

С.К. Прокопович

В.Б. Винницкий

Институт экспериментальной
патологии, онкологии и
радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого
НАН Украины, Киев, Украина

Ключевые слова: дендритные
клетки, злокачественные
новообразования, иммунотерапия.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ИММУНОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Резюме. Представлены сведения о происхождении, свойствах и функциях дендритных клеток. Проанализированы результаты доклинического изучения и данные первых клинических испытаний эффективности использования дендритных клеток в специфической иммунотерапии пациентов с онкологическими заболеваниями.

Дендритные клетки (ДК) представляют собой систему гетерогенных антигенпрезентирующих (антигенпредставляющих) клеток, морфология, фенотип и функции которых претерпевают значительные изменения в процессе дифференцировки из гематопозитических CD34⁺-клеток — предшественников костного мозга (КМ). На первом этапе незрелые ДК циркулируют в крови, затем проникают в периферические ткани, где приобретают способность к захвату и процессингу антигенов. В дальнейшем ДК мигрируют в лимфатические узлы, презентируют пептидные фрагменты антигенов с молекулами I и II классов главного комплекса гистосовместимости (ГКГС) Т-лимфоцитам, индуцируя иммунный ответ. Разработаны методы получения и экспансии ДК *ex vivo* из клеток CD34⁺, а также из мононуклеаров периферической крови под влиянием определенных цитокинов, что открывает широкие перспективы для применения ДК в качестве естественных «адьювантов» в иммунотерапии онкологических заболеваний.

ДК кожи были описаны Лангергансом в 1868 г. [1]. В 1973 г. Steinmann и Cohn впервые обнаружили ДК в селезенке и периферических лимфатических узлах мышей [2]. По имеющимся данным, эти клетки могут быть миелоидного и лимфоидного происхождения. Различают интерстициальные ДК, локализующиеся в сердце, печени, почках, кишечнике и дыхательных путях; клетки Лангерганса, расположенные в коже и слизистых оболочках; ДК мозгового слоя тимуса и Т-клеточных зон периферических лимфоидных органов. ДК крови и лимфатических узлов, так называемые «завуалированные» клетки, представляют собой округлые клетки с множественными, хорошо развитыми и разветвленными цитоплазматическими отростками [3–9].

ДК, расположенные в коже и в слизистых оболочках, способны поглощать экзогенные антигены посредством пиноцитоза и называются «незрелыми» [10]. После этого ДК созревают, теряя способность к поглощению и процессингу антигенов и

приобретая способность к миграции в региональные лимфатические узлы, где они презентируют антигены Т-лимфоцитам [11]. Для эпителиальных ДК характерно наличие цитоплазматических структур, названных гранулами Бирбекка (Birbeck). Последние в больших количествах содержатся в клетках Лангерганса. До настоящего времени не определен специфический маркер (антиген), характерный только для ДК, однако наиболее специфичными являются 33D1 (определяется только на ДК селезенки), NLDC145, HLA-DR и анти-CD11 интегрин N418. В ДК не происходит перестройка генов иммуноглобулинов и генов, кодирующих Т-клеточные рецепторы [12]. ДК лишены лимфоцитарных антигенов, за исключением CD83-молекул, экспрессирующихся на некоторых активированных лимфоцитах [13]. ДК подобно макрофагам и гранулоцитам являются CD33⁺ (позитивными) и проявляют чувствительность к ГМ-КСФ, но не отвечают на воздействие М-КСФ и Г-КСФ [14].

Экспериментально было доказано костномозговое происхождение ДК из стволовых CD34⁺-клеток, причем, вероятнее всего, из предшественников миелоидного ряда [15, 16]. В пользу этого свидетельствует экспрессия CD14 на начальных и промежуточных этапах дифференцировки ДК [17]. CD14 — маркер, характерный для макрофагов и определяющий их способность отвечать на липополисахарид и связывающий его белок [18]. Зрелые ДК являются CD14[–] и не характеризуются адгезией к стеклу и пластику. Присущие фагоцитам ферменты миелопероксидаза и лизоцим отсутствуют в ДК. Неспецифические эстеразы экспрессируются только в незрелых предшественниках ДК [19]. Таким образом, в процессе дифференцировки ДК снижается их способность к пиноцитозу и выполнению антимикробных функций параллельно со значительным увеличением молекул ГКГС, что способствует появлению функций эффективной презентации антигенов. Интересно отметить, что одна популяция ДК, произошедших из CD34⁺, имеет гранулы Бирбек-

ка, а другая — нет. Большинство фолликулярных ДК являются CD45+ [20].

