

Г.П. Потебня
И.И. Смоланка
Г.С. Лисовенко
Н.И. Ромашко
В.А. Семерников
Е.А. Колесник

Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, Киев, Украина

Украинский НИИ онкологии и радиологии МЗ Украины, Киев, Украина

Ключевые слова: рак легкого, противоопухолевая аутовакцина.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИММУНОТЕРАПИИ АУТОВАКЦИНОЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЛЕГКОГО

Резюме. Изучены отдаленные результаты лечения 52 больных раком легкого с использованием в послеоперационный период противоопухолевой аутовакцины, которую готовили из аутологичных опухолевых клеток, обработанных фильтратом культуральной жидкости *Vac. mesentericus* АБ-56. Показано статистически достоверное увеличение показателя 5-летней выживаемости больных раком легкого, существенное снижение частоты возникновения рецидивов по сравнению с результатами, полученными у 382 больных, которым было проведено только радикальное хирургическое лечение. Значимый эффект зарегистрирован при III стадии заболевания и наличии метастазов в лимфатических узлах (N1–2).

ВВЕДЕНИЕ

Рак легкого является одной из наиболее сложных и важных проблем в клинической онкологии. Это связано с неуклонным повышением заболеваемости и летальности от этой патологии в большинстве экономически развитых стран мира. По данным ВОЗ, в структуре онкологической заболеваемости рак легкого занимает первое место, с 1997 г. он занял первое место и в Украине [1]. До настоящего времени наиболее эффективным методом лечения больных раком легкого остается радикальная операция, однако ее возможности для улучшения отдаленных результатов практически исчерпаны. Обобщенный анализ отдаленных результатов хирургического лечения больных с местно-распространенным раком легкого показывает, что в целом они малоудовлетворительны — менее $\frac{1}{3}$ больных живут более 3 лет и лишь некоторые — более 5 лет [2]. Особенно важное прогностическое значение имеет наличие метастатического поражения регионарных лимфатических узлов. По данным В.В. Жаркова [3], в этом случае более 3 лет живут только 8% больных, тогда как 3- и 5-летняя выживаемость больных с интактными внутригрудными лимфатическими узлами составляет соответственно 40 и около 20%.

В этой связи актуален поиск новых методов комбинированного лечения с использованием иммунотерапии в послеоперационный период. Методы иммунотерапии с большим или меньшим успехом разрабатываются и применяются при различных онкологических заболеваниях, наиболее интенсивно исследуются противораковые вакцины и их эффективность при активной специфической иммунотерапии. Такие вакцины содержат опухолеассоциированные антигены (ОАА), которые стимулируют активность Т-лимфоцитов, цитотоксических антител против специфических мишеней, а также об-

разование регулирующих цитокинов [4, 5]. Эти ОАА содержатся в целых или лизированных опухолевых клетках, а также могут быть выделены из них в частично или полностью очищенном виде. В онкологической клинике широко исследуются аутологичные вакцины, в которых иммуногенность ОАА усилена с помощью химической модификации гаптенами, в том числе динитрофенилом; модификации с такими непатогенными вирусами, как вирус коровьей оспы, болезни Ньюкастла; трансфекцией плазмидами, продуцирующими иммуностимулирующие цитокины [4, 6]. Отмечены положительные результаты применения аутологичных вакцин в лечении больных с колоректальным раком [7, 8], меланомой [9], раком почки [10].

К настоящему времени накоплены многочисленные данные экспериментальных и клинических исследований об эффективности профилактики рецидивов и метастазов опухолей с помощью противоопухолевой аутовакцины (ПАВ), полученной путем обработки аутологичных опухолевых клеток фильтратом культуральной жидкости *Vac. mesentericus* АБ-56 [11]. Установлено, что при применении ПАВ в схемах лечения больных после операции по поводу рака желудка или колоректального рака показатели 3- и 5-летней выживаемости существенно выше, чем у больных, которым проводили только химиотерапию или хирургическое вмешательство [11, 12].

