

Иммунотерапия злокачественных глиом: современное состояние проблемы и перспективные направления

Immunotherapy for malignant gliomas: current status and perspective

Цитирование: Borisov K. E., Sakaeva D. D. Immunotherapy of malignant gliomas: current status and future directions. *Malignant Tumours* 2015; 2

DOI: 10.18027/2224-5057-2015-2

БОРИСОВ К. Е., САКАЕВА Д. Д.

Несмотря на агрессивное мультимодальное лечение прогноз при злокачественных глиомах остается плохим. Низкая эффективность традиционной цитостатической терапии вынуждает искать альтернативные подходы к лечению. В данном обзоре рассматриваются вопросы активной иммунотерапии с помощью противоопухолевых вакцин и адоптивной клеточной терапии. Вакциноterapia может осуществляться с использованием опухолевых лизатов или отдельных пептидов или мРНК. Для улучшения иммуногенности вакцины используются дендритные клетки и различные иммуoadъюванты. При использовании лизатной вакцины при вновь выявленной мультиформной глиобластоме медиана выживаемости без прогрессирования составляет 9,5–18 месяцев, а медиана общей выживаемости 16,25–35,9 месяца, что значительно выше, чем в историческом контроле. Среди пептидных вакцин изучаются вакцины к WT-1, сурвивину, мутированному варианту изоцитратдегидрогеназы (IDHR132H), мутированному варианту рецептора эпидермального фактора роста (EGFRvIII). Перспективными представляются методы вакцинотерапии против антигенов стволовых клеток глиом, цитомегаловирусных антигенов. Активно изучается возможность интеграции иммунотерапии в существующие стандарты лечения, а также комбинация нескольких иммунотерапевтических стратегий.

Ключевые слова: злокачественные глиомы, иммунотерапия, вакцины, дендритные клетки

Контактная информация:

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

Сакаева Дина Дамировна – д.м.н., заместитель главного врача по химиотерапии, ГУЗ Республиканский клинический онкологический диспансер Минздрава Республики Башкортостан, г. Уфа

KONSTANTIN BORISOV, DINA SAKAEVA

Despite aggressive multimodal treatment prognosis for malignant gliomas remains poor. The low efficiency of conventional cytostatic therapy forced to look for alternative approaches to treatment. This review deals with active immunotherapy using tumor vaccines and adoptive cell therapy. Vaccinotherapy may be carried out using tumor lysates or individual peptides, or mRNA. To improve the immunogenicity of vaccines dendritic cells and various immunoadjuvants are widely used. When using lysate vaccine in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme median progression-free survival is 9,5–18 months, and median overall survival is 16,25–35,9 months, significantly more than the historical control. Peptide vaccines to WT-1, survivin, mutated isocitrate dehydrogenase (IDHR132H), mutated epidermal growth factor receptor (EGFRvIII) are under investigation. Promising are the methods of vaccinotherapy against glioma stem cells antigens, cytomegalovirus antigens. The possibility of integration of immunotherapy in the existing treatment standards, as well as a combination of several immunotherapeutic strategies, has been studied extensively.

Key words: malignant gliomas, immunotherapy, vaccines, dendritic cells

Contact: Borisov K.E., Republican Clinical Dispensary, Ministry of Health of the Republic of Bashkortostan, Ufa, e-mail: konstantin9671@rambler.ru

Прогноз при злокачественных глиомах (ЗГ) остается плохим, несмотря на агрессивную мультимодальную терапию. Стандартное лечение, включающее максимально возможное хирургическое удаление опухоли с последующим химиолучевым лечением (ХЛЛ) и адъювантной терапией темозоломидом, обеспечило двухлетнюю выживаемость лишь у четверти пациентов [1]. Добавление бевацизумаба к стандартному лечению привело к увеличению на 4 месяца выживаемости без прогрессирования (ВБП), но не отразилось на общей выживаемости (ОВ) [2]. Изучение многочисленных цитостатических препаратов показало их низкую эффективность при опухолях мозга, в результате чего спектр препаратов, официально разрешенных для лечения ЗГ, ограничивается винкристином, прокарбазином, препаратами нитрозомочевины, темозоломидом и бевацизумабом. Низкая эффективность традиционной цитостатической терапии вынуждает искать альтернативные подходы к лечению данной патологии. В последние годы, на фоне новых открытий в биологии неоплазий, возродился интерес к иммунотерапии опухолей центральной нервной системы (ЦНС).

Иммунотерапию можно разделить на 4 главных категории. Активная иммунотерапия подразумевает прямую сенсibilизацию иммунной системы к опухолю-ассоциированным антигенам (ТАА), что достигается применением вакцин. Пассивная иммунотерапия использует готовые иммуноэффекторные молекулы, такие как антитела к тем или иным опухолевым антигенам без прямой активации иммунной системы. Адоптивная иммунотерапевтическая стратегия использует аутологичные иммунные клетки, которые приобретают опухолюцидные свойства *ex vivo* после обработки опухолевыми антигенами или путем генной инженерии. И наконец, иммуномодулирующие терапевтические стратегии имеют целью увеличить общую реактивность организма путем активации иммуностимулирующих молекул или блокирования ингибирующих цитокинов. В данном обзоре речь пойдет об активной иммунотерапии с помощью противоопухолевых вакцин и об адоптивной Т-клеточной терапии.

Активная иммунотерапия. Общие вопросы

Интерес к активной иммунотерапии основан на открытии большого количества потенциально иммунореактивных ТАА. В обзоре Национального Института Рака США [3] приводятся данные о 75 наиболее распространенных опухолевых антигенах, которые были проанализированы по девяти параметрам: терапевтическая функция, иммуногенность, участие в туморогенезе, специфичность, уровень экспрессии и процент антиген-позитивных клеток в опухоли, наличие экспрессии на опухолевых стволовых клетках, доля пациентов с антиген-позитивными опухолями, число антигенных эпитопов, клеточная локализация. В результате 46 опухолевых антигенов подтвердили свою высокую иммуногенность в клинических исследованиях, а для 20 была доказана их терапевтическая значимость. В отношении лечения ЗГ упоминается о 47 антигенах, которые могут быть потенциальными мишенями терапии [4].

Схематично противоопухолевый иммунный ответ представляется следующим образом: антигены опухолевых клеток распознаются как чужеродные и захватываются антиген-презентирующими клетками (АПК – дендритными клетками и макрофагами) путем фагоцитоза или рецептор-опосредованного эндоцитоза. Затем АПК частично деградируют антигены, процессируют их и презентуют на своей поверхности в комплексе с протеинами I или II класса главного комплекса гистосовместимости (МСН – major histocompatibility complex). Только в таком виде антигены могут быть распознаны Т-лимфоцитами. АПК мигрируют через лимфатические сосуды в лимфатические узлы, где представляют опухолевые пептиды Т-лимфоцитам, которые, в свою очередь, являются основными эффекторными клетками, ответственными за распознавание и уничтожение атипичных клеток, а также за хранение антигенной информации о клетках опухоли. Для полной активации иммунного ответа Т-клетки должны получить два стимулирующих сигнала: один через Т-клеточные рецепторы (ТКР) и другой через костимулирующий рецептор CD28, с которым связываются костимулирующие молекулы CD80 (B7-1) и CD86

(B7-2), экспрессирующиеся на поверхности АПК. Нарушение какого-либо из этих звеньев приводит к Т-клеточной анергии. Долгое время было неясно, применим ли этот механизм для опухолей, развивающихся в ЦНС, то есть в органе, в котором четко не определено присутствие АПК, отсутствуют лимфатические пути, а проникновение иммунных клеток регулируется гематоэнцефалическим барьером. Однако в последнее время накопилось достаточно данных, подтверждающих релевантность данной модели и для опухолей мозга.

Хотя опухолевые клетки несут большое количество ТАА, тем не менее они не вызывают иммунного ответа цитотоксических Т-лимфоцитов *in vivo*. Объяснение данного феномена заключается в недостаточности антигенной презентации и отсутствии костимулирующих молекул для праймирования Т-лимфоцитов, что связано с общей и локальной иммуносупрессией, характерной для злокачественных опухолей в целом и ЗГ в частности. В этой связи, для облегчения иммунопрезентации наиболее часто используются вакцины на основе дендритных клеток (ДК), которые имеют моноцитарное происхождение и являются наиболее активными АПК [5]. ДК, нагруженные опухолевыми антигенами, эффективно представляют их Т-лимфоцитам, вызывая иммунный ответ. В ряде случаев ДК обрабатываются *in vitro* цитокинами, такими как фактор некроза опухоли α (TNF α), интерлейкин-6 (IL-6), IL-1 β , простагландин E 2 (PGE2), с целью их созревания и улучшения антигенпрезентирующих свойств. Было показано, что пациенты, получавшие вакцины на основе зрелых ДК, имели лучшие показатели выживаемости. Кроме того, выживаемость пациентов повышалась при одновременном интрадермальном и интратуморальном введении вакцины [6].

Ряд веществ способствуют дифференцировке и созреванию ДК, а также облегчают презентацию опухолевых антигенов [7], поэтому их добавляют в качестве адъювантов к вакцинам. Агонисты толл-рецепторов (TLR – toll-like receptor), такие как имиквимод (агонист TLR-7), CpG ODN (агонист TLR-9) или poly-ICLC (агонист TLR-3), повышают активацию ДК и Т-клеточную противоопухолевую иммунореактивность [8–10]. Данные о синергизме вакцин и агонистов TLR способствовали их

широкому включению в текущие клинические исследования (NCT01204684, NCT01808820, NCT01792505 и другие). Правда, недавно появились сведения об участии TLR-9 в функционировании стволовых клеток глиомы (СКГ) [11], что делает необходимым прояснение вопроса о целесообразности использования агонистов TLR-9. KLH (keyhole limpet hemocyanin) – протеин, выделенный из гемолимфы моллюска *Megatura crenulata*, повышает как клеточный, так и гуморальный иммунитет [12], а кроме того является удобным переносчиком антигенов, в связи с чем также был использован для создания вакцин, например CDX-110. GM-CSF использовался для повышения иммуногенности вакцин, поскольку была показана его способность стимулировать созревание ДК [13]. Однако GM-CSF повышает иммунный ответ только при использовании в малых дозах, в то время как в высоких дозах он обладает иммуносупрессивными свойствами [14].

