

УВЕЛИЧЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА NKT-КЛЕТОК – МАРКЕР РАННЕГО ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ПРИ АДЬЮВАНТНОЙ ВАКЦИНОТЕРАПИИ ПАЦИЕНТОВ С МЕТАСТАТИЧЕСКОЙ МЕЛАНОМОЙ КОЖИ

А.А. Борунова, Г.З. Чкадуа, Т.Н. Заботина, З.Г. Кадагидзе, О.В. Короткова, А.И. Черткова, Д.В. Табаков, Е.Н. Захарова, Э.К. Шоуа, Н.Н. Петенко, Л.В. Демидов, И.Н. Михайлова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

Контакты: Анна Анатольевна Борунова Vorunova-a@yandex.ru

Введение. Натуральные киллерные Т-лимфоциты (NKT) занимают промежуточное положение между врожденным и приобретенным иммунным ответом. Способность этих клеток как активировать противоопухолевый иммунный ответ, так и угнетать иммунологическую активность делает их мишенью исследования у онкологических больных. Радикальность хирургического лечения больных метастатической меланомой III–IV стадии относительно условна. В связи с этим возможности адъювантной эффективной терапии меланомы активно исследуются во всем мире.

Цель исследования — изучение информативной значимости увеличения количества NKT-клеток периферической крови больных метастатической меланомой кожи после радикального хирургического удаления опухоли, получавших в адъювантном режиме противоопухолевую аутологичную дендритно-клеточную вакцинотерапию.

Материалы и методы. В исследование включены 39 больных метастатической меланомой кожи III и IV стадий после радикального хирургического вмешательства. Из моноцитов периферической крови каждого пациента создавалась аутологичная вакцина зрелых дендритных клеток, нагруженных опухолевым лизатом. Терапия продолжалась до объективного прогрессирования. В исследование вошли пациенты, получившие от 5 до 120 введений. Время наблюдения за больными составило от 5 до 168 мес.

Результаты. Показано, что у 14 (36 %) больных исходное количество NKT-клеток превышало норму (0–10 %), и в процессе вакцинотерапии у них было отмечено прогрессирование заболевания в период до 2 лет. У больных с безрецидивным течением заболевания при вакцинотерапии ($n = 13$) количество NKT-лимфоцитов не превышало нормы как до, так и в процессе терапии. Выявлено достоверно меньшее время до прогрессирования у пациентов с высоким исходным содержанием NKT-лимфоцитов по сравнению с пациентами с нормальными показателями NKT-клеток (6,5 мес, 95 % доверительный интервал — 2,4–10,7 %, vs 96,2 мес, 95 % доверительный интервал — 63,8–128,6 %).

Заключение. Увеличенное количество NKT-клеток у пациентов с метастатической меланомой кожи III и IV стадии после радикального хирургического лечения является маркером раннего прогрессирования.

Ключевые слова: NKT-клетки, адъювантная иммунотерапия, вакцинотерапия, меланома

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-18-4-82-89

INCREASE IN NKT CELLS – A MARKER OF EARLY PROGRESSING AT ADJUVANT VACCINOTHERAPY OF PATIENTS WITH A METASTATIC MELANOMA OF SKIN

A.A. Borunova, G.Z. Chkadua, T.N. Zabolina, Z.G. Kadagidze, O.V. Korotkova, A.I. Chertkova, D.V. Tabakov, E.N. Zakharova, E.K. Shoua, N.N. Petenko, L.V. Demidov, I.N. Mikhailova

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation; 24 Kashirskoye Shosse, Moscow 115478, Russia

Introduction. Natural killer T lymphocytes (NKT) take place between the innate and acquired immune response. The ability of these cells to activate the antitumor immune response and inhibit immunological activity makes them the target of research in cancer patients. The radicality of surgical treatment of patients with metastatic melanoma (stage III–IV) is relatively conventional. In this regard, the possibility of adjuvant effective therapy of melanoma is actively investigated worldwide.

The aim of the study is investigation of the importance of increasing the number of NKT cells in the peripheral blood of patients with metastatic melanoma after radical surgical removal of the tumor. Patients were treated with adjuvant regimen antitumor autologous dendritic cell therapy in form of vaccination.

Materials and methods. The study included 39 patients with stage III and IV metastatic melanoma with regional and/or distant metastases after radical surgery. From the peripheral blood monocytes of each patient, an autologous vaccine was created from mature dendritic cells loaded with tumor lysate. The therapy continued until objective progression. The study included patients who received from 5 to 120 injections. The follow-up period ranged from 5 to 168 months.

Results. It was shown that 14 (36 %) of patients had the number of NKT cells exceeding the norm (0–10 %) and in the course of vaccine therapy they had the progression of the disease in the period up to 2 years. In patients with relapse-free course of the disease in vaccine therapy ($n = 13$), the number of NKT lymphocytes did not exceed the norm both before and during therapy. Significantly shorter time to progression was revealed in patients with high initial content of NKT lymphocytes compared with patients with normal indices of NKT cells (6.5 months) — 95 % confidence limit 2,4–10,7 % vs 96,2 months (95 % confidence limit 63,8–128,6 %).

Conclusion. An increased number of NKT cells in patients with stage III–IV metastatic melanoma after radical surgical treatment is a marker of early progression.

