

НИИ онкологии
им. проф. Н.Н. Петрова
Минздрава РФ,
Санкт-Петербург

Возможности вакцинотерапии меланомы кожи

В.М. Моисеенко, д-р мед. наук

*... в начале XXI века
вакцинотерапия мелано-
мы, как и 70 лет назад,
по-прежнему остается
очень перспективным,
но по-прежнему экспери-
ментальным методом
лечения.*

*Иммунизировать против рака также трудно,
как добиться отторжения правого уха, оставив левое*

W. Woglom

Immunity to transplantable tumors// Cancer Res. – 1929. – Vol.4. – P.129.

«Вакцина против рака» – это термин, который а priori, с одной стороны, чрезвычайно привлекателен для населения, а с другой, вызывает скептическую улыбку у профессионалов. Почему?

У населения «вакцина» ассоциируется с успешным лечением и профилактикой инфекционных заболеваний и представляет старую мечту о предупреждении и излечении рака с помощью одной инъекции. Большинство онкологов настроены пессимистично в отношении противоопухолевых вакцин в связи с тем, что в недавнем прошлом (60–70-е годы) проводились малоуспешные попытки применения в качестве вакцин целых убитых опухолевых клеток у больных диссеминированными опухолями.

В отличие от вакцинаций при инфекционных заболеваниях, вакцинотерапия при раке имеет принципиально иную задачу, так как имеет целью индуцирование активного иммунного ответа против антигенов из собственных тканей. Несмотря на то, что опухолевые антигены могут присутствовать в организме на протяжении многих лет, они игнорируются иммунной системой по причинам, которые пока до конца не понятны.

Что такое вакцинотерапия рака и что происходит в мире на самом деле с этим методом в начале XXI века?

Вакцинотерапия рака имеет достаточно длительную историю, начиная с токсина Coley [21] и противоопухолевых антисывороток Hericourt и Richet (1895), неудачных попыток применения при диссеминированных опухолях аутологичных и аллогенных вакцин в 70-е годы XX века и кончая современными исследованиями с элементами генотерапии с модификацией антигенных характеристик опухолевых клеток.

По определению N. Restifo, M. Sznol (1997), «вакцинотерапия – это метод, основанный на использовании любого антигена или комплекса антигенов (с или без адъювантом) для модуляции иммунного ответа».

Почему при злокачественном опухолевом росте нет полноценного иммунного ответа?

Возможное объяснение включает:

- низкую иммуногенность злокачественных опухолей,
- потерю антигенов некоторыми субпопуляциями опухолевых клеток,
- дефектами в механизме экспрессии главного комплекса гистосовместимости,
- местной иммунодепрессией вследствие секреции опухолевыми клетками некоторых цитокинов (интерлейкин-10, трансформирующий фактор роста-бета),
- периферическую локализацию опухолевых клеток, которая затрудняет попадание большого количества опухолевого антигена в лимфоидные органы. Это может приводить к презентации опухолевого антигена без костимулирующих сигналов, следствием чего является толерантность вместо активации.

Одной из главных причин считается недостаточная иммуногенность опухолевых клеток. Представляется, что опухолевые клетки могут образовываться в организме достаточно часто и, если они иммуногенны, то легко элиминируются иммунной системой. Опухолям, достигшим клинических размеров, уже ранее тем или иным способом удалось «ускользнуть» от иммунного надзора.

Одним из постоянных объектов для изучения вакцинотерапии является меланома – опухоль, растущая из меланоцитов. На ранних стадиях меланомы эффективно лечится с помощью хирургического метода. Однако диссеминированная меланома поддается терапии чрезвычайно плохо. Только у очень ограниченной группы боль-

ных с помощью стандартной химио-, лучевой и биотерапии удается добиться лечебного эффекта.

Меланома считается «антигенной опухолью», экспрессирующей так называемые опухолеассоциированные антигены.

В последние годы было описано несколько антигенов, представляемых Т-лимфоцитам на основе молекул главного комплекса гистосовместимости I класса [1]. Эти антигены подразделяются на:

- раково-тестикулярные антигены (MAGE),
- меланоцитарные дифференцирующие антигены (тирозидаза, тирозиназа-связанные белки TRP-1/-2, MelanA/MART-1, gp100 и gp75),
- антигены, образующиеся вследствие мутации генов или повышенной экспрессии нормальных генов, так называемые индивидуальные антигены [18].

