

Достижения и перспективы клеточных технологий на основе активированных лимфоцитов в лечении злокачественных опухолей

Елена Юрьевна Златник*, Анастасия Олеговна Ситковская,
Евгения Марковна Непомнящая, Фариза Руслановна Джандигова,
Лариса Николаевна Ващенко

Ростовский научно-исследовательский онкологический институт,
г. Ростов-на-Дону, Россия

Реферат

В данной статье обзорно рассматривается иммунная система и ее роль во взаимоотношении опухоли и организма пациента с опухолевыми заболеваниями. Речь идет о контроле гомеостаза путем распознавания и элиминации генетически чужеродных веществ (антигенов). Противоопухолевое лечение сейчас принято рассматривать не только в качестве «орудия» для устранения и разрушения опухолевых клеток, также интерес вызывает и его возможность изменять/восстанавливать нарушенные функции иммунной системы. Широко известно, что применяемое противоопухолевое лечение является иммунодепрессивным, т.к. стрессорные и радиационные воздействия также вызывают и/или усиливают иммунодепрессию. В данной работе авторы приводят литературные данные, свидетельствующие о современном состоянии и проблемах клеточной иммунотерапии злокачественных опухолей с применением активированных лимфоцитов, рассматривается значение антиген-специфических Т-лимфоцитов в качестве одного из ее важнейших средств. В настоящее время среди иммунотерапевтических методов особое место занимают подходы, включающие применение аутологичных или аллогенных стимулированных *ex vivo* иммунокомпетентных клеток (адоптивная иммунотерапия). Рассматривается важность комплексного воздействия на различные звенья (Т-, В-, НК-клеточное) и этапы (презентация, распознавание, пролиферация, дифференцировка, миграция, активация, эффекторные функции) иммунного ответа. Появление таргетных препаратов на основе антител, а также вакцин, прежде всего, дендритно-клеточных, спровоцировало возникновение новой волны интереса к формированию специфического противоопухолевого иммунного ответа, опосредованного Т-лимфоцитами, поэтому введение последних можно причислить к разновидности таргетной терапии. Показано значение антиген-специфических Т-лимфоцитов в формировании противоопухолевого иммунитета, подчеркивающее важность не только CD8+, но и CD4+ Т-лимфоцитов. Кроме того, высказываются предположения о возможной значимости как Т-, так и В-клеток для разработки стратегии клеточной иммунотерапии. Данные литературы говорят о том, что не только цитотоксические лимфоциты, но и Т-хелперы и даже В-лимфоциты могут оказаться эффективными в качестве антиген-специфических лимфоцитов как компонента противоопухолевого лечения. Авторами рассматриваются возможности получения антиген-специфических Т-клеток, а также их дальнейшего хранения. Изучаются возможности элиминации или избирательного ингибирования Т-регуляторных клеток при проведении адоптивной иммунотерапии с целью снятия супрессорного действия на цитотоксические лимфоциты. Также обсуждаются различные стратегии применения клеточной терапии.

Ключевые слова: антиген-специфические Т-лимфоциты, иммунотерапия, обзор литературы.

Для цитирования: Златник Е.Ю., Ситковская А.О., Непомнящая Е.М. и др. Достижения и перспективы клеточных технологий на основе активированных лимфоцитов в лечении злокачественных опухолей. *Казанский мед. ж.* 2018; 99 (5): 792–801. DOI: 10.17816/KMJ2018-792.

Achievements and prospects of cellular technologies based on the activated lymphocytes in the treatment of malignant tumors

Zlatnik E.Yu., Sitkovskaya A.O., Nepomnyashchaya E.M., Dzhandigova Ph.R., Vashchenko L.N.
Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia

Abstract

This article reviews the immune system and its role in the relationship between the tumor and the body of a patient with tumor diseases. It is about controlling homeostasis by recognizing and eliminating genetically alien substances (antigens). Antitumor treatment is now not only considered as an “instrument” for eliminating and destroying tumor cells, but also its ability to change/restore impaired functions of the immune system attracts attention. The used antitumor treatment is widely known to be immunosuppressive, stress and radiation effects also cause and/or enhance immunosuppression. In this work, the authors provide literature data demonstrating current status and problems of cellular immunotherapy of malignant tumors with the use of activated lymphocytes, and the role of antigen-specific T-lymphocytes as one of its most important agents is reviewed. Currently, among the immunotherapeutic methods, a special place is occupied by approaches involving the use of autologous or allogenic *ex vivo* stimulated immunocompetent cells (adoptive immunotherapy). The importance of complex influence on various links (T-, B-, NK-cell) and stages (presentation, recognition, proliferation, differentiation, migration, activation, effector functions) of the immune response is considered. The emergence of targeted drugs based on antibodies, as well as vaccines, especially dendritic cells, has provoked the emergence of a new wave of interest in the formation of specific antitumoral immune response mediated by T lymphocytes, so the introduction of the latter can be classified as a kind of targeted therapy. The value of antigen-specific T-lymphocytes in the formation of antitumor immunity is shown, which emphasizes the importance not only of CD8+, but also of CD4+ T-lymphocytes. In addition, there are suggestions of the possible significance of both T- and B-cells for developing a strategy of cellular immunotherapy. The literature data suggest that not only cytotoxic lymphocytes, but also T-helpers and even B-lymphocytes can be effective as antigen-specific lymphocytes as a component of antitumor treatment. The authors consider the possibility of obtaining antigen-specific T cells, as well as their further storage. The possibility of elimination or selective inhibition of regulatory T-cells during adoptive immunotherapy aimed at removing the suppressor effect on cytotoxic lymphocytes is studied. Various strategies for the use of cell therapy are also discussed.

Keywords: antigen-specific T-lymphocytes, immunotherapy, literature review.

For citation: Zlatnik E.Yu., Sitkovskaya A.O., Nepomnyashchaya E.M. et al. Achievements and prospects of cellular technologies based on the activated lymphocytes in the treatment of malignant tumors. *Kazan medical journal*. 2018; 99 (5): 792–801. DOI: 10.17816/KMJ2018-792.

