

Российский онкологический
научный центр
им. Н.Н.Блохина РАМН,
Москва

ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ ПЕРЕДАЧИ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫХ СИГНАЛОВ

С.А.Тюляндин

*Последние достижения
фундаментальной биологии
во многом прояснили
механизмы
функционирования
опухолевой клетки
в отдельности и опухоли
в целом, что позволило
определить новые
перспективные мишени для
противоопухолевой
терапии.*

Последние достижения фундаментальной биологии во многом прояснили механизмы функционирования опухолевой клетки в отдельности и опухоли в целом, что позволило определить новые перспективные мишени для противоопухолевой терапии [1,3,12]. Показано, что в основе злокачественного роста лежит потеря контроля клеточного цикла опухолевой клетки, что ведет к утрате способности к дифференцировке и приобретению способности бесконтрольного роста. Активация пролиферативной активности клетки вообще и опухолевой клетки, в частности, чаще всего инициируется внешним сигналом. Факторы роста, гормоны и другие биологически активные вещества активируют соответствующий им рецептор, сигнал от которого передается на белки-переносчики сигнала. Конечными получателями сигнала являются факторы транскрипции, активация которых ведет к транскрипции определенных участков ДНК (генов) и продукции соответствующих протеинов, участвующих в регуляции клеточного цикла. Экспериментальными работами было показано, что прерывание пролиферативного сигнала на любом этапе его передачи приводит к торможению или полному прекращению пролиферации опухолевых клеток. Таким образом, рецепторы, белки-переносчики сигнала, факторы транскрипции являются перспективными мишенями противоопухолевой лекарственной терапии. Учитывая обширность рассматриваемого материала, автор в целях сокращения библиографии, приводит в основном работы обзорного плана, в которых пытливым читателем может найти все необходимые ссылки на первоисточники.

Ингибиторы тирозинкиназы С рецепторов факторов роста

Большинство рецепторов факторов роста являются тирозинкиназными рецепторами. Упрощенно, каждый из них имеет экстрацеллюлярную часть, ответственную за соединение с фактором роста или другим лигандом, трансмембранную часть и интрацеллюлярную часть, которая представлена ферментом тирозинкиназа С (ТКС), активация которой служит отправной точкой для последующей передачи сигнала на белки-переносчики. В качестве примера рассмотрим активацию рецептора эпидермального фактора роста (РЭФР) [11]. При захвате эпидермального фактора роста (ЭФР) экстрацеллюлярной частью происходит димеризация рецепторов (объединение двух связанных с факторами роста рецепторов в единый функциональный комплекс) с последующим аутофосфорилированием фермента ТКС. В результате этого ТКС приобретает способность фосфорилировать (добавлять фосфатную группу) к белкам-переносчикам сигналов, контактирующих с ТКС. Это приводит к активации сигнальных путей, таких как *ras*-*MAPK*, *PI3K*, *SAPK* или *STAT*, передающих сигнал от рецептора к факторам транс-

крипции. Активация определенных факторов транскрипции приводит к производству определенных белковых молекул как ответ на сигнал из внешней среды. Известно, что РЭФР играет ключевую роль в регуляции процессов клеточного деления и естественной смерти клетки, миграции и метастазирования, ангиогенеза. РЭФР присутствует в нормальных или избыточных количествах на поверхности опухолевых клеток многих видов, в том числе при немелкоклеточном раке легкого (НМРЛ), раке молочной железы (РМЖ), плоскоклеточном раке головы и шеи (ПРГШ), желудка, пищевода, предстательной железы, мочевого пузыря, поджелудочной железы, яичника, колоректальном раке и т.д. [23]. Высокая экспрессия РЭФР коррелирует с запущенностью опухолевого процесса, резистентностью к проводимой лекарственной (гормонотерапия, химиотерапия) и лучевой терапии и при некоторых опухолях является прогностически неблагоприятным фактором. Все вышесказанное позволило считать РЭФР привлекательной мишенью для противоопухолевой терапии.

Выключение функции рецептора можно достигнуть за счет блокирования экстрацеллюлярной части рецептора моноклональными антителами или ингибирования активности ТКС. Для достижения первой задачи были созданы моноклональные антитела цетуксимаб (С-225), способные ингибировать непосредственно РЭФР. Для ингибирования активных центров фосфорилирования ТКС РЭФР созданы препараты – гифитиниб (ZD 1839, Иресса) и эрлотиниб (OSI-774, Тарцева), по своему химическому строению принадлежащие к анилинохиназолинам. Ингибитором ТКС рецепторов c-kit (steel factor), рецептора к фактору роста, выделенного из тромбоцитов (PDGF) и химерного белка p210^{BCR-ABL}, является препарат иматиниб мизелат (STI 571, Гливек).

Гифитиниб (ZD 1839, Иресса)

Механизм действия Ирессы, как впрочем и цетуксимаба, основан на их способности конкурентно связываться с активными точками ТКС, где происходит процесс фосфорилирования, и, тем самым, препятствовать фосфорилированию бел-

ков-переносчиков сигналов [2]. Таким образом, несмотря на связывание с лигандом и димеризацию РЭФР, на уровне ТКС прерывается передача сигнала к факторам транскрипции. Показано, что Иресса избирательно связывается с ТКС РЭФР и не обладает значительным ингибирующим эффектом на ТКС других рецепторов. В экспериментальных моделях обработка опухолевых клеток с наличием РЭФР на поверхности клеточной мембраны Ирессой приводило к остановке клеточного деления, усилению апоптоза, снижению подвижности клеток. В опытах на бестимусных мышцах лечение Ирессой сопровождалось торможением и регрессией пересаженных человеческих опухолей. Показано, что Иресса потенцирует эффект современных противоопухолевых препаратов и лучевой терапии. При приеме внутрь примерно 50% принятой дозы препарата всасывается в кровь. При ежедневном длительном однократном приеме Ирессы в дозе 50–700 мг в крови создается постоянная концентрация препарата без признаков кумулятивной токсичности. Проведенные лабораторные и клинические исследования показали, что не имеет смысла использование Ирессы в дозе выше 500 мг ежедневно. Доза 250–500 мг хорошо сочетается с одновременным проведением химиотерапии. Первые клинические результаты продемонстрировали возможность достижения противоопухолевого эффекта у больных немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) и плоскоклеточным раком головы и шеи (ПРГШ) и его отсутствие при лечении больных раком почки.