Специфический клеточный иммунный ответ на меланомные антигены классически происходит путем узнавания чужеродных пептидов рецепторами Т-клеток посредством молекул главного комплекса гистосовместимости (МНС) дендритных клеток. Эти пептиды, получаемые путем процессинга экзогенных (экстрацеллюлярных) или эндогенных (внутриклеточных) антигенов, представляются дендритными клетками специфическим Т-клеткам в регионарных лимфатических узлах. Белки при этом разделяются на короткие фрагменты, состоящие из 8–10 аминокислот для МНС класса I и по 13–18 аминокислот – для МНС класса II. Молекулы МНС класса I взаимодействуют с CD8 клетками для стимуляции цитотоксического Т-клеточного ответа, тогда как молекулы МНС II класса активируют соответствующие CD4 хелперы с целью индукции гуморального иммунного ответа [15].

Различие только по одной аминокислоте в этих маленьких пептидах оказывает огромное влияние на это взаимодействие, так как изменяется расположение пептида в пространственной «ячейке» МНС и узнавание комплекса МНС/пептид рецепторами Т-лимфоцитов будет нарушено вследствие этих пространственных изменений.

Раково-тестикулярные антигены MAGE 1, 2 и 3 экспрессируются опухолями различных гистологических типов. Они были первыми опухолеассоциированными антигенами, выделенными из клеток меланомы [1]. Их обнаруживают также в нормальных яичках и яичниках у взрослых. По этой причине они получили свое название.

Меланоцитарные дифференцирующие антигены. Основными меланоцитарными антигенами являются Melan-A/MART-1, тирозиназа и gp100. Они экспрессируются как нормальными, так и малигнизированными меланоцитами, и иммунный ответ против этих мишеней ассоциируется с развитием аутоиммунной реакции против нормальных меланоцитов [12]. Клиническим проявлением этого является витилиго. В связи с тем, что эти гены не экспрессируются в опухолях другого происхождения, вакцинация против них может позволить добиться относительной тканевой специфичности иммунного ответа.

Кроме перечисленных универсальных опухолеассоциированных антигенов, могут быть так называемые *уникальные, или индивидуальные антигены*. Эти антигены экспрессируются опухолевыми клетками и обыч-

но являются следствием мутаций только у конкретного больного меланомой.

Особенностью перечисленных опухолеассоциированных антигенов является рестриктивность презентации отдельных антигенов МНС I и II класса, а также возможность представления отдельных эпитопов одного антигена разными поверхностными молекулами МНС.

Перечисленное объясняет, почему меланома является основным объектом для оценки эффективности различных методов биотерапии. В пользу этого говорят также:

- многочисленные документированные доказательства случаев спонтанного регресса, в основе которых лежат иммунологические механизмы,
- клиническая эффективность ряда цитокинов (интерферона-а и интерлейкина-2) при метастатической меланоме.

Все методы биотерапии классифицированы S.Rosenberg [23] следующим образом:

I группа – активная иммунотерапия:

- неспецифическая иммунотерапия (BCG, С. parvum, левамизол, интерферон, ИЛ-2),

• *специфическая иммунотерапия (вакциноterapia).*

II группа – пассивная иммунотерапия:

- антитела (моно- или поликлональные антитела или конъюгаты с токсинами и изотопами),
- клетки (опухольинфильтрирующие лимфоциты или TIL, лимфокинактивированные киллеры или LAK).

III группа – не прямые методы:

- удаление или блокирование факторов роста или ангиогенеза.

IV группа – высокодозная неаблативная химиотерапия с аллогенной трансплантацией элементов костного мозга.*

* Указанная группа выделена позже.

В центре внимания настоящей лекции находится активная специфическая иммунотерапия, или вакцинация.

Условно противоопухолевая вакцинация подразделяется на следующие группы.

- Вакцины на основе цельных клеток:

- аллогенные,
- аутологичные.

- Аутологичные белки теплового шока.
- Ганглиозиды.
- Синтетические пептиды.
- ДНК.
- Рекомбинантные вирусы.
- Вакцины на основе дендритных клеток.

Рассмотрим последовательно перечисленные методы вакцинации.

АЛЛОГЕННЫЕ КЛЕТочНЫЕ ВАКЦИНЫ

Вакцины на основе цельных клеток могут быть разделены на две подгруппы: аллогенные и аутологичные. Использование аллогенных опухолевых вакцин базируется на представлении, что клетки из опухоли одного типа от разных индивидуумов могут иметь общие опухолеассоциированные антигены, которые способны индуцировать значимый иммунный ответ. Аллогенные вакцины получают из клеточных линий, подобран-

ных таким образом, чтобы обеспечить максимальное представительство опухолеассоциированных антигенов и широкий спектр экспрессии МНС. Аллогенные вакцины легко приготавливать, они содержат множество потенциальных антигенных мишеней (в том числе ещё не идентифицированных). Последние открытия в области механизма презентации антигенов и активации Т-клеток позволили получить дополнительные данные о целесообразности использования аллогенных противоопухолевых вакцин. На животных моделях антигенпрезентирующие клетки костномозгового происхождения показали способность эндоцитоза опухолевых антигенов и представления их как CD4+, так и CD8+ Т-клеткам. Этот эффект получил название «cross-priming» [10]. Однако для индукции противоопухолевого иммунного ответа опухолевые клетки в вакцине должны совпадать с МНС гаплотипом реципиента.