Цель настоящего исследования — оценка отдаленных результатов применения ПАВ после радикальной операции у больных раком легкого I–III стадии.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы результаты радикального хирургического лечения 434 больных раком легкого. Части из них (52 больным) после радикальной операции (РО) проводили иммунотерапию ПАВ (метод

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

лечения: РО+ПАВ — основная группа), остальным (382 больным) — только хирургическое вмешательство (метод лечения: РО — контрольная группа). Больные указанных групп были однородными по полу, стадиям заболевания, локализации патологического процесса, видам оперативных вмешательств (табл. 1). Возраст пациентов составил в среднем $54,4 \pm 6,91$ и $57,6 \pm 2,53$ года соответственно.

Таблица 1
Распределение больных в зависимости от факторов клинического прогноза

Фактор клинического прогноза	Основная группа		Контрольная группа	
	Абс. число	%	Абс. число	%
Мужчины	47	$90,38 \pm 4,09$	348	$91,09 \pm 1,46^*$
Женщины	5	$9,62 \pm 4,09$	34	$8,90 \pm 1,46^*$
Центральная форма рака	27	$51,92 \pm 6,93$	233	$60,99 \pm 2,50^*$
Периферическая форма рака	25	$48,08 \pm 6,93$	149	$39,00 \pm 2,50^*$
Плоскоклеточный рак	22	$42,31 \pm 6,85$	248	$64,92 \pm 2,44$
Аденокарцинома	23	$44,23 \pm 6,89$	87	$22,77 \pm 2,15$
Недифференцированный рак	7	$13,46 \pm 4,74$	47	$12,3 \pm 1,68^*$
I стадия	12	$23,07 \pm 5,84$	129	$33,77 \pm 2,42^*$
II стадия	9	$17,31 \pm 5,25$	31	$8,12 \pm 1,4^*$
IIIa стадия	31	$59,62 \pm 6,8$	222	$58,12 \pm 2,52^*$
PT1-3N0M0	32	$61,54 \pm 6,75$	236	$61,78 \pm 2,49^*$
PT1-3N1-2M0	20	$38,46 \pm 6,75$	146	$38,22 \pm 2,49^*$
Пневмонэктомия	19	$36,54 \pm 6,68$	188	$49,21 \pm 2,56^*$
Лоб- и билобэктомия	30	$57,69 \pm 6,85$	174	$45,55 \pm 2,55^*$
Частичная резекция	3	$5,77 \pm 3,24$	20	$5,24 \pm 1,15^*$

* Различия между группами статистически не значимы ($p > 0,05$).

В обеих группах больные с IIIa стадией составляли больше половины — $59,62 \pm 6,8$ и $58,12 \pm 2,52\%$ соответственно; метастазы в лимфатических узлах обнаружены практически у одинакового количества пациентов ($38,46 \pm 6,75$ и $38,22 \pm 2,49\%$). Существенные различия между группами отмечены только при анализе гистологических форм рака легкого: аденокарциному несколько чаще диагностировали у больных основной группы, а плоскоклеточный рак — контрольной. Учитывая, что аденокарцинома является наиболее неблагоприятной по характеру течения гистологической формой опухоли, следует признать, что у больных основной группы был исходно менее благоприятный прогноз, чем в контрольной группе.

ПАВ готовили по методу Д.Г. Затулы [11] из аутологических опухолевых клеток, полученных из резецированной опухоли, используя очищенную от некротизированных участков ткань (5 г), которую разделяли на 5 частей и хранили при температуре -30°C . ПАВ готовили *ex tempore*, для чего 1 г размороженной опу-

холевой ткани промывали в 40 мл стерильного физиологического раствора (рН 7,2), содержащего 20 мг гентамицина, затем тщательно измельчали. Измельченную опухолевую ткань инкубировали с 10 мл фильтра культуральной жидкости *Bac. mesentericus AB-56* при температуре $+37^\circ\text{C}$ в течение 2 ч при периодическом встряхивании, а затем — при температуре $+4^\circ\text{C}$ в течение 18 ч. В качестве ПАВ использовали супернатант, полученный после центрифугирования препарата при 500 об./мин в течение 5 мин. Все этапы приготовления ПАВ проводили в стерильных условиях, стерильность препарата обязательно проверяли путем высева на мясо-пептонный бульон.

