

**ОТДАЛЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ БЕЗРЕЦИДИВНОЙ
ВЫЖИВАЕМОСТИ ПАЦИЕНТОВ С РАННИМ
ВЫСОКОАГРЕССИВНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ
ВКЛЮЧЕНИИ В КОМПЛЕКСНОЕ ЛЕЧЕНИЕ
АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ДЕНДРИТНО-КЛЕТОЧНОЙ
АУТОИММУНОТЕРАПИИ**

КОШЕЛЕВ С. В. Минский городской клинический онкологический диспансер

ГОНЧАРОВ А.Е. Институт биофизики и клеточной инженерии НАНБ

ТИТОВ Л.П. РНПЦ Микробиологии и эпидемиологии МЗ РБ

КОЛОБОВ А.С. ГУ НИИ Особо чистых биопрепаратов ФМБА РФ

Современный этап повышения эффективности комплексного противоопухолевого лечения рака молочной железы (РМЖ) во многом связывается с открытиями в области молекулярной биологии и онкоиммунологии, с выявлением антигенных отличий злокачественно трансформированных и нормальных клеток.

Разработаны реальные пути индукции иммунного воздействия на конкретную опухоль, одним из которых является дендритно-клеточная (ДК) вакциноterapia, нацеленная на антигены клеток удаленных опухолей.

Одна из основных технологий направленного иммунологического воздействия на опухоль предполагает создание в организме больного мощной пропуляции специфических цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) против конкретных опухолей. Наиболее мощным стимулятором направленного иммунного воздействия являются антиген-представляющие ДК.

Ключевым моментом для развития специфического противоопухолевого эффекта является тождественность антигенов, экспрессируемых опухолевыми клетками, и антигенов, которыми праймируются ДК.

Принимая во внимание, что иммунологические защитные механизмы оказываются эффективнее на уровне присутствия в организме опухолевых клеток в пределах 5×10^9 (9). т.е. на ранних стадиях злокачественного процесса или после циторедуктивных операций, когда прогноз лечения во многом зависит от подавления уцелевших злокачественных клеток.

Для определения оптимального времени применения противорецидивной ДК- аутоиммунотерапии использованы результаты 10-летних проспективных наблюдений выживаемости пациентов с ранними клиническими стадиями РМЖ, пролеченных по радикальной программе в РНПЦ ОМР.

Установлена тождественность первого возврата болезни по времени и в процентном отношении у пациентов как с нодуль-позитивными (n=60), так и с нодуль-негативными (n=104) опухолями.

Более 40% всех случаев первых рецидивов болезни за 10 лет наблюдения определялись на 2-3 год послеоперационного периода.

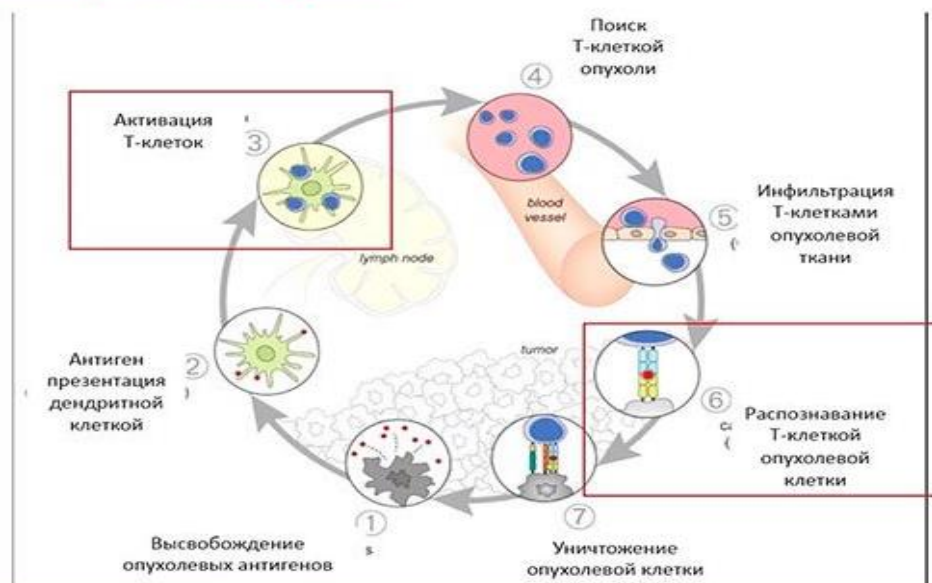
Выявлена тесная связь между биологической агрессивностью удаленных опухолей и уровнем безрецидивной выживаемости пациентов ($P_{log-rank} < 0,0001-0,0006$) после первичной комплексной терапии по поводу раннего РМЖ со средней степенью гистологической злокачественности G2.

