

ХИМИОИММУНОТЕРАПИЯ В ОНКОЛОГИИ

И.Н. Михайлова, И.Ж. Шубина

ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Химиоиммунотерапия — один из современных подходов в лечении злокачественных новообразований, способствует индуцированию продукции иммунорегуляторных цитокинов и специфических «сигналов опасности», возникающих в результате клеточной смерти и воздействующих на иммуногенные клетки.

Ключевые слова: химиоиммунотерапия, иммунотерапия, антрациклины, Т-регуляторные клетки, CRT (*intracellular chaperone calreticulin*), метрономный режим химиотерапии.

CHEMOIMMUNOTHERAPY IN ONCOLOGY

I.N. Milkhaylova, I.Zh. Shubina

Federal State Budgetary Scientific Institution «N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center»

Chemoimmunotherapy is a promising approach for treatment of malignant lesions as it mediates induction of immunoregulatory cytokines and specific «signals of danger», which appear as a result of cell death due to stimulation of immune cells.

Key words: chemoimmunotherapy, immunotherapy, anthracyclines, regulatory cells, CRT, metronomic regimen of chemotherapy.

Химиоиммунотерапия — один из современных подходов в лечении злокачественных новообразований. Эффективность метода противоопухолевой иммунотерапии в режиме монотерапии пока остается незначительной и малоубедительной, но при этом увеличивается количество наблюдений, в которых противоопухолевые иммунные ответы способствуют контролю роста [3]. В последнее десятилетие концепция негативного воздействия химиотерапии на иммунный ответ была подвергнута специальному изучению, так как полученные ранее результаты исследований доклинических моделей свидетельствовали, что химиотерапия способна индуцировать продукцию иммунорегуляторных цитокинов и специфических так называемых «сигналов опасности», возникающих в результате клеточной смерти и воздействующих на иммуногенные клетки [23]. В частности, это касается химиопрепаратов группы антрациклинов, которые могут как стимулировать специфический иммунный ответ, направленный на уничтожение резидуальных опухолевых клеток, так и практически сберечь микрометастазы, находящиеся в стадии покоя [14].

Разнонаправленное влияние таких препаратов, как: циклофосфамид (ЦФ), флударабин, гемцитабин, оксалиплатин и 5-фторурацил — приводит к элиминации или временной инактивации Т-регуляторных клеток и восстановлению функции эффекторных Т-лимфоцитов [9; 6; 16]. Эффективность применения этих препаратов с учетом их иммуномодулирующего действия была продемонстрирована в клинических исследованиях при лечении метастатической меланомы низкими дозами циклофосфамида и противоопухолевой вакциной [4; 20], а также во время терапии рака почки дендритными вакцинами с введением адьюванта гемоцианина и циклофосфамида [12]. В другом исследовании, включавшем 10 пациентов с различными солидными опухолями, изучали применение метрономного режима лечения циклофосфамидом — 100 мг *per os* ежедневно в течение четырех недель. Результаты этого исследования показали, что «метрономные» дозы ЦФ снижают ингибиторную активность Т-регуляторных клеток (Treg) и восстанавливают пролиферативную активность эффекторных Т-лимфоцитов и цитотоксичность НК-клеток [10]. В литературе

появились сведения, что Гемцитабин увеличивает частоту продукции гамма-интерферона активированными Т-лимфоцитами или CD69+ клетками при раке поджелудочной железы [21], а также увеличивает клеточный иммунный ответ при немелкоклеточном раке легкого (I фаза исследования) [15].

Клиническое исследование комбинации гемцитабина, ГМ-КСФ и низких доз ИЛ-2 у 42 пациентов при раке толстой кишки выявило повышение числа объективного ответа на терапию и периода до прогрессирования, что коррелировало с увеличением субпопуляции опухоль-специфических цитотоксических лимфоцитов [7]. Химиотерапия на основе цисплатина кроме цитотоксического воздействия на опухолевые клетки способна снижать количество Treg в периферической крови пациентов с диссеминированной меланомой по сравнению с ХТ, не содержащей препараты платины, что может говорить о иммунорегуляторном потенциале этого препарата, элиминирующего супрессорные популяции Т-лимфоцитов [1].

