РЕФЕРАТ

Иммунология опухолей

2009

Идея о том, что опухоли могут вызывать иммунный ответ, была высказана уже очень давно. Еще в начале века Пауль Эрлих предположил, что у человека с высокой частотой возникают "аномальные зачатки" - опухоли, которые неизбежно разовьются в смертельные, если их не будет устранять иммунная система. Согласно этому, опухоль стали рассматривать как структуру, сходную с тканевым трансплантатом и распознаваемую иммунной системой. В развитие этих представлений были начаты эксперименты по стимуляции иммунной системы для отторжения опухолей. Редкие случаи спонтанной регрессии опухолей или их исчезновения после обработки бактериальными вакцинами считались свидетельством эффективного иммунного ответа.

Ранние исследования по изучению противоопухолевого иммунитета показали, что пересаженные опухоли обычно регрессируют. Этот эффект был истолкован как следствие развития иммунного ответа. Однако позднее такой вывод для большинства подобных работ признали несостоятельным, так как было установлено, что регрессия опухолей происходила в них просто по причине генетических различий между организмом-хозяином и опухолевой тканью. И только в послевоенные годы, благодаря выведению генетически однородных, инбредных линий грызунов появилась возможность изучать противоопухолевый иммунный ответ у животных как таковой. Идею Эрлиха об иммунном ответе на "аномальные зачатки" развили далее Вернет и Томас, создавшие на ее основе теорию иммунологического надзора.

## Иммунологический надзор

Иммунологический надзор наиболее эффективен против вирусов, а не опухолевых клеток. Гипотеза Бернета и Томаса состояла в том, что иммунная система постоянно следит за появлением в организме измененных клеток и при распознавании разрушает их. Таким образом, согласно данной концепции, противоопухолевый иммунный ответ формируется на ранней стадии развития опухоли и обеспечивает ее уничтожение в большинстве случаев до того, как она даст клинические проявления. Эти ученые высказали также предположение, что иммунная система важна для задержки роста опухолей и для регрессии уже развившихся опухолей. В качестве подтверждения этих взглядов приводились различного рода данные.

• При патологоанатомическом исследовании может быть выявлено больше опухолей, чем по клиническим проявлениям.

• Во многих случаях опухоли инфильтрированы лимфоцитами и иногда это может быть благоприятным признаком.

• Возможна спонтанная регрессия опухолей.

• Наиболее часто опухоли возникают у новорожденных и в старческом возрасте, т.е. когда иммунная система функционирует менее эффективно.

• Опухоли часто развиваются у лиц с иммуносупрессией.

На первый взгляд подобные доказательства кажутся убедительными, однако при более тщательном анализе основное положение теории - ассоциация иммуносупрессии с повышенной частотой опухолевых заболеваний - вызывает сомнения. Большая часть имеющихся на этот счет данных - это результаты наблюдений за больными, которым была произведена пересадка почки; во многих случаях наблюдения продолжались до 20 лет. Для данных больных с иммуносупрессией характерна повышенная частота возникновения многих типов опухолей и некоторые из них, судя по всему, имеют вирусную природу. Риск возникновения многих других, не связанных с вирусами опухолевых заболеваний также повышен при этом, но незначительно. Отсюда следует, что иммунный ответ, вероятно, предотвращает в основном распространение потенциально онкогенных вирусов, а в отношении опухолей не вирусного происхождения иммунологический надзор относительно неэффективен. У здоровых индивидов в случае инфицирования вирусом Эпштейна-Барр данный вирус сохраняется в организме на протяжении всей жизни одновременно с сильным цитотоксическим Т-клеточным ответом на него. У лиц с иммуносупрессией происходит усиленная репродукция этого вируса и слущивание вирусных частиц в секретируемые жидкости. Следовательно, в норме иммунный ответ ограничивает размножение вируса.

