

УДК 364-785:616.411-006.81

Терапевтические вакцины против меланомы

© 2017 Е.В. СТАРОСТИНА¹, Е.А. БОРОБОВА^{1,2,*}, Л.И. КАРПЕНКО¹, А.А. ИЛЬИЧЕВ¹, С.И. БАЖАН¹

¹ФГБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”», Кольцово, Новосибирская область, 630559

²Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр им. акад. Е.Н. Мешалкина, Новосибирск, 630055

e-mail: borobova-elena@rambler.ru*

Поступила 17.04.2017 г.

Принята в печать 31.05.2017 г.

Меланома является самым агрессивным раком кожи. Низкая эффективность лечения связана с ранним метастазированием и формированием резистентности к классическим методам терапии. Высокая иммуногенность меланомных опухолей, обусловленная присутствием на поверхности клеток раковых антигенов, дает надежду на создание эффективной терапевтической вакцины или разработки эффективной иммунотерапевтической стратегии, использующей последние достижения молекулярной иммунологии и клеточных технологий. В качестве основы для создания вакцин против меланомы могут выступать как отдельные раковые антигены, так и цельные опухолевые клетки. Весьма привлекательным направлением иммунотерапии меланомы является создание ДНК-вакцин. В данном обзоре основное внимание сосредоточено на различных подходах, применяемых в разработке терапевтических вакцин против меланомы и показавших обнадеживающие результаты в клинических испытаниях.

Ключевые слова: меланома, терапевтические вакцины, клеточные вакцины, пептидные вакцины, ДНК-вакцины, полиэпитопные вакцины, вакцины на основе неоантигенов.

doi: 10.21519/0234-2758-2017-33-6-04-11

Меланома – самый агрессивный рак кожи. Ежегодно от меланомы в мире умирают около 50 тыс. человек. Высокая смертность и низкая эффективность терапии данного заболевания связаны с метастазированием на ранних стадиях развития опухоли [1]. По данным ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН, на долю меланомы приходится всего 4% злокачественных новообразований кожи, но до 80% летальных исходов среди всех видов рака кожи [2].

В последние годы наметился существенный прогресс в области лечения рака с использованием различных методов терапии, на базе моно-

клональных антител [3, 4], низкомолекулярных ингибиторов белков BRAF и MEK [5–7], интерлейкинов, α -2b-интерферона, а также противоопухолевых вакцин [8, 9].

Использование противоопухолевых вакцин является одним из наиболее перспективных направлений развития иммунотерапии. Возможность создания эффективной терапевтической вакцины против меланомы обусловлена тем, что клетки меланомы, презентующие на своей поверхности специфический набор антигенов, являются высоко иммуногенными. Кроме того, в пользу такой возможности свидетельствует и то, что в некоторых случаях наблюдается полная ремиссия

Список сокращений: АПК – антиген-представляющие клетки; БЦЖ – бацилла Кальмета–Жерена; ГМ-КСФ – гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор; ДК – дендритные клетки; CTL – цитотоксические Т-лимфоциты; FDA (Food and Drug Administration) – Управление по контролю за продуктами и лекарствами (США); HLA – главный комплекс гистосовместимости человека; IL – интерлейкин(ы); Th – Т-хелперы.

злокачественной меланомы, ассоциированная со спонтанной индукцией как гуморального, так и Т-клеточного иммунного ответа [10].

В данном обзоре рассмотрены основные современные подходы к разработке вакцин против меланомы.

Вакцины на основе опухолевых клеток

Первые вакцины против меланомы представляли собой вакцины на основе цельных опухолевых клеток или их лизатов [11]. Такие вакцины подразделяют на аутологичные (полученные из собственных клеток пациента) или аллогенные (из нескольких клеточных линий). Опухолевые клетки облучают и вводят вместе с иммунологическим(и) адьювантом(ами) для привлечения антиген-презентирующих клеток хозяина [12].

Одними из первых результаты клинических испытаний аллогенной вакцины, созданной на основе облученных живых цельных опухолевых клеток, опубликовали исследователи из США [13]. Результаты исследования не показали достоверных различий в выживаемости в группах вакцинированных и получавших плацебо пациентов. Для повышения иммуногенности разработчики использовали поливалентную вакцину, названую *CanseVax*. Она представляла собой смесь клеток меланомы трех различных линий, выбранных по признаку высокой экспрессии специфических опухолевых антигенов. Клинические исследования показали, что пятилетняя выживаемость при применении данной вакцины составила 33% против 10% при использовании иных видов лечения [14].

