

ПРИРОДА

№ 2, 2000 г.

Г.И. Абелев

Иммунология опухолей человека

(с) “Природа”

*Использование или распространение этого материала
в коммерческих целях
возможно лишь с разрешения редакции*



Образовательный сетевой выпуск
VIVOS VOCO! - ЗОВУ ЖИВЫХ!

<http://www.accessnet.ru/vivovoco>

Иммунология опухолей человека

Г.И.Абелев

Современный этап в иммунологии рака начался в середине 40-х годов, когда Л.Гросс в США получил иммунитет у мышей к канцерогенной саркоме, индуцированной в **сингенной** системе. Чуть позже (конец 40-х — начало 50-х годов) Л.А.Зильбер у нас в стране и П.Горер в Англии обнаружили в опухолях антигены, отсутствующие в гомологичных нормальных тканях. В 1961 г. группа Дж.Клейна в Швеции впервые продемонстрировала эффективный иммунитет к опухолям, вызванным вирусами полиомы и SV₄₀, у животных, иммунизированных этими вирусами. Эти исследования дали мощный толчок для развития иммунологии рака¹. Тысячи последующих экспериментальных и клинических работ создали область онкологии, в которой можно выделить **иммунодиагностику, иммунопрофилактику и иммунотерапию** опухолей человека. Что же сегодня вошло в онко-



Гарри Израйлевич Абелев, ученик и последователь Л.А.Зильбера, член-корреспондент РАН, профессор. Заведующий лабораторией иммунохимии Института канцерогенеза Онкологического научного центра им.Н.Н.Блохина РАМН. Основная область научных исследований — иммунохимия и иммунология рака.

логию в результате полувековых исследований по иммунологии рака?

Иммунодиагностика

Иммунодиагностика, уже ставшая обязательным компонентом клинической практики, основана на одном из фундаментальных свойств опухоли — сохранять направление и уровень дифференцировки клетки-предшественницы. Все антигены, используемые для иммунодиагностики опухолей, — это дифференцировочные антигены соответствующей нормальной ткани, характерные для определенного этапа ее созревания (табл.1). Особенно ярко это выражено в **иммунофенотипировании гемобластозов** (опухолевых заболеваний крови), каждая из форм которых по антигенам клеточной мембраны в точности

соответствует как бы “замороженной” стадии дифференцировки той или иной ветви кроветворения. Такая закономерность соблюдается настолько четко, что некоторые ранние и быстропреходящие стадии развития лимфоцитов впервые обнаружили и описали только благодаря соответствующим острым лейкозам. Так, ретровирус Абельсона, вызывающий острый пре-В-клеточный лейкоз у мышей, позволил определить самые ранние стадии развития В-лимфоцита, на которых только начинается рекомбинация D и J фрагментов тяжелой (H) цепи иммуноглобулина (Ig). Точно так же один из характерных антигенных маркеров ранних В-лимфоцитов, так называемый **общий антиген острых лимфатических лейкозов** человека (CALLA), вначале выявили как специфический лейкозный антиген, а затем его нашли и в ряду нормальной диффе-

Сингенными называют животных (обычно мышей инбредных линий), у которых антигены тканевой совместимости идентичны антигенам опухолей.

¹ Подробный анализ раннего этапа иммунологии рака см.: Зильбер Л.А., Абелев Г.И. Вирусология и иммунология рака. М., 1962; Дэй Ю. Иммунохимия рака. М., 1965; Deichman G.I. // Adv. Cancer Res. 1969. V.12. P.101—132.

ренцировки В-лимфоцита.

При анализе острых, морфологически неразличимых гемобластозов с помощью иммунофенотипирования можно вычлени острые эритро-, миело- и лимфобластные лейкозы, отличающиеся по прогнозу и схемам лечения. Этот метод позволяет также различать В- и Т-лимфолейкозы, находящиеся на разных стадиях дифференцировки.

