

## КСЕНОВАКЦИНОТЕРАПИЯ В ЛЕЧЕНИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

**В.И. Селедцов<sup>1</sup>, Г.В. Селедцова<sup>2</sup>**

*Российский государственный университет им. И.Канта, г. Калининград<sup>1</sup>  
Институт клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск<sup>2</sup>  
236016, г. Калининград, ул. А. Невского, 14<sup>1</sup>,  
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14, e-mail: galina-seledtsova@yandex.ru<sup>2</sup>*

Представленные в обзоре экспериментальные данные свидетельствуют о том, что вакцинация ксеногенными опухолеассоциированными антигенами может приводить к развитию противоопухолевых клеточных и гуморальных иммунных реакций. Противоопухолевый терапевтический эффект может быть также достигнут посредством прерывания иммунологической толерантности к молекулам, вовлеченным в неоангиогенез. Получены первые обнадеживающие результаты применения ксеновакцинотерапии в лечении пациентов, страдающих меланомой, колоректальным раком и раком простаты. Предполагается, что ксеновакцинотерапия может быть эффективно использована в лечении онкологической патологии разного гистогенеза.

Ключевые слова: ксеновакцинотерапия, злокачественные опухоли.

### XENOVACCINOTHERAPY FOR CANCER TREATMENT

V.I. Seledtsov<sup>1</sup>, G.V. Seledtsova<sup>2</sup>  
*Immanuel Kant State University of Russia, Kaliningrad<sup>1</sup>  
Institute of Clinical Immunology SB RAMS, Novosibirsk<sup>2</sup>  
14, A. Nevskogo Street, 236016- Kaliningrad<sup>1</sup>*

Immunization of the body with xenogeneic molecules is known to be capable of breaking immunological tolerance to their endogenous homologues. The experimental data presented in this review indicate that vaccination with xenogeneic tumor-associated antigens (TAA) can lead to developing antitumor cellular and humoral immune reactions. Antitumor effect may be also achieved by breaking immunological tolerance to molecules involved in neoangiogenesis. The first results of clinically applying xenovaccinotherapy for melanoma, colorectal cancer and prostate cancer are encouraging. It is assumed that the xenovaccinotherapy may be effectively administered for cancer of different histogenesis.

Key words: xenovaccinotherapy, malignant tumors.

В настоящее время системное лечение злокачественных заболеваний базируется на применении химиотерапии. Однако этот метод лечения в большинстве случаев (исключение – некоторые гемобластозы и герминогенные опухоли) не является радикальным. В выявленной опухоли обычно уже исходно имеются клетки, которые в силу своих биохимических свойств резистентны к токсическому действию химиопрепаратов, причем в процессе лечения пропорция таких клеток увеличивается. Следует также иметь в виду, что цитотоксическое действие химиотерапевтических препаратов не является избирательным, под их удар попадают не только опухолевые, но и нормальные клетки. Следствием этого являются серьезные побочные эффекты химиотерапии, которые сами по себе могут представлять угрозу для жизни

пациента. Возможность разработки эффективных химиопрепаратов с селективным действием представляется весьма проблематичной, поскольку жизнедеятельность опухолевых и нормальных клеток обеспечивается сходными биохимическими процессами.

Вместе с тем опухолевая клетка отличается от нормальной клетки своим поверхностным рельефом, который формируется потенциально иммуногенными структурами (антигенами). Известно, что индуцируемые этими структурами иммунные реакции способны вызывать деструкцию опухолевых клеток и что реактивность иммунной системы может определять исход заболевания. Сам факт иммуногенности опухоли подразумевает возможность использования иммунотерапии как в профилактике, так и в лечении злокачественных заболеваний.

### **Опухлеассоциированные антигены как индукторы иммунных реакций**

Согласно современным представлениям [1, 10, 29, 39, 57] опухолеассоциированные антигены (ОАГ) подразделяются следующим образом:

1. Продукты, кодирующиеся генами, принадлежащими к семействам MAGE, BAGE, GAGE и RAGE. В норме эти гены экспрессируются лишь в клетках органов, забарьерных для иммунной системы (MAGE, BAGE, GAGE – в яичках, RAGE – в сетчатке глаза).

2. Онкофетальные антигены (CEA, *alfa-fetoprotein*), онкопротеины (HER-2/*neu* и др.).

3. Дифференцировочные антигены (*tirosinase*, Melan-A/*Mart-1*, gp100, gp75, p15 и некоторые другие), а также белки теплового шока (gp96, hsp70).

4. Муцин и связанные с ним углеводородные структуры.

5. Ганглиозиды, продукты мутантных генов (p53, Ras, *beta-catenin* и др.), вирусные антигены.

Все перечисленные ОАГ можно разделить на 2 группы – те, которые могут экспрессироваться на нормальных клетках, и те, которые кодируются мутантными или вирусными генами. Подавляющее большинство ОАГ относится к первой группе. Эти антигены могут экспрессироваться на опухолях разного гистологического типа. Такое антигенное сходство разных опухолей является следствием вовлечения сходных внутриклеточных механизмов в процессы, лежащие в основе малигнизации разных типов клеток.

Наличие на клетках опухоли ОАГ само по себе недостаточно для развития устойчивого эффективного противоопухолевого иммунитета. Известно, что низкая иммуногенность опухоли обуславливается рядом причин: 1) наличием врожденной толерантности к большинству ОАГ; 2) дефицитом мембранной экспрессии на опухолевых клетках продуктов главного комплекса гистосовместимости (ГКГ), способных комплексоваться с ОАГ; 3) дефицитом мембранной экспрессии на клетках опухоли костимуляторных молекул (LFA3, CD40, CD54, CD80/86), необходимых для активации опухолеспецифических Т-лимфоцитов; 4) продукцией клетками опухоли иммуносупрессорных

медиаторов (ганглиозиды, трансформирующий ростовой фактор (ТРФ)-бета, ИЛ-10 и др.); 5) наличием в опухолевом окружении факторов, индуцирующих апоптоз лимфоидных клеток; 6) способностью опухоли стимулировать активность CD4+CD25+ Т-регуляторных клеток, а также естественных супрессорных клеток; 7) генетической лабильностью опухоли, обуславливающей селективный рост наименее иммуногенных опухолевых клеток [2, 10, 17, 29, 40, 46].