До настоящего времени работы в этом направлении ведутся рядом научных команд. Так, сравнительно недавно были опубликованы результаты I фазы клинических исследований вакцины *GVAX*, состоящей из генетически модифицированных облученных клеточных линий, секретирующих гранулоцитарно-макрофагальный колоние-стимулирующий фактор (ГМ-КСФ) [15]. Было показано, что вакцина является безопасной и легко переносимой для пациентов с меланомой на стадиях IIВ–IV.

Вакцина *VACCIMEL*, состоящая из аллогенных облученных клеток меланомы и БЦЖ в качестве адьюванта, при подкожном введении в комбинации с ГМ-КСФ на I фазе клинических испытаний показала безопасность для пациентов на II–III стадиях заболевания [16].

На I и II фазах клинических испытаний вакцина *Dorgenmeltucel-L* (*HyperAcute-Melanoma; HAM*), состоящая из генетически модифици-

рованных опухолевых клеток, продуцирующих α -1,3-галактозный эпитоп мышинового поверхностного гликопротеина, способствовала (при введении ее совместно с интерфероном- α) активации иммунной системы и снижению темпов роста опухоли [17].

Вакцина *Canvaxin*, состоящая из трех клеточных линий, способных продуцировать более 20 охарактеризованных антигенов меланомы, в сочетании с БЦЖ в качестве адьюванта индуцировала специфический противоопухолевый гуморальный и клеточный иммунный ответ и способствовала повышению выживаемости пациентов [18].

Российские исследователи также работают в данном направлении. Так, в РОНЦ им. Н.Н. Блохина разработан ряд вакцин против меланомы, которые находятся на разных стадиях клинических испытаний. Прошли пилотные клинические исследования генно-инженерной вакцины «Аутологичная/tag7», полученной из метастатических, трансфицированных геном *tag7* клеток большого меланомой [19]. В ходе клинических испытаний выявлена положительная динамика экспрессии генов активационных маркеров натуральных киллерных клеток, что свидетельствует о формировании клеточного ответа [20]. В НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова исследовали вакцину, также полученную на основе аутологичных опухолевых клеток, трансфицированных плазмидой, кодирующей ген *tag 7*. По результатам I и II фаз клинических испытаний в группах больных меланомой и почечно-клеточным раком не было отмечено серьезных побочных эффектов. Отсутствие клинически значимого действия вакцины, по мнению авторов, может быть обусловлено как низкой эффективностью трансфекции опухолевых клеток, так и недостаточностью иммунного ответа у больных на поздней стадии заболевания [21].

К сожалению, нестабильность цельноклеточных вакцин требует особых условий их производства, хранения и транспортировки. Кроме того, существенные сложности возникают и при стандартизации таких препаратов. Все эти проблемы могут существенно ограничить их будущее применение [22].

Пептидные вакцины

Еще одна возможность вакцинотерапии рака основана на использовании специфических опухолевых пептидов. Особенность их применения заключается в том, что они способны напрямую взаимодействовать с молекулами HLA на поверхности клеток пациента без предварительного

захвата и процессинга антиген-презентирующими клетками с последующим представлением Т-лимфоцитам [23].

Современные биотехнологические методы позволяют получать синтетические пептиды в необходимых количествах, и их можно легко стандартизировать. Пептидные вакцины обычно включают эпитопы из таких антигенов клеток меланомы, как MART-1, gp100, тирозиназа, TRP-2, NY-ESO-1, MAGE-1/3, Her2/neu и теломераза [24].

Пептидные вакцины при клинических испытаниях часто применяют в комплексе с адьювантами, например ГМ-КСФ, адьювантом Фрейнда, IL-2 [25]. За последнее время несколько пептидных вакцин против меланомы прошли разные фазы клинических испытаний. Во время III фазы рандомизированных испытаний с участием 185 пациентов была исследована пептидная вакцина gp100:209-217 [25]. Было показано, что совместное использование gp100:209-217(210M) и IL-2 в сравнении с применением одного IL-2 значительно улучшает терапевтический эффект (16% против 6%) и выживаемость без прогрессирования опухоли (2,2 мес. против 1,6 мес.) [25].

