

Опухолевое микроокружение как мишень терапии злокачественных глиом

Tumor microenvironment as a target of malignant gliomas treatment

Цитирование: Borisov K. E., Sakaeva D. D. Tumor microenvironment as a target of malignant gliomas treatment. *Malignant Tumours* 2015; 4:14-23

DOI: 10.18027/2224-5057-2015-4-14-23

Клетки микроглии в злокачественных глиомах тесным образом взаимодействуют с опухолевыми клетками. Микроокружение обеспечивает локальную иммуносупрессию, которая способствует ускользанию опухоли от иммунного контроля со стороны организма. Многочисленные цитокины, секретируемые микроокружением обеспечивают выживание, питание, рост, пролиферацию и инвазию опухолевых клеток. Лечебное воздействие на микроокружение является не менее значимым, чем традиционная цитостатическая терапия. Перспективными представляются методы терапии, направленные на снижение рекрутинга иммунных клеток и их количества в ткани опухоли, на нейтрализацию иммуносупрессивных свойств микроглии и/или инверсию ее супрессивного фенотипа, а также на растормаживание и стимуляцию тумороцидных функций микроокружения.

Summary

Microglial cells in malignant gliomas closely interact with tumor cells. Microenvironment provides local immunosuppression, which promotes escape of tumors from immune system control. Numerous cytokines secreted by microenvironment support survival, nutrition, growth, proliferation and invasion of tumor cells. Microenvironment-targeted therapy is no less important than the traditional cytostatic therapy. Seem promising therapies aimed at reducing the recruitment of immune cells and their amounts in the tumor tissue, at neutralization of the immunosuppressive properties of microglia and / or inversion of its suppressive phenotype, as well as disinhibition and stimulation of antineoplastic functions of microenvironment.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

злокачественные глиомы, микроокружение, противоопухолевое лечение

KEY WORDS

malignant gliomas, microenvironment, antineoplastic treatment

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Борисов Константин Евгеньевич – к.м.н., врач-онколог ГУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Башкортостан, e-mail: konstantin9671@rambler.ru

Сакаева Дина Дамировна – д.м.н., зам. гл. врача по химиотерапии, ГУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Башкортостан, Уфа, e-mail: d_sakaeva@mail.ru

CONTACT INFORMATION

Borisov Konstantin Evgen'evich – MD, PhD, Oncologist, Republican Clinical Dispensary, Ministry of Health of the Republic of Bashkortostan, e-mail: konstantin9671@rambler.ru

Sakaeva Dina Damirovna – MD, PhD, DSc, Deputy Chief Physician in chemotherapy in Republican Clinical Oncological Health Center of Republic of Bashkortostan Ministry of Health, Ufa, e-mail: d_sakaeva@mail.ru

Клетки микроглии составляют от 5% до 20% клеточного состава центральной нервной системы (ЦНС), что сопоставимо с количеством нейронов [1]. По своим генным характеристикам микроглия очень близка к моноцитам/макрофагам костномозгового происхождения. Недавние исследования показали, что микроглия происходит из макрофагов желточного мешка, которые мигрируют в ЦНС на ранних стадиях эмбриогенеза, а тканевые макрофаги происходят из моноцитов крови [2]. В отсутствие патологического повреждения, клетки микроглии являются практически единственными иммунными клетками в ЦНС. Они медленно самовоспроизводятся без рекрутирования своих моноцитарных предшественников из крови. Однако при различных патологических состояниях, в том числе при злокачественных глиомах (ЗГ), происходит цитокиновая модуляция проницаемости гемато-энцефалического барьера (ГЭБ). Как следствие, в ткань ЦНС проникает множество иммунных клеток миелоидного и лимфоидного происхождения, в результате чего иммуноцитологический профиль ЦНС становится намного более разнообразным. Гистологическое исследование опухолей мозга показало, что ткань ЗГ обильно инфильтрирована иммунными клетками, доля которых может достигать 30% от всей клеточной массы опухоли. Среди них присутствуют глиома-ассоциированная микроглия/макрофаги (ГАММ), дендритные клетки (ДК), супрессорные клетки миелоидного происхождения (СКМП), различные субпопуляции лимфоцитов, в том числе Т-хелперы 1 типа (Тх1), Т-хелперы 2 типа (Тх2), регуляторные Т-лимфоциты (Трег), натуральные киллеры (НК), тучные клетки. Исследования 90-х годов продемонстрировали взаимосвязь между степенью инфильтрации опухоли иммунными клетками, злокачественностью глиомы и долей стволовых клеток глиомы (СКГ) в ткани опухоли. Однако долгое время было неясно, является ли реакция микроглии противоопухолевым защитным механизмом, или же микроглия способствует росту опухоли и пролиферирует вместе с опухолевыми клетками. В настоящее время стало ясно, что клетки опухоли и клетки микроокружения находятся в тесном контакте и активно взаимодействуют. Более того, опухоль активно привлекает иммунокомпетентные клетки путем секреции различных хемокинов, цитокинов и матриксных протеинов. Идентифицировано несколько десятков хемокинов, ответственных за хемоаттракцию иммунных клеток в ткань опухоли. Основными являются протеины семейства CC-хемокинов (особенно CCL2, CCL3, CCL7), колоние-стимулирующие факторы, интерлейкины-1 β , -6, -8, фактор роста гепатоцитов (HGF), вазоэндотелиальный фактор роста (VEGF), фактор некроза опухоли α (TNF α), простагландин E 2. Однако в ткани опухоли иммунные клетки не выполняют свои защитные опухолецидные функции, а напротив, способствуют опухолевому росту и прогрессии [3]. Это связано с приобретением микроглией-иммуносупрессивных и туморопротективных свойств. Данные изменения функции микроглии (равно как и рекрутинг

иммунных клеток из периферической крови) происходят под влиянием опухолевых цитокинов и обозначаются как иммуносупрессивная M2-поляризация микроглии.

M2-микроглия отличается рядом особенностей. В частности у M2-клеток существенно снижена экспрессия молекул главного комплекса гистосовместимости II типа (major histocompatibility complex – MHCII), которые необходимы для презентации антигенов Т-лимфоцитам. Также снижена экспрессия костимуляторных молекул B7–1 (CD80) и B7–2 (CD86), которые при взаимодействии со своими рецепторами CD28 на поверхности Т-лимфоцитов вызывают их активацию [4]. Вместо B7–1 M2-поляризованные клетки экспрессируют в повышенных количествах B7-гомолог1 (B7-H1, CD274), более известный как PD-L1 (programmed death-ligand 1). В отличие от B7–1 и B7–2 он осуществляет не иммуностимулирующие, а иммуносупрессивные функции при взаимодействии со своим рецептором PD-1 на поверхности Т-клеток.

