное поражение клеток, генетически отличных от нормальных клеток организма. Одним из таких методов является иммунотерапия, ко-

торая основывается на активации и усилении процессов специфического иммунного ответа организма на развитие опухоли. Уже достигнуты значительные успехи в иммунотерапии онкологических заболеваний. Так, например, в США Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (FDA) одобрено для широкого клинического применения около 17 иммунотерапевтических препаратов [4]. Активно разрабатываются варианты иммунотерапевтического воздействия на глиальные опухоли головного мозга. Многие из этих вариантов успешно прошли I и II фазы клинических испытаний. Однако вследствие небольших размеров исследований даже при наличии обнадеживающих результатов доказательная база метода остается недостаточной.

В обзоре рассмотрены современные представления о противоопухолевом иммунитете, показан патогенез глиом и их взаимодействие с иммунной системой организма, проанализированы основные возможные виды иммунотерапии.

Концепция противоопухолевого иммунитета

Основной предпосылкой к развитию метода иммунотерапии является наличие у человека собственной эволюционно сложившейся системы защиты от любой генетически чужеродной информации — иммунитета. Лежащая в основе метода идея регуляции универсальных и естественных механизмов иммунной системы позволяет с определенной степенью точности говорить о вероятной высокой его специфичности и физиологичности. Изменение генома клеток при опухолевой трансформации становится триггером к активации противоопухолевого иммунитета. Сформировавшаяся концепция иммунного надзора основана на предположении о постоянном контроле Т-лимфоцитами и NK-клетками

антигенного состава собственных клеток организма с элиминацией последних при обнаружении на их поверхности новых антигенов (АГ). На опухолевых клетках обнаружены гетерогенные (раково-тестикулярные), дифференцировочные (тканеспецифические), мутантные и другие АГ (рис. 1). Выявляемые при глиомах MAGЕ-1 и SOX6 относятся к раково-тестикулярным АГ, которые в норме синтезируются у эмбрионов и в гонадах взрослых [5, 6]. Тканеспецифические АГ, например обнаруживаемые при глиомах gp100 и TRP-2, представляют собой белки, синтезируемые мозговой тканью в норме на определенных этапах своего развития [7, 8]. Очень часто при глиомах встречается мутантный АГ IGFRvIII [9]. Идентифицировано также большое количество других характерных для глиом АГ: IL13Ra2 [10], EphA2 [11], EphB6 [12], AIM-2

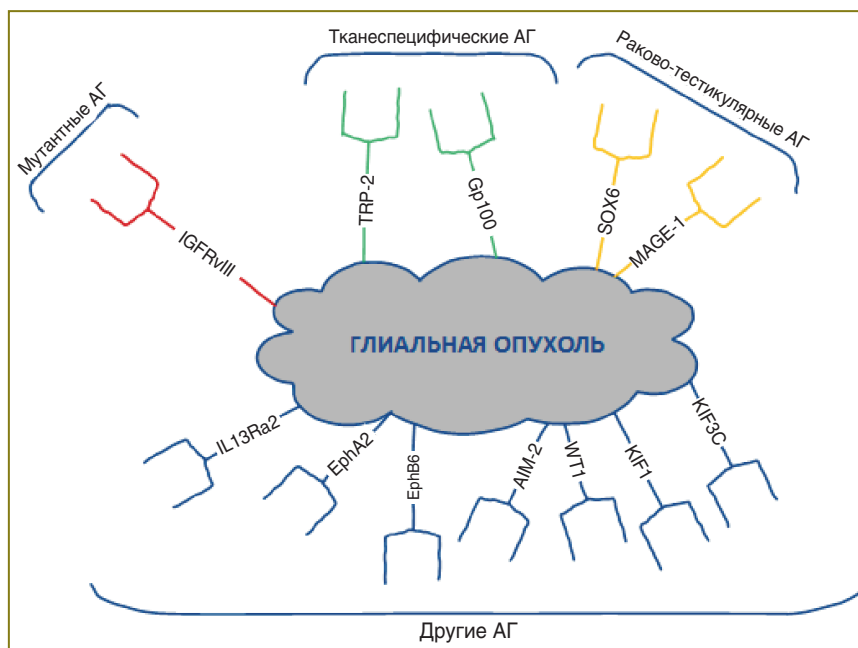


Рис. 1. Основные антигены глиальных опухолей

[13], HER-2 [8], WT1 [14], ARF4L [15], SART-3 [16], SOX11 [17], KIF1 и KIF3C [18].

Обоснованность концепции иммунного надзора подтверждается и увеличением числа сывороточных антител, инфильтрацией опухолевой ткани лимфоцитами, высокой частотой развития опухолей при длительном применении иммунодепрессантов.

Однако в настоящее время установлено, что иммунная система может также способствовать опухолевой прогрессии, участвуя в формировании иммуногенного фенотипа опухоли. Вследствие неоднозначной роли иммунной системы и возникла современная концепция о сложных взаимоотношениях между опухолью и организмом, получившая в мировой литературе название «The three Es of cancer immunoediting» [19]. Эта концепция предполагает трехстадийную модель взаимоотношения между опухолью и иммунной системой — удаление (*elimination*), равновесие (*equilibrium*) и ускользание (*escape*) (рис. 2).

Стадия элиминации является реализацией концепции иммунного надзора, в ходе которой в свою очередь реализуются механизмы как врожденного, так и приобретенного иммунитета. На стадии равновесия иммунная система организма и часть опухоли, которой удалось избежать элиминации, находятся в состоянии динамического равновесия, позволяющего сохранять

активное иммунное воздействие на опухолевые клетки, однако его недостаточно для полного торможения опухолевого роста. В опухолевой ткани продолжают процессы дифференцировки, появляются новые мутантные клетки, возникающая при этом генетическая нестабильность опухоли может привести к образованию принципиально новой популяции опухолевых клеток со сниженной иммуногенностью и повышенной резистентностью. Модифицированные в фазу равновесия опухолевые клетки начинают активно делиться, оставаясь недоступными для механизмов иммунологического надзора. Это позволяет рассматривать фазу равновесия как ключевую в развитии опухолевой резистентности, что указывает на необходимость полного уничтожения опухолевых клеток на стадии активного иммунного контроля.

Наиболее эффективным было бы усиление иммунитета на стадиях элиминации и равновесия, но пациенты с опухолями головного мозга обращаются в клинику уже на стадии ускользания, когда иммунная система человека не в состоянии распознать и/или уничтожить опухолевые клетки. Однако и на этой стадии представляется перспективным использовать метод иммунотерапии, который направлен на усиление противоопухолевых механизмов с целью восстановления активной стадии иммунного ответа организма для элиминации

