

Возможности иммунотерапии при раке яичников

И.Ж. Шубина¹, А.Н. Грицай¹, Л.Т. Мамедова¹, Н.Ю. Соколов², С.А. Кузнецов¹, М.В. Киселевский¹,
Н.И. Лазарева¹, В.В. Кузнецов¹, К.С. Титов¹, А.П. Николаев¹

¹ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва;

²ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. акад. Н.Н. Бурденко» Минобороны России, Москва

Контакты: Анатолий Николаевич Грицай gritsai_an@rambler.ru

В последнее десятилетие накопились данные, свидетельствующие в пользу того, что рак яичников (РЯ) – это иммуногенная опухоль. Иммунотерапия, направленная на стимуляцию врожденного и адаптивного иммунитета, может вызывать эффективный ответ у пациенток с РЯ. Различные подходы иммунотерапии включают цитокинотерапию, применение моноклональных антител, а также клеточную терапию.

Ключевые слова: рак яичников, противоопухолевый иммунитет, иммунотерапия

Immunotherapy opportunities in ovarian cancer

*I.Zh. Shubina¹, A.N. Gritsai¹, L.T. Mamedova¹, N.Yu. Sokolov², S.A. Kuznetsov¹, M.V. Kiselevskiy¹, N.I. Lazareva¹,
V.V. Kuznetsov¹, K.S. Titov¹, A.P. Nikolayev¹*

¹*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;*

²*Acad. N.N. Burdenko Main Military Clinical Hospital, Ministry of Defense of the Russian Federation, Moscow*

In the last decade, accumulated evidence in favor of that ovarian cancer is an immunogenic tumor. Immunotherapy is aimed at stimulating the innate and adaptive immunity, may cause an effective response in patients with ovarian cancer. Various approaches immunotherapy include cytokinetherapy, use of monoclonal antibodies and cell therapy.

Key words: ovarian cancer, antitumor immunity, immunotherapy

В последнее десятилетие проводились различные исследования, направленные на повышение эффективности лечения рака яичников (РЯ), однако смертность от этого заболевания продолжает удерживать лидирующую позицию среди гинекологических злокачественных новообразований как в России, так и в развитых странах, например в США. Достигнутый прогресс в увеличении 5-летней выживаемости (с 37 % в 70-х годах до 45 % в 90-х годах прошлого века по данным SEER-регистра) никак не сказался на снижении смертности от этого заболевания, поскольку, несмотря на то что 1-я линия химиотерапии (ХТ) эффективна примерно у 80 % пациенток с РЯ, 60 % из них рецидивируют в различные сроки после окончания этого лечения [1, 2]. В результате больших кооперированных исследований были определены комбинированные режимы, содержащие платиновые производные и таксановые препараты, которые легли в основу стандартов лечения РЯ. Поиск новых схем и модификаций режимов, направленных в основном на увеличение безрецидивного периода продолжается, однако до сих пор сочетание карбоплатина и паклитаксела остается самой эффективной схемой ХТ. Становится ясно, что необходимо расширять стратегию поиска эффективных терапевтических подходов.

Большие достижения в области молекулярно-генетических исследований стимулировали широкое изуче-

ние возможностей иммунотерапевтических методов для лечения онкологических больных. Применение иммунотерапии направлено на индукцию врожденного или адаптивного звена иммунной системы организма для реализации противоопухолевой активности.

В последнее время накопилось много фактов, свидетельствующих об иммуногенности различных опухолей, в том числе и РЯ. К настоящему времени еще нет полного описания опухоль-ассоциированных антигенов, экспрессируемых опухолевыми клетками РЯ, однако уже сейчас среди них идентифицированы: белок *cd2* (ассоциирован с дегенерацией мозжечка); *p53*; *HER-2/neu*; мезотелин; раково-тестикулярные антигены, такие как NY-ESO-1, антиген меланомы семейства *MAGE*; поверхностный белок *Sp17*; муцин; раковый антиген *CA-125 (MUC-16)* и *MUC-1*, универсальные опухолевые антигены, такие как сурвивин человека и обратная транскриптаза человеческой теломеразы и др. [3]. В нескольких исследованиях изучали реакцию противоопухолевого иммунитета при РЯ в связи с определением опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs). Наличие TILs коррелировало с длительностью безрецидивного периода и общей выживаемостью. Пятилетняя выживаемость составила 38 % у пациенток, у которых обнаруживали опухоль-инфильтрирующие Т-клетки ($n = 102$), а у пациенток с отсутствием TILs этот показатель был значительно

