

ОБЗОРЫ

REVIEWS

Множественная миелома и вакцины на основе дендритных клеток

Multiple Myeloma and Dendritic Cell Vaccines

И.В. Грибкова, А.А. Завьялов

IV Gribkova, AA Zavyalov

ГБУ «НИИ организации здравоохранения и медицинского менеджмента ДЗМ», ул. Шарикоподшипниковская, д. 9, Москва, Российская Федерация, 115088

Research Institute for Healthcare Organization and Medical Management, 9 Sharikopodshipnikovskaya str., Moscow, Russian Federation, 115088

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

Несмотря на успехи, достигнутые в лечении множественной миеломы, у большинства пациентов после его окончания сохраняется минимальная остаточная болезнь (МОБ-положительный статус), что повышает риск развития рецидива. Антигенспецифическая иммунотерапия опухолей позволяет улучшить клинический исход у таких пациентов за счет уничтожения устойчивого к лекарственному противоопухолевому воздействию клона опухолевых клеток без повреждения нормальных тканей. Дендритные клетки (ДК) представляют собой антигенпрезентирующие элементы, главной функцией которых является захват антигенов, процессинг и представление их наивным Т-лимфоцитам для активации иммунного ответа против захваченного антигена. Уникальные способности ДК активировать Т-хелперы, а также цитотоксические Т-лимфоциты и посредством этого определять направленность иммунных реакций использовались для разработки иммунотерапии опухолей на основе ДК. Такой подход предполагает применение так называемых ДК-вакцин. К настоящему времени уже имеются результаты клинических исследований по использованию ДК-вакцин при различных опухолях, включая гематологические. В целом, согласно проведенным работам, ДК-вакцины характеризуются удовлетворительным профилем безопасности, умеренной иммунной активностью и умеренной клинической эффективностью. В настоящем обзоре рассматриваются результаты клинических исследований по использованию вакцин на основе ДК у больных множественной миеломой. Кроме того, обсуждаются возможности повышения клинической эффективности данной терапии.

Despite advances in the treatment of multiple myeloma, most of patients after its completion retain minimal residual disease (MRD-positive status), which increases the risk of relapse. Antigen-specific immunotherapy of tumors contributes to improving the clinical outcomes in such patients by the killing of cancer drug resistant clone of tumor cells without any damage to normal tissues. Dendritic cells (DC) are antigen-presenting elements with the main function of antigen-capturing, processing, and presenting them to naive T-lymphocytes for the activation of immune response against the captured antigen. The unique ability of DC to activate T-helpers and cytotoxic T-lymphocytes as well as to target thereby the immune reactions was used in developing DC-based tumor immunotherapy. This approach suggests the implementation of the so-called 'DC-vaccines'. The clinical trials performed by now also showed the results of using DC-vaccines in various tumors including hematological ones. On the whole, according to the studies DC-vaccines are characterized by satisfactory safety profile, moderate immunological activity, and moderate clinical efficacy. The present review provides the results of clinical trials dealing with the use of DC-based vaccines in multiple myeloma patients. Besides, the potentials of improving the clinical efficacy of this therapy are discussed.

Ключевые слова: множественная миелома, дендритные клетки, ДК-вакцины, гематологические злокачественные новообразования, иммунотерапия.

Keywords: multiple myeloma, dendritic cells, DC-vaccines, hematological malignancies, immunotherapy.

Получено: 9 марта 2021 г.

Received: March 9, 2021

Принято в печать: 11 июня 2021 г.

Accepted: June 11, 2021

Для переписки: Ирина Владимировна Грибкова, канд. биол. наук, ул. Шарикоподшипниковская, д. 9, Москва, Российская Федерация, 115088; тел.: +7(916)078-73-90; e-mail: igribkova@yandex.ru

Для цитирования: Грибкова И.В., Завьялов А.А. Множественная миелома и вакцины на основе дендритных клеток. Клиническая онкогематология. 2021;14(3):370–7.

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-3-370-377

For correspondence: Irina Vladimirovna Gribkova, PhD in Biology, 9 Sharikopodshpnikovskaya str., Moscow, Russian Federation, 115088; Tel.: +7(916)078-73-90; e-mail: igribkova@yandex.ru

For citation: Gribkova IV, Zavyalov AA. Multiple Myeloma and Dendritic Cell Vaccines. Clinical oncohematology. 2021;14(3):370–7. (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2021-14-3-370-377

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) — это В-клеточная злокачественная опухоль, морфологическим субстратом которой являются плазматические клетки, продуцирующие моноклональный иммуноглобулин. Применение высокоэффективных методов лекарственной терапии и трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (аутоТГСК) привело к существенному увеличению показателей общей выживаемости при ММ [1]. Однако, несмотря на достигнутые успехи, ММ остается заболеванием, имеющим плохой прогноз. У большинства пациентов после окончания лечения определяется минимальная остаточная болезнь и нередко развивается рецидив. Кроме того, даже пациенты, у которых достигнута длительная ремиссия, часто страдают от побочных эффектов, вызванных противоопухолевой лекарственной терапией. Обозначенные проблемы возникают из-за неспособности по разным причинам применяемых методов лечения устранить устойчивые к терапии клоны опухолевых клеток. Иммуноterapia опухолей, включающая и применение вакцин, может улучшить клинический исход у этой категории пациентов за счет уничтожения резистентных клонов без повреждения нормальных тканей и, следовательно, является привлекательным подходом для преодоления этих проблем [2].

Настоящий обзор посвящен противоопухолевым вакцинам на основе дендритных клеток (ДК) как новому подходу в иммунотерапии злокачественных опухолей. Применение вакцин направлено на уничтожение злокачественных опухолевых клеток через активирование иммунной системы. Одновременно формируется иммунная память для предотвращения рецидивов заболевания [3]. В обзоре рассматриваются клинические исследования ДК-вакцин при ММ.

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ И ВАКЦИНЫ НА ИХ ОСНОВЕ

Дендритные клетки — это антигенпрезентирующие клетки, которые служат важным звеном между врожденной и адаптивной иммунной системой [4]. ДК происходят из гемопоэтических стволовых клеток, циркулируют в периферической крови и перемещаются в периферические ткани, такие как кожа и слизистые оболочки, где они находятся в незрелой форме. Когда патогены проникают в ткань, ДК захватывают антигены и получают сигналы созревания от них через рецепторы врожденной иммунной системы.

