



**Разработка противоопухолевых вакцин сегодня признана одним из приоритетных направлений исследований в онкологии. На Всемирном конгрессе онкологов, проходившем в г. Рио-де-Жанейро в 1998 г., создание противоопухолевых вакцин было названо одним из трех наиболее перспективных направлений развития онкологии и с тех пор находится в фокусе научного интереса исследователей из разных стран. К настоящему времени разработан ряд технологий создания таких вакцин, в том числе с использованием дендритных клеток (ДК).**

Как известно, именно отсутствие адекватного иммунного ответа ассоциируется с появлением злокачественных новообразований и дальнейшим прогрессированием онкологического процесса. Недостаточная реакция со стороны иммунной системы может быть обусловлена как исходно слабой иммуногенностью антигенов опухоли, так и способностью самого новообразования вызывать местную и системную иммунодепрессию, сопровождающуюся снижением активности Т-лимфоцитов и нарушением механизма представления опухоляссоциированных антигенов.

Понимание того, что опухолевые клетки характеризуются наличием механизмов ускользания от иммунного надзора и повышением устойчивости к факторам иммунитета по мере роста опухоли, позволило ученым предположить, что подход, заключающийся в манипуляции иммунной системой, имеет перспективы для применения в послеоперационном периоде как метод противорецидивного и анти-метастатического лечения.

В нашей стране разработкой противоопухолевых вакцин занимаются в течение многих лет, можно говорить о формировании ряда научных школ, занимающихся разными подходами к решению данной проблемы. Среди последних перспективных разработок украинских ученых — вакцины на основе ДК, обсуждению которых посвящена эта публикация.



**Директор Национального института рака (НИР), доктор медицинских наук, профессор Игорь Борисович Щепотин:**

— Долгие годы в онкологии были признаны только три основных метода лечения: хирургическое вмешательство, лучевая и химиотерапия, на которых основывалось лечение рака самых разных локализаций. Последнее десятилетие характеризуется бурным развитием биотерапии, во многом изменившей наши представления о возможностях ведения больных со злокачественными новообразованиями. Одним из значимых направлений биотерапии рака сегодня признаны противоопухолевые вакцины.

Еще 20 лет назад сама идея противоопухолевых вакцин казалась чем-то из

разряда научной фантастики, однако сегодня мировое научное сообщество возлагает немалые надежды на это направление. Большинство разрабатываемых сегодня вакцин (в том числе вакцины на основе ДК) применяются уже при развившемся заболевании. Однако известные и профилактические вакцины: так, обнаружение вируса папилломы человека (ВПЧ), вызывающего рак шейки матки (РШМ), открыло перед учеными возможности профилактики инфицирования высокоонкогенными штаммами ВПЧ. За это выдающееся научное достижение немецкому ученому Харальду цур Хаузену в 2008 г. была присуждена Нобелевская премия в области физиологии и медицины. Метод вакцинопрофилактики РШМ быстро стал востребованным во всем мире, и в ряде западных стран вакцинирование против ВПЧ вошло в обязательный календарь прививок для девочек.

Следующий прорыв в изучении противоопухолевых вакцин связан с раскрытием функций ДК и их значения для приобретенного иммунитета. Эти исследования послужили основанием для присуждения еще одной Нобелевской премии, которая была вручена в 2011 г. американскому иммунологу и цитологу Ральфу Штайнману. В последние годы отмечается повышенный интерес к ДК, с использованием которых связывают прогресс в самых разных областях медицины, в том числе в онкологии. Фактически, сегодня все крупные профильные научные форумы не обходятся без обсуждения этой темы. Таким образом, научная перспективность использования ДК в онкологической практике во всем мире оценивается как достаточно высокая.

Обсуждаемые сегодня вакцины созданы в НИР на основе наших собственных технологий, а также с привлечением специалистов Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины (ИЭПОР), с которыми мы сотрудничаем. На эти вакцины получен патент Украины, они используются для профилактики рецидивов и метастазов рака и создаются индивидуально для каждого пациента. В настоящее время проводятся клинические исследования их применения при раке легкого и раке яичника, но можно предполагать, что в перспективе показания для их применения могут быть расширены.

Результаты наших исследований были озвучены в рамках ведущих мировых научных форумов, посвященных данной проблеме, а также опубликованы в ряде профильных научных журналов. Приятно отметить, что нашей разработкой серьезно заинтересовалось зарубежное научное сообщество.