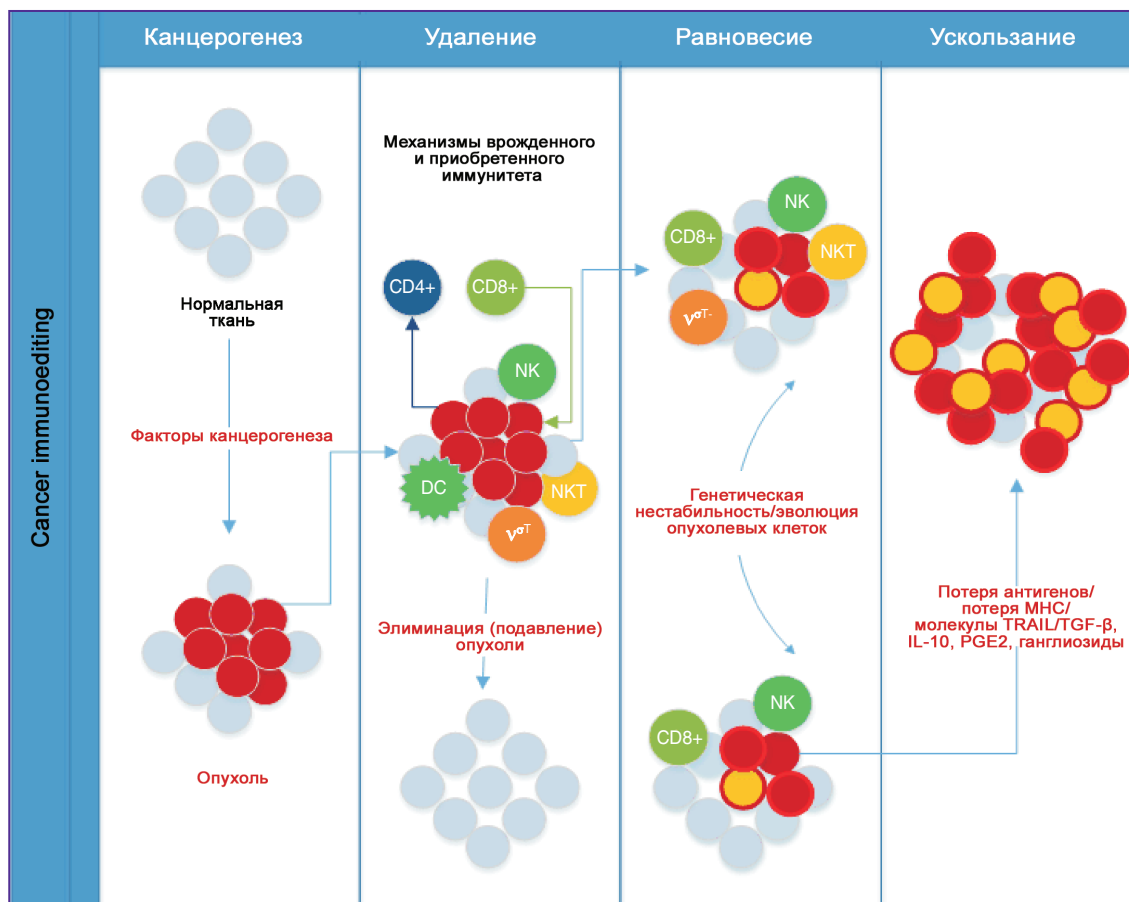


Рис. 2. Концепция взаимодействия «опухоль–организм» «The three Es of cancer immunoediting» — удаление (*elimination*), равновесие (*equilibrium*) и ускользание (*escape*)

диссеминированных по головному мозгу опухолевых клеток после оперативного удаления основного объема опухоли.

Проблемы функционирования иммунной системы при злокачественных опухолях головного мозга

Феномен «иммунологической привилегированности» ЦНС. Согласно концепции «иммунологической привилегированности» центральной нервной системы, полноценному функционированию иммунной системы в ЦНС препятствует ее анатомическая и функциональная обособленность вследствие наличия гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [20]. ГЭБ представляет собой высокоорганизованную систему, состоящую из эндотелиоцитов и комплекса поддерживающих структур: базальной мембраны, перicyтов и астроцитов [21]. Наличие плотных контактов, соединяющих мембраны эндотелиоцитов, высокое содержание в них митохондрий, низкий уровень пиноцитоза и отсутствие фенестр обуславливают практически полную непроницаемость ГЭБ для гидрофильных веществ [22]. Хорошо известен

факт, что отторжение трансплантатов в головном мозге происходит значительно медленнее, чем в других органах [23].

В целом можно выделить ряд факторов, препятствующих активному функционированию иммунной системы в ЦНС:

- ограниченный дренаж АГ из ЦНС в шейные лимфатические узлы [24];

- невозможность свободного проникновения нативных Т-лимфоцитов и антител в ЦНС [25];

- незначительное количество нативных антигенпредставляющих клеток (АПК) в ЦНС [24];

- угнетение функции и быстрое развитие апоптоза Т-лимфоцитов посредством активации Fas-лиганда (FasL) и ганглиозидов головного мозга [26];

- отсутствие хоминг-рецепторов для лейкоцитов в ЦНС [24].

По мере получения новых данных концепция «иммунологической привилегированности» ЦНС подверглась критическому переосмыслению. Так, выявлена роль макрофагов, микроглии [27, 28] и дендритных клеток [28] как мощных антигенпредставляющих клеток в ЦНС. Белковые чужеродные АГ могут попасть в

лимфоидную ткань как минимум двумя путями: 1) вдоль обонятельных нервов через lamina cribrosa в лимфоидную ткань слизистой оболочки носовых ходов; 2) в области эпендимальной выстилки желудочков и пространств Вирхова–Робина происходит дренирование интерстициальной жидкости в цереброспинальную жидкость, дренаж из которой в свою очередь осуществляется в шейные лимфатические узлы [29]. В то же время возможно и обратное проникновение через ГЭБ активированных лимфоцитов [30], которые экспрессируют тропные к ЦНС интегрины (например, $\alpha 4\beta 7$ [31]) (рис. 3):

из сосудов сосудистого сплетения желудочков в цереброспинальную жидкость;

через пространства Вирхова–Робина и посткапиллярные вены в субарахноидальное пространство;

лимфоциты могут напрямую проходить через ГЭБ в мозговую ткань.

Несмотря на наличие определенных препятствий для реализации функции иммунного надзора, в ЦНС в полной мере представлены как афферентное, так и эфферентное звенья иммунной системы, что служит свидетельством возможности применения метода иммунотерапии для лечения злока-

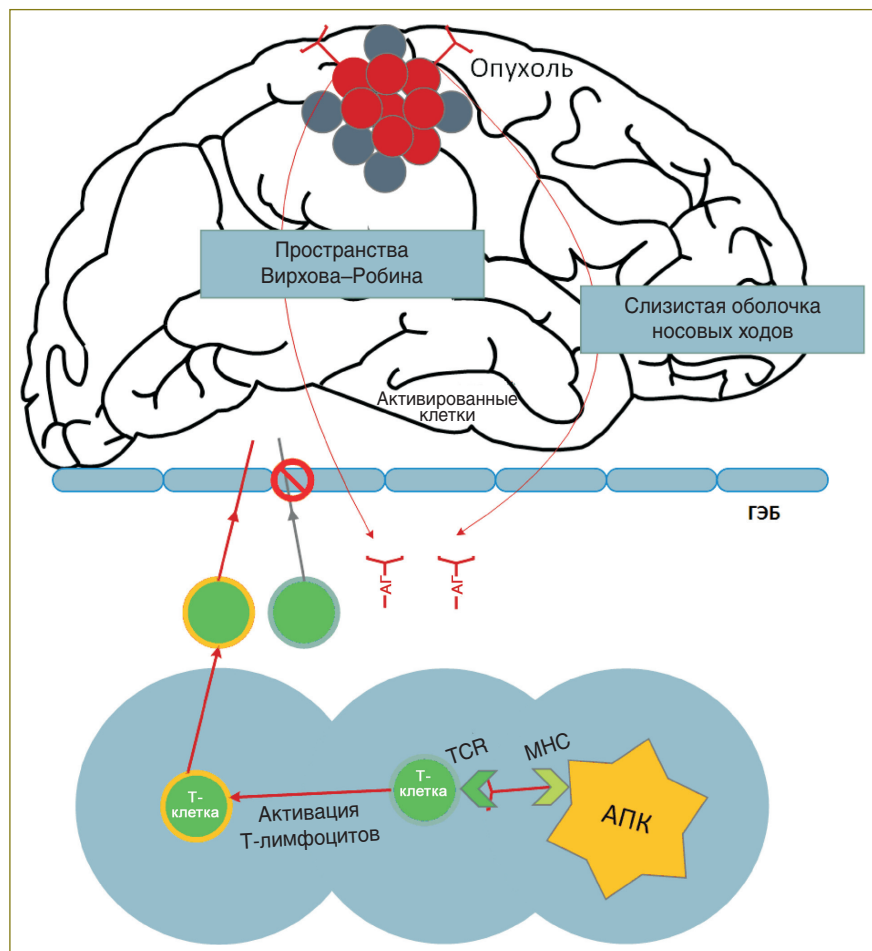


Рис. 3. Возможные пути активации иммунного ответа и проникновения активированных Т-лимфоцитов в ЦНС в соответствии с концепцией «иммунологической привилегированности» ЦНС

качественных опухолей головного мозга, однако с учетом известных на сегодняшний день особенностей функционирования иммунной системы в ЦНС. Например, при использовании вакцины на дендритных клетках следует учитывать способность последних активировать большое количество нативных Т-лимфоцитов, давая им возможность свободно проходить через ГЭБ.