Цель специфической иммунотерапии – преодоление барьеров, стоящих на пути развития эффективного противоопухолевого иммунного процесса посредством увеличения количества в организме опухолеспецифических лимфоцитов, способных реагировать в ответ на антигенный стимул по вторичному типу. В результате антиген-индуцированной дифференцировки лимфоциты приобретают свойства клеток иммунной памяти. В сравнении с нативными лимфоцитами эти клетки имеют резко сниженный порог чувствительности к антигенному стимулу, а их жизнеспособность и функциональная дееспособность значительно менее зависимы от мембранной и цитокиновой костимуляции [24, 28]. Повышенный уровень опухолеспецифических клеток иммунной памяти создает в организме ключевые предпосылки для запуска иммунологических процессов, эффективно препятствующих росту и диссеминации опухоли [10, 28].

### **Противоопухолевая ксеновакциноterapia в эксперименте**

Подавляющее большинство ОАГ представлено эволюционно консервативными молекулами. Следствием этого является высокая степень гомологии между ОАГ человека и животных, однако небольшие межвидовые структурные отличия ОАА можно выгодно использовать при разработке технологии получения противоопухолевых вакцин. Представляя макрофагам «измененное свое» в виде ксеногенных ОАГ, лимфоциты способны «прерывать» иммунологическую толерантность, исходно имеющуюся в организме по отношению к аутологичным ОАГ. Такая возможность была продемонстрирована многочисленными экспериментальными исследованиями. В частности, показано, что

иммунизация мышей человеческими меланомассоциированными гликопротеинами – gp75 и gp 100 [11, 35] способна предотвращать развитие в их организме меланомы, клетки которой экспрессируют соответствующие мышинные аналоги. Ингибция роста меланомы ассоциировалась с развитием очагов аутоиммунной депигментации. Интересно, что мышинный gp75 становился иммуногенным для мышей, когда был экспрессирован на мембране клеток насекомых [35]. Это означает, что индуцируемые неопухолевыми ксеноантигенами иммунные процессы могут способствовать развитию иммунных реакций, индуцируемых аутологичными ОАГ.

Преимущества межвидовой над внутривидовой вакцинацией также показаны в случае использования ДНК вакцин. Согласно опубликованным данным [53], вакцинация мышей ДНК-последовательностью, кодирующей человеческий, но не мышинный gp75, приводила к отторжению сингенных клеток меланомы. Индуцируемый ДНК вакцинацией иммунный процесс сопровождался аутоиммунной депигментацией. В процесс отторжения опухолевых клеток были вовлечены CD4+ Т-клетки и NK1.1+ естественные киллерные клетки. Кроме того, была показана значимость в этом процессе Fc-рецепторного аппарата клеток. В другой работе [23] было установлено, что иммунизация мышей ДНК, кодирующей человеческий gp 100, приводила к формированию у них устойчивого иммунитета против клеток мышинной меланомы. Вакцинация ДНК, кодирующей мышинный gp100, оказалась полностью неэффективной в этом отношении. Противоопухолевый эффект ксеновакцинации в этой экспериментальной модели был полностью независим от функциональной активности CD4+ лимфоцитов.

Интересно, что родственные антигены клеток меланомы могут индуцировать разные по эффекторному механизму иммунные реакции. Так, показано, что ДНК вакцинация мышей человеческим тирозиназа-родственным протеином-1 (tyrosinase-related protein-1, TRP-1/gp75) индуцировала противоопухолевый антительный иммунный ответ и аутоиммунную депигментацию. В аналогичных условиях ДНК вакцинация человеческим TRP-2 приводила

к генерации противоопухолевых CD8+ ЦТЛ, которая не ассоциировалась с аутоиммунной депигментацией [55].

Оперативное удаление является основным методом лечения больных меланомой. В связи с этим были выполнены эксперименты, целью которых была оценка эффективности проведения ксеновакциноотерапии в послеоперационном периоде. Показано, что вакцинация мышей ДНК, кодирующей человеческий TRP-2, выполненная после удаления первичного очага, находившегося в конечности, предотвращала развитие локального рецидива, а также метастазирование меланомы в легкие. Таким образом, была продемонстрирована целесообразность применения ксеновакциноотерапии в дополнение к хирургическому лечению [22].

В достижении противоопухолевого эффекта полиантигенная вакцинация имеет преимущества над моно- или олигоантигенной вакцинацией, поскольку может более эффективно препятствовать селекции опухолевых клеток. В наших собственных исследованиях мыши-опухоленосители меланомы В16 были многократно вакцинированы разрушенными клетками меланомы, полученными от 3 пациентов. Согласно полученным данным такая полиантигенная вакцинация была способна индуцировать терапевтический противоопухолевый эффект, выразившийся в значительном продлении жизни мышей-опухоленосителей. Интересно, что выраженность противоопухолевого эффекта в этой экспериментальной модели ассоциировалась с подъемом сывороточного интерлейкина-4 (ИЛ-4), но не интерферона-гамма (ИФ-гамма).

