

ZASTOSOWANIE SZCZEPIONEK Z KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH W LECZENIU CHORÓB NOWOTWOROWYCH*

DENDRITIC CELL VACCINES FOR THE TREATMENT
OF NEOPLASTIC DISEASES

Piotr SMOLEWSKI, Olga GRZYBOWSKA-IZYDORCZYK

Klinika Hematologii Instytutu Medycyny Wewnętrznej Uniwersytetu Medycznego
w Łodzi

Streszczenie: Leczenie przeciwnowotworowe polegające na selektywnym pobudzaniu układu odpornościowego do walki z chorobą stało się ostatnio ponownie przedmiotem rosnącego zainteresowania wielu ośrodków klinicznych na świecie. Jedną z bardzo obiecujących strategii immunoterapii jest wykorzystanie szczepionek z komórek dendrytycznych, poddanych uprzedniej ekspozycji na antygeny nowotworowe. Szczepionki takie zastosowano w szeregu wstępnych prób klinicznych, najczęściej u chorych na guzy łite, w tym na czerniaka złośliwego. Szereg doniesień dotyczy także chorób nowotworowych krwi, szczególnie chłoniaków złośliwych oraz szpiczaka mnogiego. W artykule przedstawiono podstawy teoretyczne oraz metody przygotowywania szczepionek z komórek dendrytycznych, a także wyniki przeprowadzonych dotychczas badań klinicznych w poszczególnych rodzajach nowotworów.

Słowa kluczowe: komórki dendrytyczne, immunoterapia, szczepionki, choroby nowotworowe, białaczki, chłoniaki.

Summary: During the last two decades treatment based on selective stimulation of immune system has become a promising anti-neoplastic strategy, testing in several clinical centers all over the world. Vaccination with dendritic cells previously exposed to tumor antigens seems to be one of the most attractive approaches of immunotherapy. Dendritic cell-based vaccines were tested in many early phase clinical trials in patients with solid tumors, including malignant melanoma. There are also several reports on effectiveness of this therapeutic approach in patients with hematological malignancies, especially malignant lymphomas and multiple myeloma. In this review we summarize theoretical rationale and the ways of preparation of dendritic cell vaccines as well as results of their use in clinical trials with different types of malignancy.

Key words: dendritic cells, immunotherapy, vaccines, neoplastic diseases, leukemias, lymphomas

*Praca finansowana z grantu Nr 503-106-2 (Uniwersytet Medyczny w Łodzi), oraz sponsorowana przez Centrum Doskonałości w Medycynie Molekularnej MolMed (grant SPUB Nr 515-02-003).

Wykaz stosowanych skrótów: **APC** (*antigen presenting cells*) - komórki prezentujące antygen, **BDC** (*blood dendritic cells*) - komórki dendrytyczne krwi obwodowej; **B-NHL** (*B-cell non-Hodgkin's lymphomas*) - chłoniaki nieziarnicze B-komórkowe; **BrdU** - bromodeoksyurydyna; **CLL** (*chronic lymphocytic leukemia*) - przewlekła białaczka limfatyczna; **CML** (*chronic myelogenous leukemia*) - przewlekła białaczka szpikowa; **CR** (*complete remission*) - całkowita remisja; **DC** (*dendritic cells*) - komórki dendrytyczne; **DTH** (*delayed type hypersensitivity*) - reakcja nadwrażliwości typu opóźnionego; **GM-CSF** (*granulocyte-macrophage colony stimulating factor*) - czynnik stymulujący wzrost kolonii granulocytów i makrofagów; **HLA** (*human leukocyte antigen*) - antygeny głównego układu zgodności tkankowej; **IAP** (*inhibitor of apoptosis*) - rodzina inhibitorów apoptozy; **ID** (*idiotype*) - białko idiotypowe; **IFN** - interferon; **IL** - interleukina; **KLH** (*keyhole limpet hemocyanin*) - hemocyjanina; **MHC** (*major histocompatibility complex*) - główny kompleks zgodności tkankowej; **MM** (*multiple myeloma*) - szpiczak mnogi; **PAC** (*prostate acid phosphatase*) - kwaśna fosfataza; **PPD** (*proteine purified derivative*) - oczyszczona pochodna białkowa; **PR** (*partial remission*) - częściowa remisja; **PSA** (*prostate specific antigen*) - antygen specyficzny dla raka stercza; **PSMA** (*prostate specific membrane antigen*) - błonowy antygen specyficzny dla raka stercza; **SCF** (*stem cell factor*) - czynnik wielopotentjalnej komórki pnia; **TAA** (*tumor associated antigen*) - antygen związany z nowotworem; **TCR** (*T cell receptor*) - receptor limfocytów T; **TL** (*toll-like receptor*) - receptor TL; **TNF** (*tumor necrosis factor*) - czynnik martwicy nowotworów; **TSA** (*tumor specific antigen*) - antygen specyficzny dla nowotworu.

CHARAKTERYSTYKA BIOLOGICZNA KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH

Odpowiedź immunologiczna jest procesem, w którym organizm broni się przed inwazją czynników chorobotwórczych poprzez ich rozpoznanie, neutralizację i eliminację, nie wywołując negatywnych reakcji w organizmie gospodarza. Niezwykle ważna jest zdolność układu immunologicznego do wykrywania i niszczenia komórek nowotworowych polegająca na aktywacji cytotoksycznych limfocytów T [89].

Jednym z podstawowych elementów koordynujących ten złożony proces wydają się być komórki dendrytyczne (*dendritic cells*, DC). DC mają zdolność do inicjowania i kontrolowania odpowiedzi immunologicznej na obce antygeny [21]. Ponadto odgrywają one kluczową rolę w zapobieganiu autoimmunizacji poprzez wytworzenie tolerancji na własne antygeny i stanowią ważne ogniwo pomiędzy wrodzoną (nieswoistą) i nabytą (swoistą) odpowiedzią immunologiczną [8].

DC należą do grupy komórek prezentujących antygen (*antigen presenting cells*, APC), których obecność wykazano w śledzionie, węzłach chłonnych oraz większości narządów nielimfoidalnych [20,44,68]. APC mają zdolność do wychwytywania i przetwarzania antygenów we krwi obwodowej i w tkankach. Po kontakcie z antygenem migrują do okolicznych węzłów chłonnych, gdzie prezentują go spoczynkowym limfocytom [21].

Niedojrzałe DC pochłaniają i przetwarzają antygen jak typowe APC, ale dla wzbudzenia efektywnej odpowiedzi limfocytów muszą one dojrzeć do w pełni aktywowanych DC, odznaczających się wysoką ekspresją kompleksów antygen-białko układu zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex*, MHC) oraz cząsteczek kostymulujących. Fenotyp dojrzałej DC cechuje więc ekspresja antygenów MHC klasy I i II, CD80, CD86, CD83, CD40 oraz CCR7, chemokiny odpowiedzialnej za migrację

do węzłów chłonnych [15]. DC prezentują limfocytom T antygen w połączeniu z cząsteczkami MHC klasy I i II. Interakcja antygenu obecnego na cząsteczkach MHC z receptorem limfocytów rozpoznającym antygen (TCR) jest sygnałem, który obok dodatkowych czynników kostymulujących, jest niezbędny do aktywacji komórek T.

