

ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ СОВРЕМЕННОЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ

©2006 г. Е. С. СЕВЕРИН, А. В. РОДИНА

*Всероссийский научный центр молекулярной диагностики
и лечения, Москва и Московский научно-исследовательский
институт медицинской экологии, Москва*

I. Введение. II. Избирательная доставка цитостатиков и анти-
смысловых олигонуклеотидов в опухолевые клетки за счет рецеп-
тор-опосредованного эндоцитоза. III. Наносомальные системы
доставки лекарственных веществ. IV. Ингибирование опухолевого
ангиогенеза. V. Разработка систем избирательной активации иммун-
ного ответа. VI. Заключение.

I. ВВЕДЕНИЕ

На современном этапе развития медицины приоритетными задачами практической онкологии являются поиск и разработка принципиально новых методических подходов, а также усовершенствование традиционных способов терапии для повышения эффективности лечения злокачественных новообразований. Достижения последних лет в области молекулярной и клеточной биологии, молекулярной генетики и иммунологии определили основные направления исследований по созданию новых противоопухолевых препаратов.

Неотъемлемой частью химиотерапии онкологических заболеваний в настоящее время продолжает оставаться применение

Принятые сокращения: МЛУ – множественная лекарственная устойчивость, АФП – альфа-фетопроtein, ДР – доксорубин, АСОН – антисмысловые олигонуклеотиды, ДК – дендритные клетки, ОСА – опухолеспецифические антигены, ЦТЛ – цитотоксические лимфоциты, ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор.

Адрес для корреспонденции: e.severin@mtu-net.ru

Работа выполнена при поддержке МНТЦ (гранты #ВП-2440, #2899).

широкого спектра противоопухолевых антибиотиков. Комбинации лекарственных препаратов, различных по структуре и механизмам действия, используемые при интенсивной химиотерапии, оказывают значительное токсическое действие на организм в целом и приводят к развитию множественной лекарственной устойчивости – МЛУ (MDR-multidrug resistance). Механизмы биохимических процессов, лежащих в основе МЛУ, весьма разнообразны – от ограничения накопления лекарства внутри опухолевой клетки до ингибирования программы ее гибели [1]. К таким относятся: повышение экспрессии генов трансмембранных транспортных белков, выводящих противоопухолевые препараты из клетки (наиболее важным среди них является Pgp (P-glicoprotein) (рис. 1)); активация ферментов системы глутатиона, инактивирующих цитотоксические препараты; изменения генов и белков, контролирующих процессы апоптоза опухолевой клетки (p53, семейство Bcl-2, IAP и др.). Вещества различной химической структуры: блокаторы кальциевых каналов, ингибиторы кальмодулина, стероиды, антибиотики, иммуносупрессоры, транквилизаторы способны в той или иной степени преодолевать МЛУ [2, 3]. Однако клинические испытания таких модуляторов из-за их высокой токсичности не привели к желаемым результатам [4, 5]. Поэтому проблема повышения эффективности действия противоопухолевых препаратов в отношении резистентных к химиотерапии опухолевых клеток актуальна и в настоящее время.

В последние десятилетия активно разрабатываются новые способы противоопухолевой терапии, которые бы обладали специфической направленностью, позволяя избирательно убивать клетки опухоли или могли бы преодолевать МЛУ, обусловленную функционированием Pgp. Одной из перспективных разработок в этой области может быть система направленного транспорта. В качестве вектора при этом используются некоторые онкофетальные белки и факторы роста, рецепторы которых представляют собой опухолеспецифические белки, имеющиеся преимущественно на поверхности раковых клеток. В основе механизма действия конъюгатов цитотоксических препаратов с белковыми векторами лежит перенос токсического вещества в опухолевую клетку в процессе рецептор-опосредованного эндоцитоза, индуцируемого связыванием рецептора с его физиологическим лигандом. Значительный уровень экспрессии рецепторов в опухолевых клетках и высокая скорость эндоцитоза должны обеспечивать высокую избирательность доставки противоопухолевых препаратов.

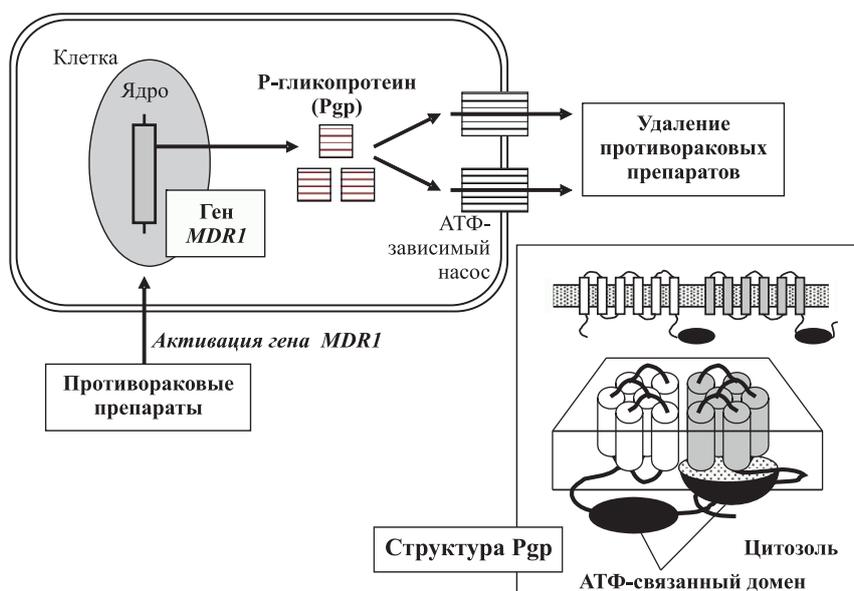


Рис. 1. Механизм возникновения устойчивости опухолевых клеток к действию противоопухолевых препаратов.

В качестве носителя, в комбинации с которым увеличивается продолжительность циркулирования противоопухолевого антибиотика в крови и за счет этого повышается эндоцитоз препарата опухолевыми клетками, могут быть использованы полимерные наночастицы. Их применение для направленной доставки лекарств в опухолевые клетки позволило в ряде случаев достичь положительных результатов [6, 7].

Одной из причин прогрессии опухолевого роста является прорастание опухолевой ткани кровеносными капиллярами, необходимыми для жизнеобеспечения опухоли [8]. В связи с этим изучение особенностей опухолевого ангиогенеза, а также поиск подходов к целенаправленному воздействию на этот процесс представляют значительный интерес для предупреждения развития и лечения злокачественных новообразований.

Другой причиной, в результате которой возникающая опухоль не элиминируется, а прогрессирует, является нарушение развития противоопухолевого иммунного ответа у больных. Благодаря открытию достаточно обширной панели опухолеспецифических антигенов (ОСА), распознаваемых цитотоксическими Т-лимфоцитами

(ЦТЛ) и идентификации генов, кодирующих многие из известных ОСА, спектр возможностей иммунотерапии онкозаболеваний значительно расширился. Одним из перспективных направлений в индукции специфического клеточного противоопухолевого иммунитета в настоящее время является разработка методологии, основанной на использовании дендритных клеток (ДК), обладающих уникальной способностью представлять ОСА наивным Т-клеткам и вызывать их дифференцировку в антигенспецифические ЦТЛ [9–11]. Появление новых биотехнологических методов получения ДК человека в достаточных количествах позволило использовать ДК, нагруженные ОСА, в качестве противоопухолевых вакцин для онкологических больных. Продемонстрированная экспериментально чувствительность опухолевых клеток, устойчивых к противоопухолевым препаратам в результате гиперэкспрессии гена МЛУ *MDR1*, к эффекторным механизмам иммунной системы позволила предположить, что ДК, нагруженные ОСА, могут быть использованы для иммунотерапии опухолей, высокорезистентных к химиотерапии [12–14].