ДК — активные стимуляторы лимфоцитов в смешанной культуре (СКЛ): в количестве 10^3 они эквивалентны 10^6 неочищенных клеток селезенки по способности индуцировать включение ^3H -тимидина [21]. СКЛ — надежный и простой тест для определения функциональной активности ДК. ДК очень богаты молекулами I и II класса ГКГС, а также костимулирующими и адгезивными молекулами и в связи с этим более эффективны по сравнению с другими антигенпредставляющими клетками — макрофагами и В-клетками. После активного пиноцитоза экзогенных антигенов *in situ* и их внутриклеточного процессинга пептидные фрагменты антигенов связываются с молекулами I и II класса ГКГС и транспортируются на поверхность клеток. С молекулами антигенов I класса связываются фрагменты, состоящие из 8–10 аминокислот, и презентуются Т-киллерам (CD8+), а с молекулами антигенов II класса — пептидные фрагменты, состоящие из 12–20 аминокислот, которые презентуются Т-хелперам (CD4+). Т-лимфоциты (киллеры и хелперы) распознают антигенные фрагменты, связанные с молекулами I и II класса ГКГС, с помощью Т-клеточных рецепторов (ТКР).

Основной функцией ДК является их уникальная способность презентировать антигены не только «наивным» Т-лимфоцитам (зрелым покоящимся Т-лимфоцитам, еще не прошедшим этап антигензависимой дифференцировки), но и праймированным Т-клеткам памяти в паракортикальных зонах вторичных лимфоидных органов, а также (при определенных условиях) и В-лимфоцитам [22]. Это свойство ДК несомненно определяет их важную роль в инициации иммунного ответа и является основанием для использования ДК при разработке новых терапевтических подходов при ряде заболеваний.

Первичные и вторичные В-клеточные фолликулы содержат фолликулярные дендритные клетки (ФДК), которые могут поглощать «интактный» антиген и сохранять его в течение длительного времени. До сих пор не выяснено происхождение ФДК, однако показано образование некоторых из них из мезенхимальных фибробластов, другие ФДК — миелоидного происхождения. ФДК презентуют антиген В-клеткам, способствуя созреванию антител, развитию гуморального иммунного ответа и формированию иммунной памяти [20]. Известно, что для развития иммунного ответа одной презентации антигена недостаточно, так как для этого необходимо наличие дополнительных (аксессуарных) молекул — костимулирующих и адгезивных, представленных на ДК в высокой концентрации: LFA-3 (CD58), B7-1 (CD80), B7-2 (CD86), ICAM-1 (CD54), ICAM-3 (CD50), CD40. Презентация антигенов при отсутствии адекватного количества костимулирующих молекул может приводить к формированию антигенспецифической толерантности [23]. Аутоантигены,

представленные непрофессиональными антигенпрезентирующими клетками с низким уровнем костимулирующих молекул, не вызывают иммунный ответ, что является защитным механизмом против развития аутоиммунных реакций. От вида антигенпрезентирующей клетки и ее поведения в значительной степени зависит, по какому типу пойдет развитие иммунного ответа — по Th1- (преимущественно по клеточно-обусловленному с повышением уровня ИЛ-2, ИФН-гамма и ФНО-альфа) или Th2-типу (преимущественно по антителообусловленному с повышением уровня ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-10), а также возможность развития толерантности [24].

В 1990 г. Koch и соавторы впервые продемонстрировали образование клеток с фенотипическими и функциональными свойствами, типичными для ДК, из гемопоэтических предшественников — клеток CD34+, выделенных из периферической крови человека, после добавления к ним ГМ-КСФ и ФНО-альфа. Культивированные клетки проявляли такую же активность в аллогенной СКЛ, как и ДК, выделенные из других источников [25]. Роль ФНО-альфа сводится к торможению и ингибированию созревания гранулоцитов и ускорению созревания ДК вплоть до потери ими способности к процессингу антигенов, но сохранению повышенной способности к стимуляции «наивных» лимфоцитов. Доказано, что экспрессия CD86 на гемопоэтических клетках-предшественниках регулируется ФНО-альфа, что определяет дифференцировку в сторону макрофагов и ДК [26].

