

РЕЗУЛЬТАТЫ ПИЛОТНОГО КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВАКЦИН НА ОСНОВЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ РЕЦИДИВИРУЮЩЕЙ ГЕРПЕСВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Леплина О.Ю., Старостина Н.М., Блинова Д.Д., Желтова О.И.,
Олейник Е.А., Тыринова Т.В., Останин А.А., Черных Е.Р.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия

Резюме. Хроническое рецидивирующее течение инфекции, обусловленной вирусами простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типа, представляет серьезную медико-социальную проблему. Учитывая важную роль иммунной системы в контроле за вирусом, перспективы лечения рецидивирующих форм ВПГ-инфекции связывают с активацией антигенспецифического иммунного ответа, в частности с использованием вакцин на основе дендритных клеток (ДК). В настоящей работе представлены результаты открытого пилотного исследования эффективности и безопасности дендритноклеточных вакцин у пациентов с рецидивирующей ВПГ-инфекцией. В исследование были включены 29 человек, включая 14 пациентов с лабиальным и 15 с генитальным герпесом. ДК генерировали в присутствии GM-CSF и IFN α , нагружали рекомбинантными вирусными белками (HSV1gD или HSV-2gD) и проводили 2 курса вакцинаций в течение 9 мес. Иммунотерапия ДК не вызывала серьезных нежелательных эффектов и сопровождалась более чем двукратным снижением частоты рецидивов и увеличением длительности ремиссии на фоне 9 мес. лечения. В период последующего 6-месячного периода наблюдалось дальнейшее снижение частоты рецидивов и трехкратное возрастание длительности ремиссии. Клинический эффект на фоне лечения и в период 6 мес. наблюдения отмечался как в группе с лабиальным, так и генитальным герпесом, регистрировался у большинства пациентов, ассоциировался с индукцией антигенспецифического пролиферативного ответа и нормализацией исходно сниженной митогенной реактивности мононуклеарных клеток в ответ на стимуляцию КонА. Анализ отдаленных результатов лечения на основе анкетирования пациентов с давностью наблюдения более 24 мес. показал, что положительный эффект иммунотерапии в виде снижения частоты рецидивов через 48 мес. (медиана наблюдения) сохранялся у 77,8% опрошенных. Антигенспецифический пролиферативный ответ в эти сроки сохранялся у 66,7%. Полученные результаты позволяют рассматривать ДК-вакцины в качестве нового перспективного подхода к лечению рецидивирующих форм лабиального и генитального герпеса.

Ключевые слова: пилотное исследование, герпес, дендритные клетки, лечебные вакцины

Адрес для переписки:

Леплина Ольга Юрьевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 228-21-01.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: oleplina@mail.ru; ct_lab@mail.ru

Address for correspondence:

Leplina Olga Yu.
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaia str., 14.
Phone: 7 (383) 228-21-01.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: oleplina@mail.ru; ct_lab@mail.ru

Образец цитирования:

О.Ю. Леплина, Н.М. Старостина, Д.Д. Блинова,
О.И. Желтова, Е.А. Олейник, Т.В. Тыринова,
А.А. Останин, Е.Р. Черных «Результаты пилотного
клинического исследования вакцин на основе
дендритных клеток в лечении рецидивирующей
герпесвирусной инфекции» // Медицинская
иммунология, 2016. Т. 18, № 5. С. 425-436.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-5-425-436

© Леплина О.Ю. и соавт., 2016

For citation:

O.Yu. Leplina, N.M. Starostina, D.D. Blinova,
O.I. Zhebtova, E.A. Oleinik, T.V. Tyrinova, A.A. Ostanin,
E.R. Chernykh "Results of a pilot clinical trial of dendritic-cell
based vaccines for treatment of recurrent herpesvirus infection",
Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya,
2016, Vol. 18, no. 5, pp. 425-436.
doi: 10.15789/1563-0625-2016-5-425-436

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/1563-0625-2016-5-425-436>

RESULTS OF A PILOT CLINICAL TRIAL OF DENDRITIC-CELL BASED VACCINES FOR TREATMENT OF RECURRENT HERPESVIRUS INFECTION

Leplina O.Yu., Starostina N.M., Blinova D.D., Zheltova O.I.,
Oleinik E.A., Tyrinova T.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Chronic recurrent infections caused by herpes simplex virus (HSV) types 1 and 2 represent a serious medical and social challenge. Given an important role of immune system in surveillance of viral infections, an induced enhancement of antigen-specific immune response seems to be a promising approach to treatment of recurrent HSV infections, in particular, using dendritic cell (DCs) vaccines. The present paper contains results of an open pilot study evaluating efficacy and safety of dendritic-cell vaccines in the patients with recurrent HSV infections. Twenty-nine patients including 14 persons with labial herpes, and 15, with genital herpes have been enrolled in this study. DCs were generated in presence of GM-CSF and IFN α and then loaded with recombinant viral proteins (HSV1gD or HSV2gD). These cells were applied in 2 rounds of vaccination performed within 9 months. Immunotherapy with DCs did not induce sufficient side effects, and was accompanied by more than two-fold decrease in relapse rate and increased length of remissions during the 9-month period of treatment. Later on, we revealed a reduced frequency of relapses, and a 3-fold increase in remission duration over the subsequent 6-month follow up. The clinical effect during the treatment and at later terms (a half-year observation) was noted with both labial and genital herpes, as registered in the majority of patients, being associated with induction of antigen-specific proliferative response and normalization of reduced mitogenic responsiveness of mononuclear cells towards ConA. The patients' survey at longer terms (more than 24 months) has shown that the beneficial effect of immunotherapy, in terms of reduced relapse rates, was maintained in 77.8% of the respondents by 48 months (a median follow-up term). At this time, the antigen specific proliferative response was maintained in 66.7% of patients. The data obtained suggest that the dendritic-cell vaccines may be a promising approach to the treatment of recurrent labial and genital herpes.

Keywords: pilot study; herpesvirus infection; dendritic cells; therapeutic vaccines

Введение

Вирус простого герпеса (ВПГ) 1 и 2 типа представляет одну из наиболее распространенных инфекций у человека с поражением кожи и слизистых оболочек. ВПГ 1 типа вызывает преимущественно орофациальные повреждения, тогда как ВПГ 2 типа ассоциирован с генитальным герпесом. Инфицированность населения планеты герпесом, по данным ВОЗ, достигает 65-90%. Первичная ВПГ-инфекция характеризуется слабовыраженными клиническими проявлениями, заканчивается самостоятельным выздоровлением и контролируется с участием клеточных и гуморальных реакций врожденного и приобретенного иммунитета, среди которых ведущая роль отводится факторам врожденного иммунитета — макрофагам, интерферонам и естественным киллерным клеткам [37]. Характерно, что полной элиминации вируса при этом не происходит, и ВПГ пожизненно персистирует в организме. При этом дефект или ослабление иммунологического контроля может приводить к генерализации инфекции или развитию рецидивирующих

форм [6, 32]. Хроническое рецидивирующее течение регистрируется у 10-25% населения и представляет серьезную медико-социальную проблему в связи со снижением трудоспособности, развитием нарушений репродуктивной функции (при генитальном герпесе) и психоэмоциональных расстройств, а также снижением качества жизни.

Экспериментальные и клинические исследования показали, что предупреждение рецидива обеспечивается активацией Th1-ответа и клеток врожденного иммунитета. Th1-цитокины активируют цитотоксическую функцию естественных киллерных клеток и поддерживают генерацию цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), обеспечивающих элиминацию вируса [6, 35, 41, 43]. Поэтому реактивацию вируса и рецидив инфекции связывают в первую очередь с дефектом клеточного иммунитета. Действительно, у пациентов с рецидивирующими формами ВПГ-инфекции выявляется угнетение продукции Th1-цитокинов, повышенный уровень Th2-цитокинов и возрастание регуляторных Т-клеток [2, 27, 28, 36].