Вместе с тем, в настоящее время не существует общепринятых стандартов приготовления препаратов ДК и режимов вакцинации. Изучение биологии и особенностей регуляции активности, создание новых методов получения большего количества функционально активных ДК; выбор и приготовление ОСА или лизата опухолевых клеток, а также поиск эффективных способов введения антигена в ДК продолжают оставаться областью масштабных исследований и дискуссий.

II. ИЗБИРАТЕЛЬНАЯ ДОСТАВКА ЦИТОСТАТИКОВ И АНТИСМЫСЛОВЫХ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ В ОПУХОЛЕВЫЕ КЛЕТКИ ЗА СЧЕТ РЕЦЕПТОР-ОПОСРЕДОВАННОГО ЭНДОЦИТОЗА

В основе процесса направленного транспорта лекарственных препаратов лежит перенос токсического вещества, ковалентно или нековалентно связанного с векторной молекулой, в клетку-мишень в результате рецептор-опосредованного эндоцитоза. Рецептор-опосредованный эндоцитоз представляет собой сложный механизм, используемый клетками для выборочной интернализации белков цитоплазматической мембраны. Большинство этих белков являются рецепторами на клеточной поверхности для внеклеточных лигандов. Исследование механизмов рецептор-опосредованного эндоцитоза

позволило создать системы направленной доставки лекарственных веществ в опухолевые клетки.

К настоящему времени показано, что препараты направленного транспорта, представляющие собой конъюгаты белка-вектора с доксорубицином (ДР), обладали цитотоксической активностью в отношении некоторых клеточных линий с фенотипом МЛУ [15–17]. В отличие от свободного ДР, проникающего в клетку в результате свободной диффузии, перенос в клетки ДР в составе конъюгата с векторной молекулой, осуществляемый по механизму рецептор-опосредованного эндоцитоза, не активирует Рgp-опосредованный транспорт [16, 17]. В результате увеличивается накопление препарата клеткой и, соответственно, возрастает цитотоксическая активность ДР [15]. В то же время, используемые в качестве белковых векторов моноклональные антитела к раковоспецифическим антигенам, осложняют применение конъюгатов подобного рода возможностью развития иммунных реакций [18].

В качестве молекулярного вектора для доставки препаратов в опухолевые клетки могут быть использованы некоторые факторы роста, гормоны и онкофетальные белки, в частности, альфа-фетопротеин (АФП). Преимущество их использования заключается в отсутствии иммуногенных свойств, высокой аффинности к рецепторам и высоком уровне экспрессии рецепторов на опухолевых клетках [19, 20]. Так, показано, что рецепторы АФП экспрессируются на поверхности подавляющего большинства опухолевых клеток независимо от типа опухоли, в то время как у нормальных клеток организма они отсутствуют, или присутствуют в незначительных количествах [21].

Вышеперечисленные экспериментальные данные по уровню экспрессии рецепторов АФП и высокой скорости эндоцитоза позволили сделать предположение о высокой избирательности доставки конъюгатов АФП с цитотоксическими препаратами в опухолевые клетки (рис. 2).

Были созданы и изучены конъюгаты АФП с различными химиотерапевтическими агентами: фталоцианинами, хлоринами, алкалоидами (винкристином и винбластином) и препаратами антрациклового ряда (карминомицином и доксорубицином). Результаты исследований показали, что использование АФП в качестве вектора позволило увеличить цитотоксическую активность в отношении линий опухолевых клеток большинства исследуемых препаратов [22–27, 29, 30, 33, 34]. Высокой противоопухолевой активностью обладали конъюгаты АФП с ДР, а их цитотоксическая активность в отношении резистентных к ДР опухолевых клеток во много раз превышала этот

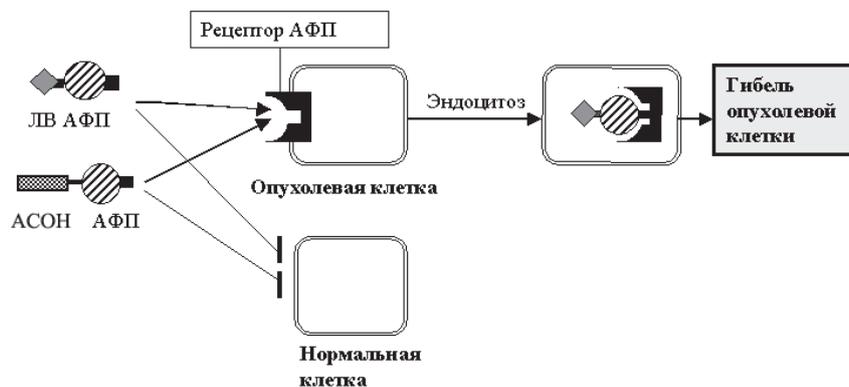


Рис. 2. Противоопухолевая активность конъюгатов альфа-фетопротейна (АФП) с лекарственными веществами (ЛВ) и антисмысловыми олигонуклеотидами (АСОН).

показатель для свободного ДР [22–24]. Исследования, проведенные на моделях перевиваемых солидных опухолей мышей, показали, что конъюгаты АФП с цитотоксическими препаратами обладают более выраженным ингибирующим действием в отношении опухолей и, по сравнению со свободными антибиотиками, значительно удлиняют срок жизни экспериментальных животных [22, 23]. Положительные результаты получены также при использовании конъюгатов эпидермального фактора роста (ЭФР) и рецепторсвязывающего фрагмента ЭФР с противоопухолевыми препаратами [27–36].

В качестве альтернативного подхода могут быть рассмотрены результаты разработки препаратов направленного действия в виде конъюгатов АФП с антисмысловыми олигонуклеотидами (АСОН) к мРНК генов, играющих ключевую роль в регуляции клеточной пролиферации и апоптоза. Экспериментальные исследования по использованию АСОН для ингибирования трансляции мРНК генов, гиперэкспрессия которых приводит к опухолевой трансформации, продемонстрировали их высокую специфичность в отношении своих мишеней [37, 38]. В отличие от большинства химиотерапевтических препаратов, АСОН легко подвергаются биодegradации и удалению из организма. Для предотвращения их расщепления эндо- и экзонуклеазами применяют модифицированные олигонуклеотиды, из которых наиболее перспективными признаны фосфоротиоатные производные. В то же время существует ряд проблем, связанных с

недостаточной эффективностью их доставки в опухолевые клетки.

Было показано, что конъюгат АФП с АСОН к мРНК антиапоптоического гена bcl-2 индуцировал апоптоз и последующую гибель опухолевых клеток [39]. При этом АСОН в свободном состоянии не оказывали подобного действия даже в концентрациях на порядок выше. Полученные результаты позволяют рассматривать направленный транспорт АСОН при помощи белковых векторов как один из наиболее реальных способов избирательной доставки АСОН в опухолевые клетки.

Таким образом, применение систем направленного транспорта может повысить эффективность противоопухолевой терапии за счет преодоления резистентности опухолевых клеток и снижения побочных эффектов, вызванных химиопрепаратами. Рассмотренные подходы пока широко используются только в исследовательских целях, однако перспективы их применения в клинической практике представляются весьма обнадеживающими.

III. НАНОСОМАЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Использование коллоидных систем доставки также способствует повышению эффективности химиотерапии за счет оптимизации биораспределения лекарственных веществ. Концепция пассивного транспорта коллоидных препаратов в опухоль основана на ряде особенностей опухолевой ткани, таких как повышенная проницаемость капилляров и нарушение лимфодренажа. Эти свойства способствуют проникновению и накоплению в опухоли коллоидных частиц – наночастиц или липосом – и, соответственно, включенных в них лекарств.