Key words: NKT cells, adjuvant immunotherapy, vaccinotherapy, melanoma

Введение

Натуральные Т-клетки-киллеры (NKT) представляют собой популяцию Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^+CD16^+CD56^+$, обладающих свойствами как натуральных киллерных (NK), так и Т-клеток. Эта популяция лимфоцитов имеет особый путь клеточной дифференцировки в структуре Т-лимфоцитов и может обладать фенотипом $CD4^+CD8^-$, $CD4^-CD8^+$ или $CD4^-CD8^-$. NKT-клетки занимают нишу между врожденным и приобретенным иммунным ответом, обеспечивая связь механизмов естественной резистентности и специфической иммунной реактивности. Выделяют 2 типа NKT-клеток: инвариантные (NKT-клетки I типа, или iNKT-клетки), экспрессирующие только 1 вид Т-клеточного рецептора (TCR) α -цепи (Va24JaQ TCR α), и вариабельные (NKT-клетки II типа) — гетерогенная популяция NKT-клеток, экспрессирующая различные TCR α -цепи.

NKT-клетки способны синтезировать большой диапазон цитокинов, позволяющий им модулировать иммунный ответ при различных заболеваниях, включая рак, аутоиммунные заболевания, инфекции, аллергии, отторжение трансплантата и реакции трансплантата против хозяина [1, 2]. Такая разнонаправленность действия NKT-клеток обусловлена функциональной гетерогенностью их субпопуляций, которая не зависит от фенотипа (инвариантные или вариабельные) клеток. Функциональную активность NKT-клеток и их роль в регулировании иммунного ответа определяет тип синтезируемых цитокинов. Единого понимания, каким образом NKT-клетки выбирают тип секретируемых цитокинов, на сегодня нет [3]. Способность этих клеток активировать противоопухолевый иммунный ответ, а также угнетать иммунологическую активность привлекает интерес ученых к NKT-лимфоцитам и как к модели клеточной терапии, и как к критерию прогноза заболевания [4]. Так, известно, что количество NKT-лимфоцитов в периферической крови увеличивается при острых тяжелых воспалительных процессах, и часто такое увеличение сопровождается снижением количества В-клеток и $CD3^+CD4^+$ -Т-хелперных лимфоцитов, а отсутствие

восстановления нормального количества показателей является свидетельством перехода воспаления в хроническую форму [5].

Меланома кожи отличается агрессивным течением, ранним метастазированием и тенденцией к постоянному росту. Основным методом терапии меланомы на сегодняшний день остается хирургическое лечение. Радикальность хирургического лечения больных метастатической меланомой III–IV стадии относительно условна из-за наличия субклинических метастазов, а скрытая диссеминация опухоли может происходить на любой стадии. В связи с этим возможности адъювантной эффективной терапии меланомы активно исследуются во всем мире [6].

Вакциноterapia аутологичными дендритными клетками (ДК), нагруженными опухолевым лизатом, — модель полностью персонализированной иммунотерапии. Эффективность вакцинотерапии меланомы при наличии клинически определяемых опухолевых очагов сопоставима с эффективностью химиотерапии, но при этом не имеет токсичности [7]. В клинических рекомендациях до 2017 г. больным меланомой III и IV стадии после хирургического лечения в качестве адъювантной терапии предлагалась иммунотерапия интерферонами, и только в редакции 2018 г. появилась рекомендация о применении в адъювантном режиме блокаторов PD1 (по решению врачебной комиссии), а при наличии BRAF-мутации — таргетных препаратов ингибиторов BRAF [8, 9]. В данной статье представлены результаты исследования адъювантной вакцинотерапии пациентов с метастатической меланомой III и IV стадии после хирургического лечения, проводившегося в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина (НМИЦ им. Н.Н. Блохина) с 2002 по 2018 г. В качестве значимого иммунологического критерия рассмотрена популяция NKT-клеток, способных проявлять как проопухолевую, так и противоопухолевую активность.

Цель исследования — изучение информативной значимости увеличения количества NKT-клеток

периферической крови больных метастатической меланомой кожи после радикального хирургического удаления опухоли, получавших в адъювантном режиме противоопухолевую аутологичную дендритно-клеточную вакцилотерапию.

Материалы и методы

В исследование были включены 39 больных метастатической меланомой кожи III и IV стадии с регионарными и/или отдаленными метастазами после радикального хирургического вмешательства, получавших лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина с 2002 по 2018 г. Это были мужчины ($n = 19$) и женщины ($n = 20$) в возрасте от 24 до 75 лет (средний возраст — 52 года).

Из моноцитов периферической крови каждого пациента создавали аутологичную вакцину на основе зрелых ДК, нагруженных опухолевым лизатом. Фенотип зрелых ДК для каждой вакцины оценивали методом проточной цитометрии ($CD80^+$, $CD86^+$, $HLA-DR^+$, $CD83^+$ и $CCR7^+ > 70\%$, живых клеток $> 80\%$). Разовая доза ДК составляла $2-5 \times 10^6$ в 1 мл фосфатно-солевого буфера.

Вакцилотерапию проводили амбулаторно, она включала в себя вводную фазу (4 вакцинации

с интервалом 2 нед) и поддерживающую (введение каждые 4 нед в течение 2 лет, затем интервал увеличивали до 3–6 мес). Терапия продолжалась до объективного прогрессирования. В исследование были включены пациенты, получившие от 5 до 120 введений. Время наблюдения за больными составило от 5 до 168 мес. Прогрессирование на фоне проводимой терапии отмечено у 26 (67 %) из 39 больных.

