

38. Melino G., Knight R. A., Thiele C. J. //Cancer Res. — 1993. — Vol. 53, N 4. — P. 925—928.
39. Mechttersheimer G., Moller P. //Cancer. — 1990. — Vol. 66, N 8. — P. 1732—1737.
40. Mechttersheimer G., Barth T., Ludwig R. et al. //Ibid. — 1993. — Vol. 71, N 1. — P. 237—248.
41. Mechttersheimer G., Barth T., Quentmeier A., Moller P. //Lab. Invest. — 1994. — Vol. 70, N 5. — P. 740—752.
42. Multhoff G., Botzler C., Wiesnet M. et al. //Blood. — 1995. — Vol. 86, N 4. — P. 1374—1382.
43. Navarro S., Cavazzana A. O., Llombart-Bosch A., Triche T. J. //Arch. Pathol. lab. Med. — 1994. — Vol. 118, N 6. — P. 608—615.
44. Nishihara K., Barth R. F., Wilkie N. et al. //Proc. Ann. Meet. Am. Assoc. Cancer Res. — 1993. — Vol. 34. — P. A2004.
45. Noguera R., Arakawa S., Navarro S. et al. //Lab. Invest. — 1990. — Vol. 62, N 1. — P. 74A.
46. Noguera R., Navarro S., Llombart-Bosch A. et al. //Ibid. — P. 6.
47. Noguera R., Navarro S., Peydro-Olaya A., Llombart-Bosch A. //Cancer. — 1994. — Vol. 73, N 3. — P. 616—624.
48. Novakovec B., Tucker N. A., Fears T. R. et al. //Proc. Ann. Meet. Am. Soc. clin. Oncol. — 1994. — Vol. 13. — P. A1573.
49. Ohno T., Ouchida M., Lee L. et al. //Oncogene. — 1994. — Vol. 9, N 10. — P. 3087—3097.
50. Perlman E. J., Dickman P. S., Askin F. B. et al. //Hum. Pathol. — 1994. — Vol. 25, N 3. — P. 304—307.
51. Pouillart P., Sastre X., Ollivier L., Tomeno B. //Rev. Prat. Paris. — 1992. — Vol. 42, N 7. — P. 835—837.
52. Ramany P., Rampling D., Link M. //Histopathology. — 1993. — Vol. 23, N 6. — P. 557—561.
53. Rettig W. J., Old L. J. //Ann. Rev. Immunol. — Ann. Rev. Inc. — 1989. — Vol. 7. — P. 481—511.
54. Riopel M., Deckman P. S., Link M. P., Perlman E. J. //Hum. Pathol. — 1994. — Vol. 25, N 4. — P. 396—399.
55. Schlossman S. F., Boumsell L., Gilks W. et al. (Eds) //Leucocyte typing V. White cell differentiation antigens. — Oxford, 1995.
56. Schmidt D., Harms D. //Klin. Päd. — 1988. — Vol. 200, N 3. — P. 236—242.
57. Schmidt D., Harms D. //Ibid. — 1990. — Vol. 202, N 4. — P. 224—229.
58. Schmidt D., Herrmann C., Jurgens H., Harms D. //Cancer. — 1991. — Vol. 68, N 10. — P. 2251—2259.
59. Shi L. R., Eichelbauer D., Borchard F. et al. //Cancer Immunol. Immunother. — 1994. — Vol. 38, N 3. — P. 208—213.
60. Shimada H., Newton W. A., Soule E. H. et al. //Hum. Pathol. — 1988. — Vol. 19, N 4. — P. 442—453.
61. Shishikura A., Ushigome S., Shimoda T. //Acta Pathol. Jap. — 1993. — Vol. 43, N 4. — P. 176—186.
62. Taylor C., Patel K., Jones T. et al. //Br. J. Cancer. — 1993. — Vol. 67, N 1. — P. 128—133.
63. Van Valen F., Hanenberg H., Jurgens H. //Eur. J. Cancer — 1994. — Vol. 30A, N 14. — P. 2119—2125.
64. Weidner N., Tjoc J. //Am. J. Surg. Pathol. — 1994. — Vol. 18, N 5. — P. 486—494.
65. Yunis E. J., Agostini R. M., Jaffe R. //Pathology of human neoplasms /Ed. H. A. Azar. — New York, 1988. — P. 487—531.