ДК можно получить и из мононуклеарных клеток периферической крови путем добавления к ним комбинаций ГМ-КСФ+ФНО-альфа либо ГМ-КСФ+ИЛ-4 [10]. ИЛ-4 ингибирует развитие гранулоцитов и макрофагов и способствует поддержанию ДК в незрелом состоянии, когда они сохраняют способность к процессингу экзогенных антигенов. Существуют данные, что ИЛ-13 обладает аналогичными свойствами. Количество ДК, полученных из мононуклеаров периферической крови больных в состоянии миелосупрессии после проведения полихимиотерапии, значительно больше, чем полученных из такого же количества мононуклеаров в спокойном состоянии [27]. Этот факт свидетельствует о том, что большинство ДК происходит из гемопоэтических клеток-предшественников, так как было установлено, что после полихимиотерапии происходит значительный выброс последних в кровь наряду с повышением уровня ГМ-КСФ [28]. Продолжается изучение роли других цитокинов в дифференцировке ДК. Дополнительно к названным весомую роль в дифференцировке ДК играют факторы клетки предшественника — kit лиганд и flt-3 лиганд [29–31]. ИЛ-12-лимфокин, критический для развития иммунного ответа по клеточно-опосредованному Th1-типу, продуцируется ДК при их взаимодействии с CD4+-лимфоцитами при условии контакта CD40 с CD40L [32]. Доказано, что добавление CD40-лиганда к моноцитам без наличия в среде ГМ-КСФ и ИЛ-4 способствует их дифференци-

ровке в функциональные ДК, которые способны вызвать ограниченный по I классу молекул ГКГС иммунный ответ цитотоксических Т-лимфоцитов к пептидам вируса иммунодефицита человека [33].

В последнее время проводятся интенсивные исследования, направленные на изучение роли ДК в противоопухолевой иммунотерапии. Показано, что иммунизация антигеном с адьювантом приводит к более выраженному иммунному ответу, чем иммунизация только одним антигеном. В зависимости от вида адьюванта, дозы антигена, вида антиген-презентирующей клетки иммунный ответ может развиваться преимущественно по Th2- или Th1-типу либо по смешанному [24]. Для интенсивности такого ответа весьма важным является способ иммунизации: уровень антител значительно выше при вакцинации подкожно и внутримышечно по сравнению с внутривенным и интраперитонеальным введением антигена. Оптимальный вариант иммунного ответа наблюдается при подкожной иммунизации адекватным количеством антигена. В этом случае профессиональные антигенпредставляющие клетки Лангерганса с высоким уровнем коstimулирующих молекул праймируют Т-лимфоциты, вызывая выраженный специфический иммунитет по клеточному типу. Чрезмерно высокая концентрация антигена, введенного подкожно, приводит к перегрузке клеток Лангерганса. В результате этого избыток антигена захватывается неактивированными антигенпредставляющими клетками, что способствует формированию толерантности. Это свидетельствует в пользу использования ДК в качестве «естественного адьюванта» при проведении иммунизации с помощью различных опухолевых антигенов [23, 34–36].

В то же время показано, что количество ДК, инфильтрирующих злокачественные опухоли легких [37], гортани [38], назофарингеальной карциномы [39], значительно меньше, чем в нормальных тканях периферических органов. Одной из причин может быть избыточная концентрация ИЛ-10 — лимфокина, который в ряде случаев может усиливать супрессию функций некоторых клеток системы иммунитета, а также ДК [40]. В СКЛ ДК, выделенные из опухолей, в качестве стимуляторов проявляли функциональную неполноценность [41]. Изложенные данные о важной роли ДК в праймировании Т- и В-лимфоцитов, а также об уменьшенном количестве ДК в опухолях, их функциональной неполноценности позволили сделать вывод о целесообразности разработки методов иммунизации аутогенными ДК, инкубированными *in vitro* с опухолевыми антигенами, с целью индукции выраженного иммунного ответа в организме с развивающейся опухолью [42]. Было показано, что предварительная иммунизация мышей до 7-го дня после перевивки ДК, культивируемыми с ГМ-КСФ + ИЛ-4 на протяжении 8 дней и затем инкубируемыми с синтетическими опухолеассоциированными антигенами,