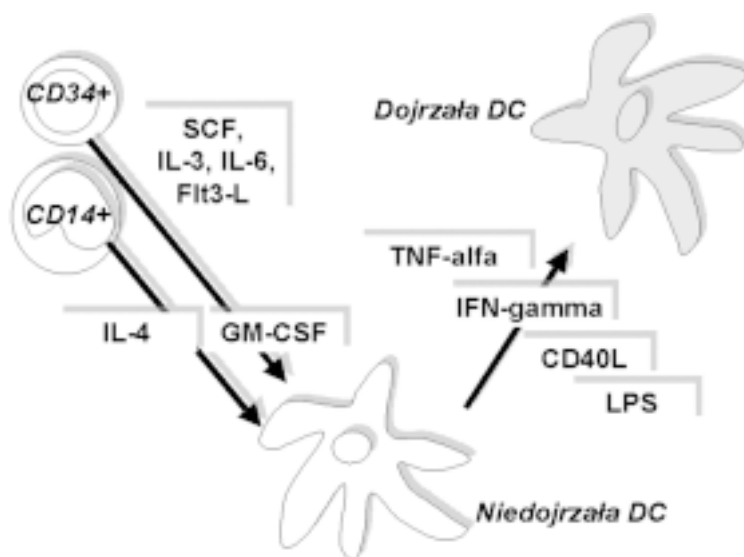
Na podstawie zmian morfologicznych, jakim DC podlegają w trakcie wędrówki do węzła chłonnego oraz występujących pomiędzy nimi różnic fenotypowych i czynnościowych, komórki te podzielono na kilka typów. Wśród nich wyróżnia się komórki Langerhansa, śródmiąższowe komórki dendrytyczne, komórki splatające się (*interdigitating cells*), welonowate i folikularne DC (tab. 1) [39]. Różne typy DC można spotkać praktycznie we wszystkich tkankach, w tym również we krwi obwodowej, gdzie w sposób ciągły ekspozowane są na antygeny (*blind dendritic cells*, BDC) [89]. Na podstawie fenotypu wyróżnia się dwie główne subpopulacje DC [25,67,68,89]. Jedną z nich to komórki CD11c – o morfologii i ekspresji limfoidalnej, będące prekursorami plazmacytoidalnych DC. Komórki te bez kontaktu z antygenem migrują do węzłów chłonnych, gdzie mogą indukować tolerancję limfocytów na własne antygeny. Drugą subpopulacją to monocytoidalne DC, CD11c⁺, które wykazują ekspresję markerów mieloidalnych, dając początek DC oraz makrofagom obecnym w tkankach [67]. Dzięki swoim właściwościom immunostymulującym komórki te znalazły zastosowanie w immunoterapii.

ZASADY PRZYGOTOWYWANIA SZCZEPIONEK Z KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH

DC, podobnie jak monocyty czy makrofagi, pochodzą z macierzystej komórki szpiku CD34⁺. Odkrycie, że mieloidalne DC można stosunkowo łatwo uzyskać z monocytów lub też z prekursorowych komórek CD34⁺, umożliwiło otrzymanie po raz pierwszy ich większej liczby [46,55,56]. W prawidłowych warunkach DC stanowią bowiem jedynie do 0,2% leukocytów krwi obwodowej. W większości dotychczasowych badań klinicznych stosowano DC pochodzące z monocytów, które hodowane *in vitro* przez 5–7 dni w obecności czynnika stymulującego wzrost kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF) oraz interleukiny 4 (IL-4) przekształcają się w niedojrzałe DC. Następnie dwa dni hodowli w obecności cytokin, między innymi TNF-alfa (*tumor necrosis factor alpha*), umożliwia uzyskanie DC zdolnych do prezentacji antygeny (ryc. 1) [44,69,72].

Rzadziej pozyskuje się DC z komórek macierzystych CD34⁺. Kilkudniowa hodowla w mieszaninie cytokin, takich jak: SCF (*stem cell factor*), IL-3, TNF-alfa oraz ligandu Flt3 (ryc. 1), pozwala na uzyskanie znacznie mniejszej ilości wysoko zróżnicowanych i dojrzałych komórek [2,40]. Wiedza na temat znaczącej roli DC w koordynowaniu reakcji obronnych organizmu oraz indukowaniu specyficznej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko komórkom nowotworowym była podstawą do podjęcia prób ich wykorzystania w postaci szczepionek w immunoterapii chorób nowotworowych.

Większość chorych na choroby nowotworowe wymaga wielokierunkowej terapii, obejmującej często, poza ewentualnym leczeniem chirurgicznym, radio- i/lub

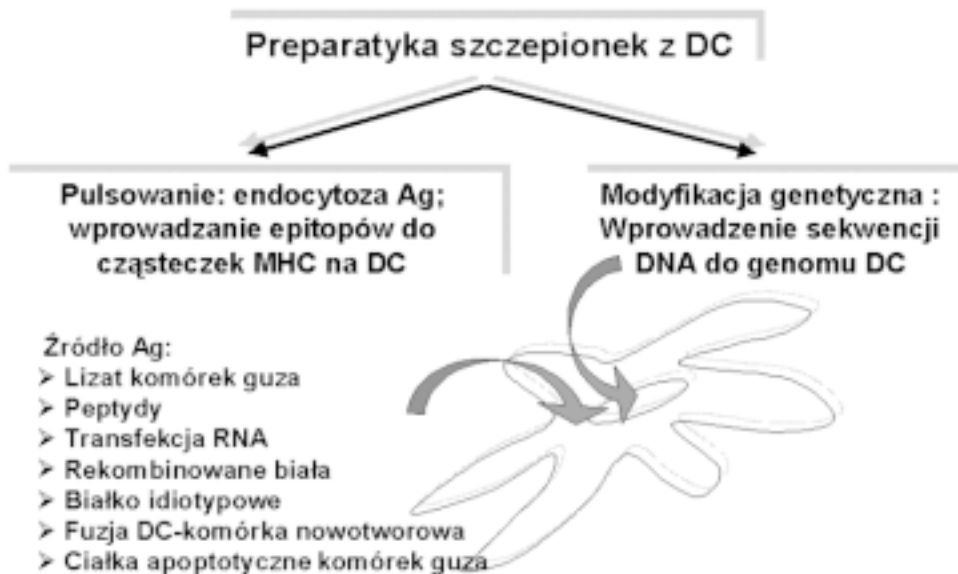


RYCINA 1. Przygotowywanie szczepionek z DC: indukowanie dojrzewania komórek pnia (CD34+) lub monocytów (CD14+) w warunkach *ex vivo*

chemioterapię. Niestety, są one mało swoiste, niszcząc zarówno chore jak i zdrowe komórki organizmu co jest źródłem wielu objawów ubocznych. Poszukiwania możliwie wybiórczej i najmniej obciążającej dla chorego metody leczenia doprowadziły do badań nad alternatywnymi strategiami terapeutycznymi. Jedną z nich jest immunoterapia w różnych jej odmianach, w skład której, obok coraz powszechniej stosowanych przeciwciał monoklonalnych (bierna immunoterapia), wchodzi szczepionki przeciwnowotworowe jako forma immunoterapii aktywnej. Rozpoczęto opracowywanie szczepionek, w których DC zawiera specyficzny dla nowotworu antygen (*tumor specific antigen*, TSA) lub też antygen związany z guzem (*tumor associated antigen*, TAA), obecny także w komórkach zdrowych [10,78]. Po podaniu szczepionki choremu oczekuje się specyficznej odpowiedzi limfocytów T, skierowanej przeciwko określonemu TSA lub TAA [62,91].

Do zdefiniowanych dotychczas TSA należą między innymi PSA (*prostate specific antigen*) w raku stercza oraz chimeryczne białka kodowane przez gen *bcr-abl* w przewlekłej białaczce szpikowej [47,89]. Natomiast onkoproteina p53, której wysoką ekspresję stwierdza się w guzach litych (np. raku piersi) czy białka MAGE-1 w czerniaku lub MUC-1 (*mucin gene 1*) w raku sutka są klasycznymi przykładami znacznie częściej identyfikowanych antygenów związanych z nowotworem, TSA [70,89].

