

Применение биомедицинского клеточного продукта на основе моноцитарных дендритных клеток в лечении пациентов, страдающих раком мочевого пузыря: результаты клинического исследования

*Гончаров А. Е.¹, Прохоров А. В.², Тимохина О. В.¹, Антонец Н. Г.¹, Минич Я. С.¹,
Рында Е. Г.¹, Прохоров В. А.²*

*¹Государственное научное учреждение «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»,
г. Минск, Республика Беларусь;*

*² Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»,
г. Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Рак мочевого пузыря (РМП) является достаточно распространенным заболеванием органов мочеполовой системы и преимущественно выявляется в возрасте 60–80 лет. Несмотря на достигнутые успехи в части ранней диагностики РМП, у 20 % пациентов при установлении диагноза РМП обнаруживают регионарные и отдаленные метастазы. В последние два десяти-



летия во многих странах мира проводят клинические испытания метода иммунотерапии онкологических заболеваний, основанного на использовании дендритных клеток (ДК). Результаты многих проведенных исследований обнадеживающие, показана безопасность применения ДК, активация иммунной системы в ответ на проводимую терапию и неплохой клинический эффект.

В статье изложены результаты исследований по оценке безопасности и эффективности применения моноцитарных дендритных клеток у пациентов, страдающих РМП.

Ключевые слова: дендритные клетки, иммунотерапия, рак мочевого пузыря, проточная цитометрия.

Введение. В Республике Беларусь ежегодно выявляется около 40 тыс. новых случаев злокачественных новообразований и регистрируется порядка 19 тыс. смертельных исходов от онкозаболеваний. РМП является достаточно распространенным заболеванием органов мочеполовой системы и преимущественно выявляется в возрасте 60–80 лет. В Республике Беларусь ежегодно регистрируют 1000–1200 новых случаев РМП. На долю РМП приходится до 3 % от общего числа злокачественных новообразований и 30–50 % опухолей мочеполовых органов. Несмотря на достигнутые успехи в части ранней диагностики РМП, у 20 % пациентов при установлении диагноза РМП выявляют регионарные и отдаленные метастазы.

Хотя достигнуты заметные успехи в области ранней диагностики, хирургического лечения, лучевой, химио- и гормонотерапии, создания и применения новых лекарственных средств для таргетной терапии, по-прежнему актуальной задачей остается поиск новых методов лечения, направленных на предотвращение метастазирования и в целом развития рецидива заболевания, а также для стабилизации опухолевого процесса.

Активно развивающимся и перспективным направлением является создание биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) на основе ДК персонифицированного или универсального применения для лечения онкологических заболеваний. ДК — профессиональные антигенпрезентирующие клетки, главной функцией которых являются интернализация антигенов, их процессинг и представление наивным Т-лимфоцитам для инициации адаптивного иммунного ответа. Впервые ДК были описаны П. Лангергансом в 1868 г. как особая популяция отростчатых клеток кожи человека [1], а в 1973 г. Р. Стайнман и З. Кон впервые применили термин «дендритная клетка» [2]. Способность ДК стимулировать антигенспецифический иммунный ответ лежит в основе их применения в иммунотерапии онкозаболеваний и хронических инфекций. С этой целью активно разрабатываются методы культивирования, дифференцировки и созревания клеток, создания безопасных генно-инженерных конструкций для получения клеток с заданными иммунофенотипическими и функциональными свойствами.

В международных базах данных имеется три публикации и три протокола клинических испытаний, которые описывают доклинические и клинические исследования иммунотерапии РМП при помощи ДК. Данные исследования были выполнены в различных медицинских учреждениях США, Китая и Республики Корея. Публикации и исследования датированы 2001–2017 гг.

В Беларуси первая инъекция ДК выполнена в декабре 2008 г. для лечения пациента, страдающего хроническим гепатитом В [3]. С тех пор на базе научных медицинских организаций проведено 6 клинических исследований, разработаны методы применения ДК для лечения рака молочной железы, рака поджелудочной железы, иных химиорезистентных опухолей, а также — туберкулеза легких и хронического гепатита В. Данные методы активно используются на практике, в частности, в работе отделения клеточной терапии Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Однако в Республике Беларусь разработка методов клеточной иммунотерапии РМП ранее не выполнялась.

Цель работы — оценка эффективности применения моноцитарных ДК у пациентов, страдающих РМП.

Материалы и методы. *Выделение моноцитов и получение ДК.* Моноциты, выделенные градиентным центрифугированием из 50 мл периферической крови, получали методом адгезии с последующим культивированием в течение 5 сут в питательной среде AIM-V, содержащей 1 % АВ0-сыворотки и рекомбинантные человеческие цитокины (50 нг/мл ГМ-КСФ и 25 нг/мл ИЛ-4), в увлажненной атмосфере с 5 % CO₂ при 37 °С. На 5-е сут производили индукцию созревания дифференцированных ДК (50 нг/мл ФНО-α и 50 мкг/мл дб-ц АМФ) и праймирование ДК1 мг/мл синтетическими пептидами MUC1 и WT1 в течение одних суток.

Определение иммунного статуса. Иммунофенотип лейкоцитов крови определяли стандартными методами [4]. Для определения субпопуляций клеток разработана панель антител (таблица 1). Алгоритм гейтирования изложен ниже.