Таким образом, сегодня в нашем распоряжении появилось еще одно достаточно эффективное средство для лечения рака, которое может использоваться в комбинации с уже существующими методами, в том числе у пациентов, имеющих противопоказания к проведению химиотерапии. Очень хотелось бы, чтобы это направление не затерялось, развивалось дальше, получило поддержку и признание в нашей стране.



**Заместитель директора Национального института рака, заведующая научно-исследовательским отделением химиотерапии гемобластозов, доктор медицинских наук Ирина Анатольевна Крячок:**

— Научная тема, связанная с разработкой и изучением противоопухолевых вакцин, разрабатывается в НИР в течение нескольких десятилетий. Начиная с 2003 г. создание вакцин на основе ДК выделено в НИР в качестве наиболее перспективного направления исследований.

В основу создания вакцины положена идея усиления иммуногенности опухоли, обеспечение активации собственных сил организма для борьбы с заболеванием. Первые вакцины создавались на основе дендритизированных опухолевых клеток без включения адьювантов. Развитие науки и технологий существенно расширило познания ученых в отношении особенностей формирования и функционирования системы противоопухолевого иммунитета, в результате были созданы адьюванты, применяющиеся в составе вакцин и существенно повышающие иммунный ответ на опухоляссоциированные антигены. Одним из таких адьювантов являются ДК. На сегодняшний день противоопухолевые вакцины на основе ДК зарекомендовали себя как наиболее эффективные.

К настоящему времени в НИР две вакцины на основе ДК, созданные по двум разным технологиям, находятся на этапе клинических исследований. Работа выполняется специалистами лаборатории экспериментальной онкологии НИР с привлечением специалистов из других подразделений. Ранее мы мало говорили об этом направлении исследований, но обнадеживающие результаты применения данных вакцин, полученные в рамках клинических испытаний, позволили нам сегодня предложить ряд публикаций, посвященных этой теме, на соискание Государственной премии.

Необходимо подчеркнуть, что применение вакцин на основе ДК — это лишь часть комплексного лечения онкологических больных. Вакцины производят после хирургического лечения с использованием полученного в процессе операции опухолевого материала, а также клеток, выделенных из крови пациента. Далее больной продолжает основное лечение (химиотерапию и др.) и после его окончания несколько раз получает вакцину, которая позволяет закрепить полученный результат, обеспечивая специфическую иммунопрофилактику рецидивов и метастазов.

Таким образом, применение дендритноклеточной вакцины не может рассматриваться как самостоятельный терапевтический метод и позиционируется как компонент комплексного лечения в сочетании с хирургическим вмешательством,

химио- и лучевой терапией. Как показали наши исследования, применение вакцины в составе комплексного лечения приводит к повышению общей эффективности терапии, увеличивая выживаемость больных. Подчеркну, что сейчас метод находится на завершающих этапах изучения и только после регистрации будет доступен для применения в рутинной клинической практике.



**Заведующая лабораторией экспериментальной онкологии и лучевой патологии Национального института рака, кандидат биологических наук Наталья Николаевна Храновская:**

— К настоящему времени в мире проведено более 100 клинических испытаний вакцин на основе ДК, в которых участвовали больные с распространенными стадиями заболевания; в результате был сделан вывод, что применение данных вакцин должно быть направлено не столько на борьбу с первичной опухолью, сколько на предотвращение развития рецидивов и метастазов. При этом роль такой вакцины в терапевтическом процессе может быть очень большой, ведь основной причиной гибели онкологических больных является именно прогрессирование заболевания, развитие рецидивов и метастазов. Поэтому критерии назначения вакцин на основе ДК мировым научным сообществом были пересмотрены, и сегодня за рубежом начаты исследования в этом направлении. У нас на данный момент уже получены результаты клинических испытаний; кроме того, при создании вакцин на основе ДК нами используются оригинальные подходы, не имеющие аналогов в мире (один из этих подходов разработан в нашем институте, другой — в ИЭПОР). В связи с этим интерес зарубежных ученых к результатам наших исследований очень велик.