Как уже было замечено, дифференцировочные антигены экспрессируются не только на нормальных, но и на опухолевых клетках. Это подразумевает возможность получения этих антигенов из нормальных тканей, в которых они экспрессируются в высокой степени. Так, показано, что вакцинация мышей меланоцитами, полученными из свиных глазных радужек, индуцировала у них формирование протективного противоопухолевого иммунитета, ассоциированного с функциональной активностью CD4 хелперных Т-клеток и синтезом антимеланомных IgG антител [33].

Известно, что в плаценте экспрессируется целый спектр дифференцировочных антигенов, в том числе и тех, которые могут экспрессироваться на клетках разных опухолей, включая меланому. Таким образом, плацента может служить источником ксеногенных антигенов, способных эффективно прерывать иммунологическую толерантность к целому ряду ОАГ. В соответствии с этим предположением было показано, что вакцинация мышей растворимыми белками свиной плаценты приводила к формированию эффективного поликлонального антимеланомного иммунитета. При этом обе основные субпопуляции Т-лимфоцитов (CD4+ и CD8+) были вовлечены в индуцируемые ксеноантигенами иммунные процессы [80]. Ксеновакцинация, нацеленная на прерывание толерантности к антигену gp 100, была использована при лечении 34 собак с меланомой. В качестве вакцины были использованы клетки собачьей меланомы 17СМ98, трансфецированные фрагментом ДНК, кодирующим человеческий gp 100. В результате вакцинотерапии полный или частичный противоопухолевый ответ был зарегистрирован у 17 % животных. Стабилизация болезни продолжительностью более 6 нед была отмечена у 35 % животных. Группа собак, ответивших на вакцинацию торможением опухолевого роста, демонстрировала заметно более длительный период выживания в сравнении с неответившей группой. Клинический ответ коррелировал с реакцией ГЗТ на вакцинальные клетки, но в то же время не коррелировал с уровнем сывороточных антивакцинальных антител, а также с активностью вакцина-специфичных ЦТЛ [7]. Возможность достижения объективного противоопухолевого эффекта у части собак с IV стадией меланомы была также продемонстрирована в случае вакцинации ДНК, кодирующей человеческую тирозиназу [8, 9]. Показано, что в этом случае противоопухолевый эффект ассоциировался с появлением в сыворотке антител, специфично связывающих собачью тирозиназу [31]. Обращается внимание на то, что ксеновакцинация собак не приводила к аутоиммунным осложнениям и не ассоциировалась с серьезными побочными эффектами [8, 9], а также на то, что она способна эффективно дополнять оперативное лечение [18].

Способность ксеногенной ДНК вакцинации прерывать иммунологическую толерантность к эндогенным молекулам была также продемонстрирована в экспериментальной модели рака молочной железы. В 20–30 % случаев клетки этого рака, а также некоторых других эпителиальных опухолей экспрессируют в высокой степени протоонкоген HER-2/neu. Показано, что вакцинация HER-2/neu трансгенных мышей последовательностями ДНК, кодирующими участки человеческого HER-2/neu, способна преодолевать иммунологическую толерантность к HER-2/neu и индуцировать иммунный ответ, препятствующий развитию рака молочной железы. Такая вакцинация приводила к повышению титра антител к мышинному пептиду m-p185 neu и сопровождалась развитием дисфункции молочной железы. В другом исследовании было показано, что вакцинация мышей человеческим пептидом HER-2/neu (435-443) стимулировала генерацию ЦТЛ, которые эффективно распознавали сингенные HER-2/neu-позитивные опухолевые клетки [21]. Показана зависимость развития индуцируемого молекулой HER-2/neu противоопухолевого эффекта от возраста мышей и от уровня неспецифических воспалительных реакций [41].

Сервивин (survivin) – протеин, один из ингибиторов апоптоза, который, подобно HER-2/neu, может в высокой степени экспрессироваться на клетках разных опухолей и, соответственно, может быть также использован в качестве вакцинальной мишени. Установлено, что дендритическая вакцинация мышей человеческим сервивином индуцировала опосредуемый Т-хелперами 1-го типа иммунный ответ. Генерация сервивинспецифичных CD4+ -клеток значительно усиливалась на фоне истощения CD4+CD25+ Foxp3+ регуляторных Т-клеток. Следует заметить, что в этой экспериментальной модели авторам не удалось зарегистрировать генерацию сервивинспецифичных ЦТЛ [12]. Противоопухолевый эффект вакцинации мышей человеческим сервивином продемонстрирован в экспериментальных моделях лимфомы [61], глиомы [13, 14], а также рака поджелудочной железы [61].

Известно, что клетки рака молочной железы, меланомы и других опухолей могут экспресси-

ровать на своей поверхности углеводные антигены и что индуцированный этими антигенами антителный ответ может приводить к опухолевой регрессии. Согласно опубликованным данным [33, 34], вакцинация мышей углеводными миметическими пептидами (carbohydrate mimetic peptides) индуцировала синтез IgM антител, способных ингибировать рост клеток рака молочной железы и меланомы *in vitro* и *in vivo*.

Высокая экспрессия рецептора для эпидермального фактора роста (epidermal growth factor receptor, EGFr) присуща многим опухолям, включая немелкоклеточный рак легкого и рак молочной железы. Считается, что этот рецептор может быть вовлечен в аутокринную и паракринную регуляцию опухолевого роста. Показано, что вакцинация мышей последовательно ДНК, кодирующей экстрацеллюлярный домен человеческого EGFr, прерывает толерантность к аутологичному EGFr и оказывает деструктивный эффект на EGFr-позитивные опухолевые клетки. Этот эффект опосредовался как IgG антителами, так и ЦТЛ и ассоциировался с концентрированным увеличением в сыворотке ИФ-гамма и ИЛ-4 [32].

