

ZYGMUNT POJDA

Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii
Zakład Hematologii Radiacyjnej
Kozielska 4, 01-163 Warszawa

IMMUNOTERAPIA NOWOTWORÓW

WPROWADZENIE

Terminem immunoterapia są określane te wszystkie rodzaje postępowania leczniczego, które w efekcie zmieniają strukturę i/lub czynność układu odpornościowego. Klasyczne metody leczenia nowotworów polegają na mechanicznym usunięciu (interwencja chirurgiczna), bądź zniszczeniu na drodze fizycznej (radioterapia) lub farmakologicznej (chemioterapia) komórek nowotworowych. Metody te są (w zależności od rodzaju nowotworu) stosunkowo skuteczne w zakresie leczenia zlokalizowanego guza pierwotnego, natomiast znacznie mniej przydatne w leczeniu rozsianych zmian wtórnych (przerzutów). Wprawdzie metody te są w pewnym stopniu selektywne w stosunku do komórek nowotworowych, wyróżniając je w oparciu o specyficzne różnice w zakresie procesów metabolicznych i aktywności cyklu komórkowego, jednak równocześnie w dużym odsetku niszczą one również komórki prawidłowe.

Stosunkowo szybko rozwijająca się dziedzina, jaką jest immunoterapia, opiera się na dążeniu do takiego przestrojenia układu odpornościowego, aby potrafił on rozpoznać a następnie zniszczyć nowotwór. Osiągnięcie tego celu powinno pozwolić na przezwyciężenie jednego z największych problemów, jakim jest rozprzestrzenianie się pochodzących ze zmiany pierwotnej mikroprzerzutów, to jest pojedynczych komórek lub niewielkich grup komórek nowotworowych migrujących do różnych tkanek. Inną zaletą immunoterapii jest jej wysoka specyficzność w stosunku do komórek nowotworowych a w konsekwencji nie uszkodzenie tkanek prawidłowych. Do chwili obecnej jednak, pomimo bardzo niekiedy obiecujących wyników wstępnych, nie uzyskano wystarczająco wysokiej skuteczności zwalczania nowotworów w warunkach klinicznych. Stąd też, pomijając emocjonalne oceny niektórych wyznawców bądź antagonistów metody, jej rzeczywistą skuteczność można będzie ocenić dopiero w (niedalekiej prawdopodobnie) przyszłości.

DLACZEGO UKŁAD ODPORNOŚCIOWY NIE JEST W STANIE ZNISZCZYĆ NOWOTWORU?

CZYM DYSPONUJE UKŁAD ODPORNOŚCIOWY?

Często w opracowaniach popularyzatorskich układ odpornościowy jest porównywany do armii z jej służbą wywiadowczą, sztabem, systemem łączności i jednostkami bojowymi. Stosując podobne porównanie dla komórek nowotworowych, należałoby uznać, że nie są one przeciwnikiem przestrzegającym zasad fair play, gdyż atakują w przebraniu i bez oficjalnego wypowiedzenia wojny. Słabość układu odpornościowego leży głównie w zakresie rozpoznania świetnie maskującego się przeciwnika. Mechanizmy immunologiczne (PRAK 1987) służące do niszczenia patogenów (układ odporności komórkowej i układ odporności humoralnej) są w stanie eliminować tak różnych agresorów, jak obce organizmy wielokomórkowe (niektóre pasożyty), pierwotniaki, bakterie, grzyby lub wirusy. Zniszczenie komórki nowotworowej leży więc całkowicie w możliwościach układu odpornościowego. Praktycznie zresztą taki proces w odniesieniu do pojedynczych transformowanych nowotworowo („uzłośliwiających się”) komórek zachodzi stale i eliminuje potencjalny rozwój nowotworów w zarodku. Dowodem na to jest fakt, że gdyby wyliczyć oczekiwaną teoretycznie częstość zmian prowadzących do wystąpienia nowotworu (mutacje spontaniczne, niektóre zakażenia wirusowe, skutki działania mutagenów chemicznych chociażby tych zawartych w dymie tytoniowym oraz promieniowania jonizującego), to częstość zachorowań na nowotwory byłaby nieporównywalnie większa niż jest praktycznie obserwowana.

