

НИИ экспериментальной
диагностики и терапии
опухолей ГУ Российский
онкологический
научный центр
им. Н.Н. Блохина РАМН,
Москва

ВЗАИМООТНОШЕНИЕ ОПУХОЛИ И ИММУННОЙ СИСТЕМЫ ОРГАНИЗМА

А.Ю.Барышников

*Накопившиеся сведения
о взаимоотношении
опухоли и иммунной
системы позволяют
подходить к биотерапии
опухолей на рациональной
основе и заранее
прогнозировать успех
или неудачу планируемого
вида лечения.*

Еще 10 лет назад биологическая терапия опухолей была скорее мечтой, чем реальностью. С этого времени ситуация существенно изменилась. Появились биологические подходы к лечению онкологических заболеваний, составляющие неотъемлемую часть современной клинической практики. Разработаны новые эффективные биотехнологические методы, использование которых в будущем, несомненно, принесет свои плоды. Во многом этому способствовало понимание проблемы взаимоотношения опухоли и иммунной системы.

Иммунная система подразделяется на две основные системы – гуморальную и клеточную. За функционирование гуморальной системы, в основном, ответственны В-лимфоциты, а за функцию клеточной системы – Т-лимфоциты. В противоопухолевом ответе организма принимают участие обе системы, однако, контроль за ростом и регрессией опухоли осуществляют Т-клетки. Образующиеся в процессе роста опухоли противоопухолевые антитела блокируют опухлеассоциированные антигены и препятствуют разрушению опухоли специфическими Т-лимфоцитами и способствуют её ускользанию из-под иммунологического надзора. Регулируют развитие гуморального и клеточного ответа Т-клетки помощники, так называемые хелперы. Т-хелперы 1-го типа ответственны за развитие клеточного иммунного ответа, а Т-хелперы 2-го типа индуцируют гуморальный иммунный ответ. В зависимости от того, какой тип хелперов будет преобладать, определяется судьба опухолевой клетки – или она будет убита цитотоксическими Т-лимфоцитами, или ускользнет от иммунного надзора.

Иммунные Т-клетки обычно активируются после их связывания с клетками других типов. Активация является следствием взаимодействий рецептор – лиганд на поверхности двух связывающихся клеток. Главным событием в развитии иммунного ответа является презентация антигена.

Презентация антигенов

В отторжении чужеродных трансплантатов и опухолевых клеток основную роль играет клеточно-опосредованный иммунитет, ведущим компонентом которого являются Т-клетки. Абсолютно необходимым условием для антигенспецифической активации Т-лимфоцитов является взаимодействие между Т-клеточным рецептором антигена (TCR) и комплексом: молекула МНС-антиген на опухолевой клетке. Т-лимфоциты могут узнавать чужеродные антигены только вместе с экспрессированными на клеточной поверхности «своими» молекулами главного комплекса гистосовместимости – МНС/HLA. Молекулы МНС подразделяются на два основных класса – I и II. Они являются интегральными мембранными гликопротеидами и экспрессируются на поверхности клеток. Молекулы МНС этих двух классов, нековалентно связанные в комплекс с антигенными пептидами, служат лигандами для Т-клеток разных типов. Т-клетки узнают комплексы «антиген–молекула МНС» через экспрессированные на их поверхности структуры, известные как Т-клеточные рецепторы (TCR). Молекулы класса I выполняют функцию рецепторов для CD8⁺-лимфоцитов, а молекулы класса II – ту же функцию для CD4⁺-лимфоцитов. Функции CD8- и CD4-лимфоцитов частично перекрываются. Клетки CD8⁺ иногда называют цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ), так как они могут осуществлять прямой лизис клеток-мишеней, выделяя литические гранулы и цитокины. Цитотоксическую активность в некоторых случаях проявляют и CD4⁺-

клетки, но их называют хелперными (клетки-помощники), так как они усиливают реакцию антител, активируя В-клетки, способствуют другим Т-клеточным реакциям, а также активируют иные эффекторные клетки.