Оценка эффекта иммунотерапии базируется на повышении уровня цитотоксических Т-лимфоцитов, развитии реакций гиперчувствительности замедленного типа, а также качественной и количественной оценке Т-клеточной активности. Чаще всего используется методика ELISPOT (enzyme-linked immunosorbent spot), позволяющая определить тип продуцируемого Т-клетками вещества (обычно интерферон γ) и число активированных клеток [15].

Основными двумя методиками активной иммунотерапии является использование в качестве антигена для получения вакцины либо опухолевых лизатов (или определенных пептидов, полученных из опухолевых лизатов), либо синтетических антигенных пептидов. Преимущества и недостатки есть у каждой методики. Достоинствами вакцинотерапии с использованием опухолевых лизатов является возможность изготовления индивидуальной вакцины для каждого пациента и одновременное воздействие на множество опухолевых антигенов. Однако в данном случае невозможно оценить значимость конкретных антигенов, что существенно ограничивает возможности оптимизации композиции, дозирования и режима введения вакцины. Недостатками также являются необходимость получения хирургическим путем достаточно большого количества опухо-

левой ткани, задержка лечения на несколько недель, необходимых для генерации вакцины, возможная перегрузка иммунной системы из-за большого количества антигенов, и возможность аутоиммунных реакций в случае контаминации используемых для приготовления вакцины образцов опухоли здоровыми клетками или в случае иммунного ответа на антигены, общие для опухолевых и нормальных клеток. Справедливости ради надо отметить, что ряд клинических исследований, в которых использовались аутологичные ДК, нагруженные *ex vivo* антигенами из опухолевых лизатов и введенные больным подкожно, продемонстрировали приемлемость и безопасность данной методики [4]. Выраженных аутоиммунных реакций и аутоиммунного энцефалита не наблюдалось, а побочные эффекты, представленные, в основном, местными реакциями, лихорадкой и головной болью, были умеренными или слабыми. Почти во всех случаях для получения вакцины использовались аутологичные опухолевые клетки. Однако в определенных ситуациях, например при глиомах ствола мозга, когда очень затруднительно получить достаточное количество ткани опухоли, вакцину изготавливали из аллогенных клеточных линий (исследования NCT01400672, NCT02010606).

Вакциноterapia с использованием опухолевых лизатов

Опубликованы результаты нескольких небольших исследований I–II фазы вакцинотерапии ДК с опухолевыми лизатами при ЗГ [6, 16–26]. В ранних исследованиях использовались пептиды, выделенные из опухолевых клеток, однако ввиду трудоемкости и длительности этого процесса, большинство последующих исследований были выполнены с использованием опухолевых лизатов. В большинстве исследований количество введенных ДК составляло от 1×10^6 до 18×10^6 , реже 32 – 100×10^6 с периодичностью 1 раз в 2 или 3 недели. Медиана ВВП при вновь выявленной мультиформной глиобластоме (МГБ) составляла от 9,5 до 18 месяцев, а медиана ОВ от 16,25 до 35,9 месяца, что существенно выше, чем 14,6 месяца в историческом контроле (Stupp et al. [1]). Наибольшая продолжительность жизни (почти 3 года)

наблюдалась в исследовании Prins et al. [25], причем максимальный выигрыш в выживаемости имели пациенты с мезенхимальным молекулярно-генетическим подтипом МГБ, в то время как при пронеуральной генной сигнатуре увеличения выживаемости от добавления вакцины к стандартному ХЛЛ не было отмечено. Также была отмечена наибольшая выгода от вакцинирования у больных с медленно прогрессирующими опухолями и при низкой экспрессии TGF- β 2 [19]. Уровень продукции IFN- γ периферическими мононуклеарами коррелировал с общей выживаемостью и временем до прогрессирования [21].

Хотя исследования I–II фазы продемонстрировали обнадеживающие результаты, тем не менее эффективность вакцинотерапии при ЗГ должна быть подтверждена в крупных рандомизированных исследованиях. Cho et al. [27] провели небольшое сравнительное исследование у пациентов с вновь выявленной МГБ. У шестнадцати больных контрольной группы было проведено оперативное лечение с последующим стандартным ХЛЛ с темозоломидом, а 18 пациентов в дополнение к этому получали вакцинацию на основе ДК, нагруженных лизатом аутологичной опухоли. Медиана ОВ в группе вакцинации составила 31,9 месяца, в контрольной группе 15 месяцев ($p < 0,002$), что подтверждает высокую эффективность адьювантной вакцинации. В настоящее время помимо многочисленных нерандомизированных исследований проводится два рандомизированных исследования II фазы (NCT01213407 и NCT01567202) и одно рандомизированное плацебо-контролируемое исследование III фазы (NCT00045968) вакцинотерапии на основе ДК (DCVax-Brain) при вновь выявленных ЗГ.

Что касается вакцинотерапии рецидивов ЗГ, то при них медиана ОВ составляла 9,6–17,9 месяца, хотя в одном исследовании I фазы, Yu et al. [17], включавшем всего 8 больных рецидивной МГБ, которые вакцинировались повышенным количеством ДК (до 100×10^6 каждые 2 недели, всего 3 введения), приводятся фантастические результаты с ОВ, равной 133 неделям (или 30,6 месяцам). Тем не менее даже без учета этого исследования показатели ОВ при вакцинотерапии рецидивных МГБ существенно превосходили данные исторического контроля [28].

Альтернативой вакцинам на основе ДК может быть использование полученного из удаленной опухоли пептидного комплекса (HSPPC-96), состоящего из белка теплового шока массой 96 килодальтон (HSP-96) и связанных с ним шаперонных белков, многие из которых являются ТАА. HSPPC-96 взаимодействует с АПК через специфические рецепторы CD91. После связывания с рецептором пептидный комплекс интернализируется и шаперонные белки презентуются на поверхности АПК. Crane et al. [29] сообщил о лечении по данной методике 12 больных с рецидивами МГБ, которым была выполнена повторная резекция опухоли. У 11 из 12 пациентов отмечался иммунный ответ; медиана ОВ у них составила 47 недель (10,8 месяца). Bloch et al. [30] при лечении 41 больного рецидивной МГБ получил медиану ОВ 42,6 недели. Было показано, что исходная лимфопения неблагоприятно сказывается на выживаемости (HR: 4,0, $p=0,012$). Недавно было завершено аналогичное исследование при вновь выявленных МГБ (NCT00905060). Результаты ожидаются.

Пептидные вакцины

Применение опухолевых лизатов сопряжено с определенными ограничениями, о чем упоминалось выше. В связи с этим активно изучается возможность использования синтетических пептидов, аналогичных ТАА. Одним из первых ТАА, который был использован для вакцинирования, был WT-1 (Wilm's tumor protein-1). Частота экспрессии WT-1 повышается с увеличением злокачественности опухоли и ассоциируется с ухудшением выживаемости больных при диффузных астроцитомах, но не при МГБ [31]. В исследовании Izumoto et al. [32] у 2 из 21 пациента был достигнут объективный ответ, медиана ВВП составила 20 недель. Ингибитор апоптоза сурвивин способен вызывать выраженный иммунный ответ [33]. Пептидная вакцина SurVaxM на основе модифицированного эпитопа сурвивина изучается в исследовании NCT01250470. Недавно появились сообщения об использовании в качестве мишени для вакцинотерапии мутированного варианта изоцитратдегидрогеназы, в котором гистидин заменен на аргинин в 132 кодоне (IDHR132H).

Будучи ранним событием в глиоматогенезе, IDHR132H гомогенно экспрессируется на всех клетках опухоли с данной мутацией, но отсутствует на окружающих здоровых клетках, что наряду с высокой встречаемостью делает ее идеальным кандидатом для терапевтического воздействия. Применение соответствующей вакцины показало достоверное увеличение выживаемости подопытных животных [34].

В настоящее время активно изучаются (см. обзор Lowenstein et al. [35]) вакцины на основе EGFRvIII – мутантного варианта рецептора EGF, у которого утрачены 2–7 экзоны экстрацеллюлярного домена, что обеспечивает постоянную киназную активность рецептора. EGFRvIII встречается у 30–40% больных МГБ. Его прогностическая значимость до конца не определена [36], хотя преобладает мнение о негативном влиянии экспрессии EGFRvIII на прогноз [37]. Вакцина представляет собой пептид из 14 аминокислот, выделенный из опухоеспецифического мутированного сегмента рецептора EGF (PEP-3) и соединенный с белком-переносчиком KLN. Полученная вакцина PEP-3-KLN, также известная как CDX-110 или риндопепимут (Rindopepimut), показала впечатляющие результаты при лечении ЗГ. В доклинических исследованиях на мышинных интракраниальных ксенотрансплантатах МГБ медиана ОВ животных, леченных вакциной, превышала выживаемость животных контрольной группы на 173% [38]. Клиническое применение данной методики у больных впервые выявленной МГБ продемонстрировало ее безопасность и способность вызывать как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ. В исследовании VICTORI, где PEP-3-KLN загружалась на ДК, медиана ВВП от момента вакцинации составила 6,8 месяца, медиана ОВ 18,7 месяца от начала вакцинации и 22,8 месяца от момента постановки диагноза [39]. В дальнейшем было проведено исследование II фазы ACTIVATE, в котором PEP-3-KLN использовалась самостоятельно без ДК. Иммунотерапия начиналась через 2 недели после операции, проводилась одновременно с ХЛЛ, сначала с двухнедельным интервалом (первые 3 введения), а затем ежемесячно до прогрессирования [40]. Это исследование подтвердило эффективность и безопасность применения вакцины и отсутствие тяжелых аутоиммунных реакций. Необходимо отметить, что пациенты

в данном исследовании не получали адъювантной ХТ темозоломидом, тем не менее медиана ВВП достигла 14,2 месяца против 6,3 месяца в контрольной группе, получавшей стандартное лечение (HR=2,4, p=0,013), а медиана ОВ повысилась до 26 месяцев по сравнению с 15 месяцами в группе контроля (HR=5,1, p=0,001). Побочные явления не превышали II степени тяжести и были представлены, в основном, местными реакциями. Развитие как клеточного, так и гуморального иммунного ответа ассоциировалось с улучшением выживаемости. Так, у 43% больных наблюдалось образование специфических антител против EGFRvIII, и выживаемость таких больных достигла 47,7 месяца в сравнении с 22,8 месяца у больных без развития гуморального иммунитета. У 3 из 17 больных развились реакции гиперчувствительности замедленного типа (РГЗТ), и у них медиана выживаемости не была достигнута при сроках наблюдения 50 месяцев в сравнении с 23,1 месяца у пациентов, не имевших РГЗТ.