Иресса подробно изучалась у больных диссеминированным НМРЛ с прогрессированием болезни после ранее проведенной стандартной химиотерапии. В исследование IDEAL-1 включались пациенты, получившие, как минимум, одну линию химиотерапии, а в IDEAL-2 – после двух линий [9, 18]. При этом первая линия обязательно должна была включать производные платины, а вторая – доцетаксел. В обоих исследованиях пациенты рандомизировались на два дозовых режима Ирессы: 250 мг или 500 мг ежедневно. Ирессу принимали до признаков прогрессирования или токсичности. Результаты представлены в табл. 1.

Таблица 1
Иресса у ранее леченных больных НМРЛ: исследования IDEAL-1, IDEAL-2

	IDEAL-1		IDEAL-2	
	250 мг	500 мг	250 мг	500 мг
Число пациентов	105	105	102	114
Симптоматический эффект	40 %	37 %	43 %	35 %
Объективный эффект	18 %	19 %	12 %	9 %
Медиана выживаемости	7,6 мес	7,9 мес	6,5 мес	5,9 мес

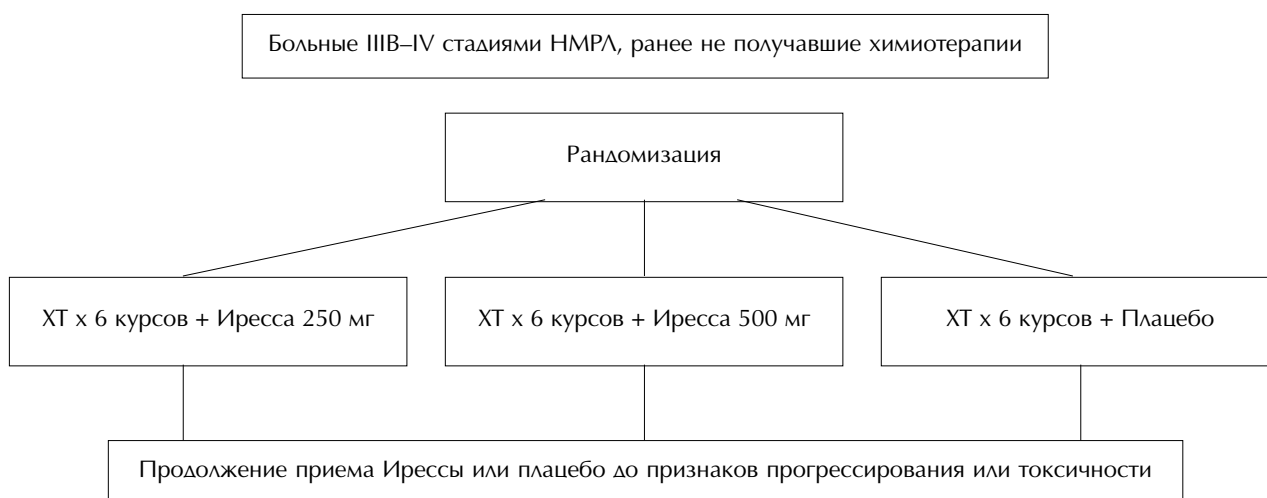
Иресса продемонстрировала выраженную противоопухолевую активность независимо от принимаемой дозы препарата и гистологического строения опухоли. Частота объективного эффекта в качестве второй-третьей линии составила 19% (IDEAL-1), а в третьей-четвертой – 9–12% (IDEAL-2). Уместно напомнить, что частота объективного эффекта доцетаксела при проведении второй линии химиотерапии составила 7,5% при медиане продолжительности жизни около 6 мес. Важным преимуществом Ирессы является высокая частота симптоматического улучшения на фоне лечения препаратом, которое наступает уже в первые дни приема. Улучшение состояния в первые дни лечения является косвенным свидетельством того, что у больного будет достигнут объективный эффект или стабилизация от приема препарата. Основными проявлениями токсичности Ирессы является кожная сыпь и зуд, диарея, которые носят умеренный характер (I–II степени) и не препятствуют проведению лечения. Очевидно, что суточная доза 250 мг является вполне адекватной с точки зрения противоопухолевого эффекта, повышение дозы до 500 мг приводило лишь к большей токсичности, не отражаясь на эффективности.

Данные исследования подтвердили, что блокада ТКС РЭФР может привести к регрессии опухоли и к быстрому уменьшению симптомов заболевания. Полученные результаты уже сегодня могут служить основанием рекомендовать назначение Ирессы у больных НМРЛ с прогрессированием после первой линии химиотерапии вместо более токсичного доцетаксела. Следует обратить внимание на появившиеся сообщения, что длительный прием Ирессы может обуславливать развитие интерстициальной пневмонии с исходом в пневмо-

склероз, легочную недостаточность, что может быть причиной смерти у отдельных больных.