эпитопы которых могут быть распознаны цитотоксическими Т-лимфоцитами, надежно защищает животных от роста подкожно перевитых на 14-й день эксперимента опухолей. В качестве антигенов были использованы синтетические пептиды E7(49–57), OVA (257–264), MUT1 (Connexin37), 234CM (m.p53), экспрессируемые соответственно С3 саркомой, M05 меланомой, карциномой легких Льюиса, мет А саркомой [35].

ДК, культивируемые с ГМ-КСФ и ИЛ-4, проявляли более выраженный эффект, чем ДК, культивируемые с ГМ-КСФ и ФНО-альфа или только с ГМ-КСФ, а также были эффективнее клеток Лангерганса, культивируемых в аналогичных условиях. Введение ДК, культивируемых с ГМ-КСФ и ИЛ-4 и инкубированных с опухолеассоциированными синтетическими антигенами, мышам на 5–14-е сутки после трансплантации опухолей способствовало значительной регрессии опухолей [43]. В опухолях отмечалась значительная инфильтрация CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитами, а также клетками S100⁺, являющимися, скорее всего, ДК. Эффект вакцинации обусловлен усилением продукции ИФН-гамма, ФНО-альфа, ИЛ-12 и повышением экспрессии коstimулирующих молекул группы В-7 [44] и опосредуется через Th1-ассоциированный, клеточно-обусловленный иммунный ответ.

Эти интересные результаты, полученные в эксперименте, стимулировали проведение исследований, направленных на поиск эффективных способов иммунизации больных онкологического профиля с применением ДК, создание на их основе противоопухолевых вакцин. В клинике впервые получены обнадеживающие результаты при лечении больных с низкодифференцированной В-клеточной лимфомой. ДК были получены из крови больных после окончания курсов полихимиотерапии. В качестве антигена, поглощаемого ДК в процессе инкубации, использовали моноклональный поверхностный идиотипический протеин, характерный для клеток этой лимфомы. Такие ДК, так же, как и ДК, поглотившие в процессе инкубации КЛН (keyhole limpet hemocyanin), распознаваемый Т-лимфоцитами, вводили внутривенно на 1, 29, 57-й и 150-й день в количестве от 2 до 32 млн клеток (в среднем 5 млн). В целях усиления иммунного ответа на 14-й день после каждого введения ДК, обработанных как описано выше, подкожно вводили идиотипический протеин или КЛН. В результате такой терапии у всех больных отмечалась ремиссия на протяжении 2 лет [45, 46].

В настоящее время разработаны методы получения аутологичных ДК *ex vivo* из мобилизованных клеток КМ и/или периферической крови гемопоэтических клеток — предшественников CD34⁺ и моноцитов в присутствии различных комбинаций цитокинов, продолжается совершенствование этих методик. Более сложным является получение опухолеассоциированных антигенов из опухоли конк-

ретного больного. В этом плане «удачными» исключениями являются меланомы, так как для клеток этих опухолей, полученных у разных больных, характерно наличие общих опухолевых антигенов [47, 48]. К ряду антигенов меланомы (например, MART-1, gp 100 и др.) удалось получить цитотоксические HLA-A2 Т-лимфоциты в результате инкубации лимфоцитов периферической крови здоровых доноров с аутологичными ДК, поглотившими вышеназванные антигены [49, 50]. Однако следует учитывать, что успех вакцинации с помощью ДК зависит от многих факторов. Разрабатываются различные методы получения ДК-вакцин, в частности, методы трансфекции в ДК генов, кодирующих опухолевые антигены, например антигены меланомы мышей, что, по мнению авторов, может значительно повысить генерацию цитотоксических опухолеспецифических Т-лимфоцитов [51]. С помощью ретровирусных векторов осуществляется трансфекция в геном ДК генов, кодирующих различные цитокины, в целях индукции адекватного противоопухолевого иммунного ответа. Поскольку ДК не продуцируют ИЛ-7, оказывающий костимулирующий эффект на Т-лимфоциты, введение в геном ДК гена ИЛ-7 в 2,7 раза усиливает пролиферацию Т-лимфоцитов по сравнению с обычными, немодифицированными ДК, что определялось в СКЛ [52]. Полагают, что иммунизация с помощью опухолевых антигенов в комбинации с определенными цитокинами способствует накоплению ДК в месте инъекции.