Угнетение иммунной системы опухолью. Указанные выше особенности функционирования иммунной системы в ЦНС создают хорошие предпосылки для развития иммунотерапии, однако, несмотря на определенные успехи экспериментальных исследований на мышах, результаты клинических исследований остаются неудовлетворительными. В настоящее время определен ряд факторов, ограничивающих эффективность иммунной системы и способствующих формированию опухолевой резистентности [32]:

1. **Трансформирующий ростовой фактор β (TGF- β)** является одним из самых вероятных иммуносупрессивных цитокинов и угнетает ряд важных противоопухолевых механизмов: созревание АПК и их функцию; активацию Т-лимфоцитов и их дальнейшую дифференцировку [33].

2. **Интерлейкин 10 (IL-10)** синтезируется моноцитами, Th2-лимфоцитами, регуляторными Т-лимфоцитами (Tregs). Он снижает экспрессию Th1-цитокинов, молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС), костимулирующих молекул АПК [34].

3. **Циклооксигеназа-2 (COX-2)** и синтезируемый с ее помощью **простагландин E2 (PGE2)** являются промоторами инвазивного опухолевого роста и ангиогенеза, обеспечивают устойчивость опухоли к действию иммунной системы посредством индукции Tregs, супрессии Th1-лимфоцитов [35].

4. **Белок MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein 1), или CCL2**, обладает ангиогенным эффектом, поддерживает популяции иммуносупрессивных лейкоцитов MDSC и Tregs [36].

5. **Fas-рецептор/Fas-лиганд (FasR/FasL)**. FasR (CD95, APO-1) является поверхностным рецептором, запускающим механизм апоптоза. Его секреция на опухолевых клетках стимулирует процессы воспаления и ангиогенеза, которые поддерживают и защищают опухолевый рост [37]. Кроме того, глиобластома экспрессирует Fas-лиганды, которые приводят к гибели инфильтрирующих опухоль иммунных клеток.

6. **Антиген-4 цитотоксических Т-лимфоцитов (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4; CTLA-4; CD152)** — аналог экспрессируемой на активированных Т-лимфоцитах молекулы CD28, которая в норме является рецептором к белкам B7 и обеспечивает сильный костимулирующий сигнал. Секретируемый регуляторными Т-лимфоцитами CTLA-4, обладающий более высокой аффинностью к B7, приводит к лимфоцитарной толерантности [38].

В ходе большого количества исследований было показано, что ряд иммунных клеток не только не осуществляют функцию иммунного надзора, но и, наоборот, способствуют опухолевой прогрессии [39–41]. Так, моноцитозависимые супрессорные клетки (MDSCs)

[42] и регуляторные Т-лимфоциты (Tregs) [43] экспрессируют значительное количество факторов, включая иммунорегуляторные CD25, CTLA-4, GITR, CRCR4 [44], которые могут подавлять активацию, пролиферацию и функцию Т-лимфоцитов.

Глиома успешно использует механизмы иммуносупрессии для дальнейшего роста в условиях недостаточной активности иммунных клеток периферической крови. О существенном влиянии опухоли на иммунитет свидетельствует наличие у больных с глиомами головного мозга значительных количественных и качественных нарушений в функционировании иммунной системы, преимущественно в клеточном звене, что приводит к развитию вторичного иммунодефицита [45, 46]:

— развитие общей лимфоцитопении (CD3⁺, CD19⁺);

— значительное снижение в Т-клетках уровней белков PLC γ 1 и p56lck, что приводит к функциональным нарушениям комплекса TCR/CD3, участвующего во взаимодействии с АПК;

— снижение пролиферативной активности и дисбаланс основных субпопуляций Т-клеток (преимущественно за счет снижения CD4⁺), снижение функциональной активности Т-лимфоцитов вследствие экспрессии глиомой B7-H1 [47];

— снижение количества CD4⁺ Т-лимфоцитов; угнетение их чувствительности к стимуляции митогенами (ConA, PHA, anti-CD3 mAb и др.) и антигенами приводит к снижению секреции провоспалительных цитокинов IL-2 и INF γ , необходимых для развития цитотоксичности, обусловленной лимфокинактированными киллерами (ЛАК) и цитотоксическими лимфоцитами [48];

— пониженная секреция IL-2 и рецепторов к нему, что приводит к снижению пролиферативной способности и функциональной активности CD8⁺ Т-лимфоцитов [49];

— нарушение гуморального иммунитета в виде снижения числа иммуноглобулинов, молекул системы комплемента и увеличения числа циркулирующих иммунных комплексов;

— значительное снижение показателей фагоцитарной активности макрофагов с образованием иммуносупрессивного фенотипа M2, угнетение активации макрофагов вследствие секреции опухолевыми клетками VEGF и IL-6 [47, 50, 51].

Активное подавление опухолью иммунной системы человека и малоэффективное ее функционирование на стадии срыва иммуносупрессивных механизмов приводят к быстрой опухолевой прогрессии. Поддержание эффективного функционирования иммунной системы и воздействие на факторы иммуносупрессии имеют высокий потенциал для сдерживания бесконтрольного опухолевого роста.

Иммунотерапия глиальных опухолей головного мозга

Иммунотерапию злокачественных опухолей головного мозга можно разделить на пассивную и активную (рис. 4). К видам пассивной иммунотерапии относят прямое введение моноклональных антител (mAbs) и

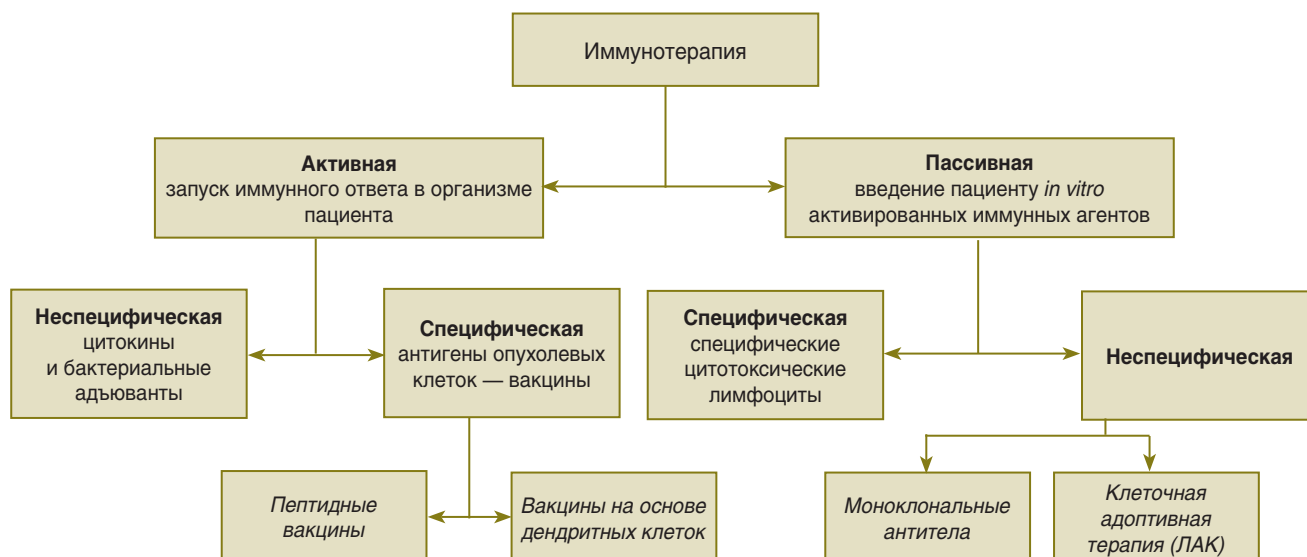


Рис. 4. Методы иммунотерапии злокачественных опухолей головного мозга

эффекторных иммунных клеток — лимфокинактированных киллеров или специфических цитотоксических лимфоцитов. Введение в организм моноклональных антител основано на их избирательном взаимодействии с опухолеассоциированными АГ. Направленное на усиление эффекторного звена противоопухолевого ответа введение ЛАК и цитотоксических лимфоцитов некоторые авторы выделяют в отдельную группу адоптивной иммунотерапии.

