

УДК 616-006.04

О.Л. Морозова,
д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии
ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России

В.В. Яковлев,
студент 3-го курса лечебного факультета
ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России

Н.А. Сушенцев,
студент 3-го курса лечебного факультета
ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова
Минздрава России

O.L. Morozova,
Doctor of Medical Sciences, Professor
at the Department of Pathophysiology, I.M. Sechenov
First Moscow State Medical University

V.V. Yakovlev,
3d year student, the Medical Faculty, I.M. Sechenov
First Moscow State Medical University

N.A. Sushentsev,
3d year student, the Medical Faculty, I.M. Sechenov
First Moscow State Medical University

ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПРОГРАММИРОВАНИЯ Т-КЛЕТОК В АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

PROSPECTIVES OF T-CELLS GENETIC PROGRAMMING IN ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANCIES

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ:

Морозова Ольга Леонидовна, д-р мед. наук, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России
Адрес: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2
Тел.: +7 (916) 532-54-81
e-mail: morozova_ol@list.ru
Статья поступила в редакцию: 19.05.2016
Статья принята к печати: 01.09.2016

CONTACT INFORMATION:

Olga Morozova, Doctor of Medical Sciences, Professor at the Department of Pathophysiology, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Address: 8/2, Trubetskaya str., Moscow, Russia, 119991
Tel.: +7 (916) 532-54-81
e-mail: morozova_ol@list.ru
The article received: May 19, 2016
The article approved for publication: September 1, 2016

Аннотация. В статье представлен обзор литературы, раскрывающий основные аспекты и области применения адоптивной Т-клеточной терапии злокачественных новообразований. Адоптивный Т-клеточный перенос позволяет излечивать метастатическую болезнь на поздних этапах прогрессирования некоторых опухолей, обладая рядом преимуществ по сравнению с классической противоопухолевой терапией. Особое внимание в обзоре уделяется возможности генетического программирования адоптивных клеток, которое повышает эффективность и безопасность лечения больных онкологического профиля. Кроме этого, рассматриваются основные проблемы введения данного метода в повседневную клиническую практику.

Abstract. The article reviews the literature on adoptive T-cell therapy of malignancies. Adoptive T-cell transfer allows treatment of metastatic disease on the late stages of certain tumors. The method has a number of advantages before traditional antitumor therapy. The special attention is paid to the possibility of adoptive cells genetic programming, which increases the treatment effectiveness and safety in cancer patients. The article also discusses the method introduction into clinical practice.

Ключевые слова. Адоптивная Т-клеточная терапия, иммуноонкология, противоопухолевая терапия, адоптивный клеточный перенос.

Keywords. Adoptive T-cell therapy, immunooncology, antitumor therapy, adoptive cell transfer.

ВВЕДЕНИЕ

По данным ВОЗ, онкологические заболевания являются одной из основных причин заболеваемости и смертности во всем мире: в 2012 г. зафиксировано около 14 млн новых случаев заболевания и 8,2 млн случаев смерти, связанных с раком. Ожидается, что за ближайшие 20 лет число новых случаев заболевания возрастет примерно на 70%, а число случаев заболевания злокачественными новообразованиями будет продолжать расти от 14 млн в 2012 г. до 22 миллионов в следующие десятилетия [1].

Несмотря на современные возможности диагностики, остро стоит проблема обнаружения на ранней стадии злокачественных образований у пациентов. Это объясняется рядом факторов, основным из которых является отсутствие ранних симптомов заболевания. А учитывая полиморфизм злокачественных опухолей, встает вопрос разработки новых методик их лечения.

Основной проблемой терапии больных онкологического профиля являются особенности воздействия опухолей на иммунную систему организма, которая проявляется в локальной и генерализированной иммуносупрессии, а также в избегании иммунного ответа. Такое положение вещей создает большое количество вопросов как в сфере иммунологии, так и в сфере онкологии. Так, исследования иммунологии злокачественных опухолей открывают множество новых иммунотерапевтических подходов к их лечению, таких как противоопухолевые вакцины, цитокиновая терапия, адоптивная клеточная иммунотерапия (адоптивный клеточный перенос NK-клеток, Т-клеток, ЛАК (лимфокин-активированных киллеров)).

