

# КЛИНИЧЕСКАЯ БИОТЕРАПИЯ

## PERSPECTIVES OF THE ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY OF RADICALLY TREATED GASTRIC CANCER

*M.V. Kiselevsky, K.S. Titov, M.D. Ter-Ovanesov  
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*

### ABSTRACT

In present time surgical resection still remains the only potential curative therapy in gastric cancer patients. Except the patients should receive post-surgical chemotherapy for treatment of residual tumor or metastasis. Splenectomy is often performed to facilitate the extended lymphadenectomy, but the possibility of the negative impact of splenectomy has been questioned in several studies. One of the perspective methods of the treatment of gastric cancer patients in the post-operative period is adaptive IL-2/LAK immunotherapy.

## ПЕРСПЕКТИВЫ АДАПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ РАДИКАЛЬНО ОПЕРИРОВАННОГО РАКА ЖЕЛУДКА

*М.В. Киселевский, К.С. Титов, М.Д. Тер-Ованесов  
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН*

### РЕЗЮМЕ

В настоящее время основным методом лечения больных раком желудка I-III ст. является хирургический: гастроспленэктомия с лимфодиссекцией в объеме D2. У этих больных развиваются выраженные и длительные явления иммунодефицита, которые повышают риск развития инфекционных послеоперационных осложнений и раннего рецидива заболевания. Одним из перспективных методов лечения рака желудка после радикальных операций является адоптивная интерлекин-2/ЛАК терапия, целью которой является нормализация иммунного статуса и продление времени безрецидивного периода жизни больных.

**Введение.** Несмотря на довольно устойчивую тенденцию снижения заболеваемости раком желудка (РЖ) во многих странах [8], проблема лечения этого вида злокачественных новообразований до настоящего времени остается, несомненно, весьма актуальной.

Подтверждением этому служит тот факт, что ежегодная заболеваемость раком желудка составляет более 1 млн. человек [7]. Так, например, в Японии до сих пор отмечается рост заболеваемости раком желудка [16]. Кроме того, также высокие показатели регистрируются в Китае, Белоруссии, Эстонии, Латвии и Новой Зеландии. В подавляющем большинстве стран заболеваемость РЖ мужчин в 2 раза выше, чем у женщин. Так по некоторым данным, [6] максимальный уровень заболеваемости РЖ отмечен у мужчин Японии (114,7 на 100 тыс.), а минимальный у белых женщин США (3,1 на 100 тыс.).

Россия по-прежнему относится к странам с высокими показателями заболеваемости раком желудка. В структуре онкологической заболеваемости и смертности России РЖ занимает второе место после рака легкого. Ежегодно фиксируется более 55 тысяч человек заболевших злокачественными опухолями этой локализации [8]. В среднем по стране этот показатель составил 38 человек на 100 тыс. жителей и остается относительно стабильным [6].

**Современные подходы к хирургическому лечению РЖ.** Хирургический метод прочно занимает лидирующее место в лечении РЖ [10] и на сегодняшний день является "золотым стандартом" [4]. Так из 17229 больных лечившихся в России в течение года по поводу этого заболевания 81,4% получали хирургическое лечение [8]. Радикальное хирургическое вмешательство по поводу РЖ предусматривает выполнение адекватного объема операции. Следует отметить, что необходимым условием радикальности является удаление не только пораженного органа, но и моноблочное удаление всех зон регионарного метастазирования. Эта позиция обоснована тем, что РЖ характеризуется ранним лимфогенным метастазированием в регионарные лимфатические узлы даже при прорастании опухоли в подслизистый слой. Частота метастазирования в регионарные лимфоколлекторы при раннем раке желудка, т.е. при опухолях с прорастанием лишь слизисто-подслизистого слоя составляет до 15%, что в первую очередь определяется типом роста опухоли. Кроме того, данный тип злокачественных новообразований зачастую характеризуется нарушением этапности лимфогенного метастазирования с возникновением так называемых "прыгающих метастазов". При этом возможно поражение более отдаленных лимфоузлов при интактности ближайших.

За последние десятилетия все большее число авто-

ров включают в стандарт лечения рака желудка лимфодиссекцию, как эффективный инструмент повышения радикальности выполняемых операций и, связанного с этим, улучшения результатов лечения. По данным ряда авторов, расширенная лимфодиссекция позволяет улучшить 5-летнюю выживаемость в 2 - 2,5 раза, по сравнению с вмешательствами, включающими лишь удаление перигастральных лимфатических узлов, так как воздействует на один из наиболее важных факторов прогноза – регионарное лимфогенное метастазирование [5, 10].

