



М.М. Одинак¹, В.С. Чирский¹, Г.Н. Бисага¹, И.А. Балдуева², В.М. Моисеенко², Т.П. Нехаева²,
Н.М. Калинина³, Н.И. Давыдова³, Н.В. Бычкова³, К. Чумаш⁴

¹ Военно-медицинская академия им. СМ. Кирова, Санкт-Петербург

² НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург

³ Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова,
Санкт-Петербург

⁴ Центр по исследованию эпилепсии, Лион, Франция

АУТОГЕННЫЕ IL-10 МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ В ИММУНОТЕРАПИИ РАССЕЯННОГО СКЛЕРОЗА: ПЕРВЫЙ КЛИНИЧЕСКИЙ ОПЫТ

Резюме

Проблема поиска методов эффективной терапии рассеянного склероза (РС), наиболее часто встречающегося демиелинизирующего заболевания центральной нервной системы, поражающего преимущественно лиц молодого трудоспособного возраста и быстро приводящего их к инвалидизации, остается чрезвычайно актуальной. Накопленные экспериментальные данные, а также опыт клинического применения дендритных клеток (ДК) в онкологии позволили начать пилотное исследование - клиническое испытание I фазы по применению аутогенных IL-10-модифицированных ДК в иммунотерапии РС.

Мужчине, 46 лет, с вторично-прогрессирующим течением заболевания, у которого предшествующее комбинированное лечение, включавшее как специфическую стандартную иммунотерапию копаксоном, так и курсы неспецифической антиоксидантно-нейропротективной и кортикостероидной терапии, оказалось неэффективным, был проведен курс экспериментальной иммунотерапии. Под кожу в область спины однократно, а затем через 4 мес. трехкратно с месячным интервалом вводилась смесь аутогенных IL-10-модифицированных ДК в дозе 3×10^6 клеток. Первые результаты показали, что при отсутствии каких-либо местных побочных реакций ответ иммунной системы на введение культуры этих клеток был достаточно сложным, с участием Т- и В-клеточных звеньев. Наиболее значимым было снижение титра антител к основному белку миелина, которое вместе с увеличением в периферической крови количества регуляторных Т-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+CD127^-$) может расцениваться как проявление формирования у больного иммуно-толерантности к этому белку. Однако значимого изменения общеклинического и неврологического статуса у данного больного после проведения курса инъекций аутогенных



IL-10-модифицированных ДК не произошло. Полученные данные позволяют считать целесообразным дальнейшее проведение клинического испытания предложенного метода иммунотерапии с целью определения его переносимости, безопасности и механизмов действия ДК на организм больных РС.

Ключевые слова

Рассеянный склероз, дендритные клетки, иммунотолерантность.



M.M. Odinak, V.S. Chirsky, G.N. Bisaga, L.A. Baldueva², V.M. Moiseenko², T.L. Nekhaeva²,
N.M. Kalinina³, N.I. Davydova³, N.V. Bychkova³, C. Ciumas⁴

¹ S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg

² N.N. Petrov Research Institute of Oncology, Saint Petersburg

³ Nikiforov Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Saint Petersburg

⁴ Epilepsy Research Center, Lyon, France

AUTOGENIC IL-10 MODIFIED DENDRITIC CELLS IN IMMUNE THERAPY OF MULTIPLE SCLEROSIS: THE FIRST CLINICAL EXPERIENCE

Abstract

The search of effective therapy for multiple sclerosis (MS) that is the most common demyelinating disorder of the central nervous system affecting young people leading to their disability is still actual. The cumulative data as well as clinical experience of dendritic cells (DCs) usage in oncology facilitated a pilot investigation - a clinical study of the I phase of autogenic IL-10 modified DCs usage in immune therapy of MS.

A course of experimental immune therapy was given to a 46 year old man with secondary progressive MS who had failed to respond to combined treatment including specific standard immune therapy with Copaxone and nonspecific antioxidant neuroprotective and corticosteroid therapy. A single dose of autogenic IL-10 modified dendritic cells in the amount of 3×10^6 was injected subcutaneously into the patient's back and was thrice-repeated in 4 months at successive intervals of a month. The first results showed that in the absence of any local side effects the immune system response to the administration of these cells was rather complex with the participation of T- and B- cells. The decline of the antibody titres to myelin basic protein was most significant that can be considered as an evidence of formation of immune tolerance to this protein along with relative and absolute increase of a peripheral blood regulatory T-lymphocytes ($CD4^+CD25^+CD127^-$) number. However, relevant alterations of the patient's clinical and neurologic status did not occur after the course of autogenic IL-10 modified DCs had been given. The data received allow to consider further investigations of the proposed method of specific immune therapy appropriate in order to assess its tolerance, safety and mechanisms of DCs effects on patients with MS.