Таблица 1 — Панели антител исследования иммунного статуса пациентов, страдающих раком мочевого пузыря

Панель антител	Канал флуоресценции							
	BV421	BV510	FITC	PE	PerCP	PC7	APC	APC-A750
Миелоидные супрессорные клетки	CD16	CD45	Lin	CD15	CD14	CD33	CD11b	HLA-DR
CD3 ⁺ Т-клетки памяти, дифференцированные и истощенные	CD8	CD45	CD4	CD62L	—	CD279	CD45RA	CD3
Т-регуляторные / активированные клетки	CD25	CD45	CD4	HLA-DR	—	CD127	Tim-3	CD3
Естественные киллерные клетки	CD336	CD45	CD16	CD335	—	CD57	CD3	CD56

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программ Statistica версии 12 (StatSoft, США). Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me — медиана, а 25 и 75 — интерквартильный размах. Для сравнения выборок использовали непараметрические методы: U-критерий Манна — Уитни и W-критерий Уилкоксона. В качестве критерия достоверности различий показателей принимали уровень значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. С августа 2019 г. по декабрь 2020 г. на базе МГКОД проведены клинические испытания метода аутоиммунотерапии РМП с использованием ДК. Для участия в клинических испытаниях сотрудниками кафедры онкологии БГМУ отобрано 17 пациентов с РМП после проведенного оперативного вмешательства для включения в основную группу исследования (таблица 2).

Таблица 2 — Краткая характеристика пациентов РМП основной группы

№	Идентификационный номер	Год рождения	Пол	Диагноз
1	РМП-01Б	1961 (58)	М	Рак мочевого пузыря. T1mN0M0G3. Стадия 1. 3 клин. гр.
2	РМП-02Л	1958 (61)	М	Рак мочевого пузыря. T1mN0M0G3. Стадия 1. 3 клин. гр.
3	РМП-03Л	1950 (69)	Ж	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G1. Стадия 1. 3 клин. гр.
4	РМП-04Г	1973 (46)	М	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G2. Стадия 1. 3 клин. гр.
5	РМП-06В	1953 (66)	М	Рак мочевого пузыря. TaN0M0G2. Стадия 0а. 2 клин. гр.
6	РМП-07Ч	1959 (59)	М	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G3. Стадия 1. 3 клин. гр.
7	РМП-08Т	1959 (60)	Ж	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G1. Стадия 1. 3 клин. гр.
8	РМП-09М	1976 (43)	М	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G2. Стадия 1. 2 клин. гр.
9	РМП-11К	1974 (45)	М	Рак мочевого пузыря. TaN0M0G2. Стадия 0а. 2 клин. гр.
10	РМП-12С	1960 (59)	М	Рак мочевого пузыря. TaN0M0G1. Стадия 0а. 3 клин. гр.
11	РМП-13Д	1970 (49)	М	Рак мочевого пузыря. T1N0M0. Стадия 1. 3 клин. гр.
12	РМП-14К	1963 (59)	М	Рак мочевого пузыря. T1mN0M0G3. Стадия 1. 2 клин. гр.
13	РМП-15Ф	1961 (58)	Ж	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G1. Стадия 1. 2 клин. гр.
14	РМП-16С	1961 (59)	Ж	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G2. Стадия 1. 3 клин. гр.
15	РМП-17Б	1949 (70)	М	Рак мочевого пузыря. T1mN0M0G2. Стадия 1. 3 клин. гр.
16	РМП-18Г	1973 (47)	М	Рак мочевого пузыря. TaN0M0G2. Стадия 0а. 3 клин. гр.
17	РМП-19Г	1952 (68)	М	Рак мочевого пузыря. T1N0M0G1. Стадия 1. 3 клин. гр.

У пациентов осуществлялся забор крови с соблюдением временного и температурного режимов. Подготовку аутологичных БМКП на основе ДК проводили на базе Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Этап подготовки занимал 6 сут, в течение которых осуществлялась дифференцировка ДК, их праймирование опухолевыми антигенами, индукция созревания и весь аналитический контроль для последующей иммунотерапии. Курс иммунотерапии состоял из не менее 5 инъекций ДК (не менее $1 \cdot 10^6$ клеток/доза), интервал между инъекциями составлял 2–4 недели.

В клинических испытаниях метода иммунотерапии РМП участвовало 17 пациентов, из них 8 пациентов (РМП-02Л, РМП-03Л, РМП-04Г, РМП-07Ч, РМП-09М, РМП-11К, РМП-12С, РМП-13Д)



получили 3 курса (1 курс — 5 введений) терапии ДК, 4 пациента (РМП-01Б, РМП-14К, РМП-16С, РМП-18Г) — 2 курса, 5 пациентов (РМП-06В, РМП-08Т, РМП-15Ф, РМП-17Б, РМП-19Г) — один курс.

Среднее количество ДК в единице дозы БМКП, введенных пациентам, составило $3,1 (1,9–4,35) \cdot 10^6$ клеток/мл. Медианное количество введенных клеток пациентам составило $40,0 (32,6–51,4) \cdot 10^6$ клеток/мл. Жизнеспособность клеток, оцениваемая с помощью проточной цитометрии с использованием 7-ААД, составляла более 96,3 (94,2–97,7) %.

С целью контроля иммунофенотипа ДК, полученных от пациентов с РМП, исследовали экспрессию молекул CD83, CD209. Относительное число БМКП на основе ДК, экспрессировали молекулу CD209 — 99,1 (98,4–99,6) % и молекулу CD83 — 75,7 (63,85–84,75) %.

Иммунологическая эффективность. Для оценки иммунологической эффективности в процессе лечения проводили исследование показателей иммунного статуса. Исследования включали определение в периферической крови некоторых минорных субпопуляций лейкоцитов, играющих важную роль в патогенезе онкозаболеваний (МЛСК гранулоцитарного и моноцитарного происхождения, субпопуляций Т-клеток, активированных Т-клеток, регуляторных Т-клеток, Т-клеток памяти, истощенных Т-клеток, ЕК-клеток, ЕКТ-клеток).