DC staje się efektywną komórką APC po ekspozycji cząsteczek MHC na antygen, z jego następowym wprowadzeniem do wnętrza komórki (tzw. pulsowanie DC; z ang. *pulsing*) (ryc.2). Najczęściej wykorzystuje się w tym celu inkubację DC z peptydami wiążącymi klasy I i II HLA (*human leukocyte antigen*). Te ostatnie mogą się wbudować bezpośrednio do cząsteczek MHC na powierzchni komórek lub są wprowadzane endogennie, po proteolitycznym rozkładzie lizatów guza czy rekombinowanych białek



RYCINA 2. Źródło antygenów (Ag) i metody ich wprowadzania do DC

pochodzących z komórki nowotworowej [57,70,96]. Ze względu na trudności w identyfikacji i pozyskiwaniu czystych antygenów nowotworowych, w celu stymulacji DC wykorzystuje się także ciała apoptotyczne pochodzące z komórek nowotworowych, eksony, RNA czy transgeny DNA kodującego antygeny guza oraz RNA pochodzące bezpośrednio z tkanek nowotworu [1,13,26,73,80,95]. Inną alternatywą jest tworzenie szczepionek poprzez fuzję DC i komórek nowotworowych [31].

W odróżnieniu od większości immunoterapeutyków podawanych dożylnie szczepionki z DC aplikowane są najczęściej śródskórnemu lub nawet bezpośrednio do węzłów chłonnych drenujących obszar nacieków nowotworowych [55]. Okazuje się także, że niedojrzałe DC migrują w mniejszym stopniu niż komórki dojrzałe [27]. Stwierdzono, że po podaniu śródskórnym dociera do węzłów chłonnych mniej niż 5% dojrzałych DC. Pobudzenie aktywności migracyjnej DC może więc podnieść efektywność stosowanej szczepionki. Istotne znaczenie praktyczne może mieć wykazanie stymulującego wpływu cytokin prozapalnych, metaloproteinaz czy ligandów receptora TL (*toll-like receptor*, TLR) dodanych do hodowli DC na ich migrację do węzłów chłonnych [63]. Z drugiej strony, problem migracji można ominąć stosując bezpośrednią iniekcję DC do węzłów chłonnych lub naczyń limfatycznych, co zaburza jedynie architekturę pierwszego węzła.

Ostatnie doniesienia wskazują, że być może najskuteczniejsze okaże się łączenie różnych dróg wprowadzania szczepionek do organizmu. W zależności od lokalizacji guza, podanie dożylnie czy śródskórnemu może być bardziej wskazane w nowotworach z przerzutami, na przykład do węzłów chłonnych. Może to zależeć od interakcji pomiędzy DC a komórkami T w różnych tkankach, a także sposobu migracji aktywowanych limfocytów T [55].

SZCZEPIONKI Z KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH – PRÓBY KLINICZNE

Próby kliniczne z wykorzystaniem szczepionek z DC prowadzone są od połowy lat dziewięćdziesiątych. Pierwsze doniesienie autorstwa Hsu i wsp. ukazało się w 1996 roku [24]. Dotychczas większość szczepionek z DC używano w celu stymulacji odpowiedzi immunologicznej, w szczególności przeciw komórkom raka [4,45,65]. Najliczniejsze, a zarazem najbardziej obiecujące próby kliniczne przeprowadzono u chorych na czerniaka złośliwego [13,89].

Od czasu wspomnianej pierwszej publikacji przeprowadzono kilkadziesiąt badań klinicznych, stosując szczepionki z DC w różnych jednostkach chorobowych. Przedmiotem zainteresowania badaczy byli również pacjenci z rakiem prostaty, nerki, piersi oraz chorzy cierpiący na choroby układu krwiotwórczego, w tym na szpiczaka mnogiego (*multiple myeloma*, MM) i chłoniaki nieziarnicze B-komórkowe (*B-cell non-Hodgkin's lymphoma*, B-NHL).

Skuteczność szczepionek z komórek dendrytycznych w czerniaku złośliwym

Jak wspomniano, większość badań z wykorzystaniem szczepionek z DC przeprowadzona była dotychczas u chorych na czerniaka złośliwego [6,12,38,49,77,85]. Duże zainteresowanie tym typem nowotworu wynika prawdopodobnie ze stosunkowo dobrze poznanej immunopatologii czerniaka, co daje duże możliwości w wytworzeniu optymalnej szczepionki. Nie bez znaczenia jest również brak innych opcji terapeutycznych możliwych do zaproponowania pacjentom w zaawansowanym stadium tej choroby.

W badaniu opublikowanym w 1998 roku przez Nestle i wsp [49] wykorzystano szczepionki powstałe przez połączenie niedojrzałych DC pochodzenia monocytoidalnego z lizatem nowotworowym bądź mieszaniną typowych dla czerniaka peptydów (MAGE-1/MAGE3, melana, tyrosinase gp100) oraz hemocyjaniną (*keyhole limpet hemocyanin*, KLH). Po iniekcji dowęzłowej u pacjentów z IV stopniem zaawansowania choroby całkowitą remisję (CR) stwierdzono u dwóch chorych, częściową remisję (PR) u trzech, a u pozostałych 11 z 16 leczonych zaobserwowano dodatnią, antygenowo specyficzną reakcję nadwrażliwości typu opóźnionego (*delayed type hypersensitivity*, DTH). Wyniki te odzwierciedlały stopień korelacji pomiędzy immunologiczną i kliniczną odpowiedzią na leczenie.

Podobne efekty odnotował Banchereau i wsp. [3] (CR - 3/18, PR - 4/18, DTH - 16/18) po śródskórnym podaniu szczepionki z DC pochodzących z komórek macierzystych CD34+, pulsowanych czterema peptydami typowymi dla czerniaka, KLH oraz białkami wirusa grypy – w grupie 18 chorych w zaawansowanym stadium czerniaka. Także w tym badaniu odnotowano dobrą korelację pomiędzy kliniczną i immunologiczną odpowiedzią na zastosowane leczenie.

O'Rourke i wsp. [52] przeprowadzili podobne badanie w grupie pacjentów z wysokim stopniem zaawansowania choroby podając im szczepionkę z niedojrzałych, monocytoid-

dalnych DC pulsowanych napromienianymi komórkami czerniaka. Trzech spośród 12 chorych osiągnęło trwałą CR, a u trzech kolejnych stwierdzono PR choroby. Zaobserwowano także, że najlepsza odpowiedź na podane leczenie występuje u chorych z mniejszą wyjściową masą guza. Nie odnotowano natomiast wyraźnego związku pomiędzy uzyskaną odpowiedzią a dawką podawanej szczepionki.

Odmienny typ szczepionki w postaci hybrydy DC-komórka nowotworowa zastosowali u pacjentów z czerniakiem Trefzer i wsp [86]. W grupie 17 poddanych próbie chorych, CR obserwowano u jednego, PR również u jednego, a stabilizację choroby uzyskano u sześciu badanych.

Szczepionki z komórek dendrytycznych w guzach litych

Szereg badań klinicznych z użyciem szczepionek z DC dotyczy chorych z rakiem gruczołu krokowego. Wynika to w dużej mierze z możliwości identyfikacji w tej chorobie aż trzech antygenów specyficznych dla raka prostaty: PSA (*prostate specific antigen*), PSMA (*prostate specific membrane antigen*) i PAC (*prostate acid phosphatase*). W większości z tych badań wstrzykiwano dożylnie szczepionki powstałe przez połączenie niedojrzałych DC pochodzących z krwi obwodowej (BDC) lub monocytoidalnych DC ze swoistymi antygenami nowotworowymi [5,14,48,76]. Heiser i wsp. [23] podawali śródskórną i dożylną szczepionki z niedojrzałych monocytoidalnych DC pulsowanych mRNA-PSA u trzech chorych z zaawansowanym rakiem gruczołu krokowego. U wszystkich badanych uzyskano silną odpowiedź limfocytów T, czemu towarzyszyło obniżenie poziomu PSA w surowicy krwi i nieobecność komórek nowotworowych we krwi obwodowej.

Zachęcające wyniki opisano w grupie pacjentów z przerzutowym rakiem nerki po podaniu szczepionki z DC uzyskanej w wyniku fuzji allogenicznych, dojrzałych, monocytoidalnych DC z autologicznymi komórkami nowotworowymi [66]. Spośród 17 badanych chorych, u czterech zaobserwowano CR. Podobne, choć nie tak obiecujące wyniki uzyskano w analogicznych grupach chorych po zastosowaniu dojrzałych monocytoidalnych DC pulsowanych lizatami z komórek nowotworowych (8/12-PD, 4/12 SD, 7/12 DTH) [43].

