

Применение специфической противоопухолевой вакцины на основе аутологичных дендритных клеток в комплексном лечении больных со злокачественными полушарными глиомами

Бажанов С.П.¹, Олюшин В.Е.¹, Филатов М.В.², Улитин А.Ю.¹

Immunotherapy of antigen-presenting autologous dendrite cells in the complex treatment of patients with cerebral hemisphere malignant gliomas

Bajanov S.P., Olyushin V.Ye., Filatov M.V., Ulitin A.Yu.

¹ Российский научно-исследовательский нейрохирургический институт им. А.Л. Поленова, г. Санкт-Петербург

² Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова, г. Гатчина

© Бажанов С.П., Олюшин В.Е., Филатов М.В., Улитин А.Ю.

В статье представлен метод специфической противоопухолевой иммунотерапии на основе аутологичных дендритных клеток в комплексном лечении пациентов со злокачественными полушарными глиомами супратенториальной локализации. Проанализированы результаты комплексного лечения 48 пациентов со злокачественными глиомами (35 глиобластом, 13 анапластических астроцитом). Все пациенты поступали в институт на поздней стадии заболевания и имели опухоль более 5 см в диаметре. В послеоперационном периоде качество жизни пациентов составляло не менее 80 баллов по шкале Карновского. Специфическая противоопухолевая иммунотерапия проводилась по оригинальной методике и включала аутологичные дендритные клетки, нагруженные опухолевыми антигенами, а также лизат клеток опухоли. Курс лечения заключается во внутрикожном введении специфической противоопухолевой вакцины на 10–12-й дни послеоперационного периода и составляет не более 3 инъекций. Курс лечения повторяется каждые 2–3 мес. Применение специфической противоопухолевой иммунотерапии в комплексном лечебном подходе повышает качество жизни и улучшает перспективы лечения больных со злокачественными полушарными глиомами.

The aim of the research is to investigate activation of antitumor immune response efficiency using professional antigen-presenting autologous dendrite cells in the complex treatment of patients with cerebral hemisphere malignant gliomas. We have analysed 48 cases of patients with malignant gliomas (35 — glioblastomas, 13 — anaplastic astrocytoma) who received an complex treatment with specific immunotherapy use. All the patients were hospitalized at late stage of disease and tumor size exceeded 5 sm. After the operation all the patients achieved satisfactory quality of life (not less than 80 points according to Karnofsky). Specific antitumor immunotherapy was conducted in accordance with original methodic, including autologous dendrite cells with tumor antigens and tumor cells lysate. Treatment course included intradermal introduction of dendrite cells at the 10–12 day after the operation. The treatment included not less than 3 injections. The course of treatment was repeated every 2–3 months. Specific antitumor immunotherapy included into complex treatment of malignant gliomas allows to increase disease remission, life quality being satisfactory.

Введение

Опухоли головного мозга занимают 9–10-е место в структуре онкологической заболеваемости в развитых странах. Частота первичных опухолей головного мозга составляет 7,42–13,9 случая на 100 тыс. населения [1, 2, 4]. Глиаль-

ные опухоли относятся к наиболее часто встречающимся новообразованиям головного мозга и составляют в среднем от 35 до 46% [2, 4, 5]. Злокачественные глиомы астроцитарного ряда (анапластическая астроцитома и глиобластома) составляют 55–60% всех первичных глиальных

Бажанов С.П., Олюшин В.Е., Филатов М.В., Улитин А.Ю. Применение специфической противоопухолевой вакцины...

опухолей [6]. Современная стратегия лечения злокачественных глиом основана на комплексном лечебном подходе и включает хирургическое удаление опухоли, химиотерапию, лучевую терапию. Однако неудовлетворенность отдаленными результатами лечения злокачественных глиом заставляет искать новые методы противоопухолевой терапии. Из новых методов комплексной терапии злокачественных глиом наибольшее внимание привлекает разработка способов специфической противоопухолевой иммунотерапии [3]. Хотя иммунологический надзор, по-видимому, эффективен лишь в случае высокоиммуногенных опухолей, антигенными свойствами обладают, как было установлено недавно, мутантные белки и не экспрессируемые в норме (молчащие) белки. Эти чрезвычайно важные новые данные открывают возможность разработки эффективных иммунотерапевтических способов борьбы со злокачественными опухолями, но условием их успешного применения, вероятно, будет предварительное уменьшение объема и распространения опухоли с помощью хирургического вмешательства, химиотерапии, лучевой терапии.

Ряд новых стратегий иммунотерапии основан на высокой способности антигенпрезентирующих дендритных клеток (ДК) инициировать Т-клеточный ответ. Введение ДК, обработанных лизатами опухолей, опухолевыми антигенами или полученными из них пептидами, индуцирует опухоль-специфический защитный эффект. Введение ДК, трансфицированных РНК из опухолевых клеток, вызывает экспансию опухоль-специфических Т-лимфоцитов. Пока не ясно, почему введение небольшого числа обработанных антигеном ДК индуцирует Т-клеточный ответ и регрессию опухолей у больных, в организме которых уже присутствуют и антиген, и дендритные клетки в достаточном количестве. Предполагается, что ДК, находящиеся в злокачественно измененных тканях или в их ближайшем окружении, не выполняют свои функции, возможно, вследствие ингибирующего действия интерлейкина-10, секретируемого опухолью [7]. Теоретические обоснования эффективности иммунной терапии злокачественных образований

приобретают вес только после испытания в клинической практике.