На сегодняшний день существует уже множество примеров, доказывающих положительный синергизм действия иммуно- и химиотерапии. И, конечно, встает вопрос: каким образом все это происходит? Оказывается, что после уничтожения раковой клетки начинается быстрая презентация разрушенных фрагментов опухолевых клеток антиген-презентирующими дендритными клетками. Интересные данные представляет Obeid et al. [18], показывая, почему дендритные клетки отвечают и каким образом Т-клеточный ответ способствует редукции опухоли. Активация Т-киллеров, а также возможность дендритных клеток получать опухолевые антигены в форме опухолевых «телец» и дебриса, последующее эффективное кросс-примирование CD4+ и CD8+ клеток — важное условие успешной иммунотерапии. Obeid с соавторами предполагают, что химиотерапевтические препараты более или менее иммуногенны; наиболее активными представляются антрациклины (доксорубин, идарубин, митоксантрон). Изучая роль химиоиммунотерапии при раке

толстой кишки на моделях животных, он отметил, что различная эффективность вакцин коррелировала не со степенью апоптоза опухолевых клеток, вызванного антрациклином или другими препаратами, а со способностью препарата индуцировать быструю мобилизацию на клеточной поверхности опухолевой клетки внутриклеточного шаперона кальретикулина (*intracellular chaperone calreticulin, CRT*) перед началом апоптотического процесса.

Таким образом, опухолевые клетки в присутствии антрациклинов экспрессируют на своей мембране CRT, что является сигналом для дендритных клеток к реализации их функции фагоцитоза. CRT (изначально называемый высоко-аффинный кальций-связывающий белок (*intracellular chaperone calreticulin*) был открыт еще в 1974 году, как важный белок, отвечающий за разнообразные внешние и внутренние функции клетки. Некоторые авторы, однако, предполагают, что CRT может уклоняться от обычных своих функций в качестве шаперона и кальций-сигнальной молекулы в эндоплазматическом ретикулуме и выполнять дополнительные важные функции на цитоплазматической мембране клетки или внутри клеточного ядра [4]. Поверхностный уровень экспрессии CRT прямо коррелирует со способностью дендритных клеток, полиморфноядерных фагоцитов к фагоцитозу, а также со способностью нормальных и опухолевых клеток к адгезии с компонентами внеклеточного матрикса.

Являются ли антрациклины единственными апоптотическими агентами, которые опосредуют транслокацию CRT и инициацию иммунногенной программы клеточной смерти? Характерная особенность антрациклинов заключается в их способности использовать раннее фосфолирование eIF2a (эукариотический трансляционный иницирующий фактор) — процесс, обычно протекающий в эндоплазматическом ретикулуме в состоянии клеточного стресса, как прелюдии появления CRT на клеточной поверхности [19].

Другое мнение было высказано В. Palermo et al. [3]. С его точки зрения, резидуальные меланомные клетки могут подвергаться мутационному эффекту дакарбазина, способствуя образованию новых Т-клеточных клонов. В исследовании показано увеличение эффективности иммунотерапии на фоне комбинации химиотерапии дакарбазином и противоопухолевой вакциной у пациентов с меланомой. Дакарбазин — алкилирующий препарат, индуцирующий оба эффекта: цитотоксическое действие на опухолевую клетку и развитие мутагенности [22], которые могут приводить к образованию неоэпитопов, более распознаваемых иммунитетом [11]. Введение дакарбазина способствует активации генов, вовлеченных в лимфоцитарную экспансию и активацию кининов, в частности интерлейкинов 2 и 15 [5].