Поступила 02.12.97 / Submitted 02.12.97

© Коллектив авторов, 1998
УДК 616-006.04-085.37:612.017.1

З. Г. Кадагидзе, Т. Н. Заботина, О. В. Короткова

СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ИММУНОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

НИИ клинической онкологии

Полученные в конце 60-х годов экспериментальные и клинические данные о нарушениях иммунного ответа у онкологических больных послужили основанием для бурного развития иммунотерапии опухолей. Первые публикации на эту тему были столь оптимистичными, что создалось впечатление о появлении нового эффективного метода лечения опухолей, сообщения о клинических испытаниях буквально «затопили» научные и популярные издания. Основным методом, применявшимся в то время, была адоптивная и активная (неспецифическая и специфическая) иммунотерапия.

В 1968 г. в отделении опухолей опорно-двигательного аппарата Института экспериментальной и клинической онкологии АМН СССР под руководством Н. Н. Трапезникова впервые в СССР были проведены исследования по адоптивной иммунотерапии у больных с злокачественной меланомой кожи. Этот метод основан на данных, что неиммунные лимфоциты больного, обработанные некоторыми препаратами (метотрексат, фитогемагглютинин и др.), вызывают разрушение опухолевых клеток-мишеней. В связи с тем что основным

Z. G. Kadagidze, T. N. Zabotina, O. V. Korotkova

THE TODAY APPLICATION OF IMMUNOLOGICAL CHARACTERISTICS IN CANCER IMMUNOTHERAPY

Research Institute of Clinical Oncology

Experimental and clinical findings obtained in the sixties demonstrated disorder of immune response in cancer patients. These findings laid a basis for a dramatic rise in tumor immunotherapy. The first publications on this problem were very optimistic and made the impression of appearance of a novel efficient method of cancer treatment. Reports of the clinical trials flooded scientific and popular journals. Adoptive and active (non-specific and specific) immunotherapy were principal modalities applied at that time.

In 1968 the Department of Locomotor Tumors conducted the first in the USSR study of adoptive immunotherapy in cutaneous melanoma patients headed by N. N. Trapeznikov. This method was based on the supposition that human non-immune lymphocytes treated with certain agents (methotrexate, phytohemagglutinin, etc.) destroyed tumor target cells. Since the therapeutic effect could be achieved only with a large number of lymphocytes as compared to tumor cells, the treatment was started only in patients at high risk of recurrence after dissection of the primary or me-

условием для получения эффекта было наличие большого числа лимфоцитов относительно опухолевых клеток, лечение проводилось только больным после удаления первичного очага или метастазов, имевшим большой риск рецидива заболевания. Для проведения адоптивной иммунотерапии использовали аутологичные лимфоциты больного, полученные с помощью сепаратора крови; переливание активированных лимфоцитов проводили 1 раз в 1—1,5 мес в течение года. Профилактический курс адоптивной иммунотерапии провели 15 больным, т. е. каждый получил от 6 до 9 переливаний. Исследование иммунологического статуса выявило, что у большинства больных через 2 нед после курса лечения наблюдалось улучшение показателей клеточного иммунитета, причем особенно четко это проявилось после 2-го курса переливания активированных лимфоцитов. Через месяц, т. е. перед следующим курсом лечения, иммунологические показатели несколько снижались, но в большинстве случаев оставались выше исходного уровня [4, 5].

Иммунологические исследования выявили критерии отбора больных для использования этого метода лечения; так, он не рекомендовался больным с исходно резко сниженными показателями иммунного статуса и больным с агрессивным типом течения заболевания (рецидивы каждые 2—3 мес). Следует отметить, что эти особенности обычно выявлялись у одной и той же группы больных. Проведенные исследования не были рандомизированными, но эффективность лечения была показана, так как 6 больных, имевших в анамнезе 2—3 рецидива заболевания, жили без рецидива 6 лет и более.

Практически в это же время в этом же отделении Н. Н. Трапезников с сотрудниками проводили попытки иммунотерапии путем подсадки в подкожную клетчатку больным, оперированным по поводу рецидивов и метастазов меланомы кожи, их собственной, облученной в дозе 10 000 рад опухолевой ткани. Иммунизацию проводили в день операции или через 2—3 дня после нее, повторные курсы — через 1, 3, 6 мес. Лишь у 2 из 12 больных была получена ремиссия (1,5 и 3 года), у остальных эффект отсутствовал, в связи с чем этот метод не получил дальнейшего распространения [3].