Таким образом, иммунофенотипирование дало бесценный материал для анализа патогенеза гемобластозов и одновременно вошло в клинику, как необходимый и сегодня уже рутинный компонент в диагностике и классификации гематологических новообразований. Едва ли не исчерпывающая полнота знаний в области иммунофенотипирования лейкозов обязана, главным образом, методу **гибридом**, с помощью которого построены точнейшие антигенные карты поверхности клеток кроветворного ряда. Вся современная классификация дифференцировочных антигенов этого типа основана

на моноклональных антителах.

В случае лейкозов речь идет о дифференцировочных антигенах клеточной мембраны, не секретируемых в кровь, но именно опухоли этой группы дали первый пример **серологического маркера** самой высокой специфичности. Это *моноклональные иммуноглобулины (mIg) и белок Бенс Джонса (ББД)* — моноклональные легкие (mL) цепи иммуноглобулинов, которые продуцируют плазмцитомы и выделяют их в кровь. Поскольку опухоли, в том числе и плазмцитомы, моноклональны, то их моноклональный продукт (mIg) заметно отличается от высокогетерогенных иммуноглобулинов нормаль-

Гибридома — гибридная клетка, полученная в результате слияния опухолевой лимфоидной клетки и клетки из селезенки животного, которому предварительно вводили чужеродный белок, т.е. антителообразующей клетки. Гибридома обладает двумя очень важными свойствами: во-первых, она хорошо размножается, как опухолевая, во-вторых, синтезирует строго специфические (моноклональные) антитела, как клетка селезенки.

ной сыворотки крови и служит превосходным маркером этих новообразований. Кроме того, динамика mIg в крови и ББД в моче пациентов *до и в процессе* лечения оказывается высокочувствительным индикатором сохранения остаточного клона и доклиническим маркером рецидива опухоли.

Плазмцитомы, как и ее предшественник — плазмцит, — активный продуцент mIg и ББД. Но и В-клеточные лимфомы, особенно относящиеся к *хроническим В-клеточным лейкозиям*, образуют небольшие количества mIg и ББД, которые можно обнаружить специальными высокочувствительными реакциями и использовать для иммунодиагностики и мониторинга этих опухолей.

Долгие годы казалось, что серологические маркеры плазмцитом не имеют аналогов среди других опухолей. Обнаружение *α-*

фетопротейна (АФП) при раке печени животных и человека положило начало открытию ряда серологических маркеров солид-

Таблица 1
Опухолевые маркеры как дифференцировочные антигены

Антиген	Маркер опухоли	Дифференцировочный антиген	Причина продукции
Миеломный Ig, белок Бенс Джонса	Плазмцитомы и В-клеточные лейкозы	Моноклональные плазматические клетки и клоны В-лимфоцитов	Сохранение нормальной функции
Альфа-фетопротейн (АФП)	Герминальные опухоли	Висцеральная энтодерма желточного мешка.	Сохранение функции
	Гепатобластома Гепатоцеллюлярный рак	Гепатобласт Фетальный гепатоцит	Сохранение функции Возобновление эмбрионального синтеза
Раково-эмбриональный антиген (РЭА)	Коло-ректальные опухоли	Гликокаликс фетального и взрослого кишечного эпителия	Избыточная продукция и нарушение нормальной локализации в клетке
Мукопротеидный антиген (CA-125)	Рак яичников	Гликопротеин целомического эпителия	Избыточная продукция
Антиген простаты (PSA)	Рак простаты	Специфическая протеаза простаты	Избыточная продукция и нарушение путей секреции
Хорионический гонадотропин (β-цепь)	Герминальные опухоли, Хорионэпителиомы (ХЭ)	Специфический гормон хориона	Сохранение нормальной функции ХЭ элементов опухоли
Дифференцировочные антигены гемопозитических клеток (CD-антигены)	Различные формы опухолей кроветворной ткани	CD-маркеры кроветворных опухолей разных направлений и стадий дифференцировки	“Замороженные” стадии дифференцировки