Аллогенные вакцины на основе цельных клеток в течение многих лет изучались несколькими исследовательскими группами. Имеются научно обоснованные доказательства того, что этот тип вакцинации может индуцировать образование антител к нескольким меланомным антигенам, включая ганглиозиды и дифференцирующие антигены.

Наиболее изученной считается вакцина CancerVax. Это аллогенная, живая вакцина, полученная из трех облученных меланомных клеточных линий, выбранных на основе высокой экспрессии иммуногенных антигенов. CancerVax содержит МНС гаплотипы, совместимые с 95% пациентов с меланомой. Вакцинация предполагает индуктивную (5 доз x каждые 2 нед в течение 2 мес, одновременно первые 2 введения проводятся вместе с BCG) и поддерживающую фазы (каждые 4 нед в течение 12 мес, затем каждые 2 мес в течение второго года и каждые 3 мес до 5 лет). Клинические исследования показали минимальную токсичность CancerVax, а исследования по II фазе у больных с диссеминированной меланомой кожи выявили значимое увеличение 5-летней выживаемости по сравнению с историческим контролем. Этот показатель для больных, получавших вакцину, составил 42% и медиана выживаемости 42 мес, тогда как в историческом контроле аналогичные показатели равнялись 19% и 18 мес [9].

Другим вариантом аллогенной вакцины является Melacine. В настоящее время проводятся рандомизированные клинические исследования обоих препаратов по III фазе.

Вариантом аллогенной вакцины является использование антигенов, выделяемых аллогенными клеточными линиями меланомы [2].

Как установлено, подобным способом можно индуцировать продукцию антител и Т-клеточный ответ против многих антигенов, экспрессируемых клетками меланомы [22]. Оценка эффективности подобной вакцины в условиях рандомизированного исследования показала увеличение в 2 раза показателей безрецидивной и общей выживаемости в группе больных, подвергшихся вакцинотерапии, по сравнению с контролем (безрецидивная выживаемость: 18,6 мес и 7,1 мес; 2-летняя выживаемость: 77% и 60% соответственно) [3]. К сожалению, исследование было преждевременно прервано из-за трудностей с набором больных.

Третьим направлением, основанном на использовании аллогенной вакцинотерапии, является применение вирусного опухолевого лизата. Для этого использовались непатогенные вирусы Vaccinia virus и Newcastle disease virus, которые лизировали клетки и потенцировали их иммуногенность (вирусный меланомный онколизат). Подобная вакцина содержит многие опухолеассоциированные антигены и способна стимулировать поливалентный иммунный ответ. Однако клиническое изучение вакцины в условиях рандомизированных исследований, проведенное M.K. Wallack и соавт. [28] и P. Hersey [8], не показало увеличения показателей безрецидивной и общей выживаемости по сравнению с плацебо.

ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ АУТОЛОГИЧНЫХ КЛЕТОК

Основными преимуществами аутологичных клеточных вакцин являются:

- идентичность по МНС гаплотипу реципиента,
- возможность обеспечения вакцинации с помощью уникального набора антигенов, характерных для данного пациента.

Основными недостатками подобного подхода являются:

- необходимость получения опухолевого материала у больного,
- трудоемкость приготовления вакцины,
- трудность стандартизации процесса приготовления вакцины,
- низкая иммуногенность антигенов, экспрессируемых опухолевыми клетками.

Аутологичные вакцины могут быть немодифицированными и модифицированными.

Первые исследования с немодифицированными аутологичными опухолевыми клетками проводились в 70-е годы (см. таблицу).

Результаты этих исследований, с одной стороны, свидетельствуют о низкой эффективности метода при метастатической меланоме кожи, с другой стороны –

Эффективность активной иммунотерапии с помощью вакцин у больных метастатической меланомой кожи

Авторы	Схема вакцинации	Лечебные эффекты
Ikonopisov R. и соавт., 1970	Подкожное введение аутологичных облученных клеток	0/13
Kremenz E. и соавт., 1971	Внутрикожное введение аутологичных облученных клеток	1ПР/19
Ahn S. и соавт., 1982	Внутрилимфатическое введение облученных аллогенных клеток	7ЧР/38
Laucins J. и соавт., 1977	Внутрикожное введение облученных клеток + BCG	2ПР, 2ЧР/18

Примечание. ПР – полный регресс; ЧР – частичный регресс.

