

УДК 612.017

В.А. Козлов, Е.Р. Черных

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ИММУНОТЕРАПИИ В ОНКОЛОГИИ

ГУ НИИ Клинической иммунологии СО РАМН, Новосибирск

В обзоре представлены современные данные о противоопухолевом иммунном ответе; обоснование иммунотерапии как важной составляющей комплексного лечения злокачественных опухолей; классификация различных методов иммунотерапии с анализом их клинической эффективности, преимуществ и недостатков. В заключении авторами обсуждаются дальнейшие перспективы в совершенствовании методов иммунотерапии и приводятся собственные данные, иллюстрирующие первые шаги в этом направлении.

Ключевые слова: противоопухолевый иммунитет, иммунотерапия, злокачественные опухоли

Мысль о возможной роли иммунной системы в защите от неконтролируемого роста опухолевых клеток зародилась задолго до осмысления иммунологических механизмов противоопухолевого иммунитета. Аргументами в пользу этого послужили наблюдения спонтанной регрессии опухоли, наличие лимфоидной инфильтрации опухолевой ткани, регрессия опухоли на фоне иммунотерапии (ИТ), повышенный риск возникновения опухолей на фоне угнетения иммунитета, а также развитие паранеопластических аутоиммунных реакций [1, 14]. Впервые феномен регрессии опухоли на фоне применения живых бактериальных культур, способных неспецифически активировать иммунную систему, был продемонстрирован более века тому назад исследованиями William Coley. Много позже, в 1988 г., S.A. Rosenberg с соавт. применил высокие дозы Т-клеточного ростового фактора интерлейкина-2 больным с метастатической формой рака почки и меланомы и получил объективную регрессию опухоли у 15–20% пролеченных пациентов [23]. С другой стороны, к настоящему времени накопились факты о повышенном риске развития опухолей на фоне иммуносупрессии. Так, у больных, получающих иммунодепрессивную терапию по поводу трансплантации почки, регистрируется 90-кратное возрастание частоты возникновения лимфомы, 27-кратное возрастание рака кожи и 14-кратное увеличение частоты развития рака шейки матки.

Противоопухолевый иммунный ответ

Благодаря достижениям клеточной и молекулярной биологии за последние годы был сделан прорыв в области понимания сложных механизмов взаимодействия опухоли и организма. Этому во многом способствовало доказательство иммуногенности опухолей, в частности выявление опухолеассоциированных антигенов (ОАА), способных индуцировать клеточный и гуморальный иммунные ответы; идентификация и характеристика цитокинов, участвующих в противоопухолевой защите; раскрытие клеточно-молекулярных механизмов ускользания опухоли от иммунного ответа [3, 5, 20].

Исследования на экспериментальных моделях и у человека показали, что защита от опухоли осуществляется с помощью различных типов клеток (Т-лимфоциты, НК-клетки, макрофаги, нейтрофилы, эозинофилы, эритробласты, тромбоциты), обладающих специфическим и неспецифическим цитотоксическими эффектами, и антител. Многие из клеточных эффектов реализуются через действие растворимых факторов – цитокинов.

Центральная роль в противоопухолевом ответе отводится клеточному иммунитету, опосредованному естественными киллерными клетками и специфическими цитотоксическими лимфоцитами (ЦТЛ). При этом считается, что наибольшим цитотоксическим противоопухолевым потенциалом обладают ЦТЛ. Генерация ЦТЛ требует наличия 2-х сигналов. Первым сигналом служит распознавание CD8 Т-клетками опухолевых антигенов в комплексе с МНС-антигенами I класса. Вторым – продукция IL-2 и других цитокинов CD4 Т-клетками. Активация последних происходит в процессе распознавания CD4 Т-клетками опухолевых антигенов в ассоциации с МНС-антигенами II класса. После полноценной активации ЦТЛ лизируют опухолевые клетки через высвобождение перфоринов либо запускают запрограммированную клеточную гибель опухолевых клеток через Fas/FasL путь [5].

Ускользание опухоли от иммунного надзора

Несмотря на существование ОАА и генерацию ЦТЛ, способных лизировать опухолевые клетки *in vitro* и *in vivo*, продолжающийся рост опухоли у большинства пациентов в отсутствие противоопухолевой терапии свидетельствует о слабости иммунного ответа. В настоящее время выделяют несколько причин дефектности противоопухолевого иммунитета. Одна из них связана с неадекватной презентацией ОАА. Иммунное распознавание осуществляется в результате кросспрезентации ОАА находящимися поблизости профессиональными АПК – макрофагами и/или дендритными клетками (ДК). Однако в отличие от вирусов и бактерий опухолевые антигены не стимулируют продукцию цитокинов и хемокинов, необходимых для эффективного взаимодействия АПК и Т-лимфоцитов. Кроме того, профессиональные АПК на фоне опухолевого роста зачастую дефектны в силу продукции опухолевыми клетками иммуносупрессивных цитокинов (TGF- β , IL-10, PGE2 и др.). Указанные цитокины угнетают экспрессию коstimуляторных молекул на макрофагах и ингибируют созревание дендритных клеток. В результате, вместо развития эффективного иммунного ответа имеет место негативный исход Т-клеточной активации в виде индукции анергии и апоптоза реактивных Т-клеток, а также генерации регуляторных Т-клеток с супрессорной активностью [28]. В качестве другой причины дефекта иммунного ответа рассматривается угнетение функций самих цитотоксических лимфоцитов. У больных со злокачественными опухолями имеется количественная и функциональная недостаточность ЦТЛ, что обусловлено действием иммуносупрес-