Однако основным направлением 70-х годов была активная неспецифическая иммунотерапия; эти исследования начались с применения различных вакцин: оспенной, БЦЖ, *S. parvum*, полиомиелитной и др. Особое внимание уделялось вакцине БЦЖ, так как ее применение при I и II стадиях злокачественной меланомы кожи удлиняло ремиссию заболевания. Однако данные об эффективности вакцины БЦЖ были довольно противоречивы, в связи с чем одновременно в СССР и США было проведено большое рандомизированное исследование эффективности применения вакцины БЦЖ при злокачественной меланоме. В соответствии с программой исследования больные были разделены на следующие группы: 1-я — больные с наличием локального первичного очага злокачественной меланомы получали: а) оперативное лечение; б) оперативное лечение + БЦЖ; 2-я — больные с наличием первичного очага и поражением лимфатического аппарата получали: а) хирур-

тастас. The adoptive immunotherapy was performed using the patient's autologous lymphocytes derived by blood separation; activated lymphocyte transfusion was carried out once every 1-1.5 months during one year. Prophylactic immunotherapy was given to 15 patients, i.e. each of them received 6 to 9 transfusions. Immunological study discovered improvement of cell immunity parameters at 2 weeks after treatment in most patients, the effect being most marked after second transfusions. At one month following treatment, i. e. before the new cycle, the immunity parameters demonstrated some deterioration though remained better as compared to baseline [4, 5].

The Immunological studies provided criteria to select patients for immunotherapy. The modality was contraindicated to patients with initially low immunity status or with aggressive disease course (relapsing every 2-3 months). These characteristics were mainly encountered in the same patients. The studies were not randomized though the treatment proved efficient since 6 patients with a history of 2 to 3 relapses survived 6 and more years free from disease.

Practically at the same time N. N. Trapeznikov and his colleagues attempted immunotherapy by autografting tumor tissue previously exposed to 10,000 rad irradiation into the cellular tissue of patients having undergone surgery for cutaneous melanoma recurrence or metastasis. The immunization was carried out on the day of or at 2-3 days following surgery to be repeated at 1, 3 and 6 months. Of 12 patients only 2 had remission (1.5 and 3 years), the remaining patients failed to respond, and the modality was not further applied [3].

Active non-specific immunotherapy was the principal modality in the seventies. The studies started using various vaccines such as BCG, *C. parvum*, polio, etc., with the focus on BCG since its administration in stage I-II malignant melanoma increased remission duration. However, BCG efficacy findings were equivocal, and a joint USSR-USA randomized study of BCG efficacy in cutaneous melanoma was carried out. The patients were stratified into the following groups: group 1 (cases with local primary cutaneous melanoma) received treatment consisting of: a) surgery; b) surgery + BCG; group 2 (cases with a primary and lymph node involvement) received treatment consisting of: a) surgery + BCG; b) surgery + chemotherapy; c) surgery + chemotherapy + BCG immunotherapy.

BCG improved 2-year survival in cases with the tumor site on the trunk, though the difference disappeared by the 5th year. The stimulation was not effective in the cases with any site of the primary and lymph node involvement. On the contrary, the vaccine induced metastasis at a shorter time. On the other hand, the immunotherapy in combination with chemotherapy improved the outcomes [6].

The results of immunotherapy study were first reported by N. N. Trapeznikov at the Medical Academy Session in 1978.

Analysis of changes in immunity characteristics in the course of BCG treatment demonstrated that long-

гическое лечение + БЦЖ; б) хирургическое лечение + химиотерапия; в) хирургическое лечение + химиотерапия + иммунотерапия вакциной БЦЖ.

При оценке полученных результатов оказалось, что применение вакцины БЦЖ при лечении больных с локализацией первичного очага меланомы на туловище улучшило 2-летние результаты хирургического лечения. Однако к 5-летнему сроку наблюдения эта разница постепенно нивелировалась. В то же время стимуляция оказалась неэффективной для больных с любой локализацией первичного очага и поражением лимфатического аппарата. Более того, применение БЦЖ у больных этой группы вызвало даже более раннее возникновение метастазов. С другой стороны, иммунотерапия в аналогичной группе больных, получавших химиотерапию, улучшила результаты последней [6].

Результаты исследований по иммунотерапии опухолей были впервые доложены Н. Н. Трапезниковым на сессии Академии медицинских наук в 1978 г.

