

УДК 616-006.81-033.2:615.371:611.018.83

*I.N. Mikhaylova¹, N.N. Petenko¹, G.Z. Chkadua¹, L.Y. Vishnyakova¹, E.V. Ogorodnikova¹,
G.S. Allahverdyan¹, E.A. Cheremushkin¹, K.S. Titov¹, S.A. Hatirev¹, T.K. Haratishvili¹,
K.A. Parsunkova², M.D. Aliev¹, A.Yu. Baryshnikov¹, L.V. Demidov¹*

DENDRITIC CELL VACCINE THERAPY OF ADVANCED MELANOMA: I/II PHASE CLINICAL TRIAL

¹*N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS, Moscow*

²*«Intermedbiophyschem», Moscow*

ABSTRACT

We conducted the clinical trial using autologous dendritic cell based vaccine for melanoma treatment. Clinical effectiveness was evaluated in advanced melanoma patients and in patients after radical surgery.

Key words: vaccine, dendritic cell, melanoma, tumor antigens, immune system.

*И.Н. Михайлова¹, Н.Н. Петенко¹, Г.З. Чкадуа¹, Л.Ю. Вишнякова¹, Е.В. Огородникова¹,
Г.С. Аллахвердян¹, Е.А. Черемушкин¹, К.С. Титов¹, С.А. Хатырев¹, Т.К. Харатишвили¹,
К.А. Парсункова², М.Д. Алиев¹, А.Ю. Барышников¹, Л.В. Демидов¹*

ВАКЦИНОТЕРАПИЯ МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК: КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ I/II ФАЗЫ

¹*ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва*

²*ГУП МНКЦ «Интермедбиофизхим», Москва*

РЕЗЮМЕ

В настоящей статье представлены результаты клинического исследования по вакцинотерапии меланомы с использованием дендритных клеток, целью которого является изучение влияния вакцинотерапии на клиническое течение диссеминированной меланомы как в терапевтическом режиме, так и после радикального хирургического вмешательства.

Ключевые слова: вакцина, дендритные клетки, меланома, опухолевые антигены, иммунная система.

ВВЕДЕНИЕ

За последние десятилетия так и не было достигнуто значительного улучшения выживаемости больных меланомой на этапе реализации регионарных и отдаленных метастазов. Несмотря на последние достижения медицины, основные принципы лечения меланомы за последние десятилетия не претерпели значительных изменений, стандартными на сегодняшний день остаются хирургическое вмешательство и химиотерапия, эффективность которой не превышает 20 %. При этом болезнь, перешагнувшая рубеж регионарных лимфатических узлов, снижает показатели 5-летней выживаемости до 5 %.

Меланома является иммуногенной опухолью, т.е. способной индуцировать Т-клеточный противоопухолевый иммунитет *in vivo*. Иммунная реакция развивается против специфических или опухолеассоциированных антигенов (ОАА), экспрессируемых на по-

верхности опухолевой клетки. Существует множество свидетельств о корреляции между регрессией меланомы и активацией противоопухолевых Т-лимфоцитов, которые обнаруживаются в периферической крови и удаленных регрессирующих метастазах на фоне иммунотерапии. В связи с этим в последнее время активно исследуются методы специфической иммунотерапии меланомы, в частности, вакцинотерапия с использованием дендритных клеток (ДК), целью которой является индукция противоопухолевого иммунитета *in vivo*.

Цель исследования – изучить токсичность и переносимость вакцины на основе аутологичных дендритных клеток, а также оценить клиническую эффективность в лечении метастатической меланомы как в терапевтическом режиме, так и после радикального хирургического вмешательства, т.е. адъювантно.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве лечебного препарата применялась противоопухолевая вакцина на основе аутологичных дендритных клеток (ДК), нагруженных опухолевым лизатом *in vitro*. Для приготовления опухолевого лизата использовался аутологичный операционный материал опухолевого происхождения. ДК получали из мононуклеаров периферической крови (МПК) пациентов, которые культивировали в присутствии цитокинов ГМ-КСФ и ИЛ-4. Созревание ДК индуцировали с использованием ФНО- α , ПГ_{E2} (методика разработана в ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН) [2]. Применялись зрелые ДК следующего фенотипа: CD83⁺, CD80⁺, CD54⁺, CD86⁺, HLA-DR⁺.