Próby z zastosowaniem szczepionek z DC przeprowadzono także u chorych na raka piersi [4,29,59]. Przeprowadzone badania oceniały działanie szczepionek z monocytoidalnych DC pulsowanych peptydami nowotworowymi, podawanych śródskórną i dożylną. Próbowano również stosować wstrzykiwane podskórną niedojrzałe monocytoidalne DC połączone z cDNA dla białka MUC1 [4,29]. Tylko w jednym przypadku obserwowano regresję zmian przerzutowych u chorej po podaniu niedojrzałych monocytoidalnych DC pulsowanych lizatami nowotworowymi i wstrzykniętych dowęzłowo [29].

Podjęmowane są także próby stosowania omawianego typu immunoterapii w chorobach nowotworowych jelita grubego, przełyku, żołądka oraz trzustki [30,58,60,71], w których pozytywna odpowiedź na zastosowane leczenie obserwowana jest jednak tylko sporadycznie.

Szczepionki z komórek dendrytycznych w chorobach nowotworowych układu krwiotwórczego

Do osobnej grupy chorób, w stosunku do których prowadzono próby zastosowania DC w celach terapeutycznych, należą nowotwory układu krwiotwórczego.

Szczególnie dobrym celem dla immunoterapii wydają się chorzy na B-NHL oraz MM, u których antygenem spełniającym kryteria TSA jest tak zwanego białko idiotypowe (Id, *idiotype*) obecne w komórkach nowotworowych [11]. Id jest monoklonalną immunoglobuliną zawierającą specyficzne sekwencje białkowe w regionach zmiennych, w miejscach wiążących antygen [32]. W chorobach z klonalną proliferacją komórek B, komórka nowotworowa syntetyzuje pojedynczy typ cząsteczki globuliny z unikalnym zmiennym regionem (Id), który może stymulować specyficzną odpowiedź humoralną i komórkową [33]. Dzięki temu białko Id może być wykorzystane jako cel dla immunoterapii. W trakcie przygotowywania szczepionki, DC uzyskane drogą leukaferezy z krwi obwodowej poddaje się inkubacji *in vitro* z białkiem Id. Szczepionka wykonywana jest indywidualnie dla każdego chorego i podawana drogą dożylną oraz podskórną, dla wzmocnienia odpowiedzi immunologicznej [42,62,82,83,87].

Jak wspomniano, pierwszą próbą klinicznego zastosowania szczepionki z DC było badanie przeprowadzone przez Hsu i wsp. [24] u czterech pacjentów z chłoniakiem grudkowym. Odpowiedź kliniczną uzyskano u trzech z nich (CR-2, w tym jedna potwierdzona molekularnie, PR-1). Po upływie sześciu lat ta sama grupa badaczy opublikowała wyniki stosowania szczepionek z DC u ogółem 35 chorych na B-NHL [82]. U ośmiu chorych stwierdzono specyficzną odpowiedź proliferacyjną limfocytów skierowaną przeciw białku Id. CR uzyskano u trzech chorych, w tym u jednego remisję molekularną, natomiast u czwartego pacjenta obserwowano PR. Inni autorzy uzyskiwali również obiecujące wyniki [10].

Regresję zmian chorobowych obserwowano w skórnych NHL, T-komórkowych [41]. U pięciu z 10 leczonych chorych uzyskano obiektywną odpowiedź kliniczną, w tym u jednego CR utrzymującą się po 19 miesiącach obserwacji. U pozostałych czterech chorych uzyskano PR, w tym u dwóch również trwałą przy medianie obserwacji 10,5 miesiąca.

Interesującą modyfikacją immunoterapii są szczepionki z DC pulsowanych epitopami surwiwiny (*survivin*), białka z rodziny inhibitorów apoptozy (*inhibitor of apoptosis*, IAP). Surwiwina wykazuje ekspresję w komórkach większości typów nowotworów, spełnia więc kryteria TAA. [74]. Badanie przeprowadzone na myszach z chłoniakiem B-komórkowym A20 wykazało wysoką skuteczność tych szczepionek w zakresie indukowania swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej, wskazując na nowe możliwości immunoterapii z użyciem DC [75].

Ze względu na ekspresję białka Id na komórkach szpiczakowych próby zastosowania szczepionek z DC są szczególnie uzasadnione również u chorych na MM [84,88,90]. Potwierdzono to już w 1998 roku, gdy Wen i wsp. [92] zastosowali szczepionkę z monocytoidalnych DC pulsowanych białkiem Id u chorego z zaawansowaną postacią MM, uzyskując znaczący spadek stężenia białka monoklonalnego. Również Lim i wsp. [36] przeprowadzając rok później badanie w grupie sześciu chorych z MM uzyskali specyficzną odpowiedź immunologiczną po podaniu niedojrzałych DC, eksponowanych

na antygen Id oraz KHL. Podobnie korzystne efekty obserwowali Liso i wsp. [37]. Nadzieje na zwiększenie efektywności immunoterapii dają ostatnie dane, z których wynika, że hybrydy DC z komórkami szpiczakowymi mogą indukować cytolizę komórek guza w różnych modelach doświadczalnych, włączając w to wcześniejszą modyfikację komórek nowotworowych genami kodującymi IL-4 lub IL-12 [19].

Kolejną chorobą nowotworową układu krwiotwórczego, w której zastosowanie szczepionek z autologicznych DC może otworzyć nowe możliwości terapeutyczne, jest przewlekła białaczka szpikowa (*chronic myelogenous leukemia, CML*) [7,9]. Cechuje się ona bowiem obecnością jednego z dwóch chimerycznych białek kinazy tyrozynowej, będących produktem genu *bcr-abl*. Z uwagi na fakt, że są to białka występujące praktycznie tylko w komórkach białaczkowych, mogą służyć jako TSA dla cytotoksycznych limfocytów T [47]. Pierwsze doniesienie dotyczące próby klinicznego zastosowania szczepionek z DC u pacjentów z CML pochodzi z 1999 roku [16]. U chorego leczonego wcześniej interferonem (IFN)-alfa oraz autotransplantacją szpiku kostnego, po zastosowaniu szczepionki z dojrzałych DC inkubowanych komórkami białaczkowymi Ph⁺ oraz białkiem PPD (*protein purified derivative*), obserwowano specyficzną odpowiedź immunologiczną oraz odpowiedź hematologiczną, z uzyskaniem częściowej remisji cytogenetycznej. Inne badania zdają się potwierdzać słuszność stosowania tego typu immunoterapii u pacjentów z CML [8,22,54,93].

Przedmiotem zainteresowania badaczy, próbujących wykorzystać metodę immunoterapii opartą na szczepionkach z DC, są również chorzy z przewlekłą białaczką limfatyczną (*chronic lymphocytic leukemia, CLL*). Stwierdzono, że DC w CLL mają prawidłową funkcję i mogą służyć jako komórki prezentujące antygen (APC) dla celów immunoterapii [64]. Ponadto, monocyty od chorych na CLL z aktywną chorobą różnicują się do DC, które mają defekty fenotypowe i czynnościowe nieobserwowane u chorych w remisji [53]. Pierwszym jak dotąd doniesieniem przedstawiającym wyniki prób klinicznych z użyciem DC w CLL jest będący aktualnie w druku raport Hus i wsp. [26], którzy podawali szczepionki z autologicznych DC pulsowanych lizatami lub ciałkami apoptotycznymi z komórek białaczkowych u dziewięciu chorych we wczesnym stadium CLL. Autorzy wykazali specyficzną odpowiedź cytotoksycznych limfocytów T na antygen RHAMM/CD168, stanowiący TAA dla komórek CLL, z jednoczesną odpowiedzią hematologiczną w postaci redukcji leukocytozy oraz liczby nowotworowych komórek CD5⁺CD19⁺. Uzyskane wyniki wskazują na potencjalną skuteczność szczepionek z DC u chorych na CLL, przy bardzo dobrej tolerancji tego leczenia. Należy jednak podkreślić, że ze względu na specyfikę CLL ocena rzeczywistych korzyści nowych strategii leczniczych, w tym immunoterapii, wymaga znacznie dłuższych obserwacji niż w przypadku bardziej agresywnie przebiegających chorób układu krwiotwórczego.