Существенные изменения происходят в функционировании толл-подобных рецепторов (Toll-like receptors – TLR). TLR это семейство рецепторов, необходимых для распознавания чужеродных антигенов и индукции адаптивного иммунитета. Клетки микроглии являются основными TLR-экспрессирующими клетками в ЦНС. Взаимодействие TLR со своими лигандами приводит к активации MAPK-каскада и NF- κ B-каскада с последующей секрецией провоспалительных цитокинов, таких как TNF α , IFN γ , IL-12, каждый из которых способен лимитировать опухолевый рост. Однако в M2-поляризованной микроглии, несмотря на достаточную экспрессию TLR, их функциональная активность минимальна и секреции провоспалительных цитокинов не наблюдается.

Другой особенностью M2-поляризованной микроглии является активация STAT3-сигнального пути и продукция иммуносупрессивных и туморогенных цитокинов (таблица 1), среди которых ведущую роль играют трансформирующий фактор роста β (TGFB), интерлейкин-10, простагландин E 2.

Еще одной характерной чертой опухолевого микроокружения является непропорционально высокая доля регуляторных Т-лимфоцитов (Трег), обладающих иммуносупрессивными свойствами. Если в норме доля Трег составляет 5–10% от всех циркулирующих CD4+ Т-лимфоцитов, то в ткани ЗГ она достигает 48–53% при глиомах grade III–IV и 83% при глиосаркоме [5]. Трег экспрессируют многие клеточные детерминанты, в том числе рецептор α IL-2 (IL-2R α , CD25) и CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CD152). Количество Трег в опухоли коррелирует с уровнем экспрессии опухолевыми клетками энзима индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO), которая ответственна за катаболизм триптофана и способствует привлечению Трег в ткань опухоли.

В целом, опухоль формирует вокруг себя специфическое иммуносупрессивное микроокружение. Локальная и об-

щая иммуносупрессия способствуют ускользанию опухоли от иммунного контроля со стороны организма. Секретция клетками микроокружения многочисленных цитокинов способствует росту, инвазии и ангиогенезу в опухоли. Таким образом, клетки микроокружения в ЗГ тесным образом взаимодействуют с опухолевыми клетками. С одной стороны клетки глиомы привлекают иммунные клетки и изменяют их свойства, с другой стороны клетки микроокружения создают оптимальные условия для опухолевой прогрессии.

Учитывая тесное взаимодействие опухолевого микроокружения с клетками глиомы, лечебные стратегии, направленные на микроокружение, являются не менее значимыми, чем традиционная цитостатическая терапия. Целью терапевтического воздействия на микроокружение является ингибирование его иммуносупрессивных и туморогенных функций и/или повышение его цитотоксической противоопухолевой активности. Несмотря на впечатляющие успехи данного подхода при терапии многих злокачественных опухолей, при ЗГ методы воздействия на микроокружение находятся преимущественно на стадии опытов *in vitro* и животных моделей [6]. Тем не менее имеются определенные успехи в этом направлении. Перспективными представляются несколько лечебных стратегий, направленных на снижение количества иммуносупрессивных клеток в опухоли, подавление их иммуносупрессивных свойств или восстановление их нормального функционирования.

СНИЖЕНИЕ РЕКРУТИНГА ИММУНОСУПРЕССИВНЫХ КЛЕТОК В ТКАНЬ ОПУХОЛИ

Торможение рекрутинга иммунных клеток и снижение их аккумуляции в ткани глиомы можно достичь воздействием на хемоаттрактанты, отвечающие за привлечение клеток

в ткань опухоли, или их рецепторы. Первым идентифицированным и одним из наиболее мощных хемоаттрактантов является MCP-1 (monocytechemotacticprotein-1, также известный как CCL2) [7]. Было показано, что системная блокада CCL2 существенно снижала степень моноцитарно-макрофагальной инфильтрации опухоли, а в комбинации с темозоломидом значительно увеличивала выживаемость подопытных животных [8]. Могамулизумаб, моноклональное антитело к CCR4 (рецептору к CCL2 и CCL22), одобрен к применению при рефрактерных Т-клеточных лимфомах/лейкозах [9]. Продолжается его изучение при других опухолях [10]. Другие препараты этой группы находятся в процессе разработки [11].

Другим хемоаттрактантом, который может быть мишенью противоопухолевой терапии, является простагландин E 2 (PGE2). Блокирование циклооксигеназы-2 (которая отвечает за синтез PGE2 из арахидоновой кислоты) с помощью ацетилсалициловой кислоты или целекоксиба приводило к снижению продукции PGE2, CCL2 и торможению роста глиомы, а также к уменьшению числа СКМП как в периферической крови, так и в ткани глиомы [12].

ДЕПЛЕЦИЯ ИММУНОСУПРЕССИВНЫХ КЛЕТОК В ТКАНИ ОПУХОЛИ

Добиться уменьшения количества иммунных клеток в ткани опухоли можно путем назначения некоторых химиотерапевтических средств, таких как темозоломид, циклофосфамид, гемцитабин, 5-фторурацил [13, 14]. Была показана способность темозоломида блокировать пролиферацию лимфоцитов и особенно иммуносупрессивных Трег [15], а также препятствовать проникновению Трег в опухолевое микроокружение [16]. Особенно эффективно оказалось назначение темозоломида совместно с пептидной вакциной против мутантного варианта рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII). Это связано, в том числе, с мак-

симальной деплецией Трег, облегчающей действие вакцины. Данная стратегия в настоящее время активно изучается в клинических исследованиях.

Метроромное назначение циклофосфамида обладает иммуностимулирующим действием, которое включает в себя преимущественное подавление функции Трег, увеличение инфильтрации опухоли эффекторными CD4+ и CD8+ Т-клетками и макрофагами, повышение миграционной способности дендритных клеток (ДК) с улучшением их антигепрезентирующих

Таблица 1.