Миелоидные супрессорные клетки представляют собой крайне гетерогенную популяцию активированных незрелых клеток миелоидного происхождения, которая обладает способностью подавлять эффекторный иммунный ответ [5]. Наиболее часто иммунофенотип Г-МЛСК описывают как Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD11b⁺CD15⁺, а иммунофенотип М-МЛСК как Lin⁻HLA-DR⁻CD14⁺ (рисунок 1).

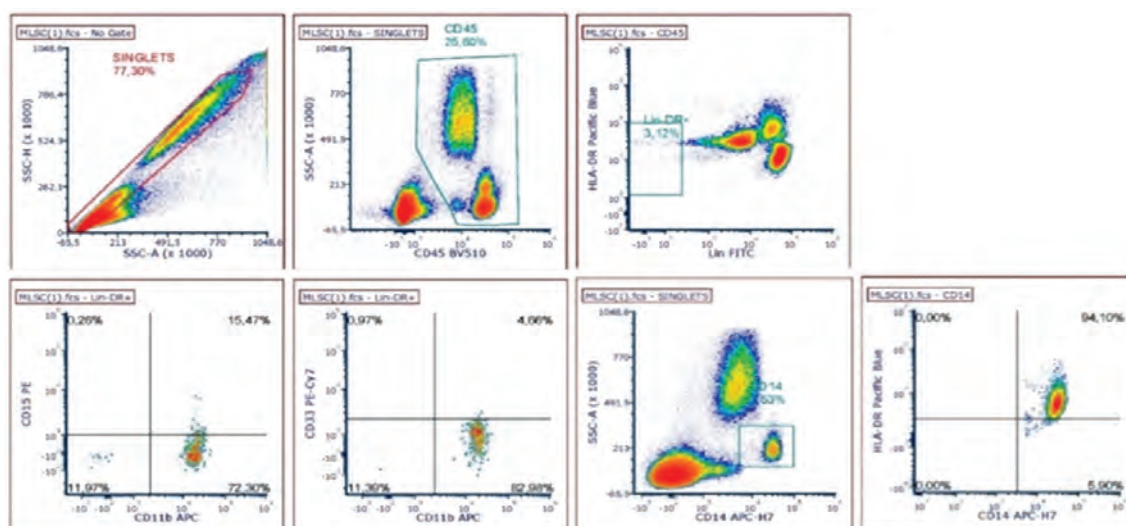


Рисунок 1 — Гейтирование МЛСК

В результате проведенных исследований в процессе лечения ДК достоверно уменьшилось относительное (до — 0,253 (0,108–0,898) %, после — 0,085 (0,020–0,130) %, $p = 0,001$) и абсолютное (до — $0,016 (0,006–0,048) \cdot 10^6$ клеток/мл, после — $0,003 (0,001–0,006) \cdot 10^6$ клеток/мл, $p = 0,002$) содержание CD15⁺ Г-МЛСК, в то время как таковые показатели CD33⁺ Г-МЛСК и М-МЛСК достоверно не изменились.

Субпопуляции Т-клеток. В зависимости от корцептора и выполняемых функций различают два основных типа Т-клеток. Т-хелперы — популяция Т-лимфоцитов, главной функцией которых является усиление адаптивного иммунного ответа. Основным признаком Т-хелперов служит наличие на поверхности клетки молекулы корцептора CD4. Цитотоксические Т-лимфоциты — популяция Т-лимфоцитов, главной функцией которых является уничтожение поврежденных клеток собственного организма, в том числе опухолевых клеток. Основным признаком цитотоксических Т-лимфоцитов служит наличие на поверхности клетки молекулы корцептора CD8. Экспрессия корцепторов двух основных типов Т-лимфоцитов показана на рисунке 2.

Силу и выраженность иммунного ответа можно определить по экспрессии HLA-DR — маркер поздней активации, показатель гиперреактивности иммунитета. Фенотип активированных Т-лимфоцитов определяли как CD3⁺HLA-DR⁺ (рисунок 2).

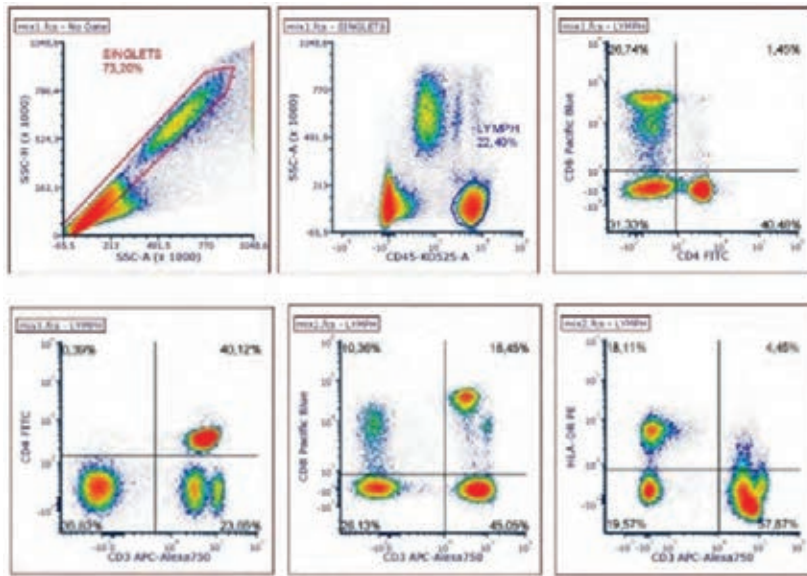


Рисунок 2 — Гейтирование CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов и активированных Т-лимфоцитов