ниже — 4,5 % ($n = 72$), даже при зарегистрированном полном эффекте от ХТ. Оценка TILs показала, что эти клетки обладали выраженной характеристикой активированных лимфоцитов. [4]. Также было показано, что существенная концентрация CD8⁺ TILs наблюдается при увеличении показателя общей выживаемости. Проведенное поэтапное исследование показало, что CD8⁺ TILs представляют собой значимый прогностический маркер, так как их наличие коррелирует на всех этапах прогрессии и всех гистологических типах РЯ [5]. Определенная значимость опухоль-инфильтрирующих CD3⁺ или CD8⁺ Т-клеток была подтверждена несколькими независимыми исследованиями в этнически и географически различных популяциях. Важно отметить, что содержание TILs было выше в активно пролиферирующих опухолях [6–8]. С другой стороны, наличие иммуносупрессивной популяции регуляторных Т-клеток (Treg) с фенотипом CD4⁺ / CD25⁺ / FoxP3⁺ было ассоциировано со снижением выживаемости пациенток с РЯ [9, 10].

Результаты таких исследований позволяют предположить, что оценка иммунного профиля опухоли может иметь значение в условиях персонализированной медицины. Терапевтические подходы противоопухолевой иммунотерапии основаны на стимуляции противоопухолевого иммунитета в результате воздействия на неспецифическое или адаптивное эффекторное звено иммунной системы. Методы клеточной иммунотерапии включают использование иммунокомпетентных клеток, активированных или модифицированных *ex vivo*, таких как натуральные киллеры (НК), Т-лимфоциты, цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ), инфильтрирующие опухоль Т-клетки (TILs), НКТ-клетки, дендритные клетки (ДК).

Данные пилотных клинических исследований показали, что направленные на стимуляцию противоопухолевого иммунитета терапевтические схемы при РЯ, включавшие интерлейкин-2 (ИЛ-2), моноклональные антитела (МКА) против CTLA-4, адаптивный перенос *ex vivo* обогащенной популяции TILs вызывают объективный ответ на проводимое лечение. Например, морфологическая оценка эффективности ежедневной внутрибрюшинной инфузии ИЛ-2 в течение недели у пациенток с платино-резистентным РЯ показала полный клинический эффект в 17 % [11, 12]. Объективный ответ и/или увеличение продолжительности жизни были показаны в исследованиях с МКА против антигена CTLA-4 [13, 14], и подобные положительные результаты были продемонстрированы при использовании TILs [15, 16].

В настоящее время вакциноterapia чаще всего рассматривается в качестве профилактического или терапевтического подхода иммунотерапии РЯ [17–19]. Подобно исследованиям с другими злокачественными новообразованиями, применение вакцин показало

ограниченную эффективность в режиме монотерапии у пациентов с рецидивом заболевания. Очевидно, необходимо совершенствование этого биотерапевтического метода, и сейчас основные разработки направлены на оптимизацию выбора антигенов; улучшение систем доставки вакцин, максимальное усиление и качественное улучшение (фенотип и поляризация) Т-клеточного ответа, а также на разработку комбинированной иммунотерапии в сочетании с Т-клетками.

В ретроспективном исследовании Sabbatini et al. отметили, что у пациенток с РЯ, получавших адъювантную терапию моновалентной или 5-валентной вакциной против углеводных эпитопов, было значительное увеличение времени до прогрессирования заболевания и выше выживаемость по сравнению с контрольной группой пациенток [20].

Вакцинация анти-идиотипическим МКА АСА-125, аналогом СА-125, привела к выработке СА-125-специфических антител, и, по данным этого исследования, увеличение выживаемости было связано с этой вакцинотерапией [21].

Вакциноterapia с использованием ДК долгое время представлялась наиболее перспективным направлением противоопухолевой иммунотерапии, поскольку использование профессиональных антигенпредставляющих клеток может вызывать специфический иммунный ответ на опухоль-ассоциированные антигены. В пилотном исследовании [22] вакцину готовили на основе зрелых ДК, пульсированных аутологичным лизатом опухоли. У 3 из 6 вакцинированных больных отмечено увеличение безрецидивного периода.