Туморогенные свойства глиома-ассоциированной микроглии/макрофагов

Туморогенный эффект	Цитокины
Локальная иммуносупрессия	TGFβ, IL-10, PGE2, CCL2, CCL17, CCL18, CCL22
Ингибирование апоптоза опухолевых клеток	CSF, FasL
Рост опухоли	CXCL8, CXCL12, ST11, EGF, ростовые факторы
Ангиогенез в опухоли	VEGF, FGF, TNF, CCL2, HGF/SF
Ремоделирование межклеточного матрикса и опухолевая инвазия	Металлопротеиназы, TNF, TGFβ, HGF/SF, ST11

свойств [17]. Показано синергичное действие циклофосфамида и иммунотерапии [18]. При глиомах циклофосфамид изучался в исследовании I фазы Plautzetal [19], где он назначался перед адоптивной Т-клеточной терапией. Однако клиническая значимость данной иммунотерапевтической стратегии пока остается недоказанной.

Имеются противоречивые данные об эффективности сунитиниба, который оказался неэффективным при ЗГ, однако оказывал потенцирующее действие при лечении темозоломидом [20], а кроме этого подавлял секрецию иммуносупрессивных эффекторов, таких как IL-10 и PD-L1, в опытах *in vivo* [21].

Изучается возможность снижения количества иммуносупрессивных клеток микроокружения путем их дифференцировки. Было показано, что трансретиноевая кислота (АТРА) вызывает дифференцировку стволовых клеток глиомы (СКГ), что приводит к замедлению роста опухоли [22]. Основным механизмом дифференцирующего действия АТРА является повышение синтеза глутатиона и, соответственно, снижение уровня реактивных форм кислорода (РФК) [23]. Кроме воздействия на СКГ АТРА также вызывает дифференцировку СКМП в ДК и макрофаги [24], но имеет ли это значение для глиом, в которых подавляющее большинство СКМП принадлежат не к моноцитарному, а к гранулоцитарному ряду, пока остается неизвестным.

НЕЙТРАЛИЗАЦИЯ КЛЕТОЧНЫХ ДЕТЕРМИНАНТ, ОБУСЛОВЛИВАЮЩИХ ИММУНОСУПРЕССИВНЫЕ СВОЙСТВА КЛЕТОК МИКРООКРУЖЕНИЯ

Нейтрализации туморогенных свойств микроокружения можно добиться через воздействие на их мембранные рецепторы, определяющие иммуносупрессивное поведение, такие как IL-2R α , CTLA-4 и другие. В исследованиях на мышинных моделях мультиформной глиобластомы (МГБ) блокирование IL-2R α приводило к снижению количества периферических Трег, ингибированию их иммуносупрессивных функций и улучшению Т-клеточного ответа [25, 26]. Даклизумаб, моноклональное антитело к IL-2R α , в комбинации с активной вакцинацией против EGFRvIII находится в I/II фазе клинического изучения. Было показано, что уже однократное введение даклизумаба приводило к деплеции циркулирующих Трег, причем этот эффект сохранялся не менее 120 дней. Несмотря на отсутствие при лечении даклизумабом значимого увеличения количества Т-эффекторов, наблюдалось тем не менее увеличение продукции ими IFN- γ , что свидетельствует о восстановлении их нормального функционирования [27].

Кроме моноклонального антитела к CD25 также изучались иммуноконъюгаты, в частности денileyкиндифтитокс (ре-

комбинантный дифтерийный токсин, конъюгированный с IL-2) [28] и некоторые другие, однако пока эти исследования находятся на этапе животных моделей.

Другой мишенью может быть CTLA-4, который конститутивно экспрессирован на Трег. Подобно CD28 CTLA-4 (CD152) является рецептором для костимуляторных молекул CD80 (B7-1) и CD86 (B7-2), однако в отличие от CD28, который является стимулятором функции лимфоцитов, CTLA-4 негативно регулирует активность Т-лимфоцитов через индукцию индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) и трансформирующего фактора роста β (TGFB) [29, 30]. Несколько исследований показали, что блокада CTLA-4 усиливает противоопухолевый иммунный ответ путем отмены супрессии эффекторных Т-лимфоцитов и непрямого инактивации Трег. В исследовании Fecchetal [31] назначение моноклонального антитела к CTLA-4 (ипилимумаб) обеспечило длительную выживаемость 80% подопытных животных с ксенографтами злокачественной астроцитомы. К сожалению, эффективность данной лечебной стратегии в человеческой популяции ещё только предстоит оценить. В настоящее время изучается целесообразность добавления ипилимумаба к темозоломиду при вновь выявленных МГБ (исследование NCT 02311920).

В клетках глиомы и в М2-поляризованной микроглии наблюдается повышенная экспрессия PD-L1 (programmed death ligand 1, CD274), которая осуществляет иммуносупрессивные функции при взаимодействии со своим рецептором PD-1 (programmed cell death protein 1, CD279) на поверхности Т-клеток. Разработаны и активно изучаются в клинических исследованиях моноклональные антитела к PD-1 и PD-L1 [32]. Доклинические исследования показали, что анти-PD-1 блокада в комбинации с ЛТ приводила к двукратному увеличению выживаемости подопытных животных с ксенографтами злокачественных глиом по сравнению с контролем и с каждым из означенных методов в отдельности [33]. Полностью человеческое анти-PD-1-антитело ниволумаб изучается в комбинации с темозоломидом при вновь выявленных МГБ (исследование NCT 02311920) и сравнивается с бевацизумабом при рецидивах МГБ (исследование NCT 02017717). И в том и в другом исследовании у части больных ниволумаб комбинируется с ипилимумабом. Пембролизумаб – еще одно моноклональное антитело к PD-1 планируется к изучению при рецидивах МГБ в монорежиме или в комбинации с бевацизумабом (NCT 02337491), лучевой терапией (NCT 02313277) и лазерной аблацией рецидивной опухоли (NCT 02311582). Также проводится исследование пидилизумаба (CT-011) при рецидивах МГБ (NCT 01952769). Антитело к PD-L1 MEDI4736 планируется к изучению при первичных и рецидивных глиобластомах (NCT 02336165). Поскольку экспрессия PD-L1 часто бывает связана с мутацией PTEN, то воздействие на PI3K/mTOR – сигнальный каскад с помощью ин-

гибиторов mTOR способно уменьшить экспрессию PD-L1 и улучшить функцию Т-лимфоцитов [34]. Однако большинство клинических исследований продемонстрировало неэффективность ингибиторов mTOR при ЗГ.