Для повышения эффективности пассивного транспорта в опухоль наночастицы модифицируют амфифильными поверхностно-активными веществами. Такая модификация препятствует захвату частиц макрофагами печени и селезенки, то есть способствует их распределению вне ретикулоэндотелиальной системы [40]. Одним из перспективных направлений этой технологии является применение модифицированных наночастиц для транспорта лекарственных веществ через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Применение наночастиц может оказаться особенно актуально для химиотерапии опухолей мозга, поскольку ГЭБ препятствует поступлению многих лекарств в мозг в терапевтических концентрациях, а локальное (интрацеребральное) введение часто не дает желаемых результатов

ввиду ограниченной диффузии лекарства из места введения в ткань мозга [41].

Так, включение доксорубина (ДР) в биodeградируемые и биосовместимые наночастицы из полибутилцианоакрилата, модифицированные полисорбатом 80 (Tween® 80), обеспечивает его доставку в мозг, поскольку, являясь субстратом Pgp, ДР в свободном виде не проникает через ГЭБ [42]. Изучение химиотерапевтической активности этой лекарственной формы на ортотопической модели опухоли головного мозга – глиобластоме 101/8 крыс – показало ее высокую эффективность: продолжительность жизни животных, по сравнению с контролем, увеличилась на 84%. При этом у 23% животных наблюдалась длительная ремиссия (> 6 месяцев) [43].

Механизм доставки лекарственных веществ в мозг с помощью наночастиц окончательно не установлен. Согласно одной из гипотез, полибутилцианоакрилатные наночастицы, модифицированные полисорбатом 80, проникают в эндотелиальные клетки капилляров мозга путем рецептор-опосредованного эндоцитоза [44]. Эта гипотеза основана на ряде экспериментальных данных, свидетельствующих о том, что модификация поверхности полибутилцианоакрилатных наночастиц полисорбатом 80 приводит к адсорбции на их поверхности циркулирующего в плазме аполипопротеина Е, рецепторы к которому экспрессированы в мембранах эндотелиальных клеток капилляров мозга. Можно полагать, что адсорбированный аполипопротеин Е взаимодействует с рецепторами и, таким образом, способствует захвату частиц эндотелиальными клетками. В клетке наночастицы деградируют и выделяют лекарственное вещество, которое затем проникает в ткань мозга (рис. 3).

Таким образом, наночастицы являются эффективным средством доставки лекарственных веществ в мозг. Это направление открывает новые интересные возможности для неинвазивного лечения различных патологий центральной нервной системы.

Вполне вероятно, что со временем системы направленного транспорта противоопухолевых препаратов будут сочетать основные достоинства коллоидных носителей и преимущества специфических векторов, обеспечивающих доставку лекарств к заданным молекулярным мишеням.

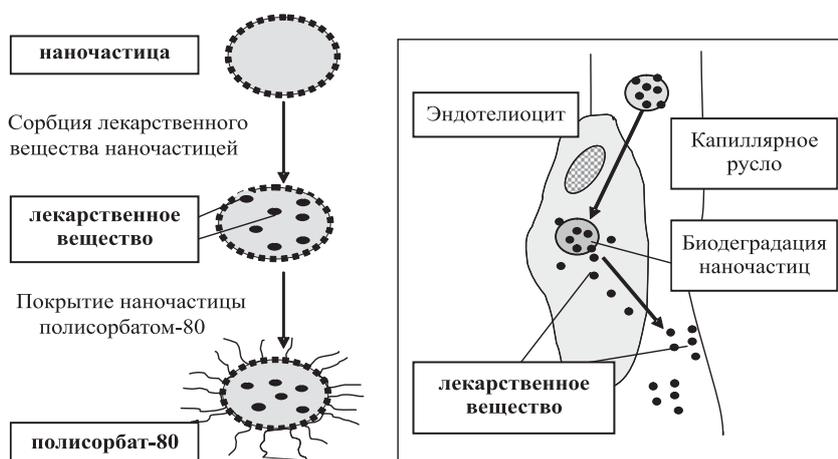


Рис. 3. Создание систем направленного транспорта лекарственных веществ через гематоэнцефалический барьер на основе наночастиц.

IV. ИНГИБИРОВАНИЕ ОПУХОЛЕВОГО АНГИОГЕНЕЗА

Ангиогенез играет важную роль в процессе развития и метастазирования злокачественных новообразований, поэтому разработка подходов, направленных на ингибирование различных этапов ангиогенеза является перспективной стратегией подавления опухолевого роста [45–47].

Изменение соотношения уровня проангиогенных и антиангиогенных факторов в малигнизированных тканях приводит к индукции ангиогенеза из ближайших кровеносных сосудов (табл. 1) [48]. При увеличении экспрессии факторов роста (например, фактора роста эндотелия сосудов VEGF, основного фактора роста фибробластов bFGF, трансформирующего фактора роста- α ТФР α) и других проангиогенных митогенов (интерлейкин-8, фактор некроза опухоли- α и др.) эндотелиальные клетки сосудов, находящиеся в покое, могут вступать в клеточный цикл, пролиферировать, мигрировать и образовывать новые кровеносные сосуды [49, 50]. Патологический рост новых сосудов обуславливает дальнейшую прогрессию солидных опухолей и их метастазирование.

Интенсивность ангиогенеза зависит не только от уровня экспрессии проангиогенных модуляторов, но и от уровня экспрессии инги-

Таблица 1
**Биомолекулы, принимающие участие в регуляции
опухолевого ангиогенеза**

Стимуляторы ангиогенеза	Ингибиторы ангиогенеза
Фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF)	Тромбоспондин-1 (TSP-1)
Фактор роста фибробластов: aFGF, bFGF	Тканевые ингибиторы MMP
Тромбоцитарный фактор роста (PDGF)	Ангиостатин
Ангиопозтин-2 (Ang-2) + VEGF	Эндостатин
Ангиопозтин-1 (Ang-1)	Антитромбин III
Трансформирующий фактор роста (TGF- β , TGF- α)	С-Х-С-хемокины (PF4, IP-10, MIG, GRO- β)
Фактор некроза опухоли (TNF- α)	PEDF
Интерлейкин-8 (IL-8)	Интерлейкин-12 (IL-12)
Тромбоцитарный фактор роста эндотелия (PD-ECGF)	Интерфероны (ИФН α , β , γ)
Плацентарный фактор роста (PIGF)	Вазостатин
Фактор роста гепатоцитов (HGF)	Канстатин
Интерлейкин-3 (IL-3)	Тумстатин
Ангиогенин	Интерлейкин-18 (IL-18)
Пролиферин	Ингибитор роста сосудистого эндотелия (VEGI)
Плейотрофин	Секретируемый кислый белок, обогащенный цистеином (SPARC)
Фоллистатин	2-метоксиэстрадиол
Мидкин	Фрагменты протромбина 1и 2
Лептин	Пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF)
Колонiestимулирующий фактор гранулоцитов(G-CSF)	

биторов этого процесса. Среди специфических ингибиторов, действующих на пролиферирующие эндотелиальные клетки сосудов, одними из самых мощных являются полипептиды ангиостатин [51–53] и эндостатин [54–56], образующиеся в первичных опухолевых очагах путем ограниченного протеолиза физиологических белков и сдерживающие рост регионарных метастазов [57].

Противоопухолевая активность *in vivo* продемонстрирована для всех известных эндогенных ингибиторов ангиогенеза. Так, у экспериментальных животных эндостатин эффективно подавлял ангиогенез, рост различных первичных опухолей и их метастазов [58–60]. При этом не наблюдалось каких-либо побочных эффектов и токсичности препарата, а также развития к нему лекарственной устойчивости [61, 62]. Применение ангиостатина в опытах на мышцах с привитыми опухолями человека приводило к полной регрессии злокачественных тканей [63]. Другие ингибиторы ангиогенеза –

плейотропные цитокины интерфероны α и β – были обнаружены первыми среди эндогенных веществ, обладающих антиангиогенным потенциалом [64]. Показано, что интерфероны α и β проявляют *in vivo* активность в отношении эпидермоидных карцином, а также подавляют ангиогенез у голых мышей с опухолями [65]. При обработке раковых клеток *in vitro* малыми дозами интерферона- α продукция интерлейкина-8 резко снижается [66].