Для оценки фенотипа NKT-лимфоцитов клетки периферической крови больных окрашивали моноклональными антителами к $CD45$, $CD3$, $CD16$, $CD56$ и изотипическими контролями, меченными флуорохромами FITC, PE, PE-Cy5. Анализ $CD45^+CD3^+CD16^+CD56^+$ -NKT-клеток проводили методом проточной цитометрии (BD FACSCalibur™).

Статистический анализ данных проводили с использованием пакета статистических программ SPSS 17.0, значения считались статистически значимыми при $p < 0,05$. Выживаемость анализировали в соответствии с методом Каплана–Майера и сравнивали с помощью логранг-теста.

Результаты

По продолжительности вакцилотерапии больных разделили на 3 группы (рис. 1).

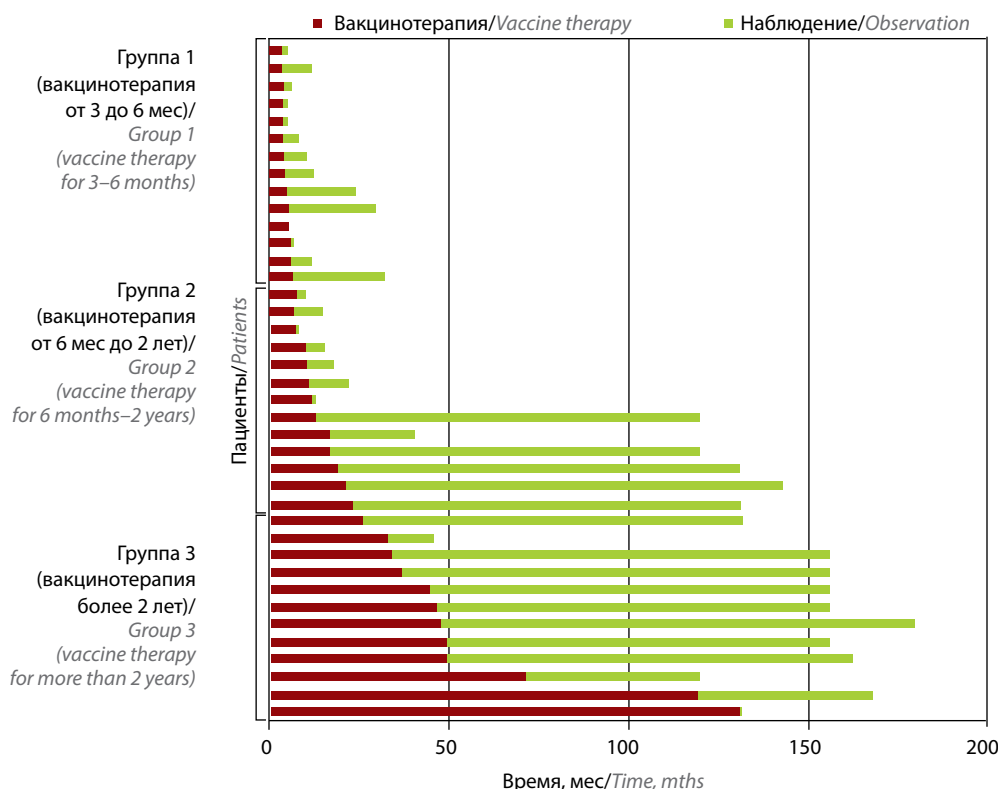


Рис. 1. Распределение больных метастатической меланомой кожи по продолжительности адъювантной вакцилотерапии. Больные разделены на 3 группы по времени продолжительности вакцилотерапии

Fig. 1. Distribution of patients with metastatic melanoma according to the duration of adjuvant vaccine therapy. Patients are divided into 3 groups according to vaccine therapy duration

1-я группа. У всех 14 пациентов этой группы прогрессирование наступило в раннем периоде — до 6 мес от начала вакцинотерапии. Медианы продолжительности терапии и времени до прогрессирования не различались и составили 4 мес — 95 % доверительный интервал (ДИ) 2,83–5,17 и 3,17–4,82 соответственно.

2-я группа. В период от 6 мес до 2 лет получали лечение 13 человек. Медиана времени терапии у них составила 15,9 мес — 95 % ДИ 9,20–22,57. У 3 (23 %) пациентов из этой группы на фоне проводимой терапии было отмечено безрецидивное течение заболевания, продолжительность терапии составила от 13 до 21 мес, а время наблюдения — 103–122 мес (медиана времени до прогрессирования не достигнута). У 10 из 13 (77 %) больных, получавших терапию 6–24 мес, медиана времени до прогрессирования составила 13,3 мес — 95 % ДИ 6,49–20,1 мес.

3-я группа. У 12 пациентов продолжительность терапии составила от 2 до 7 лет, и только у 2 (16 %) из них было выявлено прогрессирование заболевания после 33 и 52 мес. При этом у 1-го пациента прогрессирование было выявлено в процессе терапии (33 мес), у 2-го вакцинотерапия была эффективной (продолжительностью 4 года), а прогрессирование наступило через 14 мес после окончания лечения. У 10 (83 %) больных, получавших вакцинотерапию более 2 лет, медиана времени до прогрессирования не достигнута. У 7 пациентов продолжительность лечения составила 38,6 мес (95 % ДИ 29,1–48,2 мес), у 3 — от 72 до 132 мес. Медиана времени наблюдения после терапии у этих больных составила 108,0 мес — 95 % ДИ 102,3–113,7 мес.