Z uwagi na to, że nie wyodrębniono dotąd TSA czy TAA wspólnych dla ostrych białaczek, przygotowanie efektywnych szczepionek z DC dla tych chorych jest niezwykle trudne. Opublikowane dotychczas wyniki prób stosowania immunoterapii w tej grupie chorób wykazują obecność odpowiedzi immunologicznej na szczepienie i dobrą tolerancję kliniczną leczenia, jednak nie potwierdzają znaczącej odpowiedzi hematologicznej, jak na przykład redukcji odsetka komórek białaczkowych w szpiku [17,18,28,34,35].

OBJAWY NIEPOŻĄDANE W TRAKCIE LECZENIA SZCZEPIONKAMI Z KOMÓREK DENDRYTYCZNYCH I OCENA WYNIKÓW LECZENIA

Immunoterapia z użyciem szczepionek z DC jest na ogół bardzo dobrze tolerowana. Z opisywanych objawów ubocznych najczęstszymi są stany gorączkowe oraz miejscowe reakcje poszczepienne. Ponadto, u około połowy pacjentów z czerniakiem po podaniu szczepionki z DC obserwowano bielactwo wynikające prawdopodobnie z indukowanej w ten sposób immunologicznej destrukcji melanocytów [50]. Są również doniesienia o pojawieniu się miejscowych zmian zapalnych wokół ognisk przerzutowych, co powinno być brane pod uwagę przy rozważaniu możliwości stosowania tego typu terapii u chorych z rozsianą chorobą nowotworową [81]. Najbardziej zastanawiającym, a jednocześnie niezwykle rzadko obserwowanym objawem ubocznym jest rozwój chorób autoimmunologicznych u pacjentów szczepionych DC pulsowanymi pełnymi cząsteczkami antygenów bądź też preparatem otrzymanym z samego guza.

Należy podkreślić, że porównawcza analiza wyników różnych badań klinicznych jest bardzo trudna, ze względu na stosowanie różnorodnych protokołów i technik badawczych, w tym różnych metod oceny skuteczności immunoterapii [13]. Niewątpliwie najbardziej dostępnym materiałem pozwalającym na monitorowanie efektów tego leczenia jest krew obwodowa, w której bada się parametry specyficznej odpowiedzi immunologicznej [51]. Także preparaty otrzymane z bioptatów szpiku kostnego, węzłów chłonnych czy nacieku nowotworowego wydają się być również źródłem wielu cennych informacji [79]. Bardzo istotnym kryterium powinna być ocena efektu klinicznego oparta na jednolitych zasadach.

Jednym ze sposobów oceny odpowiedzi immunologicznej po zastosowaniu szczepionek z DC jest wykrywanie we krwi obwodowej cytokin produkowanych zarówno przez dojrzałe APC jak i limfocyty Th1 i Th2 [89]. Stosując metodę immunoenzymatyczną ELISPOT bada się między innymi obecność IFN-gamma, TNF-beta, Il-4, Il-10 oraz Il-12. Prowadzono również próby wykrywania autoreaktywnych limfocytów T wykorzystując metodę cytometrii przepływowej oraz bromodeoksyurydyny (BrdU) służącą do oceny proliferacji komórkowej. Innym sposobem monitorowania odpowiedzi immunologicznej u chorych poddanych immunoterapii są badania z wykorzystaniem tetramerów białkowych MHC zarówno do oceny specyficznej odpowiedzi we krwi obwodowej, jak i w próbkach guza czy węzłów chłonnych mające na celu określenie interakcji cytotoksycznych limfocytów T [94].

Ze względu na wiele stosowanych technik przygotowania szczepionki (różne źródło, metody aktywacji i różnicowania DC), jej podawania oraz monitorowania odpowiedzi immunologicznej i klinicznej, interpretacja i porównanie wyników dotychczasowych doniesień są jednak bardzo utrudnione. Prowadzenie dalszych badań klinicznych z użyciem szczepionek z DC wymaga więc bezwzględnie odpowiedniej standaryzacji.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AVIGAN D. Dendritic cells: development, function and potential use for cancer immunotherapy. *Blood Rev* 1999; **13**: 51–64.
- [2] BANCHERAUEU J, PALUCKA AK, DHODAPKAR M, BURKENHOLDER S, TAQUET N, ROLLAND A, TAQUET S, COQUERY S, WITKOWSKI KM, BHARDWAJ N, PINEIRO L, STEINMAN R, FAY J. Immune and clinical responses with metastatic melanoma to CD34(+) progenitor-derived dendritic cell vaccine. *Cancer Res* 2001; **61**: 6451–6458.
- [3] BANCHERAUEU J, PALUCKA AK. Dendritic cells as therapeutic vaccines against cancer. *Nat Rev Immunol* 2005; **5**: 296–306.
- [4] BROSSART P, WIRTHS S, STUHLER G, REICHARDT VL, KANZ L, BRUGGER W. Induction of cytotoxic T-lymphocyte responses in vivo after vaccinations with peptide-pulsed dendritic cells. *Blood* 2000; **96**: 3102–3108.
- [5] BURCH PA, BREEN JK, BUCKNER JC, GASTINEAU DA, KAUR JA, LAUS RL, PADLEY DJ, PESHWA MV, PITOT HC, RICHARDSON RL, SMITS BJ, SOPAPAN P, STRANG G, VALONE FH, VUK-PAVLOVIC S. Priming tissue-specific cellular immunity in a phase I trial of autologous dendritic cells for prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2000; **6**: 2175–2182.
- [6] CHANG AE, REDMAN BG, WHITFIELD JR, NICKOLOFF BJ, BRAUN TM, LEE PP, GEIGER JD, MULE JJ. A phase I trial of tumor lysate-pulsed dendritic cells in the treatment of advanced cancer. *Clin Cancer Res* 2002; **8**: 1021–1032.
- [7] CHOUDHURY A, TOUBERT A, SUTARIA S, CHARRON D, CHAMPLIN RE, CLAXTON DF. Human leukemia-derived dendritic cells: ex-vivo development of specific antileukemic cytotoxicity. *Crit Rev Immunol* 1998; **18**: 121–131.
- [8] CLARK GJ, ANGEL N, KATO M, LOPEZ JA, MACDONALD K, VUCKOVIC S, HART DN. The role of dendritic cells in the innate immune system. *Microbes Infect* 2000; **2**: 257–272.
- [9] CLAXTON DF, MC MANNIS J, CHAMPLIN R, CHOUDHURY A. Therapeutic potential of leukemia-derived dendritic cells: preclinical and clinical progress. *Crit Rev Immunol* 2001; **21**: 147–155.
- [10] DAVIS ID, JEFFORD M, PARENTE P, CEBON J. Rational approaches to human cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol* 2003; **73**: 3–29.
- [11] DAVIS TA, HS FJ, CASPAR CB, BECKHOVEN A, CZERWINSKI DK, LILES TM, TAIDI B, BENIKE CJ, ENGLEMAN EG, LEVY R. Idiotype vaccination following ABMT can stimulate specific anti-idiotype immune responses in patients with B-cell lymphoma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2001; **7**: 517–522.
- [12] FARIES MB, CZERNIECKI BJ. Dendritic cells in melanoma immunotherapy. *Curr Treat Options Oncol* 2005; **6**: 175–184.
- [13] FIGDOR CG DE VRIES IJ, LESTERHUIS WJ, MELIEF CJ. Dendritic cell immunotherapy: mapping the way. *Nat Med* 2004; **10**: 475–480.
- [14] FONG L, BROCKSTEDT D, BENIKE C, BREEN JK, STRANG G, RUEGG CL, ENGLEMAN EG. Dendritic cell-based xenoantigen vaccination for prostate cancer immunotherapy. *J Immunol* 2001; **167**: 7150–7156.
- [15] FONG S, ENGLEMAN EG. Dendritic cell in cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2000; **18**: 245–273.
- [16] FUJII S, SHIMIZU K, FUJIMOTO K, KIYOKAWA T, SHIMOMURA T, KINOSHITA M, KAWANO F. Analysis of a chronic myelogenous leukemia patient vaccinated with leukemic dendritic cells following autologous peripheral blood stem cell transplantation. *Jpn J Cancer Res* 1999; **90**: 1117–1129.
- [17] FUJII S, SHIMIZU K, FUJIMOTO K, KIYOKAWA T, TSUKAMATO A, SANADA I, KAWANO F. Treatment of posttransplanted, relapsed patients with hematological malignancies by infusion of HLA-matched, allogenic-dendritic cells (DCs) pulsed with irradiated tumor cells and primed T cells. *Leuk Lymphoma* 2001; **42**: 357–369.
- [18] GALEA-LAURI J, DARLING D, MUFTI G, HARRISON P, FARZANEH F. Eliciting cytotoxic T lymphocytes against acute myeloid leukemia-derived antigens: evaluation of dendritic cell hybrids and other antigen-loading strategies for dendritic cell-based vaccination. *Cancer Immunol Immunother* 2002; **51**: 299–310.
- [19] GONG J, KOIDO S, CHEN D, TANAKA Y, HUANG L, AVIGAN D, ANDERSON K, OHNO T, KUFLE D. Immunization against murine multiple myeloma with fusions of dendritic and plasmacytoma cells is potentiated by interleukin 12. *Blood* 2002; **99**: 2512–2517.