В другом исследовании II фазы АСТ II [41] вакцинация проводилась ежемесячно в адъювантном режиме одновременно с темозоломидом. Медиана ВВП составила 15,2 месяца, медиана ОВ 23,6 месяца. Общая переносимость была удовлетворительной. Несмотря на индуцированную темозоломидом лимфопению у всех больных развился гуморальный иммунный ответ, то есть химиотерапия не препятствовала проведению вакцинотерапии [42]. В аналогичном более крупном (65 рекрутированных пациентов) исследовании АСТ III медиана ОВ составила 21,8 месяца [43]. В настоящее время продолжается изучение вакцины в рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании III фазы АСТ IV (NCT01480479) у пациентов с впервые выявленными МГБ.

Анализ результатов лечения глиобластом с помощью Rindoperimut показал, что при развитии рецидива у 82% больных в ткани опухоли не определялась экспрессия EGFRvIII, то есть имело место явление иммуноредактирования [44], когда при эрадикации EGFRvIII-позитивного клона начинался рост EGFRvIII-негативных клонов, что неизбежно вело к рецидиву болезни [40, 42]. С целью избежать такого исхода лечения были предприняты попытки создания поливалентной вакцины на основе синтетических пептидов, аналогичных ТАА.

Okada et al. [45] изучили у больных с рецидивами ЗГ вакцину на основе дендритных клеток, нагруженных одновременно несколькими ТАА (эфрин А2, рецептор $\alpha 2$ IL-13 (IL-13R $\alpha 2$), YKL-40, gp100). Вакцина назначалась путем инъекции в лимфатические узлы. Одновременно назначался агонист TLR-3 poly-ICLC. Несмотря на то, что больные до этого получали несколько линий терапии, у 58% наблюдалось развитие иммунного ответа с повышением сывороточных уровней интерферона- α , CXCL-10, IL-15, MCP-1 и MIP-1 β . В ткани опухоли отмечалось повышение уровня CXCL-10 – ключевого хемокина, отвечающего за миграцию в опухоль цитотоксичных CD8⁺ Т-лимфоцитов. 41% больных оставались свободными от прогрессирования более 1 года. Двое из 22 пациентов достигли полной ремиссии. В настоящее время проводится несколько пилотных исследований данной вакцины при рецидивах диффузных астроцитом grade II (NCT00795457, NCT00874861) и при ЗГ у детей (NCT001130077).

Phuphanich et al. [46] сообщили о результатах исследования вакцины ICT-107 с использованием аутологичных ДК, несущих 6 ТАА (HER2, TRP-2, gp100, MAGE-1, IL13R $\alpha 2$, AIM-2), которые экспрессируются на клетках глиомы и особенно на СКГ. У всех пациентов наблюдалась экспрессия по крайней мере 3 антигенов из шести, а у 75% пациентов – экспрессия всех шести ТАА. Иммунный ответ, который определялся по увеличению в 1,5 раза продукции интерферона- γ CD8⁺ клетками, был отмечен у 33% больных. Среди пациентов с вновь выявленной МГБ медиана ВВП составила 16,9 месяца, медиана ОВ – 38,4 месяца. У больных, которым впоследствии по поводу рецидива была выполнена повторная резекция опухоли, было обнаружено отсутствие или снижение экспрессии CD133 – маркера СКГ, что подтверждает влияние вакцинации на активность СКГ. Недавно закончилось плацебо-контролируемое рандомизированное исследование IIb фазы (NCT01280552), в котором данная вакцина оценивалась в сочетании со стандартным ХЛЛ с темозоломидом.

Yajima et al. [47] изучили возможность персонального подбора антигенного состава вакцины, исходя из реактивности мононуклеаров периферической крови пациента на тот или иной

антиген. 25 пациентов с рецидивами ЗГ и относящиеся к серотипам HLA-A2 или HLA-A24 сначала получали вакцинирование эмульсией, содержащей 25 пептидов и Montanide ISA51 в качестве адъюванта. Затем отбиралось 4 наиболее иммуногенных пептида для последующей вакцинации. Пациенты ($n=21$), получившие, по крайней мере, 6 введений вакцины, были включены в анализ эффективности лечения. Наблюдалось 5 (23,8%) объективных ответов в виде частичного регресса опухоли. Среди пациентов с МГБ медиана ОВ от даты первой операции составила $20,5 \pm 2,8$ месяца, однолетняя ОВ – 82,3%, двухлетняя ОВ – 41,1%.

Terasaki [48] сообщил результаты исследования I фазы, в котором оценивалась методика назначения индивидуально подобранной вакцины (без использования ДК) при темозоломид-резистентных МГБ. Из 14 антигенов для иммунизации отбиралось максимум 4. Рекомендованная доза составила 3 мг на 1 пептид. Шестимесячная ВВП наблюдалась у 16,7% больных, медиана ВВП составила 2,3 месяца, медиана ОВ – 10,6 месяца.

Dutoit et al. [49] из 3686 опухолевых пептидов, полученных из 32 образцов глиобластомы, выбрали 11, которые отвечали следующим критериям: 1) высокий уровень экспрессии мРНК в опухоли по сравнению с нормальными тканями, 2) экспрессия не менее чем в 70% образцов опухолей, 3) онкогенные функции соответствующих протеинов, 4) иммуногенность у здоровых доноров. В настоящее время данная вакцина (IMA-950) изучается в нескольких клинических исследованиях (NCT01222221, NCT01403285, NCT01920191) в комбинациях с GM-CSF, циклофосфамидом и имиквимодом.

Другие направления вакцинотерапии

Особенно перспективным представляется получение опухолевых антигенов из СКГ, поскольку экспрессия ряда важных антигенов на СКГ в несколько раз выше, чем на обычных опухолевых клетках [50]. В настоящее время проводится 2 клинических исследования вакцин с использованием антигенов СКГ (NCT00890032 и NCT00846456). Примечательно, что в этих исследованиях для нагрузки ДК используются не пептиды, а мРНК. Vic-Mo et al. [51] сообщили

о результатах лечения первых семи пациентов в исследовании NCT00846456, у которых объем резидуальной опухоли после операции не превышал 5 см^3 . В течение первой недели после окончания стандартного послеоперационного ХЛЛ они дважды получали вакцинацию ДК, нагруженными мРНК, выделенной из аутологичных СКГ. Затем вакцина вводилась 1 раз в неделю в течение 3 недель и далее каждый 15-й день 28-дневного цикла адъювантной ХТ темозоломидом. Всего было произведено 12 введений вакцины. Контрольную группу составили 10 пациентов, тщательно подобранных по критериям включения, демографическим и медицинским показателям, которые получали стандартное лечение. ВВП пациентов основной группы была почти втрое выше, чем в контроле (медиана 694 дня (22,8 месяца) против 236 дней (7,8 месяца), $p=0,0018$). Медиана ОВ составила 759 дней (25 месяцев) против 585 дней (19,2 месяца) в контрольной группе ($p=0,11$), при этом 6 из 10 пациентов контрольной группы умерли раньше, чем первый пациент исследуемой группы.

Привлекательной мишенью для иммунотерапии являются антигены, ассоциированные с цитомегаловирусом (ЦМВ), такие как IE1, pp65, US28, поскольку они почти всегда обнаруживаются в ткани МГБ и отсутствуют в окружающих здоровых тканях [52, 53]. Некоторые ЦМВ-антигены, в частности US28, способствуют ангиогенезу и инвазии клеток глиомы через активацию многочисленных клеточных киназ, в том числе STAT3 [54]. Важно, что СКГ также экспрессируют ЦМВ-антигены и секретируют CMV IL-10 (вирусный гомолог интерлейкина-10), который индуцирует иммуносупрессивную поляризацию глиома-ассоциированной микроглии/макрофагов со снижением экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости и костимуляторных молекул B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86) и одновременным повышением экспрессии иммуноингибирующей молекулы B7-H1 (PD-L1) [55]. Иммуногенность ЦМВ-антигенов была подтверждена Prins et al. [56], и в настоящее время изучается ДК-вакцина на основе ЦМВ-антигенов (исследование NCT00639639).

Несмотря на то, что в настоящее время проводится около полусотни клинических исследований вакцинотерапии глиом с использованием как опухолевых лизатов, так и синтетических

пептидов (см. обзор Dietrich et al. [57]), только отдельные из этих исследований (NCT00045968, NCT01480479) относятся к III фазе, поэтому остается немало нерешенных вопросов, в том числе и о преимуществах того или иного метода вакцинирования, оптимальном числе антигенов, режимах введения, интеграции иммунотерапии в существующие схемы лечения.

Вопрос о преимуществах вакцинирования опухолевыми лизатами или отдельными пептидами несколько прояснился после мета-анализа 173 опубликованных исследований вакцинотерапии различных опухолей, который показал, что пациенты, получавшие вакцинацию опухолевыми лизатами ($n=1733$) имели достоверно большую ($p<0,0001$) частоту объективных ответов по сравнению с пациентами ($n=1711$), вакцинированными отдельными ТАА-пептидами [58]. Сравнение двух методик при ЗГ представлено единичными небольшими наблюдениями. Так, Prins et al. [59] представили результаты лечения 34 больных ЗГ, из которых 28 получали вакцины на основе ДК, нагруженных опухолевыми лизатами, и 6 пациентов получали вакцинотерапию ДК, нагруженными отдельными ТАА (TRP-2, gp100, Her-2/neu, сурвивин). Хотя различия в методиках приготовления вакцин и небольшое количество пациентов не позволяют корректно сравнивать две исследуемые группы, тем не менее медиана ОБ пациентов после вакцинации лизатами составила 34,4 месяца, а после вакцинации пептидами лишь 14,5 месяца. Возможно, такие существенные различия в выживаемости были связаны с тем, что при вакцинировании лизатами одновременно вводились агонисты TLR имиквимод или poly-ICLC, которые, как было показано [8], улучшают функционирование ДК и повышают праймирование Т-лимфоцитов. Помимо этого уменьшение выживаемости при вакцинировании пептидами, возможно, связано с тем, что в процессе их подготовки использовался PgsE 2, который, с одной стороны, улучшает антигенпрезентирующие свойства ДК через стимуляцию их созревания и увеличения экспрессии МНС I, но, с другой стороны, оказывает прямое стимулирующее действие на регуляторные Т-лимфоциты (Трег), которые подавляют противоопухолевый иммунитет [60]. В исследовании Prins et al., изменение уровня Трег в крови после

вакцинации было единственным достоверным прогностическим фактором. Также возможно, что специфический для каждого пациента, мультитаргетный, хотя и не специфический по антигенному профилю, иммунный ответ на лизатную вакцину более предпочтителен, нежели четко определенный антиген-специфический ответ на пептидную вакцину.