Материал и методы

В РНХИ им. А.Л. Поленова за 2000—2008 гг. накоплен опыт лечения больных со злокачественными глиомами головного мозга с применением оригинальной методики специфической противоопухолевой иммунотерапии на основе создания аутологичной вакцины из опухолевых клеток. Технология защищена патентом № 2192263 (2002) (заявка № 2000122041, приоритет от 17.08.2000). На базе этой разработки в РНХИ им. А.Л. Поленова создан протокол клинического применения данного варианта иммунотерапии для больных с первичными глиомами и их рецидивами.

Оригинальным в предлагаемом методе лечения является способ представления опухолевых антигенов дендритным клеткам, заключающийся в параллельном использовании эндоцитоза при соинкубации их с ДК и принудительного введения внутрь клеток с помощью электропорации. Протокол клинического применения предлагаемой технологии лечения состоит в следующем. Во время хирургической операции забирают фрагмент опухоли объемом не менее 1 см³. Из этого же участка опухоли берут материал для гистологического исследования и ткань, предназначенную для создания вакцины, которую отправляют в лабораторию клеточной биологии только при подтверждении диагноза опухоли. Полученный фрагмент опухолевой ткани помещают в стерильный физиологический раствор и в течение 24 ч передают для приготовления антигенного материала.

Для приготовления антигена фрагмент опухоли облучают в дозе 200 Гр и диссоциируют на клетки. Полученные опухолевые клетки отмывают и разрушают путем повышения pH среды до 11,5, в которой находятся клетки, затем понижением pH среды до 6,5. Полученным таким образом экстракт белков (или суммарную РНК) используют в качестве источника антигенного материала. Перед каждым раундом лече-

ния производят забор 40–60 мл периферической крови больного в шприц, содержащий 30 ЕД раствора гепарина на 1 мл крови. Из взятой крови не позднее чем в течение 6 ч выделяют моноциты, которые культивируют в течение 7 дней с ростовыми факторами (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор и интерлейкин-4 в количестве 1 000 ЕД/мл) с постоянным контролем и сменой среды. Доказательством получения зрелых ДК являлись следующие критерии: 1) появление (увеличение) поверхностных маркеров CD83, CD80, CD11c, HLA DR, HLA ABC, определяемых с помощью техники точной цитофлуориметрии; 2) способность полученных ДК стимулировать синтез ДНК в аллогенных Т-лимфоцитах с помощью включения радиоактивно меченного тимидина. На 6-й день к дендритным клеткам добавляют приготовленный из опухоли данного больного антигенный материал и в этот же день антигенный материал и (или) суммарную РНК, полученную из опухолевой ткани, вводят внутрь дендритных клеток с помощью электрического разряда (электропорация). Таким образом, специфическая противоопухолевая вакцина имеет две составляющие: дендритные клетки, нагруженные опухолевыми антигенами, и лизат клеток опухоли.

В нейроонкологическом отделении РНХИ им. А.Л. Поленова проведено комплексное лечение 70 больных с применением аутологичной вакцины на основе ДК в период с 2000 по 2008 г. (46 — глиобластомы, 24 — анапластические астроцитомы). Материалы исследования составили пациенты как с первичными злокачественными глиомами супратенториальной локализации, так и пациенты с продолженным ростом опухолей. Все больные поступали в институт в поздней стадии заболевания с выраженными или начальными симптомами дислокации и имели опухоль более 5 см в диаметре, распространяющуюся, как правило, на 2-ю или 3-ю доли мозга. Комплексное лечение включало хирургическую операцию, целью которой была максимально возможная циторедукция, нормализация анатомо-физиологических условий функционирования головного мозга, установле-

ние точного гистологического диагноза. Всем пациентам проводилась костно-пластическая трепанация черепа с разумным радикализмом удаления опухоли. В послеоперационном периоде качество жизни больных составляло не менее 70 баллов по шкале Карновски. В протокол комбинированной терапии злокачественных глиом также включена лучевая терапия (СОД 56–60 Гр), химиотерапия (ломустин 100 мг/м² в сочетании с винкристином 1 мг/м² площади тела больного) на 5–7-й день оперативного вмешательства. Введение специфической противоопухолевой вакцины проводится на 10–12-й день послеоперационного периода (столько времени уходит на приготовление аутологичной вакцины). Введение осуществляется подкожно паравертебрально в межлопаточной области.