Другая пептидная вакцина, состоящая из цитотоксических (CTL) и хелперных (Th) эпитопов нескольких антигенов, включая антигены дифференцировки меланоцитов (тирозидаза и gp100) и раково-тестикулярные антигены (MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A10 и NY-ESO-1), прошла в США II фазу клинических испытаний. Полученные результаты показали, что все исследованные режимы вакцинации с использованием пептидов, содержащих CTL- или Th-эпитопы вызывали индукцию иммунного ответа лишь у менее чем 50% пациентов. В то же время, была выявлена сильная статистически значимая связь между выживанием и ответом Th-лимфоцитов на вакцину, содержащую смесь шести Th-пептидов. Эти данные свидетельствуют о том, что ответ Th-лимфоцитов на присутствие антигенов меланомы имеет клиническое значение и заслуживает дальнейшего изучения, связанного с использованием комбинаций различных вакцинных препаратов или адьювантов [24].

По сравнению с другими типами противораковых вакцин пептидные вакцины обладают рядом преимуществ. Производство пептидов в больших масштабах не связано с высокими затратами. Пептиды не требуют особых условий хранения; их характеристика и анализ чистоты не представляют проблем, что упрощает контроль их качества. Однако в сфере использования пептидных

вакцин существуют и недостатки, и ограничения. Это низкая иммуногенность индивидуальных пептидов, а также сложности в обеспечении соответствия пептидов рестрикции антигенам HLA пациента [23].

Вакцины на основе полноразмерных раковых антигенов и искусственных иммуногенов

В последнее время активное развитие получило направление по созданию вакцин на основе генетических конструкций, кодирующих опухолевые антигены. Суть данного подхода заключается в доставке гена, кодирующего целевой иммуноген, с помощью плазмидного или вирусного вектора в клетки, после чего в них происходит синтез соответствующего опухолевого белка-антигена, его процессинг с образованием отдельных пептидных фрагментов и представление их в комплексе с молекулами HLA I класса. Затем сформировавшиеся комплексы распознаются предшественниками CTL [26], что в конечном счете приводит к формированию специфических Т-клеток-эффекторов (CD8+CTL), способных распознавать и уничтожать раковые клетки.

Стратегия доставки целевых иммуногенов с помощью вирусных векторов основана на использовании вирусов, имеющих дефект в системе репликации. В качестве таких векторов используются ортопоксвирусы, аденовирусы, вирус герпеса, а также ретро- и лентивирусы. Рекомбинантные вакцины, сконструированные на основе вирусов, имеют более высокий иммуногенный потенциал, чем вакцины, полученные с использованием ДНК-плазмидных векторов [27].

Основная проблема применения рекомбинантных вирусов в качестве векторов доставки опухолевых антигенов связана с наличием предсуществующего или генерированного иммунитета к самому вектору. Это особенно важно при повторных иммунизациях. Выходом из положения является использование «голой» (плазмидной) ДНК. Плазмидные векторы имеют ряд преимуществ перед вирусными: это прежде всего отсутствие опасности инфицирования, более простая и экономичная технология производства вакцин и упрощенные требования к условиям их хранения.

В настоящее время на стадии доклинических и клинических испытаний находятся несколько десятков ДНК-вакцин против меланомы. Эффективность таких вакцин иллюстрируют следующие исследования. Иммунизация мышей ксеногенной ДНК-вакциной, кодирующей TYRP1, TRP-2 или gp100, привела к отсутствию роста перевиваемой

мышинной меланомы B16 в сингенной системе [28]. При прохождении I и II фазы исследований плазмидной ДНК-вакцины Synchrotope MA2M, кодирующей эпитопы Melan-A (MART-1) и тирозиназы, у пациентов с IV стадией меланомы наблюдалась активация как гуморального, так и клеточного иммунного ответа [29].

Противоопухолевая активность ДНК-вакцин в значительной степени зависит от того, какой иммуноген они кодируют. Это могут быть как нативные раковые антигены, так и искусственные полиэпитопные иммуногены. В последнем случае иммуногенная и противоопухолевая активность ДНК-вакцины зависит от выбора эпитопов (их HLA-рестрикции и аффинитета к молекулам HLA I класса) [30].

Успешная полиэпитопная вакцина должна индуцировать Т-клеточный иммунный ответ на множество опухоль-специфических антигенов. Создание такой вакцины возможно на платформе искусственных полиэпитопных иммуногенов с использованием методов биоинформатики и биотехнологии [30, 31].