Антиген представляют CD4⁺-лимфоцитам антигенпрезентирующие клетки (АПК). К АПК относятся моноциты, макрофаги, В-лимфоциты, клетки Лангерганса и дендритные клетки. Роль дендритных клеток в индукции противоопухолевого иммунитета выявлена сравнительно недавно. Дендритные клетки происходят из стволовых костномозговых предшественников и в присутствии цитокинов созревают до зрелых форм. Они обладают способностью представлять антиген CD4⁺-клеткам в комплексе с антигенами МНС II класса. В процессе индукции Т-клеточного ответа участвуют и другие поверхностные молекулы, представленные как на Т-лимфоцитах, так и на презентующих клетках или клетках-мишенях, выступающие при взаимоотношениях как пары – рецептор–лиганд. Важной для инициации иммунного ответа является экспрессия на Т-клетках антигена CD28, который взаимодействует с лигандом В7/BB1. Для непраймированных CD4⁺- и CD8⁺-клеток, а также клеток памяти активация Т-клеточного рецептора недостаточна для стимуляции продукции интерлейкина-2 и пролиферации. В7 выступает как «второй сигнал» при активации Т-клеток. Активация CD28 также сопровождается индукцией структурного гомолога CD28 рецептора CTLA-4, с более низкой экспрессией, но большей авидностью к В7, чем CD28. Усиливают сигналы такие рецепторно-лигандные пары как LFA-1-ICAM-1,2 или 3; CD2-LFA-3; CD5-CD72.

Т-клетки человека, накапливающиеся в опухолевой массе, в некоторых случаях могут специфически лизировать аутологические опухолевые клетки *in vitro*. Они также обладают способностью секретировать интерлейкин-2, интерферон-гамма, гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, а также пролиферировать в ответ на стимуляцию аутологичными опухолевыми клетками. Противоопухолевые Т-клетки могут быть выращены в большом количестве *in vitro*, а затем перенесены человеку для успешного подавления роста опухоли. С помощью методов молекулярного клонирования были идентифицированы опухолевые антигены, распознаваемые аутологичными Т-клетками человека. В совокупности все эти данные свидетельствуют о возможности развития Т-клеточного иммунного ответа, направленного против аутологичной опухоли.

Специфические опухолевые антигены

Потенциальными мишенями опухолеспецифичных Т-клеток могут быть:

- А. Чужеродные пептиды (вирусные).
- Б. Модифицированные аутопептиды.
 1. Мутированные пептиды (ms, p53).
 2. Рекомбинантные белки (bcl-abl).
- В. Немутированные аутобелки.
 1. Тканеспецифичные (меланоцит, ткань яичек).
 2. Онкофетальные белки (альфа-фетопротеин).
 3. Амплифицированный белок (Her-2/neu).

В недавно проведенных исследованиях было показано, что опухолеспецифичные Т-лимфоциты присутствуют у больных с опухолями нескольких разных типов, включая меланому, рак яичка и почки, саркому, карциномы головы и шеи, глиобластому и др.

Наиболее хорошо изучены опухолеассоциированные антигены меланомы человека. К ним относятся аутобелки (семейство MAGE), меланоцит- и меланомоспецифичные белки (тирозиназа, gp100, MART-1). Аутобелки распознаются в комплексе с антигеном HLA-A1, а меланомоспецифические белки тирозиназа, gp100 и MART – в комплексе с антигеном HLA-A2. Генное семейство MAGE включает 12 генов. Антиген MAGE-1 экспрессирован примерно у 40 % больных меланомой. Антиген также представлен у некоторых больных раком молочной железы, легкого, гортани и саркомой. Поскольку антиген HLA-A1 экспрессирован у 25 % населения европеоидной расы, а MAGE-1 экспрессирован на 40 % меланом, то иммунотерапию антигеном MAGE-1 можно проводить приблизительно у 10 % больных меланомой.

Цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ) распознают немутированные пептиды тканеспецифического белка тирозиназы, которая в норме экспрессирована на ранних этапах дифференцировки миелоцита. Недостатком тирозиназы как мишени противоопухолевой терапии является то, что в процессе дифференцировки меланомных клеток она исчезает и не все опухолевые клетки ее экспрессируют. В первую очередь это касается метастазов меланомы. ЦТЛ также распознают гликопротеид gp100, а также антиген MART-1. Последний представлен как на меланомных клетках, так и нормальных меланоцитах и в сетчатке глаза.