В настоящее время сложились представления о том, что взаимоотношения опухоли и организма пациента с опухолевыми заболеваниями во многом определяются состоянием регуляторных систем последнего. Среди них важнейшую роль играет иммунная система, контролирующая гомеостаз путем распознавания и элиминации генетически чужеродных веществ (антигенов), которые могут быть как экзогенными, так и эндогенными. В ряд эндогенных аутологичных антигенов входят опухолевые (раково-тестикулярные, раково-эмбриональные и др.), которые именно в силу такой природы распознаются довольно плохо. Клетки иммунной системы осуществляют презентацию антигена, его распознавание, после чего способны как мигрировать в очаг для выполнения эффекторных функций в виде специфического цитолиза, так и осуществлять системные реакции клеточного и гуморального иммунитета. Кроме того, формируется иммунологическая память, в обеспечении которой

участвуют T- (T_{cm}-центральной и T_{em}-эффекторной иммунологической памяти) и В-лимфоциты, считающиеся рядом авторов особенно важными для возможности реализации противорецидивного эффекта [1].

При развитии злокачественной опухоли происходит нарушение всех перечисленных этапов иммунного ответа [2], что предполагает необходимость их комплексной коррекции. В настоящее время представляется физиологически обоснованной направленность противоопухолевого лечения не только на устранение и разрушение опухолевых клеток, но и на изменение нарушенных функций иммунной системы. Общеизвестно, что применяемое противоопухолевое лечение является иммунодепрессивным, т.к. стрессорные и радиационные воздействия также вызывают и/или усиливают иммунодепрессию [3].

В нашем обзоре приводятся данные литературы о современном состоянии и проблемах клеточной иммунотерапии злокачественных

опухолей с применением активированных лимфоцитов, рассматривается значение антиген-специфических Т-лимфоцитов в качестве одного из ее важнейших средств.

Среди методов иммунотерапии особое место занимают подходы, включающие применение аутологичных или аллогенных стимулированных *ex vivo* иммунокомпетентных клеток (адоптивная иммунотерапия), при этом представляется важным комплексное воздействие на различные звенья (Т-, В-, НК-клеточное) и этапы (презентация, распознавание, пролиферация, дифференцировка, миграция, активация, эффекторные функции) иммунного ответа. Сейчас хорошо известно, что опухоль обладает собственными защитными факторами, обеспечивающими ее «ускользание» от иммунного надзора и реализацию «отрицательного иммуноредактирования», в ходе которого создается локальное микроокружение, способствующее ее росту и распространению [4, 5]. Это микроокружение может включать как вырабатываемые опухолевыми клетками вещества (факторы роста, стимуляторы неоангиогенеза и пр.), так и привлекаемые опухолью ресурсы организма, в частности, компоненты иммунной системы (лимфоциты, макрофаги, цитокины). В недавнем обзоре В.М. Перельмутер и соавт. [6] суммированы современные данные, доказывающие фенотипическую пластичность иммунокомпетентных клеток, реализующуюся в изменении их функции, и развивающуюся в микроокружении опухоли при участии механизмов иммунного воспаления. Авторами отмечено, что тип иммуновоспалительных реакций, обусловленный клеточным и цитокиновым спектром микроокружения опухоли, определяет вероятность развития эпителиально-мезенхимального перехода, возникновение инвазивных свойств опухолевых клеток, формирование опухолевых и преметастатических ниш, чувствительность или резистентность к химиотерапии.

В.А. Козловым [7] высказано обоснованное мнение о том, что клетки-супрессоры различных вариантов являются основой иммунопатогенеза онкологических заболеваний. Среди этих клеток в последние годы подробно исследовано значение Тregs (Т-регуляторные клетки) — минорная субпопуляция Т-лимфоцитов (CD4+CD25+(high)FoxP3+, CD4+CD25+CD127dim), в норме подавляющая аутоагрессивные клоны Т-клеток и препятствующая развитию аутоиммунных заболеваний, при которых описан ее количественный и функциональный дефицит [8]. При развитии

злокачественной опухоли Тregs концентрируются в ее ткани [9–11], по-видимому, препятствуя взаимодействию антиген-презентирующих клеток и Т-лимфоцитов [12], проявлению активности CD8+ клеток, что создает условия для развития иммуносупрессии. Макрофаги 2-го типа являются необходимым компонентом нормального функционирования иммунной системы, обеспечивая такой важный процесс, как регенерация [13], однако в организме пациентов с опухолевыми заболеваниями преобладание их и вырабатываемых ими цитокинов TGF- β (фактор некроза опухоли- β), IL-10 (интерлейкин-10), хемокинов и других продуктов [14] приводит к дальнейшей стимуляции злокачественного роста [15, 16]. В ткани многих солидных опухолей обнаружены высокие уровни не только IL-6 (интерлейкин-6), IL-8 (интерлейкин-8), IL-10, считающихся ростостимулирующими [2], но и других провоспалительных цитокинов: IL-1 (интерлейкин-1) [17], IL-2 (интерлейкин-2) [18], TNF- α (фактор некроза опухоли- α) [19], роль которых обычно рассматривается в контексте противоопухолевого действия. Неоднозначный характер действия интерлейкинов и других цитокинов как компонента микроокружения опухоли следует учитывать при назначении препаратов на их основе, которые применяются в комплексном лечении ряда злокачественных новообразований. Некоторые авторы высказывают идеи о поиске новых мишеней в иммунном микроокружении опухоли, среди которых могут быть как клетки, проявляющие супрессорную активность, так и цитокины [20].

1. Адоптивная иммунотерапия

Адоптивная (от adoption — принятие) иммунотерапия для лечения онкологических больных, предусматривающая введение *ex vivo* стимулированных лимфоцитов, известна более 30 лет. Долгое время противоопухолевая резистентность считалась преимущественно неспецифической, что, по-видимому, можно объяснить отсутствием на многих опухолевых и метастатических клетках экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС). Поэтому основное внимание исследователей было сосредоточено на использовании для клеточной иммунотерапии эффекторов неспецифической защиты — натуральных киллеров (NK-клеток). Лечение лимфокин-активированными киллерами (ЛАК-терапия), предложенное еще в 80-х годах XX века и разрабатываемое до настоящего времени [21], основано на активации аутологичных лимфоцитов больных с помощью цитокинов. Сначала

для этого применяли IL-2, затем и другие цитокины [22]. Точкой приложения цитокинов являются, прежде всего, натуральные киллеры, у которых после 3–5-дневного культивирования с IL-2 наступает повышение цитотоксической активности по отношению к клеткам-мишеням, происходит расширение спектра опухолевых клеток, против которых LAK-клетки проявляют цитотоксичность. LAK-клетки не обладают ни специфичностью, ни тропностью к опухоли, не формируют иммунологическую память. Исследователи из РОНЦ им. Н.Н. Блохина, установив широкое фенотипическое разнообразие NK- и NKT-клеток у доноров, высказывают предположение о возможной фенотипической и функциональной гетерогенности этих лимфоцитов и у онкологических больных [23], указывая, в частности, на неоднозначные трактовки роли NKT-клеток при опухолевом росте [24].

