

Фактор переноса и проблема иммунопрофилактики метастазов злокачественных новообразований



Ю.А. Гриневич

Фактор переноса (ФП) – вещество, секретируемое сенсibilизированными к антигенам лимфоцитами и способное передать иммунной системе интактного реципиента повышенную чувствительность к соответствующему антигену, – вызывает большой интерес с точки зрения применения в медицине. В последние годы ФП активно исследуется онкологами, показана перспективность его применения в онкологической практике. Об этом и многом другом нашему корреспонденту рассказал лауреат Государственной премии Украины в области науки и техники, главный научный сотрудник лаборатории клинической иммунологии Национального института рака (НИР, г. Киев), доктор медицинских наук, профессор Юрий Акимович Гриневич.

? В чем состоит ФП и каковы предпосылки для его терапевтического применения в онкологической практике?

– Не секрет, что основной причиной высокой летальности онкологических больных остается высокая частота рецидивирования и развития метастазов злокачественных опухолей. Применяющиеся сегодня методы лечения не способны в полной мере предотвратить эти процессы, к тому же некоторые стандартные методы (в частности, лучевая и химиотерапия) сами по себе обладают высокотоксичным и потенциальным канцерогенным действием. В течение последних десятилетий интенсивно разрабатывается новый подход к лечению злокачественных новообразований – иммунотерапия, поскольку результаты основного лечения не удовлетворяют ни врачей, ни тем более онкологических больных. Методы иммунотерапии воздействуют на естественные защитные механизмы человеческого организма, стимулируя к борьбе с опухолью, и не обладают высокой токсичностью. В частности, в НИР проводятся клинические испытания ряда противоопухолевых вакцин, изготавливаемых на основе дендритных клеток. Иным подходом к формированию опухолиспецифического иммунного ответа организма может быть использование субклеточных фракций, сенсibilизированных к опухолевым антигенам лимфоцитов.

Одним из доступных сегодня методов иммунотерапии являются препараты ФП, которые активно изучаются. Действующим началом таких лекарственных средств являются полипептиды Т-клеточного происхождения с низкой молекулярной массой (3–12 кДа), способные переносить клеточно-опосредованные иммунные реакции на антиген.

ФП был описан Н.С. Lawtence в 1955 г. Ученый установил, что низкомолекулярный диализированный экстракт лейкоцитов доноров, сенсibilизированных к определенному антигену, при введении неиммунному реципиенту позволяет перенести последнему сенсibilизацию к указанному антигену. В результате у реципиента развивается клеточно опосредованная иммунная реакция в виде гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Вещество, которое переносит состояние сенсibilизации, было названо «фактором переноса».

? Каковы основные свойства ФП? Насколько это вещество поддается очистке и идентификации?

– На сегодня известно, что ФП – это целая группа низкомолекулярных соединений с молекулярной массой <10 000 Да. Таких веществ, которые обладают иммунофармакологической активностью и относятся к группе ФП, сегодня насчитывают более 200. Для очистки ФП от других соединений применялись разные методы, но ни один из них не обеспечил степени чистоты, необходимой для проведения структурного анализа и использования технологии молекулярного клонирования. Тем не менее установлено, что антигенспецифическая активность ФП связана с небольшими полипептидами (3,5–12,0 кДа). Эти полипептиды способны аффинно связываться с антигенными детерминантами, соответственно перенося иммунореактивность неиммунному реципиенту. Эти полипептиды были названы трансферфакторными.

Перенос с помощью ФП не рестриktирован молекулами главного комплекса гистосовместимости, поэтому его препараты можно применять как в алло-, так и ксеногенной системах. Собственно ФП не содержит антигенных детерминант, тем не менее он связывается с антигеном, к которому донор был сенсibilизирован. Антигенспецифическая иммунореактивность, индуцированная ФП, может быть серийно перенесена от небольшого количества лимфоцитов в систему *in vitro*, вовлекая таким образом в реакцию ГЗТ значительную популяцию несенсibilизированных клеток. Очевидно, что структура ФП определяет специфические антигенсвязывающие свойства и тем самым обеспечивает специфическое распознавание, включая в этот процесс клетки иммунной системы реципиента.