Анализ динамики иммунологических показателей в процессе лечения вакциной БЦЖ выявил, что при длительном ее применении стимуляция показателей Т-клеточного иммунитета происходила за счет увеличения числа Т-клеток-супрессоров, также повышалась активность моноцитарных супрессоров. К этому времени уже было известно, что одной из особенностей иммунологического статуса онкологических больных является наличие как повышенного числа супрессорных клеток, так и усиление их функциональной активности. Эти данные послужили основанием для решения ВОЗ в 1983 г. не применять системное введение вакцин для иммунотерапии онкологических больных, оставив для изучения лишь их местное применение.

Дальнейшее развитие иммунотерапии, в основном с применением различных иммуномодуляторов, показало, что сложность их применения заключается в разнонаправленном действии на популяции иммунокомпетентных клеток, что может приводить как к подавлению, так и к стимуляции опухолевого роста. В связи с этим исследования в области клинической иммунологии идут в 2 направлениях: 1) изучение фенотипа иммунокомпетентных клеток и выявление наиболее значимых популяций для эффективного мониторинга иммунотерапии; 2) изучение механизма действия новых иммуномодуляторов, а именно их влияния на те или иные субпопуляции иммунокомпетентных клеток [9].

Новому витку иммунологических исследований в онкологии способствовало открытие гибридомной технологии и создание панели моноклональных антител (МКА) [8]. Бурное развитие этой области способствовало открытию огромного числа новых фенотипов иммунокомпетентных клеток, значимость которых в контроле опухолевого роста активно изучается в настоящее время. В табл. 1 приведены основные маркеры иммунокомпетентных клеток, применимые для изучения иммунного статуса онкологических больных и мониторинга иммунотерапии. МКА сгруппированы по основным своим характеристикам: группа 1 включает обще-Т-клеточные маркеры; 2 — субпопуляции Т-клеток; 3 — В-лимфоциты; 4 — активационные антигены;

Таблица 1

Table 1

МКА к дифференцировочным антигенам лимфоцитов
Mab to lymphocyte differentiation antigens

Антиген	Специфичность МКА
	Т-лимфоциты (группа 1) / T-lymphocytes (group 1)
CD3	Зрелые Т-лимфоциты / Mature lymphocytes
CD5	Т-клетки, В-ХЛЛ / T-cells, B-CLL
CD7	Т-клетки / T-cells
	Субпопуляции Т-лимфоцитов (группа 2) T-lymphocyte subpopulations (group 2)
CD4	Т-хелперы/индукторы T-helpers/inducers
CD8	Т-супрессоры/цитотоксические T-suppressors/cytotoxic
	В-лимфоциты (группа 3) B-lymphocytes (group 3)
CD20	В-клетки / B-cells
CD19	В-клетки / B-cells
CD24	В-клетки / B-cells
	Активированные лимфоциты (группа 4) Activated lymphocytes (group 4)
HLA-DR	В-клетки, активированные Т-клетки B-cells, activated T-cells
CD38	Предшественники Т-клеток, активированные Т-лимфоциты, плазматические клетки T-cell precursors, activated T-lymphocytes, plasmatic cells
CD45Ra	В-клетки, Т-клетки (40%), НК-клетки B-cells, T-cells (40%), NK cells
CD25	Рецептор интерлейкина-2 Interleukin-2 receptor
CD71	Рецептор трансферрина Transferrin receptor
CD95	FAS/APO-1-антиген / FAS/APO-1 antigen
	Естественные киллеры (группа 5) Natural killers (group 5)
CD16	НК-клетки / NK cells
CD11b	C3bi-рецептор C3-компонента комплемента C3bi receptor of complement C3-component
	Лейкоциты (группа 6) / Leukocytes (group 6)
CD50	Лимфоциты, моноциты, нейтрофилы Lymphocytes, monocytes, neutrophils
CD45	Лимфоциты, моноциты, нейтрофилы Lymphocytes, monocytes, neutrophils
Antigen	Mab specificity

term BCG immunotherapy led to stimulation of T-cell immunity due to increase in T-suppressors and enhancement of suppressor monocytes. By that time it was known that immunity status of cancer patients was characterized by both increase in suppressor cells and enhancement of their functioning. Basing on these findings the WHO recommended in 1983 that vaccines therapy should not be carried out in cancer patients, and vaccine local treatment might be only studied.

Further development of immunotherapy mainly using various immunomodulators demonstrated that the difficulty of the modulator application was accounted for by their different action on immunocompetent cell populations which could lead to both inhibition and stimulation of tumor growth. Therefore the research was continued in two fields: 1) study of immunocompetent

5 — естественные киллеры; 6 — общелейкоцитарные антигены.

