

## РОЗДІЛ 16. ПРОТИПУХЛИННИЙ ІМУНІТЕТ

Онкологічні захворювання є серйозною медико-соціальною проблемою в усьому світі, оскільки вважаються серед хвороб другою (після серцево-судинних захворювань) причиною смертності населення земної кулі.

Причиною виникнення злоякісних пухлин є соматичні мутації, що виникають під впливом ендо- та екзогенних канцерогенів: фізичних, хімічних, біологічних. Ріст злоякісних новоутворень визначається проліферативною активністю пухлинних клітин, а також їх здатністю проникати в здорові тканини й давати метастази у віддалені органи. Крім того, злоякісні пухлини здатні виходити з-під імунного контролю організму хазяїна.

Ідея про роль імунної системи в захисті від пухлин була висловлена ще на початку ХХ ст. П. Ерліхом, а згодом розвинена Ф. Бернетом у створеній ним у 60-х роках теорії "імунного нагляду" як основної фізіологічної функції імунної системи. Ця теорія ґрунтується на постулаті про еволюційне формування системи імунітету для збереження антигенного гомеостазу шляхом елімінації всіх генетично чужорідних клітин і передусім трансформованих. Згідно з цією теорією, імунна система, особливо її Т-клітинна ланка, здебільшого знищує пухлини на стадії бластомного зародка, ще до появи клінічних проявів, однак має велике значення, як припускав автор, також для затримання росту пухлин, що розвиваються, і для регресії вже розвинених пухлин.

Для підтвердження ролі імунної системи в захисті від пухлин наводилися факти клінічних та експериментальних спостережень:

- зародки пухлини в органах і тканинах виявляються при патологогістологічних дослідженнях у десятки разів частіше, ніж клінічно визначувані пухлини;

- досить часто пухлини, що не метастазують, інфільтруються лімфоцитами, а лімфатичні вузли, які дрениують ділянку їх росту, зазнають гіперплазії аналогічно тим, що відповідають на антигенне подразнення;

- можлива спонтанна регресія пухлин, яка частіше реєструється щодо більш імуногенних пухлин;

- злоякісні пухлини частіше виникають у ранньому дитячому віці, коли імунна система ще повністю не сформувалася, і в похилому віці, коли вона вже ослаблена;

- пухлини часто розвиваються в осіб з природженою та індукованою імуносупресією (у хворих з вродженими імунодефіцитами та реципієнтів чужорідних органів). Пригнічення імунної реактивності в експериментальних тварин збільшує частоту виникнення пухлин і прискорює їх ріст.

Слід зазначити, що взаємозв'язки між імунною системою і пухлиною та результируючий ефект визначаються багатьма факторами. Імунна відповідь при злоякісному рості та формування імунітету до пух-

лин мають свої особливості. По-перше, протипухлинна імунна відповідь здійснюється відносно певних типів антигенів пухлин. По-друге, протипухлинну імунну відповідь здійснюють різні ланки імунітету: природна і набута, клітинна і гуморальна. По-третє, розвиток протипухлинних адаптивних імунних реакцій за клітинним типом є ефективним для знищення пухлинних клітин. Розвиток імунної відповіді у бік гуморальних адаптивних реакцій є так званим „імунним відхиленням”, і, як правило, спрямовує імунну відповідь у неефективному напрямку. По-четверте, пухлини використовують різноманітні стратегії для уникнення і гальмування активності імунної відповіді а також використовують певні механізми імунітету для забезпечення власних потреб. По-п'яте, надмірна активація протипухлинного імунітету за певних обставин може призводити до розвитку аутоімунних реакцій. Такими аутоімунними реакціями є розвиток вітіліго при меланомі, паранеопластичні артрити, паранеопластична нейродегенерація, синдром Шегрена, дерматоміозит та системна склеродермія.

Роль імунного нагляду в запобіганні розвитку не індукованих вірусами пухлин ставиться під сумнів, оскільки такі пухлини не виникають частіше у Т-клітинодефіцитних тварин і людей. Концепція “імунного нагляду” виразніше вимальовується для пухлин, що індуковані ДНК-вмісними вірусами, ніж для інших типів пухлин. Ефективність імунного нагляду щодо пухлин, індукованих дуже поширеними ДНК-вмісними вірусами, пояснюється тим, що в процесі тривалого співіснування вірусів з їхнім хазяїном відбувся такий відбір (на наявність відповідних генів імунної відповіді) серед останніх, що їх нащадки здатні розвивати ефективну імунну відповідь на індуковані вірусом пухлинні антигени. Спонтанні пухлини у людей часто здатні інтенсивно рости і призводити до смерті хазяїна. І хоча на сьогодні специфічні пухлинні антигени ідентифіковано лише для деяких пухлин, усе-таки, очевидно, причиною прогресування пухлин не завжди є відсутність таких антигенів і навіть не їхня неімуногенність. Навіть за умови імуногенності пухлини імунна відповідь може виявитися неефективною, що зумовлено здатністю пухлини мобілізувати захисні та імуносупресивні механізми, за допомогою яких вона може виходити з-під імунного нагляду.

Деякі характеристики антигенів пухлин та імунної відповіді на пухлини є фундаментальними для розуміння протипухлинного імунітету та розробки стратегій протипухлинтипухлинної терапії.

### **16.1. АНТИГЕНИ ПУХЛИН**

Пухлинні антигени визначають чужорідність пухлини для організму і є матеріальним субстратом розвитку імунної відповіді. Однак пошуки пухлинних антигенів упродовж тривалого часу не мали успіху, що пояснюється відсутністю чистолінійних тварин та відповідних методів досліджень. Уперше існування пухлинних антигенів було до-

ведено в 50-х роках ХХ ст. (Прен, Мейн) в експериментах з трансплантації індукованої метилолантреном (МХА) пухлини в інбредних мишей. А на початку 60-х років був ідентифікований перший пухлинний антиген, що асоціюється з карциномою печінки.

**Методи ідентифікації пухлинних антигенів.** Згідно з сучасними уявленнями, певну субстанцію можна назвати пухлинним антигеном, якщо вона продукується пухлинною клітиною і розпізнається специфічними ефекторними Т-клітинами та/ чи антитілами. З урахуванням цього розроблено методи ідентифікації пухлинних антигенів.

Антигени пухлин, які розпізнаються Т-лімфоцитами, можна виявити ідентифікацією пептидів, які розпізнаються пухлиноспецифічними ЦТЛ. Визначення антигенних пептидів на поверхні клітини проводять за допомогою клонових ліній ЦТЛ, які отримують з лімфоцитів периферичної крові пацієнта чи з лімфовузлів, що дрениують пухлину, культивуючи їх з пухлинними клітинами і стимулюючи ІЛ-2. Зазначимо, що пухлинні антигени, які розпізнаються ЦТЛ, є невеликими пептидами, що процесуються з клітинних білків і презентуються в комплексі з молекулами МНС І.

Для ідентифікації антигенів пухлин, які розпізнаються Т-лімфоцитами, використовують два підходи - прямий і непрямий.

Прямий, біохімічний, підхід полягає у виділенні пептидів, зв'язаних з МНС І пухлинних клітин (у буфері з низьким рН), фракціонуванні їх суміші за допомогою високороздільної рідинної хроматографії зі зворотною фазою (*high-performance liquid chromatography (HPLC)*). Далі проводять тестування отриманих пептидних фракцій на здатність сенсibiliзувати непухлинні клітини з відповідними МНС І до лізису пухлиноспецифічними клонами ЦТЛ. Пептидні фракції, які індукували лізис цих клітин ЦТЛ, аналізують за допомогою методу мас-спектроскопії, визначають їх амінокислотну послідовність і, порівнюючи її з даними про амінокислотну послідовність відомих білків, ідентифікують пептид пухлинного антигену.

