

КЛІНІЧНІ РЕЗУЛЬТАТИ ІМУНОТЕРАПІЇ АУТОВАКЦИНОЮ ХВОРИХ НА РАК ШЛУНКА

О.В. Кірсенко¹, В.О. Чорний², Г.П. Потебня³, Г.С. Лісовенко³,
Д.О. Розумій², О.А. Танасієнко³

¹Київський обласний онкологічний диспансер

²Інститут онкології, Київ

³Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології, Київ

Резюме. Проаналізовані безпосередні та віддалені результати використання у 86 хворих на поширений рак шлунка (РШ) протипухлинної аутовакцини (ПАВ2), яка виготовляється з аутологічних пухлинних клітин шляхом обробки їх цитотоксичними лектинами *B. subtilis* B-7025. Проведено порівняння з аналогічними показниками 74 хворих, які одержували ПАВ першого покоління, виготовлену за допомогою фільтрату культуральної рідини *B. subtilis* АБ-56 (ПАВ1). Імуноterapia ПАВ2 хворих на РШ безпечна, не викликає ускладнень, не вимагає використання додаткових лікарських засобів. Вакцинація ПАВ2 переноситься хворими краще, ніж вакцинація ПАВ1. Поєднання радикального оперативного лікування із введенням ПАВ2 хворим на резектабельний РШ І–ІV стадії збільшує загальну 5-річну виживаність в середньому на 17%. Ефективність ПАВ2 залежить від факторів клінічного прогнозу. Показано перевагу використання ПАВ2 в комбінованому лікуванні хворих на РШ.

Ключові слова: рак шлунка, протипухлинна аутовакцина, загальна виживаність.

КЛИНИЧЕСКИЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОТЕРАПИИ АУТОВАКЦИНОЙ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА

О.В. Кирсенко, В.А. Черный, Г.П. Потебня,
Г.С. Лисовенко, Д.А. Розумий, О.А. Танасиенко

Резюме. Проанализированные непосредственные и отдаленные результаты использования у 86 больных на распространенный рак желудка (РЖ) противоопухолевой аутовакцины (ПАВ2), изготовленной из аутологических опухолевых клеток путем обработки их цитотоксичными лектинами *B. subtilis* B-7025. Проведено сравнения с аналогичными показателями 74 больных, которые получали ПАВ первого поколения, изготовленную с помощью фильтрата культуральной жидкости *B. subtilis* АБ-56 (ПАВ1). Иммунотерапия ПАВ2 больных на РЖ безопасная, не вызывает осложнений, не требует использования дополнительных лечебных средств. Вакцинация ПАВ2 переносится больными лучше, чем вакцинация ПАВ1. Комбинация радикального оперативного лечения с введением ПАВ2 больным на резектабельный РЖ І–ІV стадии увеличивает общую 5-летнюю выживаемость в среднем на 17%. Эффективность ПАВ2 зависит от факторов клинического прогноза. Показано преимущество использования ПАВ2 в комбинированном лечении больных на РЖ.

Ключевые слова: рак желудка, противоопухолевая аутовакцина, общая выживаемость.

IMMUNOTHERAPY WITH AUTOVACCINE IN CASES OF STOMACH CANCER

O.V. Kirsenko, V.A. Cherniy, G.P. Potebnia,
G.S. Lisovenko, D.A. Rozumiy, O.A. Tanasienko

Summary. Immediate and long-term results by using of antitumorous autovaccine (ATAV) in 86 cases of spreaded stomach cancer (SC) were analysed, ATAV made by processing of autologic tumorous cells by cytotoxic lectins of *B. subtilis* B-7025. This results were compared with analogous indices of 74 patients, who receive ATAV of first generation, produced from filtrate *B. subtilis* AB-56 cultural liquid (ATAV1). Immunotherapy with ATAV2 of patients with SC is safe and doesn't cause any complications, doesn't demand any concomitant treatment. Vaccination by ATAV2 have better tolerance in comparison with ATAV1. Combination of surgical treatment with prescription of ATAV2 in cases of resectable SC І–ІV stage — increase general 5-years survival to 17% average. Efficacy of ATAV2 depend from clinical prognosis. Advantage of ATAV2 in combined treatment of patients with SC are shown.