На сегодняшний день адоптивная иммунотерапия успешно применяется в лечении некоторых злокачественных опухолей. При этом стоит заметить, что адоптивная иммунотерапия является методом не основного лечения, а скорее предупреждения развития рецидивов после радикальных хирургических операций. Однако Т-клеточная терапия давала хорошие результаты при лечении злокачественной меланомы в терминальной стадии у пациентов, резистентных к стандартным видам терапии. При этом достигалась не просто элиминация первичной опухоли, но и излечение от метастатической болезни, с длительным периодом ремиссии [2]. Именно поэтому Т-клеточная адоптивная иммунотерапия вызывает особый интерес как новый метод лечения злокачественных новообразований.

Опухолевые антигены и иммуногенность опухолей. Активацию и цитотоксическое действие Т-клеток стимулирует взаимодействие TCR (t-cell receptor) с антигеном. А так как лимфоциты экспрессируют лишь один вид рецептора, возникает необходи-

мость отбора лимфоцитов, специфичных к конкретным опухолевым антигенам.

Антигенный профиль опухолевой клетки изменяется пропорционально степени ее малигнизации. На ее поверхность выносятся ряд специфических антигенов, которые можно разделить на следующие группы [3]:

- раково-эмбриональные (онкофетальные) антигены (антигенные детерминанты, характерные для клеток эмбриона);
- онковирусные антигены (кодируются онкогенными вирусами);
- раково-тестикулярные опухолеассоциированные антигены (антигенные детерминанты белков, в норме транслируемых в клетках гонад);
- специфические опухолеассоциированные антигены (продукты мутантных генов, ассоциированных с конкретным опухолевым гистотипом);
- опухолевые антигены, измененные в посттрансляционный период (нехарактерные гликозилирование, конформация и т.п.);
- идиотипические антигены (определяют клонотип опухоли).

Следует отметить, что опухолевые антигены могут быть связаны с поверхностью опухолевой клетки, располагаться внутриклеточно, а также находиться в растворимой форме; в последнем случае они определяются в крови и серозных жидкостях [3].

Существует также деление опухолевых антигенов на опухолеспецифические — характерные для данного типа злокачественного новообразования, и опухоленеспецифические — возможность появления которых не зависит от конкретной опухоли и ее происхождения.

Следует указать, что белки — продукты мутантных генов обладают выраженной способностью связываться с молекулами МНС, образуя соответствующие комплексы, которые распознаются Т-лимфоцитами. Одна из важных особенностей опухолеспецифических антигенов состоит в том, что они сохраняют свою специфичность в течение опухолевого процесса, что позволяет рассматривать их как стабильные специфические мишени для иммунотерапевтических воздействий.

Злокачественная трансформация клетки во многих случаях сопровождается изменениями на уровне генома, что влияет на рост, дифференцировку и многие другие свойства опухолевых клеток. Однако изменения в геноме опухолевой клетки далеко не всегда сопровождается, во-первых, появлением новых продуктов таких измененных генов, а во-вторых, возможностью их выявления, что связано с общими трудностями выделения опухолевых антигенов, а соответственно и продуктов мутантных генов. Проблема определения стабильных опухолевых антигенов является ключевой в использовании иммунотерапевтических воздействий на малигнизированные клетки.

Роль CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов в реализации противоопухолевого ответа. CD4⁺ лимфоциты способны активировать и регулировать многие аспекты врожденного и адаптивного иммунитета, включая деятельность цитотоксических CD8⁺ лимфоцитов и В-клеток. Они также могут стимулировать АПК, которые рекрутируют дополнительные Т-лимфоциты и провоцируют активацию врожденного иммунитета [4].