Основою непрямого, генетичного, підходу ідентифікації пухлинних антигенів є молекулярне клонування генів, що кодують ці антигени. Він полягає у приготуванні кДНК-бібліотек з клітин пухлин та молекулярних конструктів генів бібліотеки, які сприяють експресії цих генів при внесенні в лінії клітин. Пулами ДНК таких бібліотек трансфекують нормальні клітини, ідентичні з пухлинними за алелями МНС І, і тестують трансфеговані клітини на чутливість до лізису специфічними ЦТЛ. Якщо клітини лізуються ЦТЛ, то це свідчить про те, що привнесені гени кодують саме ті антигенні пептиди, які розпізнаються ЦТЛ. Унаслідок багатьох таких послідовних трансфекцій, в яких використовують все більш обмежений набір фракцій пулу ДНК, виділяють окремі гени, які кодують антигени пухлин, і проводять ідентифікацію їх, порівнюючи з генами відомих антигенів.

Біохімічний і генетичний підходи були успішно застосовані для виявлення антигенів меланоми, які індукують ЦТЛ-залежну відповідь у хворих з цією пухлиною.

Антитіла, на відміну від Т-клітин, розпізнають пухлинні антигени в нативній конформації незалежно від молекул МНС, зв'язуючись як з пептидними, так і з непептидними епітопами. Пухлиноспецифічні антитіла виявляються в сироватці крові онкологічних хворих. З урахуванням цього розроблено стратегію пошуку пухлинних антигенів, яку назвали SEREX (*serological analysis of recombinant cDNA expression libraries*). Технологія SEREX полягає у виділенні з пухлинної тканини пулу загальної мРНК, створенні з нього фагової ДНК-експресуючої бібліотеки антигенів пухлини з наступним інфікуванням отриманими фагами *E.coli*. Продуковані бактеріями різні антигени пухлинних клітин досліджують на реактивність із сироваткою хворого - донора пухлини, а також сироватками хворих з подібною патологією на наявність специфічних до пухлинних антигенів антитіл. За технологією SEREX було визначено кілька антигенів пухлин, як відомих, так і невідомих, зокрема карциноми стравоходу і меланоми (NY-ESO-1, HOM-MEL-40, MAGЕ-1).

**Характеристика антигенів пухлин.** На сьогодні ідентифіковано багато антигенів, що експресуються в пухлинах різних типів і різняться за походженням та ступенями специфічності для пухлин. Традиційно антигени пухлин поділяють на дві великі категорії: пухлиноспецифічні антигени (ПСА) та пухлиноасоційовані антигени (ПАА).

*Пухлиноспецифічними* називають антигени, що експресуються лише на пухлинних, але не на нормальних клітинах. Деякі з цих антигенів унікальні для індивідуальних пухлин. ПСА утворюються в разі випадкових порушень геному. До ПСА належать антигени, утворені внаслідок точкових мутацій в онкогенах чи генах-супресорах пухлин, транслокації ДНК або порушення сплайсингу РНК (химерні білки), а також ідіотипічні антигенні детермінанти.

*Пухлиноасоційованими* називають пухлинні антигени, що експресовані також на нормальних клітинах. ПАА в основному представлені надмірно експресованими в пухлинах білками нормальних клітин. До ПАА відносять онкофетальні антигени, тканино-специфічні антигени пухлин, пухлиноспецифічні антигени диференціювання, пухлинні антигени зародкової тканини (Cancer-testis antigens), нормальні клітинні білки, що аберантно експресуються пухлинними клітинами, глікопротеїдні та гліколіпідні антигени. Окремо виділяють антигени, що походять з онкогенних вірусів.

**Продукти мutowаних протоонкогенів та генів-супресорів пухлин.** Багато пухлинних клітин експресують гени, продукти яких потрібні для злоякісної трансформації або для підтримання злоякісного фенотипу. Часто такі гени утворюються внаслідок точкових мутацій, делецій чи хромосомних транслокацій у протоонкогенах чи генах-

супресорах пухлин. Крім того, віруси, які містять протоонкогени людини можуть вбудовувати свою ДНК в ДНК клітин людини. Описані події призводять до утворення онкогенів, продукти яких мають трансформівну активність. Продукти змінених протоонкогенів та генів-супресорів пухлин синтезуються в цитоплазмі пухлинних клітин і подібно до інших цитозольних протеїнів вступають на МНС I-шлях презентації антигенів. Вони можуть вступати також на МНС II-шлях презентації антигену в професійних антигенпрезентувальних клітинах (АПК), які фагоцитували мертві пухлинні клітини. Оскільки ці змінені гени відсутні в нормальних клітинах, вони не індукують толерантність і тому пептиди, синтез яких вони кодують, можуть стимулювати Т-клітинну відповідь у тварини-хазяїна. У крові деяких онкологічних хворих виявляються CD4- та CD8T-клітини, які можуть відповідати на продукти мутованих протоонкогенів та генів-супресорів, таких як Ras, P53, Bcr-Abl.

**Ідіотипічні антигени пухлин.** Багато пухлин гематогенного походження (лейкози, лімфоми, міеломи) розвиваються при злоякісній клональній експансії В- чи Т-лімфоцитів. Ці пухлинні клітини експресують В-клітинні чи Т-клітинні рецептори (імуноглобуліни (Ig) чи TCR, відповідно), які є унікальними для індивідуальних клонів і функціонують як пухлино-специфічні антигени. У випадку В-клітинних лімфом і множинних міелом, ідіотипові детермінанти Ig можуть бути визначені і використані для створення вакцин.

**Онкофетальні антигени.** Онкофетальні антигени є білками, що у значній кількості експресуються в пухлинних клітинах і нормальних тканинах, які розвиваються. Вважають, що невдовзі після народження відбувається репресія генів, які кодують онкофетальні білки. Вони "мовчать" у нормі і дерепресуються під час злоякісної трансформації. Рівень експресії цих білків зростає в тканинах та у циркуляції під час різних запальних процесів. Їх можна також знайти у невеликій кількості навіть у нормальних тканинах. Найповніше охарактеризованими онкофетальними антигенами є раковий ембріональний антиген (PEA) та альфа-фетопротеїн (АФП).

PEA (CD66) - високоглікозильований інтегральний мембранний протеїн, що належить до суперродини імуноглобулінів. Це молекула адгезії, яка допомагає зв'язуванню пухлинних клітин між собою. У нормі висока експресія PEA характерна для клітин кишок, підшлункової залози й печінки плоду під час перших двох триместрів вагітності. Невеликий рівень експресії цього білка спостерігається у дорослих в епітелії товстої кишки та в молочній залозі в період лактації. Експресія PEA підвищується при більшості карцином товстої кишки, підшлункової залози, шлунка, молочної залози. У таких хворих підвищений також рівень PEA у крові. Показники рівня PEA в сироватці крові використовують для моніторингу персистенції чи рецидиву метастатичної карциноми після лікування. Разом з тим використання

PEA як діагностичного маркера для раку лімітована тим фактом, що сироватковий рівень експресії PEA може бути збільшений при таких захворюваннях неонкологічної природи, як хронічні запалення жовчного міхура та печінки.

АФП – це циркулюючий глікопротеїн, що в нормі синтезується і секритується під час ембріонального розвитку в жовтковому міхурі та печінці. Фетальні сироваткові концентрації білка можуть бути високі (2-3 мг/мл), але у дорослих цей білок заміщується на альбумін, і АФП виявляється в сироватці крові в слідових кількостях. Сироваткові рівні АФП можуть бути значно підвищені у пацієнтів з гепатоцелюлярною карциномою й іноді при раку шлунка та підшлункової залози. Збільшення рівня АФП може бути індикатором поширеного раку печінки або репродуктивних органів чи рецидиву процесу після лікування. Діагностичне значення АФП як маркера пухлин обмежується тим, що підвищення його рівня в сироватці спостерігають також при незлоякісних захворюваннях печінки, таких як цироз.

**Тканиноспецифічні антигени пухлин.** До цієї категорії антигенів відносять антигени, які експресуються певним типом тканин. До тканиноспецифічних антигенів пухлин відносять, наприклад, простата-специфічний антиген (*Prostate Specific Antigen (PSA)*), що експресується при карциномах простати; хоріонічний гонадотропін людини (*Human Chorionic Gonadotropin (HCG)*), що експресується при хоріокарциномі; білок НМВ-45, що експресується при меланомі і ангіоміоліпомі, тіреоглобулін, що експресується при пухлинах тіроїдних фолікулів.

