

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов, 1997
УДК 616.5-006.81-089:615.3

Л. В. Демидов, И. Г. Богуш, А. В. Ившина,
Т. Н. Заботина, З. Г. Кадагидзе

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ИММУНОТЕРАПИЯ РЕКОМБИНАНТНЫМ РЕАФЕРОНОМ У БОЛЬНЫХ С МЕЛАНОМОЙ КОЖИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

НИИ клинической онкологии

Меланома кожи относится к злокачественным опухолям, заболеваемость которыми имеет тенденцию роста за последнее десятилетие. Течение и прогноз при данной опухоли наиболее неблагоприятные и трудно прогнозируемые.

Меланома кожи принадлежит к группе опухолей, рефрактерных к химиотерапии. Наиболее эффективные при этой патологии химиотерапевтические препараты, такие, как имидазолкарбоксамид (DTIC), производные платины и мочевины, способны вызвать регрессию метастазов, как правило частичную, не чаще чем в 15—25% случаев [7, 8]. Применение профилактической химиотерапии, направленной на подавление роста микрометастазов после удаления первичной опухоли у больных с меланомой кожи с высоким прогностическим риском метастазирования, до сегодняшнего дня остается неразрешенной проблемой [4].

Многочисленными клиническими исследованиями было установлено, что интерферон обладает несомненной чувствительностью по меньшей мере к двум формам солидных опухолей — меланоме кожи и раку почки и его эффективность при меланоме кожи сравнима с эффективностью наиболее часто используемых схем химиотерапии [5, 7].

Биологическая активность α -интерферона характеризуется несколькими механизмами его действия: 1) нарушением деления клетки на стадии G_1 клеточного цикла; 2) приобретением незрелыми иммунокомпетентными клетками способности к более быстрому созреванию; 3) активацией естественных киллеров (НК-клеток); 4) изменением соотношения субпопуляций Т-клеток в пользу Т-хелперов за счет снижения числа Т-супрессорных клеток. На экспериментальных моделях было показано, что все эти свойства интерферонов, в том числе рекомбинантных, могут быть реализованы

CLINICAL INVESTIGATIONS

L. V. Demidov, I. G. Bogush, A. V. Ivshina,
T. N. Zabolina, Z. G. Kadagidze

PROPHYLACTIC IMMUNOTHERAPY WITH RECOMBINANT REAFERON IN CUTANEOUS MELANOMA PATIENTS AFTER SURGERY

Research Institute of Clinical Oncology

Cutaneous melanoma belongs to malignancies demonstrating a rise in incidence over the last decade. The course and prognosis of the disease are poor.

Cutaneous melanoma is refractory to chemotherapy. The most efficient chemotherapeutics, such as imidazole carboxamide (DTIC), platinum and urea compounds, may induce metastasis regression (as a rule partial) in not more than 15-25% of the cases [7, 8]. Prophylactic chemotherapy for prevention of micrometastasis after dissection of the primary in cutaneous melanoma patients with a high prognostic risk of metastasis development is an outstanding problem so far [4].

Numerous clinical trials showed interferon to be active in at least two solid tumors, i.e. cutaneous melanoma and renal carcinoma, the drug efficiency in melanoma being compatible with that of most common chemotherapy schedules [5, 7].

Several mechanisms of action account for the alpha-interferon biological activity: 1) inhibition of cell division in the G_1 stage; 2) accelerated maturation of immature immunocompetent cells; 3) stimulation of natural killers (NK-cells); 4) the shift in the ratio of T-cell subpopulations in favor of T-helpers due to reduction in T-suppressors. Experimental studies demonstrated that all these properties of interferons (including recombinant) may be utilized in long-term therapy at adequate immunocorrective dosage [2, 3, 6].

The purpose of this study was to evaluate immunological and clinical results of adjuvant immunotherapy with alpha-2A-referon in long-term therapy of patients with cutaneous melanoma at a high risk of metastasis development.

Materials and Methods. The study was performed in 66 patients managed at the Surgery Department of the CRC RAMS during 1991-1993 (27 males and 39 females; 35 under 50, 31 above 50). The melanoma sites were the body in 37 and the limbs in 29 patients.

Criteria of inclusion in the test and control groups were: 1) degree

и при условии его длительного воздействия на организм в адекватных иммунокорректирующих дозах [2, 3, 6].