При исследовании субпопуляционного состава Т-клеток периферической крови в процессе лечения ДК установлено достоверное уменьшение абсолютного содержания CD4⁺ Т-клеток (до — 0,692 (0,529–0,817)·10⁶ клеток/мл, после — 0,439 (0,365–0,523)·10⁶ клеток/мл, $p = 0,013$) и CD8⁺ Т-клеток (до — 0,451 (0,255–0,702)·10⁶ клеток/мл, после — 0,246 (0,099–0,458)·10⁶ клеток/мл, $p = 0,030$), в то время как таковые показатели активированных CD3⁺ Т-клеток достоверно не изменилось. Также установлено, что относительное содержание CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, а также активированных CD3⁺ Т-клеток достоверно не изменилось в процессе лечения ДК (рисунки 3, 4).

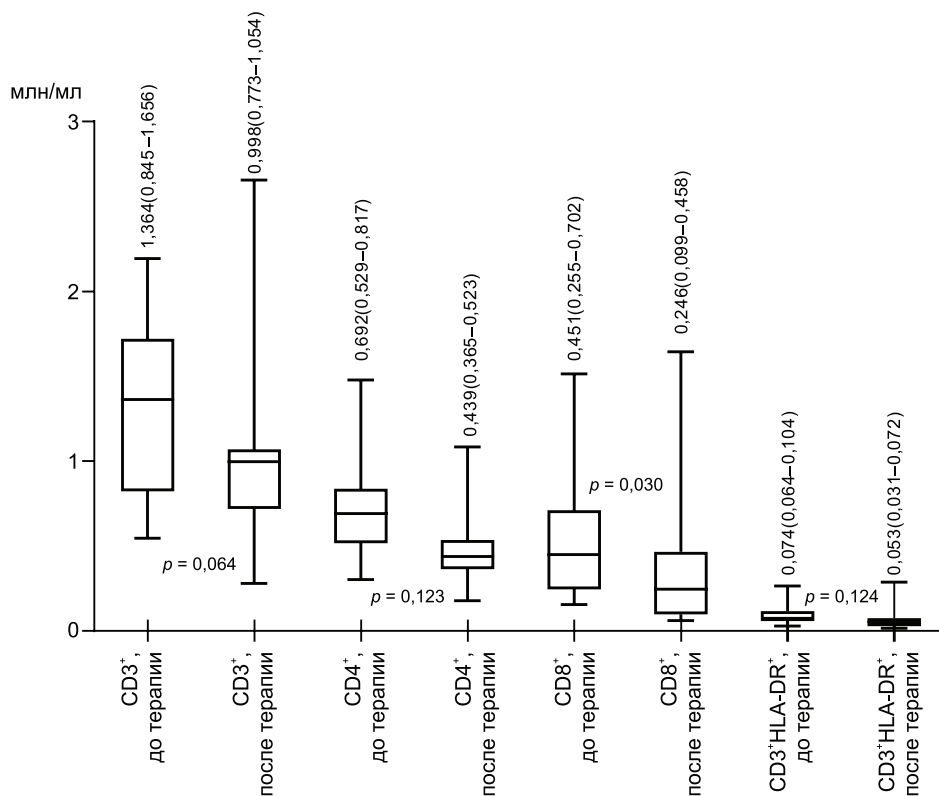


Рисунок 3 — Содержание Т-клеток до и после иммунотерапии ДК у пациентов с РМП (относительное)

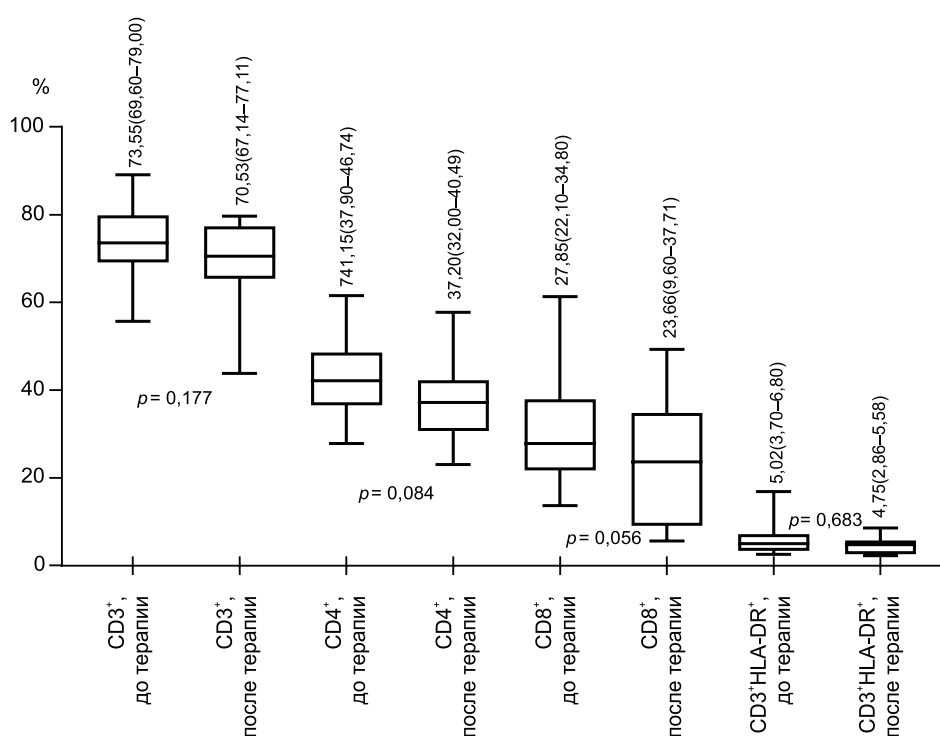


Рисунок 4 — Содержание Т-клеток до и после иммунотерапии ДК у пациентов с РМП (абсолютное)

Т-регуляторные клетки — основные клетки периферической крови, выполняющие регуляторную функцию и опосредующие периферическую иммунологическую толерантность. Эти клетки способны подавлять аутоиммунные и аллергические реакции, отторжение трансплантата, но, вместе с тем, существенно уменьшают резервы противоопухолевого и противои инфекционного иммунитета [6].