Key words

Multiple sclerosis, dendritic cells, immune tolerance.



Введение

Рассеянный склероз (РС) — самое распространенное демиелинизирующее заболевание центральной нервной системы, поражающее преимущественно лиц молодого трудоспособного возраста и быстро приводящее к инвалидизации. По распространенности среди всех форм неврологической патологии РС занимает четвертое место после церебральных инсультов, эпилепсии и паркинсонизма, а среди лиц молодого возраста прочно занимает второе место сразу после эпилепсии. В настоящее время в мире насчитывается более 2 млн больных РС, в том числе в России их более 220 тыс. [1].

РС является мультифакторным заболеванием, развитие которого обусловлено взаимодействием факторов внешней среды, вероятно, вирусной природы, и наследственной предрасположенности, реализуемой полигенной системой, включающей особенности иммунного ответа и определенный тип нейрометаболизма [2].

Основу патогенеза РС составляет аутоиммунная агрессия на антигенные структуры центральной нервной системы (ЦНС), прежде всего, на основные белки и гликолипопротеиды миелина, «изолирующего» аксональные структуры и обеспечивающего проведение нейрональных импульсов. Результатом этой агрессии, сопровождающейся изменениями клеточного и гуморального звеньев иммунитета, становится формирование в ЦНС очагов демиелинизации, т.н. бляшек. Данные изменения обуславливают развитие очаговых неврологических расстройств, характерных для РС. Важно отметить, что одновременно с процессом демиелинизации по краям бляшки в ряде случаев могут идти процессы ремиелинизации, обуславливающие ремиттирующее течение заболевания, однако, чаще всего они выражены незначительно и восстановление миелиновой оболочки по интенсивности и скорости несопоставимо с ее распадом. Запущенные патологические процессы крайне редко самостоятельно поддаются обратному развитию, приводя к стойкой инвалидизации больных молодого возраста, что, учитывая высокую частоту заболеваемости, становится в настоящее время существенной медицинской и социальной проблемой [3].

Значимость проблемы РС усугубляется недостаточной эффективностью всех известных на сегодняшний день методов его лечения. Используемая иммуномодулирующая терапия отличается очень высокой стоимостью, необходимостью длительного (практически постоянного) ее применения и эффективна менее чем у половины больных РС. Все это обуславливает потребность в поиске новых более действенных методов лечения [4], одним из которых может стать использование для терапии РС дендритных клеток (ДК).



ДК — специализированные мигрирующие антигенпредставляющие клетки, обладающие свойством модуляции направления созревания Т-лимфоцитов и, соответственно, играющие активную роль в формировании иммунного ответа.

В настоящее время основной целью исследований ДК является создание клеточных вакцин, способных корректировать иммунный статус как у больных со злокачественными опухолями, так и аутоиммунными заболеваниями. Итогом этих исследований стало: накопление свидетельств о вовлечении ДК в процесс формирования периферической Т-клеточной толерантности; появление технических возможностей генерации *in vitro* большого числа толерогенных ДК; понимание основных механизмов иммунной толерантности, индуцированной ДК [5]. Все это, а также применение ДК-вакцин в онкологии позволило начать клинические исследования, основной целью которых стала оценка возможности и эффективности применения ДК в терапии РС, как одного из аутоиммунных заболеваний [6].

Определение общей стратегии, а также детальная разработка протокола введения ДК больным РС были выполнены на основе опыта работы научной группы Х. Линка из департамента Neurotec Каролинского института (Стокгольм, Швеция) [5, 7] и отделения биотерапии и трансплантации костного мозга НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова (В.М. Моисеенко, И.А. Балдуева) [8—10].

Иммунотерапию РС было решено проводить аутогенными IL-10-модифицированными незрелыми ДК [11-13], способными подавлять иммунный ответ на антигены через уменьшение экспрессии костимулирующих молекул, интерферона гамма (IFN- γ), снижение выработки антител, формирование клонов регуляторных Т-клеток с супрессивной активностью (IL-10- или TGF- β -продуцирующих T γ 1- и Th3-клеток, CD4⁺CD25⁺ Т-клеток) [14-17].

Таким образом, в основу исследования легло положение о том, что нивелирование ДК иммунной агрессии на антигены миелина должно способствовать ремиссии заболевания, а при наличии процессов ремиелинизации — улучшению неврологического статуса больного.

Материал и методы

Под наблюдением находился больной Б., 46 лет, страдающий РС с февраля 1998 г. до июня 2000 г. отмечалось рецидивирующе-ремиттирующее течение заболевания, далее — вторично-прогрессирующее. Медленное прогрессирование заболевания, зарегистрированное с 2000 г. сопровождалось периодическими обострениями, которые купировались метипредом. С 2002 г. пациент находился под наблюдением в клинике нервных болезней Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Неоднократно (в среднем — 2 раза в год) получал курсы сосудорасширяющей (трентал), антиоксидантной (липовая кислота,



витамины группы В) и нейропротективной (церебролизин, ПК-мерц) терапии без явного положительного эффекта.