**Пухлинноспецифічні антигени диференціювання.** Пухлинні клітини часто експресують молекули, що за нормальних умов наявні на клітинах, з яких вони походять. Ці антигени називають антигенами диференціювання, оскільки вони є специфічними для певної стадії диференціювання різних типів клітин. Наприклад, лімфоми можуть бути діагностовані як В-клітинного походження за наявністю поверхневих маркерів, характерних для цієї лінії, таких як CD10 (*common acute lymphoblastic leukemia antigen, CALLA*) та CD20. Специфічні до цих молекул МкАТ можна використовувати для імунотерапії лімфом.

**Пухлинні антигени зародкової тканини (*Cancer testis (CT) antigens*)** – експресуються пухлинами різних гістологічних типів з різною частотою (10-40%). За нормальних умов ці антигени експресуються лише тканиною яєчка (*testis*) чоловіків, плаценти, клітинами ЦНС. Завдяки сильній експресії цих антигенів у пухлинній тканині, вони є важливою категорією білків пухлин, які можна використати для створення протипухлинних вакцин. На сьогодні ідентифіковано приблизно 14 різних родин антигенів СТ. До антигенів СТ відносять антигени MAGE, BAGE, GAGE, NY-ESO-1/LAGE, SCP-1/HOM-Tes-14, CT9, CT10, SSX-2/HOMEL-40, SAGE, CAGE3. Клітинна локалізація антигенів СТ в основному цитоплазматична та/або ядерна. Характер

експресії різний: від поодиноких клітин до цілих кластерів клітин в гістологічних зрізах.

**Нормальні клітинні білки, що аберантно експресуються.**

Пухлинні антигени можуть бути нормальними білками клітин, що гіперекспресуються або аберантно експресуються пухлинними клітинами.

Одним з таких антигенів є тирозиназа - фермент, що бере участь в біосинтезі меланіну й експресується лише в нормальних меланоцитах і при меланомі. Як МНС I-рестриктовані CD8ЦТЛ, так і МНС II-рестриктовані CD4Т-клітинні клони від пацієнтів з меланомою розпізнають пептиди - похідні тирозинази. Видається дивним, що у пацієнтів взагалі існує імунна відповідь на нормальні власні антигени. Можливе пояснення цього полягає в тому, що за нормальних умов тирозиназа продукується в дуже малій кількості й у незначного відсотка клітин, які не можуть бути розпізнані імунною системою. Виявлення у пацієнтів специфічної відповіді Т-клітин на тирозиназу відкриває можливість використання тирозиназних вакцин для стимуляції імунної відповіді на меланому. Нині такі вакцини проходять клінічні випробування.

Ще одним прикладом гіперекспресії білка на поверхні трансформованих клітин є експресія значної кількості рецептора для епідермального фактора росту людини HER-2/neu-1, особливо при певних типах раку яєчника та молочної залози, а також збільшення експресії продукту онкогену Ras, що виявляється при певних типах раку простати, підшлункової залози.

**Змінені гліколіпідні та глікопротеїдні антигени.** Більшість експериментальних пухлин тварин і пухлин людини експресують збільшені кількості та/ або ненормальні форми поверхневих глікопротеїдів або гліколіпідів, що можуть бути діагностичними маркерами й мішенями для терапії. Зміна синтезу глікокон'югатів (як наслідок порушення регуляції експресії відповідних ензимів) призводить до появи нових пухлинних антигенів. Частина з них може стати чужорідними. Їх утворенню сприяють такі процеси, як неповний синтез або реорганізація в структурі глікокон'югатів. Ці змінені молекули містять гангліозиди, антигени груп крові та муцини. Деякі ознаки злоякісного фенотипу пухлин, у тому числі інвазія в тканини й метастатична поведінка, можуть бути опосередковані зміненими властивостями клітинної поверхні, що є наслідком зміненого синтезу глікопротеїдів чи гліколіпідів.

*Муцини* - глікопротеїди з великою молекулярною масою, що містять численні О-сполучені вуглеводні бічні ланцюги. Кілька муцинів мають діагностичну цінність, наприклад MUC-1, CA-125 та CA-19-9, які експресуються при карциномах молочної залози, яєчника та товстого кишечника відповідно. На відміну від інших муцинів MUC-I є інтегральним мембранним протеїном, який у нормі експресований на апі-

кальній поверхні епітелію проток молочної залози і тому ізольованої від імунної системи. У карциномах молочної залози, що походять з епітелію протока, спостерігається деполаризація експресії муцину, а також експресія нових вуглеводів.

Серед гліколіпідів, що експресовані в значній кількості при меланомах, є *гангліозиди* GM2, GD2 та GD3. Нині у пацієнтів з меланоною проводять клінічні випробування з використанням вакцин, що містять антиген GM2, а також анти-GM2 та анти-GD3 терапевтичних МкАТ.

**Пухлинні антигени, що кодуються геномами онкогенних вірусів.** Продукти онкогенних вірусів виконують роль пухлинних антигенів та індуюють специфічні Т-клітинні відповіді. На відміну від МХА-індукованих пухлинних антигенів, що є продуктами випадково мутованих клітинних генів, кодовані вірусом антигени не є унікальними для кожної пухлини, а експресуються різними пухлинами, індукованими одним і тим самим вірусом.

ДНК-вмісні віруси є причиною розвитку різних пухлин у експериментальних тварин і людей. У більшості індукованих ДНК-вмісними вірусами пухлин кодовані вірусом антигени містяться в ядрі, цитоплазмі чи плазматичній мембрані пухлинних клітин. Ці ендогенно синтезовані білки можуть бути процесовані, а комплекси їхніх пептидів з молекулами класу МНС I - експресуватися на поверхні пухлинних клітин. Оскільки вірусні пептиди є чужорідними антигенами, вірусіндуковані пухлини є найбільш імуногенними.

Здатність адаптивного імунітету запобігати розвитку ДНК-вірусіндукованих пухлин було доведено в багатьох експериментах та клінічних спостереженнях. Показано, що паповавіруси (в тому числі поліомавіруси і мавпячий вірус SV40) та аденовіруси індуюють розвиток злоякісних пухлин у неонатальних тварин та дорослих тварин з імунодефіцитом.

У людей асоційовані з герпесвірусом Епштейн-Барр В-клітинні (ВЕБ) лімфоми та асоційовані з вірусом папіломи людини (HPV) раки шкіри найчастіше виникають у імуносупресованих пацієнтів, таких як реципієнти алогографних трансплантатів та хворі на СНІД.

Імунізація імунокомпетентних тварин вірусом SV40 та аденовірусом сприяє розвитку протективного імунітету до пухлин, індукованих дією кожного вірусу.

Отже, компетентна імунна система здатна розпізнавати та елімінувати вірусіндуковані пухлинні клітини. Сильна імунна відповідь проти вірусіндукованих пухлин відображає той факт, що ДНК-вмісні віруси продукують білки, які є чужорідними для хазяїна і розпізнаються ЦТЛ, фізіологічна функція яких - захист від вірусної інфекції.

РНК-вмісні віруси (ретровіруси) є однією з основних причин розвитку онкологічних захворювань у тварин. Продукти ретровірусних онкогенів теоретично мають ті самі потенційні антигенні властивості,



що й мутовані клітинні онкогени. До цих антигенів експериментально спостерігалися гуморальні та клітиноопосередковані імунні відповіді. Один з добре вивчених РНК-вірусів людини є Т-клітинний лімфотропний вірус людини (HTLV-1), етіологічний агент Т-клітинного лейкозу/лімфоми дорослих людей. Незважаючи на те, що наявність специфічної до антигенів HTLV-1 імунної відповіді було виявлено в інфікованих вірусом індивідів, невідомо, чи відіграють вони будь-яку роль у протективному імунітеті проти розвитку пухлин. Більше того, пацієнти з гострим Т-клітинним лейкозом дуже часто мають сильну імуносупресію, можливо, через те, що вірус інфікує CD4Т-клітини й індукує в них функціональні порушення.

