

УДК: 616.34-006.6-06-08-07:615.37/.38(043.5)

ИММУНОТЕРАПИЯ С ПРИМЕНЕНИЕМ БИМЕДИЦИНСКОГО КЛЕТОЧНОГО ПРОДУКТА НА ОСНОВЕ АЛЛОГЕННЫХ ЕСТЕСТВЕННЫХ КИЛЛЕРНЫХ КЛЕТОК В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ МЕТАСТАТИЧЕСКОГО КОЛОРЕКТАЛЬНОГО РАКА

¹К.А. Шишко, ¹А.В. Прохоров, ²Е.В. Дуж, ²А.Е. Гончаров

¹Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

²Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси

IMMUNOTHERAPY USING A BIOMEDICAL CELL PRODUCT BASED ON ALLOGENIC NATURAL KILLER CELLS IN COMPLEX TREATMENT OF METASTATIC COLORECTAL CANCER

¹K.A. Shyshko, ¹A.V. Prokharau, ²E.V. Duzh, ²A.Y. Hancharou

¹Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

²Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus

Резюме. В данной статье рассматривается безопасность и переносимость метода комплексной терапии метастатического колоректального рака с применением биомедицинского клеточного продукта на основе естественных киллерных клеток, разработанного Институтом биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси.

Ключевые слова: естественные киллерные клетки, колоректальный рак.

Resume. Article examines the safety and tolerability of a method of complex therapy for metastatic colorectal cancer using a biomedical cell product based on natural killer cells. The Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus developed a biomedical cell product.

Keywords: natural killer cells, colorectal cancer

Актуальность. Колоректальный рак (КРР) занимает третье место среди наиболее часто диагностируемых злокачественных новообразований во всем мире с увеличением заболеваемости в Азии и странах Восточной Европы [7]. На его долю приходится почти 8,5% всех смертей от злокачественных новообразований [6]. В Республике Беларусь заболеваемость раком ободочной кишки в 2019 г. составляла 33,5 случаев на 100000 населения, раком прямой кишки – 24,6 случаев на 100000 населения. Пик заболеваемости приходится на возраст 70 – 79 лет. При I-II стадиях рак ободочной кишки выявлен в 51,1% случаев, на III – 23%, на IV - 22,6%. Ранняя диагностика рака прямой кишки остается неудовлетворительной и составляет 48,8% на I-II стадиях, 25,2% - при III и 22,9% - при IV [3]. Согласно приказу Министерства здравоохранения Республики Беларусь №60 от 06.07.2018г «Об утверждении клинического протокола «Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований», основными методами лечения являются хирургический, лекарственный и лучевая терапия. Результаты лечения напрямую зависят от стадии заболевания и эффективности проводимого лечения. При этом пятилетняя выживаемость при IV стадии рака ободочной кишки составляет всего 8,4%, для рака прямой кишки – 5,5%. Одногодичная

летальность для рака ободочной кишки в 2019 г. составила 26%, для рака прямой кишки – 22,5% [3]. Таким образом, очевидно, что проблема лечения колоректального рака, несмотря на все успехи в хирургическом лечении и химиотерапии, остается крайне актуальной. Это диктует необходимость поиска новых патогенетически обоснованных методов лечения. Одним из новых направлений в лечении злокачественных новообразований является иммунотерапия. Противоопухолевые вакцины исследовались в лечении нескольких типов злокачественных новообразований для изучения противоопухолевого иммунного ответа, который потенциально способен ликвидировать опухоль и обеспечить контроль течения болезни. Типы вакцин, используемых в терапии КРР в последнее десятилетие, включают аутологичную, пептидную, содержащую вирусный вектор и дендритную вакцину [4]. Терапия дендритными клетками вызывает противоопухолевый ответ, заставляя их показывать опухолевые антигены лимфоцитам, что активирует последних, заставляя их «убивать» другие клетки, которые проявляют антиген. Дендритные клетки – это антигенпрезентирующие клетки иммунной системы. Одним из способов индуцирования дендритных клеток к представлению опухолевых антигенов является вакцинация аутологичными опухолевыми лизатами или короткими пептидами (небольшие части белка, соответствующие белковым антигенам на раковых клетках). Эти пептиды часто вводят в сочетании с адъювантами для усиления иммунных и противоопухолевых реакций. При лечении рака они помогают нацеливаться на опухолевые антигены. Однако до сих пор не проведено никаких исследований III фазы, подтверждающих эффективность или улучшение выживаемости вследствие применения этих вакцин у пациентов с колоректальным раком [2]. Другим направлением клеточной активной иммунотерапии является разработка технологии использования естественных киллерных клеток. Известно, что естественные киллерные клетки (ЕКК) могут индуцировать антиген-независимый иммунный ответ против злокачественных клеток. Растущее число научных отчетов и клинических исследований показали многообещающие противоопухолевые эффекты при использовании иммунотерапии на основе ЕКК. В настоящее время используются различные подходы для увеличения количества и функции ЕКК. В одном из подходов используются цитокины для селективного повышения как количества, так и эффективности противоопухолевых функций ЕКК [5]. Другой новый подход фокусируется на ингибиторах контрольных точек, нацеленных на рецептор ЕКК. Кроме того, были разработаны биоспецифические и триспецифические агенты для усиления специфического иммунного ответа путем перекрестного связывания специфических опухолевых антигенов с эффекторными клетками. Кроме того, терапия адоптивного переноса ЕКК показала многообещающие перспективы. При этом отмечено, что, несмотря на привлекательность метода иммунотерапии на основе аутологичных ЕКК, клинический эффект от их введения остается неоправданно низким, что, в свою очередь, может быть обусловлено присутствием на поверхности ингибиторных KIR рецепторов, узнающих молекулы МНС I класса на опухолевой клетке. Активация KIR рецепторов негативно регулирует цитотоксическую активность натуральных киллеров [1]. Среди различных источников адоптивного переноса ЕКК аллогенные гаплоидентичные ЕКК, подвергшиеся краткосрочной или долгосрочной активации или экспансии,