Цитотоксические CD8⁺ лимфоциты уничтожают клетки-мишени с помощью двух механизмов. Они могут выделять токсичные белки *гранзимы*, которые в процессе эндцитоза формируют мультибелковые комплексы — *перфорины*. Перфорины формируют отверстия в мембране микровизукул, после чего гранзимы проникают в цитоплазму клетки, где активируют каспазы, индуцируя апоптоз. Кроме этого, Т-киллеры способны индуцировать апоптоз по FAS зависимому пути. Рецепторы FAS имеются на большинстве клеток человеческого организма. FasL, который находится на поверхности CD8⁺ лимфоцитов, связывается с этими рецепторами, активируя внешний путь апоптоза [4].

Зрелые дифференцированные CD8⁺ и некоторые виды CD4⁺ Т-клеток также секретируют интерферон- γ (IFN γ) и фактор некроза опухоли (TNF), которые усиливают иммунный ответ путем увеличения экспрессии молекул МНС I и МНС II как в резидентных антигенпрезентирующих клетках, так и в клетках самой опухоли, что облегчает распознавание опухолевых антигенов [4].

Иммунотерапия, основанная на АКП. Метод лечения, использующий трансплантацию клеточных популяций, модифицированных и экспансированных *ex vivo*, называют *адоптивной клеточной переносом* (АКП). При введении в организм, такие клетки способны инфильтрировать опухоль и провоцировать ее деструкцию. Необходимо отделять адоптивную терапию от других видов иммунотерапии, таких как противоопухолевые вакцины, которые нацелены на усиление иммунологической реактивности организма пациента. Адоптивная терапия не стимулирует уже существующий противоопухолевый ответ, а элиминирует опухолевые клетки своим непосредственным воздействием. Обзор клинических испытаний показывает, что противоопухолевые вакцины вызывают объективную опухолевую регрессию в менее чем 4% случаев [5, 6]. Самое важное в том, что не одна из противоопухолевых вакцин, протестированных во множестве клинических испытаний, не смогла излечить метастатическую болезнь, а их терапевтический эффект измеряется лишь в месяцах, а не в годах, в противовес адоптивной Т-клеточной терапии.

В противовес другим методам иммунотерапии, основанная на АКП, зарекомендовала себя в ле-

чении метастатической меланомы. Показано, что у 20 пациентов из 93 с меланомой IV стадии после проведения терапии наблюдалось полное элиминирование опухоли и метастазов с последующей ремиссией более 57 месяцев. Таким образом, можно сделать вывод, что терапия аутогенными Т-лимфоцитами провоцирует устойчивый противоопухолевый ответ у пациентов вне зависимости от предшествующего лечения [2].

Определяющие факторы успешной АКП-иммунотерапии были исследованы на мышах [7], а некоторые особенности Т-клеточной дифференцировки исследованы на людях [2]. Было показано, что опухоли могут избегать действия Т-клеточной терапии при помощи множества механизмов [8–10]. И в отличие от меланом, которые хорошо поддаются Т-клеточной терапии на основе опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (ОИЛ), клетки других опухолей могут содержать существенно меньше мутаций, а фенотип опухоли может быть результатом только эпигенетических нарушений [11, 12]. Однако меланомы не единственный тип злокачественных новообразований, имеющих геном с большим количеством мутаций. В эту группу можно также отнести первичные опухоли легкого (в основном речь идет о мелкоклеточном раке). Подобная особенность делает их также восприимчивыми к Т-клеточной терапии [12].

Что касается методики, свободно развивающиеся популяции опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов изолируют и подвергают клональной экспансии (без каких-либо модификаций) только при меланоме, для элиминации других видов злокачественных новообразований Т-клетки модифицируют. Эта модификация обычно заключается в приобретении способности распознавать конкретный опухолевый антиген благодаря генно-инженерному TCR (T-cell receptor). Для внесения гена такого TCR в лимфоцит, как правило, используются лентивирусы или ретровирусы, содержащие участок ДНК, кодирующий специфический рецептор. Благодаря генно-инженерным модификациям, спектр видов злокачественных опухолей, восприимчивых к Т-клеточной иммунотерапии, теперь включает нейробластомы [13], синовиальные саркомы [14], лейкемии и лимфомы [15–17].