ДК вводились пациентам внутривенно в несколько точек (от 2 до 10) в непосредственной близости от регионарных лимфатических коллекторов. Однократная доза введения клеток составляла от 1,0 до 5,0 $\times$ 10⁶ клеток, интервалы между вакцинациями составляли 2–6 нед, кратность введения – до прогрессирования заболевания.

Токсические побочные эффекты оценивались по шкале токсичности (СТСЭ v.3). Объективный клинический ответ в терапевтической группе оценивался согласно критериям RECIST, в профилактической группе оценивалась безрецидивная выживаемость, для обеих групп – общая выживаемость. Анализ выживаемости пациентов проводился по методу Kaplan-Meier.

С 2003 по 2006 гг. в исследование включались 42 пациента с метастатической меланомой в возрасте от 26 до 82 лет (в среднем 54 года), мужчины/женщины = 24/18.

Больные были разделены на 2 клинические группы: 1-я – пациенты с регионарными и/или отдаленными метастазами, получающие вакцину в терапевтическом режиме в виде монотерапии, при этом изолированное поражение лимфоузлов отмечалось у 2 пациентов, отдаленные метастазы – у 15, всего включено 17 пациентов; 2-я группа – пациенты с той же распространенностью процесса после радикального хирургического вмешательства, получающие лечение в профилактическом режиме, причем изолированные регионарные метастазы обнаруживались у 10 пациентов, отдаленные метастазы (+/– поражение регионарных лимфоузлов) – у 15, всего включено 25 пациентов.

Лечение проводилось амбулаторно, включало вводную фазу, которая состояла из первых 4 вакцинаций, проводимых каждые 2 нед, и поддерживающую фазу с введением вакцины каждые 2–4 нед; при стабильном состоянии пациентов в ходе длительного лечения интервал между введением ДК увеличивался до 6 нед. В таком режиме терапия продолжалась до объективного прогрессирования заболевания. В отдельных случаях у больных терапевтической группы при категорическом отказе от химиотерапии введение вакцины продолжалось и после прогрессирования заболевания. В профилактической группе после прогрессирования заболевания на фоне иммунотерапии проводилось повторное хирургиче-

ское иссечение метастазов меланомы, и при согласии пациента продолжалась вакциноterapia дендритными клетками, активация которых проводилась при использовании аутологичного лизата из свежего опухолевого материала, полученного в результате последней операции.

Критерии включения в исследование: морфологическая верификация диагноза, не менее 4 нед от окончания предшествующей терапии, общее состояние больного по шкале ECOG не более 2, возраст от 18 лет и старше, отсутствие аутоиммунных заболеваний, письменное согласие на участие в исследовании.

Большинству пациентов (75 %) до начала вакцинотерапии проводилось интенсивное лекарственное лечение (химиотерапия, биохимиотерапия, иммунотерапия), на фоне которого отмечено прогрессирование заболевания. Клиническая характеристика пациентов представлена в табл. 1 и 2.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Оценивались клинические характеристики пациентов, завершивших вводную фазу лечения, включающую первые 4 вакцинации. К настоящему времени 33 пациента (79 %) получили 4 и более вакцинаций. В терапевтической группе $n=13$, всего проведено 210 вакцинаций (от 4 до 21 на пациента, в среднем 10,5 введений); в профилактической группе $n=20$, всего проведено 205 вакцинаций (от 4 до 38 на пациента, в среднем 15,8 введений).