Затем ДК мигрируют в дренирующие лимфатические узлы, где происходит их созревание. Они инициируют адаптивный иммунный ответ, представляя обработанные антигены наивным Т-клеткам при участии молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) вместе с костимулирующими молекулами и цитокинами. Последние необходимы для активации эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти [5]. ДК обладают наиболее сильной способностью активировать антигенспецифические Т-клетки *in vivo*. Таким образом, ДК действуют как ключевые регуляторы антигенспецифических Т-клеточных ответов. ДК также обладают способностью эффективно активировать В-клетки и эффекторные клетки врожденного иммунитета — естественные киллеры (НК) и естественные киллерные Т-клетки (НКТ) [6].

Иммуноterapia опухолей на основе ДК, которую также называют ДК-вакцинацией, направлена на использование способности ДК активировать опухолеспецифические эффекторные клетки [7]. В настоящее время противоопухолевые ДК-вакцины активно изучают на мышинных моделях *in vivo* и в клинических исследованиях. Наиболее распространенным подходом к терапии опухолей с использованием ДК являются инъекции ДК, нагруженных *ex vivo* опухоль-ассоциированными антигенами (ОАГ), т. е. белками, сверхэкспрессия которых специфична к определенному типу опухолей [8].

При изготовлении ДК-вакцин в клинических исследованиях в качестве источников предшественников ДК обычно используют моноциты периферической крови. Стандартный способ приготовления ДК-вакцин предполагает инкубацию предшественников ДК в присутствии гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ) и интерлейкина-4 (ИЛ-4) в течение 6–8 дней, нагрузку незрелых ДК опухолевыми антигенами с последующей активацией их созревания с помощью воспалительных цитокинов (фактора некроза опухолей α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, интерферона- γ [ИФН- γ] и др.) или ксеногенных факторов: бактериального липополисахарида, ОК432 (*Streptococcus pyogenes* низкой вирулентности) и др. [8].

На эффективность противоопухолевого иммунного ответа, активируемого модифицированными ДК, большое влияние оказывают ОАГ, которыми нагружают незрелые ДК. В качестве источников ОАГ используют лизаты опухолей, синтетические опухолеспецифические пептиды, опухолевые белки, опухолевые клетки, находящиеся в состоянии апоптоза, нуклеиновые кислоты (ДНК, мРНК) и др. [8]. В большинстве случаев применяют синтетические

пептидные эпитопы известных ОАГ, такие как муцин 1 (MUC1), сурвивин, тирозиназа, p53, меланома-ассоциированный антиген (MAGE) и др., служащие мишенями для нескольких типов опухолей [9]. Доставку в ДК опухолевых антигенов белковой природы (белки, пептиды и лизаты) или опухолевых клеток, находящихся в состоянии апоптоза, осуществляют путем пассивного добавления ОАГ к незрелым ДК. В случае доставки в ДК нуклеиновых кислот, кодирующих ОАГ, используют физические методы, такие как электропорация (создание пор в бислоидной липидной мембране под действием электрического поля) и сонопорация (использование звука [обычно ультразвуковых частот] для изменения проницаемости плазматической мембраны клетки), вирусные системы (аденовирусы, аденоассоциированные вирусы, ретровирусы, лентивирусы) и др. [8].

Таким образом, способы приготовления ДК-вакцин могут существенно различаться в разных исследованиях. Используются разные источники ДК, препараты антигенов, методы нагрузки и агенты, стимулирующие созревание ДК и т. д. Различаются и способы введения вакцины: возможны подкожные, внутрикожные, внутривенные инъекции, а также инфузии в дренирующие опухоль лимфатические узлы [9–12]. Схемы введения вакцины разнообразны и, как правило, представляют собой несколько циклов вакцинации. Таким образом, выше перечислены факторы, которые требуют оптимизации с целью повысить эффективность ДК-вакцин.

Оценку эффективности ДК-вакцинации обычно проводят по двум критериям: иммунологическому и клиническому. Основными иммунологическими характеристиками, измеряемыми в клинических исследованиях ДК-вакцин, являются реакция иммунной системы на ОАГ (DTH-реакция — реакция кожной гиперчувствительности замедленного типа), присутствие комплексов HLA с пептидами опухолевых антигенов на поверхности ДК, экспрессия перфорина/гранзима Т-лимфоцитами CD8+, активность цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ против опухолевых клеток, уровень синтеза ИФН- γ Т-лимфоцитами, количество регуляторных Т-клеток в крови и опухолевых клеток в костном мозге и т. д. Клинический ответ на ДК-вакцины оценивают по показателям выживаемости пациентов, достижению ремиссии, развитию рецидивов заболевания [8, 10, 13–15].

Проведено большое количество клинических исследований ДК-вакцин при различных опухолях, включая гематологические злокачественные новообразования. В целом можно заключить, что ДК-вакцины имеют удовлетворительный профиль безопасности. Они характеризуются умеренной иммунной активностью и умеренной клинической эффективностью [2, 8, 9, 16].

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДК-ВАКЦИН У БОЛЬНЫХ ММ

Id-нагруженные ДК-вакцины (Id/ДК-вакцины)

Опухолевые антигены, которые наиболее часто используются для нагрузки ДК при создании вакцин

для лечения ММ, — это специфические именно для этой категории больных белки, продуцируемые клетками миеломы, детерминанты идиотипа (Id) моноклонового иммуноглобулина (парапротеина). Описанию исследований таких Id/ДК-вакцин посвящено множество работ [10, 13, 14, 17–23].