Генно-инженерный TCR может происходить из нескольких источников. Если Т-клетки, имеющие высокоаффинный рецептор, можно выделить из организма пациента, то их TCR можно клонировать в ретровирус или лентивирус, которые могут быть использованы для трансдукции аутогенных Т-клеток других пациентов [18]. Аффинитет генно-инженерных рецепторов может быть повышен при помощи изменений высоко вариабельных участков, которые отвечают за взаимодействие

антиген — рецептор, или путем направленной эволюции. Несмотря на повышение аффинитета, такие изменения могут снизить специфичность рецептора, что, в свою очередь, может привести к нежелательным побочным эффектам, связанным с аутоиммунной реактивностью [19]. Кроме того, существует методика выделения гена высокоаффинного TCR из Т-клеток мышей. Человеческие Т-клетки, экспрессирующие мышинные TCR, аффинные к карциноэмбриональному антигену (CEA) и премеланосомному белку (PMEL), использовались в клинических испытаниях на людях. Их трансплантация вела к объективной регрессии опухоли [18, 20].

Химерные антиген-рецепторы (CARs — chimeric antigen receptors) — это еще один способ придать специфичность трансплантированным Т-клеткам. Эти рецепторы представляют собой фьюз-белок из варибельного участка одноцепочечного антитела (для распознавания антигена) и внутриклеточного домена TCR, необходимого для активации Т-клетки. Для трансдукции CARs в клетку могут быть использованы рекомбинантные ретровирусы. CARs распознают МНС-нерестрицированные структуры на поверхности клеток, в то время как TCRs распознают в основном внутриклеточные антигены, которые были процессированы и представлены молекулами МНС [21, 22].

Еще один способ улучшить процесс распознавания Т-лимфоцитами опухолевых клеток — создание биспецифических антител. Такие антитела на поверхности Т-клеток обеспечивают более плотный контакт лимфоцитов с опухолевыми клетками за счет антиген-антитело взаимодействия. Исследования показали, что данная методика существенно уступает в эффективности методам, указанным выше [23, 24].

Подготовительная лимфодеплеция при АКП. Часто одной из проблем при проведении адоптивной иммунотерапии является иммуносупрессивное состояние онкологических больных. В целях подавления иммуносупрессии исследователи разработали метод подготовительной лимфодеплеции. *Подготовительная лимфодеплеция* — это временное подавление иммунной системы пациента, достигаемое использованием химиотерапии, радиоактивного облучения организма или комбинации этих методов; ее использование повышает устойчивость трансплантированных Т-клеток. Несмотря на то, что это звучит контрпродуктивно, использование этой методики существенно повышает эффективность Т-клеточной адоптивной терапии как на мышинных моделях [25, 26], так и в клинических испытаниях на людях [2, 27, 28].

В некоторых случаях опухолевая регрессия может не наблюдаться, даже несмотря на инфильтри-

рующие новообразование опухолеспецифические Т-лимфоциты. Возможно, это происходит из-за того, что эти клетки в опухолевом микроокружении находятся в условиях хронической активации и повышенного количества иммуносупрессирующих факторов. Ряд исследований показывает, что активность опухоли инфильтрирующих лимфоцитов (ОИЛ) *in vivo* подавляется рядом иммуносупрессирующих молекул (TIM3, LAG3, PD1, CTLA4) [29, 30]. Выведение Т-клеток из подобного иммуносупрессирующего опухолевого микроокружения стимулирует их активацию и клональную экспансию. ОИЛ, будучи отделенными от иммуносупрессирующих клеточных популяций, таких как популяции супрессорных клеток миелоидного ряда (MDSCs), подвергаются меньшему воздействию иммуносупрессирующих цитокинов, пока они находятся в культуре. *Ex vivo* экспансия популяции аутогенных ОИЛ с последующей их трансплантацией реципиенту может провоцировать гибель и полную элиминацию опухоли и приводить к устойчивой ремиссии [2].