Понятие превентивной расширенной лимфодиссекции было впервые введено при хирургическом лечении рака желудка для обозначения операций, сопровождавшихся плановым удалением всех возможных зон регионарного метастазирования. Следует акцентировать внимание, что термин “лимфодиссекция” являясь более емким, нежели термин “лимфаденэктомия”, включает моноблочное удаление не только лимфатических узлов, но и всего лимфатического аппарата (лимфатических сосудов и окружающей жировой клетчаткой) в пределах фасциальных футляров. Именно это положение, обоснованное временем и опытом, является теоретической предпосылкой возможности выполнения радикальной операции при раке желудка, путем удаления первичного очага с зонами возможного регионарного лимфогенного метастазирования.

В настоящее время на основании работ Японской ассоциации по изучению РЖ (JCCA, 1998) [15] детально описаны 16 групп регионарных лимфатических узлов, формирующих три этапа метастазирования от различных отделов желудка - N1 до N3. На основании классификации с учетом результатов выживаемости вовлечение лимфоколлекторов N1-N2 рассматривается как регионарное метастазирование, тогда как вовлечение лимфатических узлов N3 как отдаленное метастазирование. Согласно данной классификации вариант лимфодиссекции (D1, D2 или D3) рассматривается с точки зрения расположения наиболее удаленного этапа метастазирования (при удалении N1- лимфодиссекция D1, при N2-D2, при N3-D3 соответственно). Ряд исследователей обращают внимание на так называемый феномен миграции стадий при вмешательствах сопровождающихся расширенной лимфодиссекцией (феномен Will – Rogers), который отражает одну из основных задач расширенной лимфодиссекции – адекватное стадирование местной распространенности процесса. При этом происходит миграция части пациентов в группы с большей стадией заболевания, что в свою очередь делает группы пациентов внутри каждой стадии более гомогенными. Следует учитывать, что если Западная хирургическая школа рассматривает расширенную лимфодиссекцию лишь как способ оптимизации стадирования, то большинство Японских исследователей оценивают данный прием как эффективный метод воздействия на основной субстрат развития локо-регионарного рецидива – регионарные лимфатические узлы [4, 5] при радикальных вмешательствах по поводу рака желудка. С другой стороны вмешательства, сопровождающиеся удалением лишь перигастрального лимфоколлектора рассматривается как редуцированный объем и могут быть применены как паллиативный вариант [9]. К расширенным операциям (D3) следует относить вмешательства с удалением лимфоколлекторов расположенных в гепатодуоденаль-

ной связке, ретропанкреатодуоденальные и парааортальные лимфоколлекторы. Окончательно на сегодняшний день показания к расширенным операциям не определены.

**Химиолучевая терапия РЖ.** У больных РЖ I-III стадии, как правило, химиотерапия в неoadъювантном и адъювантном режимах не выполняется. Применяемая химиотерапия при РЖ IV стадии малозффективна [3]. Б.А.Бердовым и соавторами [1] выполняется интраоперационная интраперитонеальная лучевая терапия зон регионарного лимфооттока желудка при раке. Объективных данных, свидетельствующих о существенном повышении выживаемости, у этой группы больных нет.

**Иммунотерапия РЖ.** Резюмируя выше сказанное следует заключить, что на сегодняшний день основным при лечении РЖ остается хирургический метод, включающий в себя выполнение лимфодиссекции в объеме D2 (элементом ее является спленэктомия). Вместе с тем удаление значительного объема лимфоидной ткани (25% которой находится в селезенке) приводит к выраженному, длительному и плохо регулируемому иммунодефициту. Как показано японскими авторами [15], и подтверждено данным РОНЦ, у больных РЖ после радикальной операции со спленэктомией отмечается существенное снижение содержание Т-лимфоцитов (главным образом за счет Т-хелперов) и уровня иммуноглобулинов. По нашим данным у этой группы больных также отмечается снижение продукции интерферона- $\alpha$ . У больных до радикальной операции показатели уровня субпопуляций лимфоцитов и иммуноглобулинов находятся в пределах физиологической нормы. В то же время через 3 месяца после операции рассматриваемые показатели существенно снижаются, в особенности Т-лимфоциты (37,5%), Т-хелперы/индукторы (8,5%), регуляторный индекс (0,34) и иммуноглобулин М (90 МЕ/мл). Из вышеприведенного примера видно, что иммунодефицит, который, как правило, развивается на 2-3 месяц после хирургического лечения, является причиной увеличения инфекционных осложнений в послеоперационном периоде и, по мнению ряда авторитетных исследователей, оказывает отрицательное влияние на продолжительность безрецидивного периода и повышение риска метастазирования у данной категории больных [12, 15, 17, 18].