С ноября 2004 по октябрь 2008 г. проходил курс лечения специфическим препаратом для лечения РС копаксоном — без явного клинического эффекта (без снижения частоты обострений и скорости прогрессирования РС). При обострении пациент получал кортикостероиды (метипред) по 1000 мг в/в капельно в течение 5 суток с незначительным и нестойким положительным результатом. Степень тяжести заболевания перед включением в исследование — 6 баллов по шкале EDSS.

В 2007 г. больному на основании решения этического комитета Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова была рекомендована терапия IL-10-модифицированными незрелыми ДК.

Получение незрелых ДК

ДК выращивали из моноцитов периферической крови больного при 37°C, 5% CO₂ и 98% влажности в обогащенной бессывороточной среде для выращивания ДК (CellGro DC «Cell Genix», Германия) в присутствии стабильного содержания гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и IL-4 («Cell Genix», Германия) в течение 5 суток и IL-10 с 5 по 7-е сутки. Моноциты получали из адгезивной фракции мононуклеаров, выделенных в градиенте плотности фиколла-верографина «Lympholyte» («Cedarlane Lab. Ltd», Канада) (удельная плотность 1,077 г/см³) по методу A. Voym (1968).

Мононуклеары (3—4x10⁶/мл) помещали в культуральную среду «CellGro DC» с GM-CSF (800 U/ml), IL-4 (500 U/ml) и плоскодонные культуральные флаконы площадью 65 см² («Sarstedt», Германия). С целью предотвращения контаминации клеточных культур использовали пенициллин (50 ЕД/мл) и стрептомицин (50 мкг/мл). Наблюдение проводили за клетками, прикрепившимися в течение первых 2-х часов культивирования. Неприкрепившиеся клетки удаляли. На 5-е сутки добавляли IL-10 (конечная концентрация 10 нг/мл) и культивировали еще 2 дня для получения IL-10-модифицированных ДК.

Данная методика позволяла получать из 60 мл периферической крови 2,5—4x10⁶ незрелых ДК (CD11c⁺ HLA DR⁺ CD1a⁺ CD83⁺ CD83-CD80-) (рис. 1).

Иммуноцитохимическая характеристика ДК. Для иммуноцитохимической оценки полученных ДК проводили цитологическую и иммунологическую верификацию ДК, изучали тип роста клеток. ДК выращивали на стеклах, фиксировали с помощью абсолютного метанола, окрашивали моноклональными антителами к линейным антигенам миелоидных



клеток, моноцитов, Т- и В-лимфоцитов, НК-клеток, незрелых, зрелых и активированных ДК CCD11c, CD14, CD3, CD19, CD20, CD16, CD5B, HLADR, CD1a, CD83, CD8D («ДАКО» Дания, «Novocastra», Великобритания] с помощью непрямого иммуноцитохимического метода и системы визуализации «In vision» и «Novostain detection kit NCL-RTU-D» («ДАКО» Дания, «Novocastra», Великобритания).

Оценка стерильности полученной культуры ДК

Контроль стерильности проводили после приготовления вакцины по методике, изложенной в Сборнике инструкций, утвержденных приказом Минздрава СССР от 13.01.83 г. № 31. Культура ДК была стерильна.

Введение больному аутогенных ДК

Аутогенные ДК вводились больному вначале однократно (06.12.07 г.), затем, через 4 мес. После оценки индивидуальной реакции больного была выполнена серия из 3-х введений с интервалом 1 мес. (31.03.08 г., 29.04.08 г., 26.05.08 г.).

Перед введением больному ДК ($2,5\text{—}4 \times 10^6$) их отмывали в 0,9% растворе NaCl, центрифугировали (1000 об/мин, 10 мин) и вводили ex tempore по 0,3 мл паравертебрально в межлопаточную область в 3 точки на расстоянии 3 см с образованием «лимонной корочки». В четвертую точку (контрольную) вводили изотонический раствор NaCl с 10% раствором альбумина человека.

Оценка токсичности полученной культуры ДК

Контроль токсичности проводили в соответствии с критериями, рекомендованными ВОЗ. Основные жизненные параметры (общее состояние, пульс, АД) измеряли через 10, 30 и 60 мин после каждого введения культуры ДК. Особое внимание уделялось местным кожным реакциям, лихорадке, гастроинтестинальной и гематологической токсичности, а также функции печени, почек и нервной системы. Введенные ДК оказались безвредными и нетоксичными для больного.