Отже, антигени, що експресуються в пухлинах, мають різне походження і різняться за ступенем специфічності для пухлини, а також за ступенем чужорідності для організму та імуногенністю. Серед них є продукти нормальних генів (тканиноспецифічні й нетканиноспецифічні для пухлини), експресія яких різко збільшена в пухлинах, однак вони також експресуються постійно чи на певних етапах розвитку організму в нормальних тканинах. Одні з цих антигенів не є чужорідними і не здатні індукувати імунну відповідь, проте в зв'язку з гіперекспресією пухлинними клітинами можуть використовуватися як діагностичні маркери (онкофетальні антигени) і/або як мішені для терапії (антигени диференціювання). Проте найважливішими щодо індукування імунітету є пухлинні антигени – продукти мутованих (під дією хімічних та фізичних канцерогенів) нормальних клітинних генів і продукти онкогенних вірусів.

## **16.2. МЕХАНІЗМИ ЗНИЩЕННЯ ПУХЛИННИХ КЛІТИН**

У забезпеченні протипухлинного захисту беруть участь обидві складові імунної системи - антигенспецифічна, переважно її Т-ланка і меншою мірою - В-ланка, та неспецифічна (природні фактори захисту), основою якої є функціонування макрофагів і природних кілерів. Специфічна реактивність імунної системи залежить від пухлинного антигену і виявляється щодо вже сформованого пухлинного зародка. Фактори природного імунітету можуть реагувати проти окремих пухлинних клітин незалежно від експресії ними пухлинних антигенів. У боротьбі з пухлинами (як і в боротьбі з агентами зовнішньої біологічної агресії - мікробами) між цими двома складовими імунної системи встановлюються двоспрямовані взаємозв'язки, їх дієві фактори вступають у тісну взаємодію, що посилює інтенсивність відповіді організму. Так, макрофаги є важливими для ініціювання імунної відповіді, а продуковані Т-лімфоцитами цитокіни та В-лімфоцитами антитіла стимулюють протипухлинну активність макрофагів і НК-клітин, спрямовуючи їхні функції на знищення пухлинних клітин.

При цьому слід зазначити, що роль різних ефекторних факторів у знищенні пухлин є нерівнозначною, залежить від типу пухлин і в сис-

темі *in vivo* на сьогодні ще з'ясована не повністю. Далі стисло описано механізми знищення пухлин за участю імунних та неспецифічних факторів.

**НК-клітини.** НК-клітини вбивають багато типів пухлинних клітин, особливо клітини, що мають знижений рівень експресії молекул МНС I і можуть уникати опосередкованого ЦТЛ лізису. *In vitro* НК-клітини можуть лізувати інфіковані вірусами клітини, а також клітини певних пухлинних ліній, особливо гемопоетичні пухлинні клітини. НК-клітини реагують також на відсутність молекул МНС I, оскільки розпізнавання/взаємодія з молекулами МНС I призводить до генерації інгібіторних сигналів для НК-клітин через рецептори KIR. Відомо, що деякі пухлини втрачають експресію молекул МНС I, можливо, як результат селекції, оскільки МНС I-клітини розпізнаються ЦТЛ. Ці зміни роблять пухлини особливо зручними мішенями для НК-клітин. НК-клітини можуть також розпізнавати пухлинні клітини завдяки поверхневій експресії останніми молекул стресу – MIC A, MIC B, UL16. Ці структури розпізнаються відповідними активуючими МНСI-подібними рецепторами НК – NKG2D. Крім того, НК-клітини можуть бути залучені до кілінгу вкритих IgG клітин-мішеней через свої рецептори до Fc-фрагментів (CD16). Основним механізмом кілінгу клітин-мішеней НК-клітинами є перфоринзалежний цитоліз. Цитотоксична активність НК-клітин збільшується за допомогою цитокінів, включаючи ІФН, ІЛ-2, ІЛ-12. Протипухлинні ефекти цих цитокінів частково зводяться до стимулювання активності НК. ІЛ-2-Активовані НК-клітини, які називають ЛАК (лімфокін-активовані клітери), отримують культивуванням клітин периферичної крові чи пухлино-інфільтруючих лімфоцитів (ПІЛ) від онкохворих з ІЛ-2 у високих концентраціях.

**НКТ-клітини.** НКТ-клітини поєднують у собі властивості НК-клітин і Т-клітин, проте їх відносять до неспецифічної ланки імунного захисту. Ці клітини експресують напівконсервативний Т-клітинний рецептор, що розпізнає фрагменти антигенів гліколіпідного походження, що представляються на поверхні АПК і клітин-мішеней в комплексі з МНС I-подібними молекулами – CD1d. Крім того, подібно до НК-клітин, НКТ-клітини експресують рецептор NKG2D, за допомогою якого розпізнають молекули стресу на злоякісно трансформованих клітинах. НКТ-клітини знищують клітини-мішені за перфорин-гранзимовим і Fas-FasL-залежним механізми.

**Макрофаги.** Роль макрофагів у протипухлинному імунитеті в основному доведено за допомогою експериментів *in vitro*. Активовані макрофаги можуть лізувати пухлинні клітини різних ліній. Як саме макрофаги активуються пухлинами, невідомо. Можливі механізми включають пряме розпізнавання деяких поверхневих антигенів пухлинних клітин і активацію макрофагів ІФН- $\gamma$ , який продукується пухлиноспецифічними Т-клітинами. Макрофаги можуть вбивати клітини-мішені

за допомогою різних механізмів, можливо, таких самих, як механізми знищення інфекційних мікроорганізмів. Ці механізми включають вивільнення лізосомальних ферментів, реактивних кисневих похідних та NO. Активовані макрофаги продукують також цитокін ФНП, який може індукувати загибель пухлинних клітин. ФНП може вбивати пухлинні клітини прямо й опосередковано. Прямий токсичний вплив здійснюється через зв'язування ФНП з рецепторами пухлинних клітин, що активують сигнальні шляхи, які призводять до розвитку апоптозу. Непрямий спосіб ФНП-залежного некрозу пухлин полягає в індукуванні тромбозу кровоносних судин і порушенні васкуляризації.

В експериментах з використанням тварин було отримано непрямі свідчення можливої протипухлинної активності макрофагів *in vivo*. Так, введення тваринам речовин, що активують макрофаги, призвело до пригнічення росту трансплантованих пухлинних клітин, а порушення функції макрофагів шляхом ін'єкції антимакрофагальної сироватки - до стимулювання їх росту. В онкохворих макрофаги часто інфільтрують солідні пухлини, причому у високоімуногенних і неметастазуючих пухлинах їх кількість більша, ніж у слабоімуногенних та метастазуючих. Однак макрофаги, виділені безпосередньо з пухлини, виявляють *in vitro* знижену протипухлинну активність порівняно з активованими макрофагами, отриманими від здорових тварин, що зазнавали впливу стимулювальних агентів. Вважають, що активність макрофагів *in vivo* може пригнічуватися самою пухлиною внаслідок виділення супресивних факторів або блокувальними факторами, зокрема, комплексами розчинного пухлинного антигену з антитілами, надлишок яких може насичувати FcR макрофагів і зумовлювати їх параліч (позбавляти макрофаги протипухлинної активності). Показано, що у людей і тварин пухлинний ріст часто супроводжується пригніченням тестованого *in vitro* хемотаксису моноцитів. Очевидно, пухлини можуть гальмувати міграцію моноцитів, протидіючи їх зосередженню в ділянці локалізації новоутворення.

**$\alpha\beta$ T-Лімфоцити.** Головний механізм імунітету до пухлин - вбивство пухлинних клітин за допомогою CD8ЦТЛ.

Здатність ЦТЛ розвивати ефективну протипухлинну імунну відповідь *in vivo* дуже добре видно в експериментах з використанням тварин, що є носіями пухлин, індукованих дією канцерогенів та ДНК-вмісних вірусів. ЦТЛ можуть виконувати функцію нагляду, розпізнаючи та вбиваючи злоякісні клітини, що експресують пептиди, які походять з мутантних клітинних білків чи вірусних протеїнів і презентуються в комплексі з молекулами МНС класу I. Пухлиноспецифічні ЦТЛ можна ізолювати у тварин і людей з виявленими пухлинами, наприклад, меланомами. Більше того, мононуклеарні клітини з інфільтратів ділянки запалення, які називають пухлино-інфільтрівними лім-

фоцитами (ПЛ), містять також ЦТЛ зі здатністю лізувати пухлину, з якої їх виділяють.