- [20] HART DN, FABRE JW. Demonstration and characterization of Ia-positive dendritic cells in the interstitial connective tissues of rat heart and other tissues, but not brain. *J Exp Med* 1981; **154**: 347–361.
- [21] HART DN. Dendritic cells: unique leukocyte populations which control the primary immune response. *Blood*. 1997; **90**: 3245–3287.
- [22] HE L, FENG , RAYMOND A, KREGER M, ZENG Y, GRANER M, WHITESELL L, KATSANIS E. Dendritic cell-peptide immunization provides immunoprotection against bcr-abl-positive leukemia in mice. *Cancer Immunol Immunother* 2001; **50**: 31–40.
- [23] HEISER A, COLEMAN D, DANNULL J, YANCEY D, MAURICE MA, LALLAS CD, DAHM P, NIEDZWIECKI D, GILBOA E, VIEWEG J. Autologous dendritic cells transfected with prostate-specific antigen RNA stimulate CTL responses against metastatic prostate tumors. *J Clin Invest* 2002 Feb; **109**: 409–417.
- [24] HSU FJ, BENIKE C, FANONI F, LILES TM, CZERWINSKI D, TAIDI B, ENGELMAN EG, LEVY R. Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulse dendrite cells. *Nat Med* 1996; **2**: 52–57.
- [25] HUS I, ROLIŃSKI J Folikularne komórki dendrytyczne - rozwój i funkcja. *Post Biol Kom* 2003; **30**: 587–599.
- [26] HUS I, ROLINSKI J, TABARKIEWICZ J, WOJAS K, BOJARSKA-JUNAK A, GREINER J, GIANNOPOULOS K, DMOSZYŃSKA A, SCHMITT M. Allogeneic dendritic cells pulsed with tumor lysates or apoptotic bodies as immunotherapy for patients with early-stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2005, w druku [Epub ahead of print].
- [27] JONULEIT H, GIESECKE-TUETTENBERG A, TUTING T, THURNER-SCHULER B, STUGE TB, PARAGNIK L, KANDEMIR A, LEE PP, SCHULER G, KNOP J, ENK AH. A comparison of two types of dendritic cell as adjuvants for the induction of melanoma-specific T-cell responses in humans following intranodal injection. *Int J Cancer* 2001; **93**: 243–251.
- [28] KLAMMER M, WATERFALL M, SAMUEL K, TURNER ML, RODDIE PH. Fusion hybrids of dendritic cells and autologous myeloid blasts as a potential cellular vaccine for acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2005; **129**: 340–349.
- [29] KOBAYASHI T, SHINOHARA H, TOYODA M, IWAMOTO S, TANIGAWA N. Regression of lymph node metastases by immunotherapy using autologous breast tumor-lysate pulsed dendritic cells: report of a case. *Surg Today* 2001; **31**: 513–526.
- [30] KONO K, TAKAHASHI A, SUGAI H, FUJII H, CHOUDHURY AR, KIESSLING R, MATSUMOTO Y. Dendritic cells pulsed with HER-2/neu-derived peptides can induce specific T-cell responses in patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2002; **8**: 3394–3400.
- [31] KRAUSE SW, NEUMAN C, SORURI A, MAYER S, PETERS JH, ANDRSON R. The treatment of patients with disseminated malignant melanoma by vaccination with autogous cell hybrids of tumor cells and dendritic cells. *J Immunother* 2002; **25**: 421–428.
- [32] KWAK LW. Translational development of active immunotherapy for hematologic malignancies. *Semin Oncol* 2003; **30**: 17–22.
- [33] LAURITZSEN GF, WEISS S, DEMBIC Z, BOGEN B. Naïve idiotype-specific CD4(+) T cells and immunosurveillance of B-cell tumors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; **91**: 5700–5714.
- [34] LEE JJ, KOOK H, PARK MS, NAM JH, CHOI BH, SONG WH, PARK KS, LEE IK, CHUNG IJ, HWANG TJ, KIM HJ. Immunotherapy using autologous monocyte-derived dendritic cells ulsed with leukemic cell lysate for acute myeloid leukemia relapse after autologous peripheral blood stem cell transplantation. *J Clin Apheresis* 2004; **19**: 66–70.
- [35] LEE JJ, NAM CE, NAM JH, LEE HC, CHUNG IJ, PARK MS, CHOI BH, SONG WH, LEE IK, PARK KS, KOOK H, HWANG TJ, TAKEI M, TAKAUE Y, KIM HJ. Generation of cytotoxic donor CD8+ T cell against relapsing leukemic cells following allogeneic transplantation by stimulation with leukemic cell- or leukemic lysate pulsed donor cell-derived dendritic cells. *Leuk Res* 2004; **28**: 517–524.
- [36] LIM SH, BAILEY-WOOD R. Idiotypic protein-pulsed dendritic cell vaccination in multiple myeloma. *Int J Cancer* 1999; **83**: 215–222.
- [37] LISO A, STOCKERL-GOLSTEIN KE, AUFFERMANN-GRETZINGER S, BENIKE CJ, REICHRDT V, VAN BECKHOEN A, RAJAPAKSA R, ENGELMAN EG, BLUME KG, LEVY R. Idiotype vaccination using dendritic cells after autologous peripheral blood progenitor cell transplantation for multiple myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; **6**: 621–627.
- [38] LUGOVIC L, SITUM M, KOS L. Malignant melanoma-future prospects. *Acta Dermatovenerol Croat* 2005; **13**: 36–43.