На основании исследований, проведенных с использованием 24 МКА, установлены наиболее информативные маркеры, выявляющие степень иммунодепрессии и отражающие динамику заболевания, — это МКА к антигенам CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, CD71, CD50. Важное значение имеет также соотношение субпопуляций CD4/CD8-клеток, которое может происходить даже при незначительном изменении каждой из популяций, но приводит к существенному нарушению функционирования иммунной системы. Результаты исследования показали наличие корреляционных связей между некоторыми из этих антигенов и функциональной активностью лимфоцитов в ответ на антигенную стимуляцию, степенью выраженности эндогенной и макрофагальной супрессии.

В то же время практически не исследованной является значимость субпопуляций лимфоцитов, несущих FAS/APO-1-антиген (CD95). С этой целью МКА анти-CD95 были включены в стандартную панель МКА для фенотипирования иммунокомпетентных клеток. Экспрессию антигена изучали на лимфоцитах периферической крови доноров, а также при воспалительных, доброкачественных и злокачественных гинекологических заболеваниях [7]. Было обнаружено, что лимфоциты больных с хроническим аднекситом, кистой яичника и миомой матки имели уровень экспрессии антигена CD95, превышающий в 2 раза показатели у онкологических больных (рис. 1). При этом иммунный статус больных с воспалительными и доброкачественными гинекологическими заболеваниями можно охарактеризовать как активированный вследствие повышения содержания Т-хелперных лимфоцитов, активированных клеток и NK-клеток. Выявлена высокая корреляционная связь между экспрессией антигена CD95 и активационных антигенов CD25 — рецептор интерлейкина-2 и CD71 — рецептор трансферрина.

В клинической практике в настоящее время активно применяются иммунокорректирующие препараты, усиливающие противоопухолевое действие химиотерапии. Это реаферон, препараты тимуса, TNF, интерлейкины-2, 6, 11 и др. Эти препараты способны влиять на процесс программированной клеточной смерти (апоптоз), усиливая или ингибируя его.

Различные химиопрепараты, применяемые в онкологии, также действуют, индуцируя апоптоз. Так, ингибиторы топоизомеразы I (топотекан) и топоизомеразы II (митоксантрон, VP-16) вызывают апоптоз через 8—10 ч, антимиетаболиты (ARA-C) — через 48—72 ч, микротубулярные яды (таксол) — через 48—72 ч.

В отделении опорно-двигательного аппарата ОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН проведено рандомизированное исследование по применению реаферона у больных с злокачественной меланомой. Критериями для включения больных были отсутствие метастазов; уровень опухолевой инвазии более 3 мм и толщина опухоли более 3 мм; отсутствие предварительного лечения. Больные были разделены на 2 группы: 1-я — только оперативное лечение, 2-я — операция + реаферон. Лечение начинали через 2 мес после операции, реаферон вводили подкожно в дозе 10 млн МЕ 3 раза в неделю в течение

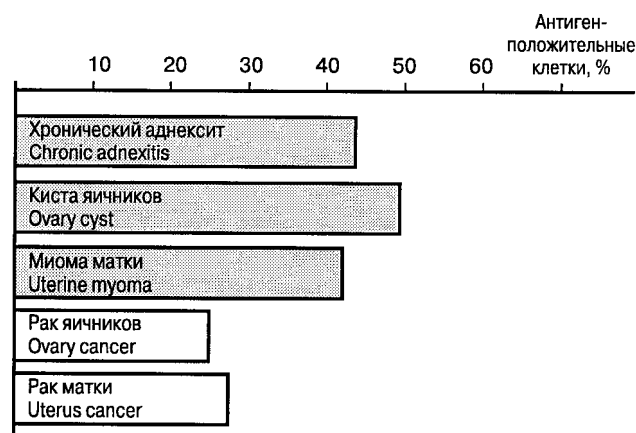


Рис. 1. Экспрессия антигена CD95 на лимфоцитах периферической крови больных с доброкачественными и злокачественными гинекологическими заболеваниями.

Fig. 1. CD95 expression on peripheral lymphocytes from patients with benign and malignant gynecology diseases

cell phenotype and finding of most significant cell populations for effective immunotherapy monitoring; 2) study of mechanisms of action of new immunomodulators, namely of their effect on immunocompetent cell populations [9].