Высокая эффективность и низкая токсичность Ирессы при лечении больных НМРЛ послужили основанием для проведения рандомизированных исследований. Дизайн данных исследований представлен на рисунке. В исследовании INTACT-1 в качестве химиотерапии использовалась комбинация цисплатина и гемцитабина, в исследовании INTACT-2 комбинация карбоплатина и паклитаксела. На конгрессе ESMO в октябре 2002 г. были представлены предварительные результаты этих исследований. Добавление Ирессы к проводимой химиотерапии не привело к улучшению результатов химиотерапии, что явилось полной неожиданностью после столь интересных результатов, полученных при назначении только Ирессы [10,15].

Одни объясняют неудачу Ирессы при одновременном назначении с химиопрепаратами тем фактом, что Иресса оказывает свой эффект только на пролиферирующие клетки опухоли. При одновременном назначении противоопухолевые препараты подавляют пролиферацию опухолевых клеток, не оставляя мишеней для Ирессы. Другие выдвигают предположение о значении степени экспрессии РЭФР для реализации противоопухолевого эффекта. В исследованиях INTACT-1 и INTACT-2 Иресса назначалась всем больным, независимо от наличия или отсутствия экспрессии РЭФР в опухолевых клетках. Сегодня нет данных, свидетельствующих о важности экспрессии РЭФР для реализации противоопухолевого эффекта Ирессы. Вместе с тем известно, что эффективность трастузумаба (Герцептина) напрямую зависит от степени экспрессии HER2. Проводимый в настоящее время анализ эффективности Ирессы и экспрессии РЭФР у больных НМРЛ, включенных в исследование INTACT-1 и INTACT-2, позволит уточнить насколько



Дизайн исследований INTACT-1 и INTACT-2 у больных НМРЛ.

ко важна степень экспрессии РЭФР для реализации противоопухолевого эффекта препарата.

Эрлотиниб (OSI-774, Тарцева)

Тарцева обладает большой избирательностью при связывании с ТКС РЭФР, что приводит к торможению опухолевого роста ксенографтов опухолей человека, пересаженных бестимусным мышам [2]. При сравнении биопсий до и после лечения Тарцевой в клетках таких опухолей отмечается 60% уменьшение фосфорилирования РЭФР и отсутствие фосфорилирования АКТ – одного из белков-переносчиков сигнала. Тарцева усиливает противоопухолевый эффект таких препаратов, как цисплатин, доксорубин и гемцитабин. Препарат назначается перорально и при дозе 100 мг в крови достигается эффективная биологическая доза 500 нг/мл. Первые проведенные клинические исследования продемонстрировали возможность достижения эффекта при назначении Тарцевы у больных ПРГШ, раком яичников, НМРЛ, ранее получавших химиотерапию (табл. 2). В настоящее время проводятся испытания по II фазе у больных раком желудка, молочной железы, шейки матки, эндометрия, толстой кишки. Также в рамках рандомизированных исследований изучается целесообразность монотерапии Тарцевой больных с резистентным НМРЛ или в комбинации с гемцитабином у больных раком поджелудочной железы.

Иматиниб мизелат (STI 571, Гливек)

Другим ингибитором тирозинкиназной активности многих рецепторов является Гливек. Изначально было показано, что Гливек ингибирует тирозинкиназную активность химерного белка, продукта химерного гена *BCR/ABL* [19]. Этот химерный ген образуется на коротком плече филадельфийской хромосомы в результате транслокации части гена *ABL* с 9 на 22 хромосому у больных хроническим миелоидным лейкозом (ХМЛ). Образовавшийся химерный ген ответственен за продукцию химерного белка p210^{BCR/ABL}, обладающего тирозинкиназной активностью и наличие которого в цитоплазме сопровождается усилением пролиферативной способности клетки за счет активации *gas*-МАРК сигнального пути. Гливек способен связываться с активным центром тирозинкиназы *ABL* и блокировать передачу внутриклеточного сигнала. В эксперименте Гливек подавлял *in vitro* пролиферацию клеточных линий, экспрессирующих *BCR/ABL*, ингибировал колониеобразование бластных клеток, полученных от больных ХМЛ. Первоначально Гливек был изучен в качестве второй линии химиотерапии на всех этапах лечения ХМЛ: хронической, акселерации и бластного криза. Результаты лечения приведены в табл. 3 и свидетельствуют о высокой эффективности препарата на всех этапах развития этого заболевания [17, 24, 26].

Таблица 2

Эффективность клинического применения Тарцевы

Автор	Фаза	Вид опухоли	Лечение	Эффект
Hidalgo M., 2001 [13]	I	Солидные опухоли	Тарцева	ЧР/МЭ = 2/16 (13%)
Senzer N., 2001 [25]	II	Рецидивы ПРГШ	Тарцева	ЧР = 10/78 (13%) Ст. = 23/78 (29%)
Finkler N., 2001 [7]	II	Рак яичников	Тарцева	ЧР = 3/30 (10%) Ст. = 15/30 (50%)
Perez-Soler R., 2001 [21]	II	НМРЛ	Тарцева	ЧР = 6/56 (11%) Ст. = 19/56 (44%)
Forouzes B., 2002 [8]	I	Солидные опухоли	Тарцева + доцетаксел	МЭ/Ст. = 7/16 (44%)

Примечание. ЧР – частичная регрессия, МЭ – минимальный противоопухолевый эффект, Ст. – стабилизация опухоли.