Активированные TIL-клетки получали из опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов [25] в расчете на хоуминг-эффект после их введения [26], однако их количество обычно незначительно, а процедура выделения трудоемка; кроме того, опухоли не всегда имеют выраженную лимфоцитарную инфильтрацию [27].

Результаты клинического применения как LAK-, так и TIL-терапии (терапия опухоль-инфильтрирующими лимфоцитами) описаны многими исследователями, но отчетливый эффект адоптивные методы демонстрируют не всегда. Большинство авторов отмечают улучшение качества жизни больных, снижение побочных реакций химиотерапии при действии LAK-терапии, однако ее противоопухолевая эффективность остается дискуссионной, несмотря на многолетний опыт применения ее в различных вариантах [28–30].

Основоположники адоптивных методов предлагают повысить их эффективность с помощью проведения лимфодеплеции. Так, при применении для этой цели флюдарабина и циклофосфамида перед введением больным с метастатической меланомой аутологических TIL в сопровождении высоких доз IL-2 клинический ответ был получен почти у половины из них [21], что может быть связано с усилением в таких условиях пролиферации опухоль-инфильтрирующих эффекторных лимфоцитов [31].

По-видимому, недостаточная эффективность адоптивных методов связана еще и с применением их в большинстве исследований при генерализованных опухолях у очень тяжелых больных, оказавшихся резистентными к остальным методам лечения, однако в этом случае эффективность TIL была выше, чем

LAK. В частности, описан положительный результат клинического применения TIL-лимфоцитов при опухолевом асците и плеврите [32].

2. Антиген-специфические Т-лимфоциты

Хотя поиски в этой области продолжаются (варьируются сроки инкубации, цитокины, применяемые для генерации LAK и TIL, разрабатываются протоколы совместного применения LAK или TIL с препаратами интерлейкинов), на рубеже веков появились новые методы, связанные с индукцией специфического противоопухолевого иммунитета, и это направление продолжает развиваться [26, 33]. Если LAK-клетки происходят из натуральных киллеров, обеспечивающих неспецифическую цитотоксичность, то данный подход рассчитан на получение и применение специфических противоопухолевых Т-лимфоцитов. С появлением таргетных препаратов на основе антител, а также вакцин, прежде всего, дендритно-клеточных, возникла и новая волна интереса к формированию специфического противоопухолевого иммунного ответа, опосредованного Т-лимфоцитами, поэтому введение последних можно причислить к разновидности таргетной терапии. По-видимому, TIL содержат значительную часть антиген-специфических Т-клеток, однако, их активность ингибируется факторами опухолевого микроокружения [6, 34, 35]. Cyrille J. Cohen et al. [36] выдвинули гипотезу о том, что TIL-клетки распознают мутантные эпитопы антигенов опухолей, например, меланомы, и предприняли попытку разработать стратегию выделения, накопления и исследования эффективности антиген-специфических Т-клеток против них. Авторами получены панели эпитопов, связывающихся с тетрамерами МНС, с помощью которых в крови больных были идентифицированы антиген-специфические Т-клетки, могущие быть использованы, по мнению авторов, для иммунотерапии.

А. Антиген-специфические Т-лимфоциты: субпопуляции и продукция цитокинов

Рядом авторов показано значение антиген-специфических Т-лимфоцитов в формировании противоопухолевого иммунитета. При исследовании иммунологического микроокружения в опухолях толстой кишки Christoph Reissfelder et al. [37] выявили, что экспрессия TNF- α маркирует популяцию антиген-специфических CTL (Т-цитотоксические лимфоциты) против опухолевых антигенов среди всех опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов. Высокий уровень экспрессии TNF- α в TILs демонстрировал высокую корреляцию с общим

количеством интратуморального TNF- α , на основании чего авторы считают, что этот показатель может служить для оценки активности опухолеспецифических CTL, и на материале обследования 102 больных колоректальным раком заключают, что повышенный уровень TNF- α является независимым прогностическим фактором выживаемости. Кроме того, описана связь повышения бессобытийной выживаемости таких больных с высоким операционным содержанием Т-клеток против раково-эмбрионального антигена, продуцирующих интерферон- γ , что также указывает на роль антиген-специфических Т-лимфоцитов при раке толстой кишки [38].

При разработке стратегии применения антиген-специфических Т-лимфоцитов для клеточной иммунотерапии опухолей одни исследователи связывают ее преимущественно с Т-цитотоксической (CTL), другие — с Т-хелперной (Th) субпопуляцией. Так, в обзоре [39] рассмотрены именно стратегии использования CTL: подбор опухолевых антигенов для их индукции; усиление созревания и презентации антигенов дендритными клетками и активации Т-клеточного ответа; целенаправленное попадание Т-эффекторов в опухоль. Тогда же были опубликованы результаты I фазы испытаний (переносимость, безопасность) адоптивно перенесенных клонов CD8⁺ клеток против опухоль-ассоциированных антигенов MART1/MelanA и gp100 при метастатической меланоме. Показана удовлетворительная переносимость такой клеточной иммунотерапии при 4-кратном применении с различными дозами IL-2 и без него, а также установлено, что введенные клоны лимфоцитов локализуются в опухолях, приводя к элиминации антиген-позитивных опухолевых клеток; эффект различной выраженности регистрируется у 8 больных из 10 [27].

Другие авторы подчеркивают важность не только CD8⁺, но и CD4⁺ Т-лимфоцитов. Так, [40] предложен метод экспансии антиген-специфических CD4⁺ Th1 лимфоцитов после иммунизации больных раком молочной железы противоопухолевой вакциной против HER2; авторы считают такой подход перспективным для иммунотерапии.