Иммунологический мониторинг

Контроль за состоянием иммунной системы больного выполнялся посредством ее мониторингового наблюдения. Взятие крови проводили в день введения ДК, через 15 и 42 дня после введения, затем в день начала серии из 3-х введений ДК (116-й день от первого введения ДК) и далее через 42, 70 и 91 сутки после него (соответственно, на 158-е, 186-е и 235-е сутки от первого введения ДК).

Проводился анализ спонтанной и индуцированной продукции цитокинов, а также содержания их в сыворотке крови с использованием отечественных тест-систем, основанных на «сэндвич»-методе твердофазного иммуноферментного анализа с применением



пероксидазы хрена в качестве индикаторного фермента. Применялись тест-системы на IL-8, рецепторный антагонист интерлейкина 1 (IL-1ra) и IFN γ , производства ООО «Ци-токин», Санкт-Петербург, тест-системы на IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, фактор некроза опухоли α (TNF α) и интерферон α (IFN α) производства ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург. В качестве индукторов использовались РНА-Р (Sigma, США) в дозе 10 мкг/мл (IL-2, IL-4, IL-10, IFN γ), пирогенал в дозе 50 мкг/мл (TNF α , IL-1, IL-1ra, IL-8, IL-6), вирус болезни Ньюкастла с инфекционным титром 8 lg ЭИД/0,2 мл в объеме 10 мкл на лунку (IFN γ , IFN α).

Содержание иммуноглобулинов А, М, G в сыворотке крови анализировалось методом турбодиметрии.

С помощью иммуноферментного анализа определялось содержание в сыворотке крови фактора роста нервов (BDNF α) (Chemicon Int., США) и аутоантител к основному белку миелина (ОБМ) (ТОО «Навина», Москва).

Пролиферативная активность лимфоцитов периферической крови исследовалась в реакции бласттранс-формации в цельной крови с помощью ДНК-цитометрии с учетом результатов на проточном цитометре EPICS XL (Beckman—Coulter, США). В качестве митогенов применялись РНА-Р в концентрации 15 мкг/мл (преимущественно — Т-клеточный митоген) и митоген лаконоса в концентрации 5 мкг/мл (преимущественно — В-клеточный митоген). В качестве специфического антигена — основной белок миелина (Sigma, США).

Цитотоксическая активность натуральных киллерных клеток анализировалась на выделенных мононуклеарах с помощью ДНК-цитометрии с учетом результатов на проточном цитометре EPICS XL (Beckman—Coulter, США). В качестве клеток-мишеней были использованы клетки перевиваемой клеточной линии К-562.

Субпопуляционный состав лимфоцитов исследовался методом проточной цитометрии (Cytomics FC500, Beckman—Coulter, США) в цельной крови с использованием следующих моноклональных антител в многоцветном анализе: CD45, CD3/CD4/CD8, CD3/CD(16+56+), CD19/CD5, HLA DR, CD4/CD25/CD127, CD16/CD95 (Beckman-Coulter, США).

Результаты и обсуждение

Оценка влияния терапии ДК на клинические проявления РС с использованием стандартизированной шкалы оценки неврологического статуса (EDSS) и шкалы оценки функциональных систем (FS) Дж. Курцке (1983) не позволила выявить каких-либо значимых изменений в процессе пилотного исследования. В конце января 2008 г. во время острого респираторного заболевания пациента с умеренной гипертермией (до 37,5 $^{\circ}$ C) отмечено недолгое (до 2 нед.) обратимое повышение степени тяжести по EDSS до 6,5 баллов, что было



расценено как «псевдообострение». Данное состояние купировалось самостоятельно. Каких-либо токсических или других побочных эффектов терапии на организм пациента не выявлено. Местные умеренные кожные реакции (покраснение и зуд) регрессировали без лечения в течение 3-5 суток.

При оценке иммунологического статуса больного в динамике количество лейкоцитов в процессе наблюдения не выходило за границы нормативных значений. Относительное количество лимфоцитов колебалось в пределах нижних значений нормы, абсолютное — характеризовалось лимфопенией.

Во все сроки наблюдения относительное количество зрелых Т-лимфоцитов соответствовало норме, тогда как относительное количество Т-хелперов ($CD4^+$) превышало, а относительное количество цитотоксических ($CD8^+$) лимфоцитов было значимо ниже референтных значений. Как следствие, был увеличен иммунорегуляторный индекс (ИРИ).

Относительное количество «дубль»-позитивных Т-лимфоцитов ($CD4^+CD8^+$) в период наблюдения соответствовало норме.

Абсолютное и относительное количество регуляторных Т-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+CD127^-$) в процессе терапии аутогенными ИЛ-10-модифицированными ДК увеличилось более чем в 2,5 раза (рис. 2).