В основе усиления активности трансплантированных опухоль-реактивных Т-клеток в лимфопеническом окружении (после лимфодеплеции) лежит несколько механизмов. Одним из таких факторов является элиминация иммуносупрессивных MDSCs. Кроме этого, АКП обладает большей эффективностью за счет деплеции эндогенных клеток, которые конкурируют за активирующие цитокины, а также за счет повышения активности адоптивных клеток, которые находятся в условиях высокой антигенной нагрузки за счет иммунодефицитного состояния после тотального облучения организма [31].

Преимущества и недостатки генно-инженерных Т-клеток. Использование генно-инженерных Т-клеток имеет несколько преимуществ. Среди них возможность подбора специалистом биофизических свойств рецептора, а также конкретной клеточной популяции для модификации и трансплантации (к примеру, клетки на ранней стадии дифференцировки и пр.). Генетическая модификация Т-клеток для АКП может включать не только новую антигенную реактивность, но также повышенную активность Т-клеток, которая достигается вставкой генов, кодирующих ко-стимулирующие молекулы, факторы, повышающие устойчивость к апоптотическим сигналам, индукторы воспаления, хемокиновые рецепторы, обеспечивающие хоминг.

У Т-клеточной терапии существуют также и недостатки. Современные методики обеспечивают лишь моноклональную специфичность, что способствует избеганию опухолевыми клетками противоопухолевой активности за счет изменения антигенной карты. Еще одна проблема — это неспецифическая токсичность генно-модифициро-

ванных Т-лимфоцитов. За счет кросс-реактивности и антигенной мимикрии случайные антигены (как поверхностные клеточные, так и отдельные молекулы) могут вызывать активацию Т-клеток, что в конечном итоге ведет к деструкции тканей и вторичным эффектам, таким как цитокиновый шторм (гиперцитокинемия) [22, 32].

Впрочем, безопасность АКП может быть повышена при помощи методик, обеспечивающих быструю элиминацию адоптивных Т-клеток в случаях непредвиденной токсичности. К примеру, в клетку может быть добавлен ген индуцируемой каспазы 9, которая вызывает клеточную гибель путем апоптоза при ее активации биоинертным низкомолекулярным препаратом [33]. Но самой большой трудностью остается нахождение таких антигенов, которые можно было бы использовать в качестве стабильной цели для противоопухолевой Т-клеточной терапии без нежелательной токсичности для здоровых тканей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные преклинические и клинические исследования предоставляют огромное количество информации об особенностях противоопухолевого иммунного ответа, которая позволяет развивать новые действенные методы иммунотерапии и совершенствовать уже существующие. Среди них адоптивная Т-клеточная терапия — одно из самых перспективных. Адоптивный Т-клеточный перенос позволяет не только лечить пациентов онкологического профиля на последних стадиях поражения злокачественным новообразованием, но и персонализировано подходить к терапии каждого отдельного случая. Что самое важное, АКП обладает превентивными свойствами за счет образования клеток памяти, что может существенно удлинять период ремиссии.

Кроме этого, выявление специфических опухолевых антигенов и разработка соответствующих генно-инженерных модификаций постоянно расширяет диапазон применения АКП, а совершенствование методик экстренной элиминации и стимуляции трансплантированных клеток существенно повышает управляемость и безопасность адоптивной Т-клеточной терапии. Но данный метод иммунотерапии при всех своих положительных качествах остается самым затратным. Он требует дорогостоящего лабораторного оборудования и высококвалифицированного персонала, что существенно препятствует его внедрению в повседневную клиническую практику. Стоит упомянуть, что представляется возможным массовое создание и хранение определенных аллогенных клеточных линий, специфичных к наиболее распространенным антигенам. Это может существенно снизить цену на АКП.