ных опухолей (табл.1). Так, АФП указал на неизвестный ранее тип дифференцировочных антигенов — *онкофетальных*, т.е. тканеспецифических антигенов, в норме характерных только для эмбрионального периода, но появляющихся в опухолях. Вслед за АФП был открыт *раково-эмбриональный антиген* (РЭА) опухолей толстой и прямой кишки, который попадает в кровь и служит маркером новообразований кишечника. РЭА чаще других используют в клинике для оценки эффективности операции и для раннего выявления рецидивов (за месяцы до их клинического проявления). Это дает время (так называемое *lead time*), когда можно повторить операцию или начать химиотерапию. За раково-эмбриональным антигеном последовал мукопротеидный антиген (СА 125), образуемый опухолями яичника и также попадающий в кровь. Особую популярность получил серологический маркер *рака простаты* (PSA),

применяемый не только для дифференциальной диагностики и мониторинга, но и для обнаружения клинически не проявляющихся опухолей. Кроме перечисленных антигенов, природа и происхождение которых известны, равно как и причины их появления при определенных опухолях, имеется ряд антигенов опухолей поджелудочной железы, молочной железы, легких, изучаемых в настоящее время.

Принципиально важен вопрос о ранней диагностике опухолей по серологическим маркерам. Однако это зависит не столько от маркера, сколько от наличия *группы высокого риска* для данной опухоли. Там, где такие группы существуют, скрининг по серологическим маркерам дает хорошие результаты (табл.2). Например, обследование на α -фето-

протеин населения Китая в районе Шанхая, а также хронических носителей вируса гепатита В среди эскимосов Аляски выявило

больных раком печени без клинических симптомов и в операбельной стадии. Также целесообразно систематическое обследование на α -фетопротеин больных цир-

розом печени. Большую группу высокого риска по раку простаты составляют мужчины в возрасте старше 50 лет. Здесь использование серологического маркера позволяет обнаружить самые ранние стадии заболевания. В такую группу входят также оперированные или больные после химиотерапии. В этом случае необходимо выявить остаточный клон заболевания и клинически не проявляемые рецидивы. Все названные маркеры, как правило, дают время для своевременного вмешательства хирурга или химиотерапевта.

Современные тест-системы на опухолевые маркеры производят ведущие фармацевтические компании, составляющие солидную область фармацевтической промышленности. При этом

Таблица 2
Возможности серологических маркеров опухолей в иммунодиагностике рака

Маркер	Опухоль	Ранняя диагностика	Дифференциальная диагностика	Остаточный клон	Рецидив	Lead Time
АФП	Герминальные раки	— (нет групп высокого риска)	+++	+++	+++	месяцы
	Гепатобластомы	— (нет групп высокого риска)	+++	+++	+++	+
	Гепатоцеллюлярные раки	+	++	++	+++	++
		у носителей HBV*, Небольшое перекрытие с гепатитами и циррозами печени				
РЭА	Колоректаль. карциномы	++	++	+++	+++	
PSA	Рак простаты	+++ (в группе риска)	+++	++	+++	++
СА125	Рак яичников	?	++	++	++	++
mIg и блок Бенс Джонса	В-клеточные неоплазии	—	+++	++	+++	++

Здесь и далее:

++++ широкое клиническое применение

+++ клиническое применение

++ клиническое применение в отдельных случаях

+ положительные результаты в отдельных исследовательских группах

* HBV — вирус сывороточного гепатита.

иммунодиагностика рака открыта для поисков новых маркеров и разработки новых методов их определения.