Искусственные полиэпитопные антигены обладают следующими преимуществами:

- не содержат полноразмерных молекулярных структур, которые могут ингибировать формирование протективного иммунитета или стимулировать развитие аутоиммунных реакций;
- могут содержать большое количество CTL- и Th- эпитопов раковых антигенов;
- могут быть спроектированы с учетом либо распространенности различных алломорф молекул HLA I класса в человеческой популяции, либо генетических особенностей конкретного пациента;
- могут быть сконструированы так, чтобы максимизировать эффективность процессинга и презентации целевых эпитопов [30].

В настоящее время искусственные полиэпитопные вакцины разрабатываются в основном для лечения инфекционных заболеваний, в первую очередь ВИЧ-инфекции и гепатита С, традиционные подходы к которому оказались несостоятельными. В последнее время такие вакцины начинают рассматриваться и как средства терапии онкологических заболеваний, в том числе меланомы [32]. Показано, что ДНК-вакцинные конструкции, кодирующие полиэпитопные иммуногены меланомы, не только вызывают продукцию искусственных антигенов в трансфицированных клетках, но и индуцируют Т-клеточный ответ на множественные эпитопы в системах *in vitro* и *in vivo* [33].

Обнадешивающие результаты были получены при исследовании ДНК-вакцины против меланомы Synchrovax SEM, кодирующей полиэпитопный Т-клеточный иммуноген, состоящий из эпитопов антигена Melan-A/MART-1 (26-35 и 31-70) и тирозиназы (1-9 и 369-377). Вакцина не вызвала иммунный ответ на тирозиназу, но индуцировала Melan-A/MART-1-специфический ответ, величина которого коррелировала с выживанием у всех пациентов с меланомой IV стадии [34].

Таким образом, ДНК-вакцины обладают рядом преимуществ, которые позволяют считать соответствующую вакцинацию перспективным иммунотерапевтическим подходом.

Дендритно-клеточные вакцины

ДК обладают специальными механизмами, обеспечивающими захват, процессинг и презентацию чужеродных антигенов Т-лимфоцитам CD4+ и CD8+ в комплексе с молекулами HLA I и II классов. Поэтому ДК, нагруженные опухолевыми антигенами, могут служить для усиления индукции Т-клеточного ответа и быть основой для создания противоопухолевых вакцин. Все этапы выделения, обработки антигена и загрузки им ДК проводятся вне организма человека (*ex vivo*) [35].

К настоящему времени разработаны методы получения больших количеств ДК из их предшественников – моноцитов или клеток CD34+. Получение дендритных клеток в больших количествах *in vitro* стало возможно благодаря использованию цитокинового «коктейля» (как правило, GM-CSF и IL-4), который обеспечивает созревание и дифференцировку мононуклеарных клеток периферической крови. Полученные таким образом ДК нагружают опухолевыми антигенами *in vitro* и после созревания *ex vivo* вводят в организм пациента [35].

В качестве антигенов могут быть использованы лизаты опухолей, экстракты опухолевых белков, синтетические пептиды, а также рекомбинантные белки и полиэпитопные иммуногены, кодируемые в составе молекул РНК, ДНК-плазмид и вирусных векторов. Вакцины на основе использования ДК могут индуцировать противоопухолевый иммунный ответ даже у людей на поздней стадии опухолевого процесса [36].

Сегодня клинические исследования безопасности и эффективности различных типов ДК-вакцин проведены у пациентов с некоторыми онкологическими заболеваниями, в том числе и меланомой. Безопасность использования вакцин на основе ДК была показана в I фазе клинических

испытаний ряда противоопухолевых вакцин [37]. При этом иногда наблюдались незначительные побочные эффекты в виде лихорадки, местных реакций, аденопатии и усталости [38].

В 2010 г. FDA одобрило первую ДК-вакцину – Sipuleucel-T – для лечения рака простаты [39]. Были проведены I и II фазы клинических испытаний ДК-вакцины у пациентов с IV стадией меланомы. При этом использовали аутологичные ДК, нагруженные коктейлем из пяти синтетических ассоциированных с меланомой антигенов (gp100, тирозиназа, MAGE-A2, MAGE-A3 плюс MART-1 или MAGE-A1), рестриктированных молекулами HLA-A2 или HLA-A24 [40]. Вакцина вызывала клинический ответ и увеличивала общую выживаемость до 13,6 мес. против 7,3 мес. в контроле.

Несмотря на безопасность и высокую иммуногенность ДК-вакцин *in vivo*, их клинический эффект по-прежнему остается неоправданно низким [38]. Этот феномен, возможно, зависит от нескольких причин, в том числе от типа ДК, стадии их созревания, типа антигена, а также от дозы, частоты и способа введения ДК [41].