Относительное количество натуральных киллеров ($CD3^-CD16^+$), активированных НК-клеток ($CD3^-CD8^+$), количество Т-НК ($CD3^+CD16^+CD56^+$), оставаясь в пределах референтных значений, характеризовалось тенденцией к увеличению (рис. 3).

Относительное количество В-клеток не выходило за границы нормы и характеризовалось тенденцией к снижению, тогда как количество аутореактивных клонов В-лимфоцитов ($CD19^+CD5^+$), исходно соответствующее верхней границе нормы, к концу наблюдения увеличилось вдвое (рис. 4).

За время наблюдения отмечался высокий уровень содержания в сыворотке IgG. После первого введения культуры ДК наблюдалось повышение в сыворотке уровней IgA, IgM, IgG, возможно, связанное с респираторной вирусной инфекцией, имевшейся в тот период у больного. При серийном введении культуры ДК определялась тенденция к снижению уровня иммуноглобулинов до первоначальных значений (рис. 5).

Увеличенный уровень аутоантител к ОБМ класса М и соответствующий верхней границе нормы уровень аутоантител класса G на фоне введения культуры ДК снизились до значений популяционной нормы. Затем произошел их подъем, что также, возможно, связано с респираторной вирусной инфекцией. Серийное введение культуры ДК привело к



прогрессирующему снижению уровня аутоантител к ОБМ до значений популяционной нормы, сохранявшемуся и через 2 мес. после последнего введения культуры ДК (рис. 6).

Уровень продукции в головном мозге BDNF α , до начала ДК терапии был средневысоким. После первого введения культуры ДК в течение 4 мес. отмечалось нарастание его продукции.

Серийное введение культуры ДК сопровождалось колебаниями его продукции от высокой до умеренной степени (рис. 7).

Пролиферативный ответ в трехсуточной реакции бласттрансформации на ФГА (фитогемагглютинин), преимущественно действующий на Т-лимфоциты, характеризовался тенденцией к снижению. К концу наблюдения он уменьшился почти в 2 раза, а ответ на PWM (митоген лаконоса), преимущественно влияющий на В-клетки, снизился почти в 6 раз (рис. 8).

Отмечалось повышение пролиферативного ответа лимфоцитов на ОБМ в 7-суточной культуре как после первого, так и после серийного введения ДК. Данный факт может быть косвенным свидетельством наличия в периферической крови пациента аутореактивного клона лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к ОБМ (рис. 9).

Имевшее место снижение спонтанной и индуцированной продукции IL-1 ρ сочеталось в ходе наблюдения с увеличением как спонтанной продукции, так и содержания в сыворотке IL-1 ρ a.

Сниженная индуцированная продукция INF α , не изменялась в процессе наблюдения. Спонтанная продукция и содержание в сыворотке INF γ , TNF α , характеризовались чередованием подъемов и снижений, тогда как индуцированная продукция этих цитокинов снижалась.

Увеличенный уровень спонтанной продукции и содержания в сыворотке IL-4 нормализовались к концу наблюдения. Увеличенный уровень спонтанной продукции IL-10 сочетался со снижением резервных возможностей синтеза и содержания в сыворотке этого цитокина (рис. 10).

Заключение

Таким образом, введение под кожу в область спины аутогенных IL-10-модифицированных ДК в дозе 3×10^6 не вызвало каких-либо побочных отрицательных реакций у больного с вторично-прогрессирующим течением РС.

Ответ иммунной системы на введение культуры этих клеток был достаточно разноплановым, с участием Т- и В-клеточных звеньев. При этом наиболее значимым стало снижение титра антител к ОБМ, которое вкуче с относительным и абсолютным увеличением