Иммунизацию больных начинали на 7–10-й день после операции путем подкожного введения препарата в 3 точки подлопаточной области. Курс иммунизации состоял из 3 инъекций (3–5 мл) с недельным интервалом. Последующую ревакцинацию проводили через 3 мес. Препараты стандартизировали по белку, определяя его по методу Лоури. Суммарная доза введенной ПАВ по белку составляла 220 мг. Выживаемость больных определяли с помощью актуриального метода, сравнительный анализ проводили с помощью logrank-критерия, ошибку вычисляли кумулятивным методом по Greenwood [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При использовании ПАВ не отмечено аллергических реакций, возникновения инфильтратов в месте введения, у 11 (21,2%) больных развились пирогенные реакции транзиторного характера (повышение температуры тела до $37,5$ – $37,8^\circ\text{C}$ в течение 4–6 ч), которые после приема парацетамола исчезали без осложнений, 9 (17,3%) пациентов жаловались на боль в месте введения ПАВ.

Показатели выживаемости больных анализировали в зависимости от стадии заболевания, а также наличия регионарных метастазов (табл. 2).

Следует подчеркнуть, что показатели выживаемости в группе больных, получавших ПАВ, превышали аналогичные в контрольной группе. У больных раком легкого I–II стадии только спустя 2 года после операции отмечали достоверные различия между группами, тогда как при раке легкого IIIa стадии введение ПАВ способствовало существенному увеличению количества выживших пациентов во все сроки исследования. Показатели 5-лет-

Таблица 2

Влияние применения ПАВ на выживаемость больных раком легкого после хирургического лечения

Стадия опухолевого процесса	Метод лечения	Выживаемость, %				
		1 год	2 года	3 года	4 года	5 лет
I–II	РО+ПАВ	$95,65 \pm 4,45^{**}$	$95,65 \pm 4,45^{***}$	$69,23 \pm 12,8$	$69,23 \pm 12,8$	$61,54 \pm 13,49$
	РО	$88,2 \pm 2,61$	$78,16 \pm 3,37$	$67,65 \pm 3,86$	$61,45 \pm 4,08$	$56,61 \pm 4,30$
IIIa	РО+ПАВ	$91,67 \pm 4,61^*$	$61,11 \pm 8,12^*$	$52,63 \pm 8,35^*$	$46,44 \pm 8,43^*$	$39,81 \pm 8,43^*$
	РО	$51,84 \pm 3,65$	$27,84 \pm 3,39$	$18,03 \pm 3,01$	$11,58 \pm 2,67$	$10,61 \pm 2,62$
T1-3N0M0	РО+ПАВ	$90,32 \pm 5,31$	$77,42 \pm 7,51$	$67,59 \pm 8,44$	$60,83 \pm 8,84$	$54,07 \pm 9,06$
	РО	$72,65 \pm 3,01$	$59,68 \pm 3,35$	$48,66 \pm 3,46$	$42,41 \pm 3,5$	$38,1 \pm 3,56$
T1-3N1-2M0	РО+ПАВ	$95,45 \pm 4,66^{***}$	$64,71 \pm 11,59^*$	$40,78 \pm 12,01$	$40,78 \pm 12,01$	$32,63 \pm 11,76$
	РО	$58,43 \pm 4,56$	$32,71 \pm 4,46$	$24,29 \pm 4,2$	$18,24 \pm 3,93$	$18,24 \pm 3,93$

* Здесь и в табл. 3, 4 различия между группами статистически значимы ($p < 0,05$).

** Показатели рассчитывали с поправкой Ван дер Вардена [14].

ней выживаемости составляли соответственно $39,81 \pm 8,43$ и $10,61 \pm 2,62\%$ ($p < 0,05$). При наличии метастазов в регионарных лимфатических узлах 2- и 5-летняя выживаемость была больше, чем у больных без метастазов, независимо от метода лечения, но показатели в группе больных, получавших ПАВ, превышали таковые в контрольной группе.

При анализе медианы выживаемости зарегистрировано ее существенное увеличение при использовании ПАВ после хирургического лечения как у больных при раке легкого IIIA стадии, так и при отсутствии или наличии метастазов. У больных раком легкого I–II стадии в обеих группах медиана выживаемости составила более 60 мес, ее точный подсчет станет возможным в последующие годы (табл. 3).