The discovery of hybridoma technology and development of monoclonal antibody panels gave impetus to a new advance of immunological study [8]. The rapid progress in this field provided discovery of a large number of new immunocompetent cell phenotypes whose significance in tumor growth control is currently under intense study. Table 1 demonstrates main immunocompetent cell markers applicable in study of cancer patients' immunity status and immunotherapy monitoring. Monoclonal antibodies (Mab) are grouped by their basic characteristics: group 1 comprises common T-cell markers; 2 - T-cell subpopulations; 3 - B-lymphocytes; 4 - activation antigens; 5 - natural killers; 6 - common leukocyte antigens.

The studies using 24 Mab determined most informative markers revealing extent of immunity depression and reflecting changes in disease course. These are Mabs to antigens CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, CD71, CD50. Of much importance is also CD4/CD8-cell ratio which even with a small variation in each of the populations may lead to a significant disturbance of the immunity [2]. The studies demonstrated some of the antigens to be related to lymphocyte functional activity in response to antigen stimulation and degree of endogenous and macrophage suppression.

Lymphocyte subpopulations bearing a FAS/APO-1 antigen (CD95) were studied poorly. In view of this anti-CD95 Mab was incorporated in the standard Mab panel for immunocompetent cell phenotyping. The antigen expression was studied on peripheral lymphocytes from healthy donors and patients with inflammatory, benign and malignant gynecology lesions [7]. Lymphocytes from patients with chronic adnexitis, ovary cyst and uterine myoma demonstrated 2-fold greater CD95

Таблица 2

Table 2

Экспрессия дифференцировочных антигенов на лимфоцитах периферической крови больной Н.
Differentiation antigen expression on peripheral lymphocytes from the patient N.

Антиген	МКА	Антигенположительные клетки, %
CD3	ИКО-90	46,4
CD4	ИКО-86	19,8
CD8	ИКО-31	31,2
CD24	ИКО-150	15,4
CD72	ИКО-153	11,5
HLA-DR	ИКО-1	11,6
CD38	ИКО-20	34,9
CD50	ИКО-60	50,9
CD45Ra	ИКО-166	39,4
CD5	ИКО-80	46,2
CD7	ИКО-87	35,3
CD71	ИКО-92	9,2
CD25	ИКО-105	12,1
CD16	ИКО-116	30,7
CD95	ИКО-160	20,8
Antigen	Mab	Antigen-positive cells, %

3 мес, суммарная доза 36 млн МЕ. Анализ 2-летней выживаемости выявил рецидив заболевания в 22% случаев в группе больных, получавших реаферон, по сравнению с 38,4% в контрольной группе, а сроки появления метастазов составили 8,5 и 6,1 мес соответственно [1].

У всех больных до лечения отмечалось снижение числа CD⁺-клеток, которое восстанавливалось до нормы в процессе терапии. Более интересные данные получены при анализе динамики экспрессии активационных маркеров: CD25, CD38 и CD95 — FAS/APO-1. У больных, получавших реаферон, уже через месяц после начала лечения значительно увеличивалось количество CD25⁺-клеток, причем отмечалась некоторая корреляция между клиническим эффектом и супрессией маркеров CD25⁺ и CD95⁺. Эти наблюдения указывают на то, что механизм действия реаферона включает в себя как иммуномодулирующий эффект, так и активацию процесса апоптоза.

С внедрением в широкую клиническую практику метода проточной цитофлюориметрии расширились возможности мониторинга иммуно- и химиотерапии онкологических больных.

Ранее было показано, что успехи в лечении онкологических больных определяются исходным уровнем состояния иммунной системы. Адекватное проведение иммунотерапии во многом зависит от точности выявления нарушений в субпопуляционном составе иммунокомпетентных клеток. Проиллюстрировать это можно на примере больной Н. с меланомой кожи. Больной планировалось проведение иммунотерапии реафероном (рекомбинантный интерферон-альфа 2А). При оценке иммунного статуса были обнаружены нарушения Т-клеточного звена иммунитета — снижено содержание лимфоцитов, экспрессирующих все пан-Т-клеточные антигены (CD3, CD5, CD7), кроме того, в субпопуляционном