Таблица 3

Эффективность Гливека у больных ХМЛ [17, 24, 26]

Эффект от проводимой терапии	Хроническая фаза	Фаза акселерации	Бластный криз
Число больных	454	181	229
Полная гематологическая ремиссия	95%	34%	8%
Полная цитогенетическая ремиссия	41%	17%	7%
Общая выживаемость	Не достигнута	Не достигнута	6,9 мес

Данные исследования послужили основанием для проведения рандомизированного клинического испытания у больных в хронической фазе ХМЛ, наличием филадельфийской хромосомы и числом бластов в периферической крови менее 15% в течение 6 мес [6]. В исследование включены 1106 больных, которым назначали либо интерферон в дозе 5 млн. Ед/м² ежедневно совместно с цитозинарабинозидом в дозе 20 мг/м² ежедневно 10 дней каждый месяц или Гливек 400 мг ежедневно. Дозу Гливека разрешалось увеличивать до 600 и 800 мг в случае отсутствия полной гематологической ремиссии в течение 3 мес или полной цитогенетической ремиссии в течение 12 мес. Разрешалось перекрестное лечение в случае отсутствия эффекта на начальную терапию. Критериями эффективности служили время до прогрессирования, а также частота гематологической и цитогенетической ремиссии, продолжительность жизни. При среднем сроке наблюдения 14 мес 90% больных продолжали прием Гливека, в то время как только 30% больных продолжали терапию интерфероном и цитозинарабинозидом. Другие результаты терапии представлены в табл. 4 и свидетельствуют о преимуществе Гливека перед стандартным лечением с включением интерферона и цитозинарабинозида.

Частота серьезной гематологической токсичности (III–IV степени) составила 2% и была одинаковой в обеих группах. Вместе с тем, у больных, получавших интерферон и цитозинарабинозид, чаще наблюдали гриппоподобный синдром и слабость, что послужило причиной отмены лечения у 23% пациентов. На основании полученных предварительных результатов было сделано предложение считать Гливек стандартной терапией первой линии больных ХМЛ, хотя продолжающееся наблюдение за больными, включенными в исследование, позволит более определенно судить о преимуществах лечения Гливеком.

Одновременно было показано, что Гливек способен ингибировать ТКЦ и других рецепторов, в частности, С-KIT (steel factor) и рецептора к фактору роста, выделенного из тромбоцитов (PDGF). Целый ряд опухолевых клеток экспрессируют на своей поверхности вышеуказанные рецепторы [20].

Наиболее успешным представляется опыт использования Гливека при лечении больных гастроинтестинальными стромальными опухолями (ГИСТ). ГИСТ относятся к мезенхимальным опухолям желудка или кишечника. Ранее эти опухоли диагностировали как лейомиомы или лейомиосаркомы [20]. Отличием ГИСТ от истинных лейомиосарком является наличие экспрессии С-

Таблица 4
Предварительные результаты лечения Гливеком и интерфероном в сочетании с цитозинарабинозидом больных ХМЛ [6]

Результаты терапии	Гливек	Интерферон + цитозинарабинозид
Число больных	553	553
Полная цитогенетическая ремиссия (0% Ph+)	375 (68%)	41 (7%)
Частичная цитогенетическая ремиссия (1% to 35% Ph+)	82 (15%)	71 (13%)
1-годичная частота полных и частичных цитогенетических ремиссий	84%	30%
1-годичная частота полных гематологических ремиссий	96%	67%
1-годичная выживаемость без признаков прогрессии	97%	80,3%

Таблица 5
Опухоли с экспрессией рецепторов С-KIT и PDGF [20]

Опухоли, экспрессирующие С-KIT	Опухоли, экспрессирующие рецептор PDGF
Гастроинтестинальные стромальные опухоли	Хронический миеломоноцитарный лейкоз
Мелкоклеточный рак легкого	Глиомы
Нейробластома	Рак предстательной железы
Острый миелоидный лейкоз	Другие солидные опухоли (рак молочной железы, яичников, толстой кишки)
Злокачественные лимфомы	Костные метастазы

KIT (CD117) на поверхности опухолевой клетки, определяемой гистоиммунохимически. Считается, что ГИСТ происходят из клеток Каджала, которые регулируют перистальтику желудка и кишечника. ГИСТ относятся к опухолям, резистентным к современным противоопухолевым препаратам и лучевой терапии. Хирургический метод до последнего времени считался единственным способом их лечения. 5-летняя выживаемость составляет, по данным различных авторов, 35–60%. Основной причиной смерти является развитие печеночных и внутрибрюшинных метастазов.

Первоначально Гливек в дозе 400–1000 мг ежедневно был назначен 36 больным ГИСТ [29]. Объективный эффект был отмечен у 29 (81%) больных. Рекомендуемая доза Гливека составила 400 мг 2 раза в день. При среднем сроке наблюдения 11 мес 29 больных продолжают прием препарата и у 18 (50%) сохраняется частичная регрессия. Основными побочными эффектами были слабость (30%), тошнота (25%), отеки (25%), кожная сыпь (22%) и одышка (9%). Токсичность от приема Гливека у большинства больных была минимальной, а развитие противоопухолевого эффекта наблюдали уже в первые дни приема препарата.

В другом исследовании Гливек в дозе 400 или 600 мг в день был назначен 147 больным ГИСТ, большинство из которых ранее получали химиотерапию. Частота частичных регрессий составила 54%, и еще у 28% больных наблюдали минимальный эффект или стабилизацию заболевания. При минимальном сроке наблюдения 6 мес большинство больных продолжают лечение без признаков прогрессирования [30]. На основании полученных данных в настоящее время проводится рандомизированное исследование, в котором больные ГИСТ получают Гливек в дозе 400 мг или 800 мг в день с целью определения оптимальной с точки зрения эффективности и токсичности дозы препарата. Если данное исследование подтвердит ранее установленный факт эффективности Гливека, то данный препарат будет рекомендован в качестве стандартной терапии больных ГИСТ.