При обсуждении роли ДК в эффективности применения тех или иных противоопухолевых вакцин небезынтересно привести терапевтические результаты вакцинации больных с распространенными меланомами. Вакцинацию проводили аутологичными генетически модифицированными облученными опухолевыми клетками, секретирующими ГМ-КСФ, в метастатические очаги, в которых после этого отмечали инфильтрацию Т-лимфоцитами, макрофагами, эозинофильными гранулоцитами, а также ДК. В удаленных метастатических опухолях отмечены некроз, отек и фиброз [53]. Однако данный терапевтический подход следует использовать с большой осторожностью у больных с некоторыми другими видами опухолей, постоянно секретирующих ГМ-КСФ. Его хроническая секреция способствует супрессии антигенспецифического CD8+ Т-клеточного ответа вследствие нарушения баланса цитокинов, необходимых для созревания ДК [54]. Важно подчеркнуть, что эндогенные ДК, созревшие в организме больного с онкопатологией могут оказаться значительно менее эффективными по сравнению с ДК, полученными путем культивирования *in vitro* [35, 41].

В последнее время при лечении пациентов с онкогематологическими заболеваниями, а также некоторыми солидными опухолями успешно применяют высокодозовую полихимиотерапию с проведением поддерживающей терапии путем ауто- или аллотран-

сплантации гемопоэтических клеток-предшественников. Однако вследствие сохранения минимальных резидуальных (остаточных) опухолей часто возникают рецидивы. В связи с этим после высокодозовой полихимиотерапии рака молочной железы и яичников проводили иммунотерапию с использованием ДК, преинкубированных *ex vivo* с продуктами онкогена *HER-2/neu*. Указанный онкоген экспрессируется в 30–40% злокачественных клеток яичника и молочной железы. Такая вакцинация способствует выработке цитотоксических анти-*HER-2/neu* Т-лимфоцитов [55]. Для лечения больных с гепатоцеллюлярной карциномой, секретирующей альфа-фетопротеин, получены генетически модифицированные ДК, презентирющие в большем количестве этот онкофетальный антиген, который, как полагают авторы, вызовет генерацию специфических цитотоксических Т-лимфоцитов [56].

Не прекращаются попытки получения универсальной вакцины против широкого спектра опухолей. Интерес исследователей привлек опухолеассоциированный антиген MUC 1, экспрессирующийся при многих онкогематологических заболеваниях, а также при многих эпителиальных опухолях (в частности, раке поджелудочной, молочной железы, раке почки и др.). На основании компьютерного анализа аминокислотной последовательности указанного антигена идентифицированы два пептида. В процессе инкубации лимфоцитов здоровых доноров с ДК, презентирующими упомянутые выше пептиды, получены цитотоксические Т-клетки. Добавление пан-*HLA-DR*-связывающего пептида в качестве эпитопа для Т-хелперов способствовало созданию высокой концентрации в культуральной среде ИЛ-12 и ИФН-гамма, что подчеркивает важность CD4+ (хелперов) в кооперации клеток иммунной системы для эффективного формирования цитотоксических (CD8+) Т-лимфоцитов [57].