о принципиальной возможности получения с помощью противоопухолевых вакцин объективных лечебных эффектов, в том числе с полным исчезновением или уменьшением более чем на 50% клинических проявлений заболевания (полный регресс, частичный регресс). Вместе с тем, зарегистрированная эффективность оказалась значительно ниже, чем ожидалось исследователями, что и послужило причиной временного отказа от использования этого метода. Более того, некоторыми исследователями были отмечены случаи прогрессирования опухоли, которые они связали с введением вакцины, что явилось причиной широкого распространения среди онкологов ошибочного мнения о возможности стимуляции роста злокачественных опухолей.

Учитывая низкую эффективность вакцины из аутологичных клеток при диссеминированных опухолях, проводится клиническая оценка этого метода у больных с высоким риском рецидива заболевания после радикальной операции (адьювантная терапия).

С целью повышения иммуногенности аутологичных опухолевых клеток предпринимаются шаги по внедрению в генетический аппарат опухолевых клеток генов, ответственных за продукцию ряда цитокинов (модифицированные аутологичные вакцины). Как показали исследования G. Dranoff и соавт. [6], наиболее подходящим для этой цели является гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), который обладает наибольшей способностью потенцировать отторжение опухоли в мышинной модели меланомы B16. Клиническое изучение аутологичных вакцин с трансфекцией гена GM-CSF показало, что подобное лечение сопровождается индуцированием как локального воспалительного процесса, так и воспалительного процесса в местах локализации отдаленных метастазов. При этом сообщается об отдельных клинических эффектах, однако окончательное заключение о действительной эффективности метода возможно только после проведения полноценного рандомизированного исследования с продолжительным наблюдением за больными.

Ганглиозидные вакцины

Очевидно, что противоопухолевая вакцина, приготовленная на основе определенных антигенов, имеет ряд преимуществ:

- простота оценки специфического иммунного ответа,
- большая потенциальная иммуногенность,
- возможность прослеживания типа иммунного ответа на конкретный антиген.

В ряде предклинических и клинических исследований показана способность антител, образование которых индуцировано подобной вакциной, элиминировать циркулирующие опухолевые клетки и микрометастазы (адьювантное применение). Мишенью этих антител являются поверхностные антигены. На поверхности меланомных клеток наиболее интенсивно экспрессируются ганглиозиды. Ганглиозиды являются гликолипидами, содержащими как нейтральные сахара, так и сиаловые кислоты. Известно несколько ганглиозидов: GM3, GD3 (основной меланомный ганглиозид), GD2, GM2 и О-ацетил GD3 [30].

GM2 является наиболее иммуногенным меланомным

ганглиозидом и по этой причине является объектом большинства клинических исследований. Уже первые работы показывали тесную связь между наличием в сыворотке больных антител против GM2 и увеличением безрецидивной и общей выживаемости. В исследовании P.O. Livingston и соавт. [13] 122 больных меланомой кожи III стадии с высоким риском рецидива заболевания после операции получали на рандомизированной основе GM2 и BCG или только BCG. Образование анти-GM2 IgM было обнаружено у 85% леченых больных. Анализ показателей выживаемости не выявил достоверных различий между обеими группами. Однако при исключении из анализа больных, у которых имелись антитела против GM2 до начала лечения, прослеживались достоверные преимущества с точки зрения выживаемости у больных, иммунизированных с помощью GM2/BCG ($p=0,02$). Это было первым клиническим рандомизированным исследованием, в котором было показано, что индуцирование образования антител против ганглиозидов коррелирует у больных меланомой с клиническим эффектом. В последующем была разработана новая форма вакцины на основе GM2, связанная с адьювантом (ГМК). Эта форма вакцины сопровождается образованием антител у 100% больных [7].

Эффективность ГМК вакцины оценивалась у больных меланомой в мультицентровых рандомизированных исследованиях по сравнению с интерфероном-а. Первые 16 мес наблюдения за больными не показали увеличения показателей безрецидивной и общей выживаемости больных.

Одной из причин отсутствия значимого лечебного эффекта, вероятно, является то, что ганглиозид GM2 экспрессируется на поверхности всех меланомных клеток, но степень его экспрессии незначительна по сравнению с другими ганглиозидами. Менее 20% меланомных клеточных линий могут быть лизированы моноклональными антителами к GM2 и комплементу. Поэтому для получения клинически значимого результата необходимо индуцирование образования антител против других ганглиозидов. В этой связи очевидна целесообразность использования поливалентных вакцин на основе нескольких ганглиозидов.

Другим оригинальным подходом является использование вакцин, содержащих антиидиотипические моноклональные антитела, которые имитируют ганглиозиды. Предпринимаются также попытки комбинированного использования этих конъюгатов и антиидиотипических вакцин. Этот способ активной специфической иммунотерапии проходит предклинические и клинические испытания.