- [39] MACDONALD KP, MUNSTER DJ, CLARK GJ, DZIOŃEK A, SCHMITZ J, HART DN. Characterization of human blood dendritic cells subsets. *Blood* 2002; **100**: 4512–4420.
- [40] MACKENSEN A, HERBST B, CHEN JL, KOHLER G, NOPPEN C, HERR W, SPAGNOLI GC, CERUNDOLO V, LINDEMANN A. Phase I study in melanoma patients of a vaccine with peptide-pulsed dendritic cells generated in vitro from CD4(+) hematopoietic progenitor cells. *Int J Cancer* 2000; **86**: 385–392.
- [41] MAIER T, TUN-KYI A, TASSIS A, JUNGIUS KP, BURG G, DUMMER R, NESTLE FO. Vaccination of patients with cutaneous T-cell lymphoma using intranodal injection of autologous tumor-lysate-pulsed dendritic cells. *Blood* 2003; **102**: 2338–2344.
- [42] MANCHES O, PLUMAS J, LUI G, CHAPEROT L, MOLENS JP, SOTTO JJ, BENZA JC, GALILI U. Anti-Gal-mediated targeting of human B lymphoma cells to antigen-presenting cells: a potential method for immunotherapy using autologous tumor cells. *Haematologica* 2005; **90**: 625–634.
- [43] MARTEN A, FLIEGER D, RENOTH S, WEINECK S, ALBERS P, COMPES M, SCHOTTKER B, ZISKE C, ENGELHART S, HANFLAND P, KRIZEK L, FABER C, VON RUECKER A, MULLER S, SAUERBRUCH T, SCHMIDT-WOLF IG. Therapeutic vaccination against metastatic renal cell carcinoma by autologous dendritic cells: preclinical results and outcome of a first clinical phase I/II trial. *Cancer Immunol Immunother* 2002; **51**: 637–644.
- [44] MILLER A, JĘDRZEJCZAK WW Komórki dendrytyczne w immunoterapii. *Post Biol Kom* 2001; **28**: 51–68
- [45] MORISAKI T, MATSUMOTO K, ONISHI H, KUROKI H, BABA E, TASAKI A, KUBO M, NAKAMURA M, INABA S, YAMAGUCHI K, TANAKA M, KATANOM M. Dendritic cell-based combined immunotherapy with autologous tumor-pulsed dendritic cell vaccine and activated T cell for cancer patients: rationale, current progress and perspectives. *Hum Cell* 2003; **16**: 175–182.
- [46] MOTTA MR, CASTELLANI S, RIZZI S, CURTI A, GUBINELI F, FOGLI M, FERRI E, CELLINI C, BACCARANI M, LEMOLI RM. Generation of dendritic cells from CD14+ monocytes positively selected by immunomagnetic adsorption for multiple myeloma patients enrolled in a clinical trial of anti-idiotype vaccination. *Br J Haematol* 2003; **121**: 240–250.
- [47] MULLER L, PAWELEC G. Chronic phase CML patients possess T cell capable of recognizing autologous tumour cells. *Leuk Lymphoma* 2002; **43**: 943–951.
- [48] MURPHY GP, TJOA BA, SIMMONS SJ, ROGERS MK, KENNY GM, JARISCH J. Higher-dose and less frequent dendritic cell infusions with PSMA peptides in hormone-refractory metastatic prostate cancer patients. *Prostate* 2000; **43**: 59–62.
- [49] NESTLE FO, ALIAGIC S, GILLIET M, SUN Y, GRABBE S, DUMMER R, BURG G, SCHADENDORF D. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 1998; **4**: 328–332.
- [50] NESTLE FO, BANCHEREAU J, HART D. Dendritic cells: On the move from bench to bedside. *Nat Med* 2001; **7**: 761–765.
- [51] OELKE M, KUROKAWA T, HENTRICH I, BEHRINGER D, CERUNDOLO V, LINDEMANN A, MACKENSEN A. Functional characterization of CD8(+) antigen-specific cytotoxic T lymphocytes after enrichment based on cytokine secretion: comparison with the MHC-tetramer technology. *Scand J Immunol* 2000; **52**: 544–549.
- [52] O'ROURKE MG, JOHNSON M, LANAGAN C, SEE J, YANG J, BELL JR, SLATER GJ, KERR BM, CROWE B, PURDIE DM, ELLIOTT SL, ELLEM KA, SCHMIDT CW. Durable complete clinical responses in a phase I/II trial using an autologous melanoma cell/dendritic cell vaccine. *Cancer Immunol Immunother* 2003; **52**: 387–395.
- [53] ORSINI E, PASQUALE A, MAGGIO R, CALABRESE E, MAURO FR, GIAMMARTINI E, GUARINI A, FOA R. Phenotypic and functional characterization of monocyte-derived dendritic cells in chronic lymphocyte leukaemia patients: influence of neoplastic CD19 cells in vivo and in vitro. *Br J Haematol* 2004; **125**: 720–728.
- [54] OSSENKOPPELE GJ, STAM AG, WESTERS TM, DE GRUIJL TD, JANSSEN JJ, VAN DE LOOSDRECHT AA, SCHEPER RJ. Vaccination of chronic myeloid leukemia patients with autologous in vitro cultured leukemic dendritic cells. *Leukemia* 2003; **17**: 1424–1426.
- [55] PACZESNY S, UENO H, FAY J, BANCHEREAU J, PALUCKA AK. Dendritic cell as vectors for immunotherapy of cancer. *Semin Cancer Biol* 2003; **13**: 439–447.
- [56] PALUCKA KA, TAQUET N, SANCHEZ-CHAPUIS F, GLUCKMAN JC. Dendritic cells as the terminal stage of monocyte differentiation. *J Immunol* 1998; **160**: 4587–4895.
- [57] PAWELEC G, ENGEL A, ADIBZADEH M. Prerequisites for the immunotherapy of cancer. *Cancer Immunol Immunother* 1999; **48**: 214–217.