Key words: stomach cancer, antitumorous autovaccine, general survival.

Адреса для листування:

Потебня Григорій Платонович
03022, Київ, вул. Васильківська, 45
Інститут експериментальної патології, онкології і
радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України
Тел: 259-08-75. E-mail: iris@onconet.kiev.ua

ВСТУП

Незважаючи на тенденцію до зниження онкологічної захворюваності в Україні, рак шлунка (РШ) залишається однією з найбільш поширених локалізацій серед злоякісних новоутворень.

Рівень діагностики цієї хвороби є незадовільним — у 60% хворих виявляють розповсюджені форми РШ, результати лікування яких знаходяться на низькому рівні. Різні методи комбінованого лікування поряд з хірургічним втручанням,

використання нео- та ад'ювантної хіміотерапії хоча в певних варіантах поліпшують результати, однак в цілому проблема залишається невирішеною через значну хіміо- та радіорезистентність пухлин шлунка [1]. Пошук шляхів поліпшення результатів лікування проводиться в різних напрямках, серед яких на наш погляд заслуговує уваги імунотерапія, спрямована на мобілізацію сил самого організму в боротьбі з залишковими клітинами після видалення пухлини.

Сучасна імунотерапія складається з кількох напрямків: використання імуномодуляторів, моноклональних антитіл та кон'югатів на їх основі, протиракових вакцин, цитокінів, тощо [2]. До одного з найбільш ефективних напрямків імунотерапії належать протипухлинні вакцини, що базуються на специфічній індукції протипухлинних реакцій організму за допомогою пухлиноасоційованих антигенів (ПАА) та ад'ювантів [3, 4] Вакциноterapia — це метод активної специфічної імунотерапії (АСІ) для досягнення стимуляції імунної відповіді пацієнта на власну пухлину. Вакцинація використовується з профілактичною (після хірургічного лікування за відсутності клінічно визначених метастазів) та лікувальною цілями (у випадку дисемінації пухлинного процесу).

Клінічні дослідження по вивченню ефективності АСІ хворих з пухлинами різних локалізацій проводяться практично в усіх онкологічних центрах світу. Досліджуються модифіковані пухлинні клітини, аллогенні синтетичні полівалентні вакцини, вакцини на основі дендритних клітин, білків теплового шоку, антиідиотипові та інші [5, 6]. Такі вакцини містять ПАА, які стимулюють активність Т-лімфоцитів, продукцію цитотоксичних антитіл проти специфічних мішеней, синтез регуляторних цитокінів. ПАА знаходяться в цілих або лізованих пухлинних клітинах і можуть бути виділені з них в частково або повністю очищеному вигляді [7, 8].

Одним із напрямків створення ефективних протипухлинних аутовакцин (ПАВ) є об'єднання специфічного антигенного матеріалу з факторами, що підсилюють імунну відповідь [9, 10]. Частіше це компоненти мікробних клітин, що беруть участь в формуванні протимікробного імунітету та стимулюють цитотоксичну реакцію клітин [11, 12]. В дослідженнях, які проводились в Україні, в якості ад'юванта було використано продукти синтезу *Bacillus subtilis* [13]. Накопичено численні дані експериментальних та клінічних досліджень про ефективність розробленої ПАВ, яка виготовляється з аутологічних пухлинних клітин шляхом модифікації ПАА продуктами синтезу цього мікроорганізму, зокрема у разі лікування хворих на колоректальний рак [14] та рак легень [15], для профілактики рецидивів та метастазів цих пухлин в післяопераційний період. В якості ад'юванта в ПАВ першого покоління (ПАВ1) використано фільтрат культуральної рідини *B. subtilis* АВ-56 [14], в ПАВ другого покоління

(ПАВ2) — цитотоксичні лектини (ЦЛ) *B. subtilis* В-7025 [16].

Мета дослідження — вивчення впливу АСІ за допомогою ПАВ1 та ПАВ2 на подовженість та якість життя хворих на РШ після оперативного втручання.

ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В дослідження включили 217 хворих на резектабельний РШ І–ІV стадії захворювання ($T_{1-4}N_{0-2}M_{0-1}$), у віці від 30 до 75 років, яким проводили лікування в Київському обласному онкологічному диспансері та Інституті онкології АМН України.

Після встановлення діагнозу та його верифікації усім хворим виконали радикальну операцію (РО) відповідного ступеня складності залежно від розповсюдженості пухлини. Починаючи з 10 доби після оперативного втручання частині хворих проводили імунотерапію ПАВ2 та ПАВ1, які готували за описаними раніше методами [14, 16].

Для реалізації мети дослідження сформували 3 групи хворих: 1-ша група (дослідна) — (РО+ПАВ2) — 86 хворих, яким в післяопераційний період вводили ПАВ2; 2-га група (ретроспективна) — (РО+ПАВ1) — 74 хворих, яким в післяопераційний період вводили ПАВ1; 3-тя група (контрольна) — (РО) — 57 хворих, яким проводили тільки оперативне лікування.

За кількістю хворих у вікових інтервалах між групами не було істотних розходжень: середній вік у 1-й групі складав $56,6 \pm 11,3$ року, в 2-й — $52,2 \pm 8,8$ та в 3-й — $57,0 \pm 8,4$ року ($p > 0,05$). В усіх групах відмічалась вірогідна перевага хворих у віковій категорії від 51 до 60 років, хоча за даними літератури захворюваність на РШ досягає максимуму у похилому віці (табл. 1). В досліджуваних групах однаково ($p < 0,05$) переважали хворі чоловічої статі, що відповідає даним літератури про більшу розповсюдженість цієї патології серед чоловіків.

У пацієнтів усіх груп пухлина частіше локалізувалась в дистальному відділі шлунка (у 58 (26,7%) хворих), приблизно рівною була й питома вага хворих з пухлинами, що тотально вражають шлунок, та з локалізацією пухлини у верхньому і середньому відділах шлунка ($p > 0,05$). У 38,7% хворих 1-ї групи була змішана форма росту пухлини, рідше зустрічались ендofітна та екзофітна — у 34,3 та 27,0% відповідно. Такою ж була поширеність форм росту РШ у пацієнтів 2-ї та 3-ї групи ($p > 0,05$).

У 75% хворих 1-ї групи виявили низькодиференційовані і недиференційовані, у 25% — помірно- та високодиференційовані форми РШ. У 2-й групі співвідношення цих форм складало відповідно 59,5 та 40,5%; у 3-й — 59,6 та 40,4%. Достовірні відмінності між групами відсутні ($p > 0,05$), але у 1-й групі було більше хворих з низькодиференційованими і недиференційованими формами, що є прогностично гіршим щодо виживання.

Таблиця 1

Розподіл хворих залежно від факторів клінічного прогнозу

Фактор	Група хворих					
	1-ша		2-га		3-тя	
	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%
Чоловіки	56	65,1±5,1	42	56,8±5,8	36	63,2±6,4
Жінки	30	34,9±5,1	32	43,2±5,8	21	36,8±6,4
30–50 років	14	16,2±4,0	13	17,6±4,4	6	10,5±4,1
>50 років	72	83,8±4,0	61	82,4±4,4	51	89,5±4,1
G1–2	26	30,2±5,0	32	43,2±5,8	21	36,8±6,4
G3–4	60	69,8±5,0	42	56,8±5,8	36	63,2±6,4
I стадія	6	6,9±2,7	3	4,0±2,3	8	14,0±4,6
II стадія	24	27,9±4,8	25	33,8±5,5	17	29,8±6,1
III стадія	46	53,5±5,4	42	56,8±5,8	30	52,6±6,6
IV стадія	10	11,7±3,5	4	5,4±2,6	2	3,5±2,4
ГЕ	44	51,2±5,4	39	52,7±5,8	28	49,1±6,6
СРЖ	42	48,8±5,4	35	47,3±5,8	29	50,9±6,6

Примітки: G1–2, G3–4 — ступінь диференціювання пухлини;
ГЕ — гастректомія;
СРЖ — субтотальна резекція шлунка.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В процесі застосування ПАВ2 відмічали добру переносимість препарату (табл. 2). Слабкі больові відчуття в місці введення починалися в момент введення ПАВ2 у 30% пацієнтів та зберігалися протягом першої доби, однак не вимагали застосування знеболюючих препаратів. У частини хворих (у 43%) цієї групи було незначне підвищення температури тіла через 30–40 хв після введення препарату, яке тривало до 8 год.