Таким образом, возникает дилемма: с одной стороны у больных РЖ необходимо проводить адекватную лимфодиссекцию, а с другой удаление значительных объемов лимфоидной ткани приводит к выраженному иммунодефициту, что, в конечном счете, снижает продолжительность жизни этих больных.

Эта проблема до настоящего времени остается нерешенной. В иностранной литературе имеются нереализованные в онкологии предложения по аутотрансплантации селезенки. Эти методы применяются в общехирургической практике при повреждениях селезенки в результате травмы и заключаются в аутотрансплантации ее фрагментов в карман большого сальника под контролем иммунологических показателей [2]. В хирургии РЖ использовать этот опыт чрезвычайно затруднительно из-за широкого удаления первичного органа с большим и малым сальниками. Имеются сведения о попытке разработки методов адаптивной иммунотерапии после радикальной операции у этой категории онкологических больных [11], однако в научной литературе конкретных данных не приводится. Вместе с тем японскими учеными опубликованы материалы свидетельствующие, об эффективности адаптивной иммунотерапии интерлейлином-2 (ИЛ-2) и лимфокин акти-

вированными киллерами (ЛАК-клетками), полученными путем экстракорпоральной активацией аутолимфоцитов у больных раком легкого после радикальных и условно-радикальных операций. Проведение в течение 2-х лет (в этот период риск прогрессирования опухоли значительно повышен) повторных курсов (с интервалом 2-3 месяца) иммунотерапии достоверно повысило 5-ти и 9-ти летнюю выживаемость с 33% и 24% до 54% и 52% соответственно [13, 14]. На основе этого исследования в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН утвержден протокол клинического исследования адъювантной адоптивной иммунотерапии радикально оперированных больных раком желудка. Оригинальность данной разработки состоит в том, что больным будут внутривенно вводиться ЛАК-клетки, полученные из лимфоцитов селезенки, которую удаляют во время операции. Сепарированную взвесь спленоцитов дважды отмывают культуральной средой RPMI-1640 и выделяют мононуклеарные клетки (МНК) центрифугированием в градиенте плотности (1500 об/мин в течение 30-40 мин). Полученные МНК ресуспендируют в полной культуральной среде и используют для генерации ЛАК, которые подвергают криоконсервации по 500 тыс./мл и используют при последующих курсах иммунотерапии. Для генерации ЛАК МНК, выделенные из селезенки больного, помещают в культуральную среду, где и инкубируют с ИЛ-2 (1000 МЕ/мл) по стандартной технологии в одноразовых пластиковых флаконах в концентрации 2 млн/мл в течение 2-5 суток (генерация ЛАК) в СО<sub>2</sub>-инкубаторе. Перед введением ЛАК проводится цитологический и бактериологический контроль, а также анализ противоопухолевой активности (цитотоксичности) ЛАК на клеточной линии К-562 и аутологичных опухолевых клетках. ЛАК-терапия сочетается с введением ИЛ-2. С учетом наших данных о снижении интерферонового статуса у этих больных, в схему лечения могут быть включены по показаниям индукторы интерферона-а (неовир, циклоферон). Данная иммунотерапия проводится под контролем иммунологического мониторинга (определение субпопуляций лимфоцитов, иммуноглобулинового, цитокинового, и интерферонового статусов).

Таким образом, можно сделать вывод, что на сегодняшний день основным лечением РЖ I-III ст. остается хирургический метод: гастрэктомия в объеме D2 (элементом, которой является спленэктомия). Понятно, что удаление значительной части лимфоидной ткани (лимфоколлекторы, селезенка) приводит к выраженному и длительному иммунодефициту, который в свою очередь повышает риск послеоперационных инфекционных осложнений и сокращает безрецидивный период жизни. Предложенная авторами методика позволяет получать ЛАК-клетки из МНК селезенки, удаленной во время операции, подвергать их криоконсервации для проведения 8 курсов адаптивной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии для восстановления клеточного и гуморального иммунитета, (в том числе и противоопухолевого иммунитета), с целью увеличения продолжительности и качества жизни данной категории больных.