Иммунопрофилактика

Общий принцип иммунопрофилактики опухолей основан на усилении *иммунологического надзора* над их возникновением. Согласно концепции, предложенной Ф.Бернетом еще в период становления иммунологии рака (1959—1964), контроль за возникающими опухолями может осуществлять приобретенный иммунитет. Однако обычная частота возникновения опухолей у бестимусных мышей, не способных вырабатывать иммунитет, напротив, резко усилила внимание к факторам врожденного иммунитета. Такой подход получил и дополнительные стимулы в экспериментах, показавших, что спонтанные опухоли, в отличие от вирусных и вызванных химическими канцерогенами, либо низкоиммуногенны, либо вовсе не индуцируют иммунитет. В то же время опыты на животных с подавленной естественной резистентностью обнаружили высокий и универсальный врожденный иммунитет в контроле над малыми популяциями опухолевых клеток. Известно, что факторы естественной резистентности эффективно контролируются **цитокинами**. Но детали этого контроля, тем более его механизмы,

еще недостаточно изучены, чтобы их можно было использовать в иммунопрофилактике опухолей. Однако в случае, когда развитие опухолей включает этап вирусной инфекции, такая иммунопрофилактика вполне реальна.

В настоящее время известно несколько типов опухолей человека, возникновение которых связано с вирусами (табл.3). При этом необходимо подчеркнуть, что речь идет не о стопроцентной и однозначной зависимости “вирус—рак”, а о формировании групп высокого риска по определенной форме рака среди людей, зараженных вирусом или его хронических носителей. Это относится к тем вирусам, для которых доказана специфическая ассоциация с конкретными опухолями. Противовирусная вакцинация в группах риска уже дает ощутимые результаты, например, в случае вируса сывороточного гепатита В (HBV). Этот вирус и его хроническое носительство охватывают огромные районы мира (Юго-Восточную Азию, Африку, Аляску), где создают огромную группу риска по раку печени. Там вирус передается от матерей новорожденным при родах и в первые дни кормления, а вакцинация должна прервать циркуляцию вируса от матери к

Цитокины — низкомолекулярные пептиды, контролирующие активность клеток иммунной системы — макрофагов, нейтрофилов, В- и Т-лимфоцитов, NK-клеток и тучных клеток.

потомству.

Разработаны эффективные вакцины против вируса сывороточного гепатита В. Уже более 10 лет Всемирная Организация Здравоохранения проводит широкую программу вакцинации новорожденных против HBV в Юго-Восточной Азии, в Гамбии и среди эскимосов Аляски. Хронические носители гепатита В — это группа очень высокого риска для первичного рака печени. Кроме того, если она совпадает с потреблением *афлатоксина*, мощного печеночного канцерогена, находящегося в арахисе, зараженном плесневым грибом *Asp. flavus*, то риск возрастает в десятки раз. Первичный рак печени в этих районах мира занимает одно из первых мест по частоте. Ожидается, что программа вакцинации против сывороточного гепатита В поможет снизить заболеваемость раком не меньше, чем программа борьбы с курением.

В последнее десятилетие получены доказательства связи вирусов папилломы (HPV) 16 и 18 типов с раком шейки матки. Здесь, также как и при гепатите, речь идет о группе высокого риска — носителей HPV. Очевидно, что “остановка” этого вируса и, возможно, его искоренение снизит такую, весьма распространенную, форму рака. В настоящее время ведутся работы по созданию анти-HPV вакцины.

Хотя вакцинация против вируса Т-клеточной лейкемии человека (HTLV-I) в принципе возможна, но ввиду ограниченного

Таблица 3
Иммунопрофилактика вирусных опухолей человека

Опухоль	Ассоциированный вирус	Вакцинация	Ожидаемый эффект
Первичный рак печени	Вирус гепатита В (HBV) Вирус гепатита С (HCV)	+++ (Юго-Восточная Азия, Африка — Гамбия)	Снижение заболеваемости
Рак шейки матки	Вирусы папиллом человека 16 и 18 типов (HPV)	В разработке	Снижение заболеваемости
Лимфома Бэркитта Рак носоглотки; Лимфогрануломатоз	Вирус Эпштейна-Барр	В разработке	Снижение заболеваемости
Т-клеточная лимфома	Вирус HTLV-I	—	—
Саркома Капоши	Вирус KSHV	—	?

распространения опухолей, вызываемых этим вирусом, сейчас не проводится. Скорее всего, ее будут использовать в районах, эндемичных для этого вируса.