Предположение о направленности иммунологического надзора большей частью на вирусы, а не на опухоли, подтверждают и данные, полученные в экспериментах на животных. Так, у бестимусных мышей, а также у мышей с иммуносупрессией, вызванной введением антилимфоцитарной сыворотки, общего повышения частоты возникновения опухолей не обнаружено, но у большинства этих животных развиваются опухоли, вызываемые мелким ДНК-содержащим вирусом полиомы, который редко вызывает опухоли у нормальных животных. Из этого не следует, что на большинство опухолей иммунный ответ вообще не развивается, однако он, по-видимому, относительно поздний и неэффективный.

Опухолевые антигены могут распознаваться клетками иммунной системы или антителами. У человека связь с вирусами установлена для немногих типов злокачественных новообразований, но среди них рак печени и шейки матки - распространенные причины смерти на всем земном шаре. Мишенями для распознавания при иммунном ответе на опухоль могут служить не только вирусные антигены, но и так называемые опухолеассоциированные антигены - компоненты опухолевых клеток, измененные относительно нормальных клеток организма. Получены многочисленные данные о генетических изменениях - мутациях, амплификации генов, хромосомных делециях и транслокациях, происходящих в клетках большинства опухолей. Некоторые из этих генетических аберраций приводят к экспрессии измененных молекул в опухолевых клетках, другие - к сверхэкспрессии нормальных молекул. Подобные изменения могут быть выявлены либо путем определения иммунного ответа хозяина, либо экспериментально - путем иммунизации животных других биологических видов материалом опухоли.

## Опухолеассоциированные антигены, распознаваемые клетками иммунной системы

Существование опухолевых антигенов впервые было обнаружено при постановке трансплантационных тестов. Когда опухоль пересаживали животному, предварительно иммунизированному инактивированными клетками той же опухоли, трансплантат отторгался. Резистентность к пересаженной опухоли, опосредованная, как впоследствии было установлено, клетками иммунной системы, направлена на опухолеассоциированные трансплантационные антигены двух типов. Антигены первого типа - общие для многих опухолей, даже различного тканевого происхождения. Антигены второго типа специфичны для каждой отдельной опухоли - это опухолеспецифические трансплантационные антигены. Возможна одновременная экспрессия специфических и Т-антигенов.

## Т-антигены имеют вирусное происхождение

Эти антигены обнаруживаются на клетках опухолей, индуцированных вирусами, например мелким ДНК-содержащим вирусом полиомы и вирусом SV40 и вирусами папилломы. Данные вирусы кодируют Т-антигены, свойственные и другим вирусам той же группы. Эти антигены представляют собой ядерные белки, играющие определенную роль в поддержании трансформированного состояния.

Инфекционные РНК-содержашие онкогенные вирусы вызывают лейкозы и саркомы у животных; обнаружен также по крайней мере один вирус Т-клеточного лейкоза человека. Эти вирусы выходят из инфицированных клеток путем отпочковывания от их клеточной мембраны, приобретая при этом оболочку; в мембране инфицированных ими клеток выявляется гликопротеин вирусной оболочки. Общие антигены ДНК-, как и РНК-содержащих онкогенных вирусов вызывают сильный гуморальный и клеточный ответ, способный обеспечить защиту против опухоли. Поскольку опухоли, вызываемые данным онкогенным вирусом, экспрессируют один и тот же антиген, инбредные мыши, иммунизированные, например, многократными инъекциями облученных клеток опухоли, индуцированной SV40, отторгают опухоли, вызванные данным вирусом, но чувствительны к опухолям, вызываемым вирусом полиомы.

Для некоторых линий мышей характерна спонтанная активация эндогенных РНК-содержащих онкогенных вирусов, приводящая к развитию лейкоза. У животных других линий опухоли, которые могут экспрессировать вирусные антигены и продуцировать инфекционный вирус лейкоза мышей, образуются в том случае, если им вводить канцерогенное химическое соединение. Такие опухоли экспрессируют как общие опухолеассоииированные антигены, так и опухолеспецифические антигены, рассматриваемые ниже. У организма-хозяина, однако, эндогенные РНК-содержащие вирусы вызывают лишь слабый иммунный ответ, возможно, из-за иммунологической толерантности.