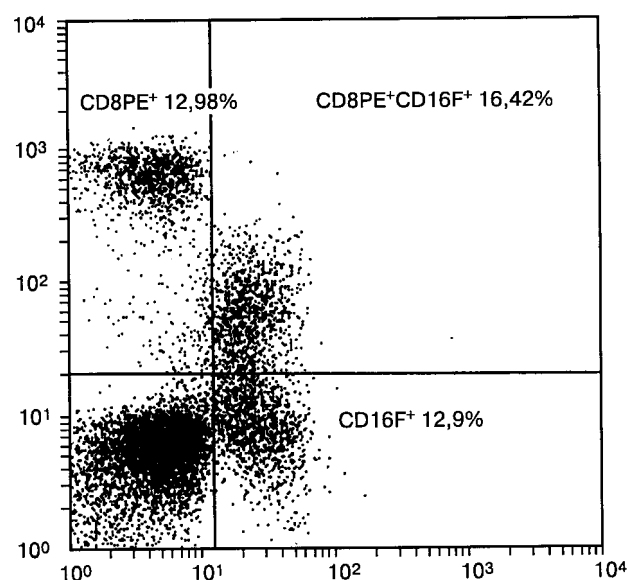


Рис. 2. Двойное иммунофлюоресцентное окрашивание лимфоцитов периферической крови больной Н. МКА анти-CD8 и анти-CD16.

По оси абсцисс — интенсивность флюоресценции лимфоцитов, окрашенных МКА анти-CD16, конъюгированных с FITC (F); по оси ординат — интенсивность флюоресценции лимфоцитов, окрашенных МКА анти-CD8, конъюгированных с фикоэритрином (PE).

Fig. 2. Double immunofluorescent staining with anti-CD8 and anti-CD16 of peripheral lymphocytes from the patient N.

Numbers on the x axis demonstrate fluorescence intensity of lymphocytes stained with FITC-conjugated (F) anti-CD16 Mab; numbers on the y axis show fluorescence intensity of lymphocytes stained with phycoerythrin-conjugated (PE) anti-CD8 Mab

antigen expression than cancer patients (fig. 1). Immunity status of patients with inflammatory and benign gynecology diseases may be characterized as activated as a result of increased content of T-helpers, activated cells and NK-cells. The CD95 expression was discovered to be correlated with expression of activation antigens CD25 (interleukin-2 receptor) and CD71 (transferrin receptor).

Immunity correctors are broadly applied in the clinical practice to enhance antitumor effect of chemotherapy. These are reaferron, thymus agents, tumor necrosis factor (TNF), interleukins 2, 6, 11 and others. These agents enhance or inhibit apoptosis, i. e. programmed cell death.

Various cancer chemotherapeutics also induce apoptosis. For instance, topoisomerase-I (topotecane) and topoisomerase-II (mitoxanthrone, VP-16) inhibitors induce apoptosis at 8-10 hours, antimetabolites (ARA-C) at 48-72 hours, microtubular poisons (taxol) at 48-72 hours.

The Department of Locomotor Tumors, CRC RAMS, conducted a randomized study of reaferron in patients with malignant melanoma. Inclusion criteria were: no metastases, tumor invasion more than 3 mm, melanoma thickness more than 3 mm; no history of previous treatment. The patients were stratified into 2 groups: group 1 underwent surgery alone; group 2 underwent surgery and received reaferron therapy. The treatment was started at 2 months following surgery, reaferron was administered subcutaneously at 10 million IU 3 times a week for

составе Т-клеток нарушено соотношение CD4⁺- и CD8⁺-лимфоцитов. Иммунорегуляторный индекс 0,6. Значительно повышено число NK-клеток (CD16) (табл. 2). Методом двойного иммунофлюоресцентного окрашивания удалось идентифицировать гетерогенный состав CD8⁺-клеток (рис. 2). Выявлено низкое содержание истинных Т-супрессорных CD8⁺-лимфоцитов (12,98%) и значительное увеличение уровня цитотоксических клеток CD16⁺ и CD8⁺CD16⁺ (12,9—16,42%).

На основании проведенного обследования больной Н. рекомендовано назначение иммунокорректирующих препаратов, специфически направленных на устранение дефекта только в Т-клеточном звене иммунитета, так как планируемое назначение препаратов группы интерферонов в данном случае было неоправдано.

Таким образом, в результате проведения исследования иммунологического статуса с использованием двойного флюоресцентного окрашивания лимфоцитов на проточном цитофлуориметре FACScan расширяются возможности выбора специфической иммунотерапии с воздействием на конкретные субпопуляции иммунокомпетентных клеток.

В последние годы появился широкий спектр иммуномодулирующих препаратов, которые широко рекламируются и используются. Успех их применения в лечении онкологических заболеваний во многом определяется уровнем и точностью диагностики нарушений функционирования популяций иммунокомпетентных клеток, что можно осуществить только с помощью соответствующего набора МКА.