Токсичность лечения

Переносимость лечения хорошая. Выраженных побочных эффектов вакцинотерапии, требующих симптоматической терапии или прекращения лечения, не отмечено (табл. 3). Проводимая терапия не оказывала негативного влияния на качество жизни пациентов, большинство вели активный образ жизни, пациенты профилактической группы во время лечения в полной мере сохраняли трудоспособность.

Клиническая эффективность

Терапевтическая группа: объективная клиническая эффективность отмечена в 15,4 % случаев ($n=2$), 1 ПР (пациент ЧД28), 1 ЧР (пациент НА47). Следует отметить, что пациенту ЧД28 за 4 нед до начала вакцинотерапии проведены 2 курса химиотерапии, поэтому невозможно определить, чем конкретно обусловлена клиническая эффективность, однако ранее после 4-кратного хирургического вмешательства и 2 линий профилактической химиотерапии по поводу регионарных и мягкотканых метастазов безрецидивный промежуток не превышал 12 мес, тогда как на фоне вакцинотерапии прогрессирования заболевания не было уже 20+ мес. В 5 случаях отмечена СЗ (38,5 %) длительностью от 2 и более мес (см табл. 1). 1-летняя выживаемость составила 42,5 %, медиана выживаемости – 9,5 мес. (рис. 1). К настоящему моменту живы 5 пациентов, из них 2 продолжают вакцинотерапию. Время наблюдения от 4 до 39+ мес.

Таблица 1

Клиническая характеристика пациентов терапевтической группы, завершивших вводную фазу
(≥ 4 вакцинаций), n=13

Код пациента	Проявления болезни до начала вакцинотерапии (метастазы)	Предшествующая терапия					Количество вакцина- ций	RECIST	Выживаемость, мес
		Х	ХТ	БХТ	ИТ	ЛТ			
КА46	В мягкие ткани передней грудной стенки (1,7 см; 4,5 см), подмышечной области (3,7 см), в мягкие ткани передней брюшной стенки (1,1 см), л/у ворот печени (3,8 см)	++	++	–	++	–	4	ПЗ	4
ПТ82	В мягкие ткани правого плеча (2,2 см)	++	–	–	–	–	10	СЗ	10
ОН51	Диффузное инфильтративное поражение обеих молочных желез, подмышечный л/у справа (2,8 см)	+++	–	+	–	–	21	СЗ	17
ГМ76	В мягкие ткани бедра (от 0,7 до 1,9 см), голени (1,0 см; 1,4 см; 0,4 см), подколенной ямки (0,8 см; 0,5 см)	++, КД	–	+	+	+	8	ПЗ	4
АВ40	В парааортальные л/у (4,2 см; 2,8 см; 2,4 см), паховые л/у справа (1,5 см), подвздошные л/у слева (2,8 см; 2,9 см); бедренные л/у слева, в мягкие ткани п/о рубца (от 0,5 см до 1,5 см, 2 л/у по 2,0 см и 2,4 см)	++	++	+	++	+	7	ПЗ	4
СТ39	В мягкие ткани левой нижней конечности (n=15, от 0,5 см до 2,8 см), печень (1,6 см), правый яичник (14 см), по брюшине (7,5 см)	+++ , ЛИ	+	+	–	–	12	ПЗ	6
КТ47	В мягкие ткани передней брюшной стенки (1,9 см; 1,7 см; 1,6 см, 0,3 см), подмышечные л/у слева (2,1 по 1,8 см), пахово-подвздошные л/у справа (2,8 см; 3,6 см; 3,8 см; 2,8 см), наружные подвздошные л/у слева (2,6 см; 1,2 см)	+++	–	+	–	–	17	СЗ	9
КТ53	В паховые л/у справа – 7,4 см	++	++	+	–	–	5	ПЗ	3
АИ81	В мягкие ткани туловища, конечностей, подмышечные л/у справа (2,4 см; 2 см, 1,5 см; 3,6 см), подвздошные л/у слева (2,8 см), надпочечник справа (4 см), паховый л/у слева (1 см)	+++	–	+	++	–	22	СЗ	39+
ЛЛ62	В паховый л/у слева (4,5 см)	++	+	+	++	–	38+	СЗ	28+
ЧД28	В подвздошные л/у слева (3,2 см; 2,6 см), бедренные л/у слева (0,8 см), в мягкие ткани в/3 левого бедра (0,7 см)	++++	++	–	+	–	27+	ПО (20+ мес.)	24+
ЗА47	В подмышечные л/у справа, л/у средостения	++	–	–	–	–	4	ПЗ	16+
НА47	В л/у шеи (2,8 см; 3,7 см), надключичные л/у слева (3,8 см)	+	–	–	–	–	30	ЧО (4 мес.)	31+