Таблица 3

Метод лечения	Медиана выживаемости больных раком легкого в зависимости от метода лечения			
	I–II стадия	IIIA стадия	При NO	При N1–2
PO+ПАВ	> 60	$37,9 \pm 2,7^*$	> 60*	$34,8 \pm 1^*$
PO	> 60	$12,66 \pm 1,32$	$34,22 \pm 3,29$	$14,89 \pm 1,29$

Учитывая относительно небольшое количество больных, получавших ПАВ, для анализа выживаемости в зависимости от гистологической формы опухоли их распределили на 2 подгруппы: больные с плоскоклеточным раком и больные с другими гистологическими формами рака. Поскольку после хирургического лечения более половины больных раком легкого умирают в течение первых 2 лет, в табл. 4 представлены данные 2- и 5-летней выживаемости.

Оказалось, что введение ПАВ способствует повышению показателя выживаемости как при плоскоклеточном раке легкого, так и при его не плоскоклеточных формах. Особенно выраженный эффект отмечали у пациентов с заболеванием IIIA стадии. В частности, 5-летняя выживаемость больных с плоскоклеточным раком при лечении ПАВ превосходила аналогичные показатели в контрольной группе более чем на 40% ($57,14 \pm 13,66$ и $13,35 \pm 3,41\%$ соответственно, $p < 0,05$).

Анализируя полученные результаты в целом, следует отметить более высокую эффективность ПАВ у больных с IIIA и T1–3N1–2M0 стадиями заболевания, тогда как при I–II стадиях и отсутствии метастазов увеличение выживаемости в группе получавших ПАВ по сравнению с контрольной было статистически не существенным. С подобными закономерностями мы уже сталкивались при анализе результатов использования ПАВ при лечении больных колорек-

тальным раком, где самый значительный эффект регистрировали при стадии T3–4N1–2M0 [12].

В заключение следует отметить, что иммунизация ПАВ способствует возрастанию показателей как общей, так и безрецидивной выживаемости больных раком легкого, при этом зависимость указанных показателей от стадии сохраняется (рисунок). Показатель безрецидивной выживаемости является наиболее важным критерием для оценки эффективности использованного метода лечения. При применении ПАВ происходит не только снижение частоты возникновения рецидивов, но и, как правило, отодвигаются сроки их появления.

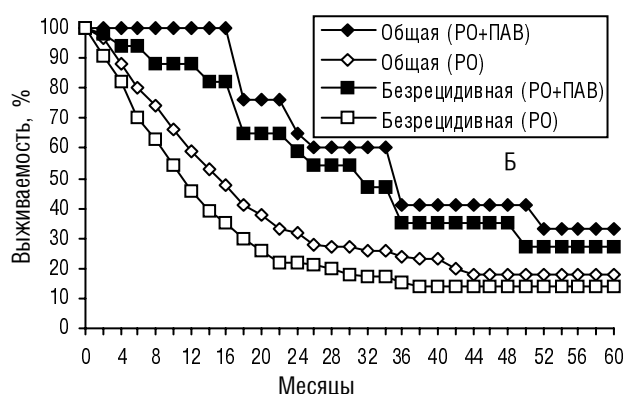
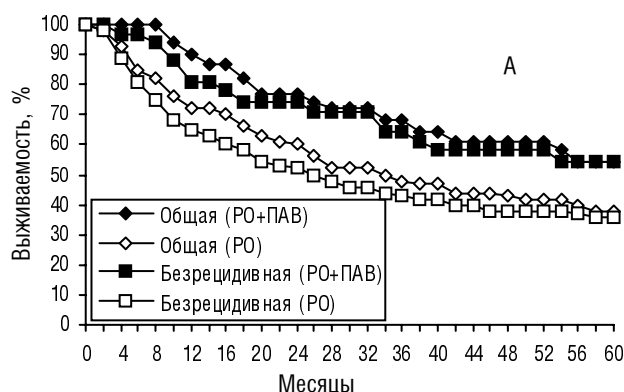