Это следует отнести и к изучению химиотерапевтических препаратов, так как предварительные данные указывают на то, что некоторые из этих маркеров коррелируют с эффективностью проводимого лечения. Таким образом, основной задачей клинических иммунологов является изучение механизма действия вновь создаваемых иммуномодуляторов на соответствующие звенья иммунной системы для адекватного применения в лечении онкологических больных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Демидов Л. В., Богучи И. Г., Ивщина А. В. и др. //Вестн. ОНЦ РАМН. — 1997. — № 1. — С. 5—8.
2. Кадагидзе З. Г., Славина Е. Г., Заботина Т. Н., Короткова О. В. //Съезд онкологов стран СНГ, 1-й. 3—6 дек. 1997. — М., 1997. — С. 145.
3. Трапезников Н. Н., Яворский В. В. //Вопр. онкол. — 1973. — № 4. — С. 23—42.
4. Трапезников Н. Н. //Иммунология опухолей. — Кисв, 1975. — С. 254—255.
5. Трапезников Н. Н., Буачидзе Л. Н., Чернос З. В., Кадагидзе З. Г. //Вопр. онкол. — 1976. — № 22 (3). — С. 92—98.
6. Трапезников Н. Н., Яворский В. В., Вагнер Р. И. и др. //Вестн. РАМН. — 1978. — № 5. — С. 19—26.
7. Baryshnikov A. Yu., Polosukhina E. R., Zabolina T. N. et al. //Russian J. Immunol. — 1997. — Vol. 2, N 2. — P. 116—120.
8. Kadagidze Z. G., Baryshnikov A. Yu. //Sem. Surg. Oncol. — 1986. — Vol. 2, N 4. — P. 200—215.
9. Kadagidze Z. G., Trapeznikov N. N. //Sov. Med. Rev. Oncol. — 1987. — Vol. 1. — P. 164—185.

Поступила 05.11.97 / Submitted 05.11.97

3 months to a total dose 36 million IU. Analysis of 2-year survival discovered a 22% recurrence in the re-aferon group as compared to a 38.4% recurrence in the controls, respective times till metastasis were 8.5 and 6.1 months [1].

At baseline all the patients had decreased CD4⁺ cell count which recovered to the normal level during the therapy. Findings of analysis of changes in expression of activation markers: CD25, CD38 and CD95 - FAS/APO-1 were more interesting. The patients receiving re-aferon demonstrated a considerable increase in CD25⁺ cells already at one month after treatment start with a correlation between the clinical effect and suppression of the CD25⁺ and CD95⁺ markers. These findings suggest that re-aferon mechanism of action includes both immunomodulation and apoptosis activation.

Clinical application of flow cytometry allowed better monitoring of cancer patients receiving immuno- and chemotherapy.

As known, cancer patients' response to treatment depends on initial state of their immunity. Adequate administration of immunotherapy to a large extent depends on accuracy of evaluation of disorders in immunocompetent cell subpopulations. To illustrate this consider a case (patient N.) with cutaneous melanoma. The patient was to receive re-aferon (recombinant interferon- 2a) immunotherapy. The patient presented with disorder in her T-cell immunity as decreased count of lymphocytes expressing all pan-T-cell antigens (CD3, CD5, CD7) and abnormal CD4⁺/CD8⁺ lymphocyte ratio. Immunoregulatory index was 0.6. The count of NK cells (CD16) was considerably elevated (table 2). Double immunofluorescent staining helped to identify CD8⁺ heterogeneity (fig. 2). True T-suppressor CD8⁺ lymphocyte count was low (12.98%) while the count of cytotoxic cells CD16⁺ and CD8⁺CD16⁺ was increased (12.9-16.4%).

Basing on these findings immunotherapy was recommended to correct the T-cell defect instead of interferon therapy as planned before the examination.

Thus, the immunity study by lymphocyte double immunofluorescent staining using a FACScan flow cytometer allows more accurate selection of specific immunotherapy aimed at individual subpopulations of immunocompetent cells.

A large range of immunomodulating agents have appeared over the last years that are widely promoted and used in treatment of cancer patients. All the above-said proves that success in cancer treatment to a great extent depends on accurate diagnosis of immunocompetent subpopulation functional disorders which may be provided only by the use of Mab panels.

The same is true for chemotherapeutics because some of the above-mentioned markers correlate with response to treatment. Thus the main purpose of clinical immunologists is to study mechanisms of action of new immunomodulators on individual immunity elements to be used in adequate treatment of cancer patients.