CD8Т-лімфоцити визрівають у тимусі, а коли виходять з нього і проникають у периферичні лімфоїдні тканини, - вони ще не повністю диференційовані CD8<sup>+</sup> цитотоксичні Т-клітини. Їх часто називають "пре-ЦТЛ". Ініціювання відповіді ЦТЛ потребує активації наївних пре-ЦТЛ до проліферації та диференціювання в ефекторні клітини. Як відомо, перший сигнал до активації наївні CD8Т-клітини отримують через розпізнавання антигену, що завжди асоційований з МНС класу I у вигляді процесованого пептиду на АПК. Другий сигнал клітина отримує через цитокіни або костимуляторні молекули. ЦТЛ зв'язуються з АПК через рецептор до антигену і допоміжні молекули, такі як CD8 та LFA-1-інтегрин.

Значний інтерес становить питання, за яким механізмом пухлини стимулюють специфічну до пухлинних антигенів активність CD8<sup>+</sup>Т-клітин. Річ у тім, що більшість пухлинних клітин не експресують костимуляторних молекул, які необхідні для ініціювання первинної Т-клітинної відповіді, або МНС II-молекул, необхідних для активації CD4Т-клітин, що сприяють диференціюванню CD8Т-клітин. Ймовірна можливість полягає в тому, що пухлинні клітини чи їхні антигени підбираються АПК хазяїна; пухлинні антигени потім процесуються всередині АПК, а отримані з них пептиди представляються в комплексі з МНС класу I для розпізнавання CD8Т-клітинами. Ці професійні АПК експресують костимуляторні молекули, що надають сигнали, необхідні для диференціювання CD8Т-клітин у протипухлинні ЦТЛ. АПК експресують МНС класу II, що презентують пептиди поглинутих пухлинних антигенів, і активують також CD4Т-клітини. Останні продукують цитокіни, зокрема ІЛ-2, який забезпечує сигнал, необхідний для проліферації ЦТЛ.

Після генерації ефекторних ЦТЛ останні здатні розпізнавати і вбивати пухлинні клітини-мішені без костимуляторної стимуляції. ЦТЛ розпізнає клітину-мішень і знищує її. Клітина-мішень гине впродовж наступних 2-6 год після розпізнавання. Це відбувається навіть тоді, коли ЦТЛ відійшов від неї.

Принциповий механізм ЦТЛ-індукованого лізису є перфорин-гранзимовий механізм (див. розд. 11). Другий механізм індукування загибелі пухлинних клітин включає взаємодію між білками Fas та FasL відповідно на поверхні пухлинної клітини й Т-лімфоцита з наступною активацією апоптичної програми в клітині-мішені.

У протипухлинній імунній відповіді також важливу роль відіграють і CD4Т-лімфоцити. Вони стимулюють ЦТЛ завдяки здатності синтезувати лімфокіни, а також активують АПК до презентації антигену через взаємодію CD40L-CD40. У багатьох модельних системах спостерігалось порушення імунної відповіді на пухлини, якщо після вакцинації антигенами пухлин у тварин виснажували вміст CD4Т-лімфоцитів,

а потім вводили пухлинні клітини. Адоптивне перенесення пухлиноспецифічних CD4T-лімфоцитів згодом відновлювало протипухлинну імунну відповідь. Крім активації ЦТЛ та АПК CD4T-лімфоцити здатні активувати також неспецифічну протипухлинну активність макрофагів та еозинофілів. CD4T-лімфоцити є важливим компонентом специфічного довготривалого імунітету. Секреція специфічними до пухлинних антигенів CD4T-клітинами таких цитокінів, як ФНП і ІФН- $\gamma$ , призводить до підвищення рівня експресії молекул МНС класу I на поверхні пухлинних клітин і збільшує їхню чутливість до дії ЦТЛ. Проте, роль CD4T-лімфоцитів у протипухлинному імунітеті не є однозначною. Як відомо, існує популяція регуляторних T-клітин з фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>. Ці клітини здатні гальмувати активність клітинної ланки протипухлинного імунітету через прямі міжклітинні взаємодії і опосередковано, завдяки синтезу і секреції таких супресорних цитокінів як ІЛ-10 та ТФР- $\beta$ . Показано, що у хворих на меланому підвищення кількості CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T-клітин у периферичній крові є ознакою поганого прогнозу.

**$\gamma\delta$ T-лімфоцити.**  $\gamma\delta$ T-лімфоцити подібно до НК та НКТ-клітин використовують рецептори NKG2D для розпізнавання пухлинних клітин. Особлива роль  $\gamma\delta$ T-лімфоцитів у протипухлинній відповіді полягає у тому, що ці клітини є найбільш ранніми серед усіх імунних клітин продуцентами ІФН- $\gamma$  після розпізнавання пухлинних антигенів. ІФН- $\gamma$ , у свою чергу впливає на поляризацію клітинних реакцій у бік розвитку ефективних клітинних T $\chi$ 1-залежних механізмів.

**Антитіла.** Індивіди - носії пухлин продукують антитіла проти різних пухлинних антигенів. Наприклад, сироватка крові пацієнтів з ВЕБ-асоційованими лімфомами містить антитіла, специфічні проти ВЕБ-кодованих антигенів, що експресуються на поверхні клітин лімфоми. Антитіла можуть індукувати знищення пухлинних клітин через активацію комплементу або через механізм антитілозалежної клітинноопосередкованої цитотоксичності, коли макрофаги та НК, що несуть рецептор до Fc-фрагментів антитіл, здійснюють кілінг. Однак здатність антитіл індукувати елімінацію пухлинних клітин було доведено в основному *in vitro*, і небагато є доказів на користь ефективного гуморального імунітету проти пухлин *in vivo*.

Таким чином, усі типи ефекторних клітин (T-лімфоцити, НК-клітини, НКТ, макрофаги) здатні чинити цитолітичну дію на пухлинні клітини. А специфічні протипухлинні антитіла можуть опосередковувати цитолітичні реакції макрофагів та НК-клітин. Цитотоксичний ефект усіх цих типів клітин чітко продемонстрований *in vitro*. У механізмах цитолізу, що здійснюються різними клітинами, є як спільні ознаки, так і відмінності. Проте з усіх типів клітин, що характеризуються кілінговою активністю, найважливіша роль у протипухлинному імунітеті належить ЦТЛ.

### 16.3. ВИХІД ПУХЛИНИ З-ПІД ІМУННОГО НАГЛЯДУ

Пухлинні клітини використовують кілька захисних пристосувань, які дають їм змогу уникати імунного нагляду і в основі яких лежать різні механізми. Деякі з цих механізмів запобігають розпізнаванню пухлинних клітин цитотоксичними Т-лімфоцитами або ж значно ускладнюють цей процес. Це може бути пов'язано з втратою пухлиною, що інтенсивно росте, пухлинних антигенів, маскуванням їх або втратою чи значним зниженням експресії допоміжних молекул, що беруть участь у розпізнаванні. Крім того, пухлинні клітини можуть секретувати такі цитокіни, які гальмують розвиток ефективних протипухлинних клітинних реакцій.

*Механізми уникнення пухлинами імунного нагляду* характеризуються певними ознаками.

1. На пухлинних клітинах знижується, іноді до повного зникнення, експресія молекул МНС класу I. Тоді такі клітини-мішені не розпізнаються ЦТЛ. У досліджах на тваринах було показано, що збільшення експресії МНС класу I на пухлинних клітинах за допомогою обробки цитокінами, наприклад ІФН- $\gamma$ , та трансфекції генів МНС I призводить до підвищення чутливості цих клітин до лізису ЦТЛ *in vitro* та зниження пухлинного навантаження *in vivo*. Деякі віруси з онкогенним потенціалом мають механізми для зменшення експресії МНС I чи асоціації з ними власних молекул, тобто вони блокують презентацію антигену для ЦТЛ. Наприклад, білок аденовірусів E1A є інгібітором транскрипції білків МНС I. Деякі білки вірусу герпесу гальмують функцію TAP (білків-транспортерів, що асоційовані з процесингом антигену). Ці самі механізми можуть спрацьовувати в індукованих дією вірусів пухлинах, що стають резистентними до дії ЦТЛ. Навіть за відсутності вірусної інфекції різні пухлини відрізняються зниженим синтезом молекул МНС I і  $\beta 2$ -мікроглобуліну чи компонентів антигенпроцесувального механізму, в тому числі димеру TAP та деяких субодиниць протеасоми. При цьому іноді спостерігається втрата експресії антигенів МНС I лише певного типу (найчастіше - кодованих локусом HLA-A, як, наприклад, при раку товстої кишки) при збереженні експресії інших, що більш "вигідно" для пухлинних клітин, оскільки у разі повного зниження експресії молекул МНС I вони стають чутливими до цитотоксичної дії НК-клітин. Зниження експресії МНС I у хворих із пухлинами часто поєднується зі зниженням рівня диференціювання та раннім метастазуванням пухлин (рак легенів). Ці механізми є адаптаціями пухлин, що виникають у відповідь на тиск імунітету організму хазяїна, і дають можливість пухлинним клітинам уникати імунної відповіді.