В обширной монографии Н.М. Бережной и В.Ф. Чехуна [2] противоопухолевое значение некоторых клонов антиген-специфических CD4⁺ Т-лимфоцитов обосновано наличием у них цитотоксической активности в отношении опухолевых клеток, не экспрессирующих антигены MHC II класса, которая реализуется

в отсутствие CD8⁺ Т-лимфоцитов по различным механизмам (перфорин-гранзим- и AP02L/TRAIL-зависимому). Активность последнего показана для клеток немелкоклеточного рака легкого; кроме того, установлено цитотоксическое действие CD4⁺ Т-лимфоцитов на культуры клеток лимфомы Беркитта и кератиноцитов. Накопление Т-лимфоцитов, принадлежащих именно к субпопуляции CD4⁺, в ткани глиомы мыши ассоциировалось с ее регрессией, хотя известно, что механизмы литического действия CD4⁺ Т-лимфоцитов человека и мыши не идентичны, и экстраполяция данных, полученных в эксперименте на мышах, не всегда возможна в клинике. Интересно, что регрессия опухоли под действием глиомоспецифических CD4⁺ Т-лимфоцитов оказалась связанной с продукцией IL-10 при отсутствии продукции IL-4 и интерферона- γ и не наблюдалась у мышей, дефицитных по IL-10. Такие данные о роли IL-10 при опухолях, противоречащие сложившимся представлениям, тем не менее находят подтверждение в литературных источниках последних лет [41].

Не исключается и возможность переноса противоопухолевого иммунитета как Th1-, так и Th2-лимфоцитами (стимуляторами гуморального ответа), хотя эффективность такого переноса последними была значительно ниже [2]. Кроме того, высказываются предположения о возможной значимости не только Т-, но и В-клеток для разработки стратегии клеточной иммунотерапии, сочетающей индукцию противоопухолевого Т-клеточного ответа и продукции антител. Так, Wennhold K. et al [42] получили регрессию опухолей у мышей под действием антиген-специфических активированных В-лимфоцитов и плазматических клеток. На примере опухолей больных этими авторами была показана способность В-клеток против CEA и NY-ESO-1-антигенов, извлеченных из лимфатических узлов, индуцировать антиген-специфический ответ *in vitro*.

Итак, данные литературы говорят о том, что не только CTL, но и Th и даже В-лимфоциты могут оказаться эффективными в качестве антиген-специфических лимфоцитов как компонента противоопухолевого лечения.

Б. Получение и хранение антиген-специфических Т-клеток

Важными проблемами клинического применения антиген-специфических Т-клеток является их экспансия с получением достаточного количества при минимальном уровне T regs, хранение без потери активности, а также определение их роли и места в комбинированной

иммунотерапии опухолей, разработка оптимальных схем их использования. Для эффективной индукции и экспансии антиген-специфических Т-клеток различными авторами применяются различные цитокины и их сочетания. В обзоре Klebanoff С.А. et al. [10] приводятся работы, где для стимуляции адоптивно введенных Т-лимфоцитов предлагается использование не только традиционно применяемого IL-2, но и IL-21, а также «гомеостатических цитокинов» IL-7, IL-15 на основании их свойства индуцировать созревание Т-клеток памяти.

Сенниковым С.В. и соавт. [43] исследовалась активность антиген-специфических Т-клеток, принадлежащих к CTL и Th, при этом было показано отсутствие значимого эффекта на цитотоксический противоопухолевый клеточный ответ таких модуляторов усиления цитотоксической реакции, как провоспалительные цитокины (IL-12 и IL-18), ингибиторы IDO (L-метил-1-триптофан) и COX-2 (целекоксиб). Анализ факторов цитотоксичности (Fas, TRAIL, перфорин, гранзим В) и продукции цитокинов выявил достоверное увеличение содержания TRAIL-позитивных CD8⁺ лимфоцитов и клеток, продуцирующих интерферон- γ (при немелкоклеточном раке легкого), что в сочетании с отсутствием стимуляции продукции IL-4 и IL-10 свидетельствует о преимущественной активации Th1 иммунного клеточного ответа. В этой же работе показан достоверно более высокий уровень цитотоксического эффекта, оцениваемого по разрушению опухолевых клеток в культуре эпителио-специфических лимфоцитов после магнитной сепарации и культивирования с коктейлем цитокинов, по сравнению с культурой активированных мононуклеарных клеток и дендритных клеток.

В экспериментальном исследовании Jorge L. Galeano Niño et al. [44], где в качестве антиген-презентирующих Т-лимфоцитов использовали спленциты мышей, CD8⁺ Т-клетки которых обладают способностью первично распознавать OVA257-264 при его презентации МНС I (ОТ-I клетки), изучали их активность на клетках опухолевых линий, преинкубированных со специфическим антигеном. В качестве перспективного метода получения и хранения антиген-специфических Т-клеток авторами использована быстрая экспансия *ex vivo* (6–7 дней) с криоконсервацией, позволяющей сохранить жизнеспособность, продукцию цитокинов, цитотоксичность, способность дифференцироваться из «наивных» Т-лимфоцитов в Т-клетки памяти, мигрировать и инфильтрировать опухоли и, в конечном счете, вызывать

их регрессию. По данным авторов, криоконсервация не повреждает важнейших свойств CTL, хотя в других работах указана такая возможность [45].

В. Т-regs-индуцированная супрессия при генерации активированных *ex vivo* лимфоцитов

В литературе сообщается о том, что Т-клетки, выделенные на ранних этапах заболевания, развивают более интенсивный противоопухолевый ответ, чем выделенные после курса лечения, даже успешного [46]. В качестве возможных причин указывается на истощение или анергию антиген-специфических Т-клеток и влияние опухолевого микроокружения [6, 35], в частности, за счет Т-regs. Данные литературы дают основание предполагать их значимость в недостаточном успехе LAK- и TIL-терапии, в частности, описано нарастание их уровня в процессе культивирования и изначально высокий уровень в составе TIL, хотя результаты различных авторов противоречивы. Так, Чикилевой И.О. и соавт. [47] получено повышение содержания Т-regs только при длительных сроках культивирования *ex vivo*, а в течение времени, необходимого для генерации LAK-клеток, их содержание остается на исходном уровне. Однако другими авторами описано снижение функциональной активности Т-лимфоцитов в процессе культивирования с IL-2 за счет их ускоренного старения и формирования Т-регуляторного иммунофенотипа [35].