Как известно, ДК играют ключевую роль в формировании приобретенного иммунитета. Исследования показывают, что количество ДК в организме больных злокачественными опухолями снижено, а сами они функционально неполноценны. Предполагается, что уменьшение количества ДК и потеря ими ряда функций может быть одной из главных причин отсутствия полноценного иммунного ответа на развивающуюся опухоль. То есть, даже целенаправленное введение антигенов опухоли в организм не приводит к достаточной активации иммунитета (с чем может быть связан недостаточный успех от применения вакцин, созданных по другим принципам). При культивировании ДК в условиях *in vitro* удается избежать отрицательного влияния иммуносупрессивных факторов, обеспечить нормальное созревание этих клеток и презентацию опухолевых антигенов на их поверхности. С этой целью ДК культивируются в среде, содержащей опухолевый материал.

Для создания вакцины полученная у пациента опухолевая ткань специфически обрабатывается, что позволяет повысить иммуногенность опухолевых антигенов. Один из видов подготовки опухолевой ткани разработан в Лаборатории медицинской физики и биоинженерии НИР: под руководством доктора биологических наук профессора В.Э. Орла был подобран оптимальный режим и способ механической активации лиофилизированной опухолевой ткани, при котором обеспечивается максимальная гетерогенность антигенного материала. Наши исследования показали, что среди всех способов механической подготовки опухолевых клеток предложенный в НИР метод наиболее эффективен с точки

зрения иммуногенности. Второй метод подготовки опухолевых антигенов разработан специалистами ИЭПОР.

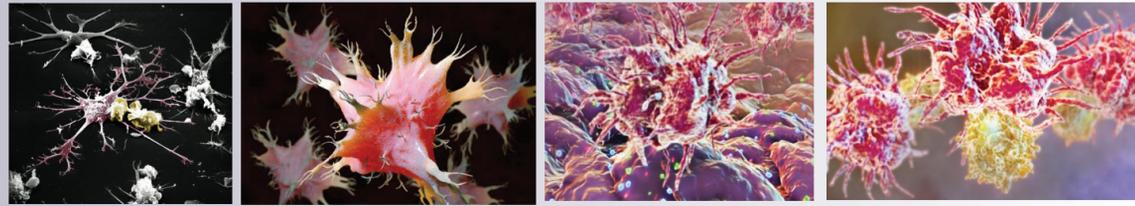
НИР получено разрешение Центральной комиссии по биоэтике Министерства здравоохранения Украины на проведение клинических исследований второй и третьей фазы. Проведено рандомизированное клиническое исследование третьей фазы с применением ДК-вакцины у больных с IV-IIIa стадиями немелкоклеточного рака легкого. В итоге показатель 5-летней выживаемости больных в исследуемой группе увеличился на 25% по сравнению с контрольной группой, не получившей вакцину. Также завершено рандомизированное клиническое исследование второй фазы у больных с III-IV стадиями рака яичника, в котором использовалась другая ДК-вакцина. Показано, что 5-летняя выживаемость увеличивается на 35%. При проведении этих исследований строго соблюдались принципы доказательной медицины, в них принимали участие два научных центра (НИР и Киевский городской онкологический центр).

Следует отметить, что побочные явления при использовании вакцин на основе ДК не соизмеримы с таковыми для химиотерапии. В рамках клинических исследований у 10% пациентов отмечалось повышение температуры тела, озноб; примерно у 1% больных зарегистрировано увеличение лимфатических узлов; иногда отмечалась незначительная болезненность в месте введения. Все побочные эффекты носили транзиторный характер и, как правило, не требовали дополнительного лечения (в отдельных случаях купировались однократным приемом жаропонижающего средства).

Сегодня в рамках пилотных исследований мы также изучаем возможности применения вакцин при раке почки и раке желудка — количество больных еще незначительно и период наблюдения небольшой, но уже получены весьма обнадеживающие результаты. Кроме того, начаты пилотные исследования вакцины при раке грудной железы и колоректальном раке.

Один курс введения вакцины на основе ДК составляет пять введений с интервалом 1 раз в месяц. При раке легкого и раке яичника в рамках исследований вакцина вводится внутривенно, при раке почки и раке желудка — внутривенно. Согласно нашему протоколу, стандартная терапия предполагает проведение двух курсов вакцинотерапии с перерывом между ними продолжительностью 6 мес. Наши исследования показали, что активный иммунный ответ начинает развиваться после третьего введения вакцины. После каждого введения (перед следующим) осуществляется контроль антигенспецифического иммунного ответа, позволяющий индивидуализировать подход к лечению. Нами разработаны критерии оценки эффективности ответа на вакцинацию, включающие целый комплекс биомаркеров, которые позволяют с большой степенью вероятности прогнозировать и оценивать выраженность ответа на вакцину у конкретного больного.