Некоторые опухолеассоциированные антигены выявляются с помощью моноклональных антител. Карциномы экспрессируют антигены TAG-72, HMW, Lex. Опухоли желудочно-кишечного тракта содержат белок gp72, высокомолекулярный гликопротеид, раковоэмбриональный антиген. При раке легких выявлен рецептор эпидермального фактора роста. В опухолях яичника определяется гликопротеид 38–40 кД и антиген CA125. Маркером рака предстательной железы является простатспецифический антиген. В меланомных клетках моноклональные антитела определяют gp100, p97, HMW-MMA, ганглиозиды GD2 и GD3. Все вышеперечисленные антигены являются мишенями иммунокомпетентных клеток и используются при разработке вакцинотерапии рака.

Факторы, определяющие отсутствие адекватного иммунного ответа против аутологичных опухолевых клеток

Почему все же опухоли появляются и не регрессируют под действием иммунной системы? Во-первых, регрессия опухолей на ранних этапах ее развития современными методами не регистрируется и можно полагать, что все же иммунная система уничтожает многие возникающие опухолевые клетки. Во-вторых, опухоль в процессе

прогрессии приобретает ряд свойств, которые позволяют ей ускользать от иммунологического надзора.

Общепризнанно, что спонтанно возникшие опухоли содержат слабые опухолеассоциированные антигены и реакции организма против таких опухолей выявить крайне трудно. Умеренные иммунные реакции на опухоль или их полное отсутствие уже давно объясняются отсутствием чужеродных генных продуктов в опухолевых клетках, анатомической изоляцией антигенных опухолей от иммунной системы или генерализованной иммуносупрессией у онкологического больного. Последнее характерно для многих диссеминированных опухолей на поздних этапах развития.

Одной из главных причин ускользания опухоли от иммунологического надзора является отсутствие распознавания опухолевых клеток Т-лимфоцитами вследствие неадекватной презентации антигенов. Это происходит часто по той причине, что раковые клетки часто утрачивают антигены гистосовместимости I и II классов, необходимые для презентации антигенов. В качестве примера можно привести собственные данные, полученные в РОНЦ им. Н.Н. Блохина, показавшие, что из одиннадцати первичных линий клеток от больных меланомой, антигены HLA I класса были экспрессированы в 10 случаях, а антигены II класса – лишь в 1 из 11 клеточных линий. Таким образом, можно ожидать развитие иммунного ответа на меланомные клетки только у 1 из 11 больных. Опухолеассоциированные антигены 10 больных не могут быть распознаны иммунной системой. У этих пациентов нельзя вызвать иммунологический ответ на опухолевые клетки с помощью вакцинации. Аналогичная ситуация и с другими опухолями.

Другими причинами нарушения презентации являются недостаточное расщепление или неадекватная внутриклеточная транспортировка антигенов, а также отсутствие экспрессии бета-2-микроглобулина. Кроме того, при внутриклеточном протеолизе может произойти деградация именно того пептидного участка антигенного белка, который Т-клетки организма способны распознать в качестве чужого. Для стимуляции дифференцировки Т-клеток-предшественников цитотоксических Т-лимфоцитов в цитотоксические клетки может потребоваться экспрессия опухолевыми клетками не только антигенов для связывания с Т-рецепторами, но еще и лигандов для обеспечения адгезии Т-клеток с опухолевыми клетками для их ко-стимуляции. Одним из объяснений нераспознавания антигенсодержащих опухолевых клеток Т-лимфоцитами является именно недостаточная экспрессия этих лигандов, в частности ICAM-1, LFA-1, B7.

Важным механизмом ускользания опухоли от иммунологического надзора может быть отсутствие Т-лимфоцитов, способных реагировать с опухолевыми клетками. Число Т-лимфоцитов, способных реагировать с комплексами «молекулы МНС – пептид», экспрессированными в качестве антигенов опухолевыми клетками, очень мало или таких лимфоцитов вообще нет. Большинство генных продуктов, экспрессируемых опухолевыми клетками,

близкородственны или идентичны генным продуктам нормальных клеток. Для того, чтобы собственные Т-клетки организма, Т-рецепторы которых способны распознавать эти продукты, могли функционировать в качестве противоопухолевых эффекторных клеток, они не должны подвергаться действию механизмов негативной иммунологической селекции, при которой эти клетки элиминируются или супрессируются для обеспечения толерантности к «своему». Активное действие механизмов супрессии может ослаблять Т-клеточные реакции, направленные против опухоли. У лиц пожилого возраста опухоли возникают чаще. Предполагается, что старению иммунной системы способствуют клетки-супрессоры. Кроме того, опухолевые клетки способны продуцировать факторы, угнетающие иммунный ответ.