Специфические опухолевые антигены отражают изменения в опухолевых генах или в экспрессии генов

К специфическим опухолевым антигенам относят те антигены, которые могут вызвать иммунный ответ на введенные опухолевые клетки, в том случае если животное было предварительно иммунизировано материалом той же опухоли. Такие антигены впервые были выявлены при изучении опухолей, индуцированных у инбредных мышей канцерогенными химическими веществами, и к настоящему времени их природа установлена в описываемых ниже экспериментах.

Перевиваемую культуру опухолевых клеток от мыши инбредной линии подвергали in vitro воздействию сильного мутагена. Затем из этой культуры получали субклоны мутантных опухолевых клеток, часть которых была неспособна к дальнейшему росту in vivo, если только имплантат не был очень массивным. Мутантные культуры обнаруживали большую иммуногенность, чем родительские опухолевые клетки. При иммунизации одним из этих опухолеотрицательных клонов у генетически идентичных мышей образовывались Тц-клетки, способные уничтожать имплантат только того клона, который был использован для иммунизации, а не родительской или других tum-культур. Эти Тц-клетки затем использовали в качестве зондов для определения мутантного опухолевого антигена при молекулярном клонировании соответствующего гена. В итоге мутантный ген, кодирующий данный опухолевый антиген, был идентифицирован и секвенирован. Сравнение этого гена с гомологичным геном из клеток родительской опухоли показало различие их продуктов всего по одному аминокислотному остатку. В дальнейшем было четко доказано, что такая мутация приводит к образованию иммуногенного антигена, распознаваемого Тц-клетками: если клетки родительской опухоли инкубировали с пептидом из 10 аминокислотных остатков, содержащим и1т\_-последовательность, эти клетки затем уничтожались Тц-клетками, однако в случае инкубации с гомологичным пептидом из клеток родительской опухоли лизиса не происходило. Учитывая, что распознавание антигенов Тц-клетками рестриктировано по молекулам МНС класса I. можно предположить, что опухолеспецифичный белок процессируется в опухолевой клетке с образованием пептида, который затем образует комплекс с антигенами МНС класса I и транспортируется на клеточную поверхность.

Клонированные гены опухолевых антигенов из клеток других turrr-клонов иногда оказывались идентичными родительскому гену. Отличие таких tum--ioiOHOB от родительской линии заключалось в том, что в Шт--клетках происходила сверхэкспрессия данного антигена. Получены убедительные доказательства в пользу существования иммунного ответа, рестриктированного по антигенам МНС класса II, по крайней мере на опухоли человека, однако значительно меньше известно о том, какие опухолевые антигены распознаются в комплексе с антигенами МНС класса II.

## Опухолеассоциированные антигены, распознаваемые антителами

Некоторые антигены присущи только опухолям.

В многочисленных исследованиях, предпринимаемых с целью выявить специфические опухолевые антигены, используют как сыворотку крови того животного, от которого взята опухоль, так и сыворотки от животных, иммунизированных опухолевым материалом. Недавно начаты исследования с применением моноклональных антител, образуемых аутологичными или гетерологичными В-клетками. Доказательств существования опухолеспецифических антигенов получено очень немного, однако идентифицировано несколько типов антигенов, тем или иным образом ассоциированных с опухолями.

Сыворотка крови больных с опухолями выявляет широко распространенные антигены.

При использовании сыворотки крови от больных с опухолями или моноклональных антител, полученных к опухолевым клеткам от таких больных, обычно выявляются антигены, широко представленные на поверхности или чаще внутри как опухолевых, так и нормальных клеток. Соответствующие антитела большей частью принадлежат к классу IgM и, следовательно, обладают низкой аффинностью. Аналогичные моноклональные антитела могут быть получены с использованием иммортализованных В-клеток от здоровых индивидов. Такие антитела выявляют аутоантигены, и роль их в иммунном ответе организма на опухоль неясна.