сивных факторов, которые продуцируются опухолевыми клетками либо клетками иммунной системы. Отсутствие мощного Т-клеточного ответа связано также с принадлежностью большинства ОАА к аутоантигенам, в отношении которых иммунная система толерантна. Наконец, одним из факторов, способствующих ускользанию опухоли от иммунного ответа, являются низкая экспрессия ОАА- и МНС-антигенов на опухолевых клетках, потеря этих антигенов в процессе опухолевой прогрессии или их экранирование блокирующими антителами, что затрудняет распознавание опухолевых клеток цитотоксическими лимфоцитами [14, 30].

С учетом приведенных выше данных интересы многих исследователей были сфокусированы на разработке методов стимуляции/усиления иммунного ответа, в том числе генерации специфических цитотоксических лимфоцитов как одной из важных составляющих противоопухолевой терапии.

Методы иммунотерапии

Методы иммунотерапии при лечении злокачественных опухолей можно условно разделить на три класса: активная, адоптивная и пассивная иммунотерапия. Активная ИТ направлена на запуск иммунного ответа в организме опухоленосителя. Неспецифическая активная иммунотерапия основана на использовании цитокинов и бактериальных адъювантов. Специфическая – на применении антигенов опухолевых клеток (противоопухолевые вакцины). В качестве вакцин могут быть использованы ОАА; дендритные клетки, нагруженные ОАА, сами опухолевые клетки и их гибриды с ДК, а также изолированная ДНК. Адоптивная иммунотерапия направлена на усиление эффекторного звена противоопухолевого ответа за счет введения цитотоксических клеток – лимфокиноактивированных киллеров (ЛАК) как варианта неспецифической терапии и антигенспецифических ЦТЛ как варианта специфической терапии. Пассивная ИТ основана на использовании антител, конъюгированных с цитотоксическими агентами, в качестве которых могут использоваться различные токсины, гамма-изотопы или цитостатики.

Неспецифическая иммунотерапия. Наиболее широкое распространение в качестве активной неспецифической иммунотерапии получили цитокины. Их действие обусловлено различными механизмами, включая:

- прямой цитотоксический и цитостатический эффекты на опухолевые клетки (фактор некроза опухоли- α (TNF- α), интерферон- α (IFN- α)), нарушение питания и васкуляризации опухоли (TNF- α , IFN- α);
- активацию функций АПК (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), интерлейкин-4 (IL-4), IFN- α , TNF- α , Flt-3 лиганд);
- повышение иммуногенности опухолевых клеток (IFN- α , интерлейкин-1 (IL-1), GM-CSF);
- активацию цитотоксических клеток (интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-1 (IL-1), TNF- α , GM-CSF);

Таблица 1

Эффективность неспецифической ИТ в лечении злокачественных опухолей (объективный ответ в виде полной и частичной регрессии опухоли, %)

Диагноз	IL-2	IFN- α	IL-2+ IFN- α	ЛАК
Меланома	24	18	18–41	21
Рак почки	22	12–16	28	25
Рак желудка	0	–	–	–
Колоректальный рак	0	–	–	16
Рак печени	0	–	–	–
Рак поджелуд. железы	–	–	–	–
Рак легкого	0	–	–	0
Рак молоч. железы	0	0	16	0
Саркома	0	–	–	0
Гемобластоз	±	16–40	–	–

– ослабление опухолииндуцированной супрессии за счет преодоления анергии антиген-специфических Т-клеток и нивелирование эффекта супрессорных CD4⁺CD25⁺ Т-клеток (IL-2).

Так, использование высоких доз IL-2 или IFN- α в виде монотерапии (табл. 1) оказывает клинический эффект (полная или частичная регрессия) в среднем в 20% случаев у больных с метастатической формой меланомы и рака почки. Эффект несколько выше при сочетании использования IL-2 и IFN- α . Аналогичная эффективность регистрируется при проведении неспецифической адоптивной терапии, основанной на введении ЛАК. Введение ЛАК в комбинации с IL-2 приводит к полной и частичной регрессии опухоли у 21–25% больных с продвинутыми формами рака почки и меланомы.