В 1999 г. V.L. Reichardt и соавт. [17] применили Id/ДК-вакцину у 12 пациентов с ММ, ранее подвергавшихся высокодозной химиотерапии и аутоТГСК. Пациенты получали две внутривенные инфузии аутологичных Id/ДК. Введение ДК-вакцины переносилось пациентами удовлетворительно: у подавляющего большинства не было побочных эффектов или осложнений. Лишь у 2 пациентов наблюдали преходящие субфебрильную температуру и озноб, а у 1 — постинфузионный тромбоз. У 2 (17 %) из 12 больных развился Id-специфический клеточный иммунный ответ, и они оставались в полной ремиссии ММ при минимальном периоде наблюдения 16 мес. У 1 (8 %) пациента без какого-либо дальнейшего противоопухолевого лечения уровень М-белка снизился с 23 г/л перед вакцинацией до 18 г/л после ее завершения.

Впоследствии аналогичные результаты были получены и в других исследованиях [15–19]. Например, S.H. Lim и R. Bailey-Wood [19] также наблюдали Id-специфические ответы у пациентов с ММ. У 2 (40 %) из 5 пациентов после Id/ДК-вакцинации ответы были связаны с продукцией ИФН- γ . У 3 (60 %) пациентов отмечалось увеличение количества предшественников цитотоксических Т-клеток. В-клеточные ответы, характеризующиеся продукцией анти-Id IgM, зарегистрированы у 3 (60 %) из 5 обследуемых пациентов, а анти-Id IgG — у 4 (80 %). У 1 (20 %) больного наблюдалось умеренное (25 %), но стойкое падение уровня сывороточного Id. У 2 (40 %) пациентов отмечалось прогрессирование ММ в среднем через 3,5 мес. после завершения вакцинации. У других 2 (40 %) обследуемых уровень Id в сыворотке оставался постоянным более чем через 8 мес. после завершения вакцинации.

Исследование более крупной когорты из 26 пациентов с ММ, получавших высокодозную химиотерапию и аутоТГСК, описано в работе A. Liso и соавт. [13]. Пациенты получали две внутривенные инфузии ДК, нагруженных Id. У всех пациентов аутологичные ДК были получены из продукта лейкофереза, проводимого через 3–9 мес. после аутоТГСК. Инфузии ДК переносились удовлетворительно: большинство пациентов не испытывали никаких побочных эффектов. Лишь у некоторых из них наблюдали лихорадку, озноб, тошноту/рвоту I–II степени тяжести. У 4 (15 %) больных развился Id-специфический иммунный ответ. У 3 из них на момент вакцинации была полная ремиссия. Под наблюдением оставалось 17 пациентов при среднем его сроке 34 мес. после аутоТГСК. Из них у 5 (29 %) человек после вакцинации зарегистрирован полный ответ, у 7 (41 %) — частичный, а у 5 (29 %) — прогрессирование ММ. Уровень М-белка исследовали у 21 пациента: из них у 8 (38 %) отмечалось снижение уровня белка после вакцинации, у 7 (31 %) — стабилизация, а у 6 (29 %) — повышение.

В целом результаты, полученные в этих работах, с точки зрения клинической эффективности нельзя признать удовлетворительными. Небольшое сни-

жение уровня моноклонального белка после активной иммунизации ДК-вакциной наблюдалось менее чем у $1/3$ пациентов, включенных в исследование. Возможно, отсутствие клинической эффективности было связано с использованием незрелых ДК, вводимых внутривенно. Незрелые ДК хуже активируют Т-клетки и могут дифференцироваться в макрофаги. Внутривенное введение приводит к тому, что ДК накапливаются в легких, печени и задерживаются до 48 ч, что снижает их способность мигрировать в лимфоидные органы и взаимодействовать с Т-клетками [14].

С целью повысить эффективность ДК-вакцинации при ММ Q. Yi и соавт. в исследовании 2002 г. использовали зрелые Id/ДК, вводимые подкожно [14]. В исследование было включено 5 пациентов со стабильной частичной ремиссией после высокодозной химиотерапии с аутоТГСК. ДК-вакцины вводили трижды с 2-недельными интервалами, не ранее чем через 4 мес. после аутоТГСК. Id-специфические Т-клеточные ответы наблюдались у 4 (80 %) пациентов, а анти-Id В-клеточные ответы — у всех 5 (100 %). У 1 (20 %) больного, у которого был зарегистрирован иммунный ответ, выявлено снижение уровня М-белка в сыворотке на 50 %, которое сохранялось в течение 6 мес. У других 3 (69 %) пациентов наблюдалась стабилизация уровня М-белка в течение 6 мес. У 5-го пациента, у которого отсутствовал иммунный ответ на вакцинацию, был выявлен рецидив. Серьезных побочных эффектов после ДК-вакцинации не отмечалось.

В более поздней работе 2010 г. Q. Yi и соавт. [10] сообщили о клиническом исследовании интранодальной инъекции зрелых Id/ДК 9 пациентам с тлеющей или стабильной миеломой, ранее не подвергавшимся противоопухолевому лечению. У всех обследуемых наблюдались Id-специфические Т-клеточные ответы, связанные с продукцией ИФН- γ . Id-специфические ответы цитотоксических Т-клеток зафиксированы у 5 (56 %) пациентов. У всех 9 участников исследования обнаружено значительное увеличение количества анти-Id В-клеток. При наблюдении в течение года у 6 (67 %) из 9 пациентов отмечалась стабилизация ММ, а у 3 (33 %) — имело место дальнейшее медленное прогрессирование даже во время вакцинации. При 5-летнем наблюдении у 4 из 6 пациентов сохранялась стабилизация заболевания. Никаких серьезных побочных эффектов вакцинации не отмечено.

В 2009 г. M.Q. Lacy и соавт. провели исследование II фазы, в котором Id/ДК-вакцину получило 27 пациентов с ММ в целях консолидации эффекта аутоТГСК. Они сравнивались с нерандомизированной параллельной контрольной группой пациентов, перенесших аутоТГСК в течение этого времени, но не вакцинированных. Сравнительный анализ позволил выявить статистически и клинически значимое улучшение общей выживаемости в группе вакцинированных (медиана 5,3 года) по сравнению с группой, не получившей вакцины (медиана 3,4 года; $p = 0,02$). При этом выживаемость без прогрессирования в исследуемой группе была сравнима с таковой в контрольной [22].

В ранее описанных работах специфические иммунные ответы после Id/ДК-вакцинации оценивались в основном при поздних стадиях ММ. С. Rollig и соавт.