Таким образом, 10-летняя общая выживаемость (ОВ) в группе 39 больных метастатической меланомой после радикального удаления опухоли и последующей вакцинотерапии составила 38 % ($n = 15$), безрецидивная выживаемость — 33 % ($n = 13$); 5-летняя ОВ — 51 % ($n = 20$), безрецидивная выживаемость — 33 % ($n = 13$); 2-летняя ОВ — 66 % ($n = 26$), безрецидивная выживаемость — 38 % ($n = 15$). У большинства больных (67 %) было отмечено прогрессирование заболевания в период от 4 до 52 мес и преимущественно выявлялось раннее прогрессирование — медиана времени до прогрессирования — 5,0 мес — 95 % ДИ 4,0–5,9 мес.

Следующим этапом был проведен анализ прогностического значения количества НКТ-лимфоцитов в периферической крови пациентов до начала иммунотерапии (рис. 2).

1-я группа. Только у 4 (29 %) из 14 больных этой группы до начала терапии количество НКТ-клеток было в пределах нормальных значений (рис. 3) и в процессе вакцинотерапии, несмотря на прогрессирование заболевания, оставалось в норме (2,9 %; 95 % ДИ 0,3–5,4 %). Большинство пациентов ($n = 10$; 71 %) имели повышенное исходное значение НКТ-лимфоцитов (17,1 %; 95 % ДИ 12,5–21,8): у половины из них ($n = 5$) не было отмечено динамики этого показателя в процессе иммунотерапии, у 3 больных выявлен продолженный рост количества НКТ-клеток и только у 2 — уменьшение их количества до нормы. У всех больных этой группы прогрессирование наступило в период от 3 до 6 мес от начала терапии, и они были исключены из протокола лечения и переведены на другой вид терапии. Медиана

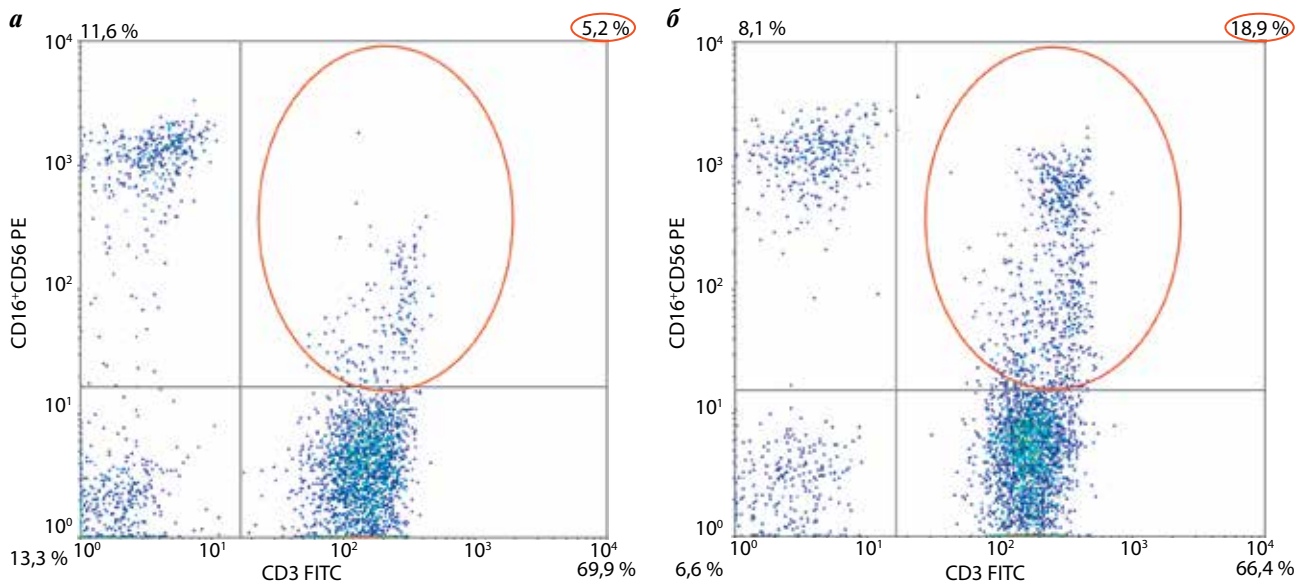


Рис. 2. DotPlot-цитограмма CD3 vs CD16/CD56 CD45⁺ клеток периферической крови 2 больных метастатической меланомой кожи с нормальным (а) и высоким (б) содержанием НКТ-лимфоцитов до начала вакцинотерапии

Fig. 2. DotPlot-cytogram of CD3 vs CD16/CD56 CD45⁺ peripheral blood cells of 2 metastatic melanoma patients with normal (a) and high (b) NKT lymphocyte count prior to vaccine therapy

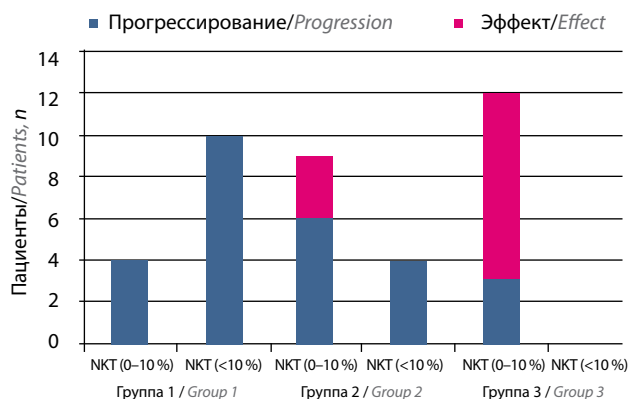


Рис. 3. Сравнение эффективности адъювантной вакцинотерапии у больных метастатической меланомой кожи в зависимости от содержания NKT-клеток до начала терапии в 3 группах, различающихся по продолжительности вакцинотерапии. Распределение больных в зависимости от содержания NKT-клеток до начала терапии в группах (1-я группа 3–6 мес, 2-я – 6 мес – 2 года и 3-я – более 2 лет).