Таблица 2

Опухолеассоциированные антигены, распознаваемые Т-клетками как потенциальные мишени для противоопухолевых вакцин

Класс антигена	Антиген	Опухоль
Дифференцировочные антигены	Простатоспецифический антиген MART-1 Тирозиназа Grp100 Тиреоглобулин α -фетопроtein Her2/neu CEA	Рак простаты Меланома Меланома, глиома Меланома, глиома Рак щитовидной железы Рак печени Рак груди, легкого, яичников Рак легкого, кишечника, груди
Вирусспецифические антигены	HBV HPV EBV	Аденокарцинома печени Рак шейки матки Лимфома Беркита
Опухолево-яичниковые антигены	MAGE, GAGE, BAGE, RAGE, LAGE, SAGE, HAGE, NY-ESO-1	Меланома, глиома, лимфома; рак легкого, кишечника, желудка, груди; саркома
“Истинные” опухолевые специфические белки	Id иммуноглобулинов Т-клеточный рецептор Bcr-abl fusion protein Мутантный p53, мутантный p21/ras	В-клеточные лимфомы Т-клеточные лимфомы Хр. миелолейкоз Рак легкого, кишечника, поджелудочной железы, мочевого пузыря и др.

Тем не менее рандомизированные клинические испытания показали, что активная неспецифическая ИТ не сказывается на продолжительности жизни. Существенным ограничением неспецифической ИТ является ее дороговизна и выраженные побочные эффекты в виде цитокиновых реакций, развитие которых порой вынуждает прекращать лечение. Кроме того, необходимо учитывать, что действие цитокинов существенно нивелируется на фоне опухолюндуцированной супрессии, а также тот факт, что некоторые цитокины могут выступать в качестве ростовых факторов опухолевых клеток [8, 22, 23].

Специфическая иммунотерапия. Идентификация в последние годы ОАА, распознаваемых иммунной системой, существенно сместила вектор исследований, в том числе клинических испытаний, в сторону специфической ИТ, получившей название противоопухолевых вакцин. Главным преимуществом вакцин является то, что генерируемый иммунный ответ направлен против опухолевых клеток. Пока невозможно с определенностью сказать, какие из ОАА являются наиболее пригодными мишенями для противоопухолевой терапии. “Идеальный” антиген должен экспрессироваться исключительно опухолевыми клетками или его экспрессия на опухоли должна быть существенно выше, чем на нормальных тканях. В контексте активации Т-клеток этот антиген должен процессироваться и презентироваться в ассоциации с МНС-молекулами, поскольку именно в таком виде (короткие пептиды, связанные с МНС I и II класса) Т-клетки распознают опухолевые антигены. Большинство известных ОАА презентуются в комплексе с МНС-антигенами I класса и распознаются CD8 Т-клетками, и только небольшое количество опухолевых эпитопов презентуются в ассоциации с МНС-антигенами II класса и распознаются соответственно, CD4 Т-клетками. Наибольшая часть ОАА охарактеризована при меланоме, в то время как при других формах опухолей количество идентифицированных ОАА значительно меньше.

Выделяют 5 типов ОАА, распознаваемых Т-клетками (табл. 2). Первый ген, кодирующий антиген меланомы MAGE-1, был клонирован в 1991 г. На сегодня известно около 70 МНС-рестриктированных опухолевых пептидов [30]. Первую группу составляют дифференцировочные тканеспецифические антигены. Это наиболее распространенная группа протеинов, которые имеются на нормальных тканях и гиперэкспрессированы на опухолях. Ко второй группе относят так называемые опухолемо-яичковые антигены, которые появляются в эмбриогенезе, а затем исчезают. Белки этой группы характерны для большинства типов опухолей, а также сохраняются в тканях яичек и плаценты. Третья группа включает вирусспецифические антигены с высокой иммуногенностью. Данный тип антигенов характерен исключительно для вирусиндуцированных опухолей. Четвертую группу составляют “истинные” опухолевые антигены. Это идиотипические детерминанты опухолевого клона или продукты специфических мутаций. Антигены данного типа экспрессируются специфически у различных пациентов. Пятая группа антигенов – карбогидраты (например, MUC-1) с измененными боковыми цепями, которые затрудняют распознавание пептидного фрагмен-

та эффекторными клетками. Наилучшими кандидатами для вакцин являются пептиды первых 3 групп [20].

Существует несколько вариантов проведения активной специфической иммунотерапии:

- 1) непосредственное введение ОАА в виде идепептидов/протеинов, ганглиозидов (сialiрированные гликолипиды) или иммуноглобулиновых идиотипов в комбинации с адьювантом;
- 2) вакцинация ОАА представленными дендритными клетками (ДК, нагруженные пептидами/протеинами, идиотипическими детерминантами, лизатом опухолевых клеток или ДНК или РНК из опухолевых клеток);
- 3) использование в качестве источника ОАА опухолевых клеток;
- 4) применение гибридов ДК и опухолевых клеток;
- 5) вакцины на основе изолированной ДНК или рекомбинантных вирусов. При этом независимо от разновидности противоопухолевых стратегий главная их цель – вывести ОАА-реактивные клетки из состояния толерантности и активировать противоопухолевую активность Т-лимфоцитов [21].