Активная иммунотерапия предполагает стимуляцию иммунокомпетентных клеток, которая осуществляется путем введения цитокинов, различных белков или дендритных клеток. В случае специфической активной иммунотерапии возможно использование двух типов вакцин: 1) на основе опухолеассоциированных АГ (пептидные вакцины); 2) на основе дендритных клеток.

Пассивная иммунотерапия. Этот метод заключается в активации *ex vivo* опухолевыми АГ элементов иммунной системы с получением опухолеспецифических антител или эффекторных клеток с последующим их введением в организм больного.

1. *Препараты моноклональных антител.*

Эффективность препаратов противоопухолевых моноклональных антител зависит от многих факторов, включая стабильность и доступность АГ, плотность их распределения в опухоли. В нормальных условиях функционирования ГЭБ не проницаем для антител, но эндотелиальные клетки новообразованных опухолевых сосудов соединены неплотно, давая возможность антителам проникать в опухоль. Успешное использование для визуализации опухолей меченных радиоактивным изотопом антител подтверждает это положение [52]. Также разработаны способы повышения проницаемости ГЭБ при помощи агонистов брадикинина, фокусированного ультразвука, озонированного физиологического раствора и др. [53–55].

На сегодняшний день существует большое количество

во потенциально эффективных препаратов антител. Так, например, возможно использование моноклональных антител BC-2 и 81C6 к адгезивному опухолевому белку тенаascinу, распространенному преимущественно в экстрацеллюлярном матриксе и периваскулярном пространстве глиом [56, 57]. Характерным признаком глиальных опухолей является гиперэкспрессия трансмембранного рецептора эпидермального фактора роста (Epidermal growth factor receptor, EGFR), связывание которого приводит к снижению васкуляризации, пролиферативной активности и апоптозу опухолевых клеток [58]. Существует целый ряд лекарственных препаратов моноклональных антител, действующих против EGFR. Например, *цетуксимаб* (Эрбитукс) является химерным моноклональным антителом к EGFR. Доклиническое исследование показало эффективность препарата, но во II фазе клинического исследования видимого терапевтического эффекта не выявлено [59]. Возможность применения моноклональных антител к EGFR *трастузумаба* (Герцептин) и *панитумаба* (Вертибикс) изучалась в основном на пациентах с раком молочных желез и прямой кишки, имеется лишь незначительное количество исследований эффективности этих антител в лечении глиом [60]. *Бевацизумаб* представляет собой рекомбинантные гуманизированные моноклональные антитела, которые избирательно связываются с биологически активным эндотелиальным сосудистым фактором роста (VEGF-A). Эффективность препарата в случае рецидива глиобластомы, которая выражалась в увеличении выживаемости пациентов и уменьшении частоты рецидива опухоли, была показана во II фазе клинических исследований [61–64]. Проведенный мета-анализ исследований по применению бевацизумаба в комбинации с иринотеканом показал увеличение безрецидивного периода, однако значимого роста выживаемости пациентов не выявлено [65].

Завершены доклинические исследования препара-

та антител к рецептору IL-2R α (CD25), экспрессирующему иммуносупрессивными Т-регуляторными клетками, — *даклизумаба* [66]; в настоящее время изучается возможность его применения в комплексной иммунотерапии глиом [67].

2. *Клеточная адоптивная иммунотерапия.* В естественном противоопухолевом иммунитете ключевая роль принадлежит его клеточному звену. Первый опыт использования клеточной пассивной иммунотерапии был связан с местным введением аутологичных ЛАК и рекомбинантного IL-2 в ложе опухоли до и после оперативного вмешательства [68–70]. Этот метод имеет ряд побочных явлений, включая отек головного мозга, повышение внутричерепного давления, головную боль, повышение температуры и угнетение сознания. В большинстве исследований повышения средней выживаемости пациентов не установлено. Ряд работ указывают на эффективность метода в лечении рецидивов глиобластомы [70, 71], однако стоит заметить, что ЛАК обладают неспецифической цитотоксичностью, т.е. действие этих клеток направлено не строго против опухолевых клеток.

Более перспективным выглядит использование *ex vivo* активированных опухолевыми АГ моноклеарных лимфоцитов периферической крови, чему способствуют 1) высокая специфичность распознавания Т-лимфоцитами опухолевых клеток; 2) возможность активированных Т-лимфоцитов легко проходить через ГЭБ. В исследовании G.E. Plautz с соавт. [72] пациентам с глиальными опухолями головного мозга вводили облученные аутологичные опухолевые клетки, смешанные с гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (GM-CSF), затем активированные Т-лимфоциты забирали из дренирующего лимфоузла и стимулировали бактериальным суперантигеном — энтеротоксином стафилококка А и в некоторых случаях — анти-CD3. У 2 из 10 пациентов наблюдался регресс рецидива глиобластомы по данным нейровизуализации.

Активная иммунотерапия

1. *Вакцины на основе дендритных клеток.* Несмотря на способность опухолевых клеток представлять АГ Т-лимфоцитам, вызываемый ими иммунный ответ очень слабый. По всей видимости, это связано с неэффективностью представления АГ и недостаточностью костимулирующих молекул. В организме человека имеются профессиональные антигенпрезентирующие клетки — дендритные клетки, которые обладают высокой способностью представлять чужеродные антигены Т-лимфоцитам, что обусловлено высокой экспрессией на них молекул МНС и МНС в сочетании с костимулирующими молекулами CD80 и CD86. Можно выделить две основные субпопуляции дендритных клеток — DC1 и DC2, различающиеся между собой по гистогенезу (миелоидные и лимфоидные), клеточному фенотипу (CD11c^{hi}-CD123^{lo} и CD11c-CD123^{hi} соответственно) и по влиянию на Т-лимфоциты (активация иммунной системы и индукция анергии соответственно). Дендритные клетки способны активировать покоящиеся и, что особенно важно, нативные Т-лимфоциты. В условиях куль-

туры миелоидные дендритные клетки получают двумя способами [73]: 1) из клеток костного мозга, обогащенных CD34⁺ стволовыми элементами, в присутствии GM-CSF и других цитокинов (чаще TNF- α , иногда IL-3, SCF, FLT3L или TGF β); 2) из моноцитов в присутствии GM-CSF и IL-4. К настоящему времени проведено большое количество доклинических исследований, в ходе которых были использованы разные способы нагрузки дендритных клеток различными АГ. Источниками опухолевых АГ могут быть: опухолевый лизат, содержащий инактивированные ультразвуком опухолевые клетки, синтетические или элюированные кислотой пептиды, опухолевые РНК и ДНК. В настоящее время метод использования дендритных клеток широко изучается в клинических исследованиях при различных опухолях, таких как меланома, карцинома почки, рак простаты.