Пептидные вакцины

Современные биотехнологические методы позволяют получать синтетические опухолеассоциированные антигены в необходимых количествах.

Первая вакцина на основе синтетических пептидов содержала белки, представленные основными HLA подтипами [19]. К сожалению, этот подход имел серьезные недостатки, связанный с короткой полужизнью пептидов и их способностью связываться с молекулами HLA *in vivo*. Повышение иммуногенности этих пептидов может быть достигнуто путем прямого их введения в

лимфатические узлы и селезенку. Имеются убедительные экспериментальные доказательства того, что пептиды, представляемые иммунной системе в течение нескольких дней, являются высокоиммуногенными. По этой причине проводятся исследования интранодального введения пептидов, в том числе с костимулирующими факторами (GM-CSF).

Одним из первых было проведено исследование MAGE-3, являющегося пептидом, рестриктивным HLA-A1 гаплотипу [16]. Лечебный эффект был зарегистрирован у 6 из 19 больных. Это исследование убедительно показало, что синтетические пептиды являются безопасным и перспективным методом вакцинотерапии. Цитотоксичность Т-лимфоцитов против меланомных клеток обратно коррелирует с экспрессией антигена в тканях меланомы. У больных с прогрессированием на фоне вакцинотерапии наблюдались варианты с потерей антигена, что позволяет предположить возможность иммуноселекции опухолевых клонов на фоне вакцинации [11].

Ряд исследований было выполнено в Национальном институте рака (США) по изучению пептидов, полученных из меланомного дифференцирующего антигена gp100. Первоначально лечение проводилось HLA-A2+ пациентам с помощью нативного пептида, но в последующем другая группа больных получала лечение белком, в котором изменена одна аминокислота. Этот пептид имеет аффинность к HLA-A*201 выше, чем нативный, что послужило основанием предполагать возможно большую индукцию Т-лимфоцитарного ответа [20]. После введения ИЛ-2 в периферической крови эти Т-лимфоциты не обнаруживались, но лечебный эффект наблюдался, что позволило предположить их миграцию в места локализации антигена.

Было также проведено несколько клинических исследований, в которых предпринимались попытки иммунизировать больных меланомой с помощью белков, полученных из раково-тестикулярных антигенов или дифференцирующих антигенов.

Вакцины на основе синтетических пептидов считаются одним из наиболее интересных методов иммунотерапии и активно изучаются в клинике.

ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ БЕЛКОВ ТЕПЛОГО ШОКА

В последние несколько лет большое внимание, с точки зрения возможности генерирования противоопухолевого иммунного ответа, уделяется белкам теплового шока (heat-shock proteins). Эти белки являются устойчивыми внутриклеточными молекулами, которые, как установлено, несут потенциально иммуногенные пептиды [25]. Известно, что белки теплового шока играют важную роль в индукции иммунного ответа, механизм, лежащий в основе их действия, пока неизвестен. Одна из гипотез предполагает специфическое связывание этих белков на поверхности антигенпрезентирующих клеток с последующим эндоцитозом и представлением эндосомы посредством МНС класса I [4].

В ряде клинических исследований уже изучался подобный подход, в том числе при меланоме. При этом из удаленной опухоли выделялись белки теплового шока (в первую очередь HSP96) и вводились внутривенно. Как показали результаты, этот метод безопасен

и способен индуцировать противоопухолевый иммунный ответ. В настоящее время предпринимаются попытки комбинированной вакцинации на основе рекомбинантного белка теплового шока (HSP70) совместно с тиразиной gp100.

ДНК ВАКЦИНЫ

Иммунизация плазмидой ДНК, которая кодирует антиген из меланомной клетки, является одним из новых способов индукции образования антител и Т-клеточного ответа. Плазмида вводится в кожу или мышцу путем инъекции, где индуцирует локальную воспалительную реакцию, и в последующем захватывается профессиональными антигенпрезентирующими клетками. Как антиген попадает в антигенпрезентирующую клетку, точно неизвестно.

Этот вид вакцинотерапии имеет ряд достоинств [24]:

- ДНК легко получать в больших количествах,
- наличие комплементарной ДНК полной длины обеспечивает множественные потенциальные эпитопы и поэтому позволяет избежать необходимости МНС-рестрикции.

В эксперименте показано, что иммунизация мышей ксеногенной (человеческой) ДНК-вакциной, кодирующей gp100, gp75, TRP-1 и TRP-2, приводит к защите от сингенной мышшиной меланомы B16, а также сопровождается быстрой и распространенной депигментацией шерсти [29].

В клинических исследованиях при инфекционных заболеваниях ДНК-вакцинация оказалась безопасной и высокоэффективной, с точки зрения развития иммунного ответа при малярии.