Способность ФП переносить состояние ГЗТ подтверждается *in vitro*, и данные этих тестов хорошо коррелируют с индукцией ГЗТ *in vivo*. Известно, что ФП активен при влиянии на иммунокомпетентные клетки в крайне малой (фемтомолярной, 10^{-15}) концентрации. Полипептиды, входящие в его состав, адсорбируются прежде всего на цитоплазматической мембране Th1-клеток и, вероятно, заставляют иммунокомпетентные клетки реципиента включаться в формирование специфического иммунного ответа.

В организме ФП действует, главным образом, на эффекторные механизмы клеточно-опосредованного иммунитета: индуцирует продукцию Th1-цитокинов (прежде всего гамма-интерферон – IFN- γ и интерлейкин – IL-1, -2), что сопровождается развитием иммунного ответа по Th1-сценарию и угнетением ответа, опосредованного Th2-клетками. Благодаря такому комплексному эффекту в организме реципиента восстанавливается количество и функциональная активность Т-лимфоцитов и активируются клетки врожденного иммунитета. При этом ФП регулирует продукцию иммунокомпетентными клетками таких провоспалительных факторов, как оксид азота, IL-6, -8 и фактор некроза опухоли (ФНО), что может предотвращать развитие иммунопатологических состояний. По данным ряда авторов, ФП запускает механизм иммунной реактивности в течение короткого промежутка (нескольких часов), однако реакция ГЗТ, перенесенная с их помощью, может длиться около года.

Большой интерес представляет влияние ФП на гемопоэз. Было выявлено, что при введении данного препарата животным с миелосупрессией, полученной в результате воздействия ионизирующего излучения или цитостатической терапии, наблюдается восстановление количества гранулоцитов, моноцитов, тромбоцитов и эритроцитов. Наиболее эффективным было введение ФП на 3–4-е сутки после химиотерапии.

? Используются ли в настоящее время препараты ФП в клинической практике?

– Несмотря на то что до сих пор точно не идентифицировано конкретное вещество, с помощью которого осуществляется перенос иммунореактивности, это не препятствует производству и использованию ФП во многих странах мира. Препараты ФП под разными коммерческими названиями выпускают в Швейцарии, Франции, Германии, США, Китае, Японии, Кубе, Чехии, Мексике и других странах. Все эти лекарственные средства отнесены к группе иммунофармакологических, содержат неспецифические трансферфакторные полипептиды и используются для лечения широкого спектра патологических процессов и состояний, при которых нарушены клеточные

компоненты иммунореактивности организма. Помимо онкологических заболеваний, к их числу относятся рецидивизирующие и диссеминированные инфекции, некоторые аллергические, аутоиммунные заболевания. Препараты ФП получают из лейкоцитов здоровых людей или животных (крупного рогатого скота, свиньи). Донорская лейкоцитарная масса, используемая как исходное сырье для получения таких биологических препаратов, в некоторых случаях является побочным продуктом производства лейкоцитарного интерферона. Следует отметить, что все препараты крови человека нуждаются в дополнительной обработке, что гарантирует безопасность относительно передачи вирусов гепатита, иммунодефицита человека и др.

? Какая доказательная база накоплена сегодня в отношении препаратов неспецифического ФП?

– Клиническая эффективность иммунотерапии больных онкологического профиля препаратами неспецифического ФП показана многими авторами.

В частности, Н. Lawtence (1996) в двойном слепом рандомизированном исследовании, включавшем 60 больных инвазивным раком шейки матки (РШМ), которые после хирургического лечения и лучевой терапии в течение 3 мес получали ФП (из лейкоцитов крови доноров) либо плацебо, показал, что в группе ФП (период наблюдения составил 2 года), рецидивы заболевания имели место у 16% пациентов, тогда как в контрольной группе их частота достигала 39%.