В связи с доказанной иммуносупрессивной направленностью, IDO также является привлекательной мишенью для терапевтического воздействия. Препарат D1-MT, ингибитор IDO, изучается в нескольких клинических исследованиях при различных злокачественных опухолях [35]. Одновременное блокирование CTLA-4, PD-L1 и IDO в опытах на мышинных моделях интракраниальных глиом привело к существенному снижению количества Трег и увеличению выживаемости [36]. При этом блокирование только CTLA-4 и PD-L1 обеспечивало такую же выживаемость подопытных животных, как и тройная блокада, хотя при тройной блокаде наблюдалось достоверно более глубокое снижение количества Трег, чем при двойной блокаде (5,3% vs 38%, $p < 0,001$) [37]. Примечательно, что в данном исследовании темозоломид не показал синергизма с CTLA-4/PD-L1/IDO блокадой, напротив, конкурентное назначение темозоломида приводило к снижению выживаемости. То есть вопрос о синергизме или антагонизме иммунотерапии и химиотерапии остается до конца нерешенным.

Поскольку клетки микроглии экспрессируют фолатный рецептор β (FR β), возможно его использование как мишени для терапии. Назначение рекомбинантного иммунотоксина к этому рецептору подавляло иммуносупрессивную микроглию и тормозило рост опухоли [38]. Определенные надежды возлагались на терапию, направленную на интегрин, поскольку было показано, что интегрин $\alpha 5\beta 1$ промотирует рост опухоли через взаимодействие с микроокружением. Однако недавнее исследование Stupp et al [39] не показало улучшения результатов лечения МГБ при добавлении циленгитида (ингибитора интегрин) к стандартному химиолучевому лечению.

ИНВЕРСИЯ СУПРЕССИВНОГО ФЕНОТИПА И СТИМУЛЯЦИЯ ЦИТОТОКСИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРОГЛИИ

Изучается несколько терапевтических подходов для «переключения» функций микроглии с иммуносупрессивных на тумороцидные. Одним из них является стимуляция ГАММ интерлейкином-12, что приводит к повышению их фагоцитарной активности и высвобождению TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand или CD253), который обеспечивает апоптоз опухолевых клеток [40].

Также возможно воздействие на толл-рецепторы (TLR – toll-like receptors) – рецепторы, необходимые для распознавания

чужеродных агентов и индукции адаптивного иммунитета. Несмотря на достаточно высокую экспрессию толл-рецепторов на клетках опухолевой микроглии, их функциональная активность снижена, что проявляется снижением секреции провоспалительных цитокинов. Были предприняты попытки стимуляции функции TLR. Keeset al [41] показали, что микроглия, изолированная из ткани глиомы, способна поддерживать рост, миграцию и инвазию опухолевых клеток. Однако после воздействия polyI: C (polyinosinic: polycytidylic acid – агонист TLR3) клетки микроглии меняли свой фенотип и приобретали цитотоксические тумороцидные свойства. Немаловажно, что данные эффекты носили туморо-специфический характер, то есть клетки микроглии не повреждали нейроны и неопухолевые астроциты. Агонист TLR9 CpG-ODN (CpG oligodeoxynucleotides) при однократном интратуморальном введении эффективно блокировал рост глиомы у 80% подопытных животных [42]. По сравнению с некоторыми другими агонистами TLR этот препарат оказывал наиболее выраженное противоопухолевое действие, для максимальной реализации которого была необходима экспрессия TLR9 на окружающих неопухолевых клетках [43]. Имиквимод (агонист TLR7), одобренный к применению при кожных опухолях, способствовал увеличению выживаемости животных с интракраниальной глиобластомой. Это сопровождалось генерализованной лимфопенией и уменьшением количества Трег в периферической крови и ткани опухоли с одновременным усилением инфильтрации ткани опухоли эффекторными CD4+ CD8+ лимфоцитами и ДК [44].

Другой мишенью для терапевтического воздействия может служить рецептор макрофагального колониестимулирующего фактора CSF-1. Исследование Ryonteck et al [45] на моделях МГБ показало, что блокада рецептора CSF-1, который отвечает за рекрутирование макрофагов в ткань опухоли и за их M2-поляризацию, приводила к снижению экспрессии M2-ассоциированных генов и торможению опухолевого роста. Но при этом необходимо отметить, что полной инверсии фенотипа ГАМ не происходило и одновременного увеличения экспрессии M1-ассоциированных генов не отмечалось. Соответственно, остается открытым вопрос, будет ли одного подавления M2-фенотипа без последующего восстановления M1-фенотипа достаточно для контроля опухолевого роста не только на доклинических моделях, но и у пациентов с МГБ.

Новый иммунотерапевтический агент гликопептид T11TS, представляющий из себя лиганд к костимуляторному рецептору CD2 на Т-клетках, также продемонстрировал противоопухолевую активность [46]. Она была обусловлена с одной стороны иммуно-опосредованным апоптозом опухолевых клеток, а с другой стороны негативной модуляцией экспрессии матриксных металлопротеиназ 2 и 9 (MMP-2, -9), интегрин α ,

TGF β , равно как и снижением экспрессии эндотелиальных маркеров CD31 и CD34 с одновременным увеличением экспрессии тканевых ингибиторов металлопротеиназ TIMP-1 и TIMP-2, то есть антиангиогенными эффектами [47].

Несколько лекарственных препаратов продемонстрировали способность стимулировать тумороцидные свойства микроглии [48]. Антибиотик миноциклинагидрохлорид, в силу своей высокой липофильности, легко всасывается после перорального применения и преодолевает гематоэнцефалический барьер. Была показана его способность ослаблять туморогенные эффекты ГАММ путем ингибирования p38 MAP-киназы, ответственной за активность металлопротеиназы МТ 1-MMP [49], а также путем снижения секреции провоспалительных цитокинов как клетками опухоли, так и микроглией [50]. Все это приводило к уменьшению инвазивных свойств клеток опухоли. Аналогичные эффекты наблюдались при использовании циклоспорина А [51], который также подавлял ангиогенез и стимулировал апоптоз в опухоли, и при применении пропентофилина (производного метилксантина) [52].

БЛОКИРОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МИШЕНЕЙ ИММУНОСУПРЕССИИ И ТУМОРОГЕНЕЗА

Одной из потенциальных мишеней может быть STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3), который является одним из ключевых внутриклеточных медиаторов. В клетках опухолевого микроокружения активность STAT3 значительно повышена, что проявляется гиперэкспрессией IL-6, IL-10 и снижением экспрессии IL-1 β [53]. Блокирование функции STAT3 на мышиных моделях глиом приводило к активации микроглии и торможению опухолевого роста, что сопровождалось снижением экспрессии IL-10 и CD163 (маркеров иммуносупрессивного M2-фенотипа [54]) и других мишеней STAT3 (с-тус, циклин D1, сурвивин, HIF-1 α , VEGF). Немаловажно, что блокирование STAT3 отражалось также на СКГ и проявлялось снижением экспрессии СКГ-ассоциированных маркеров (CD44, CD133, Nanog, нестин) [55]. Несколько малых молекул, ингибиторов STAT3 и/или его активатора JAK2 (янус-киназа 2), такие как JSI-124, AZD1480, WP1066, STX-0119, NSC74859, изучаются на клеточных линиях и в животных моделях [55–58]. Руксолитиниб (ингибитор JAK1 и JAK2) одобрен к применению при миелофиброзе [59] и в настоящее время исследуется при других опухолях. Поскольку активность JAK2/STAT3-каскада регулируется через рецепторы IL-6 (IL-6R), то они тоже могут быть мишенями терапии. При МГБ тоцилизумаб, антитело к IL-6R, продемонстрировал антипролиферативную активность в опытах *in vitro* [60].

Трансформирующий ростовой фактор-бета (TGF- β) является одним из наиболее мощных иммуносупрессивных цитокинов и экспрессируется как клетками глиомы, так и микроглией. Блокирование TGF- β с помощью специфических моноклональных антител [61, 62], ингибиторов рецептора TGF- β (TGF- β R1) [63] или антисмысловых олигонуклеотидов представляется заманчивой целью терапии и может, в частности, усиливать эффективность вакцинирования ввиду более выраженного иммунного ответа.

Фресолимуаб (Fresolimumab), моноклональное антитело к TGF β 1, находится в I фазе клинических исследований при меланоме и почечно-клеточном раке [64], а кроме этого ожидаются результаты исследования NCT 01472731, где оценивалась возможность его применения при ЗГ. Пан-TGF- β -антитело 1D11, нейтрализующее все изоформы TGF- β , изучалось на животных моделях злокачественных глиом, где показало значимую противоопухолевую активность [61, 65].

Трабедерсен (AP12009) – антисмысловый нуклеотид, выключающий функцию гена TGF- β 2, изучался в небольшом рандомизированном исследовании при рецидивах ЗГ [66]. Хотя исследование имело существенные методологические дефекты и было подвергнуто заслуженной критике, тем не менее медиана ОВ больных рецидивной АА составила 39,1 месяца в сравнении с 21,7 месяца на химиотерапии (темозоломид или PCV), что заслуживает внимания.

Несколько малых молекул ингибиторов TGF β R (LY2109761, LY364947) могут использоваться как модуляторы активности ГАММ. LY2109761, ингибитор серин-треониновой киназы рецептора TGF- β R1, изучался на ксенографтах различных линий МГБ в комбинации с темозоломидом и лучевой терапией [67]. Было показано тормозящее влияние LY2109761 на рост опухоли как в монотерапии, так и в комбинации, что коррелировало с увеличением выживаемости подопытных животных. На микроскопическом уровне отмечалось увеличение чувствительности клеток опухоли, в том числе СКГ, к облучению и темозоломиду, проявляющееся высокой долей клеток в состоянии апоптоза, торможением опухолевой инвазии, уменьшением сосудистой плотности в опухоли [68]. Особенно эффективным было подавление роста опухолей с метилированным геном-промотором MGMT, то есть резистентных к темозоломиду.

Также рассматривается возможность использования в качестве мишеней для терапевтического воздействия GITR, OX40, FoxP3 [35, 69]. Соответствующие исследования в настоящее время проводятся у больных метастатической меланомой, однако у больных ЗГ эффективность данных стратегий ещё только предстоит оценить.

Таким образом, в последние годы возникло и укрепилось понимание того, что микроокружение ЗГ не является простым «статистом», а принимает активное участие в жизнедеятельности опухоли, обеспечивая выживание, питание,

рост, пролиферацию и миграцию злокачественных клеток. Очевидно, что одновременное воздействие как на клетки опухоли, в том числе стволовые, так и на клетки микроокружения способно обеспечить большую эффективность лечения по сравнению со стандартной цитотоксической терапией. Несмотря на то, что большинство исследований в области таргетирования опухолевого микроокружения

ЗГ находится на ранних фазах, можно надеяться, что новый подход, основанный на глубоком знании биологии и взаимоотношений клеток опухоли, даст свои плоды уже в ближайшем будущем, что приведет к изменению парадигмы противоопухолевого лечения с обязательным включением в него препаратов, воздействующих на стволовые клетки глиом и клетки микроокружения.