Основным подходом к лечению рецидивирующей ВПГ-инфекции является противовирусная терапия ациклическими нуклеозидами. Пролонгированная химиотерапия снижает частоту обострений при лабиальной и генитальной формах инфекции в период лечения [1, 5, 14, 24, 31]. Тем не менее, данные метаанализа свидетельствуют, что клиническая эффективность длительного перорального применения противовирусных препаратов в лечении ВПГ-1 инфекции остается низкой [13], а уровень доказательности эффекта супрессивной противовирусной терапии при генитальном герпесе — недостаточно убедительным [23]. Кроме того, продолжительная противовирусная химиотерапия является дорогостоящей и не гарантирует прекращения рецидивов после завершения лечения.

Альтернативный подход связан с активацией иммунного контроля за вирусной инфекцией. Вирусные оболочечные гликопротеины gD и gB и входящие в их состав пептиды являются высокоиммуногенными, активируют CD4 и CD8 Т-клетки, и презентация их дендритными клетками является ключевым моментом запуска противовирусного иммунного ответа [6, 9, 10]. Субъединичная вакцина против ВПГ-2 на основе гликопротеина D оболочки вириона (gD) в комбинации с Th1-адьювантом показала эффективность в профилактике или снижении частоты рецидивов в модели ВПГ-2 индуцированной инфекции у морских свинок [12]. Эта вакцина также продемонстрировала эффективность в профилактике генитального герпеса, обусловленного ВПГ-1 у ВПГ-1 и ВПГ-2 серонегативных женщин [38], и была разрешена к применению в Западной Европе. Однако лечебные вакцины для лечения рецидивирующих форм лабиального и генитального герпеса до настоящего времени отсутствуют.

Недавние исследования показали, что запуск антигенспецифического Th1 ответа и генерация цитотоксических Т-лимфоцитов индуцируются дендритными клетками (ДК), которые презентуют антигены и активируют наивные Т-лимфоциты в региональных лимфоузлах [7, 25]. ВПГ-инфекция оказывает существенное влияние на функции ДК, в частности подавляет их созревание, продукцию IL-12 и аллостимуляторную активность, а также индуцирует апоптоз ДК [8, 21, 29]. Соответственно, использование генерируемых *ex vivo* полноценных ДК, нагруженных антигенами вирусов ВПГ 1 и 2 типа, рассматривается в качестве новой стратегии профилактики и лечения рецидивирующей ВПГ-инфекции.

Действительно, доклинические исследования на экспериментальных животных показали безопасность и эффективность ДК-вакцин при ВПГ-

инфекции. Так, Schön E. с соавт. показали высокую эффективность ДК-вакцин, нагруженных антигеном вируса герпеса 2 типа в защите мышей от гибели при инфицировании ВПГ 2 типа [34]. В свою очередь, Ghasemi M. с соавт. показали, что вакцинация мышей ДК, нагруженными антигенами ВПГ-1 полностью предотвращала летальный исход и развитие латентой ВПГ-1 инфекции [19]. В первом случае авторы использовали в качестве антигена инактивированный ультрафиолетовым облучением вирус ВПГ-2 или очищенные оболочечные гликопротеины, во втором — частично очищенный вирусный белок, содержащий все 4 основных гликопротеина — В, С, D и Е.

Клинические исследования ДК-вакцин при ВПГ-инфекции не проводились. Тем не менее, ранее было показано, что введение волонтерам ДК, нагруженных антигенами вируса гриппа, характеризуется хорошей переносимостью и безопасностью и индуцирует продолжительный клеточный и гуморальный иммунный ответ [16]. Кроме того, безопасность ДК в качестве клеточного адьюванта при разработке противовирусных вакцин была продемонстрирована у пациентов с хроническими вирусными гепатитами В и С, а также ВИЧ-инфекцией [18, 26, 42].

Ранее нами были опубликованы результаты промежуточного анализа открытого пилотного клинического исследования ДК-вакцин у больных с рецидивирующими формами ВПГ-инфекции, которые показали хорошую переносимость и безопасность ДК вакцин в процессе лечения и последующего 6-месячного наблюдения [3]. Настоящая работа посвящена исследованию клинической эффективности ДК-вакцин и их безопасности в большей группе пациентов с рецидивирующей ВПГ-инфекцией и анализу не только ближайших, но и отдаленных эффектов иммунотерапии.

В качестве клеточной платформы использовались ДК, генерированные из моноцитов в присутствии гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и интерферона- α (IFN-ДК). По сравнению с традиционно генерируемыми ДК, которые получают в присутствии GM-CSF и интерлейкина-4 [40], IFN-ДК характеризуются более высокой миграционной активностью, более эффективно стимулируют пролиферацию цитотоксических Т-клеток, обладают способностью активировать как Th1-, так и Th2-ответ и способны продуцировать IFN α [15, 22, 33].

Материалы и методы

Рекрутирование, обследование и лечение пациентов осуществлялось в период с мая 2008 по декабрь 2014 на базе клиники иммунопатоло-

гии Института фундаментальной и клинической иммунологии. Клинические испытания проводились в дизайне открытого проспективного пилотного исследования с контролем «до-после» согласно протоколу, утвержденному на заседании Ученого Совета (протокол № 9 от 11 декабря 2007 г.) и одобренному локальным этическим комитетом. Все манипуляции по получению и культивированию клеток проводили в условиях специализированной лаборатории на основе лицензий на трансплантацию костного мозга и гемопоэтических стволовых клеток (ФС-54-01-002049) и применение клеточных технологий (ФС-54-01-001780).

В исследование включались больные в возрасте от 18 до 60 лет обоего пола после подписания письменного информированного согласия. Критериями включения служили: наличие рецидивирующей ВПГ-инфекции с частыми рецидивами (для лабиального герпеса — более 6 раз в год, для генитального герпеса — более 4 раз в год); резистентное течение заболевания при использовании противовирусных препаратов в период обострения; отказ от проведения продолжительных курсов супрессивной противовирусной терапии, согласие пациентов на воздержание от самостоятельного приема коротких курсов противовирусных препаратов во время проведения клинического исследования; состояние ремиссии (минимум 2 недели после последнего рецидива) на момент начала терапии.

Критериями исключения являлись: несоответствие критериям включения, наличие выраженной иммунокомпроментации, обусловленной иммуносупрессивной терапией или сопутствующей ВИЧ-инфекцией; прием противовирусных препаратов на протяжении 4 недель перед началом клинического исследования или во время его проведения; участие пациента в другом клиническом исследовании; выраженная хроническая декомпенсированная сердечно-сосудистая, дыхательная, печеночная, почечная недостаточность, декомпенсированный сахарный диабет; злокачественные заболевания; болезни крови; психические нарушения; беременность.

В качестве первичной конечной точки оценивали клиническую эффективность по изменению количества рецидивов/продолжительности межрецидивного периода в течение 9-месячного периода лечения по сравнению с соответствующими показателями до начала терапии (рассчитанными с учетом числа обострений за последний год перед рекрутированием). Активное наблюдение за пациентами осуществлялось путем телефонных или e-mail опросов, проводимых 1 раз в месяц. Поскольку сроки наблюдения в эти периоды различались и составляли соответственно:

до терапии — 12 мес., на фоне терапии — 9 мес., для сравнения частоты обострений использовались условные показатели, отражающие количество рецидивов в пересчете на 1 мес., т.е. рассчитанные как отношение количества рецидивов к числу месяцев наблюдения. Наряду с этим были рассчитаны средние показатели межрецидивного периода как отношение длительности периода наблюдения (в днях) к количеству обострений за данный срок.