Опухоли могут экспрессировать нормальные дифференцировочные антигены, характерные для немногих типов нормальных клеток

Большинство опухолевых клеток представляет собой клон - потомство одной клетки, и клетки именно такого типа могут быть в организме относительно редкими. Соответственно опухолевые клетки экспрессируют антигены, присутствующие только у некоторых типов нормальных клеток. Примерами таких антигенов могут служить общий антиген острого лимфобластного лейкоза и раково-эмбриональные антигены, которые представляют собой дифференцировочные антигены, экспрессируемые во время развития плода, но обычно отсутствующие на клетках взрослого человека.

К РЭА относятся б-фетопротеин, продуцируемый клетками опухолей печени, и антиген, продуцируемый клетками карциномы толстой кишки человека и другими эпителиальными опухолями.

Экспрессируемые опухолями антигены нормальных клеток могут быть измененными за счет гликозилирования.

Изменения в гликозилировании клеточных молекул характерны для многих опухолей. Они могут приводить к экспрессии новых углеводных эпитопов, как в случае антигена Томсена-Фриденрайха - дисахарида, который обычно не выявляется на нормальных клетках. Подобным образом могут возникать и аберрантные антигены групп крови. В результате изменения в гликозилировании могут также открываться эпитопы белкового остова, которые редко обнаруживаются в нормальных клетках. Соответствующий пример демонстрируют полиморфные молекулы эпителия - муцины, образуемые многими нормальными эпителиальными клетками. Это высокомолекулярные гликопротеины, в которых повторяющийся сердцевинный пептид несет боковые углеводные цепи. В эпителиальных опухолях в этой сердцевинной структуре выявляется новый белковый эпитоп.

Большинство опухолей инфильтрировано лимфоидными клетками.

Гистологический анализ опухолей человека в большинстве случаев показывает, что они инфильтрированы клетками зоны воспаления. В инфильтрате обычно доминируют лимфоциты и макрофаги, но могут присутствовать и клетки других типов, в том числе дендритные клетки, гранулоциты и тучные клетки. Более точный анализ типов составляющих опухоли клеток с применением моноклональных антител, позволяющий выявлять субпопуляции лимфоидных клеток. показывает, что в опухолях может присутствовать большинство основных субпопуляций лимфоцитов.

С помощью моноклональных антител, специфичных к рецептору для ИЛ-2, антигенам МНС класса II и другим маркерам активации, можно установить также степень активации клеток. Однако пока не выявлены выраженные ассоциации между определенными субпопуляциями лимфоидных клеток и прогнозом развития злокачественной опухоли. Это может быть обусловлено тем, что в действительности лишь небольшая часть инфильтрирующих клеток специфична к опухоли. Предпринят ряд исследований для выяснения функций инфильтрирующих опухоли лимфоцитов in vitro.

Противоопухолевые реакции обнаружены в смешанных культурах лимфоцитов и опухолевых клеток.

Идея о том, что ответ примированных антигеном Тх - и Тц-клеток можно выявить путем повторной стимуляции их специфическим антигеном in vitro, была проверена в следующих экспериментах. С целью установить, способна ли иммунная система больного реагировать на опухоль, лимфоциты больных стимулировали инактивированными опухолевыми клетками в смешанных культурах лимфоцитов и опухолевых клеток. Лимфоциты для этого могли быть взяты из периферической крови, из дренирующих опухоль лимфатических узлов или из самой опухоли.

Как установлено, в подобных смешанных культурах возможна стимуляция Тх-клеток CD4+, в результате которой они пролиферируют и выделяют эффекторные цитокины. В тех же культурах образуются Тц-клетки CD8+; их цитотоксическую активность можно определить в тесте с высвобождением 51Сг. Тц клетки могут быть также получены при культивировании лимфоцитов в присутствии ИЛ-2 для увеличения популяции эффекторных клеток, образовавшихся in vivo. Активность Тц-клеток следует отличать от активности нормальных киллеров; для их дифференциации возросшую популяцию лимфоцитов исследуют с использованием соответствующих стандартных культур.