Простата-специфичный мембранный антиген (Prostate-specific membrane antigen, PSMA) экспрессируется на нормальных и опухолевых эпителиальных клетках простаты. Согласно опубликованным данным [20], иммунизация мышей человеческим PSMA в виде рекомбинантного протеина или кодирующей ДНК индуцирует генерацию аутоантител, способных связываться с мышинным PSMA. Возможность эффективной противоопухолевой вакцинации была также продемонстрирована при использовании вакцины, приготовленной из опухолевой ткани рака простаты [49, 50].

Высокая экспрессия мезотелина (mesothelin) характерна для рака поджелудочной железы. Установлено, что иммунизация мышей-опухоленосителей человеческим мезотелином приводила к ингибции опухолевого роста. Противоопухолевый эффект в этом случае ассоциировался с повышением уровня сывороточных антител к мезотелину и увеличением функциональной активности мезотелин-специфичных ЦТЛ [30].

Глиомные мембранные белки (glioma membrane proteins, HGP), как правило, в высокой степени экспрессируются на клетках злокачественной глиомы. Показано, что вакцинация крыс человеческими, но не крысиными HGP приводила к ингибции роста глиомы. Противоопухолевый эффект ассоциировался с развитием иммунного ответа, опосредуемого преимущественно Т-хелперами 1-го типа, а также с инфильтрацией опухолевой ткани CD4+ и CD8+-клетками [47].

В отличие от других опухолей, нейроэндокринные опухоли, такие как гастринома, инсулома и медуллярная тиреоидная карцинома, не демонстрируют четкой ассоциации с какими-либо группами мембранных ОАГ. Поэтому для генерации иммунного ответа против таких опухолей был предложен подход, основанный на прерывании толерантности к кальцитонину – полипептидному гормону, продуцируемому этими опухолями. В модели тиреоидной карциномы показано, что вакцинация мышей-опухоленосителей человеческим, но не мышинным кальцитонином приводила к значительному подавлению опухолевого роста. Противоопухолевый эффект такой вакцинации ассоциировался с выраженной инфильтрацией опухоли кальцитонин-специфичными ЦТЛ и резким снижением сывороточного уровня кальцитонина [38].

Развитие опухоли требует ангиогенеза. Поэтому воздействия, нацеленные на предотвращение роста питающих опухоль сосудов, являются объектом экспериментальных и клинических исследований. Теоретически ингибция ангиогенеза может препятствовать опухолевому росту. Одной из таких молекул, отвечающих за ангиогенез, является рецептор-1 для фибробластного ростового фактора (fibroblast growth factor receptor-1, FGFr-1). Показано, что иммунизация мышей рекомбинантным куриным FGFr-1 способствовала появлению IgG1 и IgG2b аутоантител, связывающихся с мышинным FGFr-1 [59].

Известно, что матриксная металлопротеиназа 2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) играет важную роль в ангиогенезе и способствует экспансии опухолевых клеток. Показано, что иммунизация мышей опухолевыми клетками

LLC или СТ26, в которые была трансфецирована ДНК, экспрессирующая куриный MMP-2, способна индуцировать антиангиогенный иммунный ответ, связанный с подъемом уровня сывороточных аутоантител, специфичных к мышинному MMP-2 [48, 58].

Эндоглин (endoglin) является маркерным белком происходящего в солидных опухолях ангиогенеза. Показано, что иммунизация мышей экстрацеллюлярными участками свиного эндоглина приводила к развитию терапевтического иммунного ответа, направленного против рака легкого, а также колоректального рака. Развитие этого ответа требовало присутствия CD4<sup>+</sup> клеток и ассоциировалось с появлением в сыворотке IgG1 и IgG2 антител, специфичных к мышинному эндоглину [25, 52]. Значительное усиление противоопухолевого эффекта было достигнуто комбинированием вакцинации рекомбинатным продуктом с ДНК вакцинацией. В этом случае наряду с появлением антиэндоглиновых антител была отмечена генерация эндоглин-специфичных ЦТЛ [51]. Противоопухолевый эффект ДНК вакцинации свиным эндоглином был также показан в мышинной модели рака печени. Этот эффект был связан с развитием как гуморальных, так и клеточных иммунных реакций [24].

Tie-2 является эндотелий-специфичной рецепторной тирозиновой киназой. Известно, что эта киназа играет важную роль в опухолевом ангиогенезе. В эксперименте показано, что вакцинация мышей человеческой Tie-2 способна оказывать негативный эффект на рост меланомы и гепатомы. Этот эффект опосредовался аутоантителами, связывающимися с мышинным Tie-2, и был высоко зависим от функциональной активности CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов [34].

Выраженный антиангиогенный эффект был получен посредством вакцинации цельными ксеногенными эндотелиальными клетками [54]. Экспериментально показано, что направленный против эндотелиальных клеток иммунный процесс может приводить к ингибции опухолевого роста [37, 43].

Антиангиогенный эффект может быть также получен посредством инактивации растворимых ангиогенных молекул. Так, на примере 9 собак со спонтанной саркомой было показано,

что вакцинация человеческим фактором роста для эндотелиальных клеток (VEGF -endothelial cell growth factor) способна индуцировать синтез аутоантител, связывающихся как с человеческим, так и с собачьим VEGF. Противоопухолевый эффект такой вакцинации был отмечен у 30 % животных. Обращается внимание на отсутствие серьезных побочных эффектов, связанных с прерыванием иммунологической толерантности к VEGF [26]. Показано, что антиангиогенная иммунотерапия может эффективно сочетаться со стратегией, нацеленной на прерывание толерантности к дифференцировочным ОАГ [17].

В целом представленные экспериментальные данные в полной мере обосновывают целесообразность применения в онкологической практике стратегии, основанной на стимуляции иммунного ответа к ОАГ, а также к продуктам, способствующим опухолевому росту.