Fig. 3. Comparison of the effectiveness of adjuvant vaccine therapy in metastatic melanoma patients depending on NKT cells count before therapy in 3 groups with different vaccine therapy duration. Patients' distribution depending on NKT cells count before therapy in different groups (1st group 3–6 months, 2nd – 6 months–2 years and 3rd – more than 2 years).

ОВ у этих больных составила 14,6 мес (95 % ДИ 8,9–20,3 мес), и не было выявлено ее существенного различия у больных в зависимости от исходного значения NKT-лимфоцитов. Трое пациентов из этой группы оставались живы в период наблюдения (2–3 года) после вакцинотерапии (1 с нормальным количеством NKT-клеток и 2 – с повышенным, при этом у одного из них количество NKT-лимфоцитов оставалось высоким в процессе вакцинотерапии, а у другого снижалось до нормы).

2-я группа. В данной группе нормальное количество NKT-клеток до начала вакцинотерапии (6,6 %; 95 % ДИ 4,1–9,1 % и медиана 7,4 %; Q25–Q75 3,6–9,1 %) наблюдалось у 9 (69 %) из 13 и только у 4 (31 %) пациентов отмечалось исходно высокое их количество (медиана 16,6 %; Q25–Q75 11,6–21,2 %). У всех больных, имеющих исходно повышенное содержание NKT-лимфоцитов до лечения, было выявлено прогрессирование в процессе иммунотерапии, при этом у 2 пациентов отмечалась нормализация показателя на фоне лечения, а у 2 их количество оставалось без динамики.

У 3 больных с нормальным количеством NKT-клеток (3 из 9) вакцинотерапия была эффективна, и ее продолжительность составила 13, 17 и 21 мес, в настоящее время пациенты живы и не имеют клинических признаков заболевания (время наблюдения после иммунотерапии составило 8,5–12 лет). Количество NKT-лимфоцитов у этих пациентов до начала терапии, в процессе лечения и в период динамического наблюдения оставалось в пределах нормальных

показателей. У остальных больных с исходно нормальным количеством NKT-клеток (6 из 9) в процессе вакцинотерапии было отмечено прогрессирование заболевания, и только у 2 пациентов наблюдался резкий рост количества NKT-лимфоцитов на момент прогрессирования.

3-я группа. У всех больных в этой группе ($n = 12$) до начала иммунотерапии количество NKT-лимфоцитов было в пределах нормы. Для 9 (75 %) пациентов адъювантная вакцинотерапия была эффективна, ее длительность составила от 34 до 72 мес. Эти пациенты находятся в динамическом наблюдении, продолжительность которого на сегодняшний день составляет 103–122 мес (8,5–10 лет).

Таким образом, показано, что у 14 (36 %) больных количество NKT-клеток превышало показатели нормы (0–10 %) и составило в среднем 16,9 % (95 % ДИ 13,5–20,4 %). В процессе вакцинотерапии у всех больных с высоким исходным значением NKT-клеток ($n = 14$) отмечалось прогрессирование заболевания в период до 2 лет. Преимущественно ($n = 10$; 71 %) это были пациенты, получавшие терапию до 6 мес, медиана времени до прогрессирования в группе больных с исходно высоким содержанием NKT-лимфоцитов составила 4,0 мес – 95 % ДИ 2,7–5,2 мес.

У больных с безрецидивным течением заболевания на фоне вакцинотерапии ($n = 13$) до начала лечения количество NKT-лимфоцитов не превышало показатели нормы и в процессе терапии оставалось также в пределах нормальных значений.

Среднее значение времени до прогрессирования у пациентов с высоким уровнем NKT-клеток до начала терапии было в 14,5 раза меньше, чем у пациентов с нормальным их количеством, и составило 6,5 мес (95 % ДИ 2,4–10,7 %) vs 96,2 мес (95 % ДИ 63,8–128,6 %) соответственно (рис. 4). Общая продолжительность жизни у пациентов с исходно увеличенным количеством NKT-лимфоцитов была в 5,6 раза меньше, чем у пациентов с нормальным содержанием NKT-клеток – 22,2 мес (95 % ДИ 11,8–32,6 %) vs 124,9 мес (95 % ДИ 95,4–154,3 %) соответственно. Риск прогрессирования у пациентов с повышенным количеством NKT-лимфоцитов был в 4 раза больше, чем у пациентов с нормальным показателем (относительный риск 4,97; 95 % ДИ 2,04–12,13; $p < 0,001$). Была выявлена обратная умеренная достоверная связь между количеством NKT-клеток до начала вакцинотерапии и временем до прогрессирования ($r = -0,395$; $p = 0,017$).