Список литературы

1. World Cancer Report. Available at: <http://www.iarc.fr/en/publications/books/wcr/wcr-order.php> (accessed March 25, 2016).
2. Rosenberg S.A. et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2011; 17(13): 4550–4557.
3. Zarour H.M. et al. Categories of Tumor Antigens. 2003.
4. Weinberg R.A. Crowd Control: Tumor Immunology and Immunotherapy. In: *The Biology of Cancer*. 2nd ed. USA: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2014: 723–795.
5. Klebanoff C.A. et al. Therapeutic cancer vaccines: are we there yet? *Immunol. Rev.* 2011; 239(1): 27–44.
6. Rosenberg S.A., Yang J.C., Restifo N.P. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat. Med.* 2004; 10(9): 909–915.
7. Klebanoff C.A. et al. Determinants of successful CD8+ T-cell adoptive immunotherapy for large established tumors in mice. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2011; 17(16): 5343–5352.
8. Restifo N.P. et al. Identification of human cancers deficient in antigen processing. *J. Exp. Med.* 1993; 177(2): 265–272.
9. Restifo N.P. et al. Loss of functional beta 2-microglobulin in metastatic melanomas from five patients receiving immunotherapy. *J. Natl. Cancer Inst.* 1996; 88(2): 100–108.
10. Khong H.T., Restifo N.P. Natural selection of tumor variants in the generation of “tumor escape” phenotypes. *Nat. Immunol.* 2002; 3(11): 999–1005.
11. Zhang J. et al. A novel retinoblastoma therapy from genomic and epigenetic analyses. *Nature.* 2012; 481(7381): 329–334.
12. Stratton M.R. Exploring the genomes of cancer cells: progress and promise. *Science.* 2011; 331(6024): 1553–1558.
13. Pule M.A. et al. Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma. *Nat. Med.* 2008; 14(11): 1264–1270.
14. Robbins P.F. et al. Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2011; 29(7): 917–924.
15. Brentjens R.J. et al. Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood.* 2011; 118(18): 4817–4828.
16. Porter D.L. et al. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365(8): 725–733.
17. Kochenderfer J.N. et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood.* 2010; 116(20): 4099–4102.
18. Johnson L.A. et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets

- normal tissues expressing cognate antigen. *Blood*. 2009; 114(3): 535–546.
19. Varela-Rohena A. et al. Control of HIV-1 immune escape by CD8 T cells expressing enhanced T-cell receptor. *Nat. Med.* 2008; 14(12): 1390–1395.
 20. Parkhurst M.R. et al. T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 2011; 19(3): 620–626.
 21. Sadelain M., Brentjens R., Rivière I. The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors. *Curr. Opin. Immunol.* 2009; 21(2): 215–223.
 22. Morgan R.A. et al. Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 2010; 18(4): 843–851.
 23. Baeuerle P.A., Itin C. Clinical experience with gene therapy and bispecific antibodies for T cell-based therapy of cancer. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2012; 13(8): 1399–1408.
 24. Choi B.D. et al. Bispecific antibodies engage T cells for antitumor immunotherapy. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2011; 11(7): 843–853.
 25. Wrzesinski C. et al. Hematopoietic stem cells promote the expansion and function of adoptively transferred antitumor CD8 T cells. *J. Clin. Invest.* 2007; 117(2): 492–501.
 26. Wrzesinski C. et al. Increased intensity lymphodepletion enhances tumor treatment efficacy of adoptively transferred tumor-specific T cells. *J. Immunother (Hagerstown Md.)* 2010; 33(1): 1–7.
 27. Dudley M.E. et al. Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science*. 2002; 298(5594): 850–854.
 28. Dudley M.E. et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* 2008; 26(32): 5233–5239.
 29. Baitsch L. et al. Exhaustion of tumor-specific CD8+ T cells in metastases from melanoma patients. *J. Clin. Invest.* 2011; 121(6): 2350–2360.
 30. Ahmadzadeh M. et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood*. 2009; 114(8): 1537–1544.
 31. Paulos C.M. et al. Microbial translocation augments the function of adoptively transferred self/tumor-specific CD8+ T cells via TLR4 signaling. *J. Clin. Invest.* 2007; 117(8): 2197–2204.
 32. Brentjens R. et al. Treatment of chronic lymphocytic leukemia with genetically targeted autologous T cells: case report of an unforeseen adverse event in a phase I clinical trial. *Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther.* 2010; 18(4): 666–668.
 33. Di Stasi A. et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365(18): 1673–1683.