### **Клиническое применение ксеновакцинотерапии**

Меланома – высокозлокачественная опухоль, которая характеризуется агрессивным течением и ранним метастазированием. Продолжительность жизни пациента с диссеминированной меланомой обычно не превышает 1 года. Хирургическая терапия этого заболевания малоэффективна [36]. С другой стороны, имеются многочисленные обнадеживающие экспериментальные и клинические данные, указывающие на возможность эффективного применения при этом заболевании иммунотерапевтических методов лечения [27, 29]. Ксеновакцинотерапия, безусловно, представляет собой один из наиболее перспективных видов иммунотерапии, и ее применение в лечении меланомы представляется целесообразным и оправданным.

Иммунологические эффекты ДНК вакцинации тирозиназой были оценены у 18 пациентов с меланомой. Часть пациентов вакцинировали внутримышечно вначале 3 раза мышинной, а затем 3 раза человеческой тирозиназой. Других пациентов вакцинировали в обратном порядке – вначале человеческой, а затем мышинной тирозиназой. Временной интервал между вакцинациями составлял 3 нед. Кожные реакции в местах введения вакцины были зарегистриро-

ваны у части пациентов. Каких-либо системных токсических реакций отмечено не было. Различий в иммуногенном эффекте, связанных с порядком вакцинации, выявлено не было. В результате лечения у 7 из 18 пациентов отмечена генерация тирозиназа-специфичных CD8+ Т-лимфоцитов, имеющих фенотипические особенности эффекторных клеток иммунной памяти [56].

Разработанная в нашей лаборатории вакцина представляет собой комплекс мембранных антигенов меланомы B16 и карциномы LLC мыши [3, 4]. Токсические и иммуногенные свойства мышинной вакцины были исследованы (I–II фаза клинических исследований) при лечении больных с меланомой III–IV стадии, характеризующихся неблагоприятным прогнозом течения заболевания [5, 45]. Индуцирующий курс вакцинотерапии состоял из 5 подкожных иммунизаций с недельным и 5 с двухнедельным интервалом. Одна вакцинирующая доза была эквивалентна  $75 \times 10^6$  (B16+ LLC) клеток. На следующий день после каждой из первых 5 вакцинаций пациенту п/к вводили интерлейкин-2 (IL-2) (Ронколейкин, 250000 Е, «Биотех», С.-Петербург). Поддерживающий курс включал в себя вакцинации с месячными интервалами. На примере 40 исследованных пациентов (14 – с III и 26 – с IV стадией болезни, 26 женщин и 14 мужчин, возрастной диапазон от 25 до 71 года, средний возраст –  $50 \pm 2$  года) было установлено, что вакцинотерапия не оказывала существенного влияния на клеточные и биохимические параметры крови. У вакцинированных больных была обнаружена лишь некоторая тенденция к снижению АЛТ сыворотки крови. Индуцирующий курс вакцинотерапии также не оказал существенного влияния на субпопуляционный состав мононуклеарных клеток крови (CD3, CD4, CD8, CD 20, CD16), а также на суммарные уровни сывороточных иммуноглобулинов А, G, М. Токсических проявлений II–IV степени, а также других системных осложнений лечения зафиксировано не было. Кратковременные локальные реакции в виде покраснения места введения вакцины отмечены у большинства пациентов. В течение 24–48 ч после вакцинации у 50 % пациентов наблюдалось умеренное повышение температуры (до

38°C) и развитие гриппоподобного состояния, которые не требовали дополнительного медикаментозного вмешательства. Таким образом, полученные данные указывают на безопасность вакцинотерапии меланомы и на возможность ее применения в случаях, когда компенсаторные возможности организма снижены.

Клиническая эффективность ксеновакцинотерапии была оценена по данным 3-летней выживаемости 32 вакцинированных пациентов с IV стадией заболевания. Группу контроля составили 32 пациента, получавших традиционное лечение. Группы были сопоставимы по локализации и распространенности опухолевого процесса, полу, возрасту, а также времени наблюдения после генерализации процесса. Медиана выживаемости в основной группе равнялась 13 мес, в контрольной – 5 мес. Клинический эффект разной степени выраженности (полный, частичный ответ, стабилизация болезни) продолжительностью не менее 3 мес был достигнут у 21 (66 %) пациента [5, 44, 45]. Таким образом, полученные данные указывают на высокую иммуногенность полиантигенной ксеновакцины, а также на целесообразность ее терапевтического применения.

Оперативное вмешательство – это единственный на сегодняшний день вид лечения, который можно считать радикальным для многих солидных опухолей, включая колоректальный рак и рак простаты. Поэтому поиск новых терапевтических подходов к лечению таких заболеваний не теряет своей актуальности. Клетки колоректального рака экспрессируют на своей поверхности как «яичковые», так и другие общие ОАГ, включая дифференцировочные [17]. В нашем исследовании 37 пациентов с IV стадией колоректального рака были подвергнуты иммунотерапии с использованием мышинной полиантигенной (B16+ LLC) вакцины. Установлено, что ксеновакцинотерапия не приводила к серьезным побочным эффектам. После индуцирующего курса лечения значительный прирост клеточной и антительной реактивности на вакцинальные ОАГ был отмечен у большинства пациентов. На примере 37 вакцинированных и 37 клинически сопоставимых контрольных пациентов с IV стадией заболевания показано, что ксеновакцинотерапия способна значительно

улучшать показатели 3-летней выживаемости (медиана выживаемости в контрольной и основной группах составила 7 и 17 мес соответственно) [6]. Таким образом, полученные результаты предполагают безопасность, а также возможную иммунологическую и клиническую эффективность применения ксеновакциноterapia в лечении колоректального рака.