Х – хирургическое лечение, ХТ – химиотерапия, БХТ – биохимиотерапия, ИТ – иммунотерапия, ЛТ – лучевая терапия, КД – криодеструкция, ЛИ – лазерное иссечение, ВДП – время до прогрессирования, СЗ – стабилизация заболевания, ПО – полный ответ, ЧО – частичный ответ, ПЗ – прогрессирование заболевания, п/о – послеоперационный, л/у – лимфоузлы.

Таблица 2

Клиническая характеристика пациентов профилактической группы, завершивших вводную фазу (≥ 4 вакцинаций), n=20

Код пациента	Проявление болезни до начала вакцинации (метастазы)	Предшествующая терапия					Количество вакцинаций	ВДП, мес.	Выживаемость, мес.
		Х	ХТ	БХТ	ИТ	ЛТ			
A43	В бедренные л/у слева (5,6 см)	+	-	-	-	-	6	5	10+
БЛ62	В мягкие ткани спины, подмышечные л/у слева	+	-	-	-	+	15	4	8
КЮ67	Подмышечные л/у справа (1,8 см; 1,3 см; 0,8 см)	++	+	-	-	-	21+	9	20+
ТН56	В мягкие ткани п/о рубца	+	++	+	-	-	4	2	3
ШЛ53	В мягкие ткани грудной стенки (1,2 см)	+	+	-	-	-	15+	без ПЗ	17+
ЮМ59	В верхнюю долю правого легкого (1,4 см)	-	-	-	-	-	14	17	17+
БГ55	В мягкие ткани бедра справа	+	+	-	+	-	6	4	11
ЖВ60	В мягкие ткани бедра справа (1,5 см)	+	+	-	-	-	14+	без ПЗ	17+
БЗ37	Подвздошные л/у слева (6,0 см, 3,8 см)	+	+	-	-	-	17+	без ПЗ	16+
БН57	В мягкие ткани п/о рубца (1,1 см)	+	-	-	+	-	16+	без ПЗ	16+
КЕ41	В мягкие ткани туловища, плеча слева, подмышечные л/у слева, паховые л/у справа; ПО после ХТ	+	-	-	+	-	13+	без ПЗ	15+
ОГ45	В мягкие ткани передней грудной стенки (2 см)	+++	-	-	+	-	7	4	15+
ТО26	В мягкие ткани грудной стенки, ягодичной области	+	+	-	-	-	4	4	14+
КМ39	В мягкие ткани передней брюшной стенки (8,9 см), нижнюю долю левого легкого (2,5 см)	++	-	-	+	-	11+	без ПЗ	12+
ЦЕ48	В паховые л/у слева (1,6 см)	+	-	-	-	-	11	10	12+
ЩЕ45	В паховые л/у слева (4,4 см, 3,1 см)	+	-	-	-	-	5	3,5	11+
ОМ43	В паховые л/у слева (3,2 см)	+	-	-	+	-	11+	без ПЗ	11+
ЕД29	В мягкие ткани (3 см)	+++++	+	-	-	-	7+	без ПЗ	8+
ЩВ48	В подмышечные л/у слева (4,3 см)	+++	+	-	+	-	9+	без ПЗ	10+
БА27	В паховые л/у справа (2,2 см)	+	-	-	-	-	4	2	8+

Х – хирургическое лечение, ХТ – химиотерапия, БХТ – биохимиотерапия, ИТ – иммунотерапия, ЛТ – лучевая терапия, КД – криодеструкция, ЛИ – лазерное иссечение, ВДП – время до прогрессирования, СЗ – стабилизация заболевания, ПО – полный ответ, ЧО – частичный ответ, ПЗ – прогрессирование заболевания, п/о – послеоперационный, л/у – лимфоузлы.