- [58] PECHER G, HARING A, KAISER L, THIEL E. Mucin gene (MUC1) transfected dendritic cells as vaccine: results of a phase I/II clinical trial. *Cancer Immunol Immunother* 2002; **51**: 669–673.
- [59] PEDERSEN AE, THORN M, GAD M, WALTER MR, JOHNSEN HE, GAARSDAL E, NIKOLAJSSEN K, BUUS S, CLAESSEON MH, SVANE IM. Phenotypic and functional characterization of clinical grade dendritic cells generated from patients with advanced breast cancer for therapeutic vaccination. *Scand J Immunol* 2005; **61**:147–156.
- [60] RAINS N, CANNAN RJ, CHEN W, STUBBS RS. Development of a dendritic cell (DC)-based vaccine for patients with advanced colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 2001; **48**: 347–351.
- [61] RAJE N, HIDESHIMA T, DAVIES FE, CHAUHAN D, TREON SP, YOUNG G, TAI YT, AVIGAN D, GONG J, SCHLOSSMAN RL, RICHARDSON P, KUFU DW, ANDERSON KC. Tumor cell/dendritic cell fusions as a vaccination strategy for multiple myeloma. *Br J Haematol* 2004; **125**: 343–352.
- [62] REINHARD G, MARTEN A, KISKE SM, FEIL F, BIEBER T, SCHMIDT-WOLF IG. Generation of dendritic cell-based vaccines for cancer therapy. *Br J Cancer* 2002; **86**: 1592–1533.
- [63] REIS E, SOUSA C. Dendritic cells as sensors of injection. *Immunity* 2001; **14**: 495–498.
- [64] REZVANY MR, JEDDI-TEHRANI M, BIBERFELD P, SODERLUND J, MELLSTEDT H, OSTERBORG A, RABBANI H. Dendritic cells in patients with non-progressive B-chronic lymphocytic leukaemia have a normal functional capability but abnormal cytokine pattern. *Br J Haematol* 2001; **115**: 263–271.
- [65] RIDGWAY D. The first 1000 dendritic cell vaccines. *Cancer Invest* 2003; **21**: 873–886.
- [66] RIESER C, RAMONER R, HOLTL L, ROGATSCH H, PAGESH C, STENZL A, BARTSCH G, THURNHER M. Mature dendritic cells induce T-helper type-1-dominant immune responses in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Urol Int* 1999; **63**:151–159.
- [67] ROBINSON SP, PATTERSON S, ENGLISH N, DAVIES D, KNIGHT SC, REID CD. Human peripheral blood contains two distinct lineages of dendritic cells. *Eur J Immunol* 1999; **29**: 2769–2778.
- [68] ROLIŃSKI J. Rola komórek dendrytycznych w immunoterapii chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. *Post Nauk Med* 2000; **4**.
- [69] ROMANIN, GRUNER S, BRANG D, KAMPGEN E, LENZ A, TROCKENBACHER B, KONWALINKA G, FRITSCH PO, STEINMAN RM, SCHULER G. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. *J Exp Med* 1994; **180**: 83–93.
- [70] ROSSOWSKA J, PATTASZ-PIASECKA. Zastosowanie komórek dendrytycznych w immunoterapii nowotworów – osiągnięcia i perspektywy. *Post Hig Med Dośw* 2003; **57**: 501–518.
- [71] SADANAGA N, NAGASHIMA H, MASHINO K, TAHARA K, YAMAGUCHI H, OHTA M, FUJIE T, TANAKA F, INOUE H, TAKESAKO K, AKIYOSHI T, MORI M. Dendritic cell vaccination with MAGE peptide is a novel therapeutic approach for gastrointestinal carcinomas. *Clin Cancer Res* 2001; **7**: 2277–2284.
- [72] SALLUSTO F, LANZAVECCHIA A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-stimulating factor plus interleukin 4 and downregulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; **179**: 1109–1118.
- [73] SCHEFFER SR, NAVE H, KORANGY F, SCHLOTE K, PABST R, JAFFEE EM, MANNS MP, GRETEN TF. Apoptotic, but not necrotic, tumor cell vaccines induce a potent immune response in vivo. *Int J Cancer* 2003; **103**: 205–211.
- [74] SCHMIDT SM, SCHAG K, MULLER MR, WECK MM, APPEL S, KANZ L, GRUNEBACH F, BROSART P. Survivin is a shared tumor-associated antigen expressed in a broad variety of malignancies and recognized by specific cytotoxic T cells. *Blood* 2003; **102**: 571–576.
- [75] SIEGEL S, WAGNER A, SCHMITZ N, ZEIS M. Induction of antitumour immunity using survivin peptide-pulsed dendritic cells in a murine lymphoma model. *Br J Haematol* 2003; **122**: 911–914.
- [76] SMALL EJ, FRATESI P, REESE DM, STRANG G, LAUS R, PESHWA MV, VALONE FH. Immunotherapy of hormone-refractory prostate cancer with antigen-loaded dendritic cells. *J Clin Oncol* 2000; **18**: 3894–3903.
- [77] SMITHERS M, O'CONNELL K, MACFADYEN S, CHAMBERS M, GREENWOOD K, BOYCE A, ABDUL-JABBAR I, BARKER K, GRIMMETT K, WALPOLE E, THOMAS R. Clinical response after intradermal immature dendritic cell vaccination in metastatic melanoma is associated with immune response to particulate antigen. *Cancer Immunol Immunother* 2003; **52**: 41–52.
- [78] STEINMAN RM, POPE M. Exploiting dendritic cells to improve vaccine efficacy. *J Clin Invest* 2002; **109**: 1519–1526.
- [79] SUN Y, IGLESIAS E, SAMRI A, KAMKAMIDZE G, DECOVILLE T, CARCELAIN G, AUTRAN B. A systematic comparison of methods to measure HIV-1 specific CD8 T cells. *J Immunol Methods* 2003; **272**: 23–34.

- [80] TARTE K, KLEIN B. Dendritic cell-based vaccine: a promising approach for cancer immunotherapy. *Leukemia* 1999; **13**: 653–663.
- [81] THOMAS R, PADMANABHA J, CHAMBERS M, MCFADYEN S, WALPOLE E, NIELSSEN G, SMITHERS M. Metastatic lesions in the joint associated with acute inflammatory arthritis after dendritic cell immunotherapy for metastatic melanoma. *Melanoma Res* 2001; **11**: 167–173.
- [82] TIMMERMAN JM, CZERWINSKI DK, DAVIS TA, HSU FJ, BENIKE C, HAO ZM, TAIDI B, RAJAPAKSA R, CASPAR CB, OKADA CY, VAN BECKHOVEN A, LILES TM, ENGLEMAN EG, LEVY R. Idiotypic-pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients. *Blood* 2002; **99**: 1517–1526.
- [83] TIMMERMAN JM, LEVY R. Dendritic cell vaccines for cancer immunotherapy. *Annu Rev Med* 1999; **50**: 507–529.
- [84] TITZER S, CHRISTENSEN O, MANZKE O, TESCH H, WOLF J, EMMERICH B, CARSTEN C, DIEHL V, BOHLEN H. Vaccination of multiple myeloma patients with idiotype-pulsed dendritic cells: immunological and clinical aspects. *Br J Haematol* 2000; **108**: 805–816.
- [85] TREFZER U, HERBERTH G, WOHLAN K, MILLING A, THIEMANN M, SHARAV T, SPARBIER K, STERRY W, WALDEN P. Tumour-dendritic hybrid cell vaccination for the treatment of patients with malignant melanoma: immunological effects and clinical results. *Vaccine* 2005; **23**: 2367–2373.
- [86] TREFZER U, HERBERTH G, WOHLAN K, MILLING A, THIEMANN M, SHEREV T, SPARBIER K, STERRY W, WALDEN P. Vaccination with hybrids of tumor and dendritic cells induces tumor-specific T-cell and clinical responses in melanoma stage III and IV patients. *Int J Cancer* 2004; **110**: 730–740.
- [87] TRENTIN L, PERIN A, SIVIERO M, PIAZZA F, FACCO M, GURRIERI C, GALVAN S, ADAMI F, AGOSTINI C, PIZZOLO G, ZAMBELLO R, SEMENZATO G. B7 costimulatory molecules from malignant cells in patients with b-cell chronic lymphoproliferative disorders trigger t-cell proliferation. *Cancer* 2000; **89**: 1259–1268.
- [88] TURTLE CJ, BROWN RD, JOSHUA DE, HART DN. DC in multiple myeloma immunotherapy. *Cytotherapy* 2004; **6**: 128–137.
- [89] TURTLE CJ, HART DN. Dendritic cells in tumor immunology and immunotherapy. *Curr Drug Targets* 2004; **5**: 17–39.
- [90] VASIR B, BORGES V, WU Z, GROSMAN D, ROSENBLATT J, IRIE M, ANDERSON K, KUFE D, AVIGAN D. Fusion of dendritic cells with multiple myeloma cells results in maturation and enhanced antigen presentation. *Br J Haematol* 2005; **129**: 687–700.
- [91] WALLER EK. Cellular immunotherapy and cancer. *Semin Oncol* 2004; **31** (Suppl 4): 87–90.
- [92] WEN YJ, LING M, BAILEY-WOOD R, LIM SH. IDIOTYPE protein-pulsed adherent peripheral blood mononuclear cell-derived dendritic cells prime immune system in multiple myeloma. *Clin Cancer Res* 1998; **4**: 957.
- [93] WESTERMANN J, KNOP J, KORNER I, RICHTER G, QIN Z, BLANKENSTEIN T, DORKEN B, PEZZUTO A. Bcr/abl+ autologous dendritic cells for vaccination in chronic myeloid leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2000; **25** (Suppl 2): S46–49.
- [94] WHITESIDE TL, ZHAO Y, TSUKISHIRO T, ELDER EM, GOODING W, BAAR J. Enzyme-linked immunospot, cytokine flow cytometry, and tetramers in the detection of T-cell responses to a dendritic cell-based multipeptide vaccine in patients with melanoma. *Clin Cancer Res* 2003; **9**: 641–649.
- [95] ZHANG M, WANG Q, LIU Y, SUN Y, DING G, FU Z, MIN Z, ZHU Y, CAO X. Effective induction of immune tolerance by portal venous infusion with IL-10 gene-modified immature dendritic cells leading to prolongation of allograft survival. *J Mol Med* 2004; **82**: 240–249.
- [96] ZHOU Y, BOSCH ML, SALGALLER ML. Current methods for loading dendritic cells with tumor antigen for the induction of antitumor immunity. *J Immunother* 2002; **25**: 289–303.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 07.07.2005 r.

Przyjęto: 15.07.2005 r.

ul. Ciołkowskiego 2, 93-510 Łódź

e-mail: piotr_smolewski@wp.pl