Клиническое исследование использования нагруженных опухолевыми АГ дендритных клеток показало значительное увеличение выживаемости пациентов. Медиана выживаемости больных с глиобластомой в группе иммунотерапии с использованием данных клеток и контрольной группе составила 455 и 257 дней соответственно [74]. В этом исследовании поверхностные опухолевые АГ были элюированы кислотой и инкубированы с аутологичными дендритными клетками, полученными из моноцитов периферической крови в присутствии GM-CSF и IL-4. Следует отметить, что при использовании метода не обнаружено существенных побочных действий или аутоиммунной цитотоксичности. В другом клиническом исследовании дендритные клетки были инкубированы с аутологичными опухолевыми клетками в присутствии полиэтиленгликоля [75]. В результате был получен частичный ответ на лечение и также не обнаружено существенных побочных действий. В недавнем исследовании [76] у 77 пациентов с впервые диагностированной глиобластомой также не обнаружено побочных эффектов использования вакцины. Таким образом, применение вакцин на основе дендритных клеток можно считать условно безопасным. Однако оценить эффективность данного вида иммунотерапии достаточно сложно ввиду наличия различий в методиках применения вакцин и дизайна исследований. Открытыми остаются вопросы выбора оптимального источника дендритных клеток, методов индукции их созревания, методов нагрузки опухолевыми клетками, наиболее эффективных протоколов вакцинации, использования цитокинов в качестве адъювантов [77].

2. *Пептидные вакцины.* Применение их является очень перспективным видом иммунотерапии злокачественных новообразований головного мозга. АПК представляют эти АГ вместе с молекулой МНС, активируя цитотоксические лимфоциты. Проведено достаточное количество исследований эффективности пептидных вакцин против злокачественных новообразований различной локализации, результаты которых можно считать неудовлетворительными [78]. Однако последние исследования этих вакцин против злокачественных глиом показали обнадеживающие результаты.

Терапия больных с глиобластомой пептидной вак-

циной против белка EGFRvIII, мутантной формы EGFR, успешно прошла I фазу клинических исследований VICTORI, в ходе которой пациентам вводились дендритные клетки, нагруженные EGFRvIII, конъюгированными с KLH (Keyhole limpet hemocyanin) [79]. Медиана выживаемости пациентов, получавших вакцину, составила 22,8 мес, что существенно больше, чем у пациентов, получавших темозоломид (14,6 мес) [1]. Недавнее исследование II фазы, которое включало 21 пациента с EGFRvIII-позитивными глиобластомами, показало значительное увеличение медианы общей выживаемости (26 мес, $p=0,0013$) при использовании вакцинации против EGFRvIII по сравнению с контрольной группой, не получавшей иммунотерапию [80]. В ходе исследования пациенты после оперативного лечения, стандартных лучевой и химиотерапии темозоломидом ежемесячно получали вакцину против EGFRvIII до опухолевой прогрессии, среднее время до прогрессии опухоли составило 16,6 мес. В настоящее время планируется III фаза клинических исследований применения вакцин на основе белка EGFRvIII.

Так как иммуногенность опухолевых АГ может быть слабой, предпринимаются попытки использования для вакцинации набора из нескольких антигенов [81]. Применяя эту стратегию, можно получить сильный и быстрый ответ в виде развития обусловленной цитотоксическими лимфоцитами цитотоксичности [82]. Опубликованы данные I фазы клинических исследований полиэпитопной вакцины у 25 пациентов со злокачественными глиомами головного мозга [81]. Проводилась превакцинация с последующим забором мононуклеарных лимфоцитов периферической крови и плазмы пациентов с целью оценки ответа организма на вакцину. Были определены наиболее иммуногенные белки — лимфоцитоспецифический белок тирозинкиназы и мультрезистентный протеин 3. У 5 пациентов получен частичный ответ, средняя выживаемость составила 18 мес. В недавно проведенном клиническом исследовании вакцинации индивидуальным пептидным коктейлем также наблюдаются хорошие результаты лечения [83].

Иммунотерапия, направленная против опухолевых стволовых клеток

В настоящее время активно обсуждается новая концепция ключевой роли опухолевых стволовых клеток в патогенезе глиальных опухолей головного мозга. Согласно данной теории в опухолевой ткани существует пул стволовых клеток, которые отвечают за опухолевую пролиферацию, высокую инвазивность, устойчивость к лучевой и химиотерапии, миграцию опухолевых клеток на значительное расстояние от первичного очага, при этом другая часть опухолевых клеток в этих процессах активно не участвует и играет вспомогательную роль [84–86]. Опухолевые стволовые клетки экспрессируют на своей поверхности ряд характерных молекул CD133, Nestin, Sox2, CD15, Musashi, которые используют для их идентификации [87]. Наличие в опухолевых стволовых клетках генов

множественной лекарственной устойчивости (MDR-генов) [88] позволяет им не отвечать на действие химиотерапевтических препаратов и восстанавливать опухолевый рост [89]. По-видимому, опухолевые стволовые клетки также более резистентны и к лучевой терапии [90]. Одним из ключевых факторов резистентности к лучевой и химиотерапии является сосудистая сеть опухоли, так как вследствие нарушения ГЭБ в опухолевой ткани и повышения интерстициального давления транспорт лекарственных веществ к опухолевым клеткам затруднен [91, 92]. В то же время лучевая терапия повышает экспрессию фактора VEGF в опухолевых клетках [93], являющегося основным фактором роста кровеносных сосудов опухоли, что может способствовать опухолевому росту и, возможно, усилению резистентности к химиотерапии. Таким образом, учитывая преимущественное действие лучевой и химиотерапии на «вспомогательные» опухолевые клетки, необходимо проводить дальнейший поиск эффективных методов воздействия на опухоль, направленных на опухолевые стволовые клетки.

Возможным вариантом таргетного воздействия на опухолевые стволовые клетки является иммунотерапия. SOX6 — специфичный АГ для глиомных стволовых клеток и глиомы в целом [94]. Были обнаружены производные SOX6 — антигены лейкоцитов A2 и A24, с помощью которых стимуляция лимфоцитов человека вызывала специфический Т-клеточный ответ [95]. Другим направленным против опухолевых стволовых клеток методом иммунотерапии является использование вакцин на основе дендритных клеток с опухолевыми стволовыми клетками, выделенных из опухолевого материала. Недавние клинические испытания на моделях глиальных опухолей у мышей и крыс показали потенциал таких вакцин [96, 97]. Вероятно, именно опухолевые стволовые клетки должны быть основной мишенью при разработке таргетных методов лечения злокачественных опухолей головного мозга.

Заключение

Иммунотерапия злокачественных опухолей головного мозга является перспективным методом лечения, в основе которого лежит активация и усиление собственных защитных сил организма. Действие иммунной системы отличает высокая специфичность, способность контролировать антигенный состав клеток в организме в целом, отсутствие в широких пределах выраженного токсического действия в отношении здоровых клеток. Эффективность метода ограничена определенной иммунологической обособленностью ЦНС; способностью опухоли угнетать механизмы иммунной защиты; созданием опухоли сосудистой и стромальной оболочек; наличием опухолевых стволовых клеток, обладающих высоким мутационным потенциалом. На данный момент имеющиеся результаты иммунотерапии глиальных опухолей головного мозга далеки от совершенства. Тем не менее дальнейшие исследования в области изучения механизмов резистентности глиом к различным методам лечения, новые данные о природе опу-

холой и взаимоотношениях в системе «организм—опухоль» должны стать платформой для разработки новых стратегий в иммунотерапии злокачественных новообразований головного мозга, что позволяет с оптимизмом смотреть на возможность улучшения результатов лечения пациентов со злокачественными опухолями головного мозга.

Финансирование исследования и конфликт интересов. Исследование не финансировалось какими-либо источниками, и конфликты интересов, связанные с данным исследованием, отсутствуют.