Поэтому с целью снятия супрессорного действия на цитотоксические лимфоциты изучаются возможности элиминации или избирательного ингибирования Т-regs при проведении адоптивной иммунотерапии, например, путем иммуномагнитной сепарации, что, по мнению некоторых авторов, может способствовать усилению регрессии распространенных опухолей [48]. Хотя, возможно, Т-regs являются не единственным фактором, способствующим снижению активности активированных *ex vivo* лимфоцитов при введении в организм пациента с опухолевыми заболеваниями.

Г. CAR-клетки — новый подход к получению специфического противоопухолевого ответа

Новой высокотехнологичной процедурой является получение генетически модифицированных с помощью вирусной трансфекции химерных рецепторов (CAR) с индукцией распознающих их лимфоцитов (CAR-клетки), проявляющих высокую активность и специфичность против опухолевых мишеней [49, 50].

Zhenling Deng et al. [51] опубликованы результаты разработки метода получения лимфоцитов против антигена стволовых опухолевых клеток ErCAM, показан их высокий противоопухолевый эффект на культуральных и экспериментальных моделях рака предстательной железы. CAR-клетки применяли для лечения острого лимфолейкоза [52], HER2-экспрессирующих сарком [53]; интересно, что в последнем случае, помимо достижения значительного клинического эффекта, у ряда больных HER2-CAR T-клетки были обнаружены через длительное время (3–18 мес.) после применения, что свидетельствует о возможности их персистенции в организме.

Rosenberg S.A. et al. [54] показано, что введение T-лимфоцитов, трансдуцированных высокоаффинными T-клеточными рецепторами против специфических опухолевых антигенов (NY-ESO-1), вызывает значительный клинический эффект у больных меланомой.

Д. Стратегии применения клеточной иммунотерапии

В литературе есть предложения по использованию антиген-специфических T-лимфоцитов как в виде моносредства клеточной иммунотерапии, так и в комплексе с другими ее методами. Например, разработаны способы индукции цитотоксических [43] и Th1-лимфоцитов [40] против HER2, *in vitro* и в эксперименте показан противоопухолевый и антиметастатический эффект за счет усиления гибели HER2-экспрессирующих опухолевых клеток [43]. Опубликованы результаты эффективного использования генерированных *ex vivo* антиген-специфических T-клеток против вирусных антигенов (ВЭБ у больных гемобластозами после трансплантации костного мозга в условиях иммуносупрессии), при этом сами авторы считают более важным получение и применение T-лимфоцитов против низкоиммуногенных опухолевых антигенов; отмеченная возможность их персистенции в организме пациента с опухолевыми заболеваниями и способность противостоять иммуносупрессивному микроокружению опухоли, по-видимому, свидетельствует об их противоопухолевой активности [33].

В большинстве источников указано на предпочтительность комбинированного применения антиген-специфических T-лимфоцитов с другими методами иммунотерапии. В Онкоцентре M.D. Anderson (США) с 2015 г. проводятся клинические испытания с датой завершения в ноябре 2018 г по совместному применению антиген-специфических Th с ипилимумабом

и циклофосфамидом при меланомах и саркомах мягких тканей, экспрессирующих NY-ESO-1. Установлено не только возрастание уровня опухолеспецифических CD4⁺ T-клеток против антигена NY-ESO-1 у больных меланомой после применения ипилимумаба, но и их способность *in vitro* лизировать линии аутологичных клеток меланомы, экспрессирующих NY-ESO-1, МНС II-опосредованным путем [55].

Carluccio S. et al. [56] показали возможность получения антиген-специфических T-лимфоцитов, продуцирующих интерферон-гамма, при колоректальном раке. Авторами разработан протокол клеточной иммунотерапии, включающей использование T-лимфоцитарной фракции, обогащенной CD8⁺ клетками, стимулированной дендритными клетками в присутствии апоптотически погибающих опухолевых клеток как источника антигена, т.е. авторы предлагают сочетать подходы, стимулирующие различные звенья иммунной системы, важные для реализации противоопухолевого иммунитета.

Описан способ иммунотерапии, сочетающей локорегионарное введение LAK- и антиген-специфических T-клеток с предварительным курсом дендритно-клеточной вакцинации, при этом отмечен клинический эффект в виде увеличения общей продолжительности жизни и медианы выживаемости больных злокачественными глиомами (анапластическими астроцитомами и глиобластомами) [57].

Опыт применения генетически модифицированных T-лимфоцитов в комплексе с ингибиторами контрольных точек и вакцинами также оказался многообещающим [33, 58]. Описана возможность существенного усиления эффекта T-лимфоцитов, трансдуцированных высокоаффинными T-клеточными рецепторами против специфических опухолевых антигенов, при введении больным ингибиторов «контрольных точек» [54, 59].

Итак, в настоящее время разрабатываются стратегии как выявления конкретных молекулярных мишеней для получения направленных против них антиген-специфических T-лимфоцитов, так и поиска максимально возможных комбинаций различных методов клеточной иммунотерапии, предполагающего потенцирование их эффектов.

Обсуждаемые в литературе подходы к управлению иммунновоспалительными реакциями в микроокружении опухоли исходят из того, что более эффективными могут быть не столько мишени в виде отдельных молекул, сколько многоцелевые воздействия, способные привести к подавлению воспалительной реакции

в строме опухоли и коррекции ее иммунологического микроокружения [6]. Гетерогенность и сложность опухоли, на взгляд некоторых авторов, обуславливает несостоятельность стратегии молекулярной таргетной терапии как противоопухолевого монотерапевта, при этом высказывается мнение, что одним из наиболее многообещающих направлений является использование компонентов иммунной системы пациента [60].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В обзоре отражены следующие направления современной клеточной иммунотерапии в онкологии:

1. Адоптивная иммунотерапия, основанная на активации аутологичных лимфоцитов больных с помощью цитокинов;

2. Использование антиген-специфических Т-лимфоцитов против опухолевых антигенов и их эпитопов. При этом проанализировано:

а) субпопуляции антиген-специфических Т-лимфоцитов и продукция ими цитокинов. Показано, что цитотоксические лимфоциты, Т-хелперы и В-клетки могут быть эффективными в качестве антиген-специфических лимфоцитов как компонента противоопухолевого лечения;

б) методы получения и хранения антиген-специфических Т-клеток;

в) индукция супрессии цитотоксических лимфоцитов Т-регуляторными клетками при генерации активированных *ex vivo* лимфоцитов и возможность ее снятия путем элиминации или избирательного ингибирования Т-регуляторных клеток при проведении адоптивной иммунотерапии;

г) CAR-клетки — генетически модифицированные с помощью вирусной трансфекции Т-клетки с химерными рецепторами, распознающими опухолевые антигены. Показан их значительный клинический эффект у больных меланомой и перспективность для лечения различных опухолей;

д) стратегии комплексного применения клеточной иммунотерапии, среди которых как выявление конкретных молекулярных мишеней для получения направленных против них антиген-специфических Т-лимфоцитов, так и поиск максимально возможных комбинаций различных методов клеточной иммунотерапии, предполагающий потенцирование их эффектов.