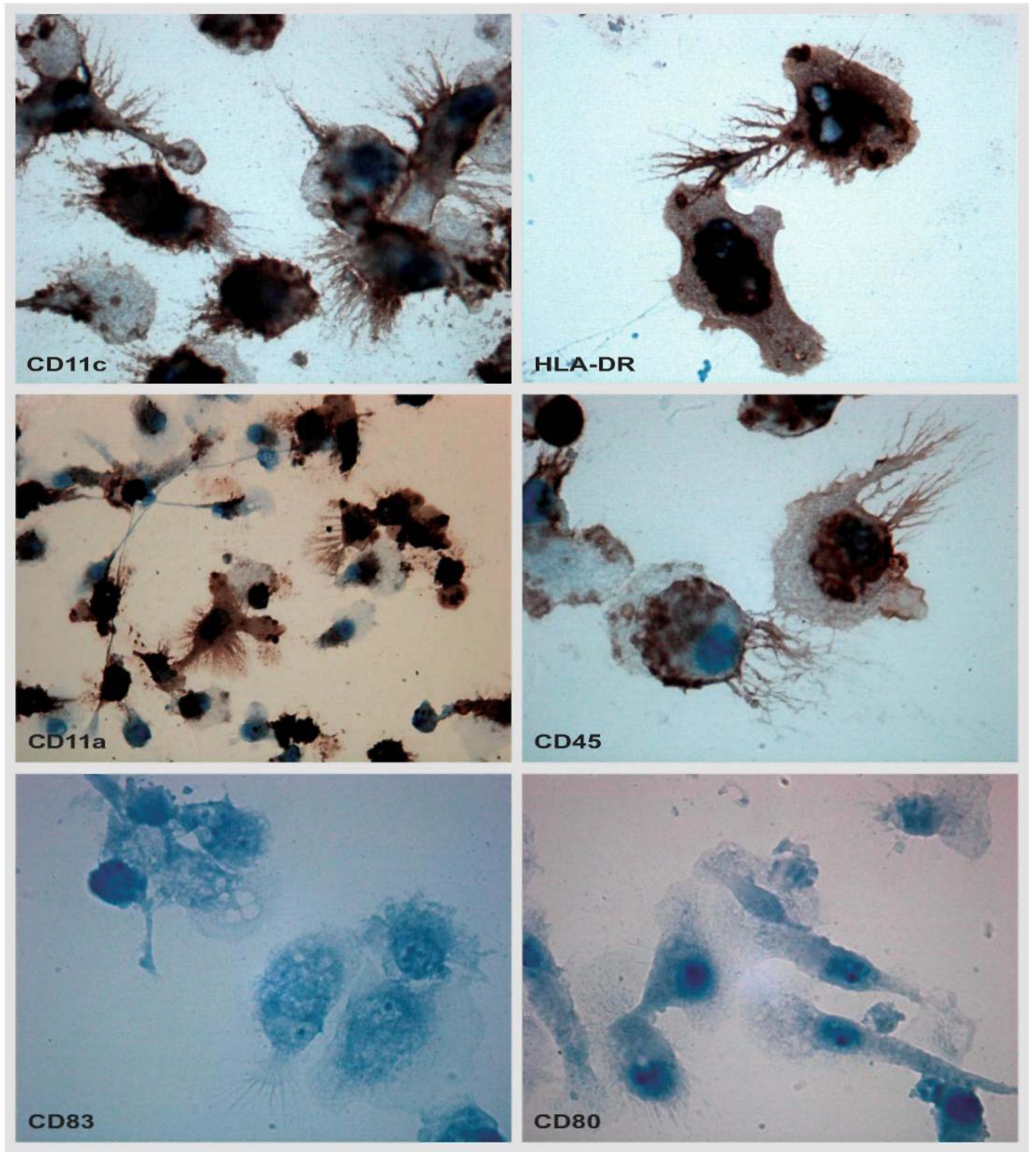
в периферической крови количества Т-регуляторных лимфоцитов [CD4⁺CD25⁺CD127⁻) может расцениваться как проявление формирования у больного иммунотолерантности к этому белку.

Кроме того, у больного появились признаки активации продукции факторов роста нервов, что позволяет в будущем надеяться на частичную ремиелинизацию очагов поражения ЦНС и, соответственно, восстановление некоторых утраченных функций.

Курс инъекций аутогенных IL-10-модифицированных ДК не привел к значимому изменению клинического и неврологического статуса у больного с вторично-прогрессирующим течением РС, также как и проводимые ранее другие виды терапии.

Полученные данные позволяют считать целесообразным дальнейшее проведение клинического испытания предложенного метода клеточной иммунотерапии с целью определения его переносимости, безопасности и эффективности в лечении больных РС.

Рис. 1. Иммунофенотип клеток полученной культуры



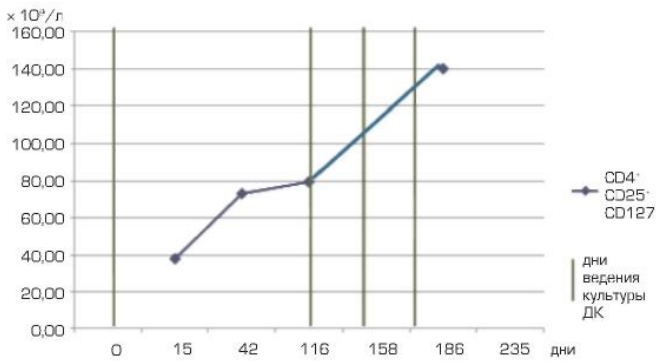


Рис. 2. Динамика числа Т-регуляторных лимфоцитов (CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻)