Рисунок. Зависимость показателей общей и безрецидивной выживаемости больных раком легкого от метода лечения: T1–3N0M0 (А); T1–3N1–2M0 (Б)

При иммунотерапии больных раком легкого в других клиниках чаще всего использовали γ -облученные аутологичные опухолевые клетки совместно с VCG [15, 16, 17]; при этом существенный эффект достигался, как правило, только при ранних стадиях заболевания в отличие от полученных нами положительных результатов при IIIA стадии. Сле-

Таблица 4

Диагноз	Стадия	Зависимость выживаемости больных от гистологической формы рака легкого			
		Выживаемость, %			
		2 года		5 лет	
		Основная группа	Контрольная группа	Основная группа	Контрольная группа
Плоскоклеточный рак легкого	T1–3N0M0	$83,33 \pm 10,76$	$57,85 \pm 4,19$	$65,24 \pm 14,13$	$33,55 \pm 4,15$
	T1–3N1–2M0	Нет данных	$35,36 \pm 5,55$	Нет данных	$24,55 \pm 5,14$
	IIIA	$66,67 \pm 12,17^*$	$30,50 \pm 4,27$	$57,14 \pm 13,66^*$	$13,35 \pm 3,41$
Неплоскоклеточный рак легкого	T1–3N0M0	$75,00 \pm 9,68$	$60,87 \pm 5,68$	$48,75 \pm 11,4$	$42,83 \pm 6,38$
	T1–3N1–2M0	$50,00 \pm 15,81$	$22,91 \pm 7,07$	$20,00 \pm 12,65$	$4,45 \pm 4,14$
	IIIA	$59,09 \pm 10,48^*$	$22,50 \pm 5,42$	$30,00 \pm 10,05$	$8,63 \pm 3,91$

дует отметить, что в доступной литературе последнего десятилетия практически нет работ о применении противоопухолевых вакцин из целых или лизированных опухолевых клеток у больных раком легкого, в то время как данных об успешном использовании таких вакцин при колоректальном раке и меланоме достаточно много [6–9, 18].

Наиболее убедительные результаты при II и IIIA стадиях немелкоклеточных форм рака легкого получены при адоптивной иммунотерапии радикально оперированных больных интерлейкином-2 в сочетании с ЛАК-клетками (лимфокин-активированные клетки-киллеры) [19, 20]. Значительный эффект был достигнут как при самостоятельном применении иммунотерапии в послеоперационный период, так и при сочетании ее с химиотерапией: 5-летняя выживаемость при IIIA стадии в группах пациентов, получавших только иммунотерапию, либо иммуно- и химиотерапию, составила 54,4 и 53,4% соответственно при 30,8% в контроле. В целом авторы отмечают существенное различие между изучаемыми группами как при N0, так и при N1. Следовательно, так же, как и в нашем исследовании, положительный эффект регистрировался и при наличии метастазов. Самостоятельное применение указанного способа иммунотерапии позволило получить значимый эффект и в том случае, когда резекция опухоли была нерадикальной — показатель 7-летней выживаемости больных с аденокарциномой легкого составил 38,9% (в контрольной группе — только 5,2%) [21].

Полученные нами положительные результаты применения ПАВ в послеоперационной терапии при раке легкого IIIA стадии и даже при наличии метастазов (N1–2) свидетельствуют о целесообразности использования ПАВ у больных раком легкого. Необходимо уточнить возможности применения указанной противоопухолевой вакцины при более поздних стадиях заболевания и в сочетании с химиотерапией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шпарик Я. Статистика раку — 1997: США, Украина, світ. Мед світу 1997; (2): 101–9.
2. Graham MV, Pajak TE, Herskovic AM, et al. Phase I/II study of treatment of locally advanced (T₃/T₄) NSCLC with concomitant boost radiotherapy by the radiation therapy oncology group (RTOG83–12): Long-term results. Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995; 31: 819–25.
3. Жарков ВВ. Прогностическое значение метастатического поражения регионарных лимфатических узлов при раке легкого. Вопр онкологии 1990; 36 (1): 58–62.
4. Pandey M, Mathew A, Nair MK. Cancer vaccines: a step towards prevention and treatment of cancer. Europ J Surg Oncol 1999; 25: 209–14.
5. Hurig H, Kaufman HL. Current Issues in cancer vaccine development. Clin Immunol 1999; 92: 211–23.
6. Berd D, Kairys J, Dunton C, et al. Autologous, hapten-modified vaccine as a treatment for human cancers. Semin Oncol 1998; 25: 646–53.
7. Vermorken JB, Claessen AM, van Tinteren H, et al. Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial. Lancet 1999; 353: 345–50.