Таким образом, в последнее время уделяется большое внимание использованию ДК в иммунотерапии пациентов с онкологическими заболеваниями в качестве естественных «адьювантов», что объясняется высокой способностью этих клеток к интернализации, процессингу и презентации антигенов Т-лимфоцитам. С этой целью применяют обычные либо генетически модифицированные ДК. В первом случае аутологичные ДК инкубируют с определенными антигенами, затем их вводят больному. Во втором — генетически модифицированные ДК презентуют с молекулами антигенов ГКГС I и II класса опухолевые антигенные детерминанты — продукты встроенных в геном этих клеток генов, кодирующих опухолеассоциированные антигены определенных опухолей, что позволяет избежать рестрикции иммунного ответа по ГКГС. Используют также генетически модифицированные ДК, секретирующие различные цитокины (иногда не свойственные самим ДК), способные усилить иммунный ответ. Перспективным является исполь-

зование в целях иммунизации облученных аутологичных опухолевых клеток, секретирующих те цитокины, которые могут привлечь в опухолевую зону иммунокомпетентные клетки, включая и ДК. Количество исследований, посвященных экспериментальному изучению роли ДК при различных злокачественных опухолях, постоянно увеличивается. Получены первые обнадеживающие результаты применения модифицированных ДК в иммунотерапии больных со злокачественными опухолями. Проведение дальнейших исследований будет направлено на изучение эффективности новых методов иммунотерапии с использованием ДК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Romani N, Schuler G. The immunologic properties of epidermal Langerhans cells as a part of the dendritic cell system. *Semin Immunopathol* 1992; **13**: 265–79.
2. Steinmann RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973; **137**: 1142–62.
3. Schuler G, Steinman RM. Murine epidermal Langerhans cells mature into potent immunostimulatory dendritic cells *in vitro*. *J Exp Med* 1985; **161**: 526–46.
4. Kersall BL, Strober W. Distinct populations of dendritic cells are present in the subepithelial dome and T cell regions of the murine Peyer's patch. *J Exp Med* 1996; **183**: 237–47.
5. Lu L, Woo J, Rao AS, *et al.* Propagation of dendritic cell progenitors from normal mouse liver using granulocyte/macrophage colony-stimulating factor and their maturational development in the presence of type-1 collagen. *J Exp Med* 1994; **179**: 1823–34.
6. Sertl K, Takemura T, Tschachler E, *et al.* Dendritic cells with antigen-presenting capability reside in airway epithelium, lung parenchyma and visceral pleura. *J Exp Med* 1986; **163**: 436–51.
7. Pavli P, Woodhams CE, Doe WF, *et al.* Isolation and characterization of antigen-presenting dendritic cells from the mouse intestinal lamina propria. *Immunol* 1990; **70**: 40–7.
8. Hart DNJ, Fabre JW. Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissues of rat heart and other tissues, but not brain. *J Exp Med* 1981; **154**: 347–61.
9. Klinkert WEF, Labadie JH, Bowers WE. Accessory and stimulating properties of dendritic cells and macrophages isolated from various rat tissues. *J Exp Med* 1982; **156**: 1–19.
10. Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin-4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; **179**: 1109–18.
11. Koch F, Trockenbacher B, Schuler G, *et al.* Antigen processing capacity of dendritic cells from mice of different MHC backgrounds: down-regulation upon culture and evidence for heterogeneity of dendritic cell populations. *Adv Exp Med* 1995; **378**: 203–6.
12. Kampgen E, Koch F, Heufler C, *et al.* Understanding the dendritic cell lineage through a study of cytokine receptors. *J Exp Med* 1994; **179**: 1767–76.
13. Zhou L-J, Tedder TF. Human blood dendritic cells selectively express CD 83, a member of the immunoglobulin superfamily. *J Immunol* 1995; **154**: 3821–35.
14. Thomas R, Davis LS, Lipsky PE. Isolation and characterization of human peripheral blood dendritic cells. *J Immunol* 1993; **150**: 821–34.