У 43 (58,1%) хворих 2-ї групи спостерігали підвищення температури тіла (максимально до 37,8 °С) через 30–40 хв після введення ПАВ1, яке тривало 8–12 год або до прийняття жарознижуючих препаратів. У різних хворих відмічали не однаковий рівень гіпертермії. У 19 (25,2%) хворих, у яких температура тіла підвищувалась до 37,5 °С, пік температурної реакції відмічали через 1,5–2,0 год після введення з тривалістю, в середньому, біля 2 год, що суттєво не змінювало самопочуття хворих. Зниження температури тіла до норми наставало за 4–6 год після введення ПАВ1 і не вимагало прийому жарознижуючих препа-

ратів. У 18 (20,9%) пацієнтів цієї групи зареєстрували підвищення температури тіла до 38,0 °С. Ці хворі відмічали незначний головний біль та лихоманку, яка була купована прийомом парацетамолу у дозі 500 мг одноразово. Температура тіла нормалізувалась через 30 хв після прийому препарату.

Наявність локальних змін в місці введення вакцини оцінювали у кожного хворого. У 24 (27,9%) пацієнтів 1-ї та у 31 (41,9%) 2-ї групи, що одержували відповідно ПАВ2 та ПАВ1, виникала місцева гіперемія через 20 хв після введення, яка утримувалась до шостої доби. Діаметр зони гіперемії варіював від 1 до 5 см. На другу добу відмічали збліднення та поступове зменшення зони почервоніння. Ця реакція не потребувала ніяких додаткових лікувальних заходів. У 8 (9,3%) хворих 1-ї групи та у 12 (16,2%) — 2-ї у місці введення вакцини виник інфільтрат діаметром до 2 см, який самостійно розсмоктався протягом 3–4 діб. Необхідності у використанні розсмоктуючих та протизапальних препаратів не було. Жодного випадку нагноєння не відмічали.

Таблиця 2

Переносимість введення ПАВ хворими на РШ, кількість хворих, %

Група хворих	Біль у місці введення ПАВ	Підвищення температури тіла	Місцева гіперемія	Алергічна реакція загального типу	Інфільтрат	Нагноєння
1-ша	30,0	43,0	27,9	—	9,3	—
2-га	38,0	58,1	41,9	—	16,9	—

Загальну виживаність хворих усіх груп аналізували залежно від стадії захворювання та наявності регіонарних метастазів. На жаль, незначна кількість хворих із I та IV стадією РШ не дала змоги провести достовірного порівняння цих категорій пацієнтів, однак ми провели загальний аналіз отриманих результатів та тенденцій впливу ПАВ на виживаність хворих із РШ.

Рівні виживаності хворих 1-ї групи, які одержували ПАВ2, перевищували такі пацієнтів 3-ї (контрольної) групи і свідчать про те, що використання в післяопераційний період ПАВ2 вірогідно підвищує (на 17%, $p < 0,05$) виживаність хворих на резектабельний РШ (табл. 3). Застосування в післяопераційний період ПАВ1 було менш ефективним — підвищило дворічну виживаність лише на 7% (різниця статистично не достовірна, $p > 0,05$).

Результати аналізу загальної виживаності хворих на РШ залежно від стадії пухлинного процесу свідчать про те, що у хворих на РШ I-II стадії 1-ї

групи загальна 5-річна виживаність порівняно з хворими 3-ї групи достовірно вища (на 21%, $p < 0,05$) і практично не відрізняється (на 9%, $p < 0,05$) від такої пацієнтів 3-ї (табл. 4). При застосуванні ПАВ1 у пацієнтів 2-ї групи підвищення 5-річної виживаності на 12% порівняно з хворими 3-ї (контрольної) групи було не достовірним ($p > 0,05$). Аналогічною була залежність рівня загальної виживаності від призначення ПАВ хворим на РШ III стадії.