В настоящее время мы находимся на финальном этапе регистрации дендритноклеточной вакцины для применения при раке легкого. Предполагается, что вакцина будет зарегистрирована как клеточный препарат, а не иммунобиологический, поскольку данные вакцины сложно подлежат стандартизации. В перспективе, по завершении всех исследований и процедуры регистрации противоопухолевых вакцин на основе ДК могут производиться на базе лабораторий крупных онкологических центров, после установки соответствующего оборудования и обучения персонала. Процедура создания таких вакцин в целом относительно проста и доступна для применения в рутинной клинической практике.

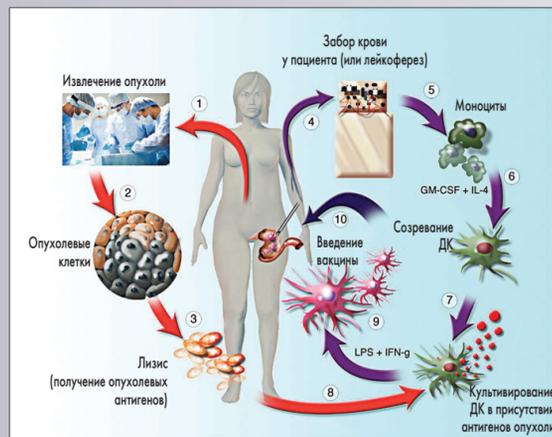


#### Дендритные клетки: факты

- Дендритные клетки (дендроциты, клетки Лангерганса, ДК) — гетерогенная популяция антигенпрезентирующих клеток костномозгового происхождения. Впервые описаны Полом Лангергансом в конце XIX века. Современное название ДК дано Ральфом Штайнманом, получившим Нобелевскую премию в 2011 г. за раскрытие их функций.
- На определенных этапах развития ДК имеют разветвленную форму, напоминающую отростки нейронов (дендриты). Они экспрессируют на своей поверхности набор молекул, характерных для других антигенпрезентирующих клеток.
- У человека выделяют две субпопуляции ДК: миелоидные ДК, которые происходят из общего миелоидного гемопоэтического предшественника, и плазмацитоидные ДК, имеющие лимфоидное происхождение и морфологически напоминающие плазматические клетки.
- Важной особенностью ДК является способность захватывать из окружающей среды различные антигены.
- Основной функцией ДК является презентация антигенов Т-лимфоцитам. Кроме того, ДК выполняют важные иммунорегуляторные функции, в частности осуществляют контроль дифференцировки Т-лимфоцитов, регуляцию активации и супрессии иммунного ответа.

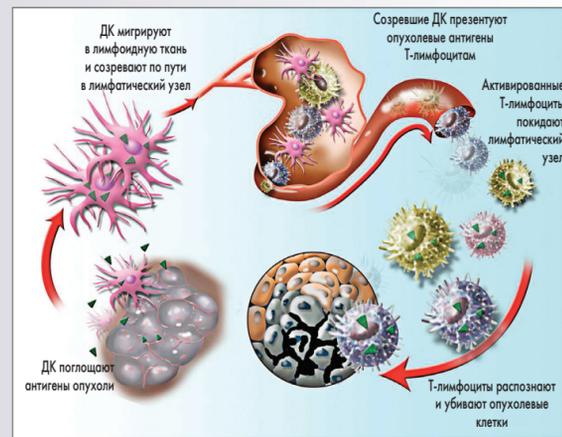
#### Дендритноклеточные вакцины: принципы создания и применения

- Вакцина изготавливается из биологического материала пациента, содержит антигены, специфические для данной опухоли и стадии ее развития.
- ДК получают из моноцитов периферической крови, в том числе полученных путем лейкофереза, при их культивировании *in vitro* под воздействием колониестимулирующих факторов, интерлейкинов. Из 100 мл периферической крови выращивают около 5 млн ДК — доза, достаточная для однократного введения пациенту.
- ДК культивируются *in vitro*, что позволяет избежать отрицательного влияния иммуносупрессивных факторов, выделяемых опухолью.