15. Katz SI, Tamaki K, Sachs DH. Epidermal Langerhans cells are derived from cells originating in bone marrow. *Nature* 1979; **282**: 324–6.
16. Volc-Platzer B, Stingl G, Wolff K, *et al.* Cytogenetic identification of allogeneic epidermal Langerhans cells in a bone marrow graft recipient. *N Engl J Med* 1984; **310**: 1123–4.
17. Szabolcs P, Avigan D, Gezelter S, *et al.* Dendritic cells and macrophages can mature independently from a human bone marrow-derived, post -CFU intermediate. *Blood* 1996; **87**: 4520–30.
18. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, *et al.* CD 14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 1990; **249**: 1431–3.
19. Fagnoni FF, Takamizawa M, Godfrey WR, *et al.* Role of B70/B7-2 in CD 4+ T immune responses induced by dendritic cells. *Immunol* 1995; **85**: 467–74.
20. Caux Ch, Liu Y-J, Banchereau J. Recent advances in the study of dendritic cells and follicular dendritic cells. *Immunol Today* 1995; **16**: 3–6.
21. Steinman RM, Inaba K. Stimulation of the primary mixed leukocyte reaction. *CRC Crit Rev Immunol* 1985; (5): 331–8.
22. Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Ann Rev Immunol* 1991; **9**: 271–96.
23. Aichele P, Brduscha-Riem K, Zinkernagel RM, *et al.* T cell priming versus T cell tolerance induced by synthetic peptides. *J Exp Med* 1995; **182**: 261–6.
24. Ridge JP, Fuchs EJ, Matzinger P. Neonatal Tolerance Revisited: Turning on Newborn T Cells with Dendritic Cells. *Science* 1996; **271**: 1723–6.
25. Koch F, Heufler C, Kampgen E, *et al.* Tumor necrosis factor maintains the viability of murine epidermal Langerhans cells in culture, but in contrast to granulocyte/macrophage colony-stimulating factor, without inducing their functional maturation. *J Exp Med* 1990; **171**: 159–71.
26. Ryncarz RE, Anasetti C. Expression of CD 86 on human marrow CD 34 (+) cells identifies immunocompetent committed precursors of macrophages and dendritic cells. *Blood* 1998; **91**: 3892–900.
27. Romani N, Gruner S, Brang D, *et al.* Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. *J Exp Med* 1994; **180**: 83–93.
28. Menichella G, Pierelli L, Foddai ML, *et al.* Autologous blood stem cell harvesting and transplantation in patients with advanced ovarian cancer. *Br J Haematology* 1991; **79**: 444–50.
29. Santiago-Schwarz F, Rappa DA, Laky K, *et al.* Stem cell factor augments tumor necrosis factor — granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-mediated dendritic cells hematopoiesis. *Stem Cells* 1995; **13**: 186–97.
30. Siena S, Di Nicola M, Mortarini R, *et al.* Efficient ex vivo generation of functional dendritic cells (DCs) utilizable for tumor vaccination from blood cell transplants (BCT) in cancer patients. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1996; **15**: 554.
31. Shurin MR, Pandharipande PP, Sikora SS, *et al.* Characterization of dendritic cells obtained from mice treated with flt3 ligand and IL-12. In: Fourth Int Symposium on Dendritic Cells in Fundamental and Clinical Immunology. Venice (Italy), 1996: 5–10.
32. Koch F, Stanzl U, Jennewein P, *et al.* High level IL-12 production by murine dendritic cells: upregulation via MHC class II and CD 40 molecules and downregulation by IL-4 and IL-10. *J Exp Med* 1996; **184**: 741–6.
33. Brossart P, Grunebach F, Stuhler G, *et al.* Generation of functional human dendritic cells from adherent peripheral blood monocytes by CD 40 ligation in the absence of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 1998; **92**: 4238–47.
34. Nicola DM, Anichini A, Mortarini R, *et al.* Human dendritic cells: natural adjuvants in antitumor immunotherapy. *Cytokines Cell Mol Ther* 1998; **4** (4): 265–73.
35. Mayordomo JI, Zorina T, Storkus WJ, *et al.* Bone Marrow-Derived Dendritic Cells Serve as Potent Adjuvants for Peptide-Based Antitumor Vaccines. *Stem Cells* 1997; **15**: 94–103.
36. Huang AYC, Golumbeck P, Ahmadzadeh M, *et al.* The role of bone marrow-derived cells in presenting class I-restricted tumor antigens. *Science* 1994; **264**: 961–5.