Вторичными точками являлись: 1) оценка переносимости и безопасности по развитию местных и общих нежелательных реакций; 2) оценка количества рецидивов/продолжительности межрецидивного периода в течение 6-месячного периода наблюдения после завершения иммунотерапии по сравнению с соответствующими показателями до начала терапии; 3) оценка эффективности терапии по данным анкетирования пациентов с давностью наблюдения более 24 мес. Анкета включала 4 вопроса: а) отмечаете ли Вы улучшение после проведенного лечения (снижение частоты рецидивов, сокращение продолжительности рецидивов, уменьшение площади высыпаний); б) отмечаете ли Вы улучшение общего самочувствия после проведенного лечения (более благоприятное протекание периодов обострения с меньшей выраженностью симптомов интоксикации, как то: озноб, лихорадка, слабость, головная боль, боль в мышцах); в) не было ли ухудшения (учащение рецидивов, обострение хронических заболеваний) в период после завершения терапии; г) не жалеете ли Вы, что приняли участие в клиническом исследовании; 5) оценка иммуннокорректирующего эффекта терапии по интенсивности антигенспецифической и митоген-индуцированной пролиферативной активности Т-клеток.

Обследование пациентов проводилось — до начала лечения; после окончания 2-х курсов иммунотерапии (через 9 мес.) и последующего 6-месячного срока наблюдения после завершения вакцинаций (через 15 мес.). Анкетирование всех пациентов со сроком наблюдения более 24 мес. проводилось одномоментно. Давность от начала терапии до момента проведения анкетирования составляла в среднем 48 мес.

Для получения ДК из периферической крови выделяли мононуклеарные клетки (МНК) центрифугированием в градиенте плотности фиколла-верографина. Фракцию прилипающих к пластику МНК культивировали в пластиковых флаконах для культивирования (BD Biosciences Falcon, UK) в течение 3 сут. в среде RPMI-1640 (Sigma, США) в присутствии GM-CSF (Sigma, США) 40 нг/мл и IFN α 1000 ЕД/мл (Роферон-А, Roche, Швейцария). ДК нагружа-

ли рекомбинантным гликопротеином D (gD). Для этого генерируемые ДК инкубировали в течение 1 ч с рекомбинантным HSV1gD, а ДК пациентов с генитальным герпесом — HSV1gD или HSV-2gD (ProSpec, Israel) в зависимости от типа вируса в дозе 5 мкг/мл. Нагруженные антигеном ДК индуцировали к созреванию путем 24-часового культивирования с азоксимер бромидом (Петровас) в дозе 2 нг/мл. Данное соединение является водорастворимым катионным полимером [20], представляющим адьюванты DAMP-типа, которые активируют провоспалительные сигнальные пути и усиливают антигенную презентацию и созревание эффекторных клеток [17, 30].

После дозревания клетки отмывали, аликвотировали по 5×10^6 /пробирку, криоконсервировали и хранили в морозильной камере (SanyoUltraLow) при -80°C до последующего использования. Качество ДК вакцин оценивали по чистоте генерируемых ДК с учетом экспрессии линейных маркеров, HLA-DR и CD86 методом проточной цитофлуориметрии. Для этого ДК инкубировали с анти-HLA-DR и анти-CD86 мАТ (BectonDickinson) и исследовали на лазерном клеточном сортире-анализаторе FACSCalibur (BectonDickinson, США) с использованием программы CellQuest (BectonDickinson, США). Полученные ДК содержали не менее 70% HLA-DR⁺, Lin⁻ (CD3⁺, CD20⁺, CD56⁺) клеток, среди которых доля CD86⁺ составляла 50% и более. Стерильность и жизнеспособность (на основе окрашивания препаратов трипановым синим) оценивали перед каждым введением клеток. Жизнеспособность размороженных ДК составляла во всех случаях более 85%.

Лечение включало два курса антигенспецифической терапии. Первый курс состоял из 4-6 подкожных инъекций ДК (5×10^6 клеток), нагруженных рекомбинантным HSV-1gD или HSV-2gD с 2-недельным интервалом (общей продолжительностью 3 мес.). Второй курс проводился после завершения первого и состоял из 4-6 вакцинаций с кратностью 1 раз в месяц (общей продолжительностью 6 мес.). В качестве адьюванта использовали рекомбинантный интерлейкин-2 (Ронколейкин, ООО НПК «Биотех» Санкт-Петербург), который вводили подкожно в дозе 250 000 ЕД. Вакцинации проводили подкожно в межлопаточную область в 4 точки, интерлейкин-2 вводили аналогичным образом в 4 точки рядом с местом введения вакцины.

Интенсивность антигенспецифического клеточного ответа оценивали в 5-суточных культурах по уровню пролиферации МНК больных в ответ на стимуляцию HSV-1gD либо HSV-2gD антигеном (5 мг/мл) в зависимости от типа инфекции. Неспецифический ответ оценивали в 3-суточных

культурах по уровню пролиферации МНК в ответ на стимуляцию конканавалином А (15 мкг/мл; Sigma, USA). Пролиферативный ответ оценивали радиометрически по включению H^3 тимидина, вносимого в лунки за 18 ч до конца культивирования в дозе 1 мккю/лунку.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0 для Windows. Для оценки достоверности различий сравниваемых выборок использовали непараметрические критерии: Манна-Уитни (для несвязанных выборок) и Вилкоксона (для связанных выборок). Различия считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили методом ранговой корреляции Спирмена (r_s).

Результаты

Исследуемую группу составили 29 пациентов (21 женщина и 8 мужчин) в возрасте от 22 до 49 с лабиальной (14 пациентов) и генитальной (15 пациентов) локализацией герпесвирусной инфекции (табл. 1). Генитальный герпес подтверждался методом ПЦР и у 12 пациентов был обусловлен ВПГ-2, а у 3-х пациентов — ВПГ 1 типа. Давность заболевания составляла в среднем 9 лет, варьируя от 2 до 25 лет. Количество обострений за последний год составляло 12 — с диапазоном

ТАБЛИЦА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

Параметры	Группы пациентов		
	Общая группа	Лабиальный герпес	Генитальный герпес
Количество пациентов (n)	29	14	15
Возраст, лет (Me; $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	30,5 (25-34)	28,5 (24-34)	31,0 (28-36)
Пол (М/Ж)	8/21	4/10	4/11
Давность заболевания, лет (Me; $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	9 (5-15)	15 (10-19)	5 (5-8)**
Число обострений до лечения* (Me; $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	12,0 (10-18)	10,5 (10-12)	12,0 (12-18)
Длительность межрецидивного периода до лечения, дни (Me; $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	30,3 (20-36)	34,5 (30-36)	31,0 (20-30)

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (Me; $Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$);

* — на протяжении последнего года до включения в исследование; ** — $p_0 < 0,01$; достоверность различий показателей между группами с лабиальным и генитальным герпесом, U-критерий Манна-Уитни.

от 7 до 25 эпизодов в год. Соответственно, длительность межрецидивного периода до лечения варьировала от 14 до 52 дней и в среднем не превышала 30 дней. Группы пациентов с лабиальным и генитальным герпесом были схожи по возрасту, соотношению мужчин и женщин, количеству обострений, но различались по давности заболевания, которая была значимо выше в группе с лабиальным герпесом.

Иммуноterapia ДК, нагруженными HSV-1gD или HSV-2gD, характеризовалась хорошей переносимостью. Ни у одного из пациентов лечение не было прекращено в связи с развитием серьезных нежелательных явлений, включая обострение хронических заболеваний и ситуаций, требующих госпитализации пациента. Введение ДК-вакцин не влияло на показатели крови и не вызывало токсических реакций со стороны различных органов. Местные поствакцинальные реакции в виде покраснения, припухлости и болезненности в месте введения вакцины регистрировались, соответственно, в 62-82,7% случаев (табл. 2). Общие реакции в виде слабости, озноба, субфебрильной лихорадки, головной боли и недомогания отмечались в 20-55% случаев. Поствакцинальные реакции купировались самостоятельно в течение 24-48 ч.