Таким образом, приведенные данные представляют анализ современного состояния клеточной иммунотерапии с применением лим-

фоцитов и перспектив ее использования для повышения эффективности лечения злокачественных опухолей.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pages F., Berger A., Camus M., et al. Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 2005; 353 (25): 2654–2666. DOI: 10.1056/NEJMoa051424.

2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. *Иммунология злокачественного роста*. Киев. 2005: 792. [Berezhnaya N.M., Chekhun V.F. *Immunologiya zlokachestvennogo rosta*. (Immunology of malignant growth.) Kiev. 2005: 792. (In Russ.)]

3. Мушкарина Т.Ю., Кузьмина Е.Г. Многомерный анализ иммунитета с выделением роли Т-регуляторных клеток при лучевых повреждениях легких. *Медицинский академический журнал*. 2016; (4): 161–162. [Mushkarina T.Yu., Kuz'mina E.G. Multidimensional analysis of immunity with the role of T-regulatory cells in radiation damage to the lungs. *Meditinskiy akademicheskij zhurnal*. 2016; (4): 161–162. (In Russ.)]

4. Dunn G.P., Old L.J., Schreiber R.D. The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annu. Rev. Immunol.* 2004; 22 (1): 329–360. DOI: 10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803.

5. Kim R., Emi M., Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*. 2007; 121 (1): 1–14. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2007.02587.x.

6. Перельмутер В.М., Таширева Л.А., Манских В.Н. и др. Иммуновоспалительные реакции в микроокружении гетерогенны, пластичны, определяют противоопухолевый эффект или агрессивное поведение опухоли. *Журнал общей биологии*. 2017; 78 (5): 15–36. [Perel'muter V.M., Tashireva L.A., Manskikh V.N. et al. Immunosuppressive reactions in the microenvironment are heterogeneous, plastic, determine the antitumor effect or aggressive behavior of the tumor. *Zhurnal obshchey biologii*. 2017; 78 (5): 15–36. (In Russ.)]

7. Козлов В.А. Клетки-супрессоры — основа иммунопатогенеза онкозаболеваний. *Вопросы онкологии*. 2016; 3: 390–396. [Kozlov V.A. Suppressor cells — the basis of the immunopathogenesis of cancer. *Voprosy onkologii*. 2016; 3: 390–396. (In Russ.)]

8. Kasagi Sh., Zhang P., Che L. et al. In Vivo-Generated Antigen-Specific Regulatory T Cells Treat Autoimmunity Without Compromising Antibacterial Immune Response. *Sci. Transl. Med.* 2014; 6 (241): 241ra78. DOI: 10.1126/scitranslmed.3008895.

9. Златник Е.Ю., Пржедецкий Ю.В., Кочуев С.С. и др. Иммунологические факторы в ткани меланомы кожи различной распространенности. *Мед. вестник Северного Кавказа*. 2018; 1: 44–49. [Zlatnik E.Yu., Przhedetskiy Yu.V., Kochuev S.S. et al. Immunologic factors in tissues of cutaneous melanoma depending on its thickness. *Meditinskiy vestnik Severnogo Kavkaza*. 2018; 1: 44–49. (In Russ.)]

10. Klebanoff Ch.A., Khong H.T., Antony P.A. et al. Sinks, suppressors and antigen presenters: how lymphodepletion enhances T cell-mediated tumor immunotherapy. *Trends Immunol.* 2005; 26 (2): 111–117. DOI: 10.1016/j.it.2004.12.003.