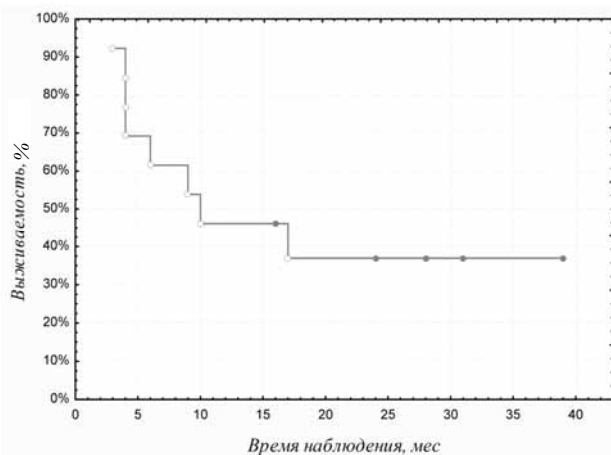


Рис. 1. Общая выживаемость больных терапевтической группы, n=13

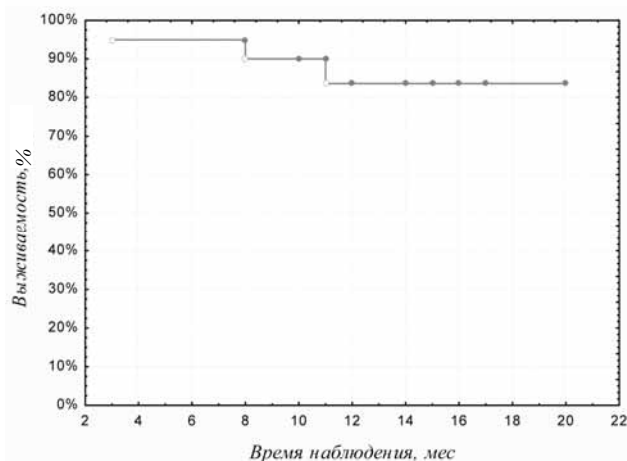


Рис. 2. Общая выживаемость больных профилактической группы, n=20

Таблица 3

Частота и степень выраженности побочных реакций

Побочные эффекты		Частота, %	Степень выраженности СТС
Общие	Повышение Т°С тела до субфебрильных цифр	25	1
	Слабость	17	
	Ломота в костях и суставах	12	
Локальные	Гиперемия	85	
	Зуд	63	
	Болезненность	16	

Профилактическая группа: время до прогрессирования (медиана) составляет 10 мес, без признаков прогрессирования заболевания к настоящему времени 45 % больных (см табл. 2). 1-летняя выживаемость – 84 %. При медиане наблюдения 12 мес (от 3 до 20+) медиана выживаемости не достигнута (рис. 2). К настоящему времени 10 пациентов продолжают получать вакцинотерапию.

ОБСУЖДЕНИЕ

Вакцинотерапия меланомы с использованием ДК хорошо переносима, не обладает выраженными побочными эффектами. Данный метод направлен на индукцию противоопухолевого иммунитета *in vivo*, однако у пациентов с большой опухолевой нагрузкой отмечается выраженная локальная (в опухолевом очаге) и общая супрессия иммунной системы, в связи с чем некомпетентность иммунного ответа, усугубляемая генетической нестабильностью опухоли, обуславливает стремительное распространение и рост метастазов, которые реализуются быстрее противоопухолевой иммунной реакции. Кроме того, проводимое

ранее химио- или биохимиотерапевтическое лечение оказывает значительное угнетающее воздействие на костный мозг, снижая образование эффекторов специфического иммунного ответа и качественно нарушая их функциональную активность. Перечисленные факторы обуславливают пока невысокую клиническую эффективность метода и неблагоприятный прогноз течения диссеминированного злокачественного заболевания.