Имеются первые сообщения использования Гливека и при других опухолях, часто экспрессирующих либо С-KIT, либо рецептор PDGF. В исследовании EORTC Гливек в дозе 800 мг ежедневно был назначен 23 больным саркомами мягких тканей с прогрессированием на фоне проведения химиотерапии. Объективный эффект не был зарегистрирован ни в одном случае, а стабилизация заболевания наблюдалась у 30% больных. В данной группе не определялась экспрессия С-KIT либо рецептора PDGF [16].

Гливек был назначен больным мелкоклеточным раком легкого, при котором, по данным литературы, частота экспрессии С-KIT (CD117) составляет 50–70%. В исследование были включены 19 больных, 9 из которых ранее не получали химиотерапию. Не было достигнуто ни одного объективного ответа. При изучении опухолевых блоков лишь у 4 (21 %) иммуногистохимически была обнаружена экспрессия С-KIT [14]. Таким образом, продолжается поиск опухолей, чувствительных к назначению Гливека.

Ингибиторы фарнезилтрансферазы

Сигнал от рецепторов РЭФР передается на молекулы-переносчики сигнала, среди которых важную роль играют белки семейства RAS. RAS принадлежит к большому семейству G-белков, участвующих в передаче внутриклеточного сигнала от рецептора к ядру [22]. Универсальным свойством G-белков является их способность фосфорилироваться, превращаясь в активный комплекс G-белок–гуанинтрифосфат. Отдавая гуанинтрифосфат в процессе фосфорилирования последующих белковых молекул, участвующих в передаче сигнала, RAS переходит в неактивное состояние, соединяясь с гуаниндифосфатом. В опухолевых клетках часто встречается точечная мутация гена *RAS*, в результате которой мутированный белок RAS утрачивает способность диссоциации с гуанинтрифосфатом и постоянно находится в активированном состоянии, имитируя и передавая стимулирующие к пролиферации сигналы. Все это послужило основанием считать белок RAS в качестве перспективной мишени для прерывания пролиферативного сигнала, идущего от рецепторов с тирозинкиназной активностью, включая РЭФР. Известно, что белок RAS для выполнения своей функции должен приобрести соответствующую пространственную структуру и прикрепиться к внутренней поверхности мембраны. Для этого с помощью фермента фарнезилтрансферазы происходит присоединение 15 фарнезиловых групп на COOH-окончание белка. Без фарнелизации RAS не способен фосфорилироваться и передавать сигналы от рецептора к ядру клетки [14]. Были разработаны ингибиторы фарнезилтрансферазы, которые на экспериментальных моделях показали способность специфично блокировать функцию RAS-белка, что приводило к торможению опухолевого роста. В настоящее время препараты из этой группы, к которым относятся L778,123, SCH66336 (Сарасар), R115777 (Зарнестра) и BMS-214662, проходят I–III фазу клинических испытаний.

Вместе с тем, при проведении экспериментальных работ было показано, что ингибиторы фарне-

зилтрансферазы не в равной степени блокируют фарнелизацию различных представителей RAS-белков. В частности, белок K-RAS в 10–30 раз менее чувствителен к ингибированию фарнезилтрансферазой по сравнению с белком H-RAS. Однако именно ген *K-RAS* наиболее часто подвергается мутации в опухолях человека. Возможно, отсутствием селективности первых созданных ингибиторов фарнезилтрансферазы объясняют недостаточную клиническую эффективность препаратов этого класса. Сегодня известны результаты двух рандомизированных исследований по применению Зарнестры при лечении больных диссеминированным колоректальным раком и распространенным раком поджелудочной железы [5, 28]. Больным колоректальным раком назначали постоянный прием Зарнестры в случае прогрессии после двух линий химиотерапии. Контрольная группа получала плацебо. Данные свидетельствуют, что прием Зарнестры не приводит к увеличению продолжительности жизни этой тяжелой группы пациентов по сравнению с плацебо.

Больным распространенным раком поджелудочной железы проводили химиотерапию первой линии гемцитабином. На этом фоне одна половина больных поручала Зарнестру, а другая – плацебо. Добавление Зарнестры не улучшило результаты химиотерапии. Вместе с тем, при проведении I фазы клинических испытаний препаратов Зарнестра, Сарасар и других были отмечены отдельные случаи частичных регрессий у больных различными солидными опухолями, включая НМРЛ, колоректальный рак, и другими опухолями.

Перспективы ингибиторов фарнезилтрансферазы при лечении солидных опухолей пока остаются неясными и связаны, в первую очередь, с разработкой более селективных препаратов, способных ингибировать фарнелизацию всего семейства мутированных белков RAS. Более оптимистичными представляются результаты применения ингибиторов фарнезилтрансферазы у больных гемобластозами [4].

При проведении I фазы клинических испытаний Зарнестры частичные или полные гематологические ремиссии отмечены у 8 (32%) больных с рецидивами острого миелоидного лейкоза и у 2 из 3 больных с бластным кризом ХМЛ. При проведении II фазы у больных ХМЛ гематологические ремиссии отмечены у 6 из 10 больных в хронической фазе и у 1 из 5 больных в фазе акселерации. Ни у одного больного ХМЛ с наличием бластного криза не отмечено улучшения состояния на фоне приема Зарнестры. Наконец, у больных с миелодиспластическим синдромом лечение Зарнестрой сопровождалось развитием гематологических ремиссий у 6 (33%) из 18 больных и пол-

ной гематологической ремиссией у 2 (13%) из 16 больных. Первые результаты стимулируют дальнейшее изучение значения ингибиторов фарнезилтрансферазы в первую очередь у больных острым миелоидным лейкозом, ХМЛ и миелодиспластическим синдромом.