Биологическая агрессивность опухолей определялась по дисбалансу пролиферативно-апоптотического потенциала злокачественных клеток на фоне сниженного уровня апоптоза.

Сравнительное изучение бессобытийной выживаемости пациентов при разном уровне экспрессии биомаркеров, характеризующих темпы роста новообразований, показало что у 10% пациентов с I ст. и у 35% при II ст. заболевания диагностируется биологически агрессивный РМЖ с прогностически высоким риском раннего рецидива болезни. Полученные данные подтверждают объективную необходимость внедрения дополнительных методов противорецидивного лечения, в том числе и иммунологического, обращая особое внимание на высоко агрессивные формы болезни.

Одним из интенсивно развивающихся направлений против рецидивов опухолевого процесса является использование антигенспецифических ДК-онковакцин. Основная стратегия таких вакцин рассматривается как определение мишеней для поражающего иммунного воздействия – (высоко экспрессируемых опухолевых антигенов) с последующим развитием гибели злокачественных клеток.

Иммунный цикл



В данном проекте использовано направленное иммунное воздействие на опухолевые клетки с высокой экспрессией мутантного p53 (выбранного в качестве антигенной мишени), которая регистрировалась в опухолях пациентов с РМЖ T2N1MO G3. Учитывая, что возврат болезни при лечении пациентов с биологически высоко агрессивными опухолями прогностически возможен к 3-му году после первичного лечения, начало 2-го года послеоперационного периода было определено для проведения активной антигенспецифической ДК-аутоиммунотерапии.

В ходе клинических испытаний, утвержденных МЗ РБ, осуществлялся мониторинг клинико-лабораторных показателей состояния пациентов для оценки безопасности и эффективности лечения и характеристики иммунного воздействия. Разработаны и утверждены соответствующие Инструкции.

Установлено отсутствие негативных изменений в функционировании жизненно важных органов при применении ДК-иммунотерапии. Не зарегистрировано развития признаков вторичного иммунодефицита, выявлено общегрупповое снижение содержания Т-регуляторных клеток CD4+CD25+, что указывает на отсутствие развития иммунологической толерантности и активацию иммунного ответа, являясь благоприятным прогностическим признаком (табл.1).

Таблица 1

Показатели клеточного иммунитета пациентов при ДК-аутоиммунотерапии
в ходе первичного лечения биологически агрессивного РМЖ T2N1M0

Группа	Популяция клеток, %					
	CD3 ⁺ HLA	CD3 ⁺ CD69 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD28 ⁺	CD45R0 ⁺	НК-клетки
До терапии	9,5 (5,1–15,1)	4,4 (3,2–6,1)	4,71 (2,91–6,68)	49,2 (42,4–59,0)	44,0 (36,7–52,3)	16,3 (11,3–22,4)
После терапии	8,2 (5,3–16,6)	7,5(4,4–9,1)	2,51 (1,89–3,37)	41,0 (38,3–52,6)	45,7 (39,0–50,0)	18,3 (13,3–25,7)
p	0,433	0,022	0,0004	0,008	0,911	0,341

Прослеживалась четкая тенденция нарастания CD3+ИФН-гамма+ ($p < 0,1$) после ДК-иммунотерапии (табл.2), что использовалось как показатель эффективного иммунного ответа.

Таблица 2

Относительное содержание лимфоцитов продуцирующих цитокины ИФН- γ и ИЛ-17 у пациентов при ДК-аутоиммунотерапии РМЖ T2N1M0

Группа пациентов	Клеточный тип	
	CD3 ⁺ ИФН- γ ⁺ , %	CD3 ⁺ ИЛ-17 ⁺ , %
До терапии (n = 20)	14,5(8,8–17,5)	0,55(0,17–0,71)
После терапии (n = 20)	16,3(13,2–22,4)	0,57(0,43–0,74)
p	0,086	0,455

- В ходе исследований установлено, что антигенспецифический направленный иммунный ответ, формирующийся при тождественности праймеров ДК гиперэкспрессируемым опухолевым антигенам, регистрировался приблизительно в 80% случаев .
- Устойчивый иммунологический эффект , контролируемый в соответствии с разработанной инструкцией , требовал повторных вакцинаций. Лечение состояло из 5 курсов вакцинаций, разделенных на 2 блока в 3 и 2 курса с трёхмесячным перерывом.
- Для оценки динамики специфического иммунного ответа на ДК-аутоиммунотерапию как эффективности воздействия применяемого лечения использовались результаты проточной цитометрии уровня ИФН-гамма- продуцирующих CD3+ T –лимфоцитов.