Большинство пациентов настоящего клинического исследования отвечают перечисленным критериям неблагоприятного прогноза, особенно в терапевтической группе (см. табл. 1 и 2), поэтому наблюдаемая клиническая эффективность (15,4 %) отмечается как раз у пациентов с небольшой опухолевой нагрузкой и неинтенсивной предшествующей лекарственной терапией.

М. О'Rourke в клиническом исследовании 2003 г. предпринял попытку обнаружить корреляцию клинической эффективности ДК вакцины и распространенности опухоли при лечении диссеминированной меланомы. В качестве прогностического критерия исследовался сывороточный S100b, уровень которого,

как известно, повышается при увеличении стадии заболевания и коррелирует с размером метастазов меланомы. М. O'Rourke выявил пороговое значение сывороточного маркера, определяющее эффективность проводимой вакцинотерапии. При анализе выживаемости по методу Kaplan-Meier пациентов, заболевание которых прогрессировало на фоне лечения, периферические и висцеральные метастазы имели более крупные размеры, и уровень S100b превышал пороговое значение по сравнению с пациентами, ответившими на лечение ($\log \text{rank } p < 0,001$).

Учитывая, что самостоятельные циторедуктивные хирургические вмешательства при меланоме III и даже IV стадии способствуют улучшению общей выживаемости, комбинация радикального/циторедуктивного хирургического подхода с последующей ДК вакцинотерапией в лечении метастатической меланомы представляется более оптимальной.

1-летняя выживаемость в профилактической группе с учетом отдаленного метастазирования у 75 % больных (отдаленные лимфоузлы, мягкие ткани, легкие) составила 84 %. Представляет интерес изучение 5-летней выживаемости при сохранении текущего режима вакцинотерапии.

Мы считаем целесообразным дальнейшее исследование ДК вакцинотерапии в лечении меланомы. Наиболее важными задачами для дополнительного изучения являются применение ДК вакцины в профилактическом и терапевтическом режиме пациентам с минимальными проявлениями заболевания, по-прежнему актуальной остается проблема оптимизации ДК вакцины и использования иммунологических адъювантов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Правительства Москвы в рамках научно-технической программы «Разработка и внедрение в медицинскую практику новых методов и средств диагностики и лечения онкологических и других заболеваний».

ЛИТЕРАТУРА

1. Демидов Л.В. Хирургическая «погоня» за метастазами меланомы // V Российская онкологическая конференция, 27-29 ноября 2003, Москва.
2. Чкадуа Г.З., Заботина Т.Н. и др. Адаптирование методики культивирования дендритных клеток человека из моноцитов периферической крови для клинического применения // РБЖ. – 2002. – Т. 1, №3. – 56–9.
3. Hauschild A., Michaelson J. et al. Prognostic significance of serum S100B detection compared with routine blood parameters in advanced metastatic melanoma patients // Melanoma Res. – 1999. – 9. – P. 155–61.
4. Holland-Frei. Cancer Medicine 6th edition (April 2003); by Donald W., Kufe M. et al: 3286–4527.
5. Michael G.E. O'Rourke, Johnson M. et al. Durable complete clinical responses in a phase I/II trial using an autologous melanoma cell/dendritic cell vaccine // Cancer Immunol Immunother. – 2003. – 52. – P. 387–95.
6. Vries I., Bernsen M. et al. Immunomonitoring tumor-specific T cells in delayed-type hypersensitivity skin biopsies after dendritic cell vaccination correlates with clinical outcome // J. Clin. Oncol. – 2005. – Aug 20; 23(24). – P. 5779–87.

Поступила 11.12.2006.