Антисмысловая терапия

Для синтеза любого белка в клетке требуется создание информационной РНК (и-РНК), с которой происходит считывание на рибосоме и в последующем построение белковой молекулы. и-РНК представляет собой участок одной из цепи ДНК, содержащий информацию о строении белка в виде уникальной последовательности нуклеотидов. Теоретически, высокая избирательность противоопухолевой терапии может быть основана на уникальности нуклеотидного кода и-РНК. Если синтезировать последовательность нуклеотидов, комплементарную определенному участку и-РНК, то происходит их соединение и образование на этом участке и-РНК двухцепочного фрагмента. Это приводит к нарушению структуры и-РНК, необходимой для синтеза белка, и, как следствие, ингибирование синтеза определенного белка, обеспечивающего жизнедеятельность опухолевой клетки. При этом участок и-РНК, который является прототипом для создания нуклеотидной последовательности, называется смысловым, а созданная комплементарная последовательность олигонуклеотидов – антисмысловой. Последовательность из 12–20 нуклеотидов является уникальной и неповторимой и этим самым достигается высочайшая специфичность предложенного метода [27].

Между тем, на пути этого простого и элегантного подхода стоят огромные технические трудности. Самая главная, как предохранить антисмысловой олигонуклеотид, который при введении его в кровеносное русло должен попасть сначала в клетку, а затем и в клеточное ядро, от разрушения внутриклеточными нуклеазами. Изменение химической структуры антисмыслового олигонуклеотида (например, замена кислорода на серу в фосфорной кислоте, связывающей нуклеиновое основание и рибозу) приводит к повышению устойчивости к нуклеазам, но одновременно ухудшает растворимость созданного олигонуклеотида. Кроме того, было показано, что внутривенное введение олигонуклеотидов способно стимулировать иммунную систему и являться причиной развития аллергических реакций.

В настоящее время создано несколько олигонуклеотидов, нарушающих синтез белков, играющих ключевую роль в регуляции апоптоза, передаче внутриклеточных сигналов, транскрипции ДНК (табл. 6).

Таблица 6
Мишени антисмысловых олигонуклеотидов [27]

Мишень	Функция мишени	Олигонуклеотид	Фаза клинического изучения
BCL2	Ингибитор апоптоза	G3139	III
Протеинкиназа С	Внутриклеточный киназный рецептор, участвующий в передаче пролиферативных сигналов	ISIS 3521	III
RAF	Серин/треонинкиназа, участвует в передаче пролиферативных сигналов	ISIS 5132	II
H-RAS	Белок-переносчик внутриклеточных сигналов	ISIS 2503	II
C-MYB	Контроль клеточного цикла	LR301	II
Метилтрансфераза	Инактивирует гены-супрессоры	MG 98	II
Протеинкиназа А	Промотор клеточной пролиферации	GEM 231	I

Bcl2 является мощным ингибитором апоптоза и экспрессия гена *BCL2* наблюдается в клетках многих злокачественных опухолей, включая В-клеточную лимфому, меланому, рак легкого. G3139 – олигонуклеотид, состоящий из 18 нуклеотидов, комплементарных к первым 6 кодоном и-РНК *BCL2*. В экспериментальных моделях была продемонстрирована способность G3139 ингибировать синтез *BCL2* в опухолевых клетках, что приводило к регрессии опухоли. При проведении I фазы клинических испытаний G3139 была назначена в виде 14-дневной постоянной подкожной инфузии 21 больному с *BCL2*-позитивными неходжкинскими лимфомами, резистентными к противоопухолевым препаратам. Не отмечено серьезной системной токсичности. Полная регрессия опухоли отмечена у 1 больного и еще у 2 зафиксирован минимальный эффект. Экспрессия *BCL2* снижалась в среднем на 24% у 6 из 16 больных. В настоящее время проводится II фаза изучения G3139 совместно с химиотерапией у больных с рецидивами неходжкинских лимфом.

G3139 совместно с дакарбазином была изучена у 14 больных диссеминированной меланомой. Повторные биопсии опухоли до и на фоне лечения показали снижение экспрессии *BCL2* в опухолевых клетках примерно на 40% и активацией апоптоза в опухоли. Противоопухолевый эффект отмечен у 6 из 14 больных, а средняя продолжительность жизни всех пациентов составила более 12 мес. Учитывая, что средняя продолжительность жизни больных диссеминированной меланомой составляет 6–9 мес, полученные результаты послужили основанием для проведения рандомизированного исследования, в котором больные меланомой получают дакарбазин отдельно или в сочетании с G3139. Комбинация G3139 и доцетаксела изучается у больных гормонорезистентным

раком предстательной железы, раком молочной железы и шейки матки.

Другой мишенью для антисмысловой терапии является протеинкиназа С-альфа (PKC). PKC является основными внутриклеточными рецепторами, участвующими в передаче пролиферативных сигналов. ISIS 3521 – олигонуклеотид, состоящий из 20 нуклеотидных последовательностей, комплементарно связывается с и-РНК PKC, что сопровождается торможением роста экспериментальных опухолей. Препарат вводится в виде внутривенной постоянной инфузии в течение 21 дня, и основными побочными эффектами являются слабость и тромбоцитопения. Противоопухолевый эффект продолжительностью до 11 мес наблюдали у 3 из 4 больных раком яичников. ISIS 3521 совместно с паклитакселом использовали для лечения 24 больных НМРЛ. Частота объективного эффекта составила 46%, 1-годовая выживаемость 78%, а средняя продолжительность жизни 18 мес, что существенно контрастирует со средней продолжительностью жизни 7–9 мес при проведении химиотерапии у этой категории больных. В настоящее время проводится рандомизированное исследование, в котором больные НМРЛ получают паклитаксел отдельно или в сочетании с ISIS 3521.