37. **Zeid NA, Multer HK.** S 100 positive dendritic cells in human lung tumors associated with cell differentiation and enhanced survival. *Pathology* 1993; **25**: 338–43.
38. **Gallo O, Libonati GA, Gallina E, et al.** Langerhans cells related to prognosis in patients with laryngeal carcinoma. *Arch Otorhinolaryngol* 1991; **117**: 1007–10.
39. **Giannini A, Bianchi S, Messerini L, et al.** Prognostic significance of accessory cells and lymphocytes in nasopharyngeal carcinoma. *Pathol Res Pract* 1991; **187**: 496–502.
40. **Qin Z, Noffz G, Mohaupt M, et al.** Interleukin 10 prevents dendritic cell infiltration and vaccination with granulocyte-macrophage-colony-stimulating-factor gene modified tumor cells. *J Mol Med* 1996; **74**: B9.
41. **Becker Y.** Dendritic cell activity against primary tumors: an overview. *In Vivo* 1993; **7**: 187–91.
42. **Grabbe S, Beissert S, Schwartz T, et al.** Dendritic cells as initiators of tumor immune responses: a possible strategy for tumor immunotherapy? *Immunol Today* 1995; **16**: 116–20.
43. **Mayordomo JI, Zorina T, Storkus WJ, et al.** Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with synthetic tumour peptides elicit protective and therapeutic antitumor immunity. *Nat Med* 1995; **1**: 1297–302.
44. **Zitvogel L, Mayordomo JI, Tjandrawan T, et al.** Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells: dependence on T cells, B7 costimulation and T helper cell 1-associated cytokines. *J Exp Med* 1996; **183**: 87–97.
45. **Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, et al.** Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1996; **2**: 52–8.
46. **Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, et al.** A clinical trial of antigen-pulsed dendritic cells in the treatment of patients with B-cell lymphoma. *Proc AM Soc Clin Oncol* 1996; **15**: 419.
47. **Pardoll D.** Tumour antigens: a new look for the 1990s. *Nature* 1994; **369**: 357–8.
48. **Storkus WJ, Lotze MT.** Biology of tumor antigens: tumor antigens recognized by immune cells. In: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA, eds. *Biologic Therapy of Cancer*, 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Co; 1995: 64–77.
49. **Storkus WJ, Mayordomo JI, DeLeo A, et al.** Dendritic cells pulsed with tumor epitopes elicit potent antitumor CTL *in vitro* and *in vivo*. Meeting Int Ass Immunol, 1995: 3493a.
50. **Bakker ABH, Marland G, de Boer AJ, et al.** Generation of antimelanoma cytotoxic T lymphocytes from healthy donors after presentation of melanoma-associated antigen-derived epitopes by dendritic cells *in vitro*. *Cancer Res* 1995; **55**: 5330–34.
51. **Storkus WJ, Mayordomo JI.** Gene-modified dendritic cells as biologic adjuvants for cancer immunotherapy. *J Mol Med* 1996; **74**: B11.
52. **Westermann J, Aicher A, Qin Z, et al.** Retroviral interleukin-7 gene transfer into human dendritic cells enhances T cell activation. *Gene Ther* 1998; **5** (2): 264–71.
53. **Soiffer R, Lynch T, Mihm M, et al.** Vaccination with irradiated autologous melanoma cells engineered to secrete human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor generates potent antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; **95**: 13141–6.
54. **Bronte V, Chappell DB, Apolloni E, et al.** Unopposed production of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by tumors inhibits CD 8+ T cell responses by dysregulating antigen-presenting cell maturation. *J Immunol* 1999; **162** (10): 5728–37.
55. **Brugger W, Brossart P, Scheduling S, et al.** Approaches to dendritic cell-based immunotherapy after peripheral blood stem cell transplantation. *Ann N Y Acad Sci* 1999; **872**: 363–71.
56. **Vollmer CM, Eilber FC, Butterfield LH, et al.** Alpha-fetoprotein-specific genetic immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1999; **59**: 3064–7.
57. **Brossart P, Heinrich KS, Stuhler G, et al.** Identification of HLA-A-2-restricted T-cell epitopes derived from the MUC 1 tumor antigen for broadly applicable vaccine therapies. *Blood* 1999; **93**: 4309–17.

FEASIBILITY OF USING DENDRITIC CELLS IN THE IMMUNOTHERAPY OF CANCER

S.K. Prokopovich, V.B. Vinnitskiy

Summary. *The review presents information on the origin, features, and functions of dendritic cells and analyses the results of a pre-clinic study and first clinical tests of the efficiency of dendritic cells in specific immunotherapy of cancer.*

Key Words: dendritic cell, malignant neoplasm, immunotherapy.