Наиболее перспективным направлением в адоптивной иммунотерапии радикально оперированного рака желудка является разработка методов сочетанной активации как неспецифического так и специфического противоопухолевого иммунитета посредством создания противоопухолевых аутовакцин на основе дендритных клеток, которые также можно получать из удаленной селезенки.

**Выводы.** 1. Хирургический метод является основ-

ным в лечении больных раком желудка I-III ст.

2. Гастрэктомия с лимфодиссекцией в объеме D2 (элементом которой является спленэктомия) приводит к явлениям иммунодефицита, следствием чего может быть повышения риска послеоперационных инфекционных осложнений и раннего локо-регионарного рецидива.

3. Селезенка, удаленная во время операции является источником для получения ЛАК-клеток.

4. Адоптивная ИЛ-2/ЛАК иммунотерапия больных раком желудка после радикальных операций может привести к нормализации показателей иммунного статуса и увеличению безрецидивного периода жизни.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бердов Б.А., Скоропад В.Ю., Пахоменко К.В., Хичева Г.А. Комбинированное лечение рака желудка с предоперационным и интраоперационным облучением. // Практическая онкология. Рак желудка, 2001, № 3, С. 35-43.
2. Бордуновский В.Н. Сберегательная хирургия при повреждениях и очаговых образованиях селезенки. // Хирургия. - М., 1999, № 6, С. 38-42.
3. Ван де Вельде К. Хирургическое и лекарственное лечение операбельного рака желудка: результаты двух рандомизированных исследований Голландской группы по раку желудка. Материалы 2-й ежегодной Российской международной конференции. - М., 1999, С. 43-44.
4. Давыдов М.И., Тер-Ованесов М.Д., Абдихакимов А.Н., Марчук В.А. Рак желудка: что определяет стандарты хирургического лечения. // Практическая онкология. Рак желудка, 2001, № 3, С. 18-24.
5. Давыдов М.И., Тер-Ованесов М.Д. Современная стратегия хирургического лечения рака желудка. // Современная онкология, 2000, 2, № 1, С. 4-12.
6. Международная Ассоциация по Изучению Рака. "Рак на 5 континентах", конференция ВОЗ по раку желудка 2001г.
7. Мерабишвили В.М. Рак желудка: эпидемиология, профилактика, оценка эффективности лечения на популяционном уровне. // Практическая онкология. Рак желудка, 2000, № 3, С. 3-8.
8. Чиссов В.И. Злокачественные новообразования в российской Федерации в 1993 г. // Сборник статистических материалов. - М., 1995.
9. Aiko T., Sasako M. For General Rules Committee of the Japanese Gastric Cancer Association. The new Japanese classification of Gastric Carcinoma: points to be revised. // Gastric Cancer, 1998, P. 25-30.
10. Gunderson L.L. Gastric cancer // Cancer Conference 12<sup>th</sup> Asia Pacific, 1995, P. 17-20.
11. Jiang R., Wang M., Yang J.-L. Clinical significance of addition of adjuvant immunotherapy to conventional therapeutic management of gastric cancer. // Progress in Gastric Cancer Research, 1997, 2, P. 1593-1596.
12. Kama N.A., Avsar F.M., Doganay M., Yazgan and Akat A.Z. Effect of splenectomy on morbidity and survival following gastrectomy for gastric adenocarcinoma. // Progress in Gastric Cancer Research, 1997, 2, P. 983-990.
13. Kimura H., Yamaguchi Y. Survival of noncuratively resected lung cancer. // Lung Cancer, 1994, 11, P. 229-242.
14. Kimura H., Yamaguchi Y. Adjuvant chemo-immunotherapy after curative resection of Stage II and IIIA primary lung cancer. // Lung Cancer, 1996, 14, P. 301-304.
15. Okunao K., Tanaka A., Shigeoka H. et al. Suppression of T-cell function in gastric cancer patients after total gastrectomy with splenectomy: implication of splenic autotransplantation. // Gastric Cancer, 1999, 2, P. 20-25.
16. Onitski K., Miaskowski C. Mechanisms and management of Gastric cancer // Cancer Nursing, 1996, 19, № 3, P. 187-196.
17. Safdar A., Amnstrong D. Infectious morbidity in critically ill patients with cancer. // Gastrointestinal Endoscopy, 2000, 52, P. 321-332.
18. Wanevo H.J., Kenedi B.J., Winchester D.P and Stewart A.K. Role of splenectomy in gastric cancer surgery. Adverse effect of elective splenectomy on long-term survival. // Progress in Gastric Cancer Research, 1997, 2, P. 979-982.