Проведен анализ безрецидивной выживаемости исследуемой группы пациентов с высоко агрессивным РМЖ T2N1M0G3, пролеченных с включением в первичное комплексное лечение антигенспецифической ДК-аутоиммунотерапии.

Выявлено повышение безрецидивной выживаемости пациентов с высоко агрессивным РМЖ T2N1M0 G3 по сравнению с ретроспективной контрольной группой T1-2N0-1M0 G2 и популяционной группами пациентов T1-2N0-1M0 ($p < 0,05$).

Наиболее значимым является факт отсутствия возврата болезни в исследуемой группе пациентов с ранним высокоагрессивным РМЖ II ст в течение 6 лет после первичного комплексного лечения с включением антигенспецифической ДК—аутоиммунотерапии .

Длительность свободного от болезни послеоперационного периода (годы) в группах сравнения (ДК- n=60, ДК+ n=22), указан % первых рецидивов по годам

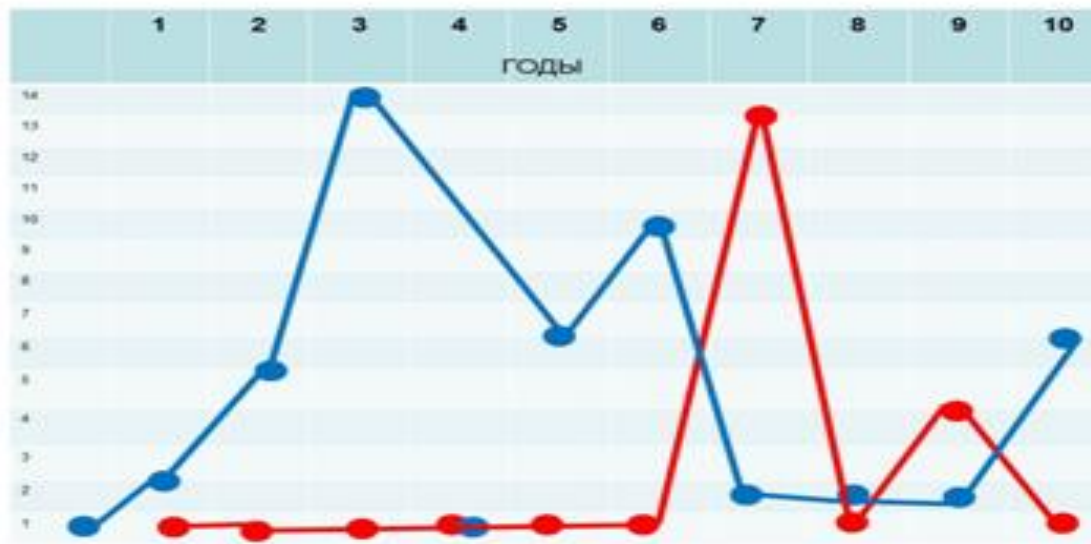


Рис. Выявляемость первых метастазов после первичного комплексного лечения высоко агрессивного РМЖ с применением и без применения ДК-иммунотерапии
 T1-2N1M0 G2 ДК (-) T2N1M0 G3ДК+ +



Проведенное клиническое исследование позволило конкретизировать детали Метода антигенспецифической ДК-аутоиммунотерапии для дальнейшего применения в онкологической практике.

АНТИГЕНСПЕЦИФИЧЕСКАЯ ДК-АУТОИММУНОТЕРАПИЯ ЯВЛЯЕТСЯ ДОПОЛНИТЕЛЬНЫМ ЭЛЕМЕНТОМ ПРОТИВОРЕЦИДИВНОЙ СТРАТЕГИИ ЛЕЧЕНИЯ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ, СПОСОБНОЙ АКТИВИРОВАТЬ НАПРАВЛЕННЫЙ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ПАЦИЕНТОВ С ГИПЕРАГРЕССИВНЫМ РАННИМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ВЫСОКИМ РИСКОМ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ БОЛЕЗНИ