В связи с этим мы поставили перед собой задачу оценить непосредственные иммунологические и клинические результаты адъювантной иммунотерапии α_{2A} -реафероном в режиме длительного использования у больных с меланомой кожи с высоким риском метастазирования.

Материалы и методы. Обследовали 66 пациентов, которые получали лечение в отделении хирургии общей онкологии ОНЦ РАМН с 1991 по 1993 г. (27 мужчин и 39 женщин; 35 больных до 50 лет, 31 — старше 50 лет). Опухоль локализовалась на туловище у 37, на конечностях у 29.

Критериями отбора в опытную контрольную группы послужили:

- 1) уровень инвазии первичной опухоли ≥ 3 , толщина опухоли ≥ 3 мм;
- 2) меланома туловища и конечностей; 3) отсутствие метастазов;
- 4) ранее нелеченные больные; 5) возраст больных не старше 60 лет;
- 6) отсутствие аллергических реакций на лекарственные препараты (включая интерферон и другие биологически активные вещества);
- 7) отсутствие грубой сопутствующей патологии; 8) проживание в Москве и Московской области. Выбор больных осуществлялся методом слепой рандомизации.

Больные были разделены на 2 группы: 39 пациентам (контрольная группа) проведено только хирургическое лечение, 27 больным (опытная группа) проводилась адъювантная иммунотерапия α_{2A} -реафероном в течение 3 мес.

Для проведения адъювантной иммунотерапии использовали рекомбинантный α_{2A} -интерферон отечественного производства, который по своим свойствам идентичен человеческому лейкоцитарному α -интерферону [1].

По заживлению операционной раны (в сроки до 1 мес) реаферон вводили подкожно в дозе 1 млн МЕ 3 раза в неделю. Каждый больной вел запись побочных явлений препарата в дни инъекций реаферона, которые в последующем суммировали и оценивали. Таким образом, за 3 мес лечения больные суммарно получили 36 млн МЕ реаферона.

В процессе иммунотерапии у больных определяли иммунофенотип лимфоцитов периферической крови. Иммунологические исследования выполняли в лаборатории клинической радиоиммунологии ОНЦ РАМН. Контролем при иммунологических исследованиях послужили показатели 35 практически здоровых доноров.

Исходя из поставленных задач, на первом этапе исследования мы оценивали показатели иммунитета больных меланомой до проведения иммунотерапии. Полученные результаты представлены в табл. 1.

Результаты и обсуждение. Как видно из табл. 1, у больных с меланомой кожи имеется ряд изменений показателей иммунитета. Так, в сравнении с показателями здоровых доноров выявлено снижение показателей Т-лимфоцитов и их субпопуляций — Т-хелперов, активированных лимфоцитов, несущих антигены CD38, CD45RA, линейно неограниченных лимфоцитов, несущих антиген CD45, увеличение В-лимфоцитов, экспрессирующих поверхностный IgM, и лимфоцитов, экспрессирующих рецептор к интерлейкину-2 (ИЛ-2).

Оценивая влияние реаферона на показатели иммунитета больных с меланомой кожи в процессе длительной иммунотерапии, мы получили данные, которые представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, у больных с меланомой кожи в процессе иммунотерапии отмечается тенденция к нормализации показателей; увеличивается содержание Т-хелперов и лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD45RA и CD38. В два раза возрастает содержание активированных лимфоцитов, несущих на своей мем-

Таблица 1

Table 1

Иммунофенотип лимфоцитов периферической крови больных меланомой кожи до проведения иммунотерапии (исходный иммунологический статус)
Immunophenotype of peripheral lymphocytes in patients with cutaneous melanoma before immunotherapy (baseline immunity status)

Антиген	Содержание, %	Доноры	Больные
slgM	В-лимфоциты B-lymphocytes	5,4 ± 0,9	10,9 ± 1,1*
CD3	Т-лимфоциты T-lymphocytes	67,0 ± 2,4	60,2 ± 1,6*
CD4	Т-хелперы T-helpers	38,9 ± 1,5	35,0 ± 1,2
CD8	Т-супрессоры T-suppressors	28,0 ± 1,8	26,4 ± 1,2
CD38	Активированные лимфоциты Activated lymphocytes	38,0 ± 3,1	23,9 ± 1,9*
CD45RA		56,0 ± 4,9	21,0 ± 2,9*
CD25	Лимфоциты, несущие рецептор к ИЛ-2 IL-2 receptor carrying lymphocytes	3,0 ± 1,5	6,8 ± 2,4*
CD45	Линейно неограниченные лимфоциты linearly nonrestricted lymphocytes	95,0 ± 3,1	86,4 ± 4,0*
Antigen	Percentage	Donors	Patients