2. У процесі росту пухлини можуть взагалі втрачати експресію антигенів, що індукують імунну відповідь. Така втрата часто трапля-

ється в пухлинах, що швидко ростуть, і може бути індукована в пухлинних клітинах при сумісному культивуванні з пухлиноспецифічними антитілами або ЦТЛ. Враховуючи високий мітотичний потенціал пухлинних клітин та їх генетичну нестабільність, мутації й делеції генів, що кодують пухлинні антигени, є звичайним явищем. Якщо ці антигени не є необхідними для росту пухлин чи підтримання трансформованого фенотипу, такі антигеннегативні пухлинні клітини мають переваги для росту в організмі хазяїна. Аналіз пухлин, які серійно трансплантують від однієї тварини до іншої, показав, що втрата антигенів, які розпізнаються ЦТЛ, корелює зі збільшенням росту та метастатичного потенціалу. В динаміці росту пухлин може відбуватися не тільки втрата пухлинних антигенів, а й зміна антигенної структури, що зумовлено генетичною нестабільністю та постійною мінливістю пухлини. Відмінності в антигенній структурі визначаються як у межах однієї пухлини, так і в метастазуючих пухлинах. Клітини зі зміненим антигенним фенотипом нечутливі до імунних факторів, що індукувалися раніше експресованими пухлиною антигенами. Відбувається нібито селекція клонів клітин, резистентних до імунних факторів, що і є причиною росту пухлини за наявності імунної відповіді.

3. Антигени поверхні пухлинних клітин можуть бути сховані від імунної системи молекулами глікокаліксу, такими як глікозамінглікани, що містять сіалові кислоти. Цей процес називають "маскуванням антигену". Він може бути наслідком того, що пухлинні клітини часто експресують більше молекул глікокаліксу, ніж нормальні клітини, як, наприклад, хоріонепітеліома, що розвивається з ембріональної тканини. Так само, деякі пухлини можуть "ховатися" від імунної системи через активацію систем коагуляції, утворюючи так звані "фібриновий кокон". Протипухлинні антитіла, що взаємодіють із поверхневими структурами пухлинних клітин, але не активують при цьому ефекторні механізми (в яких вони беруть участь - АЗКЦ, фагоцитоз), можуть також екранувати пухлинні антигени чи прискорювати ендоцитоз цих антигенів і тому роблять пухлини резистентними до імунної атаки.

4. Причиною пригнічення імунної відповіді вже в індуктивну її фазу може бути анергія Т-клітин, що розвивається внаслідок відсутності на пухлинних клітинах костимуляторних молекул, що, очевидно, може розглядатися як варіант периферичної толерантності. Як відомо, костимуляторні молекули В7-1 (CD80) та В7-2 (CD86) необхідні для активації Т-клітин та ініціювання імунної відповіді. Пухлинні клітини не експресують костимуляторні молекули і не індукують активність ЦТЛ. Більше того, під час взаємодії з пухлинними клітинами попередники Т-лімфоцитів не тільки не диференціюються у функціонально активні (ефекторні) Т-клітини, а переходять у стан анергії, що виявляється в їх неспроможності розвивати відповідь під час наступної стимуляції.

5. Пухлинні антигени можуть індукувати специфічну імунну толерантність. Толерантність до пухлинних антигенів може встановитися тому, що пухлинні антигени є "власними" антигенами, що стикаються з імунною системою в стадії ембріонального чи раннього постнатального розвитку, або тому, що пухлинні клітини представляють свої антигени в толерогенній формі зрілим лімфоцитам.

Як свідчать деякі експериментальні дані, толерантність до пухлинних антигенів призводить до сильного росту пухлин, які експресують подібні антигени. Так, ново-народжені миші можуть отримувати онкогенні віруси від своєї матері під час вигодовування. Миші стають толерантними до вірусу та кодованих ним антигенів і є його носіями впродовж життя. Коли такі миші дорослішають, у них часто розвивається рак молочної залози, і такі пухлини не індукують розвиток імунної відповіді. Однак ці пухлини є імуногенними, оскільки відторгаються, коли їх трансплантовано в організм вільної від вірусу неінфікованої сингенної тварини. Описаний приклад є варіантом центральної толерантності, зумовленої, очевидно, елімінацією специфічних до пухлинних антигенів клонів Т-лімфоцитів під час селекції в тимусі. Під час пухлинного росту може формуватися також периферична толерантність. В її індукуванні провідну роль відіграють розчинні пухлинні антигени в низьких толерогенних дозах.

6. Продукти синтезу пухлинних клітин можуть гальмувати проти-пухлинні імунні відповіді. Приклад імуносупресорного продукту пухлин - це трансформівний фактор росту ( $\beta$  (ТФР- $\beta$ )), що в значній кількості секретується багатьма пухлинами і гальмує проліферацію та ефекторні функції лімфоцитів і макрофагів. Пригнічення протипухлинної імунної відповіді може зумовити також продукований пухлиною ІЛ-10. З цим цитокіном, як відомо, пов'язана супресивна дія Тх2-відносно Тх1-клітин, що ініціюють і контролюють цитотоксичні реакції Т-лімфоцитів. Здатністю пригнічувати протипухлинну імунну відповідь характеризується також простагландин Е-2.

7. Деякі пухлини експресують FasL, що взаємодіє з Fas-антигеном активованих лімфоцитів, які намагаються знищити пухлинні клітини. Зв'язування Fas-антигену призводить до апоптозу лімфоцитів. Важливість цього механізму виходу з-під імунного контролю ще остаточно не з'ясовано, оскільки FasL було виявлено лише на деяких спонтанних пухлинах. Крім того, трансфекція FasL у пухлинні клітини не завжди призводить до загибелі лімфоцитів *in vitro*.

8. Пухлинні клітини продукують чи експресують на своїй поверхні ряд субстанцій, які можуть змінювати продукцію інтерлейкінів та їх активність. Наприклад, клітини карциноми яєчника здатні продукувати  $\alpha$ -1-кислий протеїн, який зменшує продукцію ІЛ-2 імунними клітинами. Крім того, клітини деяких пухлин людини експресують на



своїй поверхні комплементінгібуючі білки (CD46, CD55, CD59), які захищають пухлинні клітини від комплементзалежного лізису.

Таким чином, пухлинні клітини можуть використовувати різні механізми для виходу з-під імунного нагляду й уникнення ушкодження. Подальші дослідження в цьому напрямі важливі для розробки підходів з метою підвищення імуногенності пухлин та збільшення ефективності протипухлинної відповіді.

#### **16.4. ІМУНОТЕРАПІЯ ОНКОХВОРИХ**

Імуноterapia як метод протипухлинної терапії виникла близько 100 років тому зі спроб У.Колі використати суміш бактеріальних субстанцій для індукції регресії остеосаркоми. З того часу для імунотерапії почали використовувати велике розмаїття імунопотенціювальних агентів, у тому числі фракції бактеріальних клітин, цитокіни, гормони тимуса, антитіла, модифіковані пухлинні клітини та клітини імунної системи організму-хазяїна.

Імунотерапію використовують для стимулювання активності слабкої імунної відповіді хазяїна (активна імуноterapia) або пасивного забезпечення ураженого онкологічним процесом організму певними факторами імунітету у вигляді пухлиноспецифічних антитіл або Т-клітин (пасивна імуноterapia).