В самые последние годы большое внимание привлекли вирусы группы герпеса. Помимо хорошо изученной и твердо доказанной роли вируса Эпштейна—Барр (EBV) в этиологии африканской лимфомы Бэркитта и карциномы носоглотки, распространенной в Юго-Восточной Азии, этот вирус оказался связан с широко известной лимфомой Ходжкина, или лимфогранулематозом. Очевидно, что вакцинация против EBV — назревшая проблема, и сейчас ведутся работы.

Совсем недавно из группы герпеса выделен еще один вирус, ассоциированный с так называемой саркомой Капоши (KSHV). Его специфика в том, что он активируется у иммунодефицитных больных, в частности, при СПИДе. Это, конечно, резко осложняет вакцинацию против герпеса KSHV, а в группе больных СПИДом она вообще нецелесообразна.

Такова современная ситуация с иммунопрофилактикой вирусных опухолей человека.

Иммунотерапия

Моноклональные антитела, стремительно вошедшие в иммунологию в конце 70-х — начале 80-х годов, казались бы специально созданы для иммунотерапии рака — как для обнаружения специфических мишеней на опухолевых клетках, так и для их направленного поражения. Предполагали, что разработанная технология получения иммунотоксинов

для прямого и непрямого воздействия на опухоль или для привлечения к опухоли и активации Т-киллеров должна обеспечить специфическую иммунотерапию опухолей на основе антител. Однако лишь немногие антигены клеточной поверхности, которые могли бы служить более или менее специфическими мишенями для антител, например, раково-эмбриональный антиген или идиотипические (т.е. специфические для Ig, продуцируемого данным клоном лимфоцитов) детерминанты иммуноглобулинов при В-клеточных лимфомах, привели пока к очень ограниченному применению моноклональных антител или иммунотоксинов в иммунотерапии рака (табл.4).

Как мы уже говорили, главная роль моноклональных антител — в иммунофенотипировании гемобластозов. Столь же эффективно их используют и в иммунодиагностике на серологические маркеры опухолей. Ближе всего к иммунотерапии приближаются работы по локализации опухолей и метастазов с помощью моноклональных антител или их активных фрагментов, меченных радиоактивными изотопами. Этим способом можно выявить небольшие метастазы в организме, а в некоторых случаях накопить терапевтические дозы радиоизотопа в опухоли или метастазах. Антиген, используемый в качестве мишени в этих исследованиях — раково-эмбриональный, а соответственно, наиболее богатые им опухоли — ободочной и толстой кишки, а также щитовидной железы. Однако эти работы, несмотря на самый серьезный характер, еще не вошли в клиническую практику.

Иммунотерапия опухолей на основе Т-клеточного иммуните-

та, почти замершая к 80-м годам, получила мощный стимул в работах С.Розенберга, который показал терапевтический эффект ростового фактора Т-клеток (IL-2) на метастатических меланомах и опухолях почки. Используя Т-лимфоциты, накапливающиеся в опухолях (TIL), он активировал их IL-2 и вместе с этим цитокином вводил больному. Подходы, предложенные Розенбергом, используют в клинике, хотя и весьма ограниченно из-за высокой токсичности ростового фактора и непредсказуемости эффекта в конкретных ситуациях. Но эти работы стали началом для применения цитокинов в терапевтических целях, а также для поисков противораковых вакцин на основе цитокинов.

Попытки вакцинации против опухолей почти полностью прекратились уже к 70-м годам по нескольким причинам. Во-первых, из-за твердо установленного факта неиммуногенности спонтанных опухолей у животных (а большинство опухолей человека именно такие), во-вторых, из-за отсутствия четких реакций Т-клеток на собственные опухоли и, наконец, из-за способности опухолей терять в ходе роста иммуночувствительность. Невозможность проводить эксперименты *in vivo* и отсутствие тестов, позволяющих изучать взаимодействие Т-клеток с антигенами в бесклеточных системах, служат основным препятствием в идентификации специфических опухолевых антигенов, ответственных за противоопухолевую реакцию организма человека. Т-лимфоцит может узнать антиген только если он фрагментирован и представлен в комплексе с презентующей молекулой — МНС I или II класса. Фрагментация и образование комплекса с презентующей молекулой происходят лишь в живой клетке. Кроме того, для индукции иммунного ответа на клетке-мишени должна присутствовать молекула *костимулятора* (например, B7), без которых иммунитет не возникает. Со стороны Т-клетки в этом процессе участвуют несколько молекул — ан-