Ингибиторы ангиогенеза отличаются большим структурным и функциональным разнообразием, хотя преимущественно они являются полипептидами [67]. Отсутствие какого-либо общего рецептора или внутриклеточной мишени антиангиогенных соединений свидетельствует о значительной сложности процессов индукции и подавления ангиогенеза, и о различии сигнальных путей, регулируемых белками-ингибиторами ангиогенеза [68].

Несмотря на то, что окончательное признание концепция антиангиогенной противоопухолевой терапии получила лишь в начале 90-х гг. прошлого века, более 40 антиангиогенных препаратов (например, ангиостатин, тетрагидрокортизол, TNP-470 и др.) находятся в настоящее время на различных стадиях клинических испытаний (табл. 2). В 2004 г. в США для клинического применения при терапии метастатического рака толстого кишечника был официально одобрен авастин (*bevacizumab*) – гуманизированные моноклональные антитела к VEGF [69]. Предложено различать 3 главных типа ингибиторов ангиогенеза [70]. I тип блокирует один проангиогенный фактор. Так, авастин нейтрализует VEGF, который продуцируют приблизительно 60% человеческих опухолей [71]. Ингибиторы ангиогенеза II типа блокируют активность двух или трех ангиогенных белков. Например, иресса подавляет продукцию раковыми клетками VEGF, bFGF и TGF α , что ведет к значительному снижению уровня васкуляризации опухолевой массы [72]. Препараты III типа характеризуются наличием широкого спектра мишеней антиангиогенного воздействия. Представителями этой группы являются TNP-470, синтетический аналог фумагиллина [73], и эндостатин [74].

Таким образом, антиангиогенные агенты, интерес к которым неуклонно растет и у исследователей канцерогенеза, и у клинических онкологов, отличаются значительным разнообразием механизмов действия и модулирующих эффектов на опухолевые ткани.

Ранее считалось, что развитие лейкемии и других гемобластозов не зависит от ангиогенеза, и что в этих случаях раковые клетки не стимулируют ангиогенез [75]. Однако около 10 лет назад было обнаружено, что интенсивность ангиогенеза в костном мозге прямо

Таблица 2
Основные категории ингибиторов ангиогенеза

Препарат	Класс препарата	Мишень действия
Блокирование деградации ВКМ		
BMS-275291, COL-3, Неовастат	Ингибиторы MMP	MMP
WX-UK, WK293	Ингибиторы урокиназы/плазмина	Урокиназная система
Ингибирование пролиферации и выживания эндотелиальных клеток		
Авастин	Рекомбинантные гуманизированные МоАТ к VEGF	Сигнальные пути, опосредуемые VEGF
Ангиозим GEM220	Рибозим для VEGF-мРНК Анти смысловой олигонуклеотид к мРНК VEGF	То же "_"
ZD6474, РТК787, CP547632	Ингибиторы тирозинкиназных рецепторов	"_"
Gleeves	То же	"_"
Эндостатин, ангиостатин, 2-метоксистеррадиол	Эндогенные ингибиторы	Плазминоген, коллаген XVIII
ZD6126, CA4P, NGR пептиды	Лиганды рецепторов опухолевого эндотелия	Аминопептидаза N, тубулин
Витаксин	Рекомбинантные гуманизированные МоАТ к α_v , β_3 -интегрину	Интегрины
Модуляторы передачи сигнала от рецепторов к ядру клетки		
Herceptin	МоАТ к HER2	Сигнальные пути, опосредуемые рецептором HER2/neu
Iressa, OSI774	Ингибиторы тирозинкиназных рецепторов	Сигнальные пути, опосредуемые рецепторами семейства EGFR
SCH66336, R15777	Ингибиторы фарнезилтрансферазы	Ras
Неспецифический или неизвестный механизм действия		
Карбоксиамидитриазол (CAI)	Ингибитор Ca^{2+} -зависимых ионных каналов	Ca^{2+} -потоки
Celecoxib, Rofecoxib	Ингибитор COX-2	COX-2
INGN-201, ONYX-15	Генная терапия, основанная на трансфекции опухолевых или эндотелиальных клеток геном p53	p53
Tirapazamin, AQ4N	Агенты, вызывающие гипоксию	Клетки в условиях гипоксии
PS-341	Ингибитор протеасом	Ядерный фактор - каппа В (NF κ B)
Талидомид	Ингибитор экспрессии молекул клеточной адгезии	Интегрины, E-селектины, VCAM-1

связана с прогрессией множественной миеломы, и что в биоптатах костного мозга детей с острой лимфобластической лейкемией обнаруживаются признаки усиленного ангиогенеза [76, 77]. На животных моделях было продемонстрировано, что ангиостатин и эндостатин подавляли течение лейкемии [78]. Получены также обнадеживающие результаты применения талидомида в терапии множественной миеломы. При этом у пациентов наблюдалось заметное снижение VEGF и bFGF в плазме крови по сравнению со значениями, зафиксированными до терапии [79]. Кроме того, изменение этих уровней прямо коррелировало с эффективностью терапии [80]. Это позволяет надеяться, что антиангиогенные препараты окажутся эффективными и в терапии злокачественных заболеваний системы крови.

Несмотря на значительные успехи использования антиангиогенных агентов в терапии онкологических заболеваний, необходимо отметить, что после прекращения такой терапии возможны рецидивы. Из-за генетической неустойчивости опухолевых клеток и их быстрой селекции возможно возникновение резистентности к действию факторов, вызывающих их гибель при деструкции опухолевой кровеносной сети [81, 82]. Однако можно предположить, что использование антиангиогенных препаратов в комбинированной терапии, совместно с противоопухолевыми препаратами направленного действия, позволит значительно повысить эффективность терапии злокачественных новообразований.

V. РАЗРАБОТКА СИСТЕМ ИЗБИРАТЕЛЬНОЙ АКТИВАЦИИ ИММУННОГО ОТВЕТА

В последние годы отмечен значительный рост интереса к дендритным клеткам (ДК). Эти исследования сейчас находятся на той стадии, когда завершается формирование нового терапевтического направления с использованием ДК для лечения рака и/или предупреждения появления метастазов [83, 84].

Несмотря на то, что первоначально ДК были охарактеризованы Паулем Лангергансом еще в начале 1970-х годов, интерес к ним, как к мощным стимуляторам первичного иммунного ответа, проявился гораздо позже [85, 86]. Уникальность ДК заключается в способности усиливать иммунный ответ, представляя наивным Т-клеткам неизвестные антигены и их стимулирующий эффект на Т-лимфоциты во много раз превосходит действие других антигенпредставляющих клеток (макрофагов и В-клеток). [87, 88]. Поэтому перспектива использования ДК человека для избирательной активации иммунного ответа

на низко иммуногенные антигены (в частности, опухолевые) является на сегодняшний день наиболее привлекательной в практическом отношении.

ДК присутствуют в очень небольшом количестве во всех тканях организма в незрелом, недифференцированном состоянии [89]. При наличии сигналов воспаления они быстро поглощают чужеродные антигены и дифференцируются. Зрелые клетки мигрируют во вторичные лимфоидные органы и там инициируют иммунный ответ.

Морфология, фенотип (экспрессия молекулярных маркеров) и функции ДК зависят от стадии их активации и дифференцировки. Свойства ДК неоднократно обобщались в многочисленных обзорах [90–98] и монографии [99].