Ещё один важный вопрос – об интеграции иммунотерапии в уже существующие стандарты лечения. Хотя ХЛЛ с темозоломидом ассоциировано с лимфопенией, которая теоретически может ухудшить иммунный ответ, тем не менее растет число свидетельств в пользу комбинации темозоломида и иммунотерапии. Это связано с тем, что темозоломид способен повышать иммуногенность опухоли, в частности за счет повышения уровня CD8+ Т-лимфоцитов и деплеции Трег [42]. Комбинация вакцинотерапии с бевацизумабом также представляется рациональной. Известно, что вазоэндотелиальный фактор роста (VEGF) способствует локальной иммуносупрессии в ткани опухоли. Он может блокировать созревание ДК и презентацию антигенов, индуцировать апоптоз CD8+ Т-лимфоцитов, повышать активность Трег, уменьшать проникновение Т-лимфоцитов через эндотелий опухолевых сосудов [61]. Таким образом, использование бевацизумаба и, соответственно, блокирование VEGF снижает иммуносупрессивные свойства опухоли и повышает вероятность ответа на вакцинотерапию. В настоящее время продолжается исследование II фазы ReACT, где используется комбинация Риндопепимута и Бевацизумаба при рецидивах МГБ (NCT01498328). Предварительные данные показали преимущества комбинации перед монотерапией бевацизумабом у пациентов, ранее не получавших бевацизумаб. Медиана ВВП составила соответственно 3,7 vs 2,0 месяца, а медиана ОБ – 12 vs 7,9 месяца. Хотя различия были статистически незначимы из-за малого числа включенных в анализ пациентов, тем не менее тенденция заслуживает внимания. У бевацизумаб-резистентных пациентов эффективность данной комбинации была значительно ниже, шестимесячная ВВП составила всего 8%, шестимесячная ОБ – 48% с медианой 5,6 месяца [62].

Кроме этого, были предприняты попытки комбинации активной иммунотерапии (вак-

цинации) с иммуномодулирующими агентами. В частности, мишенью для иммуномодуляции был выбран рецептор интерлейкина 2 (IL-2R), который обуславливает иммуносупрессивные свойства регуляторных Т-лимфоцитов. В двух исследованиях I фазы изучается комбинированное применение вакцины и моноклональных антител к CD25 (альфа-цепи IL-2R) – даклизумаба (NCT00626015) и базиликсимаба (NCT00626483).

Актуальным является идентификация клинических, иммунологических и молекулярных маркеров эффективности лечения, с целью формирования наиболее подходящей для иммунотерапии когорты пациентов [63]. Так, было показано, что молодые пациенты имеют более выраженный противоопухолевый иммунный ответ и, следовательно, лучшие показатели выживаемости [19, 22, 64]. Аналогично, пациенты с максимальным объемом операции имеют лучший ответ на иммунотерапию [19, 22, 29]. Пациенты с мезенхимальным молекулярно-генетическим подтипом МГБ, который характеризуется гиперэкспрессией провоспалительных генов, имеют более высокий уровень инфильтрации опухоли CD3+ и CD8+ лимфоцитами и более высокую выживаемость после вакцинации, чем больные с другими подтипами МГБ [25].

Нерешенным является вопрос об оптимальных сроках назначения иммунотерапии, когда можно ожидать наиболее выраженного иммунного ответа: при рецидивах заболевания или же при вновь выявленных опухолях, когда иммунная система относительно интактна. Основываясь на данных Kennedy et al. [65], который показал, что локальная иммуносупрессия в ткани опухоли является относительно поздним событием, можно предположить, что более раннее начало иммунотерапии будет иметь больше шансов на успех из-за отсутствия неблагоприятного цитокинового фона.

Адоптивная клеточная иммунотерапия

Если вакцинация преследует целью развитие активного иммунитета против опухолевых антигенов, то адоптивная клеточная иммунотерапия подразумевает назначение готовых опухоеспецифичных Т-клеток, кото-

рые аккумулируются в ткани опухоли, вызывая ее гибель [66]. В качестве кандидатов для данного вида терапии изучались различные субпопуляции иммунных клеток, в том числе лимфокин-активированные киллеры (ЛАК), натуральные киллеры, опухолеинфильтрирующие лимфоциты, $\gamma\delta$ Т-клетки, CD4+ цитотоксические Т-лимфоциты, CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты [67]. Однако наибольшее распространение получили генетически модифицированные цитотоксические Т-лимфоциты.

Есть два пути создания опухоеспецифичных Т-клеток. Первый путь – изоляция и культивирование Т-клеток с экспрессией высокоаффинных ТКР, специфичных для опухолевого антигена. Клетки с такими ТКР могут быть выделены из популяции Т-лимфоцитов пациентов, демонстрирующих спонтанный или вакциноиндуцированный противоопухолевый ответ. Эта техника пока не развита из-за большой трудности культивирования Т-клонов.

Второй путь – использование химерных ТКР. В норме ТКР ассоциирован с комплексом CD3, который состоит из 4 полипептидов: γ , δ , ϵ и ζ . При этом пептиды γ , δ , ϵ имеют схожую структуру, а ζ -цепь отличается большим цитоплазматическим доменом, ответственным за передачу сигнала в ядро Т-клетки, что происходит после связывания ТКР с молекулами МНС I или II типа на поверхности опухолевых клеток. Методом молекулярной инженерии с CD3 ζ -цепью связывается антитело против определенного опухолевого антигена. В итоге, ТКР может связываться не с МНС I или II типа, а непосредственно с этими антигенами на поверхности опухолевых клеток. После связывания ТКР с опухолевым антигеном Т-лимфоцит активируется, выделяет цитотоксичные молекулы (гранзим, перфорин), которые приводят к уничтожению опухолевой клетки через ее апоптоз. Эффективность Т-клеточной терапии была продемонстрирована на доклинических моделях [68–71]. Однако технические сложности данной методики наряду с опасностью малопредсказуемой токсичности объясняют небольшое число клинических исследований в этом направлении. В настоящее время у больных МГБ проводится всего несколько исследований Т-клеток с химерными рецепторами к EGFR (NCT02331693), EGFRvIII (NCT01454596), HER2 (NCT01109095) и IL13R

$\alpha 2$ (NCT02208362). Кроме этого, было принято исследование (NCT00693095) бимодальной иммунотерапии, когда одновременно использовались активная вакцинация к ЦМВ-антигенам и ЦМВ-специфичные Т-лимфоциты. О результатах пока не сообщалось.

Заключение

Несмотря на внедрение в последнее десятилетие в стандарты терапии ЗГ темозоломида (при вновь выявленных опухолях) и бевацизумаба (при рецидивах), результаты лечения при этих опухолях остаются плохими. Новые терапевтические стратегии, такие как активная вакциноterapia или адоптивная Т-клеточная терапия, жизненно необходимы для улучшения прогноза больных с опухолями ЦНС. Генерация иммунного ответа, с одной стороны, может способствовать элиминации опухолевых

клеток, а с другой стороны, за счет иммунной памяти, препятствовать рецидиву. Хотя пока нет результатов рандомизированных исследований III фазы, тем не менее данные метаанализа нескольких исследований I–II фазы свидетельствуют о достоверном увеличении как безрецидивной, так и общей выживаемости больных, получавших ДК-вакцину, по сравнению с историческим контролем [72]. Перспективным представляется сочетание нескольких иммунотерапевтических стратегий, в том числе с включением антител к иммунным чекпойнтам CTLA-4 и PD-1/PD-L1, а также препаратов, направленных на модуляцию опухолевого микроокружения. Учитывая расширение знаний о биологии и иммунологии опухолей, а также большое количество текущих клинических исследований, в ближайшие годы можно ожидать внедрения новых лечебных опций и существенного изменения парадигмы лечения злокачественных глиом.

Литература

1. Stupp R., Hegi M. E., Mason W. P., van den Bent M. J., Taphoorn M. J., Janzer R. C., et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009; 10 (5): 459–66.
2. Chinot O. L., Wick W., Mason W., Henriksson R., Saran F., Nishikawa R., et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370 (8): 709–22.
3. Cheever M. A., Allison J. P., Ferris A. S., Finn O. J., Hastings B. M., Hecht T. T., Mellman I., Prindiville S. A., Viner J. L., Weiner L. M., Matrisian L. M. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15 (17): 5323–37.
4. Reardon D. A., Wucherpfennig K. W., Freeman G., Wu C. J., Chiocca E. A., Wen P. Y., Curry W. T. Jr., Mitchell D. A., Fecci P. E., Sampson J. H., Dranoff G. An update on vaccine therapy and other immunotherapeutic approaches for glioblastoma. *Expert Rev. Vaccines.* 2013; 12 (6): 597–615.
5. Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y. J., Pulendran B., Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 767–811.
6. Yamanaka R., Homma J., Yajima N., Tsuchiya N., Sano M., Kobayashi T., Yoshida S., Abe T., Narita M., Takahashi M., Tanaka R. Clinical evaluation of dendritic cell vaccination for patients with recurrent glioma: results of a clinical phase I/II trial. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11 (11): 4160–7.
7. Palucka K., Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat. Rev. Cancer.* 2012; 12 (4): 265–77.
8. Prins R. M., Craft N., Bruhn K. W., Khan-Farooqi H., Koya R. C., Stripecke R., Miller J. F., Liau L. M. The TLR-7 agonist, imiquimod, enhances dendritic cell survival and promotes tumor antigen-specific T cell priming: relation to central nervous system antitumor immunity. *J. Immunol.* 2006; 176 (1): 157–64.
9. Ursu R., Carpentier A. F. Immunotherapeutic approach with oligodeoxynucleotides containing CpG motifs (CpG-ODN) in malignant glioma. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 746: 95–108.
10. Zhu X., Nishimura F., Sasaki K., Fujita M., Dusak J. E., Eguchi J., Fellows-Mayle W.,