В СКЛОК образуется много различных специфичностей Т-клеток.

Специфичности Тх - и Тц-клеток сходны между собой и обнаруживают различную реакционноспособность по отношению к тем или иным клеткам-мишеням у различных больных.

• В обоих случаях лишь незначительная часть клонированных Т-клеток специфична в отношении аутологичной опухоли.

• Некоторые клоны реагируют с аутологичной опухолью и со всеми или с частью аутологичных тестированных тканей.

• Ряд клонов обнаруживает реактивность по отношению к аутологичным и некоторым аллогенным опухолям.

• Остальные клетки обнаруживают специфичность ко многим опухолевым клеткам-мишеням

Опухолеспецифичные Т-клетки обнаруживаются у больных с различными типами опухолей. Особой иммуногенностью, по-видимому, обладает меланома. Выявлено несколько антигенов, ассоциированных с меланомой и определяемых с помощью моноклональных мышиных антител. Мишенями для Тц-клеток служат ААМ, экспрессируемые некоторыми нормальными клетками, и тирозиназа - фермент, связанный с пигментными клетками. В опухолевых клетках не выявлены мутации ни в генах ААМ, ни в гене тирозиназы. У больных с опухолями выявляется также ответ на продукт мутантного онкогена ras и продукт гена супрессора опухолей, р53.

Третий тип Т-клеточных клонов был выделен от больных раком молочной железы и яичников. Недавно получены данные о том, что эти линии способны отвечать специфически, но нерестриктированно на повторяющийся сердцевинный пептид муцина. Пока неизвестно, презентируется ли указанный пептид в комплексе с молекулами МНС или другим способом. Отвечающие на муцин клетки принадлежат к Тх - или Тц-лимфоцитам I.

Какое значение in vivo имеют цитотоксические ответные реакции, обнаруженные in vitro, J остается неясным, однако в модельных экспериментах на животных культивируемые противоопухолевые цитолитические клетки могут вызывать регрессию опухолей.

Опухоли способны многими путями избегать действия иммунного ответа

Спонтанно возникающие опухоли способны к I прогрессирующему росту со смертельным исходом для организма, следовательно во многих случаях они избегают действия иммунного ответа.1 Для объяснения этого предложены разнообразные гипотезы. Наиболее очевидное предположение состоит в том, что опухоли неиммуногенны. j Причиной неимунногенности может быть не отсутствие опухолеспецифических антигенов, а не - | достаточность их презентации на опухолевых клетках. Для индукции иммунного ответа необходимы костимулирующие факторы, которыми 1 могут служить молекулы клеточной поверхности или цитокины, секретируемые антигенпрезентирующими клетками. Обнаруженная на специализированных АПК молекула В7, как сей - I час известно, служит ключевым костимулирующим фактором; она действует путем связывания I с маркером CD28 на поверхности Т-клеток. В эксперименте презентация комплексов молекула МНС-антигенный пептид Т-клеточным рецепторам в отсутствие В7 может вызывать анергию. Давно известно, что при онкологических заболеваниях иммунные реакции у больных подавлены. Недавно при исследовании лимфоцитов периферической крови таких больных было выявлено нарушение Т-клеточной передачи сигнала; лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, в некоторых случаях могут быть энергичными. Кроме того, если клетки опухоли не несут антигенов МНС класса II, инициация Тх-клеточного ответа зависит от процессинга опухолевых антигенов специализированными АПК.