Другой парадигмой химиоиммунотерапии является так называемый «феномен опухолевых клеток» [13]. В серии доклинических исследований таких препаратов, как 5-фторурацил, цисплатин, гемцитабин [2; 8], было показано, что сублетальные дозы могут стимулировать экспрессию опухолеассоциированных антигенов и/или адгезионных молекул и/или снижать экспрессию антиапоптотических генов, изменяя фенотип опухолевых клеток и делая их более чувствительными к антиген-специфическому Т-опосредованному лизису. Аналогичные данные представлены и Lutz ER [17]. Химиоиммунотерапия аденокарциномы протоков поджелудочной железы циклофосфаном (метрономные дозы) и вакциной GVAX способствовала образованию в опухолевой ткани лимфоидных агрегатов, состоящих из эффекторных Т-лимфоцитов, превалирующих над

регуляторными Т-клетками, что коррелировало с лучшей выживаемостью пациентов [17]. Принимая во внимание вышеприведенный механизм иммунной реакции, можно использовать вакцинотерапию, индуцирующую Т-клеточный лизис опухоли в случае отсутствия ответа пациента на лекарственную или лучевую терапию, тем самым подтверждая парадигму комбинированной терапии — вакцин и других видов лечения.

Заключение

Считается, что влияние иммунотерапии на клиническое течение злокачественного процесса пока не очень велико, однако уже практически доказано, что развитие противоопухолевого иммунного ответа может контролировать активность резидуальных опухолевых клеток или тормозить развитие дремлющих микрометастазов. Существуют различные виды лечения злокачественных новообразований, которые могут как непосредственно, так и косвенно влиять на иммунную систему. Например, химиотерапия с включением препаратов антрациклинового ряда способствует не только прямой цитотоксичности в отношении злокачественных клеток, но и элиминации защищающих опухоль супрессорных Treg, а вакцины, воздействующие на иммунную систему, активизируют и развивают Т- и частично В-клеточные ответы.

Конечно, следует признать, что функционирование иммунной системы в норме, а особенно ее поведение при онкогенезе — процессы, которые в настоящее время нам еще малопонятны, но даже те полученные скромные результаты исследований в области иммунотерапии свидетельствуют о перспективности этого направления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Михайлова И.Н., Петенко Н.Н., Шубина И.Ж. и др./ Иммунорегуляторные CD4+CD25+ Т-клетки у больных диссеминированной меланомой на фоне химиотерапии // Иммунология. — 2010. — Т.31. — С. 143–146.
2. Aquino A., Prete S.P., Guadagni F., et al. / Effect of 5-fluorouracil on carcinoembryonic antigen expression and shedding at clonal level in colon cancer cells. / *Anticancer Res.* — 2000. — N.20. — P.3475–3484.
3. Belinda Palermo, Duilia Del Bello et al. / Dacarbazine Treatment before Peptide Vaccination Enlarges T-Cell Repertoire Diversity of Melan-A-Specific, Tumor-Reactive CTL in Melanoma Patients. / *Cancer Res.* — 2010. — V.70. — N. 18. — P. 7084–7092.