Литература/References

1. Stupp R., Mason W.P., van den Bent M.J., et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352(10): 987–996, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa043330>.
2. Олюшин В.Е. Глиальные опухоли головного мозга: краткий обзор литературы и протокол лечения больных. *Нейрохирургия* 2005; 4: 41–47. Olyushin V.E. Cerebral gliomas: a brief review and a treatment protocol. *Neyrokhirurgiya* 2005; 4: 41–47.
3. Коновалов А.Н., Потапов А.А., Олюшин В.Е. и др. Стандарты, опции и рекомендации в лечении первичных опухолей ЦНС (2013–2014). М; 2013. Konovalov A.N., Potapov A.A., Olyushin V.E., et al. *Standarty, opsii i rekomendatsii v lechenii pervichnykh opukholey TsNS (2013–2014)* [Standards, options and recommendations in the management of primary CNS tumors (2013–2014)]. Moscow; 2013.
4. Dillman R.O. Cancer immunotherapy. *Cancer Biother Radiopharm* 2011; 26(1): 1–64, <http://dx.doi.org/10.1089/cbr.2010.0902>.
5. Kuramoto T. Detection of MAGE-1 tumor antigen in brain tumor. *Kurume Med J* 1997; 44(1): 43–51, <http://dx.doi.org/10.2739/kurumemedj.44.43>.
6. Ueda R., Yoshida K., Kawakami Y., et al. Expression of a transcriptional factor, SOX6, in human gliomas. *Brain Tumor Pathol* 2004; 21(1): 35–38.
7. Chi D.D., Merchant R.E., Rand R., et al. Molecular detection of tumor-associated antigens shared by human cutaneous melanomas and gliomas. *Am J Pathol* 1997; 150(6): 2143–2152.
8. Liu G., Ying H., Zeng G., et al. HER-2, gp100, and MAGE-1 are expressed in human glioblastoma and recognized by cytotoxic T cells. *Cancer Res* 2004; 64(14): 4980–4986, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-3504>.
9. Heimberger A.B., Crotty L.E., Archer G.E., et al. Epidermal growth factor receptor VIII peptide vaccination is efficacious against established intracerebral tumors. *Clin Cancer Res* 2003; 9(11): 4247–4254.
10. Okano F., Storkus W.J., Chambers W.H., et al. Identification of a novel HLA-A*0201-restricted, cytotoxic T lymphocyte epitope in a human glioma-associated antigen, interleukin 13 receptor alpha2 chain. *Clin Cancer Res* 2002; 8(9): 2851–2855.
11. Hatano M., Eguchi J., Tatsumi T., et al. EphA2 as a glioma-associated antigen: a novel target for glioma vaccines. *Neoplasia* 2005; 7(8): 717–722.
12. Jin M., Komohara Y., Shichijo S., et al. Identification of EphB6 variant-derived epitope peptides recognized by cytotoxic T-lymphocytes from HLA-A24+ malignant glioma patients. *Oncol Rep* 2008; 19(5): 1277–1283, <http://dx.doi.org/10.3892/or.19.5.1277>.
13. Liu G., Yu J.S., Zeng G., et al. AIM-2: a novel tumor antigen

is expressed and presented by human glioma cells. *J Immunother* 2004; 27(3): 220–226.

14. Hashiba T., Izumoto S., Kagawa N., et al. Expression of WT1 protein and correlation with cellular proliferation in glial tumors. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 2007; 47(4): 165–170; discussion 170, <http://dx.doi.org/10.2176/nmc.47.165>.

15. Nonaka Y., Tsuda N., Shichijo S., et al. Recognition of ADP-ribosylation factor 4-like by HLA-A2-restricted and tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes from patients with brain tumors. *Tissue Antigens* 2002; 60(4): 319–327, <http://dx.doi.org/10.1034/j.1399-0039.2002.600406.x>.

16. Murayama K., Kobayashi T., Imaizumi T., et al. Expression of the SART3 tumor-rejection antigen in brain tumors and induction of cytotoxic T lymphocytes by its peptides. *J Immunother* 2000; 23(5): 511–518.

17. Schmitz M., Wehner R., Stevanovic S., et al. Identification of a naturally processed T cell epitope derived from the glioma-associated protein SOX11. *Cancer Lett* 2007; 245(1–2): 331–336, <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2006.01.014>.

18. Harada M., Ishihara Y., Itoh K., Yamanaka R. Kinesin superfamily protein-derived peptides with the ability to induce glioma-reactive cytotoxic T lymphocytes in human leukocyte antigen-A24+ glioma patients. *Oncol Rep* 2007; 17(3): 629–636, <http://dx.doi.org/10.3892/or.17.3.629>.

19. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 329–360, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803>.

20. Muldoon L.L., Alvarez J.I., Begley D.J., et al. Immunologic privilege in the central nervous system and the blood-brain barrier. *J Cereb Blood Flow Metab* 2013; 33(1): 13–21, <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2012.153>.

21. Чехонин В.П., Баклашев В.П., Юсубалиева Г.М. и др. Фундаментальные и прикладные аспекты изучения гематоэнцефалического барьера. *Вестник Российской Академии медицинских наук* 2012; 8: 66–78. Chekhonin V.P., Baklaushv V.P., Yusubaliev G.M., et al. Fundamental and application aspects of blood-brain barrier study. *Vestnik Rossiyskoy Akademii meditsinskikh nauk* 2012; 8: 66–78.

22. Bechmann I., Galea I., Perry V.H. What is the blood-brain barrier (not)? *Trends Immunol* 2007; 28(1): 5–11, <http://dx.doi.org/10.1016/j.it.2006.11.007>.

23. Tambur A.R. Transplantation immunology and the central nervous system. *Neurol Res* 2004; 26(3): 243–255, <http://dx.doi.org/10.1179/016164104225013932>.

24. Anirban G. Immune connection in glioma: fiction, fact and option, glioma, in glioma — exploring its biology and practical relevance. In: *Glioma — exploring its biology and practical relevance*. Ed. by Ghosh D.A. InTech; 2011; p. 305–324.

25. Hickey W.F. Leukocyte traffic in the central nervous system: the participants and their roles. *Semin Immunol* 1999; 11(2): 125–137, <http://dx.doi.org/10.1006/smim.1999.0168>.

26. Flügel A., Schwaiger F.W., Neumann H., et al. Neuronal FasL induces cell death of encephalitogenic T lymphocytes. *Brain Pathol* 2000; 10(3): 353–364.

27. Yang L., Han S.J., Kaur G., et al. The role of microglia in central nervous system immunity and glioma immunology. *J Clin Neurosci* 2010; 17(1): 6–10, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2009.05.006>.

28. Karman J., Ling C., Sandor M., et al. Dendritic cells in the initiation of immune responses against central nervous system-derived antigens. *Immunol Lett* 2004; 92(1–2): 107–115, <http://dx.doi.org/10.1016/j.imlet.2003.10.017>.