- Storkus W. J., Walker P. R., Salazar A. M., Okada H. Toll like receptor-3 ligand poly-ICLC promotes the efficacy of peripheral vaccinations with tumor antigen-derived peptide epitopes in murine CNS tumor models. *J. Transl. Med.* 2007; 5: 10.
11. Herrmann A., Cherryholmes G., Schroeder A., Phallen J., Alizadeh D., Xin H., et al. TLR9 is Critical for Glioma Stem Cell Maintenance and Targeting. *Cancer Res.* 2014; 74 (18): 5218–28.
12. Linn J. F., Black P., Derksen K., Rübber H., Thüroff J. W. Keyhole limpet haemocyanin in experimental bladder cancer: literature review and own results. *Eur. Urol.* 2000; 37 Suppl 3: 34–40.
13. Zhan Y., Xu Y., Lew A. M. The regulation of the development and function of dendritic cell subsets by GM-CSF: more than a hematopoietic growth factor. *Mol. Immunol.* 2012; 52 (1): 30–7.
14. Clive K. S., Tyler J. A., Clifton G. T., Holmes J. P., Mittendorf E. A., Ponniah S., Peoples G. E. Use of GM-CSF as an adjuvant with cancer vaccines: beneficial or detrimental? *Expert Rev. Vaccines.* 2010; 9 (5): 519–25.
15. Czerkinsky C. C., Nilsson L. A., Nygren H., Ouchterlony O., Tarkowski A. A Solid-phase Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody-secreting cells. *J. Immunol. Methods.* 1983; 65 (1–2): 109–21.
16. Yu J. S., Wheeler C. J., Zeltzer P. M., Ying H., Finger D. N., Lee P. K., Yong W. H., Incardona F., Thompson R. C., Riedinger M. S., Zhang W., Prins R. M., Black K. L. Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration. *Cancer Res.* 2001; 61 (3): 842–7.
17. Yu J. S., Liu G., Ying H., Yong W. H., Black K. L., Wheeler C. J. Vaccination with tumor lysate-pulsed dendritic cells elicits antigen-specific, cytotoxic T-cells in patients with malignant glioma. *Cancer Res.* 2004; 64 (14): 4973–9.
18. Rutkowski S., De Vleeschouwer S., Kaempgen E., Wolff J. E., Kühl J., Demaerel P., Warmuth-Metz M., Flamen P., Van Calenbergh F., Plets C., Sörensen N., Opitz A., Van Gool S. W. Surgery and adjuvant dendritic cell-based tumour vaccination for patients with relapsed malignant glioma, a feasibility study. *Br. J. Cancer.* 2004; 91 (9): 1656–62.
19. Liau L. M., Prins R. M., Kiertscher S. M., Odesa S. K., Kremen T. J., Giovannone A. J., Lin J. W., Chute D. J., Mischel P. S., Cloughesy T. F., Roth M. D. Dendritic cell vaccination in glioblastoma patients induces systemic and intracranial T-cell responses modulated by the local central nervous system tumor microenvironment. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11 (15): 5515–25.
20. Yamanaka R., Abe T., Yajima N., Tsuchiya N., Homma J., Kobayashi T., Narita M., Takahashi M., Tanaka R. Vaccination of recurrent glioma patients with tumour lysate-pulsed dendritic cells elicits immune responses: results of a clinical phase I/II trial. *Br. J. Cancer.* 2003; 89 (7): 1172–9.
21. Wheeler C. J., Black K. L., Liu G., Mazer M., Zhang X. X., Pepkowitz S., Goldfinger D., Ng H., Irvin D., Yu J. S. Vaccination elicits correlated immune and clinical responses in glioblastoma multiforme patients. *Cancer Res.* 2008; 68 (14): 5955–64.
22. De Vleeschouwer S., Fieuws S., Rutkowski S., Van Calenbergh F., Van Loon J., Goffin J., Sciot R., Wilms G., Demaerel P., Warmuth-Metz M., Soerensen N., Wolff J. E., Wagner S., Kaempgen E., Van Gool S. W. Postoperative adjuvant dendritic cell-based immunotherapy in patients with relapsed glioblastoma multiforme. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14 (10): 3098–104.
23. Ardon H., Van Gool S., Lopes I. S., Maes W., Sciot R., Wilms G., Demaerel P., Bijttebier P., Claes L., Goffin J., Van Calenbergh F., De Vleeschouwer S. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the primary treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme: a pilot study. *J. Neurooncol.* 2010; 99 (2): 261–72.
24. Ardon H., Van Gool S. W., Verschuere T., Maes W., Fieuws S., Sciot R., Wilms G., Demaerel P., Goffin J., Van Calenbergh F., Menten J., Clement P., Debiec-Rychter M., De Vleeschouwer S. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the standard of care treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma: results of the HGG-2006 phase I/II trial. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012; 61 (11): 2033–44.
25. Prins R. M., Soto H., Konkankit V., Odesa S. K., Eskin A., Yong W. H., Nelson S. F., Liau L. M. Gene expression profile correlates with T-cell infiltration and relative survival in glioblastoma patients vaccinated with dendritic cell immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17 (6): 1603–15.
26. Fadul C. E., Fisher J. L., Hampton T. H., Lallana E. C., Li Z., Gui J., Szczepiorkowski Z. M.,

- Tosteson T. D., Rhodes C. H., Wishart H. A., Lewis L. D., Ernstoff M. S. Immune response in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccination after radiation chemotherapy. *J. Immunother.* 2011; 34 (4): 382–9.
27. Cho D. Y., Yang W. K., Lee H. C., Hsu D. M., Lin H. L., Lin S. Z., Chen C. C., Harn H. J., Liu C. L., Lee W. Y., Ho L. H. Adjuvant immunotherapy with whole-cell lysate dendritic cells vaccine for glioblastoma multiforme: a phase II clinical trial. *World Neurosurg.* 2012; 77 (5–6): 736–44.
28. Yung W. K., Albright R. E., Olson J., Fredericks R., Fink K., Prados M. D., et al. A phase II study of temozolomide vs. procarbazine in patients with glioblastoma multiforme at first relapse. *Br. J. Cancer.* 2000; 83 (5): 588–93.
29. Crane C. A., Han S. J., Ahn B., Oehlke J., Kivett V., Fedoroff A., Butowski N., Chang S. M., Clarke J., Berger M. S., McDermott M. W., Prados M. D., Parsa A. T. Individual patient-specific immunity against high-grade glioma after vaccination with autologous tumor derived peptides bound to the 96 KD chaperone protein. *Clin. Cancer res.* 2013; 19 (1): 205–14.
30. Bloch O., Crane C. A., Fuks Y., Kaur R., Aghi M. K., Berger M. S., Butowski N. A., Chang S. M., Clarke J. L., McDermott M. W., Prados M. D., Sloan A. E., Bruce J. N., Parsa A. T. Heat-shock protein peptide complex-96 vaccination for recurrent glioblastoma: a phase II, single-arm trial. *Neuro Oncol.* 2014; 16 (2): 274–9.
31. Rausher J., Beschorner R., Gierke M., Bisdas S., Braun C., Ebner F. H., Schittenhelm J. WT1 expression increases with malignancy and indicates unfavourable outcome in astrocytoma. *J. Clin. Pathol.* 2014; 67 (7): 556–61.
32. Izumoto S., Tsuboi A., Oka Y., Suzuki T., Hashiba T., Kagawa N, et al. Phase II clinical trial of Wilms tumor 1 peptide vaccination for patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J. Neurosurg.* 2008; 108 (5): 963–71.
33. Ciesielski M. J., Ahluwalia M. S., Munich S. A., Orton M., Barone T., Chanan-Khan A., Fenstermaker R. A. Antitumor cytotoxic T-cell response induced by a survivin peptide mimic. *Cancer Immunol. Immunother.* 2010; 59 (8): 1211–21.
34. Schumacher T., Bunse L., Pusch S., Sahm F., Wiestler B., Quandt J., et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity. *Nature.* 2014; 512 (7514): 324–7.
35. Lowenstein P. R., Castro M. G. The Value of EGFRvIII as the Target for Glioma Vaccines. *ASCO Educ. Book.* 2014: 42–50.
36. Weller M., Kaulich K., Hentschel B., Felsberg J., Gramatzki D., Pietsch T., et al. Assessment and prognostic significance of the epidermal growth factor receptor vIII mutation in glioblastoma patients treated with concurrent and adjuvant temozolomide radiochemotherapy. *Int. J. Cancer.* 2014; 134 (10): 2437–47.
37. Pelloski C. E., Ballman K. V., Furth A. F., Zhang L., Lin E., Sulman E. P., et al. Epidermal growth factor receptor variant III status defines clinically distinct subtypes of glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25 (16): 2288–94.
38. Heimberger A. B., Crotty L. E., Archer G. E., Hess K. R., Wikstrand C. J., Friedman A. H., Friedman H. S., Bigner D. D., Sampson J. H. Epidermal growth factor receptor VIII peptide vaccination is efficacious against established intracerebral tumors. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9 (11): 4247–54.
39. Sampson J. H., Archer G. E., Mitchell D. A., Heimberger A. B., Herndon J. E. 2nd, Lally-Goss D., et al. An epidermal growth factor receptor variant III-targeted vaccine is safe and immunogenic in patients with glioblastoma multiforme. *Mol. Cancer Ther.* 2009; 8 (10): 2773–9.
40. Sampson J. H., Heimberger A. B., Archer G. E., Aldape K. D., Friedman A. H., Friedman H. S., et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28 (31): 4722–9.
41. Del Vecchio C. A., Li G., Wong A. J. Targeting EGF receptor variant III: tumor-specific peptide vaccination for malignant gliomas. *Expert Rev. Vaccines.* 2012; 11 (2): 133–44.
42. Sampson J. H., Aldape K. D., Archer G. E., Coan A., Desjardins A., Friedman A. H., et al. Greater chemotherapy-induced lymphopenia enhances tumor-specific immune responses that eliminate EGFRvIII-expressing tumor cells in patients with glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 2011; 13 (3): 324–33.
43. Schuster J., Lai R. K., Recht L. D., Reardon D. A., Paleologos N. A., Groves M. D., et al. A phase II, multicenter trial of rindopepimut (CDX-110) in