Исследование Т. Fujisawa (1985) показало, что иммунотерапия препаратами неспецифического ФП в адьювантном режиме у 263 пациентов немелкоклеточным раком легкого (РЛ) эффективна лишь при I стадии заболевания. При II–III стадиях РЛ такая иммунотерапия угнетала метастазирование, но существенным образом не влияла на продолжительность жизни больных. Автор указывает на то, что образцы ФП, полученные от разных клеточных источников, при их общем культивировании с опухолевыми клетками и IL-2 обнаруживают специфическую цитотоксическую активность в системе *in vitro*. Кроме того, в более ранней работе Т. Fujisawa и соавт. (1984) при наблюдении за больными с аденокарциномой легкого I–IV стадии (n=102),

получавшими препарат неспецифического ФП после хирургического лечения, отметили, что выживаемость пациентов с I стадией РЛ была значительно выше, чем в контрольной группе. При II-IV стадиях заболевания статистически достоверных различий по этому показателю не выявлено. Тем не менее при анализе результатов были установлены существенные различия в выживаемости радикально прооперированных больных в зависимости от проведения или не проведения иммунотерапии ФП. Авторы пришли к выводу, что применение ФП предупреждает развитие рецидивов РЛ и является эффективным послеоперационным иммунотерапевтическим средством, особенно на ранней стадии заболевания.

В другом исследовании R. Whyte и соавт. (1992) показали эффективность применения неспецифического ФП у больных с III стадией РЛ в послеоперационном периоде на протяжении 3 мес. Проведение такой иммунотерапии продемонстрировало достоверное улучшение показателей выживаемости пациентов в сравнении с таковой контрольной группы. Так, среди больных, которые получали ФП, 2-, 5- и 10-летняя выживаемость составляла 82, 64 и 43% соответственно, в контрольной группе – 63, 43 и 23% соответственно.

Имеют место также другие сообщения с обнадеживающими клиническими результатами применения ФП у больных с поздними стадиями РЛ. Так, M. Kirsh и соавт. (1984) опубликовали результаты наблюдения за 356 пациентами с III стадией РЛ, которым на протяжении 18-36 мес было проведено комбинированное лечение адьювантной химиотерапией с ежемесячным введением неспецифического ФП (начиная с 1-го месяца после радикального хирургического вмешательства). При оценке влияния иммунотерапии на продолжительность жизни исследуемых (в зависимости от гистологической структуры опухоли) установлено улучшение показателей выживаемости у больных крупноклеточной карциномой. Кроме того, оказалось, что выживаемость пациентов с метастазами в лимфатических узлах средостения (N2) выше по сравнению с таковой у больных контрольной группы, которые не получали иммунотерапию.

В 2008 г. под руководством M. Franco-Molina было проведено рандомизированное клиническое исследование I фазы, посвященное изучению комбинированного применения химио- и лучевой терапии в адьювантном режиме в сочетании с иммунотерапией неспецифическим ФП у больных немелкоклеточным РЛ. По результатам исследования сообщается только о повышении качества жизни пациентов, получавших такую иммунотерапию. Таким образом, становится очевидным, что путь к повышению противоопухолевой эффективности иммунотерапии лежит через получение опухольспецифического ФП.

Каким образом осуществляется получение опухольспецифического ФП? Каковы особенности его воздействия?

— Данные о механизмах воздействия опухольспецифического ФП в иммунотерапии больных злокачественными новообразованиями крайне малочисленны. В то же время, исходя из обнадеживающих результатов в отношении действия неспецифического ФП,

терапевтическое использование опухольспецифического препарата является перспективным и нуждается в широком изучении. В 1975 г. группой исследователей под руководством Н.Н. Fudenberg впервые было показано, что механизмы усиления противоопухолевой защиты, которые запускаются с помощью специфического по отношению к антигенам остеогенной саркомы ФП, включают генерацию опухольспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов. При этом последние были выявлены не только у пациентов с остеогенной саркомой, но и у родственников, проживающих вместе с ними. Тем не менее не оправдало ожиданий использование лейкоцитов лиц, которые находились в контакте с больными, в качестве источника ФП при лечении пациентов с остеогенной саркомой.