Вакцины на основе пептидов. Несмотря на большое количество идентифицированных к настоящему времени пептидов, только ограниченное число опухолевых пептидов, в частности распознаваемых CD8 Т-клетками у больных меланомой, прошли клинические испытания в качестве вакцин. Основанием для проведения клинических испытаний послужили факты об эффективности пептидных вакцин (в комбинации с адьювантом) в предотвращении развития и регрессии опухолей у экспериментальных животных. Данные, характеризующие эффективность различных пептидных вакцин, приведены в табл. 1.

Первые клинические исследования в виде 1–2 фазы клинических испытаний были проведены, преимущественно, у больных с метастазирующей меланомой. Клинический эффект в виде полной и частичной регрессии варьировал от 0 до 42%, составляя в среднем 20%. По окончательных результатов, безусловно, недостаточны для сделать ряд заключений.

Во-первых, пептидные вакцины индуцируют специфический ЦТЛ ответ. Во-вторых, генерация ЦТЛ не всегда сопровождается регрессией опухоли. В этом аспекте следует отметить, что в качестве несомненного преимущества пептидных вакцин постулировалось, что иммунный ответ будет направлен на опухолевые клетки и в гораздо меньшей степени – на нормальные ткани. Однако оказалось, что специфические к опухолевым пептидам ЦТЛ не всегда способны лизировать опухолевые клетки. Поэтому увеличение числа антиген-реактивных Т-клеток далеко не во всех случаях ведет к регрессии опухоли. Третий момент, который обращает на себя внимание, – это более выраженный эффект полиэпитопных вакцин по сравнению с моноэпитопными. Эффективность вакцины также существенно возрастает по мере увеличения антигенности пептидов, например за счет модификации, повышающей аффинность к молекулам гистосовместимости. Кроме того, исключительно важным моментом является применение пептидов в сочетании с адьювантами.

Так, в исследованиях С.А. Розенберга с модифицированным gp100 (с повышенным сродством пептида к молекуле HLA-I класса) иммунный ответ регистрировался у 91% больных, в то время как нативный пептид вызывал ответ лишь у единичных пациентов. Причем вакцинация модифицированным пептидом оказывала эффект только в сочетании с высокими дозами IL-2 [5, 20, 21].

Несомненным достоинством пептидных вакцин являются простота их использования и отсутствие выраженных побочных эффектов. К недостаткам следует отнести феномен МНС-рестрикции опухолевых пептидов, ограниченное число опухолей с известными пептидами, низкую иммуногенность ОАА и существование толерантности к большинству опухолевых пептидов как аутоантигенам, а также изменение спектра ОАА в процессе опухолевой прогрессии. Поэтому дальнейшие перспективы повышения эффективности пептидных вакцин связывают с использованием полиэпитопных вакцин, генной или химической модификаций пептидов (усиление аффинности к МНС-молекулам), рекомбинантных полноразмерных белков, алло- и ксеноантигенов. Для преодоления толерантности к ОАА обсуждается целесообразность презентации опухолевых пептидов дендритными клетками и использование белков теплового шока, участвующих в презентации антигенов.

Клеточные вакцины. Клеточные вакцины условно можно разделить на 3 типа: использование самих опухолевых клеток; дендритных клеток, нагруженных ОАА; гибридов опухолевых и дендритных клеток.

Вакцинация аутологичными или аллогенными опухолевыми клетками стала одним из первых видов клеточных вакцин [17]. Теоретической предпосылкой этого вида вакцин явилось то, что опухолевые клетки несут на себе весь набор ОАА, и в этом случае отсутствует необходимость идентификации опухолевых антигенов. Первые попытки иммунизации опухолевыми клетками оказались безуспешными [17, 13], поскольку ОАА не вызывают продукции провоспалительных цитокинов, необходимых для рекрутирования, активации и созревания АПК, способных презентировать опухолевые антигены. Поэтому впоследствии было апробировано использование опухолевых клеток совместно с бактериальными адъювантами. Результаты III фазы клинических испытаний показали, что такой подход в послеоперационном периоде у пациентов с колоректальным раком (стадия В) позволяет значительно повысить длительность безрецидивного периода [20, 29]. Причем эффективность клеточных вакцин наиболее ярко проявлялась у пациентов с позитивной кожной пробой на вакцинальные антигены [9].