Мишенью пептидных вакцин являются опухоль-ассоциированные антигены, такие как HER-2/neu, NY-ESO-1, p53, VEGF и WT-1, которые экспрессируются на клетках эпителиального РЯ. Пептидные вакцины, как правило, хорошо переносятся, их легко получить, они способны индуцировать устойчивые иммунные ответы [23].

Адоптивный перенос иммунокомпетентных клеток (или адоптивная иммунотерапия) может включать Т-клетки, НК-клетки, ДК, которые подвергаются различным манипуляциям *ex vivo* с целью модифицировать их свойства нужным образом. Интенсивные клинические исследования по адоптивной иммунотерапии с использованием опухоль-инфильтрирующих Т-клеток показали хорошую эффективность у пациентов с меланомой кожи [24], и этот подход был осуществлен в клинических исследованиях у пациенток с эпителиальным РЯ. Показано увеличение продолжительности жизни у пациенток, получавших адъювантную иммунотерапию аутологичными TILs, стимулированными *in vitro* с помощью ИЛ-2, после хирургической циторедуктивной операции и 1-й линии ХТ. Уровень 3-летней выживаемости пациенток с эпителиальным РЯ III степени ($n = 13$), которые после завершения 1-й линии ХТ,

основанной на цисплатине, получали иммунотерапию TILs, составил 100 %, в то время как в контрольной группе ($n = 10$), получавшей только ХТ, — лишь 67,5 % ($p < 0,1$). Трехлетний безрецидивный период в группе с адьювантной иммунотерапией TILs составил 82,1 % и в контрольной группе — 54,5 % [25, 26].

Разработка метода и пилотные исследования проводились также с целью лечения опухолевых серозитов с помощью адоптивной иммунотерапии в комбинации ИЛ-2 и лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) у пациенток с экссудативными формами рецидивов РЯ [26]. Больные с платино-таксанорезистентными формами РЯ, течение заболевания у которых осложнилось прогрессированием процесса и появлением жидкости в плевральной и/или брюшной полостях, получали адоптивную ИЛ-2/ЛАК-терапию. Из 46 наблюдаемых больных предшествующее внутриволостное введение цитостатиков имело место у 12 (26,1 %) женщин; 3 пациенткам проводилось внутриволостное, а 8 — внутриволостное введение Тио-ТЭФа или циклофосфана. Данное лечение было неэффективным. К началу локальной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии опухолевый процесс был распространенным и помимо патологических выпотов в брюшную и/или плевральную полости у пациенток также имелись другие множественные проявления опухолевого поражения. Эффективность лечения оценивали по срокам накопления экссудата, уровню маркера СА-125 в крови, данным рентгенологического и ультразвукового исследований, также изучались иммунологические показатели.

Накопление экссудата в первые двое суток до начала ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии составляло от 200 до 6000 мл/сут. Во всех случаях у больных удалялся серозный или серозно-геморрагический экссудат (относительная плотность 1,015–1,018, содержание белка 25–30 г/л). Как правило, регрессия злокачественного выпота наступала после 2–3 нед иммунотерапии, при стойкой экссудации лечение продолжали до 1 мес. Через месяц после окончания ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии эффект сохранялся у 40 (87 %) больных. У остальных пациенток отмечалось накопление экссудата в прежнем режиме, хотя состояние их на фоне лечения улучшилось за счет систематической полной эвакуации экссудата. У 28 женщин отмечена полная ремиссия, на фоне которой продолжена ХТ гексаленом. После проведения курса адоптивной иммунотерапии наблюдалось снижение показателей опухолевого маркера СА-125 у 23 (50 %) больных, нормализация иммунного статуса — у 34 (74 %) пациенток и уменьшение размеров метастазов — у 6 (13,1 %) больных. Проведенное лечение приводило к увеличению числа лимфоцитов периферической крови, причем как CD16-клеток, так и CD8-клеток.

Исследование показало эффективность предложенного метода адоптивной иммунотерапии у боль-

ных диссеминированным РЯ при серозитах. Принципиальным положительным моментом является возможность проведения лекарственного лечения после эффективной иммунотерапии.