Показано, что у ДК, выделенных от онкологических больных, низкая антигенпредставляющая способность из-за снижения экспрессии ко-стимулирующих поверхностных молекул CD80 и CD86 [100, 101]. Кроме того, созревание ДК в опухоли может блокировать VEGF, секретируемый многими карциномами. Этот фактор нарушает также дифференцировку гемопоэтических предшественников в ДК [102]. *In vitro* показано, что интерлейкин-6 и макрофагальный колониестимулирующий фактор (М-КСФ), секретируемые опухолевыми клетками, подавляют экспрессию рецептора гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), блокируя дифференцировку CD34⁺ предшественников в ДК [103, 104]. Многие спорадические опухоли секретируют ИЛ-10, который препятствует созреванию ДК и подавляет их антигенпредставляющую активность для Т-лимфоцитов [105]. Подавление активности ДК в спорадических опухолях может быть одним из факторов иммуносупрессии. Поэтому были разработаны специальные методы приготовления препаратов функционально активных ДК.

ДК могут быть получены из CD34⁺-незрелых гемопоэтических клеток пуповинной крови и из костного мозга при культивировании *in vitro* в присутствии таких факторов, как ГМ-КСФ и ФНО α [106–111], причем ГМ-КСФ может быть заменен на ИЛ-3 [109]. Необходимое количество функционально активных ДК получают также из фракции мононуклеарных лейкоцитов периферической крови после культивирования в присутствии ГМ-КСФ и ИЛ-4 [112–114]. Этот способ считается наиболее удобным для быстрого получения ДК в терапевтических целях.

Разработано несколько подходов введения антигенов в ДК. 1) Инкубация с пептидами ОСА [115–120]. Коинкубация с ДНК [121] или РНК

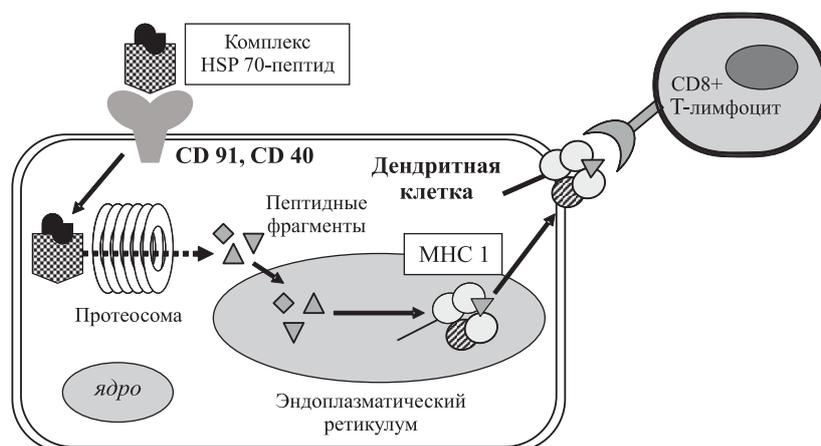


Рис. 4. HSP-опосредованная презентация антигенных пептидов с главным комплексом гистосовместимости (MHC I) для узнавания цитотоксическими Т-лимфоцитами.

[122], кодирующими нужный антиген. 3) Инкубация с опухолевыми лизатами [123]. 4) Слияние ДК с опухолевыми клетками [124]. 5) Трансфекция ДК с использованием вирусных векторов, содержащих генетическую информацию об интересующем гене OSA [125]. Однако, на сегодняшний день не существует единого оптимального доступного способа введения OSA в ДК. Эффективность некоторых из них изучалась нами экспериментально [126–128]. Важно отметить, что ЦТЛ, индуцированные препаратами ДК, полученными разными методами, были активны как в отношении чувствительных к химиотерапии клеток, так и в отношении высокорезистентных опухолевых клеток, экспрессирующих ген МЛУ *MDR1* [128]. Это позволяет предположить, что ДК онкологических больных, нагруженные OSA, могут быть использованы для иммунотерапии опухолей, высокорезистентных к химиотерапии.

Для повышения иммуногенности противоопухолевых вакцин на основе ДК, в настоящее время разрабатываются технологии, основанные на использовании белков теплового шока. HSP (heat shock proteins) связываются с антигенными полипептидами, способствуя их проникновению в антигенпредставляющую клетку и образованию комплекса пептид-HLA I класса, что является необходимым этапом развития специфических Т-клеточных иммунных реакций [129, 130] (рис. 4). В ряде экспериментов показано, что воздействие HSP

индуцирует созревание ДК, приводящее к повышению экспрессии молекул ко-стимуляции (CD80, CD86), адгезии (CD54), МНС II класса (major histocompatibility complex), а также к увеличению синтеза провоспалительных цитокинов (IL-12, IL-1 β , TNF- α , GM-CSF). Вследствие этого повышается эффективность взаимодействия ДК с «наивными» лимфоцитами и индуцируется развитие специфического иммунного ответа [131–133]. Продемонстрированная на модели *in vitro* эффективность препаратов на основе ДК, нагруженных синтетическим пептидами в комбинации с HSP70 [134, 135], позволяет надеяться на высокий терапевтический эффект при лечении онкологических заболеваний.

В клинических исследованиях первые обнадеживающие результаты терапии ДК-вакцинами получены Нестле и сотр. при использовании ДК, нагруженных антигенами в виде меланомных пептидов или лизатов опухолевых клеток для лечения пациентов с прогрессирующей меланомой [136]. К настоящему времени изучена клиническая эффективность вакцин на основе ДК в отношении более 20 распространенных форм рака [137]. Наиболее масштабные исследования проведены на четырех основных типах опухолей: меланоме [138–146], карциноме толстого кишечника [147], множественной миеломе [148, 149] и раке предстательной железы [150–155]. Был зарегистрирован иммунологический и клинический ответ, при этом важно отметить, что в исследованиях участвовали больные с распространенной формой заболевания после того, как традиционные методы терапии дали отрицательные результаты.

Аутологические опухолеспецифические ЦТЛ онкологических больных, полученные с помощью ДК, нагруженных ОСА, можно клонировать и получать линии высокоактивных опухолеспецифических ЦТЛ, которые могут быть использованы для адаптивной иммунотерапии опухолей.

Все вышеперечисленные данные подтверждают важную роль ДК в индукции противоопухолевого иммунного ответа и позволяют разработать принципиально новые методы иммунотерапии и усовершенствовать способы химиотерапии, что крайне важно для практической онкологии.

VI. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несмотря на безусловные достижения современной онкологии, проблема повышения эффективности методов воздействия на злокачественные новообразования, по-прежнему остается крайне важной.

Очевидно, что одним из наиболее перспективных направлений по созданию лекарственных средств нового поколения является разработка систем направленного транспорта противоопухолевых препаратов. Проведенные нами исследования показали, что за счет адресной доставки химиопрепаратов к клеткам-мишеням возможно повышение селективности их действия и преодоление резистентности опухолевых клеток. Эти обстоятельства имеют важное значение и позволяют предполагать высокую терапевтическую эффективность препаратов направленного действия при их использовании в клинической практике.

Также приоритетными на сегодняшний день считаются терапевтические подходы, направленные на подавление опухолевого ангиогенеза. Стратегия разработки и внедрения в сферу клинической онкологии антиангиогенных препаратов, оказывающих специфическое действие на различные этапы ангиогенеза, только развивается, однако уже имеющиеся данные свидетельствуют о больших перспективах в этой области.

Кроме того, благодаря новым достижениям в области клеточной биологии и иммунологии, можно ожидать значительного прогресса в лечении онкологических заболеваний. Наибольший практический интерес представляет использование ДК человека для индукции специфического клеточного противоопухолевого иммунитета. Эффективность противоопухолевых вакцин на основе иммуногенных ДК продемонстрирована при разных формах рака. Важной задачей дальнейших исследований является стандартизация препаратов, разработка схем вакцинации, а также получение новых доказательств эффективности стратегии ее применения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ставровская А.А. (2000) Биохимия, **65**, 112–126.
2. Frenkel, G.D., Caffrey, P.B. (2001) *Curr. Pharm. Design*, **7**, 1595–1614.
3. Ojima, I., Bounaud, P.-Y., Oderda, C.F. (1998) *Exp. Opin. Ther. Patents*, **8**, 1587–1598.
4. Germann, U.A., Harding, M.W. (1995) *J. Natl. Cancer Inst.*, **87**, 1573–1575.
5. Mickley, L.A., Bates, S.E., Richert N.D. (1989) *J. Biol. Chem.*, **264**, 18031–18040.
6. Wright, J.J., Illum, L. (1992) Ed. Donbrow M., CRC Press Boca Raton London, 281–297.
7. Couvreur, P., Kante, B., Lenaerts, V., et al. (1980) *J. Pharm. Sci.*, **69**, 199–202.
8. Hanahan, D., Folkman, J. (1996) *Cell*, **86** (3), 353–364.
9. Holtl, L., Rieser, C., Papesh, C., Ramoner, R., Herold, M., Klocker, H., Radmayr, C., Stenzl, A., Bartsch, G., Thurner, M. (1999) *J. Urol.*, **161**, 777–782.