Ингибиторы циклинзависимых киназ

Итогом передачи пролиферативного сигнала от рецептора в клеточное ядро является вступление в процесс клеточного цикла, оканчивающегося делением и образованием двух дочерних клеток. Клеточный цикл строго регулируется. С одной стороны, он стимулируется на различных этапах комплексом циклинов и циклинзависимых киназ, активность которых резко возрастает после получения пролиферативного сигнала от рецептора. С другой стороны, существу-

ют белки-регуляторы, способные затормозить процесс деления на любом этапе клеточного цикла. К ним относятся белки семейства p21^{WAF1/CIP1/SD11}, p27^{KIP1} и p57, а также семейства гена *p16* [1, 25]. Известно, что в подавляющем большинстве опухолевых клеток наблюдается повышенная активность циклинов и циклинзависимых киназ, и, наоборот, снижение активности белков-ингибиторов клеточного цикла, что облегчает опухолевой клетке процесс бесконтрольной пролиферации. В этой связи не вызывает сомнений перспективность разработки препаратов, способных уменьшать активность циклинов и их киназ. Такие препараты созданы и один из них – флавопиридол – проходит клинические испытания. Флавопиридол – полусинтетический флавоноид растительного алкалоида рохитукина. Он способен ингибировать активность циклинзависимой киназы 1, 2, 4 и 6, что блокирует переход клетки из фазы G₁ в S и из фазы G₂ непосредственно в митоз. Это приводит к торможению роста опухоли, усилению процессов дифференцировки опухолевых клеток и апоптоза. Отмечен синергизм цитостатического действия флавопиридола и цитотоксического действия современных противоопухолевых препаратов, например цисплатина, особенно когда флавопиридол назначался первым. Проведена I фаза клинических испытаний 72-часовых инфузий препарата, определившая, что дозолимитирующей токсичностью является диарея. Отмечены отдельные противоопухолевые эффекты у больных раком почки и желудка. Учитывая, что флавопиридол не приводит к немедленной гибели опухолевой клетки, а лишь тормозит процесс пролиферации, в проводящихся в настоящее время исследованиях флавопиридол применяется совместно с противоопухолевыми препаратами. Данные исследования должны ответить на вопрос, способно ли добавление флавопиридола улучшить результаты существующих химиотерапевтических режимов.

Заключение

В одной работе невозможно рассмотреть все проводимые в настоящее время исследования по разработке эффективных лекарственных препаратов, в основе механизма действия которых лежит их способность прерывать прохождение внутриклеточных

сигналов от рецептора до ядра. За рамками остались работы по разработке и применению протеосомных ингибиторов, ингибиторов диацетилазы гистонов, аналогов рапамицина, блокирующих передачу сигналов по PI3K/AKT сигнальному пути и т.д. Следует подчеркнуть, что уже первый опыт клинического применения препаратов, направленных на прерывание внутриклеточных сигналов, показал, что специфическое блокирование функции белка-мишени, участвующего в передаче сигнала, способно вызывать торможение и даже регрессию опухолевого роста. Учитывая минимальную токсичность ингибиторов передачи внутриклеточных сигналов и синергизм с существующими противоопухолевыми препаратами, изучается возможность их совместного применения с современными противоопухолевыми препаратами. Не менее интересным представляется совместное назначение нескольких ингибиторов, направленных на одновременное подавление функции нескольких ключевых белков, участвующих в регуляции клеточного цикла опухолевой клетки. Важнейшим условием эффективности применения ингибиторов передачи внутриклеточных сигналов является определение показаний к их назначению. Вероятно, это не может быть просто диагноз или сведения о морфологии опухоли. Необходимо у каждого конкретного больного знать, какие сигнальные пути, какие конкретные белки играют ключевую роль в регуляции пролиферации, инвазии и метастазировании, чтобы на основании этого выбрать препарат или комбинацию препаратов, способных эффективно блокировать передачу внутриклеточного сигнала. Опыт неудач использования новых противоопухолевых препаратов, ставящих целью «поразить» ту или иную молекулярную мишень, во многом объясняется отсутствием селекции больных для лечения на основании индивидуальных особенностей функционирования опухолевой клетки. Современные технологии анализа строения ДНК, активности генов и клеточных белков уже завтра придут в клинику и сделают назначение ингибиторов передачи внутриклеточных сигналов осмысленным. Есть все основания надеяться, что это, наряду с разработкой более совершенных препаратов, значительно повысит эффективность противоопухолевой терапии.

Литература

1. Копнин Б.П. Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза. Биохимия. 2000; 65: 5–33.
2. Baselga J. New technologies in epidermal growth factor receptor-targeted cancer therapy. Signal. 2000; 1: 12–21.
3. Blume-Jensen P., Hunter T. Oncogenic kinase signaling. Nature. 2001; 411: 355–365.
4. Cortes J.E., Kurzrock R., Kantarjian M. Farnesyltransferase inhibitors: novel compounds in development for the treatment of myeloid malignancies. Semin Hematol. 2002; 39 (suppl. 2): 26–30.
5. Cunningham D., de Gramont A., Scheithauer W. et al. Randomized double-blind placebo-controlled trial of the farnesyltransferase inhibitor R115777 (ZarnestraTM) in advanced refractory colorectal cancer. ASCO. 2002; 21: Abstr. 502.