в 2011 г. [23] описали применение Id/ДК-вакцины у 9 пациентов с ранними стадиями ММ, ранее не подвергавшихся системной противоопухолевой терапии. Полученные из зрелых моноцитов Id/ДК вводили в дозе $2-20 \times 10^6$ клеток. Пациенты получали 5 инфузий каждые 4 нед. У 5 (56 %) из 9 пациентов развились Id-специфические Т-клеточные ответы, у 8 (89 %) из 9 — наблюдалось специфическое опосредованное Т-клетками высвобождение цитокинов после стимуляции Id. М-белок снизился у 3 (33 %) из 9 пациентов в среднем на 2,6 г/л, что соответствует 41,2 % от исходного уровня. У остальных 6 (67 %) больных отмечалось умеренное увеличение уровня М-белка на 13,1 % от исходного уровня. На протяжении всего периода исследования в течение 1 года ни у одного из 9 пациентов не наблюдалось снижения концентрации гемоглобина, тромбоцитопении или лейкопении. За период исследования не было зарегистрировано клинических симптомов прогрессирования заболевания.

Таким образом, Id/ДК-вакцинация может вызывать иммунные и клинические ответы у пациентов с ММ независимо от стадии и предшествующего вакцинации противоопухолевого лечения, включая аутоТГСК, и без такового. Переносимость вакцинации удовлетворительная. По-видимому, подкожное введение зрелых Id/ДК является более эффективным методом индукции специфических иммунных и клинических ответов по сравнению с внутривенным введением незрелых ДК. Однако малое число наблюдений в разных по характеру исследованиях, отражающих период с 2000 по 2011 г., не позволяет сделать окончательные выводы.

Другие подходы к ДК-вакцинации

В 2013 г. W. Novo и соавт. [11] представили исследование I фазы ДК-вакцины, в которой в качестве источника ОАГ использовали мРНК, кодирующие MAGE3, сурвивин или антиген созревания В-клеток (BCMA). Аутологичные ДК получали из моноцитов у 12 пациентов с ММ после аутоТГСК. Для доставки мРНК в ДК использовали электропорацию. Каждый пациент был вакцинирован трижды с интервалом 2 нед. Вакцину вводили внутривенно ($5-22 \times 10^6$ ДК) и внутрикожно ($4-11 \times 10^6$ ДК). У 2 (16,7 %) пациентов развился вакциносpezifический ответ Т-лимфоцитов. Вакцинация переносилась удовлетворительно. У 1 (8 %) пациента были обнаружены MAGE3-специфические Т-клетки CD4+ и Т-клетки CD8+ и CD3+, реагирующие на BCMA и сурвивин. Еще у 1 (8 %) больного зарегистрировали небольшое количество MAGE3 и BCMA-реактивных Т-клеток CD8+. С точки зрения клинического ответа у 5 (42 %) из 12 вакцинированных участников отмечалась стабилизация ММ при средней продолжительности наблюдения 26 мес. Эти данные показывают, что зрелые ДК, нагруженные с помощью метода электропорации мРНК, кодирующими ОАГ, способны индуцировать специфические Т-клеточные ответы у пациентов с ММ после аутоТГСК.

В 2011 г. J. Rosenblatt и соавт. [15] разработали противоопухолевую вакцину, в которой полученные от пациентов миеломные клетки химически подвергались слиянию с аутологичными ДК. Таким образом,

ДК обеспечивается представлением широкого спектра антигенов, связанных с самой опухолью (миеломой). Аутологичные ДК, «слитые» с клетками миеломы пациента (ДК/ММ-клетки), вводились в сочетании с ГМ-КСФ. Применение вакцины было успешным у 17 из 18 пациентов с поздней стадией ММ. В этом исследовании I фазы переносимость вакцины была удовлетворительной. Отмечалось 10-кратное увеличение количества Т-клеток CD4+ и CD8+ у 11 (73 %) из 15 пациентов, подлежащих оценке. У большинства пациентов наблюдалась стабилизация заболевания. У 3 больных стабилизация опухоли зарегистрирована через 12, 25 и 41 мес. после вакцинации соответственно. Таким образом, вакцинация продуктом слияния ДК и клеток ММ оказалась возможной, хорошо переносимой и активировала противоопухолевый иммунный ответ с достижением стабилизации у большинства пациентов с ММ.

Впоследствии, в 2013 г., эта ДК/ММ-вакцина применялась в клиническом исследовании II фазы. Вакцинация проведена 36 пациентам с ММ после аутоТГСК [24]. Переносимость ДК/ММ-вакцины была удовлетворительной. После вакцинации наблюдалось увеличение количества Т-лимфоцитов CD4+ и CD8+. Полная ремиссия (ПР) и очень хорошая частичная ремиссия достигнуты у 78 % пациентов. ПР/близкий к ПР (бПР) ответ констатированы у 47 % больных. Примечательно, что у 24 % пациентов, у которых достигнут частичный ответ после аутоТГСК, в итоге после вакцинации эффект расценивался как ПР/бПР, причем в отсутствие какой-либо другой терапии и спустя более 3 мес. после аутоТГСК, что свидетельствует об опосредованном вакциной влиянии на опухоль. Таким образом, результаты данного исследования показали, что ДК/ММ-вакцинация пациентов с ММ в период после аутоТГСК приводила к заметному увеличению количества специфических для миеломы Т-клеток и дальнейшей редукции остаточной опухоли.