В настоящее время проводятся исследования, в которых больные с меланомой иммунизируются ДНК-кодированными антигенами (тирозидаза и gp100).

Вариантом ДНК-вакцинации считается использование рекомбинантных вирусных вакцин и мини-генных вакцин. Рекомбинантные вирусы (poxvirus, adenovirus) изготавливаются таким образом, что содержат разные антигены меланомных клеток. Эта методика имеет преимущества, связанные с иммуногенными свойствами вирусных векторов. Основную проблему представляют предсуществующая или генерированная иммуногенность к самому вектору. Это особенно важно при вторичных иммунизациях. Выходом из положения является использование «голой» ДНК.

На предклиническом этапе изучаются также так называемые мини-генные вакцины, которые содержат только ДНК, кодирующие эпитоп, представляющий иммунологический интерес. Эта стратегия считается весьма перспективной, так как использует преимущества как ДНК, так и пептидных вакцин.

ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК

Дендритные клетки костномозгового происхождения играют ключевую роль в индукции иммунного ответа. Они характеризуются высокой экспрессией HLA и костимулирующих молекул с одновременной цитокиновой секрецией, оптимальной для активации Т-клеток.

Получение дендритных клеток в больших количествах *in vitro* сейчас стало возможным благодаря использованию цитокинового «коктейля», добавляемого

для дифференцировки мононуклеарных клеток периферической крови. Полученные таким образом дендритные клетки могут быть нагружены антигеном в форме пептида или опухолевого лизата и реинфузированы пациенту. Возможна также нагрузка дендритных клеток опухолевой РНК. Одними из первых F. Nestle и соавт. [17] и B. Thurner и соавт. [26] использовали этот вид вакцинотерапии.

В первом исследовании применялись незрелые дендритные клетки, нагруженные пептидом или опухолевым лизатом, что позволило добиться объективного лечебного эффекта у 5 из 16 больных. Во втором исследовании у больных диссеминированной меланомой использовались зрелые дендритные клетки, нагруженные пептидом Mage-3A1.

Дизайн исследования базировался на данных *in vitro*, показавших, что зрелые клетки лучше стимулируют ответ Т-хелперных клеток и более резистентны к иммуносупрессивному эффекту цитокинов (например, продуцируемому некоторыми опухолями интерлейкину-10). В этом исследовании отмечен клинический эффект у 6 из 11 больных, включая полное исчезновение отдельных метастазов в коже, печени, легком и лимфатических узлах. Показана также способность нагруженных пептидом зрелых дендритных клеток потенцировать цитотоксичность предшественников Т-лимфоцитов. Хотя результаты этих исследований представляются весьма обнадеживающими, их следует интерпретировать с осторожностью, так как большинство эффектов были смешанными, а число пациентов, включенных в исследование, ограничено.

Позже F. Nestle и соавт. [18] выполнили клиническое исследование у 30 больных меланомой. Больные с HLA-серотипом HLA-A1 получали лечение соответствующими пептидами, полученными из Mage-1 и Mage-3 антигенов; больные с серотипом HLA-A2+ получали лечение пептидами из Melan-A/MART-1, gp100 и тирозиназы; больные, экспрессировавшие HLA-B44, получали лечение пептидами, полученными из Mage-3, и тирозиназы. Объективные лечебные эффекты были зарегистрированы у 27% больных (8 из 30), включая полный регресс у 3 и частичный – у 5. Это исследование представляется наиболее важным из опубликованных по использованию дендритных клеток при меланоме.

Альтернативным методом получения и дифференцировки дендритных клеток является их экспансия *in vivo*. Для этого изучается ряд молекул – FLT-3L или FLT-3L. Введение больным опухолевого антигена после *in vivo* экспансии дендритных клеток рассматривается в качестве очень перспективного метода био-терапии.

РЕКОМБИНАНТНЫЕ ВИРУСНЫЕ ВАКЦИНЫ

Рекомбинантные вирусные векторы (аденовирусы) могут использоваться для доставки меланомных антигенов. Эти вирусы имеют очень высокую адьювантную активность, но нейтрализующие антитела могут блокировать этот тип вакцины.

С аналогичной целью использовались также на животных моделях отдельные линии бактерий сальмонеллы и листерии. Листерия представляется наиболее перспективной для доставки антигена для HLA класса I и II (активация CD4 и CD8). Другим преимуществом этих

вакцин является возможность перорального применения. Этот подход в настоящее время оценивается в клинических исследованиях по I и II фазам.

Для повышения эффективности вакцин используются различные адьюванты: BCG, *C. parvum*, *alum*, компоненты бактериальных стенок и др. Механизм их действия заключается в индуцировании местной воспалительной реакции с активацией «профессиональных» антигенпрезентирующих клеток, цитокинов, Т- и В-лимфоцитов.