11. Balkwill F.R., Capasso M., Hagemann Th. The tumor microenvironment at a glance. *J. Cell. Sci.* 2012; 125 (23): 5591–5596. DOI: 10.1242/jcs.116392.
12. Tadokoro C.E., Shakh G., Shen S. et al. Regulatory T cells inhibit stable contacts between CD4⁺ T cells and dendritic cells in vivo. *J. Exp. Med.* 2006; 203: 505–511. DOI: 10.1084/jem.20050783.
13. Рябов В.В., Гомбожапова А.Э., Роговская Ю.В. и др. Функциональная пластичность моноцитов/макрофагов в процессах восстановительной регенерации и остинфарктного ремоделирования сердца. *Иммунология.* 2016; 37 (6): 305–312. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-6-305-312. [Ryabov V.V., Gombozhapova A.E., Rogovskaya Yu.V. et al. Functional plasticity of monocytes/macrophages in post-infarction cardiac regeneration and remodeling. *Immunologiya.* 2016; 37 (6): 305–312. (In Russ.)] DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-6-305-312.
14. Монастырская Е.А., Лямина С.В., Малышев И.Ю. M1 и M2 фенотипы активированных макрофагов и их роль в иммунном ответе и патологии. *Патогенез.* 2008; 6 (4): 31–39. [Monastyrskaya E.A., Lyamina S.V., Malyshev I.Yu. M1 and M2 phenotypes of activated macrophages and their role in the immune response and pathology. *Patogenez.* 2008; 6 (4): 31–39. (In Russ.)]
15. Сахно Л.В., Шевела Е.Я., Тихонова М.А. и др. Молекулярные механизмы иммуносупрессорной активности M2 макрофагов. *Иммунология.* 2016; 37 (6): 312–315. [Sahno L.V., Shevela E.Ya., Tikhonova M.A. et al. Molecular mechanisms of immunosuppressive activity of M2 macrophages. *Immunologiya.* 2016; 37 (6): 312–315. (In Russ.)] DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-6-312-315.
16. Pollard J.W. Tumor-educated macrophages promote tumor progression and metastasis. *Nature Reviews Cancer.* 2004; 4 (1): 71–78. DOI: 10.1038/nrc1256.
17. Mürköster S., Wegehenkel K., Arlt A. et al. Tumor stroma interactions induce chemoresistance in pancreatic ductal carcinoma cells involving increased secretion and paracrine effects of nitric oxide and interleukin-1β. *Cancer Res.* 2004; 64 (4): 1331–1337. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-1860.
18. Thornton A.M., Donovan E.E., Piccirillo C.A., Shevach E.M. Cutting edge: IL-2 is critically required for the in vitro activation of CD4⁺CD25⁺ T cell suppressor function. *J. Immunol.* 2004; 172: 6519–6523. DOI: 10.4049/jimmunol.172.11.6519.
19. Кит О.И., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А. и др. Взаимоотношения плоидности и параметров локального иммунитета при опухолях толстой кишки. *Молекулярная медицина.* 2016; 1: 26–30. [Kit O.I., Zlatnik E.Yu., Nikipelova E.A. et al. The relationship between ploidy and the parameters of local immunity in tumors of the large intestine. *Molekulyarnaya meditsina.* 2016; 1: 26–30. (In Russ.)]
20. Shiao S.L., Ganesan A.P., Rugo H.S., Coussens L.M. Immune microenvironments in solid tumors: new targets for therapy. *Genes. Dev.* 2011; 25 (24): 2559–2572. DOI: 10.1101/gad.169029.111.
21. Rosenberg S.A., Restifo N.P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science.* 2015; 348 (6230): 62–68. DOI: 10.1126/science.aaa4967.
22. de Rham C., Ferrari-Lacraz S., Jendly S. et al. The proinflammatory cytokines IL-2, IL-15 and IL-21 modulate the repertoire of mature human natural killer cell receptors. *Arthritis Res. Ther.* 2007; 9 (6): R125. DOI: 10.1186/ar2336.
23. Табаков Д.В., Заботина Т.Н., Борунова А.А. и др. Гетерогенность популяций NK- и NKT-лимфоцитов у здоровых доноров. *Медицинская иммунология.* 2017; 19 (4): 401–408. [Tabakov D.V., Zabolina T.N., Borunova A.A. et al. Heterogeneity of populations of NK and NKT lymphocytes in healthy donors. *Meditsinskaya immunologiya.* 2017; 19 (4): 401–408. (In Russ.)]
24. Viale R., Ware R., Maricic I. et al. NKT Cell Subsets Can Exert Opposing Effects in Autoimmunity, Tumor Surveillance and Inflammation. *Curr. Immunol. Rev.* 2012; 8 (4): 287–296. DOI: 10.2174/157339512804806224.
25. Geukes Foppen M.H., Donia M., Svane I.M., Haanen J.B. Tumor-infiltrating lymphocytes for the treatment of metastatic cancer. *Mol. Oncol.* 2015; 9 (10): 1918–1935. DOI: 10.1016/j.molonc.2015.10.018.
26. Disis M.L., Bernhard H., Jaffee E.M. Use of tumour-responsive T cells as cancer treatment. *Lancet.* 2009; 373 (9664): 673–683. DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60404-9.
27. June C.H. Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic. *J. Clin. Invest.* 2007; 117 (6): 1466–1476. DOI: 10.1172/JCI32446.
28. Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия при злокачественных новообразованиях. *Вестник РАМН.* 2003; 1: 40–44. [Kiselevskiy M.V. Adoptive immunotherapy for malignant neoplasms. *Vestnik RAMN.* 2003; 1: 40–44. (In Russ.)]
29. Dillman R.O., Duma C.M., Ellis R.A. et al. Intraleisional lymphokine-activated killer cells as adjuvant therapy for primary glioblastoma. *J. Immunother.* 2009; 32 (9): 914–919. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181b2910f.
30. Nagasawa D.T., Fong Ch., Yew A. et al. Passive Immunotherapeutic Strategies for the Treatment of Malignant Gliomas. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2012; 23 (3): 481–495. DOI: 10.1016/j.nec.2012.04.008.
31. Wang L.X., Shu S.Y., Plautz G.E. Host lymphodepletion augments T cell adoptive immunotherapy through enhanced intratumoral proliferation of effector cells. *Cancer Res.* 2005; 65: 9547–9554. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1175.
32. Титов К.С., Шубина И.Ж., Волков С.М. и др. Иммунотерапия опухолевых серозитов. В кн.: *Опухолевые серозиты: плевриты, асциты, перикардиты.* М: Практическая медицина. 2011: 233–258. [Titov K.S., Shubina I.Zh., Volkov S.M. et al. Immunotherapy of tumor serosites. In: *Opukholevye serozity: plevrity, astsity, perikardity.* (Tumor serosites: pleurisy, ascites, pericarditis.) Moscow: Prakticheskaya medicina. 2011; 233–258. (In Russ.)]
33. Manzo T., Heslop H.E., Rooney C.M. Antigen-Specific T Cell Therapies for Cancer. *Hum. Mol. Genet.* 2015; 24 (R1): R67–R73. DOI: 10.1093/hmg/ddv270.
34. Кит О.И., Никипелова Е.А., Шапошников А.В. и др. Воспаление и рак толстой кишки. Молекулярно-иммунологические механизмы. *Вопросы онкологии.* 2018; 64 (1): 34–40. [Kit O.I., Nikipelova E.A., Shaposhnikov A.V. et al. Inflammation and colon cancer. Molecular and immunological mechanisms. *Voprosy onkologii.* 2018; 64 (1): 34–40. (In Russ.)]
35. Crespo J., Sun H., Welling T.H. et al. T cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment. *Curr. Opin. Immunol.* 2013; 25: 214–221. DOI: 10.1016/j.coi.2012.12.003.
36. Cohen C.J., Gartner J.J., Horovitz-Fried M. et al. Isolation of neoantigen-specific T cells from tumor and peripheral lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 2015; 125 (10): 3981–3991. DOI:10.1172/JCI82416.
37. Reissfelder Ch., Stamova S., Gossmann Ch. et al. Tumor-specific cytotoxic T lymphocyte activity determines colorectal cancer patient prognosis. *J. Clin. Invest.* 2015; 125 (2): 739–751. DOI:10.1172/JCI74894.