Для оценки клинической эффективности ДК вакцин был проведен сравнительный анализ частоты рецидивов до терапии, на фоне лечения и после ее завершения. Учитывая различные сроки наблюдения до начала терапии (12 мес.), на фоне терапии (9 мес.) и после терапии (6 мес.) при сравнительном анализе использовали показатели, отражающие количество рецидивов за 1 месяц. В общей группе число обострений на фоне терапии в пересчете на 1 мес. снизилось в 2 раза (рис. 1А). В период наблюдения после терапии рецидивы выявлялись еще реже, и их количество

было в 3 раза ниже, чем до лечения. Характерно, что снижение частоты рецидивов на фоне и после завершения иммунотерапии наблюдалось как у пациентов с лабиальной, так и генитальной формой герпеса и было выражено в одинаковой степени.

Уменьшение числа рецидивов сопровождалось закономерным возрастанием межрецидивного периода. В общей группе данный показатель увеличивался от 30 до 68 дней на фоне терапии и до 90 дней в период 6-месячного наблюдения после терапии (рис. 1Б). При этом различий в динамике возрастания межрецидивного периода в группах с лабиальным и генитальным герпесом не выявлялось.

При анализе индивидуальных значений позитивный клинический ответ в виде снижения частоты рецидивов на фоне лечения в целом по группе составил 86% (25 из 29 человек) и регистрировался у всех 14 пациентов с лабиальным герпесом и 11 из 15 пациентов с генитальным герпесом. Снижение частоты рецидивов в период 6-месячного наблюдения после терапии регистрировалось в общей группе у 22 из 29 (75,9%) пациентов, в том числе 10 из 14 (71,4%) пациентов с лабиальным герпесом и 12 из 15 (80%) пациентов с генитальной формой инфекции. Полное прекращение обострений на фоне лечения наблюдалось только при лабиальном герпесе и регистрировалось у 3 из 14 (21,4%) пациентов. В период 6-месячного наблюдения отсутствие обострений было зарегистрировано также только у 3 из 14 пациентов с лабиальным герпесом, в том числе 1-го пациента с отсутствием обострений во время лечения и у 2-х пациентов, имевших обострения в период терапии.

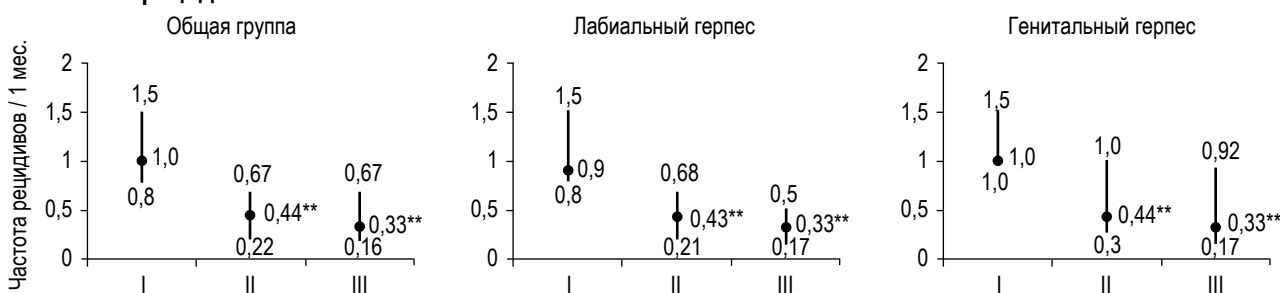
Для оценки отдаленных результатов ДК-вакцин пациентам с давностью наблюдения более 24 мес. было предложено принять участие в анкетировании. Количество пациентов, подходящих под эту категорию, составило 28 человек. С четырьмя из них контакты были утеряны. Из оставшихся 24 пациентов согласие на участие в опросе было получено от 18 (75%) участников. В эту группу вошли 8 пациентов с лабиальным и 10 с генитальным герпесом. Давность с начала иммунотерапии до момента опроса в этой группе варьировала от 36 мес. до 84 мес. с медианой 48 мес. Двенадцать пациентов дали согласие на дополнительное обследование параметров иммунитета в период анкетирования.

Как видно из данных таблицы 3, улучшение было отмечено большинством пациентов. Снижение частоты рецидивов после завершения терапии было отмечено у 77,8% пациентов, сокращение продолжительности рецидива – у 83,3% и уменьшение площади поражения у 72,2% участ-

ТАБЛИЦА 2. ПОСТВАКЦИНАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ

Тип реакции	Количество пациентов (n, %)
Локальные	
покраснение	21/29 (72,4%)
припухлость	18/29 (62%)
болезненность	24/29 (82,7%)
Системные	
слабость	6/29 (20,7%)
озноб	16/29 (55,2%)
субфебрильная лихорадка	15/29 (51,7%)
фебрильная лихорадка	0/29 (0%)
головная боль	6/29 (20,7%)
недомогание	9/29 (31%)

А. Частота рецидивов



Б. Продолжительность межрецидивного периода

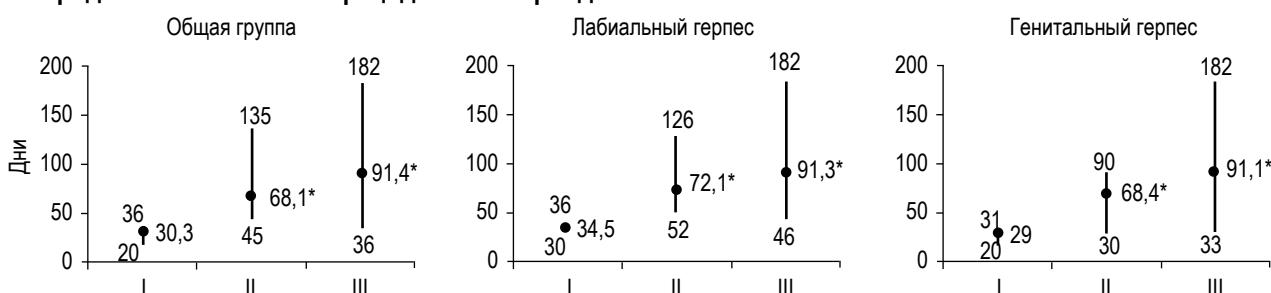


Рисунок 1. Частота рецидивов (А) и продолжительность межрецидивного периода (Б) у больных герпесом в динамике вакцинотерапии

Примечание. Здесь и на рисунке 2 данные представлены в виде медианных значений и интерквартильного диапазона (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Показано количество обострений за 1 мес. (А) и длительность межрецидивного периода (дни) в общей группе больных герпесом (n = 29), а также в подгруппах пациентов с лабиальным (n = 14) и генитальным (n = 15) герпесом до начала лечения (I), по окончании вакцинотерапии (II) и через 6 мес. после лечения (III). * – p_U < 0,05 и ** – p_U < 0,01 – достоверность различия показателей по сравнению с исходными значениями (U – непараметрический критерий Вилкоксона-Манна-Уитни).

ТАБЛИЦА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ АНКЕТИРОВАНИЯ ПАЦИЕНТОВ В ОТДАЛЕННОМ ПЕРИОДЕ

Вопросы	Число пациентов (n, %), давших позитивный ответ		
	Общая группа (n = 18)	Лабиальный герпес (n = 8)	Генитальный герпес (n = 10)
1. Отмечаете ли Вы улучшение после проведенного лечения			
– снижение частоты рецидивов	14 (77,8%)	7 (87,5%)	7 (70%)
– сокращение продолжительности рецидивов	15 (83,3%)	8 (100%)	7 (70%)
– уменьшение площади поражения	13 (72,2%)	7 (87,5%)	6 (60%)
2. Отмечаете ли Вы улучшение общего самочувствия после проведенного лечения	12 (66,7%)	6 (75%)	6 (60%)
3. Было ли ухудшение (учащение рецидивов, обострение хронических заболеваний)	1 (5,5%)	0 (0%)	1 (10%)
4. Не жалеете ли Вы, что приняли участие в клиническом исследовании	18 (100%)	8 (100%)	10 (100%)

ников анкетирования. Субъективное улучшение общего самочувствия за счет меньшей выраженности симптомов интоксикации (озноб, лихорадка, слабость, головная боль, боль в мышцах) в период обострения отметили 66,7% респондентов. Один из опрошенных (5,5%) зарегистрировал ухудшения состояния, в частности учащение рецидивов до исходного уровня в период после

завершения лечения. Ни один из респондеров не высказал сожаления в связи с участием в данном клиническом исследовании. Достоверных различий в ответах опрошенных в группах с лабиальным и генитальным герпесом не наблюдалось.