В публикации S.H. Jung и соавт. [12] также представлены результаты клинического исследования I фазы терапии аутологичными ДК, нагруженными клетками миеломы, у пациентов с рецидивами или рефрактерной ММ. Авторы назвали разработанную ими ДК-вакцину VAX-DC/ММ. Для создания VAX-DC/ММ ДК получали из мононуклеарных клеток периферической крови пациентов, собранных с помощью лейкофереза. Далее ДК нагружали клетками миеломы, которые были получены из костного мозга участников и обработаны ультрафиолетом. Перед первой инъекцией VAX-DC/ММ для модуляции иммунного ответа пациентам вводили циклофосфамид (375 мг/м² внутривенно однократно). Пациенты получали внутрикожную инъекцию VAX-DC/ММ каждую неделю в течение 4 нед. В исследовании оценивали безопасность и эффективность VAX-DC/ММ у 9 пациентов. Среднее время от постановки диагноза ММ до терапии VAX-DC/ММ составило 56,6 мес. (диапазон 28,5–130,5 мес.). До вакцинации пациенты получили в среднем 5 курсов предшествующего лечения на основе талидомида и бортезомиба, а 75 % из них выполнена аутоТГСК. Переносимость VAX-DC/ММ была удовлетворительной. Наиболее частыми побочными эффектами были реакции в месте инъекции в виде

покраснения кожи и сыпи. У 7 (77,8 %) из 9 пациентов наблюдался иммунный ответ. Клинический ответ оценивали в соответствии с критериями Международной рабочей группы по миеломе [25]. Незначительный ответ отмечен у 1 (11,1 %) больного, у 5 (55,6 %) — стабилизация ММ. У 3 (33,3 %) пациентов зарегистрировано прогрессирование заболевания. Таким образом, вакцинация VAX-DC/ММ была хорошо переносимой и способствовала дальнейшей стабилизации опухоли.

Комбинированная терапия

В нескольких работах представлены результаты исследований по комбинированию ДК-вакцинации с другими видами противоопухолевого воздействия.

В исследовании J. Richter и соавт. [26] описана терапия ДК в комбинации с низкими дозами леналидомида. Авторы использовали ДК, нагруженные α -галактозилцерамидом (α -GalCer), для вакцинации с целью активации NKT-клеток. Последние распознают липидные антигены, представленные на молекуле CD1d, которая обычно экспрессируется на клетках миеломы. В данной работе ДК, нагруженные α -GalCer, вводили в комбинации с низкими дозами леналидомида пациентам с бессимптомной (тлеющей) миеломой. В результате у 3 (75 %) из 4 поддающихся оценке пациентов наблюдалось снижение уровня М-белка. Комбинированная терапия хорошо переносилась и привела к активации NK-клеток с увеличением экспрессии NKG2D и CD56. Лечение также способствовало активации моноцитов с повышением экспрессии CD16. Эти данные демонстрируют, что комбинированные методы лечения, нацеленные на NKT-клетки, могут быть полезными при ММ.

Трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) с инфузиями донорских лимфоцитов (ИДЛ) или без них может вызывать стойкие ремиссии благодаря эффекту «трансплантат против опухоли» (РТПО) [27]. В условиях HLA-соответствия этот эффект опосредуется в основном донорскими Т-клетками, направленными против минорных антигенов гистосовместимости реципиента (mHag), присутствующих на опухолевых клетках [28]. К сожалению, аллоТГСК часто связана с тяжелой реакцией «трансплантат против хозяина» (РТПХ). Кроме того, у пациентов может развиваться рецидив после достижения ремиссии, что подчеркивает необходимость новых стратегий для повышения эффективности и специфичности аллоТГСК и ИДЛ. В ряде работ [29, 30] оценивали возможность, безопасность и клиническую эффективность одной из таких стратегий — терапии ДК-вакциной, которая была получена из аутологичных или донорских моноцитов, нагруженных mHag, в сочетании с ИДЛ.

В исследовании I–II фазы 2017 г. R. Oostvogels и соавт. [29] проверяли, можно ли повысить эффективность ИДЛ путем одновременной вакцинации ДК, нагруженными или не нагруженными mHag. ДК были получены из собственных моноцитов пациента, собранных и криоконсервированных перед аллоТГСК. Включено 11 больных ММ, не ответивших на первую ИДЛ. 4 пациентам вводили ДК, нагруженные mHag. Терапия хорошо переносилась, острой РТПХ не наблюдалось. У большинства пациентов развился Т-кле-

точный ответ. После ДК-вакцинации у 1 (9 %) больного зарегистрирован полный ответ, который сохранялся более 6 лет. У другого пациента наблюдался отчетливый ответ Т-клеток, специфичный для mHag. Еще у 3 (27 %) участников отмечалась стабилизация ММ с улучшением выживаемости без прогрессирования по сравнению с предыдущим лечением. У остальных 6 (55 %) пациентов (1 из них получал mHag-нагруженные ДК-вакцины, а 5 — ненагруженные) вакцинация не привела к клиническому эффекту РТПО. Об этом свидетельствовало прогрессирование ММ в течение 3–8 нед. после начала вакцинации. Результаты исследования подтверждают, что ИДЛ в сочетании с ДК-вакциной, полученной из моноцитов пациента, с нагрузкой mHag либо без таковой вполне осуществима, безопасна и способна вызывать специфический Т-клеточный ответ. И хотя всего 4 пациента получили mHag-нагруженные ДК-вакцины, отчетливо прослеживалась тенденция к большей эффективности этих вакцин по сравнению с ненагруженными: 3 (75 %) из 4 vs 2 (30 %) из 7 пациентов соответственно имели по крайней мере стабилизацию опухоли.

В другой работе 2017 г. [30] описаны результаты многоцентрового исследования I–II фазы вакцинации на основе ДК, нагруженных mHag, в сочетании с ИДЛ. Вакцинировали пациентов с рецидивами или рефрактерной ММ после аллотГГСК, не ответивших на ИДЛ. Однако в данной работе ДК-вакцину изготавливали не из собственных клеток пациента, а из моноцитов, полученных от неродственного донора стволовых клеток. В исследовании участвовало 9 пациентов. Терапия хорошо переносилась, РТПХ не наблюдалась. У 5 (56 %) из 9 пациентов отмечалось повышение числа mHag-специфических Т-клеток CD8+ в крови. У 5 из 9 пациентов наблюдалась стабилизация заболевания в течение 3,5–10 мес. Это исследование показывает, что ДК-вакцинация донорскими моноцитами, нагруженными mHag, в сочетании с ИДЛ безопасна, осуществима и способна вызывать объективные mHag-специфические Т-клеточные ответы.