**Активна імуноterapia пухлин.** Активна імуноterapia полягає у введенні протипухлинних вакцин на основі антигенів пухлин, цитотоксинів і костимуляторних молекул для стимулювання специфічної відповіді, а також індукторів запалення та поліклональних активаторів лімфоцитів для неспецифічного стимулювання імунної системи.

**Вакцинація пухлинними клітинами та антигенами пухлин.** Нині завдяки сучасним методам молекулярної біології стало можливим ідентифікування пептидів, що розпізнаються пухлиноспецифічними ЦТЛ, клонування генів, що кодують ці антигени і синтезування таких пептидів у необхідній кількості. Такими пептидами, які використовують для лікування хворих на меланому, є пептиди антигенів MAGE-3 та gp100. Для підсилення терапевтичного ефекту антигенні пептиди можуть вводити інтранодально або в комплексі з ад'ювантами. Крім антигенних пептидів, онкохворих (наприклад, хворих на меланому) також ефективно можна імунізувати білками теплового шоку (HSP96, HSP70), які містять імуногенні пептиди або гліколіпідними антигенами – гангліозидами (GM3, GD3, GM2).

Часто протипухлинні вакцини готують з використанням пухлинних клітин онкохворого. Такі вакцини містять цілий набір антигенів пухлини, більшість з яких неідентифіковані. Пухлинні клітини перед введенням в організм девіталізують опроміненням або інкубацією з мітоміцином С. Крім того, до складу вакцини можуть входити субстанції мікробного походження (метаболіти *B.subtilis*, мікобактерії штаму BCG).

**Використання костимуляторних молекул для підвищення протипухлинної відповіді у пухлиноносіїв.** Пухлинні клітини індукують слабку імунну відповідь, оскільки не несуть на своїй поверхні костимуляторні молекули й молекули МНС II. Тому пухлинні клітини не здатні безпосередньо активувати Т-хелпери. Нині існує два потенційних підходи для підвищення імунної відповіді хазяїна на пухлини: штучне надання костимуляторних сигналів для пухлиноспецифічних Т-клітин та надання екзогенних цитокінів, які збільшують Т-клітинний ріст і активацію, виконуючи таким чином функції Т-хелперних клітин. Багато цитокінів також мають такий потенціал для збільшення неспецифічних запальних відповідей з протипухлинною активністю.

Ефективність посилення Т-клітинної костимуляції для протипухлинної терапії було продемонстровано в експериментах з використанням тварин. Пухлинні клітини було трансфектовано генами, що кодують B7-костимуляторні молекули, і використано для вакцинації тварин. Ці B7-експресувальні пухлинні клітини індукували розвиток протективного імунітету проти немодифікованих пухлинних клітин, які вводили у віддалені сайти організму тварини. Успішне використання нового підходу на експериментальних моделях тварин продовжили клінічні випробування. Зразок пухлини пацієнта вирощують *in vitro*, потім трансфектують генами костимуляторних молекул, опромінюють і знову вводять хворому. Показано, що такий метод може бути успішним навіть тоді, коли імуногенні антигени пухлини невідомі.

**Вакциноterapia з використанням дендритних клітин.** Нещодавно було розроблено новий метод імунізації онкохворих дендритними клітинами, отриманими від пацієнтів та інкубованими з пухлинними антигенами. В якості пухлинних антигенів можна використовувати як синтетичні антигенні пептиди, так і зруйновані аутологічні пухлинні клітини. ДК-залежну терапію проводять у пацієнтів з меланою, лімфомами, раком простати, раком нирок, гліобластою, карциною легенів.

**Імуноterapia онкохворих з використанням цитокінів.** Для лікування різних типів пухлин людини можуть системно або локально вводити певні цитокіни. Найбільший клінічний досвід отримано в разі застосування ІЛ-2. Після введення ІЛ-2 в крові значно збільшується кількість Т- і В-лімфоцитів, а також НК-клітин. Підвищується активність НК-клітин і збільшуються сироваткові рівні ФНП, ІЛ-1 та ІФН- $\gamma$ . Вважають, що ІЛ-2 стимулює проліферацію та протипухлинну активність НК-клітин і ЦТА. Обмеженням для застосування цього методу лікування можуть бути токсичні ефекти ІЛ-2, що призводить до розвитку пропасниці, легеневої едеми та васкулярного шоку. Описані побічні ефекти трапляються через стимулювання ІЛ-2 продукування інших цитокінів Т-клітинами, таких як ФНП та ІФН- $\gamma$ . Ці цитокіни ді-

ють на ендотелій судин та інші типи клітин. ІЛ-2 застосовують у хворих на меланому, рак нирок, рак товстого кишечника.

Для лікування хворих на карциному нирок, меланому, саркому Капоші, лімфоми та лейкози можуть використовувати ІФН- $\alpha$ . Цей цитокін підвищує проліферацію та цитотоксичних клітин – НК, ЦТЛ. ІФН- $\alpha$  підвищує експресію МНС I та МНС II на поверхні різних типів клітин. Крім того, ІФН- $\alpha$  має прямиїантипроліферативний ефект на пухлинні клітини, підвищуючи експресію на них рецепторів TRAIL-R та Fas, що робить такі клітини чутливими до рецептор-опосередкованого апоптозу.

Інші цитокіни, такі як ФНП та ІФН- $\gamma$ , є ефективними протипухлинними агентами в моделях з використанням тварин, однак їх використання для хворих лімітовано серйозними токсичними побічними ефектами. У деяких клінічних випробуваннях ФНП вводять ізольовано (перфузія кінцівок) пацієнтам з меланомами чи саркомами кінцівок.

Останнім часом зріс інтерес до ІЛ-12, що підвищує протипухлинну активність Т-, НК- та НКТ-клітин. Проводять клінічні випробування з використанням цього цитокіну.

Гематопоетичні ростові фактори, зокрема ГМ-КСФ, Г-КСФ та ІЛ-11, використовують для скорочення періодів нейтропенії або тромбоцитопенії після хіміотерапії чи трансплантації аутологічного кісткового мозку. Крім того, такі фактори як ГМ-КСФ спряють утворенню зрілих ДК з високим рівнем експресії костимуляторних молекул, які ефективно стимулюють протипухлинну клітинну ланку імунітету.

Пухлинні клітини можуть безпосередньо трансфекувати генами цитокінів, щоб досягти ефекту саме в тому сайті, де це потрібно. Наприклад, коли пухлинні клітини гризунів трансфекували генами ІЛ-2, ІЛ-4, ІФН- $\gamma$  або ГМ-КСФ, пухлини відторгалися чи починали рости, а потім регресували. У деяких випадках інтенсивні запальні інфільтрати формувалися навколо цитокін-секретувальних пухлин. Природа інфільтрату залежала від типу цитокіну. Слід зазначити, що в деяких із цих досліджень ін'єкція цитокінсекретувальних пухлин індукувала специфічний Т-клітиноопосередкований імунітет до немодифікованих пухлинних клітин, які вводили в організм пізніше. Отже, локальне продукування цитокінів пухлинними клітинами може посилити Т-клітинну відповідь. Нині у пацієнтів з поширеним раком різних локалізацій проводять клінічні випробування з використанням клітин пухлин, трансфєкованих генами цитокінів.

**Неспецифічне стимулювання імунної системи.** Імунну відповідь на пухлини можна стимулювати локальним введенням субстанцій, що спричинюють запалення, або системним застосуванням агентів, що мають ефект поліклональних активаторів лімфоцитів. Неспецифічне стимулювання імунітету в онкохворих унаслідок ін'єкції субстанцій, що спричинює запалення, - протитуберкульозної вакцини з

мікобактерій туберкульозу бичачого типу (*BCG*) у сайти росту пухлин використовували впродовж багатьох років. Вакцина *BCG* активує макрофаги і, отже, підвищує їх здатність вбивати пухлинні клітини. Крім того, бактерії працюють як ад'юванти і можуть стимулювати Т-клітинні відповіді на пухлинні антигени. Інший спосіб для стимулювання імунітету — це введення в низьких дозах активуючих анти-CD3-антитіл. У дослідженнях на тваринах із трансплантованими пухлинами застосування цього методу лікування сприяло поліклональній активації Т-клітин і як наслідок - запобіганню росту пухлин. Нині проводять ранні клінічні випробування з анти-CD3-антитілами у пацієнтів зі значними (дисемінованими) пухлинами.