Исследованиями последних лет показано, что иммуногенность опухолевых клеток может быть повышена за счет генной модификации, в частности трансфекции в опухолевые клетки генов цитокинов, индуцирующих созревание ДК (GM-CSF, IL-4, TNF- α) или способ-

ствующих Th1/Th2 поляризации (IL-12, IL-18), а также использования аллогенных клеточных опухолевых линий [5]. Simons с соавт. наблюдали выраженную инфильтрацию кожи CD3⁺ Т-лимфоцитами и дендритными клетками при иммунизации пациентов раком почки аутологичными опухолевыми клетками с трансфекцией гена GM-CSF [27]. Jaffee с соавт. иммунизировали в послеоперационном периоде пациентов раком поджелудочной железы аллогенными опухолевыми клеточными линиями с трансфекцией гена GM-CSF [10]. Продолжительность безрецидивного периода у 4 из 14 пациентов с выраженной реакцией гиперчувствительности замедленного типа составила более 25 месяцев.

Вакцины на основе дендритных клеток. Стремление усилить эффективность презентации опухолевых антигенов привели к использованию в качестве клеточного адъюванта ДК [24]. ДК являются профессиональными АПК, которые играют ключевую роль в запуске и детерминировании типа иммунного ответа. Это обусловлено высоким уровнем экспрессии на ДК МНС-молекул I и II класса и костимуляторных молекул, а также продукцией цитокинов, которые являются вторым необходимым сигналом для активации Т-клеток. ДК способны активировать покоящиеся и, что особенно важно, наивные Т-лимфоциты [25]. Показано, что нагруженные опухолевым антигеном ДК стимулируют *in vitro* наиболее мощный ЦТЛ ответ. Иммунизация мышей-опухолосенителей такими ДК повышает выживаемость животных. ДК способны преодолевать состояние толерантности к опухолевым антигенам у человека и активировать как CD4, так и CD8 Т-клетки. Описано прямое цитотоксическое действие ДК на опухоль.

Все эти факты в совокупности с разработкой технологий получения большого количества ДК послужили основой для широкой клинической апробации ДК-вакцин в клинической практике. За последние годы пилотные исследования ДК-вакцин были проведены при различных формах злокачественных заболеваний, включая меланому, лимфому, миеломную болезнь, колоректальный рак, рак простаты, злокачественные опухоли головного мозга и др. [2, 4, 6, 7, 15, 18, 24]. Эти исследования продемонстрировали, что ДК, полученные из прилипающей фракции мононуклеаров периферической крови, способны индуцировать противоопухолевый иммунный

Таблица 3

Эффективность ДК-вакцин

Опухоль	Тип вакцины	Кол-во	Ответ (CR+PR), %	Ссылка
Меланома	MART-1, gp100, tyrosenase, MAGE-3	32	25	[25]
	MART-1, gp100, tyrosenase	28	17	[15]
	MART-1, gp100, tyrosenase, MAGE-3.A2	18	17	[2]
	Лизат	11	10	[4]
Рак простаты	PSMA/A2	33	22	[18]
Колоректальный рак	Modified CEA/A2 + адъювант (KLH, Flt-3)	12	17	[7]
Рак мочевого пузыря	MAGE-3.A24	4	25	[19]
Нейробластома (у детей)	Лизат + адъювант (KLH)	10	50	[21]

ответ, который у части пациентов коррелирует с клиническим ответом.

Результаты I и II фаз клинических исследований ДК-вакцин показали, в целом, хорошую переносимость ИТ и способность ДК-вакцин активировать антигенспецифические CD4 и CD8 Т-клетки. Клинический ответ в виде полной и частичной регрессий (табл. 3) зарегистрирован в 10–50% случаев, причем не только при меланоме, но и других типах опухолей. Тем не менее переход к более широкому клиническому испытанию ограничен рядом нерешенных вопросов. До сих пор нет окончательной ясности в отношении оптимального источника ДК, методов индукции их созревания, технологий нагрузки опухолевыми антигенами, наиболее эффективных протоколов вакцинаций, пути введения ДК, использования цитокинов в качестве адъювантов и регуляторов типа Т-клеточного ответа (Th1/Th2).

На сегодняшний день наибольшее распространение получили вакцины на основе миеоидных ДК, полученных культивированием прилипающей фракции мононуклеаров периферической крови с GM-CSF и IL-4 либо с GM-CSF в комбинации с IFN- α . Для созревания ДК применяется либо комбинация определенных цитокинов, либо кондиционная среда моноцитов. Источником опухолевых антигенов при нагрузке ДК могут быть пептиды и протеины, ДНК или РНК из опухолевых клеток, апоптотические тельца или грубый лизат опухолевых клеток.