Для получения опухольспецифического ФП также использовались лейкоциты периферической крови онкологических больных. Так, A. Levin и соавт. (1975) получали ФП из лейкоцитов больных остеогенной саркомой, лимфоциты которых обнаруживали высокую цитотоксичность против аутологичных опухолевых клеток в системе *in vitro*, и вводили полученный препарат другим пациентам с такой патологией. Лимфоциты больных, которым вводили ФП, в свою очередь, становились цитотоксичными против аутологичных опухолевых клеток *in vitro*. Тем не менее значительного клинического эффекта от введения полученного таким способом ФП по сравнению с эффективностью только комбинированного лечения авторы не установили.

По данным U. Prasad и соавт. (1996), использование в адьювантной терапии ФП, специфичного к вирусу Эпштейна-Барр, улучшило выживаемость больных карциномой носоглотки в сравнении с таковой пациентов контрольной группы. Однако окончательные выводы относительно эффективности этого препарата не сделаны в связи с небольшим количеством больных в исследуемой группе.

В соответствии с работами G. Piza и соавт. (1976, 1977), ФП, полученный от больных с сильным клеточно-опосредованным иммунитетом на опухольассоциированные антигены рака мочевого пузыря, был способен переносить иммунореактивность на этот антиген неиммунному реципиенту. В исследовании, проведенном этими же авторами в 1996 г., 50 пациентам с III стадией гормонрезистентного рака предстательной железы ежемесячно на протяжении 3-56 мес вводили препарат ФП, специфичный к антигенам опухоли. В итоге полная ремиссия достигнута у 2, частичная – у 6 и стабилизация процесса – у 14 больных. Медиана выживаемости составила 126 нед, что существенно выше, чем у участников контрольной группы (24-38 нед).

Расскажите о собственном опыте применения опухольспецифического ФП. Насколько обнадеживают результаты, полученные в экспериментальных исследованиях?

— В литературе практически отсутствуют сведения, касающиеся особенностей получения опухольспецифического ФП, стандартизации и использования с целью иммунотерапии. Учитывая, что перенос антигенспецифической иммунореактивности при помощи ФП может быть осуществлен как в алло-, так и в ксеногенной системах,

в эксперименте нами была разработана методика получения ФП, специфичного к антигенам мышинной карциномы Льюис (КЛ), в ксеногенной системе, а также на протяжении около десяти лет доктор медицинских наук Ф.В. Фильчаков, кандидат медицинских наук Е.С. Шумилина, кандидат медицинских наук А.Д. Лён исследовали противоопухолевую активность и некоторые свойства полученных образцов.

Опухольспецифические (карциномаспецифические) образцы ФП (ФПс) мы получали из экстракта лимфоцитов селезенки крыс на 14-е сутки после внутрибрюшинной трансплантации последним свежевыделенных клеток КЛ. Неспецифические образцы ФП (ФПн) получали из лимфоцитов селезенки интактных крыс аналогичным образом. После ультрафильтрации образцы ФП стандартизовали по концентрации белка и хранили в замороженном виде (при температуре -20°C).

Противоопухолевая и/или аниметастатическая активность и свойства полученных образцов ФП были изучены нами на моделях пассивного и спонтанного метастазирования КЛ на экспериментальной модели мышшей, а также в режиме адьювантной терапии.