**Пасивна імунотерапія пухлин.** Пасивна імунотерапія включає перенесення до пацієнтів ефекторних компонентів імунної відповіді, в тому числі пухлиноспецифічних Т-клітин та антитіл. Пасивна імунізація проти пухлин не зумовлює тривалого імунітету, оскільки введені імунні ефекторні фактори швидко елімінуються.

**Клітинна імунотерапія** включає перенесення культивованих імунних клітин, що мають протипухлинну активність, в організм носіїв пухлин і називається адоптивною. Клітини, які переносять, спочатку отримують із моноклеарів онкохворих. Один із поширених підходів терапії - отримання ЛАК-клітин. Лімфоцити отримують із периферичної крові хворих і культивують їх з ІЛ-2 у високих концентраціях. Потім вводять ЛАК-клітини в організм пацієнта. ЛАК-клітини містять в основному НК-клітини. При адоптивній терапії аутологічними ЛАК-клітинами в комплексі з введенням *in vivo* ІЛ-2 чи протипухлинних препаратів спостерігали вражаючі результати у мишей, у яких відмічали регресію солідних пухлин. Спроби ЛАК-терапії людей досі були обмежені і проводилися лише для пацієнтів з дуже великими метастатичними пухлинами. Тому ефективність цього методу варіює від пацієнта до пацієнта. Однією з модифікацій цього методу є ізоляція лімфоцитів, що інфільтрують пухлину (ПІЛ), із запального інфільтрату, який оточує солідну пухлину (отримують під час хірургічного видалення зразків пухлини), і культивування ПІЛ *in vitro* з додаванням ІЛ-2. Перевагою цього методу є те, що ПІЛ збагачені на пухлиноспецифічні ЦТЛ і активовані НК-клітини. Нині проводять клінічні випробування використання культивованих з ІЛ-2 ПІЛ у людей.

**Терапія антитілами до антигенів пухлин.** Потенційна можливість використовувати антитіла як "магічні кулі" досліджується вченими вже багато років і нині також є актуальною. Протипухлинні антитіла знищують пухлини за тим самим ефекторним механізмом, що застосовується для елімінації мікробів, у тому числі опсонізацією, антитілозалежною клітинною цитотоксичністю та активацією системи комплементу. Оскільки протипухлинні антитіла, які спочатку використовували для терапії людей, були мишачого походження, імунна відповідь часто виникала на мишачі імуноглобуліни, що призводило до

прискореного виведення протипухлинних антитіл чи блокування їх зв'язування зі своєю мішенню. Подолати цю перешкоду можна за допомогою "гуманізованих" антитіл, що складаються з варіабельної ділянки мишачих антитіл, специфічної до певного пухлинного антигену, комбінованої з Fc-фрагментом антитіл людини (див. розд. 22).

Мабтера (ритуксимаб) були першими химерними антитілами (анти-CD20), що були прийняті у 1997 р. для клінічного використання у хворих з В-клітинними лімфомами. Комбіноване використання ритуксимабу з хіміотерапією (СНОР) у хворих на В-клітинні лімфоми дозволяє отримати вражаючий терапевтичний ефект майже у 100% хворих.

Химерні гуманізовані МкАТ, специфічні до продукту онкогену Her-2/neu-1, що експресується деякими пухлинами в значній кількості, успішно зарекомендували себе в терапії хворих на пухлини молочної залози. Назва лікарської форми таких антитіл є "герцептин" або "трастузумаб". Крім активації імунних ефекторних механізмів анти-Her-2/neu-1-антитіла порушують функцію передавання сигналів через рецептор для Her-2/neu-1.

Серед моноклональних антитіл, які сьогодні проходять клінічні випробування, одними з найбільш цікавих є антитіла проти рецепторів епідермального фактору росту і рецепторів фактору росту судинного ендотелію.

Для підвищення ефективності антитілотерапії використовували різні кон'югати протипухлинних антитіл. Пухлиноспецифічні антитіла кон'югували з токсичними молекулами, радіонуклідами та протипухлинними лікарськими засобами, щоб поліпшити специфічну доставку цих цитотоксичних агентів до пухлини. Такі токсини, як рицин чи дифтерійний токсин, є потенційними інгібіторами синтезу протеїнів і можуть бути ефективними в дуже низьких дозах, коли їх доставляють до пухлини в кон'югованому з МкАТ вигляді. Такі кон'югати називають *імунотоксинами*. Цей підхід потребує ковалентного зв'язування токсину з протипухлинним антитілом без порушення токсичності токсину й специфічності антитіла. Імунотоксини, які вводять системно, ендоцитуються пухлинними клітинами, і частина токсину доставляється до своєї внутріш-ньоклітинної мішені для реалізації активності. Застосування цього методу пов'язане з певними труднощами. Токсини, лікарські засоби та радіонукліди, зв'язані з антитілами, можуть мати системний ефект унаслідок циркуляції через нормальні тканини. Наприклад, при терапії імунотоксинами часто спостерігають гепатотоксичність та порушення проникності капілярів. Введення імунотоксинів може призводити до імунної відповіді проти токсинів і введених антитіл. Через ці практичні труднощі клінічні випробування імунотоксинів мають помірний успіх. Антитіла до антигенів пухлин використовують також для видалення пухлинних клітин з кісткового мозку перед аутологічною трансплантацією кісткового мозку.

Найсерйознішою проблемою у використанні протипухлинних антитіл є здатність пухлинних клітин втрачати експресію антигену, до якого специфічні антитіла. Цю проблему можна подолати, використовуючи "коктейль" антитіл, специфічних до різних антигенів, які експресуються однією пухлиною.

Терапевтична ефективність імунотерапії онкохворих нестійка і нетривала, тому її використовують у комбінації з основними пухлинознищувальними заходами, такими як хірургічна операція, хіміо- та радіотерапія. Проте висока специфічність імунотерапії, а також сприяння подовженню тривалості та підвищенню якості життя хворих роблять цей підхід актуальним і важливим компонентом комплексу заходів сучасної терапії онкохворих.

## **ВИСНОВКИ**

Імунна система здійснює нагляд за гомеостазом соматичних клітин в організмі і, згідно з теорією Ф. Бернета, забезпечує знищення латентних осередків пухлинних клітин, запобігаючи тим самим розвитку більшості пухлин. Проте ефективному контролю, очевидно, піддаються не всі типи пухлин. Імунний нагляд, можливо, ефективний щодо пухлин, асоційованих з онкогенними вірусами, особливо ДНК-вмісними. Підтвердженням цього є встановлений факт, що у Т-імунodefіцитних людей і тварин з підвищеною частотою виникнення новоутворень більшість пухлин асоційовані з онкогенними вірусами.

Основою протипухлинного захисту є Тх 1-залежна клітинна відповідь за участю цитотоксичних Т-лімфоцитів, продукти яких підвищують протипухлинну активність клітин - ефекторів природного імунітету (НК-клітин і макрофагів). Індукторами адаптивної ланки імунної відповіді є експресовані на пухлинних клітинах антигени, що є продуктами вірусних генів або змінені чи неадекватно експресовані продукти власних генів. Експресовані на клітинах пухлин деякі нормальні антигени, передусім антигени диференціювання, можуть використовуватися для діагностики або як мішені для моноклональних антитіл - для терапії пухлин. Імунотерапія пухлин з використанням різних підходів та засобів є перспективною, оскільки спрямована на специфічне підвищення ефективності системи протипухлинного захисту.

## **Контрольні запитання**

1. Які докази можна навести на користь того, що саме імунна система здійснює контроль над виникненням пухлинних клітин?
2. У чому полягає принципова різниця між пухлиноспецифічними та пухлиноасоційованими антигенами?
3. Які особливості розпізнаванням пухлинних клітин природною і специфічною ланками імунної відповіді?
4. Яким чином пухлинні клітини уникають імунної відповіді?

4. У чому причина недостатньої ефективності протираковинної імунної відповіді?