6. *Druker B.J.* for the IRIS (International Randomized IFN vs STI571) Study Group. STI571 versus interferon + cytarabine as initial therapy for patients with CML: results of a randomized study. *ASCO*. 2002; 21: Abstr. 1.
7. *Finkler N., Gordon A., Crozier M. et al.* Phase 2 evaluation of OSI-774, a potent oral antagonist of the EGFR-TK in patients with advanced ovarian carcinoma. *Proc. ASCO*. 2001; 20: Abstr. 831.
8. *Forouzes B., Hidalgo M., Takimoto C. et al.* Phase I, pharmacokinetic and biological studies of the epidermal growth factor-tyrosine kinase inhibitor OSI-774 in combination with docetaxel. *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 81.
9. *Fukuoka M., Yano S., Giaccone G. et al.* Final results from a phase II trial of ZD1839 for patients with advanced non-small cell lung cancer (IDEAL-1). *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 1188.
10. *Giaccone G., Johnson D.H., Manegold C. et al.* A phase III clinical trial of ZD1839(Iressa) in combination with gemcitabine and cisplatin in chemotherapy naïve patients with advanced non-small-cell lung cancer (INTACT 1). *Ann. Oncol.* 2002; 13 (suppl. 5): 2 (Abstr. 40).
11. *Hackel P.O.* Epidermal growth factor receptors: critical mediators of multiple receptor pathways. *Curr. Opin. Cell Biol.* 1999; 11: 184–189.
12. *Hanahan D., Weinberg R.A.* The hallmarks of cancer. *Cell*. 2001; 100: 57–70.
13. *Hidalgo M., Malik S., Rowinsky E. et al.* Inhibition of the epidermal growth factor receptor (EGFR) by OSI-772, a specific EGFR inhibitor in malignant and normal tissue of cancer patients. *Proc. ASCO*. 2001; 20: Abstr. 281.
14. *Johnson B.E., Fisher B., Fisher T. et al.* Phase II study of STI571 (Gleevec) for patients with small cell lung cancer. *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 1171.
15. *Johnson D.H., Herbst R., Giaccone G. et al.* ZD1839 (Iressa) in combination with paclitaxel and carboplatin in chemotherapy-naïve patients with non-small-cell lung cancer: results from a phase III clinical Trial (INTACT 2). *Ann. Oncol.* 2002; 13 (suppl. 5): 127 (Abstr. 4680).
16. *Judson I.R., Verweij J., van Oosterom A. et al.* Imatinib an active agent for gastrointestinal stromal tumors (GIST), but not for other soft tissue sarcoma subtypes not characterized for KIT and PDGF-R expression, results of EORTC phase II studies. *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 1609.
17. *Kantargian H., Sawyers C., Hochhaus A. et al.* Hematologic and cytogenetic response to imatinib mesylate in chronic myeloid leukemia. *N. Engl. J. Med.* 2002; 346: 645–652.
18. *Kris M., Natale R., Herbst R. et al.* A phase II trial of ZD1839 in advanced NSCLC patients who had failed platinum and docetaxel based regimens (IDEAL-2). *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 1166.
19. *Manley P.W., Cowan-Jacob S.W., Buchdunger E. et al.* Imatinib: a selective tyrosine kinase inhibitor. *Europ. J. Cancer*. 2002; 38 (suppl. 5): s19–s27.
20. *Mietten M., Majidi M., Lasote J.* Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): a review. *Europ. J. Cancer*. 2002; 38 (suppl. 5): s39–s51.
21. *Perez-Soler R., Chachoua A., Huberman M. et al.* Phase II trial of the epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor OSI-774, following platinum-based chemotherapy, in patients with advanced, EGFR-expressing, non-small cell lung cancer. *Proc. ASCO*. 2001; 20: Abstr. 1235.
22. *Rowinsky E.K., Windle J.J., Von Hoff D.D.* Ras protein farnesyltransferase: a strategic target for anticancer therapeutic development. *J. Clin. Oncol.* 1999; 17: 3631–3652.
23. *Salomon D.S., Brandt R., Ciardiello F. et al.* Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 1995; 19: 183–232.
24. *Sawyers C.L., Hochhaus A., Feldman E. et al.* Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myeloid leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. *Blood*. 2002; 99: 3530–3539.
25. *Senzer N.N., Soulieres D., Siu L. et al.* Evaluation of OSI-774, a potent oral antagonist of the EGFR-TK in patients with advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Proc. ASCO*. 2001; 20: Abstr. 6.
26. *Talpa M., Silver R.T., Druker B.J. et al.* Imatinib induces durable hematologic and cytogenetic responses in patients with accelerated phase chronic myeloid leukemia: results of a phase II study. *Blood*. 2002; 99: 1928–1937.
27. *Tamm I., Dorken B., Hartmann G.* Antisense therapy in oncology: new hope for an old idea? *Lancet*. 2001; 358: 489–497.
28. *Van Cutsem E., Karasek P., Oettle H. et al.* Phase III trial comparing gemcitabine + R115777 (Zarnestra) versus gemcitabine + placebo in advanced pancreatic cancer. *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 517.
29. *Van Oosterom A.T., Judson I., Verweij J. et al.* Safety and efficacy of imatinib in metastatic gastrointestinal stromal tumors: a phase I study. *Lancet*. 2001; 358:1421–1423.
30. *Von Mehren M., Blanke C., Joensuu H. et al.* High incidence of durable responses induced by imatinib mesylate in patients with unresectable and metastatic gastrointestinal stromal tumors. *Proc. ASCO*. 2002; 21: Abstr. 1608.

Поступила в редакцию 5.11.2002