Т-регуляторные клетки определяли как клетки, экспрессирующие CD4⁺CD25^{hi} и не экспрессирующие CD127 (рисунок 5).

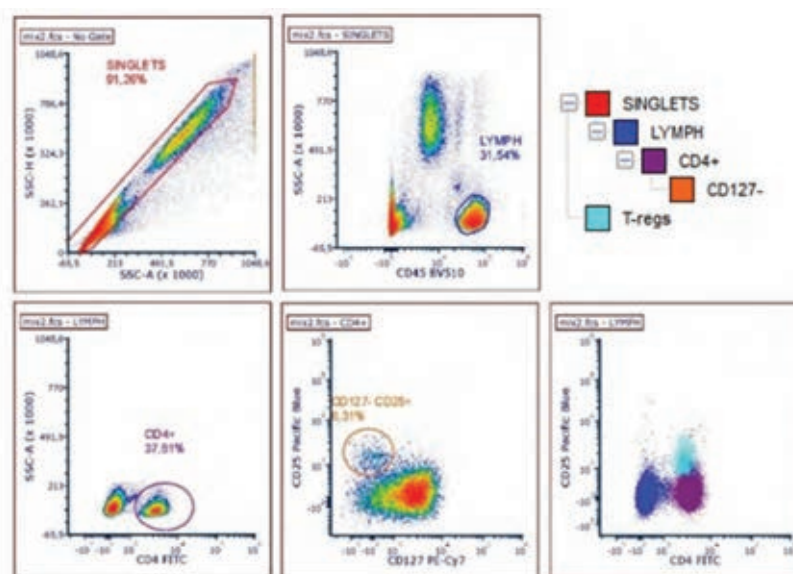


Рисунок 5 — Гейтирование Т-регуляторных клеток

В процессе лечения зарегистрировано достоверное снижение относительного содержания Т-регуляторных клеток (до — 1,35 (0,90–2,00) %, после — 0,78 (0,45–1,04) %, $p = 0,041$), что указы-

вает на усиление иммуногенного потенциала системы иммунитета. Однако установлено, что абсолютное содержание Т-регуляторных клеток достоверно не изменилось в процессе лечения ДК ($p = 0,101$).

Т-клетки памяти — популяция Т-лимфоцитов, хранящая информацию о ранее действовавших антигенах и формирующая вторичный иммунный ответ. Большая доля представлений основана на исследованиях цитотоксических Т-лимфоцитов (CD8⁺), однако сходные популяции, как представляется, существуют как для Т-хелперов (CD4⁺), так и для цитотоксических Т-лимфоцитов.

Т-клетки памяти подразделяются на четыре основные популяции, отличающиеся по экспрессии поверхностных маркеров, а именно молекулы CD45RA, хемокинового рецептора CCR7(CD197) и адгезионной молекулы CD62L (L-селектин). Эти популяции обозначены как наивные клетки (Naïve), центральные клетки памяти (TCM), эффекторные клетки памяти (TEM) и терминально дифференцированные эффекторные клетки памяти (TEMRA) [7]. Фенотип четырех основных субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток памяти, можно представить следующим образом: Naïve (CCR7⁺, CD62L⁺, CD45RA⁺, CD45RO⁻), TCM (CCR7⁺, CD62L⁺, CD45RA⁻, CD45RO⁺), TEM (CCR7⁻, CD62L⁻, CD45RA⁻, CD45RO⁺) и TEMRA (CCR7⁻, CD62L⁻, CD45RA⁺, CD45RO^{+/-}) (рисунок 6).

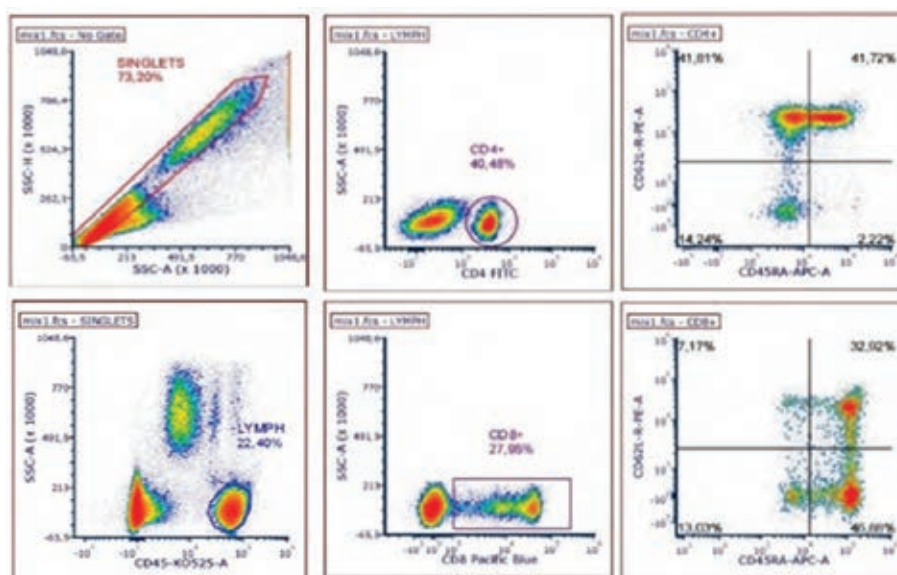


Рисунок 6 — Гейтирование Т-клеток памяти

Результаты относительного и абсолютного содержания Т-клеток памяти до и после иммунотерапии ДК у пациентов с РМП представлены в таблице 3.