В России, в РОНЦ им. Н.Н. Блохина, допущена до II фазы клинических испытаний «дендритная» вакцина против меланомы, приготовленная на основе аутологичных ДК, нагруженных опухолевым лизатом *in vitro*. В ходе I фазы испытаний была доказана безопасность и хорошая переносимость препарата при лечении метастатической меланомы. Дендритная вакцина у значительной части больных вызывала развитие противоопухолевого иммунного ответа, который благоприятно сказывался на клиническом течении заболевания и способствовал увеличению общей выживаемости пациентов [19, 42].

Привлекательной является технология создания ДК-вакцин *in vivo*, основанная на доставке опухолевых антигенов к ДК в составе молекул РНК, упакованных в липосомы. Введенные внутривенно, такие наночастицы-липоплексы доставляют опухолевые антигены непосредственно к АПК, что в результате приводит к индукции специфического Т-клеточного иммунного ответа макроорганизма и синтезу ключевых цитокинов [43].

Вакцины на основе неоантигенов

В настоящее время значимость Т-клеток в контроле широкого набора раковых заболеваний человека не вызывает сомнений. Тем не менее, природа антигенов, которые позволяют иммунной системе отличать раковые клетки от нераковых долгое время оставалась неясной. Последние до-

стижения в этой области позволили выявить опухоль-специфические иммунореактивные неоантигены, которые появляются в результате генных мутаций [44, 45]. Эти антигены могут служить в качестве биомаркеров для разработки новых терапевтических подходов. Однако их использование в качестве вакцин затруднено тем, что набор мутаций, приводящих к образованию неоантигенов, уникален для каждого пациента.

Дело в том, что одной из проблем, препятствующих созданию противоопухолевых вакцин, является иммунологическая толерантность организма к опухоли, связанная с тем, что опухолевые антигены, используемые для вакцинации, являются собственными белками организма и Т-клетки с высокоаффинными рецепторами, распознающие эти антигены, могли быть удалены тимусом при негативной селекции. Преодоление этой проблемы становится возможным благодаря новым данным, согласно которым у онкологических пациентов были выявлены опухоль-специфические иммунореактивные неоантигены, возникающие в результате генных мутаций в клетках опухолей [44, 45]. Эти неоантигены являются идеальными мишенями для иммунотерапии рака, поскольку они не продуцируются в здоровых тканях и потенциально могут распознаваться репертуаром зрелых Т-клеток. Следовательно, такие антигены могут быть использованы в качестве биомаркеров для разработки новых терапевтических подходов, в том числе для создания вакцин, которые избирательно усиливают реактивность Т-клеток против этого класса антигенов. С помощью методов биоинформатики в последовательностях неоантигенов были предсказаны пептиды (эпитопы), рестриктированные молекулами HLA II класса и содержащие иммуногенные мутации, способствующие стимуляции CD4+ Т-лимфоцитов. С использованием предсказанных эпитопов была спроектирована синтетическая полинеоэпитоп-кодирующая мРНК-вакцина, которая индуцировала полный контроль и подавление растущей опухоли у иммунизированных мышей [45].

Однако применение таких вакцин затруднено вследствие того, что опухоль у каждого пациента обладает уникальным набором мутаций. Предполагается, что распознавание таких неоантигенов цитотоксическими Т-лимфоцитами может быть одним из механизмов выявления репертуара основных онкологических неоэпитопных мишеней, перспективных для конструирования персонализированных противоопухолевых вакцин.

Недавно был предложен персонализированный подход к иммунотерапии на основе определения полного спектра индивидуальных опухолевых-специфических мутаций [46].

Таким образом, исследования последних лет убедительно демонстрируют тот факт, что разработка современных подходов к вакцинотерапии злокачественных опухолей является актуальным направлением в лечении онкологических заболеваний. Проводится поиск новых мишеней для воздействия эффекторов иммунитета. С помощью методов биоинформатики и современной биотехнологии разрабатываются новые подходы к созданию вакцинных конструкций и эффективные системы доставки лекарственных форм, обеспечивающие формирование максимального уровня иммунного ответа. Проводятся масштабные клинические испытания. Текущий этап исследований характеризуется интенсивным накоплением новых знаний, что позволяет надеяться на появление новых вакцинных препаратов, способных повысить результативность лечения больных меланомой.