29. Goldmann J.E., Kwizinski C., Brandt C., et al. T cells traffic

- from brain to cervical lymph nodes via the cribroid plate and the nasal mucosa. *J Leukoc Biol* 2006; 80(4): 797–801, <http://dx.doi.org/10.1189/jlb.0306176>.
30. Ransohoff R.M., Kivisakk P., Kidd G. Three or more routes for leukocyte migration into the central nervous system. *Nat Rev Immunol* 2003; 3(7): 569–581, <http://dx.doi.org/10.1038/nri1130>.
31. Calzascia T., Masson F., Di Bernardino-Besson W., et al. Homing phenotypes of tumor-specific CD8 T cells are predetermined at the tumor site by crosspresenting APCs. *Immunity* 2005; 22(2): 175–184, <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2004.12.008>.
32. Okada H., Kohanbash G., Zhu X., et al. Immunotherapeutic approaches for glioma. *Crit Rev Immunol* 2009; 29(1): 1–42, <http://dx.doi.org/10.1615/CritRevImmunol.v29.i1.10>.
33. Roy L.O., Poirier M.B., Fortin D. Transforming growth factor-beta and its implication in the malignancy of gliomas. *Target Oncol* 2014; <http://dx.doi.org/10.1007/s11523-014-0308-y>. [Epub ahead of print].
34. Moore K.W., de Waal Malefyt R., Coffman R.L., et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001; 19: 683–765, <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>.
35. Jiang J., Dingledine R. Role of prostaglandin receptor EP2 in the regulations of cancer cell proliferation, invasion, and inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2013; 344(2): 360–367, <http://dx.doi.org/10.1124/jpet.112.200444>.
36. Zhang J., Sarkar S., Cua R., et al. A dialog between glioma and microglia that promotes tumor invasiveness through the CCL₂/CCR₂/interleukin-6 axis. *Carcinogenesis* 2012; 33(2): 312–319, <http://dx.doi.org/10.1093/carcin/bgr289>.
37. Shinohara H., Yagita H., Ikawa Y., Oyaizu N. Fas drives cell cycle progression in glioma cells via extracellular signal-regulated kinase activation. *Cancer Res* 2000; 60(6): 1766–1772.
38. Salama A.K., Hodi F.S. Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4. *Clin Cancer Res* 2011; 17(14): 4622–4628, <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-10-2232>.
39. Gabrilovich D.I., Ostrand-Rosenberg S., Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nat Rev Immunol* 2012; 12(4): 253–268. <http://dx.doi.org/10.1038/nri3175>.
40. Sica A., Schioppa T., Mantovani A., et al., Tumour-associated macrophages are a distinct M2 polarised population promoting tumour progression: potential targets of anti-cancer therapy. *Eur J Cancer* 2006; 42(6): 717–727, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2006.01.003>.
41. Ohkura N., Kitagawa Y., Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells. *Immunity* 2013; 38(3): 414–423, <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.03.002>.
42. Mirghorbani M., Van Gool S., Rezaei N. Myeloid-derived suppressor cells in glioma. *Expert Rev Neurother* 2013; 13(12): 1395–1406, <http://dx.doi.org/10.1586/14737175.2013.857603>.
43. Ooi Y.C., Tran P., Ung N., et al. The role of regulatory T-cells in glioma immunology. *Clin Neurol Neurosurg* 2014; 119: 125–132, <http://dx.doi.org/10.1016/j.clineuro.2013.12.004>.
44. Grauer O.M., Nierkens S., Bennink E., et al. CD4+FoxP3+ regulatory T cells gradually accumulate in gliomas during tumor growth and efficiently suppress anti-glioma immune responses in vivo. *Int J Cancer* 2007; 121(1): 95–105, <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.22607>.
45. Gousias K., Markou M., Arzoglou V., et al. Frequent abnormalities of the immune system in gliomas and correlation with the WHO grading system of malignancy. *J Neuroimmunol* 2010; 226(1–2): 136–142, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneuroim.2010.05.027>.
46. Усатов С.А., Коваленко А.П., Заллум Х. и др. Состояние иммунного статуса у больных с глиомами головного мозга. Украинський медичний альманах 2010; 13(1): 158–161. Usatov S.A., Kovalenko A.P., Zallum Kh., et al. The immune status condition in patients with cerebral gliomas. *Ukrains'kiy medichniy al'manakh* 2010; 13(1): 158–161.
47. Brantley E.C., Benveniste E.N. Signal transducer and activator of transcription-3: a molecular hub for signaling pathways in gliomas. *Mol Cancer Res* 2008; 6(5): 675–684, <http://dx.doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-07-2180>.
48. Dix A.R., Brooks W.H., Roszman T.L., et al. Immune defects observed in patients with primary malignant brain tumors. *J Neuroimmunol* 1999; 100(1–2): 216–232, [http://dx.doi.org/10.1016/S0165-5728\(99\)00203-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0165-5728(99)00203-9).
49. Giometto B., Bozza F., Faresin F., et al. Immune infiltrates and cytokines in gliomas. *Acta Neurochir (Wien)* 1996; 138(1): 50–56.
50. Lang R., Patel D., Morris J.J., et al. Shaping gene expression in activated and resting primary macrophages by IL-10. *J Immunol* 2002; 169(5): 2253–2263, <http://dx.doi.org/10.4049/jimmunol.169.5.2253>.
51. Mancino A., Lawrence T. Nuclear factor-kappaB and tumor-associated macrophages. *Clin Cancer Res* 2010; 16(3): 784–789, <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-1015>.
52. Day E.D., Lassiter S., Woodhall B., et al. The localization of radioantibodies in human brain tumors. I. Preliminary exploration. *Cancer Res* 1965; 25(6): 773–778.
53. Bidros D.S., Vogelbaum M.A. Novel drug delivery strategies in neuro-oncology. *Neurotherapeutics* 2009; 6(3): 539–546, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nurt.2009.04.004>.
54. Liu H.L., Hua M.Y., Chen P.Y., et al. Blood-brain barrier disruption with focused ultrasound enhances delivery of chemotherapeutic drugs for glioblastoma treatment. *Radiology* 2010; 255(2): 415–425, <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.10090699>.
55. Медяник И.А., Мухина И.В., Яковлева Е.И. и др. Способ временного повышения проницаемости гематоэнцефалического барьера. Патент РФ No.2391107. 2010. Medyanik I.A., Mukhina I.V., Yakovleva E.I., et al. *Sposob vremennogo povysheniya pronitsaemosti gematoentsefalicheskogo bar'era* [The method of temporary increase of blood-brain barrier penetration]. Patent RF №2391107. 2010.
56. Bigner D.D., Brown M., Coleman R.E., et al. Phase I studies of treatment of malignant gliomas and neoplastic meningitis with 131I-radiolabeled monoclonal antibodies anti-tenascin 81C6 and anti-chondroitin proteoglycan sulfate Me1-14 F (ab')₂ — a preliminary report. *J Neurooncol* 1995; 24(1): 109–122.
57. Riva P., Arista A., Franceschi G., et al. Local treatment of malignant gliomas by direct infusion of specific monoclonal antibodies labeled with 131I: comparison of the results obtained in recurrent and newly diagnosed tumors. *Cancer Res* 1995; 55(23 Suppl): 5952s–5956s.
58. Eller J.L., Longo S.L., Hicklin D.J., Canute G.W. Activity of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225 against glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 2002; 51(4): 1005–1013; discussion 1013–1014.
59. Neyns B., Sadones J., Joosens E., et al. Stratified phase II trial of cetuximab in patients with recurrent high-grade glioma. *Ann Oncol* 2009; 20(9): 1596–1603, <http://dx.doi.org/10.1093/annonc/mdp032>.
60. Berezowska S., Schlegel J. Targeting ErbB receptors in high-grade glioma. *Curr Pharm Des* 2011; 17(23): 2468–2487, <http://dx.doi.org/10.2174/138161211797249233>.
61. Vredenburgh J.J., Desjardins A., Herndon J.E. 2nd, et al.

Phase II trial of bevacizumab and irinotecan in recurrent malignant glioma. *Clin Cancer Res* 2007; 13(4): 1253–1259, <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-2309>.

62. Friedman H.S., Prados M.D., Wen P.Y., et al. Bevacizumab alone and in combination with irinotecan in recurrent glioblastoma. *J Clin Oncol* 2009; 27(28): 4733–4740, <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2008.19.8721>.

63. Cecchi M., Vaiani M., Ceroti M., et al. A retrospective observational analysis to evaluate the off-label use of bevacizumab alone or with irinotecan in recurrent glioblastoma. *Int J Clin Pharm* 2013; 35(3): 483–487, <http://dx.doi.org/10.1007/s11096-013-9765-0>.

64. Chamberlain M.C., Johnston S.K. Salvage therapy with single agent bevacizumab for recurrent glioblastoma. *J Neurooncol* 2010; 96(2): 259–269, <http://dx.doi.org/10.1007/s11060-009-9957-6>.