4. *Berd, D., Maguire, H.C., Jr., McCue, P., and Mastrangelo, M.J.* / Treatment of metastatic melanoma with an autologous tumor-cell vaccine: clinical and immunologic results in 64 patients. / *J. Clin. Oncol.* — 1990. — N.8. P. 1858–1867.
5. *Bracci L., Moschella F., Sestili P., et al.* / Cyclophosphamide enhances the antitumor efficacy of adoptively transferred immune cells through the induction of cytokine expression, B-cell and T-cell homeostatic proliferation, and specific tumor infiltration. / *Clin Cancer Res.* — 2007. — N.13. — P. 644–653.
6. *Correale, P., et al.* / 5-fluorouracil-based chemotherapy enhances the antitumor activity of a thymidylate synthase-directed polyepitopic peptide vaccine. / *J. Natl. Cancer Inst.* — 2005. — N.97. — P. 1437–1445.
7. *Correale, P., et al.* / Chemo-immunotherapy of metastatic colorectal carcinoma with gemcitabine plus FOLFOX 4 followed by subcutaneous granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 induces strong immunologic and antitumor activity in metastatic colon cancer patients. / *J. Clin. Oncol.* — 2005. — N.23. — P.8950–8958.
8. *Gelbard A., Garnett C.T., Abrams S.I., et al.* / Combination chemotherapy and radiation of human squamous cell carcinoma of the head and neck augments CTL-mediated lysis. / *Clin Cancer Res.* — 2006. — N.12. — P.1897–1905.
9. *Ghiringhelli, F., et al.* / CD4+CD25+ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. / *Eur. J. Immunol.* 2004. — N. 34. — P. 336–344.
10. *Ghiringhelli, F., et al.* / Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4+CD25+ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients. / *Cancer Immunol. Immunother.* — 2007. — N. 56. — P.641–648.
11. *Grohmann U., Puccetti P., Belladonna M.L., et al.* Multiple point mutations in an endogenous retroviral gene confer high immunogenicity on a drug-treated murine tumor. / *J Immunol.* — 1995. — N.154. — P. 4630–4641.
12. *Hottl, L., et al.* / Allogeneic dendritic cell vaccination against metastatic renal cell carcinoma with or without cyclophosphamide. / *Cancer Immunol. Immunother.* — 2005. — N. 54. — P. 663–670.
13. *Jeffrey Schlom, Philip M. Arlen, and James L. Gulley.* / *Cancer Vaccines: Moving Beyond Current Paradigms.* / *Clin Cancer Res.* — 2007. — V.13. — N.13. — P. 3776–3782.
14. *Laurence Zitvogel, Lionel Apetoh, François Ghiringhelli, Fabrice André, Antoine Tesniere, and Guido Kroemer.* / The anticancer immune response: indispensable for therapeutic success? / *The Journal of Clinical Investigation.* — 2008. — V. 118. — N. 6. — P. 1991–2001.
15. *Levitt, M.L., et al.* / Phase I study of gemcitabine given weekly as a short infusion for non-small cell lung cancer: results and possible immune system related mechanisms. / *Lung Cancer.* — 2004. — N.43. — P.335–344.
16. *Lutsiak, M.E., et al.* / Inhibition of CD4(+)25+ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide. / — *Blood.* — N.105. — P.2862–2868.
17. *Lutz E.R., Wu A.A., Bigelow E. et al.* / Immunotherapy converts nonimmunogenic pancreatic tumors into immunogenic foci of immune regulation. / *Immunotherapy converts nonimmunogenic pancreatic tumors into immunogenic foci of immune regulation.* / *Cancer Immunol Res.* — 2014. — N.18. — P. 616–631.
18. *Michel Obeid, Antoine Tesniere, François Ghiringhelli, et al.* / Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. / *Nature Medicine.* — 2007. — V. 13. — N. 1. — P. 55–61.
19. *Michel Obeid, Theodoris Panaretakis, Antoine Tesniere et al.* / Leveraging the Immune System during Chemotherapy: Moving Calreticulin to the Cell Surface Converts Apoptotic Death from «Silent» to Immunogenic. / *Cancer Res* 2007. — V. 67. — N. 17. — P. 7941–7944.
20. *Miller, K., et al.* / Improved survival of patients with melanoma with an antibody response to immunization to a polyvalent melanoma vaccine. / *Cancer.* — 1995. — N 75. — P. 495–502.
21. *Plate, J.M., Plate, A.E., Shott, S., Bograd, S., and Harris, J.E.* / Effect of gemcitabine on immune cells in subjects with adenocarcinoma of the pancreas. / *Cancer Immunol. Immunother.* — 2005. — N.54. — P. 915–925.
22. *Sanada M., Takagi Y., Ito R., Sekiguchi M.* / Killing and mutagenic actions of dacarbazine, a chemotherapeutic alkylating agent, on human and mouse cells: effects of Mgmt and Mlh1 mutations. *DNA Repair.* / 2004. — N 3. — P. 413–20.
23. *Zitvogel L., Apetoh L., Ghiringhelli F., Kroemer G.* / Immunological aspects of cancer chemotherapy. / *Nat Rev Immunol.* — 2008. — N 8. — P. 59–73.