10. *Steinman, R.M., Dhodapkar, M.* (2001) *Int. J. Cancer*, **94**, 459–473.
11. *Reid, C.D.L.* (2001) *British J. Haematol*, **112**, 874–887.
12. *Geromin, D., Bourge, J.F., Soulie, A., et al.* (2004) *J. Immunol.*, **172**, 3604–3611.
13. *Scheper, R.J., Dalton, W.S., Grogan, T.M.* (1991). *Int. J. Cancer*, **48**, 562.
14. *Shtil, A.A., Turner, J.G., Durfee, J.* (1999). *Blood*, **93**, 1831–1837.
15. *Hatano, T., Ohkawa, K., Matsuda, M.* (1993) *Tumor Biol*, **14**, 288–294.
16. *Ohkawa, K., Hatano, T., Tsukada, Y., et al.* (1993) *Br. J. Cancer*, **67**: 274–278.
17. *Ohkawa, K., Hatano, T., Yamada, K., et al.* (1993) *Cancer Res*. **53**, 4238–4242.
18. *Embleton, M.J.* (1987) *J. Cancer*, **55**, 227–231.
19. *Moro, R., Tamaoki, T., Wegmann, T.G., et al.* (1993). *Tumor Biol*. **14**, 116–130.
20. *Severin, S.E., Kanevski, V.Y., Sologub, V.K., et al.* (1994). Abstracts of XXII Meeting of the ISOBM, Groningen, 120.
21. *Ницветов М.Б., Москалева Е.Ю., Посыпанова Г.А. и др.* (2005) *Иммунология*, **26**, 2, 122–125.
22. *Severin, S.E., Moskaleva, E.Yu., Shmyrev, I.I., et al.* (1995) *Biochem. Molec. Biol. Intern.*, **37**, 385–397.
23. *Severin, S.E., Moskaleva, E.Yu., Posypanova, G.A* (1996) *Tumor Targ.* **2**, 299–306.
24. *Moskaleva, E.Yu., Posypanova, G.A., Shmyrev, I.I., et al.* (1997) *Cell Biology International*. **21**(12). 793–799.
25. *Северин С.Е., Родина А.В., Клименко П.А. и др.* (1997) *Акушерство и гинекология*, **6**, 45 – 47.
26. *Москалева Е.Ю., Родина А.В., Шмырев И.И. и др.* (1998) *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*, **2**, 20–25.
27. *Северин С.Е., Гуманов С.Г., Луценко С.В. и др.* (1998) *Вестник акушерства и гинекологии*. **2**, 15–18.
28. *Луценко С.В., Финакова Г.В., Фельдман Н.Б. и др.* (1998) *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии* **1**, 21–25.
29. *Луценко С.В., Финакова Г.В., Фельдман Н.Б. и др.* (1998) *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. **1**, 34–37.
30. *Луценко С.В., Фельдман Н.Б., Финакова Г.В. и др* (1999) *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. **1**, 40–44.
31. *Фельдман Н.Б., Луценко С.В., Финакова Г.В. и др.* (1999) *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. **1**, 44–48.
32. *Lutsenko, S.V., Feldman, N.B., Fina-kova, G.V., et al.* (1999) *Tumor Biol.*, **2**, 218–224.
33. *Савицкий С. Г., Гукасова Н.В., Гуманов С.Г. и др.* (2000). *Биохимия*. **65**, 859–864.
34. *Гуманов С.Г., Гукасова Н.В., Родина А.В. и др.* (2000) *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. **2**, 17–22.
35. *Луценко С.В., Киселев С.М., Гукасова Н.В. и др.* (2000) *Биомедицинские технологии*. **13**, 23–27
36. *Lutsenko, S.V., Feldman, N.B., Fina-kova, G.V., et al.* (2000) *Tumor Biol.*, **21**, 367–374.
37. *Coppelli, F.M., Grandis, J.R.* (2005) *Curr. Pharm. Design*, **11**, 2825–2840.
38. *Cleave, M.E., Monia, B.P.* (2005) *Nat. Rev.*, **5**, 468–479.
39. *Посыпанова Г.А., Сладкова Л.В., Москалева Е.Ю. и др.* (2002) *Тезисы докладов и сообщений, Цитология, С.-Петербург*, **44**(9), 900–901.
40. *Moghimi, S.M., Hunter, A.C., Murray, J.C.* (2005). *FASEB J.*, **19**, 311–330.
41. *Begley, D.J.* (2004). *Pharmacol. Ther.*, **104**, 29–45.

42. Gulyaev, A.E., Gelperina, S.E., Skidan, I.N., Antropov, A.S., Kivman, G.Y., Kreuter, J. (1999). *Pharm. Res.*, **16**, 1564–1569.
43. Steiniger, S.C.J., Kreuter, J., Khalansky, A.S., Skidan, I.N., Bobruskin, A.I., Smirnova, Z.S., Severin, S.E., Uhi, R., Kock, M., Geiger, K.D., Gelperina, S.E. (2004). *Int. J. Cancer*, **109**, 159–167.
44. Kreuter, J., Ramge, P., Petrov, V., Hamm, S., Gelperina, S.E., Engelhardt, B., Alyautdin, R., von Briesen, H., Begley, D.J. (2003). *Pharm. Res.*, **20**, 409–416.
45. Киселёв С.М., Луценко С.В., Северин С.Е., Северин Е.С. (2003). *Биохимия*, **68** (5), 611–631.
46. Nyberg, P., Xie, L., Kalluri, R. (2005). *Cancer Res.*, **65** (10), 3967–3979.
47. Folkman, J. (2003). *Cancer Biol. Ther.*, **2** (4, suppl. 1), S127–S133.
48. Carmeliet, P., Jain, R.K. (2000). *Nature*, **407**, 249–257.
49. Folkman, J. (2003). *Curr. Mol. Med.*, **3**, 643–651.
50. Colorado, P.C., Torre, A., Kamphaus, G., Maeshima, Y., Hopfer, H., Takahashi, K., Volk, R., Zamborsky, E.D., Herman, S., Sarkar, P.K., Ericksen, M.B., Dhanabal, M., Simons, M., Post, M., Kufe, D.W., Weichselbaum, R.R., Sukhatme, V.P., Kalluri, R. (2000). *Cancer Res.*, **60** (9), 2520–2526.
51. O'Reilly, M.S., Holmgren, L., Shing, Y., Chen, C., Rosenthal, R.A., Moses, M., Lane, W.S., Cao, Y., Sage, E.H., Folkman, J. (1994). *Cell*, **79**, 315–328.
52. Eriksson, K., Magnusson, P., Dixelius, J., Claesson-Welsh, L., Cross, M.J. (2003). *FEBS Lett.*, **536**, 19–24.
53. Sacco, M.G., Cianiatti, M., Cato, E.M., Frattini, A., Chiesa, G., Ceruti, R., Adorni, F., Zecca, L., Scanziani, E., Vezzoni, P. (2000). *Cancer Res.*, **60**, 2660–2665.
54. O'Reilly, M.S., Boehm, T., Shing, Y., Fukai, N., Vasios, G., Lane, W.S., Flynn, E., Birkhead, J.R., Olsen, B.R., Folkman, J. (1997). *Cell*, **88** (2), 277–285.
55. Dhanabal, M., Volk, R., Ramchandran, R., Simons, M., Sukhatme, V.P. (1999). *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **258**, 345–352.
56. Ding, Y.H., Javaherian, K., Lo, K.M., Chopra, R., Boehm, T., Lanciotti, J., Harris, B.A., Li, Y., Shapiro, R., Hohenester, E., Timpl, R., Folkman, J., Wiley, D.C. (1998). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95** (18), 10443–10448.
57. Hanai, J., Dhanabal, M., Karumanchi, S.A., Albanese, C., Waterman, M., Chan, B., Ramchandran, R., Pestell, R., Sukhatme, V.P. (2002). *J. Biol. Chem.*, **277** (19), 16464–16469.
58. Tjin Tham Sjin, R.M., Satchi-Fainaro, R., Birsner, A.E., Sadagopa, Ramaniujam, V.M., Folkman, J., Javaherian, K. (2005). *Cancer Res.*, **65** (9), 3656–3663.
59. O'Reilly, M.S., Boehm, T., Shing, Y., Fukai, N., Vasios, G., Lane, W.S., Flynn, E., Birkhead, J.R., Olsen, B.R., Folkman, J. (1997). *Cell*, **88** (2), 277–285.
60. Ma, C.-H., Zhang, Y., Wang, X.-Y., Gao, L.-F., Liu, H., Guo, C., Liu, S.-X., Cao, Y.-L., Zhang Li-Ning, Sun, W.-S. (2004). *World J. Gastroenterol.*, **10** (19), 2874–2877.
61. Boehm, T., Folkman, J., Browder, T., O'Reilly, M.S. (1997). *Nature*, **390**, 404–407.
62. Nyberg, P., Heikkila, P., Sorsa, T., Luostarinen, J., Heljasvaara, R., Stenman, U.H., Pihlajaniemi, T., Salo, T. (2003). *J. Biol. Chem.*, **278** (25), 22404–22411.
63. O'Reilly, M.S., Holmgren, L., Chen, C., Folkman, J. (1996). *Nat. Med.*, **2** (6), 689–692.
64. Sidky, Y.A., Borden, E.C. (1987). *Cancer Res.*, **47** (19), 5155–5161.
65. Byzova, T.V., Goldman, C.K., Pampori, N., Thomas, K.A., Bett, A., Shattil,