- newly diagnosed glioblastoma: the ACT III study. *Neuro Oncol.* 2015.
44. Matsushita H., Vesely M. D., Koboldt D. C., Rickert C. G., Uppaluri R., Magrini V. J., et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoeediting. *Nature.* 2012; 482 (7385): 400–4.
 45. Okada H., Kalinski P., Ueda R., Hoji A., Kohanbash G., Donegan T. E., et al. Induction of CD8+ T-cell responses against novel glioma-associated antigen peptides and clinical activity by vaccinations with {alpha} -type 1 polarized dendritic cells and polyinosinic-polycytidylic acid stabilized by lysine and carboxymethylcellulose in patients with recurrent malignant glioma. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (3): 330–6.
 46. Phuphanich S., Wheeler C. J., Rudnick J. D., Mazer M., Wang H., Nuño M. A., Richardson J. E., Fan X., Ji J., Chu R. M., Bender J. G., Hawkins E. S., Patil C. G., Black K. L., Yu J. S. Phase I trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2013; 62 (1): 125–35.
 47. Yajima N., Yamanaka R., Mine T., Tsuchiya N., Homma J., Sano M., Kuramoto T., Obata Y., Komatsu N., Arima Y., Yamada A., Shigemori M., Itoh K., Tanaka R. Immunologic evaluation of personalized peptide vaccination for patients with advanced malignant glioma. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11 (16): 5900–11.
 48. Terasaki M., Shibui S., Narita Y., Fujimaki T., Aoki T., Kajiwara K., Sawamura Y., Kurisu K., Mineta T., Yamada A., Itoh K. Phase I trial of a personalized peptide vaccine for patients positive for human leukocyte antigen–A24 with recurrent or progressive glioblastoma multiforme. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (3): 337–44.
 49. Dutoit V., Herold-Mende C., Hilf N., Schoor O., Beckhove P., Bucher J., Dorsch K., Flohr S., Fritsche J., Lewandrowski P., Lohr J., Rammensee H. G., Stevanovic S., Trautwein C., Vass V., Walter S., Walker P. R., Weinschenk T., Singh-Jasuja H., Dietrich P. Y. Exploiting the glioblastoma peptidome to discover novel tumour-associated antigens for immunotherapy. *Brain.* 2012; 135 (4): 1042–54.
 50. Di Tomaso T., Mazzoleni S., Wang E., Sovena G., Clavenna D., Franzin A., Mortini P., Ferrone S., Doglioni C., Marincola F. M., Galli R., Parmiani G., Maccalli C. Immunobiological characterization of cancer stem cells isolated from glioblastoma patients. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16 (3): 800–13.
 51. Vik-Mo E. O., Nyakas M., Mikkelsen B. V., Moe M. C., Due-Tønnesen P., Suso E. M., Saebøe-Larssen S., Sandberg C., Brinchmann J. E., Helseth E., Rasmussen A. M., Lote K., Aamdal S., Gaudernack G., Kvalheim G., Langmoen I. A. Therapeutic vaccination against autologous cancer stem cells with mRNA-transfected dendritic cells in patients with glioblastoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2013; 62 (9): 1499–509.
 52. Cobbs C. S., Harkins L., Samanta M., Gillespie G. Y., Bharara S., King P. H., Nabors L. B., Cobbs C. G., Britt W. J. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res.* 2002; 62 (12): 3347–50.
 53. Scheurer M. E., Bondy M. L., Aldape K. D., Albrecht T., El-Zein R. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2008; 116 (1): 79–86.
 54. Soroceanu L., Matlaf L., Bezrookove V., Harkins L., Martinez R., Greene M., Soteropoulos P., Cobbs C. S. Human cytomegalovirus US28 found in glioblastoma promotes an invasive and angiogenic phenotype. *Cancer Res.* 2011; 71 (21): 6643–53.
 55. Dziurzynski K., Wei J., Qiao W., Hatiboglu M. A., Kong L. Y., Wu A., Wang Y., Cahill D., Levine N., Prabhu S., Rao G., Sawaya R., Heimberger A. B. Glioma-associated cytomegalovirus mediates subversion of the monocyte lineage to a tumor propagating phenotype. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17 (14): 4642–9.
 56. Prins R. M., Cloughesy T. F., Liao L. M. Cytomegalovirus immunity after vaccination with autologous glioblastoma lysate. *N. Eng. J. Med.* 2008; 359 (5): 539–41.
 57. Dietrich P., Dutoit V., Walker P. R. Immunotherapy for glioma: from illusion to realistic prospects? *ASCO Educ. Book.* 2014; 51–9.
 58. Neller M. A., Lopez J. A., Schmidt C. W. Antigens for cancer immunotherapy. *Semin. Immunol.* 2008; 20 (5): 286–95.
 59. Prins R. M., Wang X., Soto H., Young E., Lisiero D. N., Fong B., Everson R., Yong W. H., Lai A., Li G., Cloughesy T. F., Liao L. M. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded versus autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant

- glioma patients. *J. Immunother.* 2013; 36 (2): 152–7.
60. Sharma S., Yang S. C., Zhu L., Reckamp K., Gardner B., Baratelli F., Huang M., Batra R. K., Dubinett S. M. Tumor cyclooxygenase-2/prostaglandin E2-dependent promotion of FOXP3 expression and CD4+ CD25+ T regulatory cell activities in lung cancer. *Cancer Res.* 2005; 65 (12): 5211–20.
61. Ohm J. E., Gabrilovich D. I., Sempowski G. D., Kisseleva E., Parman K. S., Nadaf S., Carbone D. P. VEGF inhibits T-cell development and may contribute to tumor-induced immune suppression. *Blood.* 2003; 101 (12): 4878–86.
62. Dixit S. Immunotherapy for high-grade glioma. *Future Oncol.* 2014; 10 (6): 911–5.
63. De Vleeschouwer S., Ardon H., Van Calenbergh F., Sciot R., Wilms G., van Loon J., Goffin J., Van Gool S. Stratification according to HGG-IMMUNO RPA model predicts outcome in a large group of patients with relapsed malignant glioma treated by adjuvant postoperative dendritic cell vaccination. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012; 61 (11): 2105–12.
64. Eyrich M., Rachor J., Schreiber S. C., Wölfl M., Schlegel P. G. Dendritic cell vaccination in pediatric gliomas: lessons learnt and future perspectives. *Front. Pediatr.* 2013; 1:12.
65. Kennedy B. C., Maier L. M., D'Amico R., Mandigo C. E., Fontana E. J., Waziri A., Assanah M. C., Canoll P., Anderson R. C., Anderson D. E., Bruce J. N. Dynamics of central and peripheral immunomodulation in a murine glioma model. *BMC Immunology* 2009; 10: article 11.
66. Prins R. M., Shu C. J., Radu C. G., Vo D. D., Khan-Farooqi H., Soto H., Yang M. Y., Lin M. S., Shelly S., Witte O. N., Ribas A., Liau L. M. Anti-tumor activity and trafficking of self, tumor-specific T cells against tumors located in the brain. *Cancer Immunol. Immunother.* 2008; 57 (9): 1279–89.
67. Chung D. S., Shin H. J., Hong Y. K. A new hope in immunotherapy for malignant gliomas: adoptive T cell transfer therapy. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014:326545.
68. Bullain S. S., Sahin A., Szentirmai O., Sanchez C., Lin N., Baratta E., Waterman P., Weissleder R., Mulligan R. C., Carter B. S. Genetically engineered T cells to target EGFRvIII expressing glioblastoma. *J. Neurooncol.* 2009; 94 (3): 373–82.
69. Ahmed N., Salsman V. S., Kew Y., Shaffer D., Powell S., Zhang Y. J., Grossman R. G., Heslop H. E., Gottschalk S. HER2-specific T cells target primary glioblastoma stem cells and induce regression of autologous experimental tumors. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16 (2): 474–85.
70. Kong S., Sengupta S., Tyler B., Bais A. J., Ma Q., Doucette S., Zhou J., Sahin A., Carter B. S., Brem H., Junghans R. P., Sampath P. Suppression of human glioma xenografts with second-generation IL13R-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18 (21): 5949–60.
71. Crough T., Beagley L., Smith C., Jones L., Walker D. G., Khanna R. Ex vivo functional analysis, expansion and adoptive transfer of cytomegalovirus-specific T-cells in patients with glioblastoma multiforme. *Immunol. Cell Biol.* 2012; 90 (9): 872–80.
72. Cao J. X., Zhang X. Y., Liu J. L., Li D., Li J. L., Liu Y. S., Wang M., Xu B. L., Wang H. B., Wang Z. X. Clinical efficacy of tumor antigen-pulsed DC treatment for high-grade glioma patients: evidence from a meta-analysis. *PLoS One.* 2014; 9 (9): e107173.

References

1. Stupp R., Hegi M. E., Mason W. P., van den Bent M. J., Taphoorn M. J., Janzer R. C., et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009; 10 (5): 459–66.
2. Chinot O. L., Wick W., Mason W., Henriksson R., Saran F., Nishikawa R., et al. Bevacizumab plus radiotherapy-temozolomide for newly diagnosed glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 2014; 370 (8): 709–22.
3. Cheever M. A., Allison J. P., Ferris A. S., Finn O. J., Hastings B. M., Hecht T. T., Mellman I., Prindiville S. A., Viner J. L., Weiner L. M., Matrisian L. M. The prioritization of cancer antigens: a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin. Cancer Res.* 2009; 15 (17): 5323–37.