также продемонстрировали эффективное противоопухолевое действие с низкой частотой отторжения и побочными эффектами. В Республике Беларусь разработка методов клеточной иммунотерапии солидных опухолей с применением биомедицинского клеточного продукта (далее БМКП) на основе ЕКК ранее не выполнялась, однако в ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии» БМКП на основе ЕКК с успехом применяются для лечения рефрактерных и рецидивных форм лейкозов.

Цель: оценка безопасности и переносимости биомедицинского клеточного продукта на основе естественных киллерных клеток.

Материалы и методы. Объектом исследования стали взрослые пациенты мужского и женского пола от 23 до 75 лет, со статусом Карновского 70–100% (ECOG 0–1 балла) с метастатическим колоректальным раком, подлежащие хирургическому лечению в объеме удаления первичной опухоли и максимальной циторедукции с гистологически подтвержденной аденокарциномой толстой кишки. Пациенты были осведомлены с целью и технологией апробируемого метода лечения и необходимостью проведения дополнительных лабораторных исследований. Для каждого пациента был разработан индивидуальный временной план проводимого лечения, согласуемого с забором крови у донора, последующего изготовления БМКП на основе ЕКК. Введение БМКП на основе ЕКК проводилось при наличии информированного согласия пациента на терапию, только в стационарных условиях. Запланированный режим введения: 2–3 трансплантации БМКП на основе ЕКК в количестве не менее $0,5 \times 10^6$ клеток/кг веса пациента. При первом введении БМКП для оценки возможных аллергических реакций проводился кожный тест, для чего вводили подкожно 0,1 мл. взвеси клеток. Через 30 минут при отсутствии системных и местных реакций проводят введение оставшейся взвеси клеток. Взвесь ЕКК вводилась внутривенно капельно медленно в 100 мл физиологического раствора с соблюдением правил асептики и антисептики. Пациенты постоянно находились под наблюдением медицинского персонала. Перед введением, через 1 час после введения, а также перед сном и с утра пациентам выполнялся контроль пульса, артериального давления, температуры тела, проводился медицинский опрос с целью уточнения возможных побочных явлений. Кроме того, выполнялись общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимический анализ крови (мочевина, креатинин, билирубин, аспартатаминотрансфераза, аланинаминотрансфераза) перед введением БМКП и на следующий день. Оценка переносимости и безопасности применения способа иммунотерапии проводили на основании обследования пациентов и изучения лабораторных показателей до начала терапии, в период ее проведения и после ее окончания. Переносимость способа иммунотерапии оценивали, как хорошую – если температура тела пациента была в пределах нормы, аллергические реакции отсутствовали; удовлетворительную – если отсутствовали аллергические реакции и регистрировалось повышение температуры тела до 39°C не более трех суток после инъекции; неудовлетворительную – температура тела выше 39°C после введения клеток или температура тела до 39°C свыше трех суток после инъекции при отсутствии других причин для ее повышения и/или наличие аллергических реакций по типу крапивницы, отека Квинке и других, потребовавших медикаментозной терапии.