Учитывая ведущую роль реакций клеточного иммунитета в профилактике рецидива, на следующем этапе мы оценили пролифера-

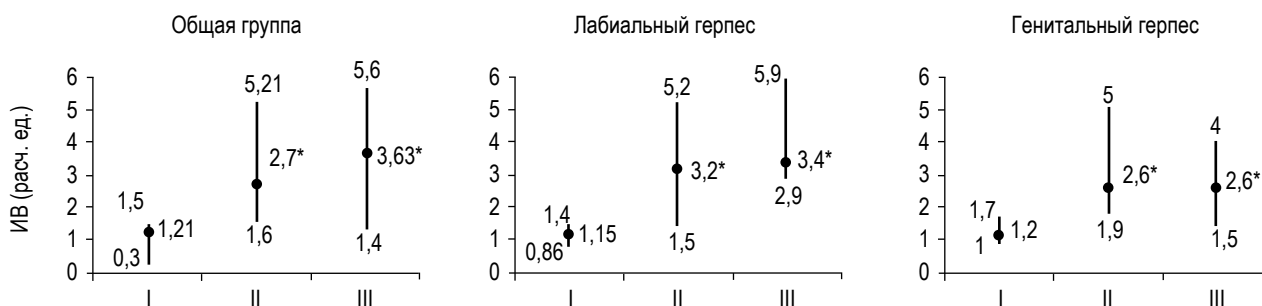
тивный ответ МНК при стимуляции вирусными антигенами (HSV1gD или HSV2gD в соответствии с типом ВПГ) и Т-клеточным митогеном КонА в динамике терапии. До начала терапии МНК пациентов с рецидивирующей ВПГ-инфекцией практически не отвечали пролиферацией на стимуляцию вирусными антигенами (рис. 2А). Медиана индексов влияния вирусных антигенов в культурах МНК (IB_{HSVgD}) составляла 1,2 расч. ед. Наличие антигенспецифического ответа ($IB_{HSVgD} > 1,5$ расч. ед.) при индивидуальном анализе выявлялось только у 6 из 29 (20%) пациентов. Вакцинация ДК сопровождалась значимым усилением антигенспецифического ответа, что проявлялось двукратным возрастанием IB_{HSVgD} после завершения лечения ($Me = 2,7$ расч. ед.) в целом по группе и регистрацией антигенспецифического ответа у 24/29 (82,7%) пациентов. В ближайшем периоде наблюдения (через 6 мес. после завершения вакцинотерапии) IB_{HSVgD} продолжал умеренно возрастать до 3,63 расч. ед. Индуцированный антигенспецифический ответ в эти сроки выявлялся у 25/29 (86%) пациентов. При сравнении пациентов с лабиальной и генитальной формой инфекции значимых различий на уровне медианных значений пролиферативного ответа на вирусные антигены не выявлялось. Тем не менее все 4 пациента, у которых антигенспецифический

ответ через 6 мес. наблюдения отсутствовал, имели генитальную форму герпеса.

Ранее было отмечено, что снижение частоты рецидивов на фоне лечения регистрировалось у 25 из 29 человек, при этом IB_{HSVgD} в данной подгруппе больных был достоверно выше, чем у 4 пациентов, не ответивших на вакцинотерапию ($MeIB_{HSVgD} = 3,2 [Q_{0,25}-Q_{0,75} 1,7-5,4]$ против 1,68 расч. ед. [$Q_{0,25}-Q_{0,75} 0,98-2,1$]; $p_U = 0,03$). Таким образом, снижение частоты рецидивов ассоциировалось с индукцией антигенспецифического ответа, тогда как низкая реактивность на стимуляцию вирусными антигенами была сопряжена с отсутствием значимого клинического эффекта.

Анализ митогенной реактивности МНК больных с рецидивирующей герпес-вирусной инфекцией показал, что исходно ответ на КонА у пациентов был достоверно снижен (17150 ± 1470 против 24280 ± 2120 имп/мин у здоровых доноров; $p_U < 0,05$). К моменту завершения терапии отмечалось возрастание КонА-индуцированной пролиферации (в среднем до 22620 имп/мин, $p_U < 0,05$), которое сохранялось на уровне 24800 имп/мин ($p_U < 0,05$) через 6 мес. наблюдения после завершения терапии. В эти сроки значения $IB_{КонА}$ достоверно превышали соответствующие показатели до лечения (рис. 2Б). Умеренное возрастание митогенной реактивности на фоне

А. Индексы влияния вирусных антигенов (HSVgD)



Б. Индексы влияния митогена конканавалина А (КонА)

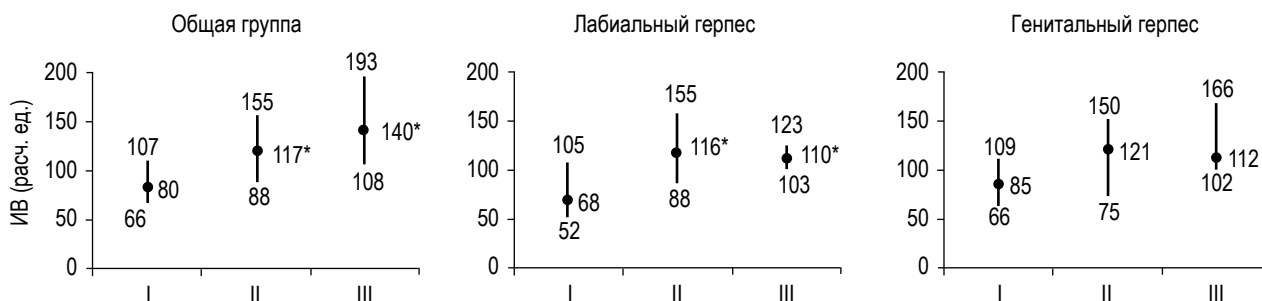


Рисунок 2. Антигенспецифическая и митогенная реактивность МНК больных герпесом в динамике вакцинотерапии

Примечание. Представлены ($Me; Q_{0,25}-Q_{0,75}$) индексы влияния (ИБ, расч. ед.) вирусных антигенов (А) и митогена КонА (Б) на интенсивность пролиферации МНК больных герпесом: в целом по группе ($n = 29$), а также в подгруппах пациентов с лабиальным ($n = 14$) и генитальным ($n = 15$) герпесом до начала лечения (I), по окончании вакцинотерапии (II) и через 6 мес. после лечения (III). * – $p_U < 0,05$ – достоверность различия показателей по сравнению с исходными значениями (U – непараметрический критерий Вилкоксона–Манна–Уитни).