Опухолевые клетки могут также быть лишены й других молекул, например LFA-1 и LFA-3 или ICAM-1, необходимых для лимфоцитарной адгезии, либо могут экспрессировать антиадгезивные молекулы, такие как муцин. Клетки опухолей способны секретировать и иммуносупрессивные цитокины, например ФЦСв. Особо важный механизм обхода опухолями иммунного ответа - это утрата ими антигенов МНС, приводящая к неспособности презентировать пептиды опухолевых антигенов. В более чем 50% случаев опухоли утрачивают один или большее число аллелей МНС класса I, а иногда и все эти аллели.

## Иммунодиагностика

Несмотря на то что для опухолевых клеток известно лишь небольшое число присущих только им маркеров, для диагностики могут быть весьма полезны антитела к опухолеассоциированным антигенам, поскольку они позволяют выявить повышенное количество того или иного антигена или присутствие какого-либо антигена в необычном участке. Поэтому используемые для диагностики антигены необязательно должны быть опу-холеспецифическими.

In vivo Для выявления опухолей in vivo используют радиоактивно меченные антитела к опухолеассоциированным антигенам, однако этот метод часто менее чувствительней, чем современные методы компьютерной томографии или ядерного магнитного резонанса. Кроме того, иммуносцинтиграфия имеет те недостатки, что используемые антитела необходимо заново метить при исследовании каждого больного и для определения различных типов опухолей оптимальны различные антитела. Чувствительность иммуносцинтиграфии в будущем может быть повышена за счет получения рекомбинантных фрагментов высокоаффинных антител.

In vitro С помощью антител можно определять клеточное происхождение недифференцированных опухолей и выявлять микрометастазы в костном мозге, спинномозговой жидкости, лимфоидных органах и т.д. Разработаны также методы иммунологического анализа для выявления нескольких опухолеассоции-рованных антигенов в сыворотке крови. К таким антигенам относятся, например, раково-эмбрио-нальный антиген и б-фетопротеин. Повышенный уровень указанных антигенов может быть полезным диагностическим признаком, однако АФП и РЭА не ассоциированы только с каким-либо одним типом опухолей и поэтому их определение важно главным образом для контроля эффективности лечения.

## Иммунотерапия

В настоящее время значение иммунотерапии не велико.

Иммунотерапия имеет долгую историю, однако лишь в редких случаях этот метод применим как основной. Иммунолечение может быть активным или пассивным, специфическим или неспецифическим и даже комбинированным.

Активная иммунотерапия остается пока большей частью на стадии экспериментальной разработки.

Специфическая активная иммунизация В экспериментах на животных оказался до некоторой степени успешным подход, основанный на применении инактивированных опухолевых клеток для иммунизации до прививки опухоли. Намного менее удачными оказались попытки вызвать регрессию развившихся опухолей. Большие усилия были направлены на то, чтобы найти способ повышения иммуногенности опухолевых клеток, однако пока это не дало практического выхода. Новые данные - о презентации Т-клеточных эпитопов молекулами МНС и о зависимости иммунного ответа на стадии индукции от костимулирующих факторов - позволили начать разработку более рациональных подходов.

Так, в опытах на животных установлено, что трансфекция генов В7 или цитокинов, например ИЛ-2, ИЛ-4, ИФуили ГМ-КСФ, в опухолевые клетки существенно увеличивает иммуногенность этих клеток. Кроме того, путем иммунизации определенными пептидными эпитопами с применением новых адъювантов удалось индуцировать образование цитотоксических Т-лимфоцитов, способных вызывать отторжение экспериментальных опухолей. Для непосредственной иммунизации животных могут быть также использованы полученные методом генетической инженерии фрагменты ДНК, кодирующие опухолевые антигены и костимуляторные молекулы; это позволяет устранить генетические ограничения, мешающие при использовании самих опухолевых клеток для иммунизации. У животных все указанные методы могут обеспечивать защиту при последующей пересадке опухоли, но значительно менее эффективны при лечении развившихся опухолей. Таким образом, лишь немногие данные указывают на то, что специфическая активная иммунизация применима для противоопухолевой терапии у человека.