4. Reardon D. A., Wucherpennig K. W., Freeman G., Wu C. J., Chiocca E. A., Wen P. Y., Curry W. T. Jr., Mitchell D. A., Fecci P. E., Sampson J. H., Dranoff G. An update on vaccine therapy and other immunotherapeutic approaches for glioblastoma. *Expert Rev. Vaccines*. 2013; 12 (6): 597–615.
5. Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y. J., Pulendran B., Palucka K. Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2000; 18: 767–811.
6. Yamanaka R., Homma J., Yajima N., Tsuchiya N., Sano M., Kobayashi T., Yoshida S., Abe T., Narita M., Takahashi M., Tanaka R. Clinical evaluation of dendritic cell vaccination for patients with recurrent glioma: results of a clinical phase I/II trial. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11 (11): 4160–7.
7. Palucka K., Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat. Rev. Cancer.* 2012; 12 (4): 265–77.
8. Prins R. M., Craft N., Bruhn K. W., Khan-Farooqi H., Koya R. C., Stripecke R., Miller J. F., Liau L. M. The TLR-7 agonist, imiquimod, enhances dendritic cell survival and promotes tumor antigen-specific T cell priming: relation to central nervous system antitumor immunity. *J. Immunol.* 2006; 176 (1): 157–64.
9. Ursu R., Carpentier A. F. Immunotherapeutic approach with oligodeoxynucleotides containing CpG motifs (CpG-ODN) in malignant glioma. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2012; 746: 95–108.
10. Zhu X., Nishimura F., Sasaki K., Fujita M., Dusak J. E., Eguchi J., Fellows-Mayle W., Storkus W. J., Walker P. R., Salazar A. M., Okada H. Toll like receptor-3 ligand poly-ICLC promotes the efficacy of peripheral vaccinations with tumor antigen-derived peptide epitopes in murine CNS tumor models. *J. Transl. Med.* 2007; 5: 10.
11. Herrmann A., Cherryholmes G., Schroeder A., Phallen J., Alizadeh D., Xin H., et al. TLR9 is Critical for Glioma Stem Cell Maintenance and Targeting. *Cancer Res.* 2014; 74 (18): 5218–28.
12. Linn J. F., Black P., Derksen K., Rübber H., Thüroff J. W. Keyhole limpet haemocyanin in experimental bladder cancer: literature review and own results. *Eur. Urol.* 2000; 37 Suppl 3: 34–40.
13. Zhan Y., Xu Y., Lew A. M. The regulation of the development and function of dendritic cell subsets by GM-CSF: more than a hematopoietic growth factor. *Mol. Immunol.* 2012; 52 (1): 30–7.
14. Clive K. S., Tyler J. A., Clifton G. T., Holmes J. P., Mittendorf E. A., Ponniah S., Peoples G. E. Use of GM-CSF as an adjuvant with cancer vaccines: beneficial or detrimental? *Expert Rev. Vaccines*. 2010; 9 (5): 519–25.
15. Czerkinsky C. C., Nilsson L. A., Nygren H., Ouchterlony O., Tarkowski A. A Solid-phase Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody-secreting cells. *J. Immunol. Methods.* 1983; 65 (1–2): 109–21.
16. Yu J. S., Wheeler C. J., Zeltzer P. M., Ying H., Finger D. N., Lee P. K., Yong W. H., Incardona F., Thompson R. C., Riedinger M. S., Zhang W., Prins R. M., Black K. L. Vaccination of malignant glioma patients with peptide-pulsed dendritic cells elicits systemic cytotoxicity and intracranial T-cell infiltration. *Cancer Res.* 2001; 61 (3): 842–7.
17. Yu J. S., Liu G., Ying H., Yong W. H., Black K. L., Wheeler C. J. Vaccination with tumor lysate-pulsed dendritic cells elicits antigen-specific, cytotoxic T-cells in patients with malignant glioma. *Cancer Res.* 2004; 64 (14): 4973–9.
18. Rutkowski S., De Vleeschouwer S., Kaempgen E., Wolff J. E., Kühl J., Demaerel P., Warmuth-Metz M., Flamen P., Van Calenbergh F., Plets C., Sörensen N., Opitz A., Van Gool S. W. Surgery and adjuvant dendritic cell-based tumour vaccination for patients with relapsed malignant glioma, a feasibility study. *Br. J. Cancer.* 2004; 91 (9): 1656–62.
19. Liau L. M., Prins R. M., Kiertscher S. M., Odesa S. K., Kremen T. J., Giovannone A. J., Lin J. W., Chute D. J., Mischel P. S., Cloughesy T. F., Roth M. D. Dendritic cell vaccination in glioblastoma patients induces systemic and intracranial T-cell responses modulated by the local central nervous system tumor microenvironment. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11 (15): 5515–25.
20. Yamanaka R., Abe T., Yajima N., Tsuchiya N., Homma J., Kobayashi T., Narita M., Takahashi M., Tanaka R. Vaccination of recurrent glioma patients with tumour lysate-pulsed dendritic cells elicits immune responses: results of a clinical phase I/II trial. *Br. J. Cancer.* 2003; 89 (7): 1172–9.
21. Wheeler C. J., Black K. L., Liu G., Mazer M., Zhang X. X., Pepkowitz S., Goldfinger D., Ng H., Irvin D., Yu J. S. Vaccination elicits correlated immune and clinical responses in glioblastoma multiforme patients. *Cancer Res.* 2008; 68 (14): 5955–64.
22. De Vleeschouwer S., Fieuws S., Rutkowski S., Van Calenbergh F., Van Loon J., Goffin J., Sciort R.,

- Wilms G., Demaerel P., Warmuth-Metz M., Soerensen N., Wolff J. E., Wagner S., Kaempgen E., Van Gool S. W. Postoperative adjuvant dendritic cell-based immunotherapy in patients with relapsed glioblastoma multiforme. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14 (10): 3098–104.
23. Ardon H., Van Gool S., Lopes I. S., Maes W., Sciot R., Wilms G., Demaerel P., Bijttebier P., Claes L., Goffin J., Van Calenbergh F., De Vleeschouwer S. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the primary treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme: a pilot study. *J. Neurooncol.* 2010; 99 (2): 261–72.
 24. Ardon H., Van Gool S. W., Verschuere T., Maes W., Fieuws S., Sciot R., Wilms G., Demaerel P., Goffin J., Van Calenbergh F., Menten J., Clement P., Debiec-Rychter M., De Vleeschouwer S. Integration of autologous dendritic cell-based immunotherapy in the standard of care treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma: results of the HGG-2006 phase I/II trial. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012; 61 (11): 2033–44.
 25. Prins R. M., Soto H., Konkankit V., Odesa S. K., Eskin A., Yong W. H., Nelson S. F., Liau L. M. Gene expression profile correlates with T-cell infiltration and relative survival in glioblastoma patients vaccinated with dendritic cell immunotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17 (6): 1603–15.
 26. Fadul C. E., Fisher J. L., Hampton T. H., Lallana E. C., Li Z., Gui J., Szczepiorkowski Z. M., Tosteson T. D., Rhodes C. H., Wishart H. A., Lewis L. D., Ernstoff M. S. Immune response in patients with newly diagnosed glioblastoma multiforme treated with intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccination after radiation chemotherapy. *J. Immunother.* 2011; 34 (4): 382–9.
 27. Cho D. Y., Yang W. K., Lee H. C., Hsu D. M., Lin H. L., Lin S. Z., Chen C. C., Harn H. J., Liu C. L., Lee W. Y., Ho L. H. Adjuvant immunotherapy with whole-cell lysate dendritic cells vaccine for glioblastoma multiforme: a phase II clinical trial. *World Neurosurg.* 2012; 77 (5–6): 736–44.
 28. Yung W. K., Albright R. E., Olson J., Fredericks R., Fink K., Prados M. D., et al. A phase II study of temozolomide vs. procarbazine in patients with glioblastoma multiforme at first relapse. *Br. J. Cancer.* 2000; 83 (5): 588–93.
 29. Crane C. A., Han S. J., Ahn B., Oehlke J., Kivett V., Fedoroff A., Butowski N., Chang S. M., Clarke J., Berger M. S., McDermott M. W., Prados M. D., Parsa A. T. Individual patient-specific immunity against high-grade glioma after vaccination with autologous tumor derived peptides bound to the 96 KD chaperone protein. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19 (1): 205–14.
 30. Bloch O., Crane C. A., Fuks Y., Kaur R., Aghi M. K., Berger M. S., Butowski N. A., Chang S. M., Clarke J. L., McDermott M. W., Prados M. D., Sloan A. E., Bruce J. N., Parsa A. T. Heat-shock protein peptide complex-96 vaccination for recurrent glioblastoma: a phase II, single-arm trial. *Neuro Oncol.* 2014; 16 (2): 274–9.
 31. Rausher J., Beschoner R., Gierke M., Bisdas S., Braun C., Ebner F. H., Schittenhelm J. WT1 expression increases with malignancy and indicates unfavourable outcome in astrocytoma. *J. Clin. Pathol.* 2014; 67 (7): 556–61.
 32. Izumoto S., Tsuboi A., Oka Y., Suzuki T., Hashiba T., Kagawa N, et al. Phase II clinical trial of Wilms tumor 1 peptide vaccination for patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J. Neurosurg.* 2008; 108 (5): 963–71.
 33. Ciesielski M. J., Ahluwalia M. S., Munich S. A., Orton M., Barone T., Chanan-Khan A., Fenstermaker R. A. Antitumor cytotoxic T-cell response induced by a survivin peptide mimic. *Cancer Immunol. Immunother.* 2010; 59 (8): 1211–21.
 34. Schumacher T., Bunse L., Pusch S., Sahm F., Wiestler B., Quandt J., et al. A vaccine targeting mutant IDH1 induces antitumour immunity. *Nature.* 2014; 512 (7514): 324–7.
 35. Lowenstein P. R., Castro M. G. The Value of EGFRvIII as the Target for Glioma Vaccines. *ASCO Educ. Book.* 2014: 42–50.
 36. Weller M., Kaulich K., Hentschel B., Felsberg J., Gramatzki D., Pietsch T., et al. Assessment and prognostic significance of the epidermal growth factor receptor vIII mutation in glioblastoma patients treated with concurrent and adjuvant temozolomide radiochemotherapy. *Int. J. Cancer.* 2014; 134 (10): 2437–47.
 37. Pelloski C. E., Ballman K. V., Furth A. F., Zhang L., Lin E., Sulman E. P., et al. Epidermal growth factor receptor variant III status defines clinically distinct subtypes of glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25 (16): 2288–94.
 38. Heimberger A. B., Crotty L. E., Archer G. E., Hess K. R., Wikstrand C. J., Friedman A. H., Friedman H. S., Bigner D. D.,