Работа выполнена при финансовой поддержке ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу», государственный контракт № 14.N08.12.0067.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arenberger P., Arenbergerova M., Gkalpakiotis S., et al. Multimarker real-time reverse transcription-PCR for quantitative detection of melanoma-associated antigens: A novel possible staging method. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereology*, 2008, 22(1), 56–64. doi: 10.1111/j.1468-3083.2007.02329.x
2. Мазуренко Н., Цыганова И., Лушникова А., и др. Спектр мутаций онкогенов различается в субтипах меланомы кожи. *Молекулярная биология*, 2015, 49(6). 1022–1029. doi: 10.7868/S0026898415060166
3. Hodi F.S., O'Day S.J., McDermott D.F., et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *New Eng. J. Medicine*, 2010, 363(8), 711–723. doi: 10.1056/NEJMoa1003466
4. Robert C., Ribas A., Wolchok J.D., et al. Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: A randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial. *Lancet*, 2014, 384(9948), 1109–1117. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60958-2
5. Klein O., Clements A., Menzies A.M., et al. BRAF inhibitor activity in V600R metastatic melanoma. *Eur. J. Cancer*, 2013, 49(5), 1073–1079. doi: 10.1016/j.ejca.2013.02.010
6. Trudel S., Odolczyk N., Dremaux J., et al. The clinical response to vemurafenib in a patient with a rare BRAF-V600DK601del mutation-positive melanoma. *BMC Cancer*, 2014, 14(1). doi: 10.1186/1471-2407-14-727
7. Flaherty K.T., Robert C., Hersey P., et al. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *New Eng. J. Medicine*, 2012, 367(2), 107–114. doi: 10.1056/NEJMoa1203421
8. Jung S.H., Lee H.J., Vo M.C., et al. Immunotherapy for the treatment of multiple myeloma. *Critical Rev. Oncology/Hematology*, 2017, 111, 87–93. doi: 10.1016/j.critrevonc.2017.01.011
9. Martin-Liberal J., Ochoa de Olza M., Hierro C., et al. The expanding role of immunotherapy. *Cancer Treatment Rev.*, 2017, 54, 74–86. doi: 10.1016/j.ctrv.2017.01.008
10. Halama N., Jaeger D., Zoernig I. Advanced malignant melanoma: Immunologic and multimodal therapeutic strategies. *J. Oncology*, 2010. doi: 10.1155/2010/689893
11. Aris M., Zubieta M. R., Colombo M., et al. MART-1- and gp100-expressing and-non-expressing melanoma cells are equally proliferative in tumors and clonogenic in vitro. *J. Investigative Dermatology*, 2012, 132(2), 365–374. doi: 10.1038/jid.2011.312
12. Srivatsan S., Patel J.M., Bozeman E.N., et al. Allogeneic tumor cell vaccines: The promise and limitations in clinical trials. *Human vaccines Immunotherapeutics*, 2014, 10(1), 52–63. doi: 10.4161/hv.26568
13. Morton D.L., Eilber F.R., Holmes E.C., Ramming K.P. Preliminary results of a randomized trial of adjuvant immunotherapy in patients with malignant melanoma who have lymph node metastases. *Australian and New Zealand J. Surgery*, 1978, 48(1), 49–52. doi: 10.1111/j.1445-2197.1978.tb05804.x
14. Morton D.L., Barth A. Vaccine therapy for malignant melanoma. *Ca-A Cancer J.Clinicians*, 1996, 46(4), 225–244.
15. Lipson E.J., Sharfman W.H., Chen S., et al. Safety and immunologic correlates of Melanoma GVAX, a GM-CSF secreting allogeneic melanoma cell vaccine administered in the adjuvant setting. *J. Translational Medicine*, 2015, 13(1). doi: 10.1186/s12967-015-0572-3
16. Aris M., Barrio M.M. Combining immunotherapy with oncogene-targeted therapy: a new road for melanoma treatment. *Frontiers Immunology*, 2015, 6. doi: 10.3389/fimmu.2015.00046
17. Riker A.I., Rossi G.R., Masih P., et al. Combination immunotherapy for high-risk resected and metastatic melanoma patients. *Ochsner J.*, 2014, 14(2), 164–174.
18. Petricciani J., Koren E., Morton D. Analysis of the *in vivo* proliferative capacity of a whole cell cancer vaccine. *Biologicals*, 2016, 44(2), 60–63. doi: 10.1016/j.biologicals.2015.12.005