Анализ динамики изменения количества NKT-клеток у пациентов в процессе вакцинотерапии показал, что у больных с безрецидивным течением заболевания количество NKT-лимфоцитов оставалось в пределах нормы на протяжении всей вакцинотерапии. В группе больных с прогрессированием и исходно высоким содержанием NKT-клеток у 7 из

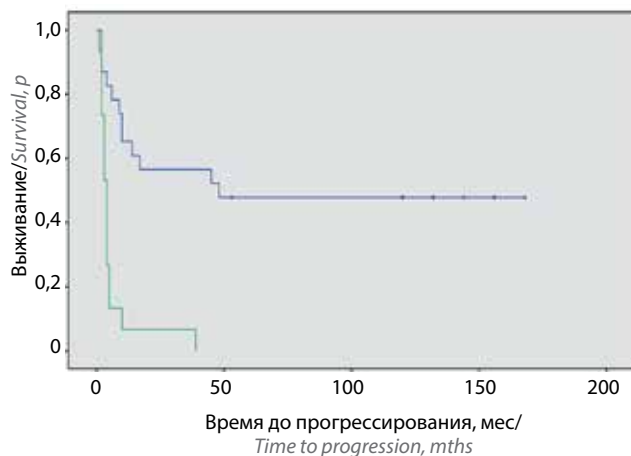


Рис. 4. График безрецидивной выживаемости (по Каплану–Майеру) больных метастатической меланомой после хирургического удаления опухоли от момента начала адъювантной дендритно-клеточной вакцинотерапии до прогрессирования: синяя линия – больные с нормальным количеством НКТ-клеток, зеленая – с повышенным количеством НКТ-лимфоцитов, + – цензурированные наблюдения (пациенты с безрецидивным течением заболевания на момент анализа), p – вероятность выживаемости

Fig. 4. Relapse-free survival (Kaplan-Meier curve) of patients with metastatic melanoma after tumor surgery from the start of adjuvant dendritic cell vaccine therapy to progression: blue line indicates patients with normal NKT cells count, green line – patients with an increased NKT lymphocytes count, + – censored observations (patients with relapse-free disease at the time of analysis)

14 (50 %) пациентов на фоне терапии не определялось значимой динамики показателя; у 4 больных отмечалась нормализация количества НКТ-лимфоцитов и у 3 – существенное, в 1,5–2 раза, увеличение популяции НКТ-клеток. Следует отметить, что у пациентов с нормализацией количества НКТ-лимфоцитов ($n = 4$) прогрессирование произошло через 4, 5, 12 и 33 мес от начала терапии, а у больных с обратной динамикой – через 3, 4 и 5 мес.

Обращает на себя внимание, что из 12 пациентов с исходно нормальным количеством НКТ-клеток, несмотря на прогрессирование заболевания, только у 2 человек в процессе терапии было отмечено резкое, в 2–2,5 раза, увеличение этой субпопуляции лимфоцитов (до 19,8 и 20,2 %) на момент диагностики прогрессирования. У остальных пациентов ($n = 10$) колебания количества НКТ-лимфоцитов и в процессе терапии, и в момент выявления прогрессирования заболевания оставались в пределах нормальных показателей.

Обсуждение

Адъювантная, или профилактическая, иммунотерапия призвана предотвратить развитие рецидива заболевания. Она направлена на уничтожение или длительное подавление микрометастазов меланомы после хирургического удаления опухоли. Критерием эффективности адъювантной терапии является увеличение

безрецидивной выживаемости [10]. Дендритно-клеточная вакцинотерапия рака – одно из актуальных направлений. Только за 2,5 года (с 09.2014 по 02.2017 г.) было опубликовано 43 статьи с результатами различных клинических исследований вакцин на основе ДК [11]. Вакцина на основе ДК не является стандартным препаратом. Существуют аутологичные и аллогенные вакцины. Они различаются по типу антигенов для нагрузки вакцины (могут включать в себя лизат клеток аутологичной или аллогенной опухоли, лизат клеток опухолевых линий, с определенными антигенами, или конкретный набор опухолеассоциированных антигенов) [12]. Различны не только сами вакцины, но и режимы их применения, точки введения и комбинации с другими препаратами, в том числе и с терапией ингибиторами контрольных точек (анти-PD, PDL, CTLA-4). При меланоме кожи в настоящее время ведется набор данных по 4 международным протоколам (NCT02334735; NCT02993315; NCT02301611; NCT01983748 – www.clinicaltrials.gov). Продолжаются работы отечественных исследователей [13]. Планируются новые клинические исследования, о чем свидетельствует протокол 2018 г. ACDC Adjuvant Trial – 2 фазы рандомизированного исследования применения дендритно-клеточной вакцины, нагруженной аутологичным опухолевым лизатом, у пациентов после резекции меланомы III и IV стадии [14].

Представленные данные – часть результатов исследования, ведущегося с 2002 г. по настоящее время. Для 13 из 39 больных метастатической меланомой III–IV стадии применение вакцинотерапии на основе аутологичных ДК после хирургического лечения было эффективным, и максимальное время наблюдения на сегодняшний день составляет 12 лет. Одним из основных вопросов клинических исследований ДК-вакцины (как нашего, так и других протоколов) остается поиск иммунологических маркеров прогноза эффективности терапии.