ВОЗМОЖНЫЕ ПУТИ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИММУНОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ НА ОСНОВЕ ДК

Таким образом, рассмотренные нами работы показывают, что большинство изученных к настоящему времени противоопухолевых ДК-вакцин обладает ограниченной эффективностью при ММ. Клинический ответ, как правило, характеризуется в лучшем случае стабилизацией опухоли и к тому же наблюдается достаточно редко даже у пациентов с иммунным ответом. Многие исследователи считают, что главной причиной ограниченной эффективности ДК-вакцин служит выраженное иммуносупрессивное действие самой опухоли [2, 8, 9, 16, 31]. Кроме того, в опухолевом микроокружении представлены супрессорные клеточные популяции, такие как регуляторные Т-лимфоциты и супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC), а также незрелые или так называемые толерогенные ДК (обладающие функцией

формирования толерантности иммунной системы в виде отсутствия ответа на антиген), способные подавлять противоопухолевый иммунный ответ [9]. Опухоль и ее микроокружение могут снижать активность Т-лимфоцитов путем усиления экспрессии молекул иммунных контрольных точек CTLA-4 и PD-1 на их поверхности [8]. Следовательно, для повышения клинической эффективности ДК-вакцин разумно использовать дополнительные методы, направленные на снижение ингибирующего действия опухоли.

Одним из таких методов является комбинация противоопухолевых ДК-вакцин с ингибиторами CTLA-4, PD-1. К настоящему времени в клинической практике наиболее часто применяются такие блокаторы иммунных контрольных точек, как ипилиумаб для CTLA-4, ниволумаб и пембролизумаб для PD-1. В исследованиях, в которых противоопухолевые ДК-вакцины использовались в сочетании с антителами против CTLA-4 при меланоме, были получены многообещающие результаты [32, 33].

Показано, что антитела к фактору роста эндотелия сосудов или цитокинам, вовлеченным в индуцируемую опухолью иммуносупрессию, таким как ИЛ-10, ИЛ-13 и трансформирующий фактор роста- β , приводят к стимуляции противоопухолевого иммунного ответа [9].

Другим дополнением к ДК-вакцине может быть химиотерапия. В нескольких клинических исследованиях сообщается, что ДК-вакцина в сочетании с химиотерапией способна повышать иммуногенность опухоли за счет различных механизмов. Противоопухолевые препараты могут модифицировать микроокружение опухоли, модулируя экспрессию ОАГ и молекул, участвующих в процессинге антигена, активации или ингибировании Т-клеток [34]. Химиотерапия также может вызывать иммуностимулирующие эффекты, которые противодействуют иммуносупрессии, связанной с высокой опухолевой нагрузкой или индуцированной регуляторными Т-клетками и MDSC [35]. Иммуномодулирующие эффекты зависят от самого препарата, а также его дозы [34].

В экспериментальных исследованиях показано, что лучевая терапия также способна изменять микроокружение опухоли. Она способствует высвобождению ОАГ и их захвату внутриопухолевыми ДК, усиливая эффект вакцины в комбинаторной стратегии [36, 37]. Несколько исследований продемонстрировало опухоль-специфический иммунный ответ и клиническую эффективность у онкологических больных, получавших вакцину на основе аутологичных ДК в комбинации с лучевой терапией [38, 39].

Дальнейшие исследования в этой области, вероятно, также будут изучать комбинации ДК-вакцин с различными новыми стратегиями иммунотерапии. Они включают ингибиторы MDSC [40], терапию, подавляющую функции регуляторных Т-клеток [41], лечение на основе генетически модифицированных аутологичных Т-клеток, экспрессирующих специфические к опухолевым антигенам рецепторы (TCR/CAR T) [42, 43], а также методы с использованием лентивирусных или ретровирусных векторов для улучшения индукции противоопухолевого иммунного ответа [44, 45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ДК являются наиболее мощными антигенпрезентирующими клетками, которые контролируют индукцию антигенспецифического иммунного ответа. Введение пациентам ДК, нагруженных ОАГ (ДК-вакцинация), представляется безопасной и многообещающей стратегией. ММ характеризуется медленным ростом и неблагоприятным прогнозом после стандартного лечения. Таким образом, она является привлекательной мишенью для иммунотерапии на основе ДК-вакцин. Однако данный подход сталкивается с рядом препятствий, которые снижают эффективность ДК-вакцинации в клинических исследованиях. Так, в большинство из них включаются пациенты с поздней стадией ММ, высокой опухолевой нагрузкой и ослабленным иммунитетом. Кроме того, остаются нерешенными проблемы, связанные с поиском наиболее иммуногенного источника ОАГ, недостаточной специфичностью и эффективностью доставки ОАГ в ДК. Таким образом, не исключено, что на лучшие результаты можно рассчитывать путем ДК-вакцинации на ранних стадиях ММ при меньшей опухолевой нагрузке еще до иммунных нарушений, вызванных противоопухолевым воздействием. Надежда на большую клиническую эффективность также связана с дальнейшим совершенствованием условий культивирования, созревания, нагрузки антигеном и способов введения ДК *in vivo*. Большой клинической эффективности, по всей вероятности, можно будет добиться путем комбинации ДК-вакцины с терапией, направленной против негативного воздействия опухоли и ее микроокружения.

Таким образом, несмотря на практическое отсутствие впечатляющих клинических результатов, тем не менее дальнейшая разработка противоопухолевых ДК-вакцин не прекращается. Углубляется понимание функционирования ДК, изучаются новые источники опухолевых антигенов и иммуностимулирующих агентов для нагрузки и активации ДК. Нам представляется, что в будущем ДК-вакцины станут важным компонентом в комплексном лечении гематологических злокачественных опухолей, особенно в комбинации с другими методами и подходами, включая ингибиторы иммунных контрольных точек, блокаду регуляторных Т-клеток, а также традиционные химио- и лучевую терапию.

КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

ВКЛАД АВТОРОВ

Концепция и дизайн: И.В. Грибкова.

Сбор и обработка данных: И.В. Грибкова.

Анализ и интерпретация данных: все авторы.

Подготовка рукописи: И.В. Грибкова.