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочка означает, что различия между показателями достоверны ($p \leq 0,05$) с вероятностью 95%.
Note. Here and in table 2 the differences are statistically significant ($p \leq 0,05$), probability 95%.

of invasion of the primary 3, tumor thickness 3 mm; 2) melanoma of the body and limbs; 3) no metastases; 4) no history of previous treatment; 5) age under 60; 6) no allergic reactions to drugs (including interferon and other biologically active drugs); 7) no severe concurrent pathology; 8) residence in Moscow and Moscow region. Patients entered into this study were randomized into two groups: 39 patients (control) received surgery alone, 27 patients (test) received adjuvant alpha-2A-referon immunotherapy for 3 months.

The adjuvant immunotherapy was performed with recombinant alpha-2A-interferon of home production identical by activity to human leukocyte alpha-interferon [1].

On healing of the operative wound (within 1 month) reaferon was administered subcutaneously at 1,000,000 IU three times a week. Every patient was recording side effects on days of reaferon administration, the records then were summarized and analyzed. The patients received a total reaferon dose of 36 mln IU for 3 months.

The patients' peripheral lymphocyte immunophenotype was determined during immunotherapy. The immunological tests were performed at the Laboratory of Clinical Radioimmunology of the CRC RAMS. Tests of 35 normal donors were used as control.

The melanoma patients' immunity characteristics before immunotherapy were studied at the first stage of the study. The results are summarized in table 1.

Results and Discussion. Table 1 shows that patients with cutaneous melanoma had certain shifts in the immunity. As compared to normal donors there were a reduction in T-lymphocytes and their subpopulations (T-helpers), CD38- and CD45RA-carrying activated lymphocytes, CD45-carrying linearly nonrestricted lymphocytes, an increase in B-lymphocytes expressing surface IgM and lymphocytes with interleukin-2 (IL-2) receptors.

бране рецептор к ИЛ-2. Эти эффекты в основном сохраняются и через 3 мес лечения интерфероном.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о положительном влиянии длительной иммунотерапии на показатели больных с меланомой кожи I стадии.

При оценке переносимости α_{2A} -реаферона в режиме длительного использования нами отмечено, что наиболее частым и выраженным побочным действием было повышение температуры тела у больных в первый месяц лечения (80%). На втором месте по частоте и выраженности — действие на кожу, которое проявлялось эритемой в месте инъекций препарата (45%). Гематологических, желудочно-кишечных, сердечно-сосудистых расстройств нами не отмечено. В целом удовлетворительная переносимость α_{2A} -реаферона не препятствует длительной терапии этим препаратом.

На втором этапе исследования мы оценивали сроки и частоту регионарного и отдаленного метастазирования у больных, получающих адъювантную иммунотерапию реафероном. Срок наблюдения составил 24 мес.

Из 27 больных (PT3—T4N0M0) опытной группы, получавших иммунотерапию, в течение 3 мес у 6 (22%) пациентов регионарные метастазы появились в сроки от 5 до 15 мес (в среднем 8,5 мес), причем у 2 из 6 через один год после лечения, минуя стадию регионарного метастазирования, были диагностированы гематогенные метастазы в висцеральные органы. У 15 (38,4%) из 39 больных (PT3—T4N0M0) контрольной группы метастазы появились в сроки от 3 до 12 мес (в среднем 6,1 мес).