Простатическая кислая фосфатаза (prostatic acid phosphatase, PAP) – антиген, который экспрессируется как на опухолевых клетках рака простаты, так и на нормальных. Теоретически иммунотерапия, направленная на формирование иммунореактивности к этому антигену, могла бы быть эффективной в лечении рака простаты. Для проверки этого предположения 21 пациент с метастатическим раком простаты был подвергнут многократной вакцинации аутологичными дендритическими клетками, нагруженными мышиной PAP. Установлено, что такая вакцинация не ассоциируется с серьезными побочными эффектами. После вакцинации повышенная Т-клеточная реактивность к мышинной PAP была выявлена у всех пациентов. Только у 8 из 21 вакцинированного пациента имела место повышенная Т-клеточная реактивность к человеческой PAP. Эта реактивность ассоциировалась с усиленной продукцией ИФ-гамма и фактора некроза опухоли-альфа, но не ИЛ-4. У 6 из 8 пациентов с повышенной иммунореактивностью к PAP была отмечена стабилизация болезни [19]. На основе полученных данных был сделан вывод о безопасности применения ДНК вакцинации в лечении рака простаты. Определение клинической эффективности такого подхода требует дальнейших исследований.

### Заключение

Экспериментальные данные убедительно свидетельствуют о том, что иммунизация организма ксеногенными аналогами эндогенных молекул может приводить к индукции иммунологических реакций к собственным АГ, исходно отсутствующим в организме. Этот твердо установленный факт открывает новые иммунотерапевтические возможности в лечении злокачественных новообразований. Экспериментально показано, что ксеновакцинация, на-

правленная на прерывание иммунологической толерантности к ОАГ, может приводить к ингибции опухолевого роста. Противоопухолевый эффект был также продемонстрирован в случае индукции аутоиммунных реакций, направленных против молекул, вовлекаемых в опухолевый ангиогенез. Можно предполагать, что еще одной мишенью ксеновакциноterapia могли бы быть гормоны и ростовые факторы, участвующие в аутокринной и паракринной стимуляции опухолевого роста.

Ксеновакцинация может индуцировать иммунные реакции, опосредуемые как Т-хелперами 1-го типа, так и Т-хелперами 2-го типа. Преобладающий тип иммунных реакций определяется структурными особенностями индуцирующих их антигенных молекул. Установлено, что клеточные и гуморальные эффекторные механизмы способны оказывать синергичный противоопухолевый эффект [15, 42]. Следовательно, можно предполагать, что наиболее эффективными могли бы быть комплексные вакцины, способные одинаково эффективно индуцировать как эффекторные Т-клеточные реакции, так и синтез антител. Такими свойствами, возможно, могла бы обладать вакцина, включающая в себя пептидные и гликолипидные антигенные молекулы. Для получения максимального терапевтического эффекта ксеновакциноterapia, по-видимому, должна дополняться неспецифическими иммуностропными воздействиями, благоприятствующими развитию вакцинальных иммунных реакций. Высокая иммуногенность ксеногенных вакцин, технологичность и относительная дешевизна их получения, а также возможность их стандартизации открывают, по нашему мнению, широкие перспективы для их практического применения.

*Финансирование работ осуществлялось в рамках ГК № 02.740.11.0090 и ГК № П804 от 17.08.09.*

### ЛИТЕРАТУРА

1. Балдуева И.А. Противоопухолевые вакцины // Практическая онкология. 2003. Т. 3. С. 157–166.
2. Коростелев С.А. Противоопухолевые вакцины // Современная онкология. 2003. Т. 5. С. 160–169.
3. Селедцов В.И., Самарин Д.М., Селедцова Г.В. и др. Вакциноterapia в лечении онкозаболеваний // Труды II съезда врачей Сибири. Томск, 2000. С. 117–120.
4. Селедцов В.И., Стрункин Д.Н., Самарин Д.М. и др. Использование ксеногенной клеточной вакцины в лечении онкозаболеваний // Клинические аспекты клеточной и тканевой терапии. Омск, 2000. С. 158–160.