38. Scurr M.J., Brown C.M., Costa Bento D.F. et al. Assessing the Prognostic Value of Preoperative Carcinoembryonic Antigen-specific T-cell Responses in Colorectal Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 2015; 107 (4): djv001. DOI: 10.1093/jnci/djv001.
39. Liu S.H., Zhang M., Zhang W.G. Strategies of antigen-specific T-cell-based immunotherapy for cancer. *Cancer Biother. Radiopharm.* 2005; 20 (5): 491–501. DOI: 10.1089/cbr.2005.20.491.
40. Dang Y., Knutson K.L., Goodell V. et al. Tumor Antigen-Specific T-Cell Expansion Is Greatly Facilitated by *In vivo* Priming. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13 (6): 1883–1891. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2083.
41. Mannino M.H., Zhu Z., Xiao H. et al. The paradoxical role of IL-10 in immunity and cancer. *Cancer Lett.* 2015; 367 (2): 103–107. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.07.009.
42. Wennhold K., Thelen M., Schlößer H.A. et al. Using Antigen-Specific B Cells to Combine Antibody and T Cell-Based Cancer Immunotherapy. *Cancer Immunol. Res.* 2017; 5 (9): 730–743. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0236.
43. Сенников С.В., Лопатникова Ю.А., Кузнецова М.С. и др. Способ получения *in vitro* популяций активированных антигенспецифических противоопухолевых цитотоксических Т-лимфоцитов, специфичных к эпитопам опухоли-ассоциированного антигена. Патент на изобретение № RU 2619186 С1. Бюлл. № 14 от 12.05.2017. [Sennikov S.V., Lopatnikova Yu.A., Kuznetsova M.S. et al. Method for production of *in vitro* populations of activated antigenspecific antitumor-tumor cytotoxic t-lymphocytes specific to tumor-associated antigen epitopes. Patent for invention №RU 2619186 S1. Byull. No 14 issued on 12.05.2017. (In Russ.)]
44. Galeano Nino J.L., Kwan R.Y.Q., Weninger W., Biro M. Antigen-specific T cells fully conserve antitumor function following cryopreservation. *Immunol Cell Biol.* 2016; 94: 411–418. DOI: 10.1038/icb.2015.105.
45. Chodon T., Comin-Anduix B., Chmielowski B. et al. Adoptive transfer of MART-1 T-cell receptor transgenic lymphocytes and dendritic cell vaccination in patients with metastatic melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2014; 20: 2457–2465. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-3017.
46. McGray A.J., Hallett R., Bernard D. et al. Immunotherapy-induced CD8⁺ T cells instigate immune suppression in the tumor. *Mol. Ther.* 2014; 22: 206–218. DOI: 10.1038/mt.2013.255.
47. Чикилева И.О., Велижева Н.П., Шубина И.Ж. и др. Содержание CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Т-регуляторных лимфоцитов в популяции лимфокин-активированных киллеров. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина.* 2008; (3): 16–25. [Chikileva I.O., Velizheva N.P., Shubina I.Zh., Titov K.S., Kiselevskiy M.V. The content of CD4⁺ CD25⁺ + FOXP3⁺ + T-regulatory lymphocytes in the population of lymphokine-activated killers. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina.* 2008; (3): 16–25. (In Russ.)]
48. Marabelle A., Kohrt H., Sagiv-Barfi I. et al. Depleting tumorspecific T regs at a single site eradicates disseminated tumors. *J. Clin. Invest.* 2013; 123: 2447–2463. DOI: 10.1172/JCI64859.
49. Morgan R.A., Dudley M.E., Wunderlich J.R. et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science.* 2006; 314 (5796): 126–129. DOI: 10.1126/science.1129003.
50. Павлова А.А., Масчан М.А., Пономарев В.Б. Адоптивная иммунотерапия генетически модифицированными Т-лимфоцитами, экспрессирующими химерные антигенные рецепторы. *Онкогематология.* 2017; 12 (1): 17–32. [Pavlova A.A., Maschan M.A., Ponomarev V.B. Adoptive immunotherapy with genetically modified T-lymphocytes expressing chimeric antigenic receptors. *Onkogematologiya.* 2017; 12 (1): 17–32. (In Russ.)] DOI: 10.17650/1818-8346-2017-12-1-17-32.
51. Deng Zh., Wu Ya., Ma W., Zhang Sh., Zhang Yu-Q. Adoptive T-cell therapy of prostate cancer targeting the cancer stem cell antigen EpCAM. *BMC Immunol.* 2015; 16: 1. DOI:10.1186/s12865-014-0064-x.
52. Lee D.W., Barrett D.M., Mackall C., Orentas R., Grupp S.A. The Future Is Now: Chimeric Antigen Receptors as New Targeted Therapies for Childhood Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18 (10): 2780–2790. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-11-1920.
53. Ahmed N., Brawley V.S., Hegde M. et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) –Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. *J. Clin. Oncol.* 2015; 33 (15): 1688–1696. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.0225.
54. Rosenberg S.A., Yang J.C., Sherry R.M. et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17: 4550–4557. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0116.
55. Kitano S., Tsuji T., Liu C. et al. Enhancement of tumor-reactive cytotoxic CD4⁺ T cell responses after ipilimumab treatment in four advanced melanoma patients. *Cancer Immunol. Res.* 2013; 1 (4): 235–244. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0068.
56. Carluccio S., Delbue S., Signorini L. et al. Generation of tumor-specific cytotoxic T-lymphocytes from the peripheral blood of colorectal cancer patients for adoptive T-cell transfer. *J. Cell Physiol.* 2015; 230 (7): 1457–1465. DOI: 10.1002/jcp.24886.
57. Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Останин А.А. и др. Способ иммунотерапии злокачественных опухолей головного мозга. Патент на изобретение № RU 2262941 С2 Бюлл. №30 от 27.10.2005. [Chernykh E.R., Leplina O.YU., Ostanin A.A. et al. Method for immunotherapy of cerebral malignant tumors. Patent for invention № RU 2262941 S2. Byull. №30 issued on 27.10.2005. (In Russ.)]
58. Hong Yu-P., Li Zi-D., Prasoon P., Zhang Q. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: From basic research to clinical use. *World J. Hepatol.* 2015; 7 (7): 980–992. DOI: 10.4254/wjh.v7.i7.980.
59. John L.B., Devaud C., Duong C.P. et al. Anti-PD-1 antibody therapy potently enhances the eradication of established tumors by gene- modified T cells. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19: 5636–5646. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0458.
60. Сverdlov Е.Д. Многомерная сложность рака: нужны простые решения. Обзор. *Биохимия.* 2016; (7): 962–970. [Sverdlov E.D. The multidimensional complexity of cancer: simple solutions are needed. Review. *Biokhimiya.* 2016; (7): 962–970. (In Russ.)]