Окончательное одобрение рукописи: А.А. Завьялов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Семочкин С.В. Новые ингибиторы протеасомы в терапии множественной миеломы. Онкогематология. 2019;14(2):29–40. doi: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-29-40.
[Semochkin SV. New proteasome inhibitors in the management of multiple myeloma. Onkogematologiya. 2019;14(2):29–40. doi: 10.17650/1818-8346-2019-14-2-29-40. (In Russ)]
2. Galati D, Zanotta S. Hematologic neoplasms: Dendritic cells vaccines in motion. Clin Immunol. 2017;183:181–90. doi: 10.1016/j.clim.2017.08.016.
3. Mody N, Dubey S, Sharma R, et al. Dendritic cell-based vaccine research against cancer. Expert Rev Clin Immunol. 2015;11(2):213–32. doi: 10.1586/1744666X.2015.987663.
4. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. Nature. 1998;392(6673):245–52. doi: 10.1038/32588.
5. Ito T, Liu YJ, Kadowaki N. Functional diversity and plasticity of human dendritic cell subsets. Int J Hematol. 2005;81(3):188–96. doi: 10.1532/IJH97.05012.
6. Qian X, Wang X, Jin H. Cell transfer therapy for cancer: past, present, and future. J Immunol Res. 2014;2014:1–9. doi: 10.1155/2014/525913.
7. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. Nat Rev Cancer. 2012;12(4):265–77. doi: 10.1038/nrc3258.
8. Марков О.В., Миронова Н.Л., Власов В.В., Зенкова М.А. Противоопухолевые вакцины на основе дендритных клеток: от экспериментов на животных моделях до клинических испытаний. Acta Naturae. 2017;9(3):29–41.
[Markov OV, Mironova NL, Vlasov VV, Zenkova MA. Antitumor vaccines based on dendritic cells: from experiments using animal tumor models to clinical trials. Acta Naturae. 2017;9(3):29–41. (In Russ)]
9. Богданова И.М., Постовалова Е.А. Клеточная иммунотерапия в онкологии. Противоопухолевые вакцины на основе дендритных клеток. Клиническая и экспериментальная морфология. 2017;22(3):62–73.
[Bogdanova IM, Postovalova EA. Cellular immunotherapy in oncology. Antitumor vaccines based on dendritic cells. Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya. 2017;22(3):62–73. (In Russ)]
10. Yi Q, Szmania S, Freeman J, et al. Optimizing dendritic cell-based immunotherapy in multiple myeloma: intranodal injections of idiotype-pulsed CD40 ligand-matured vaccines led to induction of type-1 and cytotoxic T-cell immune responses in patients. Br J Haematol. 2010;150(5):554–64. doi: 10.1111/j.1365-2141.2010.08286.x.
11. Hobo W, Strobbel L, Maas F, et al. Immunogenicity of dendritic cells pulsed with MAGE3, Survivin and B-cell maturation antigen mRNA for vaccination of multiple myeloma patients. Cancer Immunol Immunother. 2013;62(8):1381–92. doi: 10.1007/s00262-013-1438-2.
12. Jung SH, Lee HJ, Lee YK, et al. A phase I clinical study of autologous dendritic cell therapy in patients with relapsed or refractory multiple myeloma. Oncotarget. 2017;8(25):41538–48. doi: 10.18632/oncotarget.14582.
13. Liso A, Stockerl-Goldstein KE, Auffermann-Gretzinger S, et al. Idiotype vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation for multiple myeloma. Biol Blood Marrow Transplant. 2000;6(6):621–7. doi: 10.1016/s1083-8791(00)70027-9.
14. Yi Q, Desikan R, Barlogie B, Munshi N. Optimizing dendritic cell-based immunotherapy in multiple myeloma. Br J Haematol. 2002;117(2):297–305. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03411.x.
15. Rosenblatt J, Vasir B, Uhl L, et al. Vaccination with dendritic cell/tumor fusion cells results in cellular and humoral antitumor immune responses in patients with multiple myeloma. Blood. 2011;117(2):393–402. doi: 10.1182/blood-2010-04-277137.
16. Kitawaki T. DC-based immunotherapy for hematological malignancies. Int J Hematol. 2014;99(2):117–22. doi: 10.1007/s12185-013-1496-4.
17. Reichardt VL, Okada CY, Liso A, et al. Idiotype vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood stem cell transplantation for multiple myeloma—a feasibility study. Blood. 1999;93(7):2411–9. doi: 10.1182/blood.v93.7.2411.
18. Massaia M, Borriero P, Battaglio S, et al. Idiotype vaccination in human myeloma: generation of tumor-specific immune responses after high-dose chemotherapy. Blood. 1999;94(2):673–83. doi: 10.1182/blood.v94.2.673.
19. Lim SH, Bailey-Wood R. Idiotypic protein-pulsed dendritic cell vaccination in multiple myeloma. Int J Cancer. 1999;83(2):215–22. doi: 10.1002/(sici)1097-0215(19991008)83:2<215::aid-ijc12>3.0.co;2-q.
20. Cull G, Durrant L, Stainer C, et al. Generation of anti-idiotype immune responses following vaccination with idiotype-protein pulsed dendritic cells in myeloma. Br J Haematol. 1999;107(3):648–55. doi: 10.1046/j.1365-2141.1999.01735.x.
21. Titzer S, Christensen O, Manzke O, et al. Vaccination of multiple myeloma patients with idiotype-pulsed dendritic cells: immunological and clinical aspects. Br J Haematol. 2000;108(4):805–16. doi: 10.1046/j.1365-2141.2000.01958.x.
22. Lacy MQ, Mandrekar S, Dispenzieri A, et al. Idiotype-pulsed antigen-presenting cells following autologous transplantation for multiple myeloma may be associated with prolonged survival. Am J Hematol. 2009;84(12):799–802. doi: 10.1002/ajh.21560.