- S.J., Plow, E.F. (2000). *Mol. Cell*, **6** (4), 851–860.
66. Cozzolino, F., Torcia, M., Aldinucci, D., Ziche, M., Almerigogna, F., Bani, D., Stern, D.M. (1990). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **87** (17), 6487–6491.
67. Mongiat, M., Sweeney, S.M., San Antonio, J.D., Fu, J., Iozzo, R.V. (2003). *J. Biol. Chem.*, **278**, 4238–4249.
68. Chen, H., Herndon, M.E., Lawler, J. (2000). *Matrix Biol.*, **19**, 597–614.
69. Thomas, D.A., Kantarjian, H.M. (2000). *Curr. Opin. Oncol.*, **12**, 564–573.
70. Ziche, M., Donnini, S., Morbidelli, L. (2004). *Curr. Drug Targets*, **5**, 389–406.
71. Albig, A.R., Schiemann, W.P. (2004). *DNA Cell Biol.*, **23**, 367–379.
72. Maeshima, Y., Manfredi, M., Reimer, C., Holthaus, K.A., Hopfer, H., Chandamuri, B.R., Kharbanda, S., Kalluri, R. (2001). *J. Biol. Chem.*, **276**, 15240–15248.
73. Satchi-Fainaro, R., Puder, M., Davies, J.W., Tran, H.T., Sampson, D.A., Greene, A.K., Corfas, G., Folkman, J. (2004). *Nat. Med.*, **10** (3), 255–261.
74. Yu, Y., Moulton, K.S., Khan, M.K., Vineberg, S., Boye, E., Davis, V.M., O'Donnell, P.E., Bischoff, J., Milstone, D.S. (2004). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101** (21), 8005–8010.
75. Singhal, S., Mehta, J., Desikan, R., Ayers, D., Roberson, P., Eddlemon, P., Munshi, N., Anaissie, E., Wilson, C., Dhodapkar, M., Zeddis, J., Barlogie, B. (1999). *N. Engl. J. Med.*, **341** (21), 1565–1571.
76. Bertolini, F., Mingrone, W., Alietti, A., Ferrucci, P.F., Cocorocchio, E., Peccatori, F., Cinieri, S., Mancuso, P., Corsini, C., Burlini, A., Zucca, E., Martinelli, G. (2001). *Ann. Oncol.*, **12** (7), 987–990.
77. Iruela-Arispe, M.L., Luque, A., Lee, N. (2004). *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **36**, 1070–1078.
78. Sudhakar, A., Sugimoto, H., Yang, C., Lively, J., Zeisberg, M., Kalluri, R. (2003). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 4766–4771.
79. D'Amato, R.J., Loughnan, M.S., Flynn, E., Folkman, J. (1994). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 4082–4085.
80. Bertolini, F., Mingrone, W., Alietti, A., Ferrucci, P.F., Cocorocchio, E., Peccatori, F., Cinieri, S., Mancuso, P., Corsini, C., Burlini, A., Zucca, E., Martinelli, G. (2001). *Ann. Oncol.*, **12** (7), 987–990.
81. Blagosklonny, M.V. (2001). *Int. J. Oncol.*, **19**, 257–262.
82. Soengas, M.S., Capodici, P., Polsky, D., et al. (2001). *Nature*, **409**, 207–211.
83. Москалева Е.Ю., Северин С.Е. (2002). *Иммунология*, **1**, 8–16.
84. Severin, E.S., Moskaleva, E.Yu., Severin, S.E. (2001). *Russian Journal of Immunology*, **6**(4), 346–356.
85. Hart, D.N.J. (1997). *J. Amer. Society of Hemat.* **90**(9), 3245–3287.
86. Steinman, R.M., Cohn, Z.A. (1973). *J. Exp. Med.*, **137**, 1142–1162.
87. Massard, G., Tongio, M.M., Wihlm, J.M., Morand, G. (1996). *Ann. Thorac. Surg.* **61**, 252–258.
88. Peters, J.N., Gieseler, R., Thiele, B., Steinbach, F. (1996). *Immunol. Today*, **17**(6), 273–278.
89. Austyn, J.M., Phil, D. (1998). *Curr. Opin. Hematol.* **5**, 3–15.
90. Clark, G.J., Angel, N., Kato, M., Lopez, A., MacDonald, K., Vuckovic, S., Harr, D.N.J. (2000). *Microbes infect.*, **2**, 257–272.
91. Coulie, P.G., Van den Eynde, B.J., van der Bruggen P, et al. (1997). *Biochemical Society Transactions*, **25**, 544–548.
92. Lindauer, M., Stanislawski, Th., Houbler, A. et al (1998). *J. Mol. Med.* **76**, 32–47.
93. Nicola, M.D., Anichini, A., Mortarini, R. et al (1998). *Cell. Mol. Ther.*, **4**, 265–273.