Таблица 4
Моноклональные антитела в онкологии

Имунофенотипирование гемобластозов	++++
Имуногистохимический диагноз	+++
Радиоиммунолокализация метастазов	++
“Очистка” костного мозга от микрометастазов	++
Имунотоксины	+

Таблица 5
Пути иммунотерапии

Воздействия	Фактор	Эффект	Клиника
Цитокины	IL-2	+ + (непредсказуемый)	изучение
	IL-12	+ (*)	изучение
	TNF	+ (*)	изучение
Вакцины	Молекулярно-генетические (COA, B7, IL-2)	++ (*)	изучение

(*) на экспериментальных моделях

тиген-распознающий рецептор (TCR), корецепторы CD8 или CD4, узнающие презентирующую молекулу, комплекс молекул CD3, передающий сигнал внутрь клетки, и другие рецепторы, необходимые для прочного взаимодействия двух живых клеток. Все это принципиально отличает такую систему от системы антиген—антитело.

Открытие цитокина IL-2, способного в присутствии антигена поддерживать рост и размножение антиген-специфических Т-клеточных клонов, дало исследователям объективный и тест для определения опухолевых антигенов, способных вызывать специфический Т-клеточный иммунитет. Более того, путем переноса опухолевой ДНК можно получить клеточные линии, содержащие гены, которые контролируют антигены, ответственные за противоопухолевый иммунологический ответ. Тем самым появилась возможность определять и клонировать гены, кодирующие специфические опухолевые антигены.

Открытие костимуляторных молекул семейства В-7 и клонирование их генов позволило подойти к созданию генетических противоопухолевых вакцин на основе вирусов, бактериальных или опухолевых клеток, несущих гены специфических для данной опухоли антигенов (COA), одновременно с генами цитокинов, активирующих Т-клетки, и генами костимуляторов иммунитета. Индуцированные таким способом Т-киллеры будут уничтожать любые клетки, имеющие соответствующие антигены, независимо от того, есть ли в них костимуляторные молекулы или нет.

К настоящему времени наиболее детально изучены иммунизирующие антигены меланом человека и обнаружены неизвестные ранее семейства генов, экспрессирующиеся в меланомах, некоторых других опухолях и в тканях яичка, т.е. контролируемые дифференцировочные антигены, сходные с онкофетальными антигенами. Они относятся к генетическим семействам, названным MAGE и BAGE. Соответствующие антигены индуцируют специфические клоны Т-киллеров. Одновременно идентифицированы гены дифференцировочных антигенов меланоцитов, иммуногенные в организме человека. Генетические вакцины дают впечатляющие результаты на экспериментальных моделях и в настоящее время проходят клинические испытания (табл. 5).

Очень перспективно, хотя еще не применяется в клинике, использование цитокинов, особенно IL-2 и IL-12 для иммунотерапии опухолей.

* * *

Итак, подведем итог положительного участия современной иммунологии рака в решении проблем онкологии. Во-первых, это иммунодиагностика ряда опухолей, включая иммунофенотипирование, ставшее обычной процедурой в специализированных клиниках. Затем — возможная иммунопрофилактика некоторых форм рака, связанных с вирусной инфекцией, на основе противовирусной вакцинации: это прежде всего рак печени, в ближайшем будущем — рак шейки матки, а в пер-

спективе — лимфома Бэркитта, рак носоглотки и лимфогранулематоз. Кроме того, большие надежды возлагаются на противораковые генетические вакцины и цитокиновую терапию опухолей. Сегодня эти работы составляют одно из важнейших направлений в онкологии. ■