ЛИТЕРАТУРА • REFERENCES

1. Kettenmann H., Hanisch U. K., Noda M., Verkhratsky A. Physiology of microglia. *Physiological Review*. 2011; 91 (2): 461–553.
2. Ginhoux F., Greter M., Leboeuf M., Nandi S., See P., Gokhan S., Mehler M. F., Conway S. J., Ng L. G., Stanley E. R., Samokhvalov I. M., Merad M. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science*. 2010; 330 (6005): 841–5.
3. Albesiano E., Han J. E., Lim M. Mechanisms of local immunoresistance in glioma. *Neurosurgery Clinics of North America*. 2010; 21 (1): 17–29.
4. Hussain S. F., Yang D., Suki D., Aldape K., Grimm E., Heimberger A. B. The role of human glioma-infiltrating microglia/macrophages in mediating antitumor immune response. *Neuro-Oncol*. 2006; 8 (3): 261–79.
5. Heimberger A. B., Abou-Ghazal M., Reina-Ortiz C., Yang D. S., Sun W., Qiao W., Hiraoka N., Fuller G. N. Incidence and prognostic impact of FoxP3+ regulatory T cells in human gliomas. *Clin. Cancer Res*. 2008; 14 (16): 5166–72.
6. Najjar Y. G., Finke J. H. Clinical perspectives on targeting of myeloid derived suppressor cells in the treatment of cancer. *Front. Oncol*. 2013; 3: 49.
7. Desbaillets I., Tada M., De Tribolet N., Diserena A. C., Hamou M. F., Van Meir E. G. Human astrocytomas and glioblastomas express monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) *in vivo* and *in vitro*. *Int. J. Cancer*. 1994; 58 (2): 240–7.
8. Zhu X., Fujita M., Snyder L. A., Okada H. Systemic delivery of neutralizing antibody targeting CCL2 for glioma therapy. *J. Neuro-Oncol*. 2011; 104 (1): 83–92.
9. Remer M., Al-Shamkhani A., Glennie M., Johnson P. Mogamulizumab and the treatment of CCR4-positive T-cell lymphomas. *Immunother*. 2014; 6 (11): 1187–206.
10. Bayry J., Tartour E., Tough D. F. Targeting CCR4 as an emerging strategy for cancer therapy and vaccines. *Trends Pharmacol. Sci*. 2014; 35 (4): 163–5.
11. Cahn A., Hodgson S., Wilson R., Robertson J., Watson J., Beerah M., Hughes S. C., Young G., Graves R., Hall D., van Marle S., Solari R. Safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of GSK2239633, a CC-chemokine receptor 4 antagonist, in healthy male subjects: results from an open-label and from a randomised study. *BMC Pharmacol. Toxicol*. 2013; 14: 14.
12. Fujita M., Kohanbash G., Fellows-Mayle W., Hamilton R. L., Komohara Y., Decker S. A., Ohlfest J. R., Okada H. COX-2 blockade suppresses gliomagenesis by inhibiting myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res*. 2011; 71 (7): 2664–74.
13. Banissi C., Ghiringhelli F., Chen L., Carpentier A. F. Treg depletion with a low-dose metronomic temozolomide regimen in a rat glioma model. *Cancer Immunol. Immunother*. 2009; 58 (10): 1627–34.
14. Ghiringhelli F., Menard C., Puig P. E., Ladoire S., Roux S., Martin F., Solary E., Le Cesne A., Zitvogel L., Chauffert B. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+CD25+ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. *Cancer Immunol. Immunother*. 2007; 56(5):641–8.
15. Heimberger A. B., Sun W., Hussain S. F., Dey M., Crutcher L., Aldape K., Gilbert M., Hassenbusch S. J., Sawaya R., Schmittling B., Archer G. E., Mitchell D. A., Bigner D. D., Sampson J. H. Immunological responses in a patient with glioblastomamultiforme treated with sequential courses of temozolomide and immunotherapy: case study. *NeuroOncol*. 2008;10(1):98–103.
16. Jordan J. T., Sun W., Hussain S. F., DeAngulo G., Prabhu S. S., Heimberger A. B. Preferential migration of regulatory T cells mediated by glioma-secreted chemokines can be blocked with chemotherapy. *Cancer Immunol. Immunother*. 2008; 57 (1): 123–31.

17. Nakahara T., Uchi H., Lesokhin A. M., Avogadri F., Rizzuto G. A., Hirschhorn-Cymerman D., Panageas K. S., Merghoub T., Wolchok J. D., Houghton A. N. Cyclophosphamide enhances immunity by modulating the balance of dendritic cell subsets in lymphoid organs. *Blood*. 2010;115(22):4384–92.
18. Höftl L., Ramoner R., Zelle-Rieser C., Gander H., Putz T., Papesch C., Nussbaumer W., Falkensammer C., Bartsch G., Thurnher M. Allogeneic dendritic cell vaccination against metastatic renal cell carcinoma with or without cyclophosphamide. *Cancer Immunol. Immunother.* 2005;54(7):663–70.
19. Plautz G. E., Miller D. W., Barnett G. H., Stevens G. H., Maffett S., Kim J., Cohen P. A., Shu S. T. cell adoptive immunotherapy of newly diagnosed gliomas. *Clin. Cancer Res.* 2000;6(6):2209–18.
20. Czabanka M., Bruenner J., Parmaksiz G., Brogini T., Topalovic M., Bayerl S. H., Auf G., Kremenetskaia I., Nieminen M., Jabouille A., Mueller S., Harms U., Harms C., Koch A., Heppner F. L., Vajkoczy P. Combined temozolomide and sunitinib treatment leads to better tumour control but increased vascular resistance in O6-methylguanine methyltransferase-methylated gliomas. *Eur. J. Cancer*. 2013;49(9):2243–52.
21. Ozao-Choy J., Ma G., Kao J., Wang G. X., Meseck M., Sung M., Schwartz M., Divino C. M., Pan P. Y., Chen S. H. The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies. *Cancer Res.* 2009;69(6):2514–22.
22. Niu C. S., Li M. W., Ni Y. F., Chen J. M., Mei J. M., Li J., Fu X. M. Effect of all-trans retinoic acid on the proliferation and differentiation of brain tumor stem cells. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 2010;29: e113.
23. Nefedova Y., Fishman M., Sherman S., Wang X., Beg A. A., Gabrilovich D. I. Mechanism of all-trans retinoic acid effect on tumor-associated myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res.* 2007; 67 (22): 11021–8.
24. Hengesbach L., Hoag K. Physiological concentrations of retinoic acid favor myeloid dendritic cell development over granulocyte development in cultures of bone marrow cells from mice. *J. Nutr.* 2004; 134 (10): 2653–9.
25. Maes W., Verschuere T., Van Hoylandt A., Boon L., Van Gool S. Depletion of regulatory T cells in a mouse experimental glioma model through anti-CD25 treatment results in the infiltration of non-immunosuppressive myeloid cells in the brain. *Clin. Dev. Immunol.* 2013;2013: e952469.
6. Fecci P. E., Sweeney A. E., Grossi P. M., Nair S. K., Learn C. A., Mitchell D. A., Cui X., Cummings T. J., Bigner D. D., Gilboa E., Sampson J. H. Systemic anti-CD25 monoclonal antibody administration safely enhances immunity in murine glioma without eliminating regulatory T cells. *Clin. Cancer Res.* 2006;12(14 Pt 1):4294–305.
27. Sampson J. H., Schmittling R. J., Archer G. E., Congdon K. L., Nair S. K., Reap E. A., Desjardins A., Friedman A. H., Friedman H. S., Herndon J. E. 2nd, Coan A., McLendon R. E., Reardon D. A., Vredenburgh J. J., Bigner D. D., Mitchell D. A. A pilot study of IL-2R α blockade during lymphopenia depletes regulatory T-cells and correlates with enhanced immunity in patients with glioblastoma. *PLoS One* 2012; 7 (2): e31046.
28. Foss F. Clinical Experience With Denileukin Diftitox (ONTAK). *Semin. Oncol.* 2006; 33 (1 Suppl. 3): S11–6.
29. Friedline R. H., Brown D. S., Nguyen H., Kornfeld H., Lee J., Zhang Y., Appleby M., Der S. D., Kang J., Chambers C. A. CD4+ regulatory T cells require CTLA-4 for the maintenance of systemic tolerance. *J. Exp. Med.* 2009; 206 (2): 421–34.
30. Rudd C. E. The reverse stop-signal model for CTLA4 function. *Nat. Rev. Immunol.* 2008; 8 (2): 153–60.
31. Fecci P. E., Ochiai H., Mitchell D. A., Grossi P. M., Sweeney A. E., Archer G. E., Cummings T., Allison J. P., Bigner D. D., Sampson J. H. Systemic CTLA-4 blockade ameliorates glioma-induced changes to the CD4+ T cell compartment without affecting regulatory T-cell function. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13 (7): 2158–67.
32. Kim J. W., Eder J. P. Prospects for Targeting PD-1 and PD-L1 in Various Tumor Types. *Oncology (Williston Park)* 2014; 28 (11 Suppl. 3): 202332.
33. Zeng J., See A. P., Phallen J., Jackson C. M., Belcaid Z., Ruzevick J., Durham N., Meyer C., Harris T. J., Albesiano E., Pradilla G., Ford E., Wong J., Hammers H. J., Mathios D., Tyler B., Brem H., Tran P. T., Pardoll D., Drake C. G., Lim M. Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2013; 86 (2): 343–9.
34. Crane C., Panner A., Pieper R. O., Arbiser J., Parsa A. T. Honokiol-mediated inhibition of PI3K/mTOR pathway: a potential strategy to overcome immunoresistance in glioma, breast, and prostate carcinoma without impacting T cell function. *J. Immunother.* 2009. 32 (6): 585–92.
35. Wainwright D. A., Dey M., Chang A., Lesniak M. S. Targeting Tregs in malignant brain cancer: overcoming IDO. *Front. Immunol.* 2013; 4: article116.