Результаты и обсуждение

Катамнестические данные прослежены у 48 больных с первичными злокачественными глиомами, получавших специфическую противоопухолевую иммунотерапию на основе аутологичных дендритных клеток в период с 2004 по 2007 г. В группе больных с глиобластомами показатель выживаемости был следующим: в течение 12 мес — 18 (50%), 18 мес — 11 (30%), 24 мес — 6 (20%) пациентов.

В группе пациентов с анапластическими астроцитомами (13 человек) показатель выживаемости в течение 12 мес составил 8 (60%), 18 мес — 4 (30%), 24 мес — 1 (10%) пациент. В обеих группах качество жизни составляет 70,5 балла по шкале Карновского.

В обеих группах проведено от 1 до 8 курсов вакцинотерапии. У пациентов с глиобластомами количество курсов иммунотерапии распределено следующим образом: 1 курс — 15 человек; 2 курса — 7; 3 курса — 9; 4 курса — 2; 5 курсов — 1; 6 курсов — 0; 7 курсов — 0; 8 курсов — 1 человек.

В группе больных с анапластическими астроцитомами количество курсов вакцинотерапии было следующим: 1 курс получили 3

Бажанов С.П., Олюшин В.Е., Филатов М.В., Улитин А.Ю. Применение специфической противоопухолевой вакцины...

пациента; 2 курса — 3; 3 курса — 4; 4 курса — 2; 6 курсов — 1 человек.

Ориентировочно оценены показатели выживаемости в зависимости от количества курсов вакцинотерапии среди пациентов в обеих группах. При этом выявлено, что в группе пациентов с глиобластомами наибольший показатель выживаемости был отмечен при применении 3 курсов. В группе пациентов с анапластическими астроцитомами высокое число выживаемости было отмечено при применении 2 и 3 курсов вакцинотерапии.

При проведении специфической противоопухолевой вакцинотерапии ни в одном из наблюдений не было отмечено каких-либо серьезных осложнений. Присутствовали стандартные реакции на введение в организм вакцин:

— возникновение незначительной гипертермии на фоне введения антигенного материала, устраняющейся приемом обычных доз нестероидных противовоспалительных препаратов (аспирин, целебрекс, мелоксикам);

— эритема в месте введения антигенного материала, устраняющаяся приемом антигистаминных препаратов в стандартных дозировках.

Выводы

Проведенное исследование позволило сделать следующие выводы:

1. Применение вакцинотерапии повышает качество жизни и улучшает перспективы лече-

ния больных со злокачественными глиомами головного мозга: увеличивается продолжительность жизни больных и сроки безрецидивного периода.

2. Разработанный в РНХИ им. А.Л. Поленова оригинальный метод специфической противоопухолевой иммунотерапии на основе аутологичных дендритных клеток по уровню эффективности и безопасности соответствует существующим мировым стандартам специфической иммунотерапии опухолей.

Литература

1. *Алексеев А.Г.* Эпидемиология первичных опухолей центральной нервной системы в Республике Татарстан (клиническая эпидемиология и организация медицинской помощи). СПб., 2005.
2. *Лосев Ю.А.* Эпидемиология первичных опухолей головного мозга в сельской местности (на модели Ленинградской области). СПб., 2003.
3. *Олюшин В.Е.* Комплексное лечение больных злокачественными полушарными глиомами полушарий большого мозга // VII Международный симпозиум «Новые технологии в нейрохирургии». СПб, 2004. С. 164–165.
4. *Улитин А.Ю.* Эпидемиология первичных опухолей головного мозга в Санкт-Петербурге: Дис. ... канд. мед. наук, 1997. 232 с.
5. *Шебзухова Л.М.* Эпидемиология и диагностика опухолей головного мозга в Кабардино-Балкарии: Дис. ... канд. мед. наук. СПб., 1995. 218 с.
6. *Annegers J.F., Srhoenberg B.S., Okazaki H., Kurland L.T.* Epidemiologic study of primary intracranial neoplasms // Arch. Neurol. 1981. V. 38. № 4. P. 217–219.
7. *Rabson A., Roitt I.M., Delves P.J.* Really Essential Medical Immunology. Blackwell Publishing, 2005. P. 262–263.

Уважаемые рекламодатели!

На страницах журнала можно разместить рекламу о медицинских и оздоровительных организациях и учреждениях, информацию о новых лекарственных препаратах, изделиях меди-

Материалы 5-й Межрегиональной научно-практической конференции «Актуальные вопросы неврологии»

цинской техники, продуктах здорового питания. Приглашаем вас разместить информацию о деятельности вашего учреждения на страницах журнала в виде научной статьи, доклада или в форме рекламы.

Тарифы на размещение рекламного материала

Площадь на полосе	Черно-белая печать, руб.	Полноцветная печать, руб.
1/1 210 × 280 мм (А4)	4000	10000
1/2	2500	7500
1/4	1500	5000
1/8	1000	2500
1/16	800	1000
Текстовая реклама	50 руб. за 1 кв. см	

Скидки: 2 публикации – 5%, 4 публикации – 10%, 6 публикаций – 15%