19. Михайлова И.Н. Стратегия создания цельноклеточных антимеланомных вакцин: автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра мед. наук. ФГБУ Российский онкологический научный центр имени Н.Н. Блохина, Москва, 2012.
20. Михайлова И.Н., Демидов Л.В., Барышников А.Ю., и др. Клинические испытания аутологичной вакцины на основе опухолевых клеток, модифицированных геном *tag-7*. *Сибирский онкологический журнал*, 2005. 1(13), 23–27.
21. Moiseyenko V.M., Danilov A.O., Baldueva I.A., et al. Phase I/II trial of gene therapy with autologous tumor cells modified with *tag7/PGRP-S* gene in patients with disseminated solid tumors. *Annals Oncology*, 2005, 16(1), 162–168. doi: 10.1093/annonc/mdi028
22. Sosman J.A., Sondak V.K. Melacine®: An allogeneic melanoma tumor cell lysate vaccine. *Expert Rev. Vaccines*, 2003, 2(3), 353–368. doi: 10.1586/14760584.2.3.353
23. Kumai T., Kobayashi H., Harabuchi Y., Celis E. Peptide vaccines in cancer – old concept revisited. *Current Opinion Immunology*, 2017, 45, 1–7. doi: 10.1016/j.coi.2016.11.001
24. Slingsluff Jr C.L., Lee S., Zhao F., et al. A randomized phase II trial of multiepitope vaccination with melanoma peptides for cytotoxic T cells and helper T cells for patients with metastatic melanoma (E1602). *Clinical Cancer Res.*, 2013, 19(15), 4228–4238. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0002
25. Schwartzentruer D.J., Lawson D.H., Richards J.M., et al. gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma. *New Eng. J. Medicine*, 2011, 364(22), 2119–2127. doi: 10.1056/NEJMoa1012863
26. Tiptiri-Kourpeti A., Spyridopoulou K., Pappa A., Chlichlia K. DNA vaccines to attack cancer: Strategies for improving immunogenicity and efficacy. *Pharmacology Therapeutics*, 2016, 165, 32–49. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.05.004
27. Emens L.A. Cancer vaccines: On the threshold of success. *Expert Opinion Emerging Drugs*, 2008, 13(2), 295–308. doi: 10.1517/14728214.13.2.295
28. Goldberg S.M., Bartido S.M., Gardner J.P., et al. Comparison of two cancer vaccines targeting tyrosinase: Plasmid DNA and recombinant alphavirus replicon particles. *Clinical Cancer Res.*, 2005, 11(22), 8114–8121. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1410
29. Tagawa S.T., Lee P., Snively J., et al. Phase I study of intranodal delivery of a plasmid DNA vaccine for patients with Stage IV melanoma. *Cancer*, 2003, 98(1), 144–154. doi: 10.1002/cncr.11462
30. Karpenko L.I., Bazhan S.I., Antonets D.V., Belyakov I.M. Novel approaches in polyepitope T-cell vaccine development against HIV-1. *Expert Rev. Vaccines*, 2014, 13(1), 155–173. doi: 10.1586/14760584.2014.861748
31. Antonets D.V., Bazhan S.I. PolyCTLDesigner: A computational tool for constructing polyepitope T-cell antigens. *BMC Res. Notes*, 2013, 6(1). doi: 10.1186/1756-0500-6-407
32. Назаркина Ж.К., Харькова М.В., Антонен Д.В., и др. Конструирование полиэпитопной днк-вакцины против клеток опухолей молочной железы и исследование ее экспрессии в дендритных клетках. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*, 2015, 160(10), 492–496.
33. Антонен Д.В., Бажан С.И., Ильичев А.А., и др. Искусственный ген MEL-TCI-A0201, кодирующий полиэпитопный белок-иммуноген MEL-TCI-A0201, рекомбинантная плазмидная ДНК pMEL-TCI-A0201, обеспечивающая экспрессию искусственного гена MEL-TCI-A0201 и искусственный белок-иммуноген MEL-TCI-A0201, содержащий множественные CTL- и Th-эпитопы антигенов меланомы. Патент РФ на изобретение. 2522830. 2014.
34. Weber J., Boswell W., Smith J., et al. Phase 1 trial of intranodal injection of a melan-A/MART-1 DNA plasmid vaccine in patients with stage IV melanoma. *J. Immunotherapy*, 2008, 31(2), 215–223. doi: 10.1097/CJI.0b013e3181611420
35. Anguille S., Smits E.L., Bryant C., et al. Dendritic Cells as Pharmacological Tools for Cancer Immunotherapy. *Pharmacological Reviews*, 2015, 67(4), 731–753. doi: 10.1124/pr.114.009456
36. Sabado R.L., Balan S., Bhardwaj N. Dendritic cell-based immunotherapy. *Cell Research*, 2016. 27(1), 74–95. doi: 10.1038/cr.2016.157
37. Draube A., Klein-González N., Mattheus S., et al. Dendritic cell based tumor vaccination in prostate and renal cell cancer: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*, 2011, 6(4). doi: 10.1371/journal.pone.0018801
38. Anguille S., Smits E. L., Lion E., et al. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy. *Lancet Oncology*, 2014, 15(7), e257–e267. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70585-0
39. Beer T.M., Bernstein G.T., Corman J.M., et al. Randomized trial of autologous cellular immunotherapy with sipuleucel-T in androgen-dependent prostate cancer. *Clinical Cancer Res.*, 2011, 17(13), 4558–4567. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3223
40. Oshita C., Takikawa M., Kume A., et al. Dendritic cell-based vaccination in metastatic melanoma patients: Phase II clinical trial. *Oncology Reports*, 2012, 28(4), 1131–1138. doi: 10.3892/or.2012.1956
41. Van Lint S., Wilgenhof S., Heirman C., et al. Optimized dendritic cell-based immunotherapy for melanoma: The TriMix-formula. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 2014, 63(9), 959–967. doi: 10.1007/s00262-014-1558-3
42. Балдueva И.А., Новик А.В., Моисеенко В.М., и др. Клиническое исследование (II фаза) вакцины на основе аутологичных дендритных клеток с иммунологическим адьювантом у больных с меланомой кожи. *Вопросы онкологии*, 2012, 58(2), 212–221.
43. Kranz L.M., Diken M., Haas H., et al. Systemic RNA delivery to dendritic cells exploits antiviral defence for cancer immunotherapy. *Nature*, 2016, 534(7607), 396–401. doi: 10.1038/nature18300