36. Wainwright D. A., Chang A. L., Dey M., Balyasnikova I. V., Kim C. K., Tobias A., Cheng Y., Kim J. W., Qiao J., Zhang L., Han Y., Lesniak M. S. Durable therapeutic efficacy utilizing combinatorial blockade against IDO, CTLA-4, and PD-L1 in mice with brain tumors. *Clin. Cancer Res.* 2014;20(20):5290–301.
37. Wainwright D. A., Lesniak M. S. Ménage à trois: Sustained therapeutic anti-tumor immunity requires multiple partners in malignant glioma. *Oncoimmunol.* 2014; 3: e28927.
38. Nagai T., Tanaka M., Tsuneyoshi Y., Xu B., Michie S. A., Hasui K., Hirano H., Arita K., Matsuyama T. Targeting tumor-associated macrophages in an experimental glioma model with a recombinant immunotoxin to folate receptor beta. *Cancer Immunol. Immunother.* 2009; 58 (10): 1577–86.
39. Stupp R., Hegi M. E., Gorlia T., Erridge S. C., Perry J., Hong Y. K., et al. Cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC26071–22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014; 15 (10): 1100–8.
40. Chiu T. L., Peng C. W., Wang M. J. Enhanced anti-glioblastoma activity of microglia by AAV2-mediated IL-12 through TRAIL and phagocytosis *in vitro*. *Oncol. Rep.* 2011;25(5):1373–80.
41. Kees T., Lohr J., Noack J., Mora R., Gdynia G., Tödt G., Ernst A., Radlwimmer B., Falk C. S., Herold-Mende C., Régnier-Vigouroux A. Microglia isolated from patients with glioma gain antitumor activities on poly (I: C) stimulation. *NeuroOncol.* 2012;14(1):64–78.
42. El Andaloussi A., Sonabend A. M., Han Y., Lesniak M. S. Stimulation of TLR9 with CpG ODN enhances apoptosis of glioma and prolongs the survival of mice with experimental brain tumors. *GLIA* 2006; 54 (6): 526–35.
43. Grauer O. M., Molling J. W., Bennink E., Toonen L. W., Suttmuller R. P., Nierkens S., Adema G. J. TLR ligands in the local treatment of established intracerebral murine gliomas. *J. Immunol.* 2008; 181 (10): 6720–9.
44. Xiong Z., Ohlfest J. R. Topical imiquimod has therapeutic and immunomodulatory effects against intracranial tumors. 2011; 34 (3): 264–9.
45. Pyonteck S. M., Akkari L., Schuhmacher A. J., Bowman R. L., Sevenich L., Quail D. F., Olson O. C., Quick M. L., Huse J. T., Teijeiro V., Setty M., Leslie C. S., Oei Y., Pedraza A., Zhang J., Brennan C. W., Sutton J. C., Holland E. C., Daniel D., Joyce J. A. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression. *Nat Med.* 2013;19(10):1264–72.
46. Chaudhuri S., Singh M. K., Bhattacharya D., Acharya S., Chatterjee S., Kumar P., Bhattacharjee P., Basu A. K., Sa G., Das T., Ghosh T. K., Chaudhuri S. The novel immunotherapeutic molecule T11TS modulates glioma-induced changes of key components of the immunological synapse in favor of T cell activation and glioma abrogation. *J. Neurooncol.* 2014; 120 (1): 19–31.
47. Singh M. K., Bhattacharya D., Chaudhuri S., Acharya S., Kumar P., Santra P., Basu A. K., Chaudhuri S. T11TS inhibits glioma angiogenesis by modulation of MMPs, TIMPs, with related integrin αv and TGF- $\beta 1$ expressions. *Tumour Biol.* 2014; 35 (3): 2231–46.
48. Wei J., Gabrusiewicz K., Heimberger A. The Controversial Role of Microglia in Malignant Gliomas. *Clin. Dev. Immunol.* 2013;2013: e285246.
49. Markovic D. S., Vinnakota K., van Rooijen N., Kiwit J., Synowitz M., Glass R., Kettenmann H. Minocycline reduces glioma expansion and invasion by attenuating microglial MT1-MMP expression. *Brain Behav. Immun.* 2011; 25 (4): 624–8.
50. Yeung Y. T., Bryce N. S., Adams S., Braidy N., Konayagi M., McDonald K. L., Teo C., Guillemin G. J., Grewal T., Munoz L. p38 MAPK inhibitors attenuate pro-inflammatory cytokine production and the invasiveness of human U251 glioblastoma cells. *J. Neuro-Oncol.* 2012; 109 (1): 35–44.
51. Gabrusiewicz K., Ellert-Miklaszewska A., Lipko M., Sielska M., Frankowska M., Kaminska B. Characteristics of the alternative phenotype of microglia/macrophages and its modulation in experimental gliomas. *PLoS ONE* 2011; 6 (8): e23902.
52. Jacobs V. L., Landry R. P., Liu Y., Romero-Sandoval E. A., De Leo J. A. Propentofylline decreases tumor growth in a rodent model of glioblastoma multiforme by a direct mechanism on microglia. *Neuro-Oncol.* 2012; 14 (2): 119–31.
53. Zhang L., Alizadeh D., van Handel M., Kortylewski M., Yu H., Badie B. Stat3 inhibition activates tumor macrophages and abrogates glioma growth in mice. *GLIA* 2009; 57 (13): 1458–67.
54. Fujiwara Y., Komohara Y., Kudo R., Tsurushima K., Ohnishi K., Ikeda T., Takeya M. Oleonic acid inhibits macrophage differentiation into the M2 phenotype and glioblastoma cell proliferation by suppressing the activation of STAT3. *Oncol. Rep.* 2011;26(6):1533–7.
55. Ashizawa T., Miyata H., Iizuka A., Komiyama M., Oshita C., Kume A., Nogami M., Yagoto M., Ito I., Oishi T., Watanabe R., Mitsuya K., Matsuno K., Furuya T., Okawara T., Otsuka M., Ogo N., Asai A., Nakasu Y., Yamaguchi K., Akiyama Y. Effect