8. Harris JE, Ryan L, Hoover HC Jr, et al. Adjuvant active specific immunotherapy for stage II and III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine: eastern cooperative oncology group study E5283. J Clin Oncol 2000; 18: 148–57.

9. Wallack MK, Sivanandham M, Balch CM, et al. Surgical adjuvant active specific immunotherapy for patients with stage III melanoma: the final analysis of data from a phase III, randomized, double-blind, multicenter vaccinia melanoma oncolysate trial. J Am Coll Surg 1998; 187: 69–77.

10. Repmann R, Wagner S, Richter A. Adjuvant therapy of renal cell carcinoma with active-specific-immunotherapy (ASI) using autologous tumor vaccine. Anticancer Res 1997; 17: 2879–82.

11. Затула ДГ. Микроорганизмы, рак и противоопухолевый иммунитет. Киев: Наук думка, 1985. 247с.

12. Колесник ЕА, Потебня ГП, Кикоть ВА и др. Противоопухолевая аутовакцина в лечении больных с распространенным колоректальным раком. Онкол 1999; (2): 104–8.

13. Esteve J, Benhamou E, Raymond L. Statistical methods in cancer research (v.4). Descriptive Epidemiology. IARC s.p. N 128. IARC, Lyon 1994. 302 p.

14. Турусов ВС, Парфенов ЮД. Методы выявления и регламентирования химических канцерогенов. М: Медицина 1986. 147с.

15. Schulof RS, Mai D, Nelson MA, et al. Active specific immunotherapy with an autologous tumor cell vaccine in patients with resected non-small cell lung cancer. Mol Biother 1988; 1: 30–6.

16. Stack BH, McSwan N, Stirling JM, et al. Autologous X-irradiated tumour cells and percutaneous BCG in operable lung cancer. Thorax 1982; 37: 588–93.

17. Souter RG, Gill PG, Gunning AJ, Morris PJ. Failure of specific active immunotherapy in lung cancer. Br J Cancer 1981; 44: 496–501.

18. Diederichsen ACP, Stenholm ACO, Kronborg O, et al. Immunisation of colorectal cancer patients with autologous tumour cells. Oncol Reports 1998; 5: 823–6.

19. Kimura H, Yamaguchi Y. Adjuvant chemo-immunotherapy after curative resection of Stage II and IIIA primary lung cancer. Lung Cancer 1996; 14: 301–14.

20. Suzuki M, Kimura H, Iwai N, Fujisawa T. Intermittent adjuvant chemo-immunotherapy after resection of non-small cell lung cancer with multilevel mediastinal lymph node metastasis. Oncol Rep 2000; 7: 545–9.

21. Kimura H, Yamaguchi Y. Adjuvant immunotherapy with interleukin 2 and lymphokine-activated killer cells after noncurative resection of primary lung cancer. Lung Cancer 1995; 13: 31–44.

EFFICACY OF IMMUNOTHERAPY WITH AUTOVACCINE IN THE TREATMENT OF LUNG CANCER PATIENTS

G.P. Potebnya, I.I. Smolanka, G.S. Lisovenko, N.I. Romashko, V.A. Semernikov, E.A. Kolesnik

Summary. *The remote results of a treatment of 52 lung cancer patients in a postoperative period with anticancer autovaccine were studied. The autovaccine was prepared from autologous tumor cells treated with filtrates of Bac. mesentericus AB-56, culture liquid. A statistically reliable increase was shown in the 5-year survival rate of lung cancer patients treated with the anticancer autovaccine and an essential decrease in the frequency of recurrences as compared to surgically treated patients. A significant effect was registered in stage IIIA and in the presence of lymphonode methastases.*

Key Words: lung cancer, anticancer autovaccine.