Застосування ПАВ2 у хворих на РШ IV стадії дозволило половині (5) пацієнтів прожити 2 роки, а 3 хворих — 3 роки, тоді як в інших групах таких випадків не спостерігали.

Результати аналізу виживаності залежно від ступеня диференціації та типу росту пухлини (табл. 5) свідчать про те, що використання ПАВ2 достовірно ($p < 0,05$) збільшило виживаність хворих із високодиференційованими формами РШ на 22%, із низькодиференційованими — на 16% по відношенню до хворих 3-ї групи, а також спричи-

Таблиця 3

Загальна виживаність хворих на РШ, $M \pm m\%$

Група хворих	Термін, міс				
	12	24	36	48	60
1-ша (n=86)	86,6 $\pm$ 3,1*#	75,5 $\pm$ 5,1*	71,4 $\pm$ 3,7*#	64,6 $\pm$ 4,8*#	51,6 $\pm$ 5,2*
2-га (n=74)	76,4 $\pm$ 5,1	67,3 $\pm$ 6,6*	53,1 $\pm$ 5,7	48,2 $\pm$ 7,3	41,4 $\pm$ 6,3
3-тя (n=57)	69,4 $\pm$ 6,2	52,2 $\pm$ 7,1	43,5 $\pm$ 6,3	40,1 $\pm$ 5,7	34,8 $\pm$ 5,1

Примітки: * — $p < 0,05$ в порівнянні з хворими 3-ї групи,
— $p < 0,05$ в порівнянні з хворими 2-ї групи.

Таблиця 4

Загальна виживаність хворих на РШ залежно від стадії пухлинного процесу, $M \pm m\%$

Стадія	Група хворих	Термін, міс				
		12	24	36	48	60
I–II	1-ша, (n=30)	96,1 $\pm$ 3,8*	82,9 $\pm$ 7,3*	78,4 $\pm$ 6,4*	74,3 $\pm$ 8,1*	71,7 $\pm$ 7,5*
	2-га, (n=28)	85,2 $\pm$ 6,8	74,1 $\pm$ 8,4	70,5 $\pm$ 7,1	66,8 $\pm$ 6,8	62,4 $\pm$ 8,5
	3-тя, (n=25)	76,9 $\pm$ 9,2	67,5 $\pm$ 9,7	61,8 $\pm$ 7,5	56,6 $\pm$ 8,2	50,6 $\pm$ 6,5
III	1-ша, (n=46)	80,7 $\pm$ 6,6*	72,8 $\pm$ 8,2*	64,6 $\pm$ 5,3*	60,6 $\pm$ 6,1*	58,4 $\pm$ 6,6*
	2-га, (n=42)	72,9 $\pm$ 6,4	60,0 $\pm$ 7,2	56,6 $\pm$ 6,3	50,6 $\pm$ 6,4	47,6 $\pm$ 7,1
	3-тя, (n=30)	60,0 $\pm$ 7,3	53,3 $\pm$ 9,0	47,3 $\pm$ 7,1	40,4 $\pm$ 8,7	37,2 $\pm$ 8,5

Примітка: * — $p < 0,05$ в порівнянні з хворими 3-ї групи.

Таблиця 5

5-річна виживаність хворих на РШ залежно від ступеня диференціювання та типу росту пухлини, $M \pm m\%$

Фактор	Критерій	Група хворих		
		1-ша	2-га	3-тя
Ступінь диференціювання	G1–2	62,8 $\pm$ 9,6*	54,4 $\pm$ 11,0	40,7 $\pm$ 13,1
	G3–4	40,7 $\pm$ 6,6*	30,9 $\pm$ 8,5	24,8 $\pm$ 7,8
Тип росту	Екзогенний	52,6 $\pm$ 8,5	42,0 $\pm$ 7,4	36,5 $\pm$ 10,6
	Ендогенний+змішаний	50,7 $\pm$ 6,7	39,3 $\pm$ 6,4	32,3 $\pm$ 7,8

Примітка: * — $p < 0,05$ в порівнянні з хворими 3-ї групи.

няло тенденцію до збільшення виживаності (відповідно на 8 і 10%, $p > 0,05$) в порівнянні із застосуванням ПАВ1 у хворих 2-ї групи.