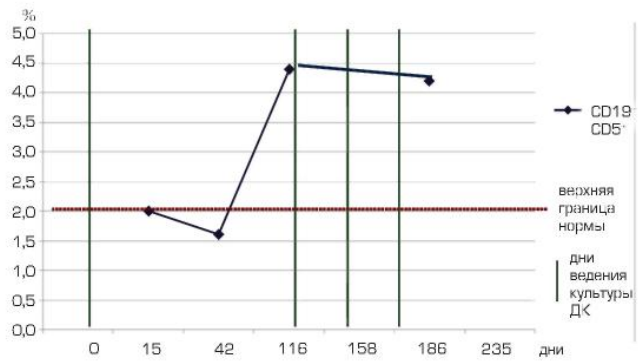


Рис. 4. Динамика относительных значений числа аутореактивных клонов В-лимфоцитов (CD19⁺ CD5⁺)

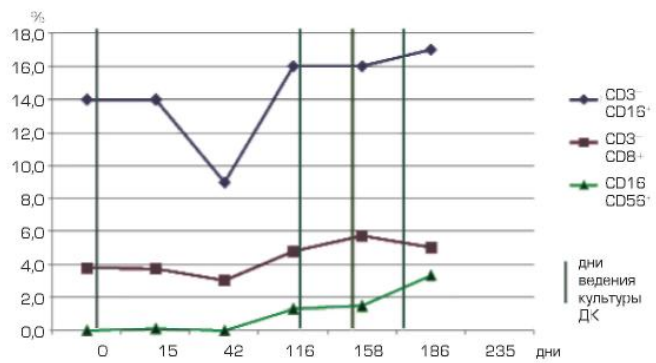


Рис. 3. Динамика относительного числа NK-клеток (CD3⁺ CD16⁺), активированных NK-клеток (CD3⁺ CD8⁺), T-NK-клеток (CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺)