Стратегии антигенной нагрузки можно разделить на 2 группы. В первом случае происходит захват и процессинг антигена. Во втором – прямое связывание пептида с антигенами гистосовместимости. Каждый вариант имеет преимущества и недостатки. Например, нагрузка пептидом проста, но ограничивает число пациентов, которых можно включить в исследование из-за наличия МНС-рестрикции. Нагрузка лизатом опухолевых клеток позволяет презентировать весь набор иммуногенного материала. Кроме того, захваченные и процессированные антигены презентуются как молекулами I, так и II класса, т. е. активируют обе популяции (CD4 и CD8) Т-клеток.

Наиболее оптимальным путем введения ДК-вакцин на сегодня признан подкожный/внутрикожный, а кратность иммунизаций, которой придерживаются большинство исследователей, составляет 1 раз в 1–2 недели. Вопрос о сочетании ДК-вакцин с использованием цитокинов представляется особо важным, поскольку известно, что IL-2 и IL-7 стимулируют пролиферацию активированных Т-лимфоцитов и способствуют их экспансии. В свою очередь, IL-12 и IL-18 детерминируют Th1 направленность ответа, а IL-15 стимулирует накопление Т-клеток памяти [7, 16, 22, 24, 26].

Вакцины на основе гибридов опухолевых и дендритных клеток. Одной из разновидностей клеточных вакцин является использование гибридов опухолевых и дендритных клеток, которые получают путем технологий слияния с помощью полиэтиленгликоля или методом электростимуляции. Гибридные клетки несут весь набор опухолевых антигенов и при этом обладают антиген-презентирующей способностью ДК. Первые клинические испытания такого рода при раке почки [12] и злокачественных глиомах головного мозга [11] показали обнадеживающие результаты.

Так, вакцинация гибридными клетками больных раком почки сопровождалась развитием клинического эффекта у $6/17$ пациентов (полная регрессия – у 4 пациентов и частичная регрессия – у 2 пациентов). Технология использования гибридных клеток имеет бесспорные перспективы. Однако прежде чем данный подход будет более широко внедрен в практику, предстоит ответить на ряд вопросов, касающихся выбора предпочтительного режима слияния клеток и определения оптимального типа используемых ДК.

Настоящее и будущее иммунотерапии злокачественных опухолей

Иммунотерапия является многообещающим подходом в профилактике и лечении злокачественных опухолей. Среди различных методов специфическая ИТ представляет особый интерес, поскольку является единственным истинно лечебным мероприятием, осуществление которого в организме не затрагивает (или затрагивает минимально) функции иммунокомпетентных клеток иной специфичности и других регуляторных систем организма. И судя по прогнозам аналитических обзоров, следующее десятилетие станет беспрецедентным по росту исследований в области противоопухолевых вакцин. Создание противоопухолевых вакцин – чрезвычайно сложная задача. Многие стратегии, успешные для создания эффективных противовирусных вакцин, оказались здесь непригодными в силу ряда обстоятельств.

Противоинфекционные вакцины являются профилактическими, а противоопухолевые – пока только лечебными на фоне уже выраженных изменений иммунитета. Могут ли они использоваться с профилактической целью? По-видимому, да. Однако чтобы в будущем избежать поголовного вакцинирования против злокачественных опухолей, следует решать проблему картирования индивидуальных маркеров, прогнозирующих развитие той или иной формы опухоли у конкретного индивида. По-видимому, важную роль здесь могут сыграть антигены главного комплекса гистосовместимости. Так, в проведенных нами исследованиях идентифицированы HLA-гены (B41, -B51, -DR1, -DR7) и их комбинации в фенотипах (B13/B18, -B18/B27, -DR1/DR7) и гаплотипах (A2/B41, -A3/B51, A9/B22, -A9/B41, -A10/B5, -A10/B51, -A1/DR1, -A2/DR7), частота которых у больных раком желудка существенно выше. Аналогичным образом выявлены HLA-антигены (A30, B40 и DR6) и их сочетания (HLA-B40 с A1, A9 DR6 и HLA-DR6 с A2, A9, B40), частота встречаемости которых существенно повышена при раке молочной железы.

Уместно также отметить, что вирусные антигены высоко иммуногенны, в то время как опухолевые – обладают низкой иммуногенностью. Более того, к опухолевым антигенам имеется толерантность, поскольку большинство из них принадлежит к аутоантигенам нормальных тканей. С учетом этих обстоятельств новый прорыв следует ожидать не в области открытия новых ОАА и путей запуска иммунного ответа, а в решении вопросов переключения иммунного ответа и его поддержания, то есть это проблемы элиминации активности супрессорных факторов, создания длительной иммунологической памяти, протекции Т-клеток от анергии и апоптоза, включения активности регуляторных клеток, способствующих поддержанию толерантности. Соответственно, важным критерием эффективности вакцин для больных

с продвинутыми стадиями опухолевого процесса может служить не только выраженность регрессии опухоли, но и длительность стабилизации процесса.