65. Zhang G., Huang S., Wang Z. A meta-analysis of bevacizumab alone and in combination with irinotecan in the treatment of patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J Clin Neurosci* 2012; 19(12): 1636–1640, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2011.12.028>.

66. Curtin J.F., Candolfi M., Fakhouri T.M., et al. Treg depletion inhibits efficacy of cancer immunotherapy: implications for clinical trials. *PLoS One* 2008; 3(4): e1983, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0001983>.

67. Mitchell D.A., Cui X., Schmittling R.J., et al. Monoclonal antibody blockade of IL-2 receptor alpha during lymphopenia selectively depletes regulatory T cells in mice and humans. *Blood* 2011; 118(11): 3003–3012, <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-02-334565>.

68. Blancher A., Roubinet F., Grancher A.S., et al. Local immunotherapy of recurrent glioblastoma multiforme by intracerebral perfusion of interleukin-2 and LAK cells. *Eur Cytokine Netw* 1993; 4(5): 331–341.

69. Boiardi A., Silvani A., Ruffini P.A., et al. Loco-regional immunotherapy with recombinant interleukin-2 and adherent lymphokine-activated killer cells (A-LAK) in recurrent glioblastoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 1994; 39(3): 193–197.

70. Hayes R.L., Koslow M., Hiesiger E.M., et al. Improved long term survival after intracavitary interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells for adults with recurrent malignant glioma. *Cancer* 1995; 76(5): 840–852.

71. Dillman R.O., Duma C.M., Ellis R.A., et al. Intralesional lymphokine-activated killer cells as adjuvant therapy for primary glioblastoma. *J Immunother* 2009; 32(9): 914–919, <http://dx.doi.org/10.1097/CJI.0b013e3181b2910f>.

72. Plautz G.E., Barnett G.H., Miller D.W., et al. Systemic T cell adoptive immunotherapy of malignant gliomas. *J Neurosurg* 1998; 89(1): 42–51, <http://dx.doi.org/10.3171/jns.1998.89.1.0042>.

73. Saied A., Pillarisetty V.G., Katz S.C. Immunotherapy for solid tumors — a review for surgeons. *J Surg Res* 2014; 187(2): 525–535, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jss.2013.12.018>.

74. Yu J.S., Wheeler C.J., Zeltzer P.M., et al. Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration. *Cancer Res* 2001; 61(3): 842–847.

75. Kikuchi T., Akasaki Y., Irie M., et al. Results of a phase I clinical trial of vaccination of glioma patients with fusions of dendritic and glioma cells. *Cancer Immunol Immunother* 2001; 50(7): 337–344.

76. Ardon H., Van Gool S.W., Verschuere T., et al. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the standard of care treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma:

results of the HGG-2006 phase I/II trial. *Cancer Immunol Immunother* 2012; 61(11): 2033–2044, <http://dx.doi.org/10.1007/s00262-012-1261-1>.

77. Козлов В.А., Черных Е.Р. Современные проблемы иммунотерапии в онкологии. Бюллетень СО РАМН 2004; 2(112): 13–19. Kozlov V.A., Chernykh E.R. Current immune therapy problems in oncology. *Byulleten' SO RAMN* 2004; 2(112): 13–19.

78. Rosenberg S.A., Yang J.C., Restifo N.P. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004; 10(9): 909–15, <http://dx.doi.org/10.1038/nm1100>.

79. Sampson J.H., Archer G.E., Mitchell D.A., et al. Tumor-specific immunotherapy targeting the EGFRvIII mutation in patients with malignant glioma. *Semin Immunol* 2008; 20(5): 267–275, <http://dx.doi.org/10.1016/j.smim.2008.04.001>.

80. Sampson J.H., Heimberger A.B., Archer G.E., et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Clin Oncol* 2010; 28(31): 4722–4729, <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2010.28.6963>.

81. Yajima N., Yamanaka R., Mine T., et al. Immunologic evaluation of personalized peptide vaccination for patients with advanced malignant glioma. *Clin Cancer Res* 2005; 11(16): 5900–5911, <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-0559>.

82. Mine T., Sato Y., Noguchi M., et al. Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccinated with peptides based on pre-existing, peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res* 2004; 10(3): 929–937, <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-1117-3>.

83. Terasaki M., Shibui S., Narita Y., et al. Phase I trial of a personalized peptide vaccine for patients positive for human leukocyte antigen — A24 with recurrent or progressive glioblastoma multiforme. *J Clin Oncol* 2011; 29(3): 337–44, <http://dx.doi.org/10.1200/JCO.2010.29.7499>.

84. Sampetean O., Saya H. Characteristics of glioma stem cells. *Brain Tumor Pathol* 2013; 30(4): 209–214, <http://dx.doi.org/10.1007/s10014-013-0141-5>.

85. Heywood R.M., Marcus H.J., Ryan D.J., et al. A review of the role of stem cells in the development and treatment of glioma. *Acta Neurochir (Wien)* 2012; 154(6): 951–969; discussion 969, <http://dx.doi.org/10.1007/s00701-012-1338-9>.

86. Qiu B., Zhang D., Tao J., et al. Human brain glioma stem cells are more invasive than their differentiated progeny cells in vitro. *J Clin Neurosci* 2012; 19(1): 130–134, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocn.2011.06.014>.

87. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D., et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004; 432(7015): 396–401, <http://dx.doi.org/10.1038/nature03128>.

88. Dean M., Fojo T., Bates S. Tumour stem cells and drug resistance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5(4): 275–284, <http://dx.doi.org/10.1038/nrc1590>.

89. Persano L., Rampazzo E., Basso G., et al. Glioblastoma cancer stem cells: role of the microenvironment and therapeutic targeting. *Biochem Pharmacol* 2013; 85(5): 612–622, <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2012.10.001>.

90. Bao S., Wu Q., McLendon R.E., et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006; 444(7120): 756–760, <http://dx.doi.org/10.1038/nature05236>.

91. Huang Z., Cheng L., Guryanova O.A., et al. Cancer stem cells in glioblastoma — molecular signaling and therapeutic targeting. *Protein Cell* 2010; 1(7): 638–655, <http://dx.doi.org/10.1007/s13238-010-0078-y>.

92. Tate M.C., Aghi M.K. Biology of angiogenesis and invasion in glioma. *Neurotherapeutics* 2009; 6(3): 447–457, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nurt.2009.04.001>.
93. Hovinga K.E., Stalpers L.J., van Bree C., et al. Radiation-enhanced vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion in glioblastoma multiforme cell lines — a clue to radioresistance? *J Neurooncol* 2005; 74(2): 99–103, <http://dx.doi.org/10.1007/s11060-004-4204-7>.
94. Ueda R., Iizuka Y., Yoshida K., et al. Identification of a human glioma antigen, SOX6, recognized by patients' sera. *Oncogene* 2004; 23(7): 1420–1427, <http://dx.doi.org/10.1038/sj.onc.1207252>.
95. Ueda R., Ohkusu-Tsukada K., Fusaki N., et al. Identification of HLA-A2- and A24-restricted T-cell epitopes derived from SOX6 expressed in glioma stem cells for immunotherapy. *Int J Cancer* 2010; 126(4): 919–929, <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.24851>.
96. Pellegatta S., Poliani P.L., Corno D., et al. Neurospheres enriched in cancer stem-like cells are highly effective in eliciting a dendritic cell-mediated immune response against malignant gliomas. *Cancer Res* 2006; 66(21): 10247–10252, <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-2048>.
97. Xu Q., Liu G., Yuan X., et al. Antigen-specific T-cell response from dendritic cell vaccination using cancer stem-like cell-associated antigens. *Stem Cells* 2009; 27(8): 1734–1740, <http://dx.doi.org/10.1002/stem.102>.