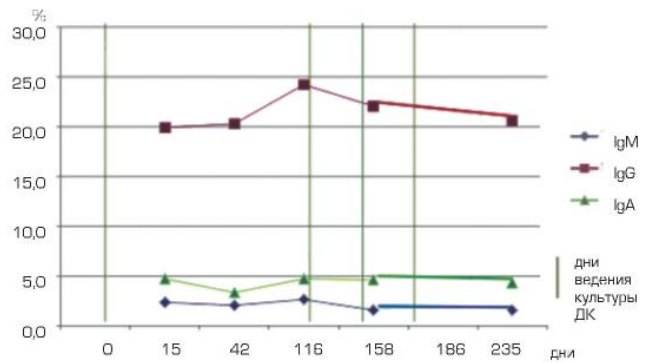


Рис. 5. Динамика содержания IgM, IgG и IgA в сыворотке крови

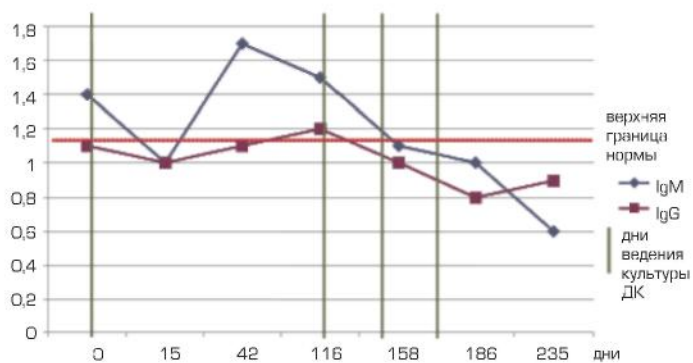


Рис. 6. Динамика уровней IgM и IgG к основному белку миелина

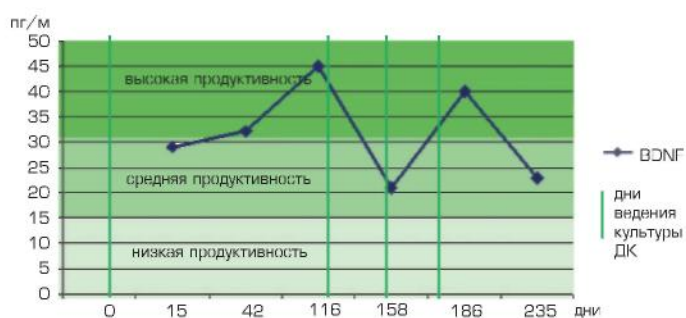


Рис. 7. Динамика уровня фактора роста нервов BDNF

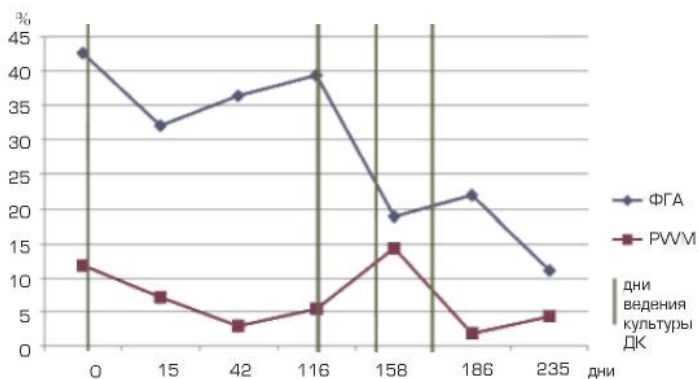


Рис. 8. Динамика пролиферативной активности лимфоцитов с митогенами

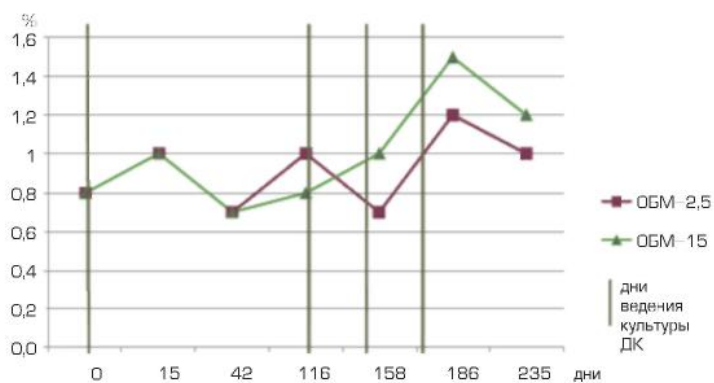


Рис. 9. Динамика пролиферативной активности лимфоцитов со специфическими антигенами



ЛИТЕРАТУРА:

1. Rosati G. The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol. Sci.* 2001; 22 (2): 117-39.
2. Hernandez M.A. Epidemiology of multiple sclerosis. Controversies and realities. *Rev. Neurol.* 2000; 30 (10): 959-64.
3. Trapp B.D., Peterson J., Ransohoff R.M. et al. Axonal transection in the lesions of multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 1998; 338 (5): 278-85.
4. Fox R.J., Cohen J.A. Multiple sclerosis: the importance of early recognition and treatment. *Cleve. Clin. J. Med.* 2001; 68: 157-71.
5. Xiao B.G., Huang Y.M., Link H. Tolerogenic Dendritic Cells: The Ins and Outs of Outcome *J. Immunother.* 2006; 29: 465-71.
6. Stuve O., Cravens P.D., Eagar T.N. DNA-based vaccines: the future of multiple sclerosis therapy? *Expert Rev. Neurother.* 2008; 8: 351—60.
7. Duan R.S., Link H., Xiao B.G. Long-term effects of IFN- γ , IL-10 and TGF- β -modulated dendritic cells on immune response in Lewis rats. *J. Clin. Immunol.* 2005; 25: 50-5.
8. Моисеенко В.М., Балдуева И.А., Орлова Р.В., Семенова А.И. Способ иммунотерапии костно-мозговыми дендритными клетками больных солидными опухолями. Авторское свидетельство на изобретение № 2203683.
9. Балдуева И.А. Противоопухолевые вакцины. *Практическая онкология* 2003; 3: 157-66.
10. Моисеенко В.М., Балдуева И.А., Данилова А.Б. и др. Шестилетний опыт вакцинотерапии злокачественных опухолей. *Мед. иммунология* 2004; (3-5): 458.
11. Steinbrink K., Wolf M., Jonuleit H. et al. Induction of tolerance by IL-10-treated dendritic cells. *J. Immunol.* 1997; 159: 4772-80.
12. Steinman R.M., Hawiger D., Nussenzweig M.C Tolerogenic dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 2003; 21: 685-711.
13. Lutz M.B., Schuler G. Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells: which signals induce tolerance or immunity? *Trends Immunol.* 2002; 23: 445-9.
14. Taams L.S., Akbar A.N. Peripheral generation and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Curr. Top Microbiol. Immunol.* 2005; 293: 115-31.



15. Serody J.S., Collins E.J., Tisch R.M. et al. T cell activity after dendritic cell vaccination is dependent on both the type of antigen and the mode of delivery. *J. Immunol.* 2000; 164: 4961-7.
16. Corinti S., Albanesi C, la Sala A. et al. Regulatory activity of autocrine IL-10 on dendritic cell functions. *J. Immunol.* 2001; 166: 4312-4318.
17. Rutella S., Bonanno G., Pierelli L. et al. Granulocyte colonystimulating factor promotes the generation of regulatory DC through induction of IL-10 and IFN-alpha. *Eur. J. Immunol.* 2004; 34: 1291-302.



Полный текст статьи:

Одинак М.М., Чирский В.С., Бисага Г.Н., Балдуева И.А., Моисеенко В.М., Нехаева Т.Л., Калинина Н.М., Давыдова Н.И., Бычкова Н.В., Чумаш К. Аутогенные PL-10-модифицированные дендритные клетки в иммунотерапии рассеянного склероза: первый клинический опыт // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2008. – №4. – С. 60-65.