Среди способов оптимизации противоопухолевой ИТ, которые реально можно использовать уже сегодня, выделяются следующие:

- отбор для иммунотерапии должен быть ориентирован на больных с минимальными остаточными проявлениями опухоли после лечения;
- иммунотерапия должна включать сочетание различных подходов, в частности комбинацию стратегий, направленных как на инициацию ответа, так и эффекторную фазу иммунного ответа; использование мультиэпитопных вакцин вместо монопептидных; усиление эффективности вакцин за счет адъювантов (бактериальные адъюванты, цитокины, ДК, белки теплового шока);
- необходимо дальнейшее совершенствование протоколов ИТ в отношении выбора антигена и его дозы, пути и способы введения, типа адъюванта.

В качестве примера эффективности сочетанных вариантов ИТ можно привести два протокола иммунотерапии, разработанных в нашем институте. Первый из них основан на использовании ксеногенной полиантигенной клеточной вакцины (патент № 2192884) в сочетании с неспецифической активной иммунотерапией IL-2 (“Ронколейкин”). Индуцирующий курс включал 10–14 иммунизаций в течение 4 месяцев; поддерживающий –

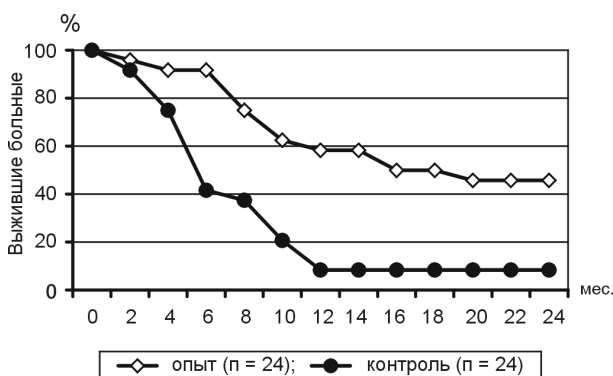


Рис. 1. Выживаемость больных меланомой IV стадии в группах пациентов, получавших (опыт) и не получавших (контроль) иммунотерапию

6–12 иммунизаций в течение 6 месяцев. Сравнительный анализ выживаемости больных меланомой IV стадии выявил значимое ($p_U < 0,01$; U-критерий Вилкоксона–Манна–Уитни) увеличение продолжительности жизни больных, получивших иммунотерапию (рис. 1).

Второй протокол комбинированной иммунотерапии основан на сочетании специфической и неспецифической адаптивной иммунотерапии с методами неспецифической активной ИТ в комплексном лечении больных со злокачественными опухолями головного мозга (патент № 2199115). Метод комбинированной иммунотерапии включает 3 этапа.

На первом – проводят индукторную фазу с использованием комплекса нативных цитокинов в виде препарата “Лейкинферон”. Второй этап представляет собствен-

но адаптивную ИТ и базируется на введении ЛАК и ЦТЛ в комбинации с IL-2 в ложе удаленной опухоли. Третий этап включает введение комплекса аутологических цитокинов, полученных при культивировании лимфоцитов больного с опухолевыми антигенами в присутствии IL-2, и направлен на поддержание активности цитотоксических клеток. Использование предложенного протокола в послеоперационном периоде у больных со злокачественными опухолями головного мозга позволило существенно повысить уровень выживаемости и улучшить качество жизни прооперированных больных

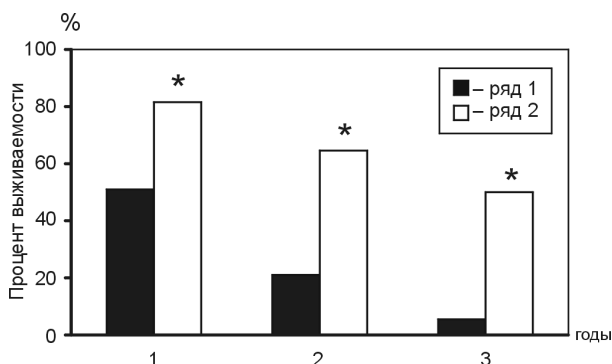


Рис. 2. Показатели 1-, 2- и 3-летней выживаемости у больных со злокачественными опухолями головного мозга.

Пациенты контрольной группы (ряд 1; $n=90$) получали стандартную терапию, включающую хирургическое удаление опухоли и радиотерапию. Пациенты основной группы (ряд 2; $n=68$), наряду со стандартной терапией, получали комбинированную иммунотерапию.

* – достоверность различий; $p_U < 0,01$ (U – критерий Вилкоксона–Манна–Уитни)

по сравнению с контрольной группой (рис. 2).

Суммируя представленные выше данные, можно заключить, что имеющиеся на сегодняшний день результаты иммунотерапии пока далеки от совершенства. Тем не менее прорыв в области молекулярной биологии и осмысление тонких механизмов взаимодействия опухоли и организма являются основой для разработки новых стратегий ИТ и вселяют надежду, что результаты лечения злокачественных опухолей могут быть существенно улучшены уже в ближайшем будущем.