Таблица 3 — Содержание Т-клеток памяти до и после иммунотерапии ДК у пациентов с РМП (относительное и абсолютное)

Субпопуляции Т-клеток памяти	Содержание		
	до терапии	после терапии	<i>p</i>
CD4 ⁺ Naïve, %	14,40 (10,24–19,40)	9,89 (7,64–15,65)	0,005
CD4 ⁺ Naïve, ×10 ⁶ клеток/мл	0,299 (0,170–0,288)	0,128 (0,109–0,141)	0,004
CD4 ⁺ TCM, %	15,85 (12,78–17,60)	15,98 (13,30–18,68)	0,638
CD4 ⁺ TCM, ×10 ⁶ клеток/мл	0,254 (0,201–0,363)	0,187 (0,164–0,212)	0,064
CD4 ⁺ TEM, %	8,00 (6,87–8,61)	6,80 (4,48–11,03)	0,730
CD4 ⁺ TEM, ×10 ⁶ клеток/мл	0,159 (0,067–0,207)	0,070 (0,056–0,155)	0,033
CD4 ⁺ TEMRA, %	2,25 (1,10–2,80)	0,97 (0,42–1,65)	0,001
CD4 ⁺ TEMRA, ×10 ⁶ клеток/мл	0,041 (0,014–0,065)	0,013 (0,006–0,029)	0,001
CD8 ⁺ Naïve, %	9,10 (7,80–11,60)	8,995 (5,61–10,89)	0,345
CD8 ⁺ Naïve, ×10 ⁶ клеток/мл	0,153 (0,101–0,198)	0,090 (0,046–0,151)	0,078

Окончание табл. 3

Субпопуляции Т-клеток памяти	Содержание		
	до терапии	после терапии	<i>p</i>
CD8 ⁺ TCM, %	2,75 (1,71–3,20)	1,25 (1,14–2,41)	0,033
CD8 ⁺ TCM, ×10 ⁶ клеток/мл	0,037 (0,024–0,074)	0,022 (0,009–0,040)	0,026
CD8 ⁺ TEM, %	2,40 (1,60–3,50)	1,75 (0,83–2,36)	0,005
CD8 ⁺ TEM, ×10 ⁶ клеток/мл	0,037 (0,025–0,056)	0,018 (0,008–0,031)	0,002
CD8 ⁺ TEMRA, %	18,40 (7,80–28,00)	8,80 (3,69–20,23)	0,002
CD8 ⁺ TEMRA, ×10 ⁶ клеток/мл	0,224 (0,112–0,481)	0,098 (0,037–0,283)	0,001

Истощенные (exhausted) Т-клетки развиваются в условиях постоянного воздействия антигена — опухолевых клеток или микроорганизма. Истощенные Т-клетки экспрессируют различные коингибиторные рецепторы. Экспрессия маркеров CD279 и CD366 показана на рисунке 7.

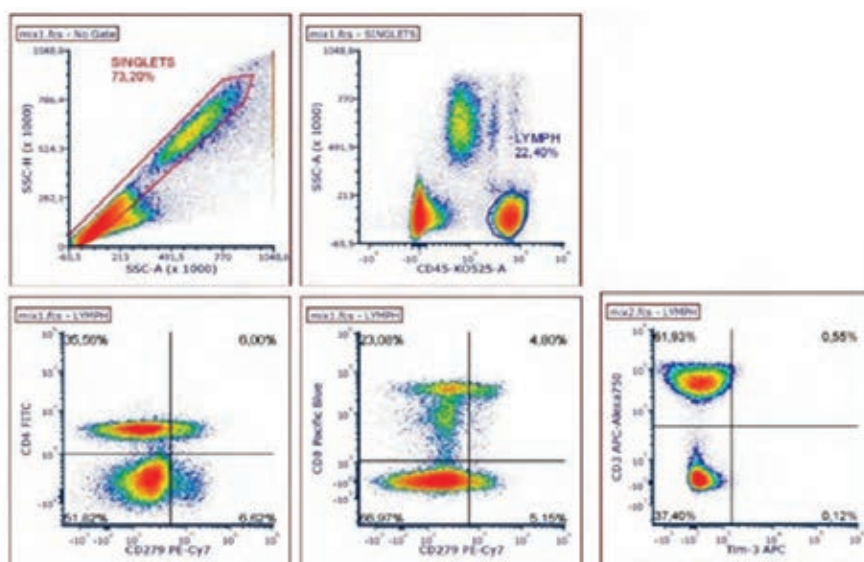


Рисунок 7 — Гейтирование истощенных Т-клеток

У пациентов с РМП в процессе лечения ДК относительное и абсолютное содержание PD-1⁺ «истощенных» Т-клеток достоверно уменьшились (до — 8,82 (8,25–11,33) %, после — 5,35(3,13–7,93) %, *p* = 0,003; до — 0,117 (0,096–0,251) · 10⁶ клеток/мл, после — 0,040(0,030–0,096) · 10⁶ клеток/мл, *p* = 0,001). Также установлено, что в процессе лечения относительное содержание Tim-3⁺ «истощенных» Т-клеток достоверно увеличилось (до — 0,14 (0,09–0,20) %, после — 0,18 (0,14–0,34) %, *p* = 0,033), в то время как абсолютное содержание данной субпопуляции Т-клеток в периферической крови пациентов с РМП достоверно не отличалось в процессе лечения.