Таким образом, полученные нами предварительные результаты позволяют сделать вывод, что в результате проведенной адъювантной иммунотерапии нормализуются ранее сниженные иммунологические показатели больных с меланомой кожи I стадии, увеличиваются сроки последующего безметастатического периода. Окончательный вывод об эффективности применения реаферона, использованного с целью профилактики метастазов у больных меланомой, может быть сделан после оценки отдаленных результатов лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Андропова Т. М. Синтетические иммуномодуляторы. — М., 1991.
2. Мусатов В. К. // Актуальные вопросы иммунотерапии опухолей. — Рига, 1988. — Ч. 2. — С. 26—27.
3. Bebardelli F., Gresser I., Maunorrry M. T. // Cancer. — 1982. — Vol. 30. — P. 813.
4. Casinelli N., Bajetta E., Santiami M. Adjuvant therapy: has it a role? — / Cutaneous melanoma. Status of knowledge and Future Perspective. — London, 1987. — P. 563—573.
5. Dorval T., Jouve M. et al. // Cancer. — 1986. — Vol. 58. — P. 215.
6. Ernstom M. S., Fusi S., Kirkwood J. M. // J. biol. Resp. — 1983. — Vol. 14. — P.528—539.
7. Kirkwood J. M. // J. invest. Derm. 1991. — Vol. 13. — P. 363—375.
8. Kokoscha E. M., Trautinger F., Knobler R.M. et al // Ibid. — 1990. — Vol. 15. — P.193—197.

Поступила 14.02.95 / Submitted 14.02.95

Таблица 2

Table 2

Показатели иммунитета больных с меланомой в процессе иммунотерапии
Immunity parameters in melanoma patients during immunotherapy

Антиген	Доноры	Больные с меланомой	1 мес	2 мес	3 мес
slgM	5,4 ± 0,9	10,9 ± 1,1	8,0 ± 1,5	6,1 ± 1,3	7,8 ± 1,6
CD3	67,0 ± 2,4	60,2 ± 1,6	64,4 ± 1,8	63,0 ± 2,4	62,9 ± 4,3
CD4	38,9 ± 1,5	35,0 ± 1,2	43,6 ± 1,8	36,7 ± 2,0	36,8 ± 2,9*
CD8	28,0 ± 1,8	26,4 ± 1,2	24,4 ± 3,1	26,6 ± 2,1	28,9 ± 6,1
CD38	38,0 ± 3,1	23,9 ± 1,9	28,8 ± 7,0	32,4 ± 7,8	32,8 ± 2,7*
CD45RA	56,0 ± 4,9	21,0 ± 2,9	44,3 ± 2,3	39,3 ± 2,5	40,1 ± 9,3*
CD25	3,0 ± 1,5	6,8 ± 2,4	11,9 ± 4,8	5,3 ± 0,8	3,0 ± 0,6*
CD45	95,0 ± 3,1	86,6 ± 4,0	86,7 ± 5,7	91,7 ± 6,4	69,8 ± 9,6
Antigen	Donors	Melanoma patients	1 month	2 months	3 months

Table 2 demonstrates effect of long-term reaferon immunotherapy on cutaneous melanoma patients.

As seen the cutaneous melanoma patients showed a tendency to normalization of the immunity parameters during the long-term immunotherapy as an increase in T-helpers and CD45RA- and CD38-expressing lymphocytes. There was a two-fold rise in the count of activated lymphocytes with IL-2 membrane receptors. These effects were as a rule preserved after 3-month interferon therapy.

Thus, our findings suggest that long-term immunotherapy had a good effect on patients with stage I cutaneous melanoma.

The most common and marked side effect of long-term alpha-2A-reaferon immunotherapy was hyperthermia during the first month of treatment (80% of the patients). Skin reactions as erythema at the site of injection was the second common (45%) side effect of the alpha-2A-reaferon immunotherapy. There were no hematologic, gastrointestinal or cardiovascular adverse events. The conclusion may therefore be made that tolerance of alpha-2A-reaferon was satisfactory and the drug can be recommended for long-term administration.

At the second stage of the study we assessed terms and frequency of regional and distant metastasis development in patients receiving adjuvant reaferon immunotherapy. The follow-up duration was 24 months.

Six (22%) of the 27 test group patients (PT3-4N0M0) receiving immunotherapy for 3 months developed regional metastases within 5 to 15 months (mean 8.5 months), 2 of the 6 patients developed hematogenous visceral metastases (passing the stage of regional metastasizing) within 1 year following treatment. In the control group 15 (38.4%) of 39 patients (PT3-4N0M0) developed metastases within 3-12 months of follow-up (mean 6.1 months).

Thus, the following conclusion may be made basing on our interim results. Adjuvant alpha-2A-reaferon immunotherapy resulted in normalization of previously decreased immunological parameters in patients with stage I cutaneous melanoma and prolongation of metastasis-free survival time. Final conclusion on efficacy of reaferon in prophylaxis of metastasis in melanoma patients may be made after evaluation of follow-up results.