- 23.** Rollig C, Schmidt C, Bornhauser M, et al. Induction of cellular immune responses in patients with stage-I multiple myeloma after vaccination with autologous idiotype-pulsed dendritic cells. *J Immunother.* 2011;34(1):100–6. doi: 10.1097/CJI.0b013e3181facf48.
- 24.** Rosenblatt J, Avivi I, Vasir B, et al. Vaccination with dendritic cell/tumor fusions following autologous stem cell transplant induces immunologic and clinical responses in multiple myeloma patients. *Clin Cancer Res.* 2013;19(13):3640–8. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0282.
- 25.** Palumbo A, Rajkumar SV, San Miguel JF, et al. International Myeloma Working Group consensus statement for the management, treatment, and supportive care of patients with myeloma not eligible for standard autologous stem-cell transplantation. *J Clin Oncol.* 2014;32(6):587–600. doi: 10.1200/JCO.2013.48.7934.
- 26.** Richter J, Neparidze N, Zhang L, et al. Clinical regressions and broad immune activation following combination therapy targeting human NKT cells in myeloma. *Blood.* 2013;121(3):423–30. doi: 10.1182/blood-2012-06-435503.
- 27.** Kolb HJ, Schattenberg A, Goldman JM, et al.; European Group for Blood and Marrow Transplantation Working Party Chronic Leukemia. Graft-versus-leukemia effect of donor lymphocyte transfusions in marrow grafted patients. *Blood.* 1995;86(5):2041–50. doi: 10.1182/blood.v86.5.2041.bloodjournal8652041.
- 28.** Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens: new concepts for marrow transplantation and adoptive immunotherapy. *Immunol Rev.* 1997;157(1):125–40. doi: 10.1111/j.1600-065x.1997.tb00978.x.
- 29.** Oostvogels R, Kneppers E, Minnema MC, et al. Efficacy of host-dendritic cell vaccinations with or without minor histocompatibility antigen loading, combined with donor lymphocyte infusion in multiple myeloma patients. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52(2):228–37. doi: 10.1038/bmt.2016.250.
- 30.** Franssen LE, Roeven MWH, Hobo W, et al. A phase I/II minor histocompatibility antigen-loaded dendritic cell vaccination trial to safely improve the efficacy of donor lymphocyte infusions in myeloma. *Bone Marrow Transplant.* 2017;52(10):1378–83. doi: 10.1038/bmt.2017.118.
- 31.** Weinstock M, Rosenblatt J, Avigan D. Dendritic Cell Therapies for Hematologic Malignancies. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2017;5:66–75. doi: 10.1016/j.omtm.2017.03.004.
- 32.** Wilgenhof S, Corthals J, Heirman C, et al. Phase II study of autologous monocyte-derived mRNA electroporated dendritic cells (TriMixDC-MEL) plus ipilimumab in patients with pretreated advanced melanoma. *J Clin Oncol.* 2016;34(12):1330–8. doi: 10.1200/JCO.2015.63.4121.
- 33.** Ribas A, Comin-Anduix B, Chmielowski B, et al. Dendritic cell vaccination combined with CTLA4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res.* 2009;15(19):6267–76. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1254.
- 34.** Emens LA, Machiels JP, Reilly RT, Jaffee EM. Chemotherapy: friend or foe to cancer vaccines? *Curr Opin Mol Ther.* 2001;3(1):77–84.
- 35.** Emens LA. Chemoimmunotherapy. *Cancer J.* 2010;16(4):295–303. doi: 10.1097/PPO.0b013e3181eb5066.
- 36.** Formenti SC, Demaria S. Combining radiotherapy and cancer immunotherapy: a paradigm shift. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(4):256–65. doi: 10.1093/jnci/djs629.
- 37.** Demaria S, Formenti SC. Radiotherapy effects on anti-tumor immunity: implications for cancer treatment. *Front Oncol.* 2013;3:128. doi: 10.3389/func.2013.00128.
- 38.** Chi KH, Liu SJ, Li CP, et al. Combination of conformal radiotherapy and intratumoral injection of adoptive dendritic cell immunotherapy in refractory hepatoma. *J Immunother.* 2005;28(2):129–35. doi: 10.1097/01.cji.0000154248.74383.5e.
- 39.** Shibamoto Y, Okamoto M, Kobayashi M, et al. Immune-maximizing (IMAX) therapy for cancer: Combination of dendritic cell vaccine and intensity-modulated radiation. *Mol Clin Oncol.* 2013;1(4):649–54. doi: 10.3892/mco.2013.108.
- 40.** de Haas N, de Koning C, Spilgies L, et al. Improving cancer immunotherapy by targeting the STAtE of MDSCs. *Oncoimmunology.* 2016;5(7):e1196312. doi: 10.1080/2162402X.2016.1196312.
- 41.** Butt AQ, Mills KH. Immunosuppressive networks and checkpoints controlling antitumor immunity and their blockade in the development of cancer immunotherapeutics and vaccines. *Oncogene.* 2014;33(38):4623–31. doi: 10.1038/onc.2013.432.
- 42.** Грибкова И.В., Завьялов А.А. Терапия Т-лимфоцитами с химерным антигенным рецептором (CAR) В-клеточной неходжкинской лимфомы: возможности и проблемы. *Вопросы онкологии.* 2021;3. В печати.
[Gribkova IV, Zavyalov AA. Chimeric antigen receptor T-cell therapy of B-cell non-Hodgkin's lymphoma: opportunities and challenges. *Voprosy onkologii.* 2021;3. In print. (In Russ)]
- 43.** Грибкова И.В., Завьялов А.А. CAR Т-клетки для лечения хронического лимфоцитарного лейкоза: обзор литературы. *Клиническая онкогематология.* 2021;14(2):225–30. doi: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-225-230.
[Gribkova IV, Zavyalov AA. CAR-T Cells for the Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia: Literature Review. *Clinical oncohematology.* 2021;14(2):225–30. doi: 10.21320/2500-2139-2021-14-2-225-230. (In Russ)]
- 44.** Stripecte R, Cardoso AA, Pepper KA, et al. Lentiviral vectors for efficient delivery of CD80 and granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor in human acute lymphoblastic leukemia and acute myeloid leukemia cells to induce antileukemic immune responses. *Blood.* 2000;96(4):1317–26. doi: 10.1182/blood.v96.4.1317.
- 45.** Sundarasetty BS, Singh VK, Salguero G, et al. Lentivirus-induced dendritic cells for immunization against high-risk WT1(+) acute myeloid leukemia. *Hum Gene Ther.* 2013;24(2):220–37. doi: 10.1089/hum.2012.128.