На модели пассивного метастазирования КЛ нами было установлено, что предварительное введение ФПс у 60% животных предотвращает развитие метастазов, достоверно снижается количество последних по сравнению с таковыми в контрольной группе как при использовании ФПн, так и ФПс. Об эффективном формировании иммунитета свидетельствует и значительное уменьшение объема метастазов у животных обеих исследуемых групп. Интегральным показателем эффективности аниметастатического действия ФП является индекс торможения метастазирования: в группе, получавшей ФПс, этот показатель составил 98%, в группе, получавшей ФПн, – 68%, что свидетельствует о выраженном протекторном действии полученных образцов ФП, имеющих ксеногенное происхождение.

Более подробное изучение влияния монотерапии ФП на спонтанное метастазирование подкожной КЛ на указанной экспериментальной модели показало, что на 35-е сутки после прививания опухоли у всех животных контрольной группы развились метастазы в легких, тогда как после применения ФПн – у 67% мышшей, после ФПс – у 80%. Вводимые препараты практически не повлияли на общее количество метастазов, однако способствовали снижению интенсивности их роста (количество метастазов в аваскулярной фазе возросло на 20% по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе), что может служить хорошим прогностическим признаком. Кроме того, установлено, что выраженное снижение объема метастазов в легких (в 2,2 раза) ассоциировано с применением ФПс, в то время как ФПн таким действием не обладает.

При изучении влияния образцов ФП на выживаемость мышшей с подкожной КЛ установлено, что регулярное введение ФПн увеличивает среднюю продолжительность жизни животных на 18%, в то время как ФПс – на 35%. Продолжительность жизни животных на фоне иммунотерапии ФПс достоверно превышает данный показатель в контрольной группе.

Эффективным оказалось действие ФПс и при использовании препарата в адьювантном режиме: у 50% мышшей было предотвращено метастазирование в легкие, в то время как в контроле метастазы развились у всех, а при использовании ФПн – у 78% животных. Количество и объем развившихся метастазов также достоверно меньше в группе животных, получавших ФПс, в сравнении с показателями контрольной группы. Индекс торможения метастазирования составляет 75% после применения ФПс и 29% после применения ФПн.

Наиболее эффективным оказалось применение ФП в комбинации с химиотерапией. Двукратным введением ФПс и циклофосфида (в цитостатической дозе) после удаления первичной опухоли возникновение отдаленных метастазов предотвращается у 100% экспериментальных животных, а введение только ФПс либо только циклофосфида к такому эффекту не приводит.

Отмечу, что одним из путей гетерогенизации опухольассоциированного антигена является введение клеток опухоли в ксеногенный организм – это дает возможность получить активную противоопухолевую иммунную реакцию с последующим переносом ее в организм донора с помощью ФП.

Как вы оцениваете полученные результаты?

— Подводя итоги нашей работы, следует сказать, что полученный нами специфический к опухолевому антигену ФП показал высокую аниметастатическую активность на моделях экспериментальных опухолей, особенно в сочетании с противоопухолевым химиопрепаратом циклофосфамидом. Определенная противоопухолевая активность под воздействием ФП также может вовлекать повышение общей иммунологической реактивности, в том числе противоопухолевой резистентности организма реципиента. Но эта противоопухолевая активность существенно уступает той, которая переносится опухольспецифическим ФП. Очевидно также, что ФП не должен применяться в качестве самостоятельного метода терапии больных онкологического профиля, как и другие методы иммунотерапии, он должен использоваться в составе комплексного лечения. Полученные нами научные данные доказывают, что использование опухольспецифического ФП ксеногенного происхождения может существенно повысить эффективность основных методов лечения онкологических больных.

Результаты, полученные учеными в лаборатории клинической иммунологии НИР, дают право надеяться, что перенос специфического противоопухолевого иммунитета с помощью ФП ксеногенного происхождения обеспечит эффективную иммунизацию против антигенов собственной опухоли и откроет новые возможности в профилактике метастазов у больных после хирургического лечения. В данном направлении необходимы дальнейшие исследования, в том числе с проведением клинических испытаний.

Подготовила Катерина Котенко