- of the STAT3 inhibitor STX-0119 on the proliferation of cancer stem-like cells derived from recurrent glioblastoma. *Int. J. Oncol.* 2013; 43 (1): 219–27.
56. Heimberger A. The therapeutic potential of inhibitors of the signal transducer and activator of transcription 3 for central nervous system malignancies. *Surg. Neurol. Int.* 2011;2:163.
 57. Zheng Q., Han L., Dong Y., Tian J., Huang W., Liu Z., Jia X., Jiang T., Zhang J., Li X., Kang C., Ren H. JAK2/STAT3 targeted therapy suppresses tumor invasion via disruption of the EGFRvIII/JAK2/STAT3 axis and associated focal adhesion in EGFRvIII-expressing glioblastoma. *NeuroOncol.* 2014;16(9):1229–43.
 58. See A. P., Han J. E., Phallen J., Binder Z., Gallia G., Pan F., Jinasena D., Jackson C., Belcaid Z., Jeong S. J., Gottschalk C., Zeng J., Ruzevick J., Nicholas S., Kim Y., Albesiano E., Pardoll D. M., Lim M. The role of STAT3 activation in modulating the immune microenvironment of GBM. *J. Neurooncol.* 2012; 110 (3): 359–68.
 59. Verstovsek S., Mesa R. A., Gotlib J., Levy R. S., Gupta V., DiPersio J. F., Catalano J. V., Deininger M., Miller C., Silver R. T., Talpaz M., Winton E. F., Harvey J. H. Jr., Arcasoy M. O., Hexner E., Lyons R. M., Paquette R., Raza A., Vaddi K., Erickson-Viitanen S., Koumenis I. L., Sun W., Sandor V., Kantarjian H. M. A double-blind, placebo-controlled trial of ruxolitinib for myelofibrosis. *N. Engl. J. Med.* 2012;366(9): 799–807.
 60. Kudo M., Jono H., Shinriki S., Yano S., Nakamura H., Makino K., Hide T., Muta D., Ueda M., Ota K., Ando Y., Kuratsu J. Antitumor effect of humanized anti-interleukin-6 receptor antibody (tocilizumab) on glioma cell proliferation. Laboratory investigation. *J. Neurosurg.* 2009;111(2):219–25.
 61. Hardee M. E., Marciscano A. E., Medina-Ramirez C. M., Zagzag D., Narayana A., Lonning S. M., Barcellos-Hoff M. H. Resistance of glioblastoma-initiating cells to radiation mediated by the tumor microenvironment can be abolished by inhibiting transforming growth factor- β . *Cancer Res.* 2012; 72 (16): 4119–29.
 62. Ueda R., Fujita M., Zhu X., Sasaki K., Kasthuber E. R., Kohanbash G., McDonald H. A., Harper J., Lonning S., Okada H. Systemic inhibition of transforming growth factor-beta in glioma-bearing mice improves the therapeutic efficacy of glioma-associated antigen peptide vaccines. *Clin. Cancer Res.* 2009;15(21):6551–9.
 63. Joseph J. V., Balasubramanian V., Walenkamp A., Kruyt F. A. TGF-beta as a therapeutic target in high grade gliomas—Promises and challenges. *Biochem. Pharmacol.* 2013; 85 (4): 478–85.
 64. Morris J. C., Tan A. R., Olencki T. E., Shapiro G. I., Dezube B. J., Reiss M., Hsu F. J., Berzofsky J. A., Lawrence D. P. Phase I study of GC1008 (fresolimumab): a human anti-transforming growth factor-beta (TGF β) monoclonal antibody in patients with advanced malignant melanoma or renal cell carcinoma. *PLoS One.* 2014; 9 (3): e90353.
 65. Hülper P., Schulz-Schaeffer W., Dullin C., Hoffmann P., Harper J., Kurtzberg L., Lonning S., Kugler W., Lakomek M., Erdlenbruch B. Tumor localization of an anti-TGF- β antibody and its effects on gliomas. *Int. J. Oncol.* 2011;38(1):51–9.
 66. Bogdahn U., Hau P., Stockhammer G., Venkataramana N. K., Mahapatra A. K., Suri A., Balasubramanian A., Nair S., Oliushine V., Parfenov V., Poverennova I., Zaaroor M., Jachimczak P., Ludwig S., Schmaus S., Heinrichs H., Schlingensiepen K. H.; TrabedersenGlioma Study Group. Targeted therapy for high-grade glioma with the TGF- β 2 inhibitor trabedersen: results of a randomized and controlled phase IIb study. *NeuroOncol.* 2011;13(1):132–42.
 67. Zhang M., Herion T. W., Timke C., Han N., Hauser K., Weber K. J., Peschke P., Wirkner U., Lahn M., Huber P. E. Trimodal glioblastoma treatment consisting of concurrent radiotherapy, temozolomide, and the novel TGF- β receptor I kinase inhibitor LY2109761. *Neoplasia* 2011; 13 (6): 537–49.
 68. Zhang M., Kleber S., Röhrich M., Timke C., Han N., Tuettenberg J., Martin-Villalba A., Debus J., Peschke P., Wirkner U., Lahn M., Huber P. E. Blockade of TGF- β signaling by the TGF β R-I kinase inhibitor LY2109761 enhances radiation response and prolongs survival in glioblastoma. *Cancer Res.* 2011; 71 (23): 7155–67.
 69. Humphries W., Wei J., Sampson J. H., Heimberger A. B. The role of tregs in glioma-mediated immunosuppression: potential target for intervention. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 2010; 21 (1): 125–37.