5. Селедцов В.И., Фельде М.А., Самарин Д.М. и др. Иммунологические и клинические аспекты применения ксеновакциноterapiи в лечении меланомы // Российский онкологический журнал. 2006. № 4. С. 23–29.
6. Фельде М.А., Самарин Д.М., Ница Н.А. и др. Оценка клеточной иммунореактивности при ксеновакциноterapiи пациентов с IV стадией колоректального рака // Медицинская иммунология. 2006. № 1. С. 67–72.
7. Alexander A.N., Huelsmeyer M.K., Mitzey A. et al. Development of an allogeneic whole-cell tumor vaccine expressing xenogeneic gp100 and its implementation in a phase II clinical trial in canine patients with malignant melanoma // Cancer Immunol. Immunother. 2006. Vol. 55. P. 433–442.
8. Bergman P.J. Canine oral melanoma // Clin. Tech. Small Anim. Pract. 2007. Vol. 22. P. 55–60.
9. Bergman P.J., McKnight J., Novosad A. et al. Long-term survival of dogs with advanced malignant melanoma after DNA vaccination with xenogeneic human tyrosinase: a phase I trial // Clin. Cancer Res. 2003. Vol. 9. P. 1284–1290.
10. Berzofsky J.A., Terabe M., Oh S. et al. Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer // J. Clin. Invest. 2004. Vol. 113. P. 1515–1525.
11. Bowne W.B., Srinivasan R., Wolchok J.D. et al. Coupling and uncoupling of tumor immunity and autoimmunity // J. Exp. Med. 1999. Vol. 190. P. 1717–1722.
12. Charalambous A., Oks M., Nchinda G. et al. Dendritic cell targeting of survivin protein in a xenogeneic form elicits strong CD4+ T cell immunity to mouse surviving // J. Immunol. 2006. Vol. 177. P. 8410–8421.
13. Cho H.I., Kim E.K., Park S.Y. et al. Enhanced induction of anti-tumor immunity in human and mouse by dendritic cells pulsed with recombinant TAT fused human survivin protein // Cancer Lett. 2007. Vol. 258. P. 189–198.
14. Ciesielski M.J., Apfel L., Barone T.A. et al. Antitumor effects of a xenogeneic survivin bone marrow derived dendritic cell vaccine against murine GL261 gliomas // Cancer Immunol. Immunother. 2006. Vol. 55. P. 1491–1503.
15. Clynes R., Takechi Y., Moroi Y. et al. Fc receptors are required in passive and active immunity to melanoma // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 652.
16. Elkord E., Hawkins R.E., Stern P.L. Immunotherapy for gastrointestinal cancer: current status and strategies for improving efficacy // Expert Opin. Biol. Ther. 2008. Vol. 8. P. 385–395.
17. Felicetti P., Mennecozzi M., Barucca A. et al. Tumor endothelial marker 8 enhances tumor immunity in conjunction with immunization against differentiation Ag // Cytotherapy. 2007. Vol. 9. P. 23–34.
18. Finocchiaro L.M., Glikin G.C. Cytokine-enhanced vaccine and suicide gene therapy as surgery adjuvant treatments for spontaneous canine melanoma // Gene Ther. 2008. Vol. 15. P. 267–276.
19. Fong L., Brockstedt D., Benike C. et al. Dendritic cell-based xenoantigen vaccination for prostate cancer immunotherapy // J. Immunol. 2001. Vol. 167. P. 7150–7156.
20. Gregor P.D., Wolchok J.D., Turaga V. et al. Induction of autoantibodies to syngeneic prostate-specific membrane antigen by xenogeneic vaccination // Int. J. Cancer. 2005. Vol. 116. P. 415–421.
21. Gritzapis A.D., Mahaira L.G., Perez S.A. et al. Vaccination with human HER-2/neu (435-443) CTL peptide induces effective antitumor immunity against HER-2/neu-expressing tumor cells in vivo // Cancer Res. 2006. Vol. 66. P. 5452–5460.
22. Hawkins W.G., Gold J.S., Blachere N.E. et al. Xenogeneic DNA immunization in melanoma models for minimal residual disease // J. Surg. Res. 2002. Vol. 102. P. 137–143.
23. Hawkins W.G., Gold J.S., Dyllal R. et al. Immunization with DNA coding for gp100 results in CD4 T-cell independent antitumor immunity // Surgery. 2000. Vol. 128. P. 273–280.
24. Jabbari A., Harty J.T. The generation and modulation of antigen-specific memory CD8 T cell responses // J. Leukoc. Biol. 2006. Vol. 80. P. 16–23.
25. Jiao J.G., Li Y.N., Wang H. et al. A plasmid DNA vaccine encoding the extracellular domain of porcine endoglin induces antitumor immune response against self-endoglin-related angiogenesis in two liver cancer models // Dig. Liver Dis. 2006. Vol. 38. P. 578–587.
26. Jiao J.G., Zhang Y.D., Li Y.N. A DNA vaccine encoding the extracellular domain of porcine endoglin induces antitumor immunity in a mouse colon carcinoma model // Ai Zheng. 2005. Vol. 24. P. 1179–1183.
27. Kamstock D., Elmslie R., Thamm D., Dow S. Evaluation of a xenogeneic VEGF vaccine in dogs with soft tissue sarcoma // Cancer Immunol. Immunother. 2007. Vol. 56. P. 1299–1309.
28. Kirkwood J.M., Moschos S., Wang W. Strategies for the development of more effective adjuvant therapy of melanoma: current and future explorations of antibodies, cytokines, vaccines, and combinations // Clin. Cancer Res. 2006. Vol. 12 (7 Pt 2). P. 2331s–2336s.
29. Ko H.J., Kim Y.J., Kim Y.S. et al. A combination of chemotherapies can efficiently break self-tolerance and induce antitumor immunity in a tolerogenic murine tumor model // Cancer Res. 2007. Vol. 67. P. 7477.
30. Kornbluth R.S., Stone G.W. Immunostimulatory combinations: designing the next generation of vaccine adjuvants // J. Leukoc. Biol. 2006. Vol. 80. P. 1084–1102.
31. Li M., Bharadwaj U., Zhang R. et al. Mesothelin is a malignant factor and therapeutic vaccine target for pancreatic Cancer // Mol. Cancer Ther. 2008. Vol. 7. P. 286–296.
32. Liu J.Y., Wu Y., Zhang X.S. et al. Single administration of low dose cyclophosphamide augments the antitumor effect of dendritic cell vaccine // Cancer Immunol. Immunother. 2007. Vol. 56. P. 1597–1604.
33. Lu Y., Wei Y.Q., Tian L. et al. Immunogene therapy of tumors with vaccine based on xenogeneic epidermal growth factor receptor // J. Immunol. 2003. Vol. 170. P. 3162–3170.
34. Luo F., Mao Y.Q., Kan B. et al. The mechanism of anti-tumor immune response against mouse melanoma to xenogeneic vaccination // Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2004. Vol. 35. P. 757–760.
35. Monzavi-Karbassi B., Pashov A., Jousheghany F. et al. Evaluating strategies to enhance the anti-tumor immune response to a carbohydrate mimetic peptide vaccine // Int. J. Mol. Med. 2006. Vol. 17. P. 1045–1052.
36. Naftzger C., Takechi Y., Kohda H. et al. Immune response to a differentiation antigen induced by altered antigen: a study of tumor rejection and autoimmunity // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1996. Vol. 93. P. 14809–14814.
37. Nashan D., Müller M.L., Grabbe S. et al. Systemic therapy of disseminated malignant melanoma: an evidence-based overview of the state-of-the-art in daily routine // J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2007. Vol. 21. P. 1305–1318.
38. Palucka A.K., Ueno H., Fay J.W., Banchereau J. Taming cancer by inducing immunity via dendritic cells // Immunol. Rev. 2007. Vol. 220. P. 129–150.
39. Papewalis C., Wuttke M., Seissler J. et al. Dendritic cell vaccination with xenogenic polypeptide hormone induces tumor rejection in neuroendocrine cancer // Clin. Cancer Res. 2008. Vol. 14. P. 4298–4305.
40. Parmiani G., De Filippo A., Novellino L., Castelli C. Unique human tumor antigens: immunobiology and use in clinical trials // J. Immunol. 2007. Vol. 178. P. 1975–1979.
41. Pupa S.M., Jezzi M., Di Carlo E. et al. Inhibition of mammary carcinoma development in HER-2/neu transgenic mice through induction of autoimmunity by xenogeneic DNA vaccination // Cancer Res. 2005. Vol. 65. P. 1071–1078.
42. Pupa S.M., Invernizzi A.M., Forti S. et al. Prevention of spontaneous neu-expressing mammary tumor development in mice transgenic for rat proto-neu by DNA vaccination // Gene Ther. 2001. Vol. 8. P. 75–79.
43. Rice J., Ottensmeyer C.H., Stevenson F.K. DNA vaccines:

precision tools for activating effective immunity against cancer // *Nat. Rev. Cancer*. 2008. Vol. 8. P. 108–120.

44. *Seledtsov V.I., Niza N.A., Surovtseva M.A. et al.* Xenovaccinotherapy for colorectal cancer // *Biomed. Pharmacother.* 2007. Vol. 61. P. 125–130.

45. *Seledtsov V.I., Shishkov A.A., Surovtseva M.A. et al.* Xenovaccinotherapy for melanoma // *Eur. J. Dermatol.* 2006. Vol. 16. P. 655–661.

46. *Schabowsky R.H., Madireddi S., Sharma R. et al.* Targeting CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T-cells for the augmentation of cancer immunotherapy // *Curr. Opin. Investig. Drugs*. 2007. Vol. 8. P. 1002–1008.

47. *Sioud M, Sørensen D.* Generation of an effective anti-tumor immunity after immunization with xenogeneic antigens // *Eur. J. Immunol.* 2003. Vol. 33. P. 38–45.

48. *Su J.M., Wei Y.Q., Tian L. et al.* Active immunogene therapy of cancer with vaccine on the basis of chicken homologous matrix metalloproteinase-2 // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63. P. 600–607.

49. *Suckow M.A., Rosen E.D., Wolter W.R. et al.* Prevention of human PC-3/46C prostate cancer growth in mice by a xenogeneic tissue vaccine // *Cancer Immunol. Immunother.* 2007. Vol. 56. P. 1275–1283.

50. *Suckow M.A., Wheeler J., Wolter W.R. et al.* Immunization with a tissue vaccine enhances the effect of irradiation on prostate tumors // *In Vivo*. 2008. Vol. 22. P. 171–177.

51. *Tan G.H., Li Y.N., Huang F.Y. et al.* Combination of recombinant xenogeneic endoglin DNA and protein vaccination enhances anti-tumor effects // *Immunol. Invest.* 2007. Vol. 36. P. 423–440.

52. *Tan G.H., Wei Y.Q., Tian L. et al.* Active immunotherapy of tumors with a recombinant xenogeneic endoglin as a model antigen // *Eur. J. Immunol.* 2004. Vol. 34. P. 2012–2021.

53. *Weber L.W., Bowne W.B., Wolchok J.D. et al.* Tumor immunity and autoimmunity induced by immunization with homologous DNA // *J. Clin. Invest.* 1998. Vol. 102. P. 1258–1264.

54. *Wei Y.Q., Wang Q.R., Zhao X. et al.* Immunotherapy of tumors with xenogeneic endothelial cells as a vaccine // *Nat. Med.* 2000. Vol. 6. P. 1160–1166.

55. *Wolchok J.D., Srinivasan R., Perales M.A. et al.* Alternative roles for interferon-gamma in the immune response to DNA vaccines encoding related melanosomal antigens // *Cancer Immunol.* 2001. Vol. 1. P. 9.

56. *Wolchok J.D., Yuan J., Houghton A.N. et al.* Safety and immunogenicity of tyrosinase DNA vaccines in patients with melanoma // *Mol. Ther.* 2007. Vol. 15. P. 2044–2050.

57. *Yee C., Riddell S.R., Greenberg Ph.D.* Prospects for adoptive T cell therapy // *Curr. Opin. Immunol.* 1997. Vol. 9. P. 702–708.

58. *Yi T., Wei Y.Q., Tian L. et al.* Humoral and cellular immunity induced by tumor cell vaccine based on the chicken xenogeneic homologous matrix metalloproteinase-2 // *Cancer Gene Ther.* 2007. Vol. 14. P. 158–164.

59. *Zheng S., Huang F., Zheng S. et al.* Vaccination with a recombinant chicken FGFR-1 bypasses immunological tolerance against self-FGFR-1 in mice // *J. Huazhong Univ. Sci. Technol. Med. Sci.* 2006. Vol. 26. P. 389–391.

60. *Zhong Z., Kusznierek K.P., Popov I.A. et al.* Induction of antitumor immunity through xenoplacental immunization // *J. Transl. Med.* 2006. Vol. 4. P. 22.

61. *Zhu K., Qin H., Cha S.C. et al.* Survivin DNA vaccine generated specific antitumor effects in pancreatic carcinoma and lymphoma mouse models // *Vaccine*. 2007. Vol. 25. P. 7955–7961.

Поступила 19.02.10