Очень перспективным в качестве адьюванта считается гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), который обладает способностью потенцировать выживание и экспансию дендритных клеток [5].

Наблюдаемый в последнее время всплеск интереса к вакцинотерапии злокачественных опухолей не случаен. Он связан со значительными успехами в области генетики, молекулярной биологии, иммунологии, которые углубили современные представления об иммунологии опухоли, механизмах канцерогенеза и регуляции опухолевого роста и подтвердили перспективность развития активной специфической иммунотерапии.

Предклинические модели и клинические исследования показывают, что использование вакцинотерапии представляется оптимальным после максимального хирургического удаления опухолевых клеток, т. е. с адьювантной целью. Кроме того, в связи с гетерогенностью экспрессии опухолевых антигенов в меланомах у разных больных и даже в разных клетках в одном метастазе, существенный прогресс от этого метода можно ожидать после достижения иммунного ответа против нескольких антигенов одновременно. Поэтому весьма перспективно использование в первую очередь поливалентных вакцин.

Большую сложность в проведении клинических исследований по вакцинотерапии представляет определение конечных целей. Большинство пациентов в такие исследования попадают уже после проведения лечения различными методами, имея несомненные признаки иммуносупрессии. Очевидно, что иммунотерапия должна быть более эффективна у больных с небольшой опухолевой массой, например, после хирургического лечения в случае высокого риска рецидива заболевания. Выполнение таких исследований с конечной целью оценки времени до прогрессирования или выживаемости требует большого числа больных и длительного времени наблюдения. Это оправдано в том случае, если результаты лечения больных с местнораспространенными или метастатическими формами рака по II фазе показали высокую клиническую активность метода. Между тем, очевидно, что эффективность вакцинотерапии ниже у больных, обычно включаемых в исследования по II фазе. Это чрезвычайно затрудняет выбор кандидатов для III фазы, так как отсутствие эффективности при распространенных формах не означает отсутствие эффекта при применении с адьювантной целью.