## Неспецифическая стимуляция иммунного ответа

Для этой цели используют различные агенты. У человека большинство попыток системной терапии не дает успеха, однако локальное применение противотуберкулезной вакцины - БЦЖ - может быть эффективным: введение БЦЖ в очаг поражения способно вызвать регрессию меланомы. И, кроме того, неспецифическая локальная иммунизация БЦЖ эффективна при опухолях мочевого пузыря.

Иммунизация против онкогенных вирусов Поскольку все больше данных указывает на роль вирусов в развитии некоторых онкологических заболеваний у человека, наиболее перспективным направлением иммунизации может быть предотвращение инфекций, вызываемых потенциально онкогенными возбудителями. Массовая иммунизация против гепатита В несомненно уменьшит частоту возникновения первичного рака печени. Возможна вакцинация людей определенной группы риска против вирусов папилломы, вируса Т-клеточного лейкоза человека и вируса Эп-штейна-Барр.

Пассивная иммунотерапия моноклональными антителами имеет некоторые перспективы, но с ограничениями.

На раннем этапе исследований был сделан ряд попыток применить пассивную иммунотерапию поликлональной антисывороткой, но они остались без продолжения из-за трудности получения специфичных антител в высоких титрах. Возможно, эти проблемы поможет решить гибриломная технология получения моноклональных антител. Хотя специфические опухолевые антигены пока не обнаружены, все же выявлена повышенная экспрессия определенных антигенов на клетках некоторых опухолей, что открывает путь для терапии с помощью мАт, поскольку повреждение нормальных клеток организма, несущих те же антигены, может быть при этом незначительным или отсутствовать. Моноклональные антитела могут использоваться как в виде чистых препаратов, так и в конъюгированной форме - с лекарственными средствами, пролекарствами, токсинами, цитокинами или изотопами. Однако имеется целый ряд ограничений для применения антител с терапевтической целью.

• Как правило, антитела слабо проникают в массивные опухоли. Теоретически это возможно преодолеть, применяя молекулы меньших размеров, но сохраняющие способность специфического связывания антигена, например Fab'-фрагменты, или специально сконструированные однодоменные антитела. Другой подход состоит в том, чтобы направлять терапевтическое воздействие на эндотелий кровеносных сосудов, снабжающих опухоль.

• Антитела связываются другими клетками, в том числе нормальными клетками, экспрессирующими антиген-мишень. Возможно и неспецифическое связывание антител клетками, имеющими Fc-рецепторы или рецепторы для углеводных компонентов иммуноглобулинов. Частично эти проблемы можно решить путем химической модификации антител или их изменения методом генетической инженерии. Предотвратить связывание антител нормальными клетками можно было бы и путем применения биспецифичных антител, т.е. направленных сразу к двум различным антигенам, одновременно экспрессируемым на опухолевых клетках, при том что только один из них присутствует на нормальных клетках.

• Антитела обладают иммуногенностью и могут быть "атакованы" иммунной системой. Поэтому химерные, или гибридные, антитела, т.е. содержащие участки иммуноглобулинов человека, способны индуцировать антиидиотипический иммунный ответ. Эту проблему возможно устранить путем проведения последовательных курсов лечения различными мАт.

Несмотря на перечисленные трудности, уже получены некоторые обнадеживающие результаты. В исследовании, проведенном по методу случайной выборки, мАт были использованы для лечения рака толстой кишки после хирургического удаления первичной опухоли. Мишенью терапии были микрометастазы, что исключало проблемы, связанные со слабым проникновением мАт в массу опухоли. Такое лечение существенно продлевало жизнь больных. Определенные перспективы обнаруживает и применение радиоактивно меченных антител к В-клеткам в случае лимфом, устойчивых к традиционным методам лечения.

Антитела могут быть также использованы in vitro - либо для очистки костного мозга от опухолевых клеток с его последующей аутотрансплантацией, либо для удаления Т-клеток с целью предотвращения реакции "трансплантат против хозяина" при аллотрансплантации.