Естественные киллерные клетки (ЕК-клетки) и естественные киллерные Т-клетки (ЕКТ-клетки) являются важными составляющими врожденного иммунитета и играют роль первой линии защиты от онкологических заболеваний. Данные популяции отличаются высокой гетерогенностью и разделяются на несколько субпопуляций, отличающихся по степени экспрессии маркеров CD56, CD57 и CD16 и функциональной активностью. В отличие от ЕКТ-клетки ЕК-клетки не имеют Т-клеточных рецепторов и маркера CD3. На поверхности ЕК-клеток имеются рецепторы NCR1 (CD335) и NCR2 (CD336), активирующие клеточную токсичность, способствующая повышению эффективности активированных ЕК-клеток. Фенотип ЕК-клеток определяли как CD3[−]CD16⁺, а ЕКТ-клеток — как CD3⁺CD16⁺ (рисунок 8).

Отмечено достоверное снижение относительного и абсолютного количества ЕК-клеток (до — 11,37 (8,93–14,50) %, после — 7,19 (5,72–8,74) %, *p* = 0,028; до — 0,203 (0,120–0,232) · 10⁶ клеток/мл, после — 0,118(0,088–0,150) · 10⁶ клеток/мл, *p* = 0,003), в то время как таковые показатели ЕКТ-клеток в периферической крови пациентов с РМП достоверно не изменились в процессе лечения.

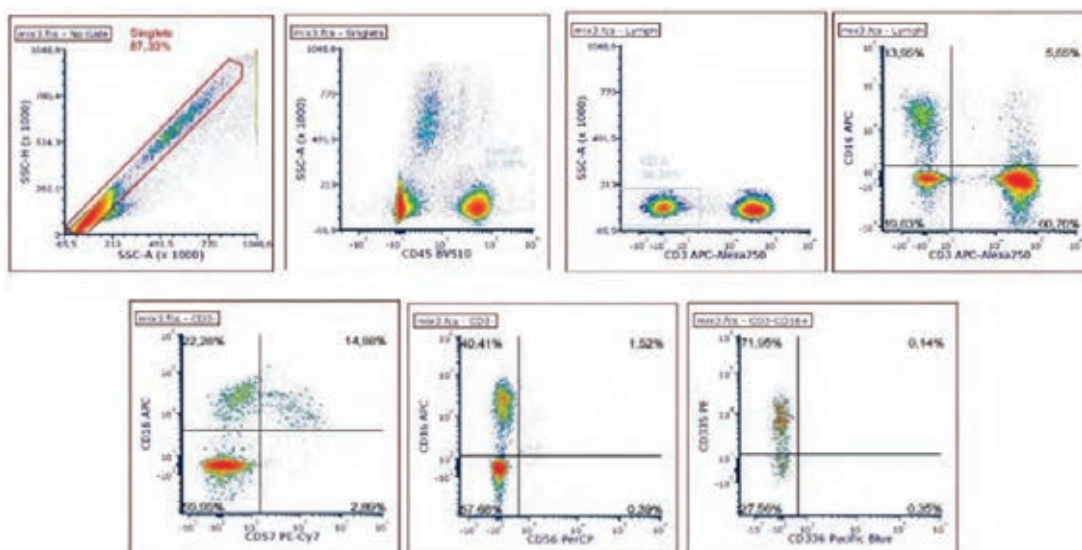


Рисунок 8 — Гейтирование ЕК- и ЕКТ-клеток

Клиническая эффективность. В результате мониторинга за пациентами с РМП, проходящих иммунотерапию ДК, не выявил побочных эффектов терапии: аллергических реакций, гриппоподобных симптомов, анемии, тромбоцитопении, нарушения функции почек и печени, выраженных местных постинъекционных реакций, лейко- и лимфопении, снижения числа Т- и В-лимфоцитов. Таким образом, анализ клинических наблюдений за пациентами в совокупности с результатами динамического лабораторного обследования указывает на хорошую переносимость и безопасность аутологичных ДК у пациентов с РМП.

Общая выживаемость в основной группе ($n = 16$) за период наблюдения составила 100 %. По результатам контрольного обследования у 12 пациентов признаков прогрессирования не выявлено, из них 7 пациентам выполнено 3 курса (15 введений) иммунотерапии ДК, 5 пациентам — 1–2 курса ДК (5–10 введений). У трех пациентов диагностировано прогрессирование заболевания, из них пациентам РМП-06В и РМП-17Б выполнено 8 введений ДК, пациенту РМП-12С — 15 введений. Пациент РМП-14К исключен из статистического анализа, так как у данного пациента выявлены признаки прогрессирования РМП до начала иммунотерапии, что расценено как ошибка диагноза.

Для сравнительной оценки эффективности клеточной иммунотерапии было сформировано две группы пациентов: основная группа ($n = 16$) и группа сравнения, ретроспективная ($n = 50$). Пациенты контрольной группы имели аналогичную стадию заболевания с наличием одиночных и мультифокальных форм роста опухоли, которые получали как хирургическое, так и лекарственное лечение согласно протоколам диагностики и лечения злокачественных новообразований. Диагностика локального рецидива и прогрессирования проводилась на основании клинических признаков, УЗИ области брюшной полости и мочевого пузыря, КТ.