Ключевым фактором эффективности иммунотерапии является состояние иммунной системы на момент начала специфического иммунотерапевтического воздействия. Способность реализовать запускаемый механизм противоопухолевого ответа предполагает наличие иммунной сбалансированности как минимум на системном уровне – в периферической крови.

НКТ-лимфоциты – гетерогенная популяция, в ней выделяют инвариантный и вариабельный типы. Оба подвида делятся по типу секретируемых цитокинов и могут проявлять как проопухолевую, так и противоопухолевую активность. Популяция НКТ-клеток является малочисленной и в норме составляет до 10 % всех лимфоцитов. Увеличение количества НКТ-лимфоцитов является одним из вариантов иммунологического дисбаланса и, как показало наше исследование, встречается у 1 из 3 пациентов с метастатической

меланомой кожи III–IV стадии после радикального хирургического лечения при отсутствии клинических признаков заболевания. В настоящем исследовании у всех больных с повышенным содержанием НКТ-клеток в процессе иммунотерапии было отмечено прогрессирование в период до 2 лет. Хотя увеличение популяции НКТ-клеток при других нозологических формах и другом противоопухолевом лечении, таком как химиотерапия, может являться благоприятным прогностическим критерием, что было показано при исследовании больных раком молочной железы [15]. Следует отметить, что эффективность химиотерапии сопровождалась уменьшением количества НКТ-лимфоцитов до нормальных показателей.

Неэффективность вакциноотерапии у больных меланомой с повышенным количеством НКТ-клеток может быть связана с тем, что иммунная система уже находится в состоянии напряжения по типу противовирусного ответа и не реагирует на другие виды стимуляции. Данное иммунологическое нарушение следует рассматривать как противопоказание для адъю-

вантной дендритно-клеточной противоопухолевой вакциноотерапии меланомы кожи.

Отметим, что прогрессирование отмечалось и у больных с нормальным содержанием НКТ-клеток. Резкое увеличение в 1,5–2 раза количества НКТ-лимфоцитов в процессе иммунотерапии сочеталось с быстрым прогрессированием вне зависимости от того, было ли ранее количество НКТ-клеток нормальным или повышенным, что позволяет использовать этот критерий для мониторинга как маркер прогрессирования.

Заключение

Увеличенное количество НКТ-клеток у пациентов с метастатической меланомой кожи III–IV стадии после радикального хирургического лечения является маркером раннего прогрессирования. Наличие повышенного количества НКТ-лимфоцитов следует рассматривать как противопоказание для вакциноотерапии в адъювантном режиме аутологичными ДК, нагруженными опухолевым лизатом.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Bendelac A., Savage P.B., Teyton L. The biology of NKT cells. *Annu Rev Immunol* 2007;25:297–336. DOI: 10.1146/annurev.immunol.25.022106.141711.
2. Godfrey D.I., Stankovic S., Baxter A.G. Raising the NKT cell family. *Nature Immunol* 2010;11(3):197–206. DOI: 10.1038/ni.1841.
3. Акинфеева О.В., Бубнова Л.Н., Бессмельцев С.С. НКТ-клетки: характерные свойства и функциональная значимость для регуляции иммунного ответа. *Онкогематология* 2010;5(4):39–47. [Akinfeeva O.V., Bubnova L.N., Bessmeltsev S.S. NKT cells: characteristic features and functional significance in the immune response regulation. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2010;5(4):39–47. (In Russ.)].
4. Nair S., Dhodapkar M.V. Natural killer T cells in cancer immunotherapy. *Front Immunol* 2017;8:(1178). DOI: 10.3389/fimmu.2017.01178.
5. Godfrey D.I., Kronenberg M. Going both ways: immune regulation via CD1d-dependent NKT cells. *J Clin Invest* 2004;114(10):1379–88. DOI: 10.1038/nri11309.
6. Kwak M., Farrow N.E., Salama A.K.S. et al. Updates in adjuvant systemic therapy for melanoma. *J Surg Oncol* 2019;119(2):222–321. DOI: 10.1002/jso.25298.
7. Boudewijns S., Bloemendal M., Gerritsen W.R. et al. Dendritic cell vaccination in melanoma patients: From promising results to future perspectives. *Hum Vaccin Immunother* 2016;12(10):2523–8. DOI: 10.1080/21645515.2016.1197453.
8. Строяковский Д.Л., Абрамов М.Е., Демидов Л.В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению меланомы кожи. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO 2017;7(3 Suppl. 2):190–202. DOI: 10.18027/2224-5057-2017-7-3s2-190-202. [Stroyakovskiy D.L., Abramov M.E., Demidov L.V. et al. Practical recommendations for drug treatment of skin melanoma. *Malignant tumors: Practical recommendations of RUSSCO* 2017;7(3 Suppl. 2):190–202. (In Russ.)].
9. Строяковский Д.Л., Абрамов М.Е., Демидов Л.В. и др. Практические рекомендации по лекарственному лечению меланомы кожи. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO 2018;8(3 Suppl. 2):212–26. DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-212-226. [Stroyakovskiy D.L., Abramov M.E., Demidov L.V. et al. Practical recommendations for drug treatment of skin melanoma. *Malignant tumors: Practical recommendations of RUSSCO* 2018;8(3 Suppl. 2):212–26. DOI: 10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-212-26. (In Russ.)].
10. Bello D.M., Ariyan C.E. Adjuvant Therapy in the Treatment of Melanoma. *Ann Surg Oncol* 2018;25(7):1807–13. DOI: 10.1245/s10434-018-6376-y.
11. Garg A.D., Vara Perez M., Schaaf M. et al. Trial watch: dendritic cell-based anticancer immunotherapy. *Oncoimmunology* 2017;6(7):1328341. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1328341.
12. Dillman R.O., Nistor G.I., Cornforth A.N. Dendritic cell vaccines for melanoma: past, present and future. *Melanoma Manag* 2016;3(4):273–89. DOI: 10.2217/mmt-2016-0014.
13. Балдуева И.А., Новик А.В., Гельфонд М.Л. и др. Дендритно-клеточная иммунотерапия в сочетании с фотодинамической терапией и циклофосфамидом у больных диссеминированной меланомой кожи, резистентных к стандартным методам лечения. *Онкология, гематология и радиология. Спецвыпуск «Меланома»*. Эффективная фармакотерапия 2017;36:32–41. [Baldueva I.A., Novik A.V., Gelfond M.L. et al. Dendritic-Cell Immunotherapy in Combination with Photodynamic Therapy and Cyclophosphamide in Patients with Metastatic Melanoma, Resistant to Standard Methods of Treatment. *Effective Pharmacotherapy. Oncology, Hematology & Radiology. Special Issue "Melanoma"*. 2017;36:32–41. (In Russ.)].
14. Ridolfi L., de Rosa F., Fiammenghi L.A. et al. Complementary vaccination