Известно, что при распространенном опухолевом процессе страдают практически все звенья иммунитета, а ХТ у этой категории больных усугубляет угнетающее влияние онкологического заболевания на иммунокомпетентные клетки. Для оценки реакции иммунной системы на проводимую иммунотерапию [27] 14 больным РЯ III–IV стадий после комбинированного лечения на фоне клинической ремиссии проводился курс внутриволостной ИЛ-2/ЛАК-терапии. Иммунный статус этих пациенток определяли после окончания комбинированного лечения (через 3–6 нед) и после проведения адоптивной иммунотерапии.

После ХТ у данных пациенток наблюдалось длительное угнетение иммунной системы в виде снижения абсолютного числа лимфоцитов, а также уменьшения содержания Т-хелперов (CD4) и НК (CD16). После иммунотерапии в клиническом анализе крови у всех пациенток увеличился относительный процент лимфоцитов до 36–44 % при уровне лейкоцитов от 5 до 7 тыс. клеток. У больных отмечалось повышение CD16⁺, CD4⁺, CD38⁺, CD25⁺-лимфоцитов. Эти изменения свидетельствуют об активации лимфоцитов после проведения курса иммунотерапии. Клиническая ремиссия у данных пациенток составила 7–18 мес. Очевидно, что развитие плеврита и/или асцита на том или ином этапе опухолевого процесса ухудшает качество и сокращает продолжительность жизни больных диссеминированным РЯ. Особый интерес представляет поиск новых противоопухолевых лекарств и методов лечения опухолевых плевритов и асцитов. Согласно данным настоящего исследования метод внутриволостной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии опухолевых плевритов и асцитов целесообразно применять у больных при рецидивах и прогрессировании РЯ при неэффективной ХТ, а также при индивидуальной непереносимости цитостатиков.

При проведении ИЛ-2/ЛАК-терапии отмечается деградация и последующее исчезновение из плеврального выпота опухолевых клеток на фоне повышения числа активированных лимфоидных элементов у 87 % больных, а также снижение уровня маркера СА-125 в крови у половины пациентов. В 2 случаях зарегистрирована частичная регрессия опухоли.

Внутриволостное введение ИЛ-2 и ЛАК после циторедуктивной операции и/или после 6–8 курсов ХТ приводит к нормализации параметров иммунитета у больных распространенным РЯ и способствует лучшей переносимости последующей ХТ.

Применение ИЛ-2/ЛАК-терапии после комбинированного лечения при выраженных иммунодепрес-

сивных состояниях способствует восстановлению иммунологических показателей и увеличению содержания активированных лимфоцитов.

В целом, подходы иммунотерапии РЯ можно рассматривать с точки зрения воздействия на врожденный иммунитет (применение цитокинов и адоптивная иммунотерапия, терапия на основе ЛАК, активированных НК), стимуляции адаптивного иммунитета (пептидные вакцины, моноклональные антитела, вакцины на основе опухолевых антигенов, дендритно-клеточные вакцины, использование TILs) и попытки модулировать реакцию иммунной системы с помощью элиминации (или блокировки) T-регуляторных клеток, блокировки антигена CTLA-4.

Фактические данные, накопленные в течение последних 2 десятилетий, убедительно показывают, что РЯ является иммуногенной опухолью. Достижения

в области клеточных технологий, наряду с разработкой иммуномодулирующих антител, позволяют создавать новые возможности в терапии РЯ.

Немаловажным условием эффективного применения иммунотерапии является подбор пациенток с РЯ для такого лечения, поскольку, как показывают современные данные, у многих из них проявляется иммунная реакция. Такие пациентки лучше всего будут отвечать на вакцинотерапию или TILs-терапию. Возможно, потребуется определение дополнительных биомаркеров для выбора максимально эффективного метода иммунотерапии.

Наконец, перспективной представляется разработка схем, комбинирующих иммунотерапию с известным стандартом лечения РЯ. Персонализированная терапия с применением адьювантной иммунотерапии может оказаться наиболее эффективным подходом в этой группе пациентов.