Клиническая эффективность на основании оценки безрецидивной выживаемости в течение года составила 81,3 % по сравнению с 68,0 % в группе сравнения.

Результаты исследования показали, что дополнительное использование метода лечения при помощи БМКП на основе ДК (в объеме не менее трех курсов) на фоне стандартного лечения (согласно клиническим протоколам) РМП в адъювантном режиме позволяет достоверно увеличить годовую безрецидивную выживаемость после радикального лечения у 81,3 % пациентов по сравнению с 68,5 % контрольной группы. Метод лечения с использованием БМКП на основе аутологичных ДК рекомендуется в комплексном лечении рецидивного РМП.

По результатам проведенных исследований разработана и утверждена инструкция «Метод лечения пациентов, страдающих рецидивом мышечно-неинвазивного рака мочевого пузыря, с применением биомедицинского клеточного продукта на основе аутологичных дендритных клеток» (рег. № 190–1220, утв. 28 января 2021 г.).

Заключение. С августа 2019 г. по декабрь 2020 г. на базе МГКОД проведены клинические испытания метода аутоиммунотерапии РМП с использованием ДК. Для участия в клинических испытаниях сотрудниками кафедры онкологии БГМУ отобрано 17 пациентов с РМП после проведенного опе-

ративного вмешательства (трансуретральной резекции) для включения в основную группу исследования. Подготовлено и выполнено подкожное введение 195 единиц БМКП/663,5 млн клеток для 17 пациентов.

До и после проведения иммунотерапии исследованы минорные субпопуляции лейкоцитов, играющих важную роль в патогенезе (МЛСК гранулоцитарного и моноцитарного происхождения, субпопуляций Т-клеток, активированных Т-клеток, регуляторных Т-клеток, Т-клеток памяти, истощенных Т-клеток, ЕК-клеток, ЕКТ-клеток). Выполнено определение АСК периферической крови до и после иммунотерапии. Показана высокая иммунологическая эффективность лечения, что проявилось в снижении содержания Т-регуляторных клеток, PD-1⁺ «истощенных» Т-клеток у пациентов с РМП после лечения при помощи ДК.

Мониторинг клинических и клинико-лабораторных показателей состояния пациентов с РМП, проходивших иммунотерапию, не выявил побочных эффектов терапии, применение БМКП на основе ДК было безопасным и хорошо переносимым.

Результаты исследования показали, что дополнительное использование метода лечения при помощи БМКП на основе ДК (в объеме не менее трех курсов) на фоне стандартного лечения (согласно клиническим протоколам) РМП в адъювантном режиме позволяет достоверно увеличить годовую безрецидивную выживаемость после радикального лечения у 81,3 % пациентов ($n = 16$), по сравнению с 68,5 % контрольной группой ($n = 50$). Метод лечения с использованием БМКП на основе аутологичных ДК рекомендуется в комплексном лечении рецидивного РМП.

Литература

1. Langerhans, P. Ueber die Nerven der menschlichen Haut / P. Langerhans // Archiv fur pathologische Anatomie und Physiologie, und fur Klinische Medicin. — Berlin, 1868. — Bd. 44. — P. 325–337.
2. Steinman, R. M. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice / R.M. Steinman, Z.A. Cohn // J. Exp. Med. — 1973. — Vol. 137, № 5. — P. 1142–1162.
3. Safety and short term efficacy of dendritic cell immune therapy in patients with chronic hepatitis B / L. P. Titov [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. — 2010. — Vol. 125, № 2. — Suppl. — P. AB13.
4. Показатели Т-клеточного иммунитета у взрослых пациентов с опоясывающим лишаем и ветряной оспой / А. Е. Гончаров [и др.] // Современные проблемы инфекционной патологии человека [Электронный ресурс]: сб. науч. тр. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии; под ред. Л.П. Титова. — Минск: ГУ РНМБ, 2016. — Вып. 9. — С. 198–202. — 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).
5. Comparative analysis of monocytic and granulocytic myeloid-derived suppressor cell subsets in patients with gastrointestinal malignancies / A. Duffy [et al.] // Cancer Immunol. Immunother. — 2013. — Vol. 62. — P. 299–307.
6. Roles of regulatory T cells in cancer immunity / Y. Takeuchi, H. Nishikawa // Int. Immunol. — 2016. — Vol. 28, № 8. — P. 401–409.
7. Sallusto, F. Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance / F. Sallusto, J. Geginat, A. Lanzavecchia // Annu. Rev. Immunol. — 2004. — Vol. 22 — P. 745–763.

The use of a biomedical cell product based on monocytic dendritic cells in the treatment of bladder cancer patients: results of a clinical research

Hancharou A. Y.¹, Prokhorov A. V.², Timohina O. V.¹, Antonevich N. G.¹, Minich Y. S.¹, Rynda A. G.¹, Prokhorov V. A.²

¹ State Scientific Institution «Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus», Minsk, Republic of Belarus;

² Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Bladder cancer is a fairly common disease of the genitourinary system and is mainly detected at the age of 60–80 years. Despite the advances achieved in the early diagnosis of bladder cancer, regional and distant



metastases are revealed in 20 % of patients upon diagnosis of bladder cancer. In the last two decades, in many countries of the world clinical trials of the method of immunotherapy of oncological diseases based on the use of dendritic cells. The studies have shown the safety, tolerability, immunological and clinical efficacy of the use of dendritic cells.

This article describes the results of studies evaluating the immunological and clinical efficacy of monocyte-derived dendritic cell-based treatment of bladder cancer.

Keywords: dendritic cells, immunotherapy, bladder cancer, flow cytometry.

Поступила 21.07.2021