94. Palucka, K.A, Taquet, N., Sanchez-Chaupuis, F., Claude Gluckman, J. (1998) *J. Immunol.*, **160**, 4587–4595.
95. Reid, C., Fryer, P., Clifford, C., et al. (1990) *Blood*, **76**, 1139–1149.
96. Rinderknecht, H. (1962). *Nature*, **193**, 167.
97. Steinbach, F., Krause, D., Bld, B., et al. (1998). *Res. Immunol.*, **149**, 627–632.
98. Stockwin, K.H., McGonagle, D., Martin, I.G., Blair, G.E. (2000). *Immunology and Cell Biology*, **78**, 91–102.
99. Ярлин А.А. Основы иммунологии. М «Медицина» (1999), с. 608.
100. Caux, P., Moutet, M., Faivre, J., Martin, F. (1996). *Lab. Invest.*, **74**, 975–83.
101. Sallusto, F., Cella, M., Danielli, C., Lanzavecchia, A. (1995) *J. Exp. Med.*, **182**, 389–400.
102. Gabrilovitch, D.I., Chen, H.L. Girgis, K.R. et al (1996). *Nat. Med.*, **2**, 1096–1103.
103. Ishida, T., Oyama, T., Carbone, D.P., Gabrilovich, D.I. (1998). *J. Immunol.*, **161**, 4842–4851.
104. Menetrier-Caux, C., Montmain, G., Dieu, M.C. et al (1998). *Blood*, **92**, 4778–4791.
105. Wittke, F., Hoffmann, R., Buer, J., et al. (1997). *Br. J. Cancer*, **79**, 1182–1184.
106. Caux, C., Dezutter-Dambuyant, C., Schmitt, D., et al. (1992) *Nature*, **360**, 258–261.
107. Caux, C., Massacrier, C., Vanbervliet, B., et al. (1997) *Blood*, **90**, 1458–1470.
108. Caux, C., Vanbervliet, B., Massacrier, C., et al. (1996) *J. Exp. Med.*, **184**, 695–706.
109. Caux, C., Vanbervliet, B., Massacrier, C., et al. (1996) *Blood*, **87**, 2376–2385.
110. Reid, C., Stackpoole, A., Meager, A., et al. (1992) *Biochem.Mol. Biol. Intern.*, **37**(2), 385–397.
111. Santiago-Schwarz, F., Belilos, E., Diamond, B., et al. (1992) *Journal of Leukocyte Biology*, **52**, 274–281.
112. Romani, N., Gruner, S., Bran, D., et al. (1994) *J. Exp. Med.*, **180**, 83–93.
113. Romani, N., Reider, D., Heuer, M., et al. (1996) *J. Immunol. Methods*, **196**, 137–151.
114. Sallusto, F., Lanzavecchia, A. (1994) *J. Exp. Med.*, **179**, 1109–1118.
115. Alters, S.E., Gadea, J.R., Sorich, M. (1998). *J. Immunother.*, **21**(1), 17–26.
116. Nair, S.K. et al (1998) *Nature Biotechnol.*, **16**, 364–369.
117. Nair, S.K., et al. (1999) *Int. J. Cancer*, **82**, 121–124.
118. Salgaller, M.L., Lodge, P.A., Tjoa, B.A., et al. (1998). (Abstract 1187). *Proc Am Assoc Cancer Res.*, 39.
119. Salgaller, M.L., Lodge, P.A., McLean, J.G. et al (1998). *The Prostate*, **35**, 144–151.
120. Salgaller, M.L. (1997) *J. Immunother.*, **20**, 1–14.
121. Alijagic, S., Moller, P., Artuc, M., et al. (1995). *Eur. J. Immunol.*, **25**, 3100–3107.
122. Boczkowski, D., Nair, S., Snyder, D., Gilboa, E. (1996). *J. Exp. Med.*, **184**, 465–72.
123. Müller, M.R., Brossart, P. (2002) *Mod. Asp. Immunobiol.*, **2**, 141–144.
124. Gong, J., Chen, D., Kashiwada, M., Kufe, D. (1997). *Nature*, **3**, 558–561.
125. Bhardwaj, N., Bender, A., Gonzalez, N., et al. (1994). *Clin. Invest.*, **94**, 797–807.
126. Родина А.В., Москалева Е.Ю., Беляев Д.Л. и др. (2003) Аллергия, астма и клиническая иммунология, **7**(9), 19–27.

127. Москалева Е.Ю., Родина А.В., Гукасова Н.В. и др. (2003) Аллергия, астма и клиническая иммунология, 7(9), 28–34.
128. Родина А.В., Москалева Е.Ю., Высоцкая О.В. и др. (2004) Иммунология, 25(6), 345–350.
129. Castellino, F., Boucher, P.E., Eichelberg, K., et al. (2000) J. Exp. Med., 191, 1957–1964.
130. Srivastava, P. (2002) Annu. Rev. Immunol, 20, 395–425.
131. Kuppner, M. C., Gastpar, R., Gehwer, S., et al. (2001) Eur. J. Immunol, 31, 1602–1609.
132. Singh-Jasuja, H., Scherer, H.U., Hilf, N., et al. (2000) Eur. J. Immunol, 30, 2211–2215.
133. Somersan, S., Larsson, M., Fonteneau, J.F. (2001) J. Immunol., 167, 4844–4852.
134. Гукасова Н.В., Москалева Е.Ю., Позднякова Н.В. и др. (2005) Аллергология и иммунология, 6(1), 50–56.
135. Хомякова А.В., Гукасова Н.В., Москалева Е.Ю., Позднякова Л.П., Свешников П.Г., Северин С.Е., Северин Е.С. (2005) Тезисы II межд. конф. «Молекулярная медицина и биобезопасность», Москва, 20–21 октября 2005.
136. Nestle, F.O., Aljagic, S., Gilliet, M., Sun, Y., Grabbe, S., Dummer, R., Burg, G., Schadendorf, D. (1998) Natur. Med., 4, 328–332.
137. Ridgway, D. (2003) Cancer Invest., 21(6), 873–886.
138. Toungous, M., Libin, M., Bulte, F., Faild, L., Lehmann, F., Duriau, D., Laporte, M., Gangji, D., Bruyns, C., Lambertmont, M., Goldman, M., Velu, T. (2001). J. Leukoc. Biol., 69, 937–943.
139. Fay, J., Palucka, K., Dhodapkar, M., et al. (2000). Blood, 96, 807a (abstr).
140. Lotze, M.T., Shurin, M., Esche, C., et al. (2000). Cancer J. Sci. Am., 6(Suppl 1), S61–S66.
141. Nestle, F.O. (2000). Oncogene, 19, 6673–6679.
142. Ribas, A., Butterfield, L.H., Vu, H.T., et al. (2001). Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 20, 268a (abstr).
143. Banichereau, J., Palucka, A.K., Dhodapkar, M., et al. (2001). Cancer Res., 61, 6451–6458.
144. Gajewski, T.F., Fallarino, F., Ashikari, A., et al. (2001). Cancer Res., 3(Suppl 3), 895s–901s.
145. Schuler-Thurner, B., Schultz, E.S., Berger, T.G., et al. (2002). Exp. Med., 19, 1279–1288.
146. Bercovici, N., Massicard, S., Baron, V., et al. (2002). Cancer Res., 43, 558–559 (abstr).
147. Fong, L., Hou, Y., Benike, C., et al. (2001). Proc. Natl. Assoc. Sci., 98, 8809–8814.
148. Lacy, M.Q., Wettstein, P., Gertz, M.A., et al. (2000). Blood, 96, 374a (abstr).
149. Lacy, M.Q., Wettstein, P., Gertz, M.A., et al. (2002). Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 21, 31a (abstr).
150. Fong, L., Brockstedt, D., Benike, C., et al. (2001). J. Immunol., 166, 4254–4259.
151. Fong, L., Brockstedt, D., Benike, C., et al. (2001). J. Immunol., 167, 7150–7156.
152. Tjoa, B.A., Elgamal, A.A., Murphy, G.P. (1999). Urol. Clin. North Am., 26, 365–374.
153. Shankar G., Kelley H., Lodge A., et al. (2001). Proc. Am. Assoc. Cancer Res., 42, 26–27(abstr).
154. Takaue, Y., Tanosaki, R., Tobisu, K., et al. (2002). Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 21, 18b (abstr).
155. Mansi, J.L., Pandha, H.S., John, J., et al. (2002). Proc. Am. Soc. Clin. Oncol., 21, 17b (abstr).