Таким образом, в начале XXI века вакцинотерапия меланомы, как и 70 лет назад, по-прежнему остается очень перспективным, но по-прежнему экспериментальным методом лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Boon T., Coulie P.G., Van den Eynde B. Tumor antigens recognized by T cells// *Immunol. Today*. — 1997. — Vol.18. — P. 267–268.
2. Bystryn J., Oratz R., Henn M et al. Preparation and characterisation of a polyvalent human melanoma antigen vaccine// *J. Biol. Res. Med.* — 1986. — Vol. 5. — P. 211–224.
3. Bystryn J., Oratz R., Shapiro R. et al. Phase III, double-blind, trial of a shed polyvalent melanoma vaccine in stage III melanoma// *Proc. Amer. Soc. Clin. Oncol.* — 1998. — Vol. 17. — P. 434a (abstr).
4. Castellino F., Boucher P.E., Eichelberg K. et al. Receptor-mediated uptake of antigen/heat shock protein complexes results in major histocompatibility complex class I antigen presentation via two distinct processing pathways// *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 191. — P. 1957–1964.
5. Caux C., Dezutter-Dambuyant C., Schmitt D., Banchereau J. GM-CSF and TNF-alpha cooperate in the generation of dendritic Langerhans cells// *Nature*. — 1992. — Vol. 360. — 258p.
6. Dranoff G., Jaffee E., Lazenby A. et al. Vaccination with irradiated tumour cell engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumour immunity// *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1993. — Vol. 90. — P. 3539–3543.
7. Helling F., Zhang S., Shang A. et al. GM2-KLH conjugate vaccine: increased immunogenicity in melanoma patients after administration with immunological adjuvant QS-21// *Cancer Res.* — 1995. — Vol. 55. — P. 2783–2788.
8. Hersey P. Evaluation of vaccinia viral lysates as therapeutic vaccines in the treatment of melanoma// *Ann. NY Acad. Sci.* — 1993. — Vol. 690. — P. 167
9. Hsueh E.C., Famatiga E., Gupta R.K. et al. Enhancement of complement-dependent cytotoxicity by polyvalent melanoma cell vaccine (CancerVax): correlation with survival// *Ann. Surg. Oncol.* — 1998. — Vol. 5. — P. 595.
10. Huang A., Golumbek P., Ahmadzadeh M. et al. Role of bone marrow derived cells in presenting MHC class I-restricted tumor antigens// *Science*. — 1994. — Vol. 264. — P. 961–965.
11. Jager E., Ringhoffer M., Altmannsberger M. et al. Immunoselection in vivo: independent loss of MCH class I and melanocyte differentiation antigen expression in metastatic melanoma// *Int. J. Cancer*. — 1997. — Vol. 71(2). — 142 p.
12. Kawakami Y., Rosenberg S.A. Immunobiology of human melanoma antigens MART-1 and gp100 and their use for immuno-gene therapy// *Int. Rev. Immunol.* — 1997. — Vol. 14. — P. 173.
13. Livingston P.O., Wong G.Y.C., Adluri S. et al. Improved survival in stage III melanoma patients with GM2 antibodies: a randomized trial of adjuvant vaccination with GM2 ganglioside// *J. Clin. Oncol.* — 1994. — Vol. 12. — P. 1036–1044.
14. Lotze M., Dallal R.M., Kirkwood J.M., Flickinger J.C. Cutaneous melanoma// *Cancer: Principles & Practice of Oncology* / Eds. V.DeVita, S.Hellman, S.Rosenberg. 6th Ed. — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. — P. 2012–2069.
15. Maeurer M.J., Hurd S., Martin D. et al. Cytolytic T-cell clones define HLA-A2 restricted human cutaneous melanoma peptide epitopes-correlation with T-cell receptor usage// *Cancer (Philad.)*. — 1995. — Vol. 2. — 162p.
16. Marchand M., Weynants P., Rankin E. et al. Tumor regression responses in melanoma patients treated with a peptide encoded by gene MAGE-3// *Int. J. Cancer*. — 1995. — Vol. 63. — 883 p.
17. Nestle F.O., Aljajic S., Gilliet M. et al. Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumour lysate-pulsed dendritic cells// *Nat. Med.* — 1998. — Vol. 4. — P. 328–332.
18. Nestle F.O., Burg G., Dummer R. New perspectives on immuno-biology and immunotherapy of melanoma// *Immunol Today*. — 1999. — Vol. 20. — P. 5–7.
19. Pardoll D.M. Cancer vaccines// *Nat. Med.* — 1998. — Vol. 4. — P. 525–531.
20. Parkhurst M.R., Saigaller M.L., Southwood S., et al. Improved induction of melanoma-reactive CTL with peptides from the melanoma antigen gp100 modified at HLA-A*0201-binding residues. // *J. Immunol.* — 1996. — Vol. 157. — 2539 p.
21. Restifo N., Sznol M. Cancer vaccines// *Cancer: Principles & Practice of Oncology*, 5th ed./ Eds. V.DeVita, S.Hellman, S.Rosenberg; Chapter 61. — P.3023–3043. — Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997.
22. Reynolds S.R., Celis E., Sette A. et al. HLA-independent heterogeneity of CD8+ T cell responses to MAGE-3, Melan-A/MART-1, gp100, tyrosinase, MClR, and TRP-2 in vaccine-treated melanoma patients// *J. Immunol.* — 1998. — Vol. 161. — P. 6970–6976.
23. Rosenberg S. Principles of cancer managenebt: biologic therapy// *Cancer: Principles & Practice of Oncology*, 5th ed./ Eds. V.DeVita, S.Hellman, S.Rosenberg; Chapter 18. — P.349–373. — Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1997.
24. Sato Y., Roman M., Tighe H. et al. Immunostimulatory DNA sequences necessary for effective intradermal gene immunization// *Science*. — 1996. — Vol. 273. — P. 352–354.
25. Srivastava P.K., Udono H. Heat shock protein-peptide complexes in cancer immunotherapy// *Curr. Opin. Immunol.* — 1994. — Vol. 6. — P. 728–732.
26. Thurner B., Haendle I., Roder C. et al. Vaccination with mage-3A1 peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands specific cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage IV melanoma// *J. Exp. Med.* — 1999. — Vol. 190. — P. 1669–1678.
27. Vile R., Souberbielle B., Dalglish A.G. Tumor Vaccines. P.157–191// *Immunotherapy in cancer* /Eds. M. Gore and P. Riches. — London, 1996. — 291 p.
28. Wallack M.K., Sivanandham M., Balch C.M. et al. Surgical adjuvant active specific immunotherapy for patients with stage III melanoma: the final analysis of data from a phase III, randomized, double-blind, multicenter vaccinia melanoma oncolysate trial// *J. Amer. Coll. Surg.* — 1998. — Vol. 187. — P. 69.
29. Wolchok J.D., Livingston P.O. Vaccines for melanoma: translating basic immunology into new therapies// *The Lancet Oncology*. — 2001. — Vol.2. — P.205–211.
30. Zhang S., Cordon-Cardo C., Zhang H.S. et al. Selection of tumour antigens as targets for immune attack using immunohistochemistry: I. Focus on gangliosides// *Int. J. Cancer*. — 1997. — Vol. 73. — P. 42–49.