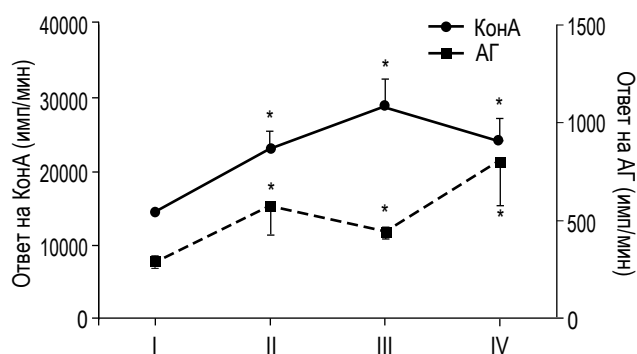


Рисунок 3. Проллиферативный ответ МНК больных герпесом в динамике вакцинотерапии и в отдаленный период наблюдения

Примечание. Данные в виде $M \pm SE$ (имп/мин) представлены в связанных выборках больных герпесом ($n = 12$), включая 7 пациентов с лабиальным и 5 с генитальным герпесом. По левой оси ординат – ответ на митоген (КонА), по правой – ответ на вирусный антиген (HSV-gD). По оси абсцисс: I – до начала лечения; II – по окончании вакцинотерапии; III – через 6 мес. после лечения; IV – через 48 мес. после лечения. * – $p_w < 0,05$ – достоверность различия показателей по сравнению с исходными значениями (W – непараметрический критерий Вилкоксона для связанных выборок).

9-месячного периода терапии и 6-месячного периода последующего наблюдения отмечалось как у больных с лабиальным, так и генитальным герпесом, однако были достоверными только у пациентов с лабиальной формой инфекции, отличающихся исходно более низким ответом МНК на КонА. Характерно, что между интенсивностью антигенспецифического ответа и митогенной реактивностью на момент завершения терапии корреляционной зависимости не наблюдалось ($R_s = -0,2$; $p = 0,31$).

Оценка антигенспецифического и КонА-индуцированного пролиферативного ответа в отдаленном периоде (Ме 48 мес.) была проведена в группе 12 пациентов (рис. 3). Видно, что по окончании вакцинотерапии уровень пролиферации МНК на вирусный антиген в этой группе значимо возрос. Причем усиление антигенспецифического ответа сохранялось не только через 6 мес. после лечения, но и в отдаленном периоде. В эти сроки наличие антигенспецифического ответа ($IB_{HSVgD} > 1,5$ расч. ед.) отмечалось у 8 из 12 пациентов (66,7%) пациентов, при этом в среднем значения IB_{HSVgD} составляли 2,6 расч. ед. Аналогичным образом возрастание КонА-индуцированной пролиферации после курса вакцинаций и 6-месячного периода наблюдения сохранялось в отдаленном периоде, когда уровень ответа значимо превышал исходный уровень пролиферативного ответа.

Обсуждение

Интерес к иммунотерапевтическим подходам в лечении рецидивирующих форм герпес-вирусной инфекции обусловлен двумя причинами – важной ролью иммунной системы в защите от вируса и недостаточной эффективностью противовирусных препаратов. Современная противовирусная терапия ациклическими нуклеотидами не способна обеспечить полную элиминацию вируса, предотвращения рецидива заболевания и нормализации иммунологических показателей. В связи с этим разработка новых методов активации иммунного ответа является важным компонентом комплексного лечения герпесвирусной инфекции. Среди различных методов иммунотерапии ДК-вакцины представляют особый интерес, поскольку способны индуцировать иммунный ответ к строго-специфическим вирусным антигенам. Безопасность ДК-вакцин, генерируемых в присутствии GM-CSF и IL-4, была продемонстрирована на здоровых волонтерах, пациентах с хроническим вирусным гепатитом В и С, а также ВИЧ-инфекцией [18, 26, 42].

В настоящем исследовании впервые проведена оценка безопасности и эффективности ДК-вакцин у пациентов с рецидивирующими формами лабиального и генитального герпеса. Полученные результаты показали, что вакцинация пациентов с рецидивирующей герпес-вирусной инфекцией ДК, нагруженными рекомбинантным вирусным гликопротеином D (HSVgD), не вызывает серьезных нежелательных эффектов, что свидетельствует о хорошей переносимости ДК-вакцин в клинической практике.

Важно отметить, что на фоне лечения, т.е. за период 9 мес., на протяжении которых проводился иницирующий и поддерживающий курс вакцинаций, количество рецидивов сократилось в 2,3 раза, а длительность ремиссии возросла с 30 до 68 дней. Схожие результаты, т.е. двукратное сокращение частоты рецидива, выявлялись в процессе проведения 4 мес. курсов ацикловира [24, 31], а также в период 6 мес. наблюдения после комбинации противовирусной терапии с иммунокорректирующей терапией полиоксидонием [5]. Однако в нашем исследовании сокращение частоты рецидивов наблюдалось у пациентов, не получавших ациклических нуклеозидов, и срок наблюдения составлял 9 мес.

В ближайшем периоде (в течение 6 мес.) после прекращения лечения эффект терапии сохранялся и даже несколько усиливался, о чем свидетельствовали 3-кратное снижение частоты рецидивов и возрастание средней продолжительности ремиссии до 91 сут. При индивидуальном анализе снижение частоты регистрировалось

у 76% пациентов, у оставшихся 24% пациентов рецидивы возобновились до исходного уровня. Эффективность ДК-вакцин в группах с лабиальным и генитальным герпесом на уровне медианных значений была схожей, тем не менее полное прекращение рецидивов на фоне лечения и последующего 6-месячного наблюдения выявлялось только в группе с лабиальным герпесом у ограниченного числа пациентов (21%).

В отдаленном периоде (в среднем через 48 мес. после начала терапии) улучшение в виде сокращения частоты рецидивов, длительности обострения или площади поражения отмечалось у 72-83% опрошенных.

Важно отметить, что клинический ответ ассоциировался с индукцией антигенспецифического ответа на гликопротеин D, который использовался как для нагрузки ДК, так и последующего выявления у пациентов реактивности к данному антигену. Гликопротеины D ВПГ1 и ВПГ2 (HCV1gD или HCV2gD), будучи локализованными в оболочке вирионов, являются иммунодоминантными вирусными антигенами, распознаются Т-клетками и индуцируют клеточный и гуморальный противовирусный иммунный ответ [9, 39]. Оценка пролиферативного ответа МНК к HCV1gD или HCV2gD показала практически полное отсутствие исходной реактивности МНК к указанным антигенам (пролиферативный ответ выявлялся только у 20% пациентов, а медианный индекс стимуляции вирусных антигенов составлял 1,2 расч. ед.). Проведение вакцинотерапии сопровождалось развитием антигенспецифического ответа, который проявлялся возрастанием ИВ_{HSVgD} до 2,7 расч. ед. по завершении терапии и до 3,6 расч. ед. после 6-месячного наблюдения. Наличие реактивности к вирусным антигенам в эти сроки выявлялось, соответственно, у 82,7 и 86,2 % пациентов. При этом подгруппа пациентов, не ответивших на терапию снижением частоты рецидивов, отличалась достоверно более низким уровнем антигенспецифического ответа.

Наряду с антигенспецифическим ответом, мы также проанализировали пролифератив-

ную активность МНК на Т-клеточный митоген КонА. Согласно полученным нами ранее данным и данным литературы, снижение пролиферативной активности МНК на КонА является одним из интегральных проявлений иммунных нарушений Т-клеток и может быть обусловлено Т-клеточной анергией или Th1-Th2 переключением [4, 11]. Вакцинация ДК сопровождалась умеренным возрастанием исходно сниженной КонА-индуцированной пролиферации МНК до нормативного уровня, который сохранялся в ближайшем и отдаленном периодах. Поскольку корреляционной зависимости между антигенспецифическим ответом и митогенной реактивностью не наблюдалось к моменту завершения терапии, возрастание ответа на КонА было расценено нами как результат снижения иммуносупрессивного эффекта вирусной инфекции на фоне уменьшения частоты рецидивов. Ингибирующий эффект ВПГ-1 и ВПГ-2 у пациентов с рецидивирующим течением инфекции является хорошо известным феноменом и обусловлен различными механизмами, включая переключение Th1-/Th2-баланса и экспансию регуляторных Т-клеток [2, 27, 28, 36]. С этой точки зрения сопряженность между снижением частоты инфекции и восстановлением митогенной реактивности является очередным подтверждением важной роли Т-клеточного иммунитета в предотвращении рецидивов герпетической инфекции.