Создание экспериментальной вакцины на основе дендритных клеток

- Созревая в присутствии лизата опухолевых клеток, ДК поглощают антигены опухоли и презентуют их на своей поверхности. В организм вводятся созревшие активные ДК.
- Перед введением пациенту осуществляется контроль качества вакцины: проводится фенотипирование клеток и функциональные тесты, подтверждающие ее активность.
- Используются внутривенный и внутривенный пути введения ДК-вакцины; подкожный путь введения отечественными учеными признан бесперспективным. Исследования с использованием лабораторных животных показали, что при внутривенном введении вакцины ДК попадают в паренхиматозные органы и мигрируют в их лимфоидные компартменты. При внутривенном введении вакцины осуществляется миграция ДК в лимфатические узлы, ближайшие к месту введения.
- После введения в организм пациента ДК мигрируют в лимфоидную ткань, где участвуют в обучении Т-лимфоцитов и инициируют их пролиферацию.
- Клон Т-лимфоцитов, обученный распознавать опухолеспецифические антигены, обеспечивает активацию иммунной защиты. Терапевтический эффект вакцины связывают с активацией цитотоксических Т-лимфоцитов, активность которых обычно снижена у онкологических больных.
- Применение вакцины противопоказано пациентам с аутоиммунными заболеваниями, тяжелыми сопутствующими заболеваниями, флебитами, а также в случае иммунодепрессии, в частности лейкопении, лимфопении. При иммунодепрессии, вызванной химиотерапией, введение вакцины откладывается до нормализации иммунологических показателей.
- Перед каждым введением вакцины осуществляется мониторинг показателей иммунной системы и гематологических показателей.
- На протяжении лечения (после каждого введения) осуществляется контроль иммунного ответа. Формирование эффективного противоопухолевого иммунного ответа при вакцинотерапии требует от нескольких недель до нескольких месяцев.



Механизм формирования естественного иммунного ответа при участии дендритных клеток



**Заведующий отделом конструирования средств биотерапии рака Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, доктор медицинских наук Григорий Платонович Потебня:**

— Прогрессия опухолевого роста сопровождается лавинообразным накоплением мутаций, влекущим за собой последовательное изменение антигенной структуры опухоли. В связи с этим создание унифицированной терапевтической вакцины против тех или иных локализаций рака не представляется возможным (что подтверждено целым рядом неудачных попыток, которые известны в истории онкологической науки). На сегодняшний день аутовакцины, изготавливаемые индивидуально для каждого больного, признаны наиболее действенным средством специфической иммунотерапии онкологических заболеваний. Это полимодальные

вакцины, содержащие весь спектр антигенов, присущих опухоли данного конкретного пациента (в том числе индивидуальные и стадийспецифические).

ИЭПОР накоплен большой опыт в создании противоопухолевых вакцин. Эффективность специфической аутовакцины, разработанной на базе ИЭПОР, связана прежде всего с выбором адьюванта, усиливающего иммунный ответ. Антигены опухолей, полученные в ходе хирургического вмешательства, при создании данной вакцины модифицируются цитотоксическими лектинами — продуктами синтеза сапрофитной культуры *Bacillus subtilis* B-7025. Наши исследования показали, что использование аутологических вакцин, модифицированных бактериальными лектинами, при применении в составе комплексной терапии значительно увеличивает продолжительность жизни больных при отдельных локализациях и гистологических формах рака, а также нормализует иммунологические показатели и улучшает качество жизни пациентов.

Совместные исследования, проведенные с НИР, показали, что культивирование ДК в присутствии опухолевых антигенов,

усиленных бактериальными лектинами (то есть фактически аутологической вакцины, разработанной в ИЭПОР) ведет к дополнительной активации ДК и дополнительно усиливает иммунный ответ. Это связано с тем, что бактериальные лектины являются самостоятельным «сигналом опасности» для ДК. Таким образом, и бактериальные лектины, и сами ДК рассматриваются как адьюванты, усиливающие иммунный ответ на опухолевые антигены. Эффективность дендритноклеточной вакцины, созданной по такому принципу, изучалась НИР при раке яичников, получены весьма оптимистичные результаты.

**В целом результаты отечественных и зарубежных исследований свидетельствуют о перспективности терапевтического применения вакцин на основе антигенпрезентирующих дендритных клеток. Преимуществами вакцинотерапии является хорошая совместимость с другими методами лечения, существенное снижение риска развития рецидивов и метастазов при минимальных побочных эффектах.**

Подготовила **Катерина Котенко**