ЛИТЕРАТУРА

- Siegel R., Naishadham D., Jemal A. Cancer statistics. *Cancer J Clin* 2012;62:10–29.
- Cannistra S.A. Cancer of the ovary. *N Engl J Med* 2004;351:2519–29.
- Chu C.S., Kim S.H., June C.H. et al. Immunotherapy opportunities in ovarian cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2008;8:243–57.
- Zhang L., Conejo-Garcia J.R., Katsaros D. et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003;348:203–13.
- Clarke B., Tinker A.V., Lee C.H. et al. Intraepithelial T cells and prognosis in ovarian carcinoma: novel associations with stage, tumor type, and BRCA1 loss. *Mod Pathol* 2009;22:393–402.
- Hwang W.T., Adams S.F., Tahirovic E. et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis. *Gynecol Oncol* 2012;124:192–8.
- Kandalaf L.E., Powell D.J. Jr., Singh N., Coukos G. Immunotherapy for ovarian cancer: what's next? *J Clin Oncol* 2011;29:925–33.
- Leffers N., Fehrmann R.S., Gooden M.J. et al. Identification of genes and pathways associated with cytotoxic T lymphocyte infiltration of serous ovarian cancer. *Br J Cancer* 2010;103:685–92.
- Curjel T.J., Coukos G., Zou L. et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. *Nat Med* 2004;10:942–9.
- Sato E., Olson S.H., Ahn J. et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:18538–43.
- Edwards R.P., Gooding W., Lembersky B.C. et al. Comparison of toxicity and survival following intraperitoneal recombinant interleukin-2 for persistent ovarian cancer after platinum: Twenty-four-hour versus 7-day infusion. *J Clin Oncol* 1997;15:3399–407.
- Vlad A.M., Budiu R.A., Lenzner D.E. et al. A phase II trial of intraperitoneal interleukin-2 in patients with platinum-resistant or platinum-refractory ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2009;59:293–301.
- Hodi F.S., Butler M., Oble D.A. et al. Immunologic and clinical effects of antibody blockade of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 in previously vaccinated cancer patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008;105:3005–10.
- Hodi F.S., Mihm M.C., Soiffer R.J. et al. Biologic activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4712–7.
- Aoki Y., Takakuwa K., Kodama S. et al. Use of adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes alone or in combination with cisplatin-containing chemotherapy in patients with epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1991;51:1934–9.
- Fujita K., Ikarashi H., Takakuwa K. et al. Prolonged disease-free period in patients with advanced epithelial ovarian cancer after adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes. *Clin Cancer Res* 1995;1:501–7.
- Hung C.F., Wu T.C., Monie A. et al. Antigen-specific immunotherapy of cervical and ovarian cancer. *Immunol Rev* 2008;222:43–69.
- Odunsi K., Sabbatini P. Harnessing the immune system for ovarian cancer therapy. *Am J Reprod Immunol* 2008;59:62–74.
- Sabbatini P., Odunsi K. Immunologic approaches to ovarian cancer treatment. *J Clin Oncol* 2007;25:2884–93.
- Sabbatini P., Spriggs D., Aghajanian C. et al. Consolidation strategies in ovarian cancer: Observations for future clinical trials. *Gynecol Oncol* 2010;116:66–71.
- Reinartz S., Kohler S., Schlebusch H. et al. Vaccination of patients with advanced ovarian carcinoma with the anti-idiotypic ACA125: immunological response and survival (phase Ib/II). *Clin Cancer Res* 2004;10:1580–7.
- Hernando J.J., Park T.W., Kubler K. et al. Vaccination with autologous tumour antigen-pulsed dendritic cells in advanced gynaecological malignancies: Clinical and immunological evaluation of a phase I trial. *Cancer Immunol Immunother* 2002;51:45–52.
- Liu B., Nash J., Runowicz C. et al. Ovarian cancer immunotherapy: opportunities, progresses and challenges. *J Hematol Oncol* 2010;3:7.
- Wu R., Forget M.A., Chacon J. et al. Adoptive T-cell therapy using autologous tumor-infiltrating lymphocytes for metastatic melanoma: current status and future outlook. *Cancer J* 2012;18(2):160–75.
- Buckanovich R.J., Facciabene A., Kim S. et al. Endothelin B receptor mediates the endothelial barrier to T cell homing to tumors and disables immune therapy. *Nat Med* 2008;14:28–36.
- Блюменберг А.Г. Диссеминированные формы рака яичников (лечение и факторы прогноза). Автореф. докт. дис. М., 2002.
- Шубина И.Ж., Блюменберг А.Г., Волков С.М. и др. Адоптивная иммунотерапия злокачественных новообразований. Вестник РАМН 2007;11:9–15.