Полученные в целом результаты свидетельствуют, что иммунотерапия на основе ДК позволяет уменьшить число рецидивов и, соответственно, увеличить продолжительность безрецидивного периода, что сопряжено с активацией специфического и неспецифического иммунного ответа. Это позволяет рассматривать интерферон- α -индуцированные ДК, нагруженные HSVgD антигеном, в качестве перспективных кандидатов в лечении рецидивирующих форм герпетической инфекции.

Список литературы / References

1. Веретенникова М. Современная фармакотерапия герпеса с использованием различных лекарственных форм // Фундаментальные исследования, 2014. № 8. С. 1630-1634. [Veretennikova M.A. Current treatment of herpes with using different pharmaceutical forms. *Fundamental'nye issledovaniya = Fundamental Research*, 2014, no. 8, pp. 1630-1634. (In Russ.)]
2. Желтова О.И., Старостина Н.М., Тихонова М.А., Леплина О.Ю., Черных Е.Р., Останин А.А. Особенности иммунитета больных с хроническими рецидивирующими инфекциями // Иммунология, 2011. № 4. С. 205-209. [Zheltova O.I., Starostina N.M., Tikhonova M.A., Leplina O.Yu., Chernykh E.R., Ostanin A.A. Immunity features of patients with chronic recurrent infections. *Immunologiya = Immunology*, 2011, no. 4, pp. 205-209. (In Russ.)]
3. Леплина О.Ю., Желтова О.И., Борисова А.Е., Старостина Н.М., Останин А.А., Черных Е.Р. Вакцины на основе дендритных клеток в лечении герпетической инфекции // Вестник Уральской медицинской академической науки, 2011. №2/2 (35). С. 38-39. [Leplina O.Yu., Zheltova O.I., Borisova A.E., Starostina N.M., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Dendritic cells vaccines in the treatment of herpetic infection. *Vestnik Ural'skoy meditsinskoy akademicheskoy nauki = Bulletin of the Ural Medical Academic Science*, 2011, no. 2/2 (35), pp. 38-39. (In Russ.)]

4. Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Курганова Е.В., Стрельцова Е.И., Останин А.А., Козлов В.А. Феномен Т-клеточной анергии при хирургическом сепсисе // Медицинская иммунология, 2003. Т. 5, № 5/6. С. 529-538. [Chernykh E.R., Lepkina O.Yu., Tikhonova M.A., Kurganova E.V., Streltsova E.I., Ostanin A.A., Kozlov V.A. T cell anergy in surgical sepsis. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2003, Vol. 5, no. 5-6, pp. 529-538. (In Russ.)]
5. Шульженко А.Е., Зуйкова И.Н. Подходы к иммунотерапии рецидивирующего простого герпеса // Эффективная фармакотерапия в акушерстве и гинекологии, 2010. №3. С. 44-49. [Shulzhenko A.E., Zuikova I.N. Approaches to the immunotherapy of recurrent herpes simplex. *Effektivnaya farmakoterapiya v akusherstve i ginekologii = Effective Pharmacotherapy*, 2010, no. 3, pp. 44-49. (In Russ.)]
6. Aurelian L. Herpes simplex virus type 2 vaccines: new ground for optimism? *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 2004, Vol. 11, no. 3, pp. 437-445.
7. Bedoui S., Gebhardt T. Interaction between dendritic cells and T cells during peripheral virus infections: a role for antigen presentation beyond lymphoid organs. *Curr. Opin. Immunol.*, 2011, Vol. 23, no. 1, pp. 124-130.
8. Bedoui S., Greyer M. The role of dendritic cells in immunity against primary herpes simplex virus infections. *Front Microbiol.*, 2014, no. 5, p. 533.
9. BenMohamed L., Bertrand G., McNamara C.D., Gras-Masse H., Hammer J., Wechsler S.L., Nesburn A.B. Identification of novel immunodominant CD4⁺ Th1-type T-cell peptide epitopes from herpes simplex virus glycoprotein D that confer protective immunity. *J. Virol.*, 2003, Vol. 77, no. 17, pp. 9463-9473.
10. Bettahi I., Zhang X., Afifi R.E., BenMohamed L. Protective immunity to genital herpes simplex virus type 1 and type 2 provided by self-adjuvanting lipopeptides that drive dendritic cell maturation and elicit a polarized Th1 immune response. *Viral Immunol.*, 2006, Vol. 19, no. 2, pp. 220-236.
11. Bitan M., Weiss L., Reibstein I., Zeira M., Fellig Y., Slavin S., Zcharia E., Nagler A., Vlodavsky I. Heparanase upregulates Th2 cytokines, ameliorating experimental autoimmune encephalitis. *Mol. Immunol.*, 2010, Vol. 47, no. 10, pp. 1890-1898.
12. Bourne N., Bravo F.J., Francotte M., Bernstein D.I., Myers M.G., Slaoui M., Stanberry L.R. Herpes simplex virus (HSV) type 2 glycoprotein D subunit vaccines and protection against genital HSV-1 or HSV-2 disease in guinea pigs. *J Infect Dis.*, 2003, Vol. 187, no. 4, pp. 542-549.
13. Chi C.C., Wang S.H., Delamere F.M., Wojnarowska F., Peters M.C., Kanjirath P.P. Interventions for prevention of herpes simplex labialis (cold sores on the lips). *Cochrane Database Syst Rev.*, 2015, no. 8, CD010095.
14. Cunningham A., Griffiths P., Leonc P., Mindeld A., Patele R., Stanberry L., Whitley R. Current management and recommendations for access to antiviral therapy of herpes labialis. *J. Clin. Virol.*, 2012, Vol. 53, no. 1, pp. 6-11.
15. Della Bella S., Nicola S., Riva A., Biasin M., Clerici M., Villa M.L. Functional repertoire of dendritic cells generated in granulocyte macrophage-colony stimulating factor and interferon- α . *J. Leukoc. Biol.*, 2004, Vol. 75, no. 1, pp. 106-116.
16. Dhodapkar M.V., Steinman R.M., Sapp M., Desai H., Fossella C., Krasovsky J., Donahoe S.M., Dunbar P.R., Cerundolo V., Nixon D.F., Bhardwaj N. Rapid generation of broad T-cell immunity in humans after a single injection of mature dendritic cells. *J. Clin. Invest.*, 1999, Vol. 104, no. 2, pp. 173-180.
17. Dyakonova V.A., Dambaeva S.V., Pinegin B.V., Khaitov R.M. Study of interaction between the polyoxonium immunomodulator and the human immune system cells. *Int. Immunopharmacol.*, 2004, Vol. 4, no. 13, pp. 1615-1623.
18. Garcia F., Plana M., Climent N., Leon A., Gatell J.M., Gallart T. Dendritic cell based vaccines for HIV infection: the way ahead. *Hum. Vaccin. Immunother.*, 2013, Vol. 9, no. 11, pp. 2445-2452.
19. Ghasemi M., Erturk M., Buruk K., Sonmez M. Induction of potent protection against acute and latent herpes simplex virus infection in mice vaccinated with dendritic cells. *Cytotherapy*, 2013, Vol. 15, no. 3, pp. 352-361.
20. Kabanov V.A. From synthetic polyelectrolytes to polymer-subunit vaccines. *Pure Appl. Chem.*, 2004, Vol. 76, no. 9, pp. 1659-1677.
21. Kobelt D., Lechmann M., Steinkasserer A. The interaction between dendritic cells and herpes simplex virus-1. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2003, Vol. 276, pp. 145-161.
22. Korthals M., Safaian N., Kronenwett R., Maihofer D., Schott M., Papewalis C., Diaz Blanco E., Winter M., Czibere A., Haas R., Kobbe G., Fenk R. Monocyte derived dendritic cells generated by IFN- α acquire mature dendritic and natural killer cell properties as shown by gene expression analysis. *J. Transl. Med.*, 2007, Vol. 5, pp. 46-57.
23. Le Cleach L., Trinquart L., Do G., Maruani A., Lebrun-Vignes B., Ravaut P., Chosidow O. Oral antiviral therapy for prevention of genital herpes outbreaks in immunocompetent and nonpregnant patients. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2014, no. 8, CD009036.
24. Lebrun-Vignes B., Bouzamondo A., Dupuy A., Guillaume J.C., Lechat P., Chosidow O. A meta-analysis to assess the efficacy of oral antiviral treatment to prevent genital herpes outbreaks. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2007, Vol. 57, no. 2, pp. 238-246.
25. Lee H.K., Zamora M., Linehan M.M., Iijima N., Gonzalez D., Haberman A., Iwasaki A. Differential roles of migratory and resident DCs in T cell priming after mucosal or skin HSV-1 infection. *J. Exp. Med.*, 2009, Vol. 206, no. 2, pp. 359-370.
26. Luo J., Li J., Chen R.L., Nie L., Huang J., Liu Z.W., Luo L., Yan X.J. Autologous dendritic cell vaccine for chronic hepatitis B carriers: A pilot, open label, clinical trial in human volunteers. *Vaccine*, 2010, Vol. 28, no. 13, pp. 2497-2504.
27. McKenna D.B., Neill W.A., Norval M. Herpes simplex virus specific immune responses in subjects with frequent and infrequent orofacial recurrences. *Br. J. Dermatol.*, 2001, Vol. 144, no. 3, pp. 459-464.
28. Mysliwska J., Trzonkowski P., Bryl E., Lukaszuk K., Mysliwski A. Lower interleukin-2 and higher serum tumor necrosis factor levels are associated with perimenstrual, recurrent, facial herpes simplex infection in young women. *Eur. Cytokine Netw.*, 2000, Vol. 11, no. 3, pp. 397-406.
29. Pollara G., Speidel K., Samady L., Rajpopat M., McGrath Y., Ledermann J., Coffin R.S., Katz D.R., Chain B. Herpes simplex virus infection of dendritic cells: balance among activation, inhibition, and immunity. *J. Infect. Dis.*, 2003, Vol. 187, no. 2, pp. 165-178.
30. Powell B.S., Andrianov A.K., Fusco P.C. Polyionic vaccine adjuvants: another look at aluminum salts and polyelectrolytes. *Clin. Exp. Vaccine Res.*, 2015, Vol. 4, no. 1, pp. 23-45.
31. Rooney J.F., Straus S.E., Mannix M.L., Wohlenberg C.R., Alling D.W., Dumois J.A., Notkins A.L. Oral acyclovir to suppress frequently recurring herpes labialis. A double-blind, placebo-controlled trial. *Ann. Intern. Med.*, 1993, Vol. 118, no. 4, pp. 268-272.
32. Sancho-Shimizu V., Perez De Diego R., Jouanguy E., Zhang S.Y., and Casanova, J. L. Inborn errors of anti-viral interferon immunity in humans. *Curr. Opin. Virol.*, 2011, Vol. 1, no. 6, pp. 487-496.
33. Santini S., Pucchini T., Lapenta C., Parlato S., Logozzi M., Belardelli F. A new type 1 IFN-mediated pathway for the rapid differentiation of monocytes into highly active dendritic cells. *Stem. Cells*, 2003, Vol. 21, no. 3, pp. 357-362.