Недавно был описан новый механизм защиты опухоли от иммунных воздействий. Он основан на индукции апоптоза в активированных Т-лимфоцитах с помощью CD95 рецепторно-лигандной системы. На поверхностной мембране опухолевых клеток экспрессирован Fas/APO-1/CD95 лиганд. Активированные Т-клетки содержат на своей поверхностной мембране CD95 рецептор. После адгезии иммунного лимфоцита к опухолевой клетке вступает во взаимодействие CD95 рецепторно-лигандная система, Т-клетка получает сигнал апоптоза и погибает, не успев выполнить свою киллерную функцию. В норме такой тип защиты от иммунокомпетентных клеток существует в иммунологически привилегированных органах. Оказалось, что опухолевая клетка также его использует с целью защиты от цитотоксических Т-лимфоцитов.

Кроме того, опухолевые клетки могут быть устойчивы к действию цитотоксических цитокинов, выделяемых эффекторными клетками, или даже стимулироваться, а не подавляться этими клетками. Клеточная иммунная система может оказаться неспособной блокировать опухолевый рост также потому, что опухолевые клетки размножаются слишком быстро или их количество изначально слишком велико.

Для преодоления указанных проблем разрабатываются методы биотерапии, способные усилить противоопухолевые реакции организма.

Возможности усиления противоопухолевых реакций Т-клеток

В нашем арсенале имеется много возможностей для усиления противоопухолевых реакций организма:

- использование цитокинов;
- модификация генов опухолевых клеток;
- модификация генов лимфоцитов;
- противоопухолевые вакцины;
- адьюванты.

Все эти проблемы будут обсуждены в последующих лекциях, а мы остановимся лишь на адьювантах, так как они не будут затронуты другими лекторами.

Адьюванты – это вещества, которые усиливают иммунную реакцию на чужеродные антигены или соб-

ственные опухолеассоциированные антигены. Классическими считаются адъюванты бактериального происхождения, такие как бациллы Кальметта–Герена (БЦЖ) и *Corynebacterium parvum*, вещества, компоненты скелета клеточной стенки бактерий, мурамил-дипептид, липид А, димеколат тригалазы, эндотоксин или синтетические компоненты. Эти вещества в качестве адъювантов стимулируют как гуморальную, так и клеточную активную неспецифическую иммунную реакцию. Эти реакции считаются неспецифическими, поскольку они не включают специфическое действие антигена или активацию опухолеспецифических Т-клеток, распознающих опухолеассоциированные или опухолеспецифические антигены. Их эффекты опосредуются вторичными сигналами, источником которых являются цитокины и лимфокины, неспецифически активирующие общую иммунную реакцию организма путем стимуляции макрофагов, естественных киллеров и Т-клеток. К адъювантам также относят цитокины (интерфероны и ко-

лонистимулирующие факторы) и факторы роста, которые обладают иммуномодулирующими свойствами и при введении в больших дозах усиливают противоопухолевые реакции.

Опыт применения адъювантов в онкологии показал, что некоторые адъюванты эффективны при отдельных формах рака, а другие не обладают терапевтическим действием. Лишь немногие из них действуют как иммуномодуляторы. Это БЦЖ при раке мочевого пузыря, интерферон-альфа при хроническом миелолейкозе и волосатоклеточном лейкозе, левамизол в комбинации с 5-фторурацилом при раке толстой и прямой кишки. Большинство адъювантов действуют лишь в комбинации с другими биотерапевтическими препаратами.

Таким образом, накопившиеся сведения о взаимоотношении опухоли и иммунной системы позволяют подходить к биотерапии опухолей на рациональной основе и заранее прогнозировать успех или неудачу планируемого вида лечения.

Поступила в редакцию 05.08.2003 г.