Результаты и их обсуждение. На момент написания работы произведено одно введение биомедицинского клеточного продукта на основе аллогенных естественных киллерных клеток 16 пациентам (9 женщин и 7 мужчин) от 23 до 75 лет. Трём из них выполнено 2 введения БМКП на основе ЕКК. Подкожный тест у всех пациентов был отрицательным. Общее состояние пациентов после проведения иммунотерапии оценивалось как удовлетворительное. Частота сердечных сокращений, уровень артериального давления у пациентов сохранялись в пределах их обычных значений. Аритмии не выявлено. Жалоб на одышку, затрудненное дыхание, боли в животе отсутствовали. Кожные покровы сохраняли обычную окраску, сыпи, периферических отеков выявлено не было. Катаральные симптомы, миалгия, увеличение и/или болезненность лимфоузлов не зарегистрированы. Местных и системных аллергических реакций выявлено не было. Показатели общего анализа крови, и общего анализа мочи после введения биомедицинского клеточного продукта оставались стабильными. У одного пациента через 4 часа после первого введения препарата было зафиксировано повышение температуры тела до 38,5С. Данный симптом был купирован приемом 500мг парацетамола. В дальнейшем температура тела не повышалась. При втором введении у этого же пациента при удовлетворительном состоянии и отсутствии каких-либо жалоб было выявлено повышение аланинаминотрансферазы до 5 норм, аспартатамино-трансферазы до 3 норм, мочевины до 11,7 ммоль/л, креатинин и билирубин оставались стабильными. Через 5 дней все биохимические показатели пришли в норму. Дополнительная медицинская помощь пациенту не оказывалась. У второго пациента зафиксировано повышение температуры тела до 37,5⁰С через 1 час после введения. Гипертермическая реакция наблюдалась в течение 6 часов и купировалась самостоятельно.

Выводы:

1. Изучение показателей биохимического анализа крови после 19 введений БМКП в 95% случаев не выявило транзитного повышения уровня трансаминаз и билирубина, характеризующих функциональное состояние печени, что указывает на отсутствие токсического действия биомедицинского клеточного продукта. Единичный случай саморазрешившейся гипертрансаминаземии требует дальнейшего контроля и анализа.

2. Результаты общего анализа мочи, указывающие на отсутствие протеинурии и кетонурии в сопоставлении с результатами биохимического анализа крови не выявили негативного влияния биомедицинского клеточного продукта на функциональную активность почек.

3. В результате мониторинга за пациентами, проходящих иммунотерапию БМКП на основе аллогенных ЕКК, не выявил побочных эффектов терапии: аллергических реакций, гриппоподобных симптомов, анемии, тромбоцитопении, выраженных местных постинъекционных реакций, лейко- и лимфопении.

4. Таким образом, анализ клинических наблюдений за пациентами в совокупности с результатами динамического лабораторного обследования указывает на хорошую (87,5% пациентов) и удовлетворительную (12,5% пациентов) переносимость и безопасность применения аллогенных ЕКК у пациентов с метастатическим раком толстого кишечника.

Литература

1. Е.А. Боробова, А.А. Жеравин Натуральные киллеры в иммунотерапии онкологических заболеваний // Сибирский онкологический журнал. 2018. №17(6). С. 97-104.
2. О.В. Пономарева, Д.Э. Рыспаева, Л.А. Сивак Иммунотерапия колоректального рака: современные представления и перспективы // Клиническая онкология. 2018. №4 (32). С. 232-238.
3. Рак в Беларуси: цифры и факты. Анализ данных Белорусского канцер-регистра за 2010-2019 гг. / А.Е. Океанов, П.И. Моисеев, Л.Ф. Левин, А.А. Евмененко, Т.Б. Ипатий, Под ред. С.Л. Полякова. Минск: РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова, 2020. 298 с.
4. Kalyan A., Kircher S., Shah H. et al. Updates on immunotherapy for colorectal cancer // J. Gastrointest. Oncol.. 2018. №9(1). С. 160-169.
5. Qiu-Zhong Pan, Jing-Jing Zhao, Chao-Pin Yang, Yu-Qing Zhouc, et al Efficacy of adjuvant cytokine-induced killer cell immunotherapy in patients with colorectal cancer after radical resection // Oncoimmunology. 2020. №1.
6. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. // CA Cancer J Clin.. 2021. №71(3). С. 209–49.
7. Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A Global cancer statistics, 2012. // CA Cancer J Clin.. 2015. №65. С. 87–108.