34. Schon E., Harandi A.M., Nordstrom I., Holmgren J., Eriksson K. Dendritic cell vaccination protects mice against lethality caused by genital herpes simplex virus type-2 infection. *J. Reprod. Immunol.*, 2001, Vol. 50, no. 2, pp. 87-104.
35. Shin H., Iwasaki A. Generating protective immunity against genital herpes. *Trends Immunol.*, 2013, Vol. 34, no. 10, pp. 487-494.
36. Singh R., Kumar A., Creery W.D., Ruben M., Giulivi A., Diaz-Mitoma F. Dysregulated expression of IFN-gamma and IL-10 and impaired IFN-gamma-mediated responses at different disease stages in patients with genital herpes simplex virus-2 infection. *Clin. Exp. Immunol.*, 2003, Vol. 133, no. 1, pp. 97-107.
37. Stanberry L.R., Cunningham A.L., Mindel A., Scott L.L., Spruance S.L., Aoki F.Y., Lacey C.J. Prospects for control of herpes simplex virus disease through immunization. *Clin. Infect. Dis.*, 2000, Vol. 30, no. 3, pp. 549-566.
38. Stanberry L.R., Spruance S.L., Cunningham A.L., Bernstein D.I., Mindel A., Sacks S., Tyring S., Aoki F.Y., Slaoui M., Denis M., Vandepapeliere P., Dubin G. GlaxoSmithKline Herpes Vaccine Efficacy Study Group. Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *N. Engl. J. Med.*, 2002, Vol. 347, no. 21, pp. 1652-1661.
39. Straus S.E., Takiff H.E., Seidlin M., Bachrach S., Lininger L., Di Giovanna J.J., Western K.A., Smith H.A., Lehrman S.N., Creagh-Kirk T. Suppression of frequently recurring genital herpes. A placebo-controlled double-blind trial of oral acyclovir. *N. Engl. J. Med.*, 1984, Vol. 310, no. 24, pp. 1545-1550.
40. Thurner B., Roder C., Dieckmann D., Heuer M., Kruse M., Glaser A., Keikavoussi P., Kampgen E., Bender A., Schuler G. Generation of large numbers of fully mature and stable dendritic cells from leukapheresis products for clinical applications. *J. Immunol. Meth.*, 1999, Vol. 223, no. 1, pp. 1-15.
41. Van Lint A., Ayers M., Brooks A.G., Coles R.M., Heath W.R., Carbone F.R. Herpes simplex virus-specific CD8⁺ T cells can clear established lytic infections from skin and nerves and can partially limit the early spread of virus after cutaneous inoculation. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 172, no. 1, pp. 392-397.
42. Zabaleta A., D'Avola D., Echeverria I., Llopiz D., Silva L., Villanueva L., Riezu-Boj J., Larrea E., Pereboev A., Lasarte J., Rodriguez-Lago I., Inarrairaegui M., Sangro B., Prieto J., Sarobe P. Clinical testing of a dendritic cell targeted therapeutic vaccine in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, 2015, Vol. 2, p. 15006.
43. Zhu J., Peng T., Johnston C., Phasouk K., Kask A.S., Klock A. Immune surveillance by CD8- α + skin-resident T cells in human herpes virus infection. *Nature*, 2013, Vol. 497, pp. 494-497.

Авторы:

Леплина О.Ю. — д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Старостина Н.М. — к.м.н., заслуженный врач РФ, заведующая отделением иммунологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Блинова Д.Д. — врач-иммунолог отделения иммунологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Желтова О.И. — к.м.н., врач-иммунолог отделения иммунологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Олейник Е.А. — аспирант, лаборатория клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Тыринова Т.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Останин А.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Leplina O.Yu., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Starostina N.M., PhD (Medicine), Honored Doctor of the Russian Federation, Head, Department of Immunology, Clinics of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Blinova D.D., Doctor (Immunology), Department of Immunology, Clinics of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Zheltova O.I., PhD (Medicine), Doctor (Immunology), Department of Immunology, Clinics of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Oleinik E.A., Postdoc Fellow, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Tyrinova T.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Ostaniin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chernykh E.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 02.10.2015
Принята к печати 04.12.2015

Received 02.10.2015
Accepted 04.12.2015