При екзофітних формах РШ використання ПАВ2 виявили лише тенденцію ($p > 0,05$) до збільшення виживаності пацієнтів: на 12% по відношенню до хворих 3-ї групи, що отримали тільки хірургічне лікування, та на 10% по відношенню до хворих 2-ї групи, які були вакциновані ПАВ1; при ендофітних та змішаних формах РШ — на 18 та на 11%, відповідно.

ВИСНОВКИ

1. Проведення АСІ протипухлинною аутовакциною в післяопераційний період хворим на РШ є безпечним, не викликає ускладнень, не вимагає використання додаткових лікарських засобів. Введення ПАВ2 переноситься хворими краще, ніж ПАВ1.

2. Поєднання радикального оперативного лікування із введенням ПАВ2 хворим на резектабельний РШ I–IV стадії збільшує загальну 5-річну виживаність в середньому на 17%. Ефективність ПАВ2 залежить від факторів клінічного прогнозу.

ЛІТЕРАТУРА

1. Шепотин И.Б., Эванс С.Р.Т. (2000) Рак желудка: практическое руководство по профилактике, диагностике и лечению. Книга Плюс, Киев, 227 с.
2. Моисеенко В.М., Блинов Н.Н., Хансон К.П. (1997) Биотерапия при злокачественных новообразованиях. Рос. онколог. журн., 5: 57–59.
3. Балдуева И.А. (2003) Противоопухолевые вакцины. Практическая онкология, 4(3): 157–166.
4. Moingeon G. (2001) Cancer vaccines. Vaccine, 19(11–12): 1305–1326.
5. Rosenberg S. (2001) Progress in human tumour immunology and immunotherapy. Nature, 411(6835): 380–384.
6. Berzofsky J.A., Terabe M., Oh S., Belyakov I.M., Ahlers J.D., Janik J.E., Morris J.C. (2004) Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. J. Clin. Invest., 113(11): 1515–1525.
7. Chen Y.T. (2000) Cancer vaccine: identification of human tumor antigens by SEREX. Cancer J., 6 (Suppl. 3): 208–217.
8. Espinoza-Delgado I. (2002) Cancer vaccines. Oncologist, 7(Suppl. 3): 20–33.
9. Berd D., Sato T., Maguire H.C. Jr. et al. (2004) Immunopharmacologic analysis of an autologous, hapten-modified human melanoma vaccine. J. Clin. Oncol., 22(3): 403–415.
10. Liang W., Wang H., Sun T.M., et al. (2003) Application of autologous tumor cell vaccine and NDV vaccine in treatment of tumors of digestive tract. World J. Gastroenterol., 9(3): 495–498.
11. Uyl-de Groot C.A., Vermorken J.B., Hanna M.G. Jr. et al. (2005) Immunotherapy with autologous tumor cell-BCG vaccine in patients with colon cancer: a prospective study of medical and economic benefits. Vaccine, 23(17–18): 2379–2387.
12. Hanna M.G. Jr., Hoover H.C. Jr., Vermorken J.B. et al. (2001) Adjuvant active specific immunotherapy of stage II and stage III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine: first randomized phase III trials show promise. Vaccine, 19(17–19): 2576–2582.
13. Потебня Г.П., Танасієнко О.А., Лісовенко Г.С., Савцова З.Д. (2003) Використання цитотоксичних лектинів бактеріального походження в імунотерапії експериментальних пухлин. В кн.: Г.П. Потебня (ред.) Структура і біологічна активність бактеріальних біополімерів. Київський університет, Київ, с. 235–304.
14. Колесник Е.А., Потебня Г.П., Кикоть В.А. и др. (1999) Противоопухолевая аутовакцина в лечении больных распространенным колоректальным раком. Онкология, 1(2): 104–109.
15. Потебня Г.П., Смоланка И.И., Лисовенко Г.С. и др. (2000) Эффективность иммунотерапии аутовакциной в лечении больных раком легкого. Онкология, 2(3): 191–194.
16. Потебня Г.П., Кірсенко О.В., Лісовенко Г.С. та ін. (2004) Ефективність протипухлинних аутовакцин у хворих на рак шлунка. Онкологія, 6(2): 120–123.