- Sampson J. H. Epidermal growth factor receptor VIII peptide vaccination is efficacious against established intracerebral tumors. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9 (11): 4247–54.
39. Sampson J. H., Archer G. E., Mitchell D. A., Heimberger A. B., Herndon J. E. 2nd, Lally-Goss D., et al. An epidermal growth factor receptor variant III-targeted vaccine is safe and immunogenic in patients with glioblastoma multiforme. *Mol. Cancer Ther.* 2009; 8 (10): 2773–9.
40. Sampson J. H., Heimberger A. B., Archer G. E., Aldape K. D., Friedman A. H., Friedman H. S., et al. Immunologic escape after prolonged progression-free survival with epidermal growth factor receptor variant III peptide vaccination in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28 (31): 4722–9.
41. Del Vecchio C. A., Li G., Wong A. J. Targeting EGF receptor variant III: tumor-specific peptide vaccination for malignant gliomas. *Expert Rev. Vaccines.* 2012; 11 (2): 133–44.
42. Sampson J. H., Aldape K. D., Archer G. E., Coan A., Desjardins A., Friedman A. H., et al. Greater chemotherapy-induced lymphopenia enhances tumor-specific immune responses that eliminate EGFRvIII-expressing tumor cells in patients with glioblastoma. *Neuro-Oncol.* 2011; 13 (3): 324–33.
43. Schuster J., Lai R. K., Recht L. D., Reardon D. A., Paleologos N. A., Groves M. D., et al. A phase II, multicenter trial of rindopepimut (CDX-110) in newly diagnosed glioblastoma: the ACT III study. *Neuro Oncol.* 2015.
44. Matsushita H., Vesely M. D., Koboldt D. C., Rickert C. G., Uppaluri R., Magrini V. J., et al. Cancer exome analysis reveals a T-cell-dependent mechanism of cancer immunoediting. *Nature.* 2012; 482 (7385): 400–4.
45. Okada H., Kalinski P., Ueda R., Hoji A., Kohanbash G., Donegan T. E., et al. Induction of CD8+ T-cell responses against novel glioma-associated antigen peptides and clinical activity by vaccinations with α -type 1 polarized dendritic cells and polyinosinic-polycytidylic acid stabilized by lysine and carboxymethylcellulose in patients with recurrent malignant glioma. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (3): 330–6.
46. Phuphanich S., Wheeler C. J., Rudnick J. D., Mazer M., Wang H., Nuño M. A., Richardson J. E., Fan X., Ji J., Chu R. M., Bender J. G., Hawkins E. S., Patil C. G., Black K. L., Yu J. S. Phase I trial of a multi-epitope-pulsed dendritic cell vaccine for patients with newly diagnosed glioblastoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2013; 62 (1): 125–35.
47. Yajima N., Yamanaka R., Mine T., Tsuchiya N., Homma J., Sano M., Kuramoto T., Obata Y., Komatsu N., Arima Y., Yamada A., Shigemori M., Itoh K., Tanaka R. Immunologic evaluation of personalized peptide vaccination for patients with advanced malignant glioma. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11 (16): 5900–11.
48. Terasaki M., Shibui S., Narita Y., Fujimaki T., Aoki T., Kajiura K., Sawamura Y., Kurisu K., Mineta T., Yamada A., Itoh K. Phase I trial of a personalized peptide vaccine for patients positive for human leukocyte antigen–A24 with recurrent or progressive glioblastoma multiforme. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (3): 337–44.
49. Dutoit V., Herold-Mende C., Hilf N., Schoor O., Beckhove P., Bucher J., Dorsch K., Flohr S., Fritsche J., Lewandrowski P., Lohr J., Rammensee H. G., Stevanovic S., Trautwein C., Vass V., Walter S., Walker P. R., Weinschenk T., Singh-Jasuja H., Dietrich P. Y. Exploiting the glioblastoma peptidome to discover novel tumour-associated antigens for immunotherapy. *Brain.* 2012; 135 (4): 1042–54.
50. Di Tomaso T., Mazzoleni S., Wang E., Sovena G., Clavenna D., Franzin A., Mortini P., Ferrone S., Doglioni C., Marincola F. M., Galli R., Parmiani G., Maccalli C. Immunobiological characterization of cancer stem cells isolated from glioblastoma patients. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16 (3): 800–13.
51. Vik-Mo E. O., Nyakas M., Mikkelsen B. V., Moe M. C., Due-Tønnesen P., Suso E. M., Saebøe-Larssen S., Sandberg C., Brinchmann J. E., Helseth E., Rasmussen A. M., Lote K., Aamdal S., Gaudernack G., Kvalheim G., Langmoen I. A. Therapeutic vaccination against autologous cancer stem cells with mRNA-transfected dendritic cells in patients with glioblastoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2013; 62 (9): 1499–509.
52. Cobbs C. S., Harkins L., Samanta M., Gillespie G. Y., Bharara S., King P. H., Nabors L. B., Cobbs C. G., Britt W. J. Human cytomegalovirus infection and expression in human malignant glioma. *Cancer Res.* 2002; 62 (12): 3347–50.
53. Scheurer M. E., Bondy M. L., Aldape K. D., Albrecht T., El-Zein R. Detection of human cytomegalovirus in different histological types of gliomas. *Acta Neuropathol.* 2008; 116 (1): 79–86.

54. Soroceanu L., Matlaf L., Bezrookove V., Harkins L., Martinez R., Greene M., Soteropoulos P., Cobbs C. S. Human cytomegalovirus US28 found in glioblastoma promotes an invasive and angiogenic phenotype. *Cancer Res.* 2011; 71 (21): 6643–53.
55. Dziurzynski K., Wei J., Qiao W., Hatiboglu M. A., Kong L. Y., Wu A., Wang Y., Cahill D., Levine N., Prabhu S., Rao G., Sawaya R., Heimberger A. B. Glioma-associated cytomegalovirus mediates subversion of the monocyte lineage to a tumor propagating phenotype. *Clin. Cancer Res.* 2011; 17 (14): 4642–9.
56. Prins R. M., Cloughesy T. F., Liao L. M. Cytomegalovirus immunity after vaccination with autologous glioblastoma lysate. *N. Eng. J. Med.* 2008; 359 (5): 539–41.
57. Dietrich P., Dutoit V., Walker P. R. Immunotherapy for glioma: from illusion to realistic prospects? *ASCO Educ. Book.* 2014; 51–9.
58. Neller M. A., Lopez J. A., Schmidt C. W. Antigens for cancer immunotherapy. *Semin. Immunol.* 2008; 20 (5): 286–95.
59. Prins R. M., Wang X., Soto H., Young E., Lisiero D. N., Fong B., Everson R., Yong W. H., Lai A., Li G., Cloughesy T. F., Liao L. M. Comparison of glioma-associated antigen peptide-loaded versus autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination in malignant glioma patients. *J. Immunother.* 2013; 36 (2): 152–7.
60. Sharma S., Yang S. C., Zhu L., Reckamp K., Gardner B., Baratelli F., Huang M., Batra R. K., Dubinett S. M. Tumor cyclooxygenase-2/prostaglandin E2-dependent promotion of FOXP3 expression and CD4+ CD25+ T regulatory cell activities in lung cancer. *Cancer Res.* 2005; 65 (12): 5211–20.
61. Ohm J. E., Gabrilovich D. I., Sempowski G. D., Kisseleva E., Parman K. S., Nadaf S., Carbone D. P. VEGF inhibits T-cell development and may contribute to tumor-induced immune suppression. *Blood.* 2003; 101 (12): 4878–86.
62. Dixit S. Immunotherapy for high-grade glioma. *Future Oncol.* 2014; 10 (6): 911–5.
63. De Vleeschouwer S., Ardon H., Van Calenbergh F., Sciot R., Wilms G., van Loon J., Goffin J., Van Gool S. Stratification according to HGG-IMMUNO RPA model predicts outcome in a large group of patients with relapsed malignant glioma treated by adjuvant postoperative dendritic cell vaccination. *Cancer Immunol. Immunother.* 2012; 61 (11): 2105–12.
64. Eyrich M., Rachor J., Schreiber S. C., Wöfl M., Schlegel P. G. Dendritic cell vaccination in pediatric gliomas: lessons learnt and future perspectives. *Front. Pediatr.* 2013; 1:12.
65. Kennedy B. C., Maier L. M., D'Amico R., Mandigo C. E., Fontana E. J., Waziri A., Assanah M. C., Canoll P., Anderson R. C., Anderson D. E., Bruce J. N. Dynamics of central and peripheral immunomodulation in a murine glioma model. *BMC Immunology* 2009; 10: article 11.
66. Prins R. M., Shu C. J., Radu C. G., Vo D. D., Khan-Farooqi H., Soto H., Yang M. Y., Lin M. S., Shelly S., Witte O. N., Ribas A., Liao L. M. Anti-tumor activity and trafficking of self, tumor-specific T cells against tumors located in the brain. *Cancer Immunol. Immunother.* 2008; 57 (9): 1279–89.
67. Chung D. S., Shin H. J., Hong Y. K. A new hope in immunotherapy for malignant gliomas: adoptive T cell transfer therapy. *J. Immunol. Res.* 2014; 2014:326545.
68. Bullain S. S., Sahin A., Szentirmai O., Sanchez C., Lin N., Baratta E., Waterman P., Weissleder R., Mulligan R. C., Carter B. S. Genetically engineered T cells to target EGFRvIII expressing glioblastoma. *J. Neurooncol.* 2009; 94 (3): 373–82.
69. Ahmed N., Salsman V. S., Kew Y., Shaffer D., Powell S., Zhang Y. J., Grossman R. G., Heslop H. E., Gottschalk S. HER2-specific T cells target primary glioblastoma stem cells and induce regression of autologous experimental tumors. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16 (2): 474–85.
70. Kong S., Sengupta S., Tyler B., Bais A. J., Ma Q., Doucette S., Zhou J., Sahin A., Carter B. S., Brem H., Junghans R. P., Sampath P. Suppression of human glioma xenografts with second-generation IL13R-specific chimeric antigen receptor-modified T cells. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18 (21): 5949–60.
71. Crough T., Beagley L., Smith C., Jones L., Walker D. G., Khanna R. Ex vivo functional analysis, expansion and adoptive transfer of cytomegalovirus-specific T-cells in patients with glioblastoma multiforme. *Immunol. Cell Biol.* 2012; 90 (9): 872–80.
72. Cao J. X., Zhang X. Y., Liu J. L., Li D., Li J. L., Liu Y. S., Wang M., Xu B. L., Wang H. B., Wang Z. X. Clinical efficacy of tumor antigen-pulsed DC treatment for high-grade glioma patients: evidence from a meta-analysis. *PLoS One.* 2014; 9 (9): e107173.