44. Schumacher T.N., Schreiber R.D. Neoantigens in cancer immunotherapy. *Science*, 2015, 348(6230), 69–74. doi: 10.1126/science.aaa4971
45. Kreiter S., Vormehr M., Van De Roemer N., et al. Mutant MHC class II epitopes drive therapeutic immune responses to cancer. *Nature*, 2015, 520(7549), 692–696. doi: 10.1038/nature14426
46. Vormehr M., Diken M., Boegel S., et al. Mutanome directed cancer immunotherapy. *Current Opinion in Immunology*, 2016, 39, 14–22. doi: 10.1016/j.coi.2015.12.001

Therapeutic Vaccines against Melanoma

E.V. STAROSTINA¹, E.A. BOROBOVA^{1,2,*}, L.I. KARPENKO¹, A.A. ILYICHEV¹, and S.I. BAZHAN¹

¹The State Research Center for Virology and Biotechnology Vector, 630559, Kol'tsovo, Novosibirskaya Oblast Russia

²The Meshalkin Siberian Federal Biomedical Research Center, 630055, Novosibirsk Russia

e-mail: borobova-elena@rambler.ru*

Received April 17, 2017

Accepted May 31, 2017

Abstract—Melanoma is the most aggressive and dangerous skin cancer. The effectiveness of the melanoma treatment is low due to the early metastasis and resistance to the conventional therapy. Melanoma is high immunogenic tumor owing to the presence of the cancer antigens on the cell surface. It gives hope for the creation of an effective therapeutic vaccine or the development of effective immunotherapeutic strategy using the latest achievements in molecular immunology and cell technologies. The individual cancer antigens and whole tumor cells can be used for the design of anti-melanoma vaccines. DNA vaccines are a very attractive direction in the immunotherapy of melanoma. Since these strategies have shown encouraging results in clinical trials, the review focuses on various approaches to the development of therapeutic melanoma vaccines.

Key words: melanoma, therapeutic vaccines, cellular vaccines, peptide vaccines, DNA vaccines, polyepitope vaccines, neoantigen-based vaccines.

Acknowledgments—The work was supported by the Federal Program «Development of the Pharmaceutical and Medical Industry of the Russian Federation for the Period until 2020 and beyond», Contract No. 14.N08.12.0067.

doi: 10.21519/0234-2758-2017-33-6-04-11