protocol with dendritic cells pulsed with autologous tumour lysate in patients with resected stage III or IV melanoma: protocol for a phase II randomised trial (ACDC Adjuvant Trial).
BMJ Open 2018;8(8):021701.
DOI: 10.1136/bmjopen-2018-021701.

15. Черткова А.И., Славина Е.Г., Шоуа Э.К., и др. Основные параметры клеточного иммунитета у больных раком молочной железы с тройным негативным фенотипом. Медицинская иммунология 2018;20(5):667–80.
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-5.

[Chertkova A.I., Slavina E.G., Shoua E.K. et al. The main parameters of cellular immunity in patients with triple-negative breast cancer: Relationship with efficiency of chemotherapy Meditsinskaya Immunologiya = Medical Immunology 2018;20(5):667–80. (In Russ.)].

Вклад авторов

А.А. Борунова: разработка плана исследования, обзор публикаций по теме статьи, анализ и интерпретация данных, написание текста рукописи;

Г.З. Чкадуа: обзор публикаций по теме статьи;

Т.Н. Заботина: разработка плана исследования, обсуждение и научное редактирование рукописи;

З.Г. Кадагидзе: обзор публикаций по теме статьи, обсуждение и научное редактирование рукописи;

О.В. Короткова, А.И. Черткова: обзор публикаций по теме статьи;

Д.В. Табаков: получение данных для анализа, перевод;

Е.Н. Захарова, Э.К. Шоуа: получение данных для анализа;

Н.Н. Петенко: предоставление материала для исследования;

Л.В. Демидов: обзор публикаций по теме статьи;

И.Н. Михайлова: предоставление материала для исследования, обсуждение и научное редактирование рукописи.

Author's contributions:

A.A. Borunova: developing the research design, reviewing of publications of the article's theme, data analysis and interpretation, article writing;

G.Z. Chkadua: reviewing of publications of the article's theme;

T.N. Zabolina: developing the research design, manuscript discussing and assembling;

Z.G. Kadagidze: reviewing of publications of the article's theme, manuscript discussing and assembling;

O.V. Korotkova, A.I. Chertkova: reviewing of publications of the article's theme;

D.V. Tabakov: data collection and processing, translation of the article;

E.N. Zakharova, E.K. Shoua: data collection and processing;

N.N. Petenko: provision of study materials;

L.V. Demidov: reviewing of publications of the article's theme;

I.N. Mikhailova: provision of study materials, developing the research design, manuscript discussing and assembling.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.А. Борунова/A.A. Borunova: <https://orcid.org/0000-0002-1854-3455>

Г.З. Чкадуа/G.Z. Chkadua: <https://orcid.org/0000-0002-1416-0545>

Т.Н. Заботина/T.N. Zabolina: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>

З.Г. Кадагидзе/Z.G. Kadagidze: <https://orcid.org/0000-0002-0058-0987>

О.В. Короткова/O.V. Korotkova: <https://orcid.org/0000-0002-6021-732X>

А.И. Черткова/A.I. Chertkova: <https://orcid.org/0000-0001-9146-5986>

Д.В. Табаков/D.V. Tabakov: <https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>

Е.Н. Захарова/E.N. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0003-2790-6673>

Э.К. Шоуа/E.K. Shoua: <https://orcid.org/0000-0003-3937-474X>

Н.Н. Петенко/N.N. Petenko: <https://orcid.org/0000-0002-5692-0223>

Л.В. Демидов/L.V. Demidov: <https://orcid.org/0000-0002-8562-6082>

И.Н. Михайлова/I.N. Mikhailova: <https://orcid.org/00000002-7659-6045>

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Минздрава России в рамках темы НИР № АААА-А19-119022090028-6.

Financing. The study was performed with the financial support of the Ministry of Health of Russia in the framework of research № АААА-А19-119022090028-6.

Статья поступила: 04.07.2019. Принята в печать: 15.10.2019.

Article submitted: 04.07.2019. Accepted for publication: 15.10.2019.