В последние годы сконструированы библиотеки генов вариабельной области Ig человека, встроенных в рекомбинантные бактериофаги нитевидной формы, которые экспонируют Ig на своей поверхности. Благодаря этому можно отбирать высокоаффинные антитела к любому данному антигену и уже получены антитела ко многим антигенам клеточной поверхности, так что описанная технология, вполне вероятно, обеспечит получение терапевтически эффективных антител второго поколения, направленных к опухолеассоциированным молекулам.

Результаты пассивной иммунотерапии с помощью лимфоцитов неоднозначны

Культивируемые in vitro мононуклеарные клетки периферической крови человека в присутствии ИЛ-2 приобретают высокую цитотоксическую активность к широкому спектру опухолевых мишеней, большая часть которых устойчива к свежевыделенным НК-клеткам. Начальные эксперименты на животных и человеке, в которых такие лимфокинактивированные киллерные клетки реинфузировали больным, дали хорошие результаты, особенно при одновременном введении ИЛ-2. Однако в клинических испытаниях результаты менее обнадеживающие, причем применение в высоких дозах ИЛ-2 вызывает существенный токсический эффект. По-видимому, лишь небольшое количество ЛАК локализуется в опухолях, и это может служить одной из причин слабого эффекта подобного лечения. Для повышения его эффективности применяют биспецифичные моноклональные антитела. Один антигенсвязывающий участок таких антител специфичен к опухолевой молекуле, а другой - к поверхностным маркерам эффекторных клеток, например CD3 на Тц-клетках или CD16 на НК-клетках. Теоретически данные антитела должны способствовать локализации ЛАК на поверхности опухоли. Описанные подходы дают эффект in vitro, однако in vivo их эффективность менее очевидна.

Для реинфузии используют также культуры Т-клеток, экстрагированных из участков опухолей и выращиваемых в присутствии ИЛ-2. В некоторых случаях такие культивируемые Т-клетки обнаруживают относительную специфичность к опухоли, из которой они были выделены. В экспериментах на животных четко установлено, что опухолеспецифичные цйтотоксические Т-клетки способны вызывать быструю регрессию опухоли. Токсичность инфильтрирующих опухоль лимфоцитов может быть повышена путем трансфекции в них генов, кодирующих тот или иной цитокин. Однако реальную эффективность подобных стратегий в применении к человеку еще только предстоит выяснять. В то же время с терапевтической целью уже применяют ВЭБ-специфичные Тц-клетки, культивируемые в присутствии ИЛ-2; их вводят больным, у которых образовались лимфомы после трансплантации костного мозга. В результате такой терапии происходит ремиссия опухолей. Мишенями при этом служат сильные антигены ВЭБ. Предполагается исследовать эффективность такого подхода в отношении распространенных эпителиальных злокачественных новообразований.

Регрессию опухолей может вызывать пассивная иммунотерапия с применением цитокинов.

Для терапии опухолей используются многие цитокины, препараты которых получены на основе клонированных генов. Успехи в этой области пока ограниченные, тем не менее установлено, что ЙєЦг способен обеспечивать длительную ремиссию волосатоклеточного лейкоза, а ИЛ-2 эффективен при некоторых типах меланом и раке почки. Имеются также перспективные результаты терапии перитонеальных опухолей яичников с помощью ЗЦг и ФНОос. Возможно, однако, что цитокины пока используются несоответствующим образом. Обычно их применяют по аналогии с питотоксическими препаратами, т.е. в предельно допустимых дозах. Вместе с тем последние данные по лечению злокачественных опухолей головы и шеи позволяют предполагать, что не менее, если не более эффективными могут быть меньшие дозы, в которых цитокины будут давать значительно меньше побочных эффектов.

Некоторые цитокины обнаруживают полезные эффекты для поддерживающей терапии. Например, колониестимулирующие факторы способны уменьшать период аплазии после трансплантации костного мозга или цитотоксической терапии, а эритропоэтин ослабляет анемию.