MODERN PROBLEMS OF CANCER IMMUNO-THERAPY

V.A. Kozlov, E.R. Chernykh

The modern data evidencing tumor-specific immune response, the basing of cancer immunotherapy as essential part of complex management of malignant tumors, classification of different immune-based therapies and their clinical responses, advantage and disadvantage are presented in the current review. In conclusion the authors discuss future perspectives of cancer immunotherapy improvement and offer personal data illustrating the first steps in this direction.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albert M.L. // Nat. Med. 1998. Vol. 4. P. 1321–1324.
2. Banchereau J., Palucka A.K., Dhodapkar M., Burkeholder S., Taquet N., Rolland A. et al. // Cancer Res. 2001. Vol. 61. P. 6451–6458.
3. Boon T., Coulie P.G., Van den Eynde B. // Immunol. Today. 1997. Vol. 18. P. 267–268.
4. Chang A.E., Redman B.G., Whitfield J.R. et al. // Clin. Cancer Res. 2002. Vol. 8. P. 1021–1032.
5. Espinoza-Delgado I. // The Oncologist. 2002. Vol. 7. (suppl. 3). P. 20–33.
6. Fong L., Hou Y., Rivas A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 8809–8814.
7. Fong L., Engleman E.G. // Annu. Rev. Immunol. 2000. Vol. 18. P. 245–273.
8. Fyfe G., Fisher R.I., Rosenberg S.A. et al. // J. Clin. Oncol. 1995. Vol. 13. P. 688–696.
9. Harris J.E., Ryan L., Hoover Jr.H.C. et al. // J. Clin. Oncol. 2000. Vol. 18. P. 148–157.
10. Jaffee E.M., Hruban R.H., Biedrzycki B. et al. // J. Clin. Oncol. 2001. Vol. 19. P. 145–156.
11. Kikuchi T., Akasaki Y., Irie M. et al. // Cancer Immunol. Immunother. 2001. Vol. 50. P. 337–344.
12. Kugler A., Stuhler G., Walden P. et al. // Nat. Med. 2000. Vol. 6. P. 332–336.
13. Livingston P.O., Watanabe T., Shiku H. et al. // Int. J. Cancer. 1982. Vol. 30. P. 413–422.
14. Lokich J. // Am. J. Clin. Oncol. 1997. Vol. 20. P. 416–418.
15. Lotze M.T., Shurin M., Esche C., Tahara H., Storkus W., Kirkwood J.M. et al. // Cancer J. Sci. Am. 2000. Vol. 6. (Suppl. 1). P. 61–66.
16. Mashino K., Sadanaga N.F., Tanaka M. Ohta H., Yamaguchi and M. Mori // Mol. Cancer Ther. 2002. Vol. 1. (10). P. 785–794.
17. McIlmurray M.B., Embleton M.J., Reeves W.G. et al. // Br. Med. J. 1977. Vol. 1. P. 540–542.
18. Murphy G.P., Tjoan B.A., Simmons S.J., Jarisch J., Bowes V.A., Ragde H. et al. // Prostate. 1999. Vol. 38. P. 73–78.
19. Nishiyama T., Tachibana M., Horiguchi Y., Nakamura K., Ikeda Y., Takesako K. et al. // Clin. Cancer Res. 2001. Vol. 7. P. 23–31.
20. Parmiani G., Castelli C., Dalerba P., Mortarini R., Rivoltini L., Marincola F.M., Andrea A. // J. of the National Cancer Institute. 2002. Vol. 94. № 11. P. 805–818.
21. Parmiani G., Pilla L., Castelli C., Rivoltini L. // Ann. Oncol. 2003. Vol. 14. P. 817–824.
22. Rosenberg S.A., Yang J.C., White D.E. et al. // Ann. Surg. 1998. Vol. 8. P. 307–319.
23. Rosenberg S.A. et al. // N. Engl. J. Med. 1985. Vol. 313. P. 1485–1492.
24. Santini S.M., Belardelli F. // Stem Cells. 2003. Vol. 21. P. 495–505.
25. Schadendorf D., Nestle F.O. // Recent Results Cancer Res. 2001. Vol. 158. P. 236–248.
26. Shimizu K., Fields R., Giedlin M., Mule J. J. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 2268–2273.
27. Simons J.W., Jaffee E.M., Weber C.E. et al. // Cancer Res. 1997. Vol. 57. P. 1537–1546.
28. Staveley-O'Carroll K., Sotomayor E., Montgomery J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 1178–1183.
29. Vermorken J.B., Claessen A.M., van Tinteren H. et al. // Lancet. 1999. Vol. 353. P. 345–350.
30. Yu Z., Restifo N.P. // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 110. P. 289–294.