Jak już wspomniano, słabość obrony przed nowotworem polega nie na możliwości jego zwalczania, ale na trudności odróżnienia komórek nowotworowych od prawidłowych. Układ odpornościowy nie rozpoznaje struktur wielkości komórki, a jedynie znacznie mniejsze fragmenty cząsteczek zwane antygenami. W niektórych przypadkach wyspecjalizowane komórki, na przykład makrofagi, „wypreparowują” fragmenty specyficznej struktury i uczą inne komórki (limfocyty) ich rozpoznawania w procesie zwanym prezentacją antygenu. W innych już sama obecność antygenu znanego uprzednio układowi odpornościowemu jako „obcy” wyzwała jego reakcję. Istnieją również specyficzne mechanizmy pozwalające na niszczenie komórek nowotworowych bez uprzedniej immunizacji, to jest uczenia układu odpornościowego. Wyspecjalizowane populacje komórek, pełniących taką funkcję („naturalni zabójcy” czyli komórki NK, „komórki zabijające aktywowane cytokinami”, tak zwane komórki LAK, „limfocyty naciekające guz” czyli TIL, „limfocyty naciekające ranę” — WIL oraz „makrofagi przeciwnowotworowe” czyli MAK) są w stanie samoistnie rozpoznać i zniszczyć komórkę nowotworową. Prawdopodobnie właśnie te populacje komórkowe nie dopuszczają do rozwoju znacznej liczby nowotworów niszcząc w zarodku transformowane komórki. Kiedy jednak komórek nowotworowych jest zbyt dużo lub ich lokalizacja utrudnia do nich dostęp elementów układu odpornościowego, to wspomniane mechanizmy nie wystarczają, aby powstrzymać rozwój choroby.

CECHY KOMÓREK NOWOTWOROWYCH, ODRÓŻNIAJĄCE JE OD PRAWIDŁOWEJ POPULACJI KOMÓRKOWEJ

Najważniejsze z punktu widzenia przebiegu choroby cechy komórek nowotworowych, jakimi są zdolność do niekontrolowanej proliferacji w połączeniu z niereagowaniem na fizjologiczne czynniki regulatorowe, nie są parametrami rozpoznawanymi przez układ odpornościowy. Potencjalnymi cechami rozpoznawczymi są natomiast tak zwane „antygeny nowotworowe”.

Obecność jakiegokolwiek antygeny jest uwarunkowana posiadaniem przez komórkę, prezentującą go, aktywnego genu regulującego jego wytwarzanie. Nietypowe antygeny mogą pojawiać się na komórkach nowotworowych w wyniku aktywowania genów specyficznych dla innych okresów życia osobniczego (życia płodowego) lub dla innych, wyspecjalizowanych populacji komórkowych (na przykład komórek nerwowych), transfekcji w wyniku zakażenia wirusowego, wreszcie mutacji genowej. Stąd też tak zwane antygeny nowotworowe można, w zależności od pochodzenia, podzielić na kilka grup:

1. Antygeny obecne w okresie życia płodowego. Ta stosunkowo często prezentowana przez komórki nowotworowe rodzina antygenów fizjologicznie jest obecna w okresie życia płodowego. Geny odpowiedzialne za ich wytwarzanie mogą być wtórnie aktywowane w komórkach uległych transformacji nowotworowej. Antygeny te mogą być zarówno związane z powierzchnią komórek, jak uwalniane do otoczenia. Przedstawicielami tej grupy są:

- alfa fetoproteina (AFP), fizjologicznie obecna w wątrobie i pęcherzyku żółtkowym płodu (WU i współaut. 1982);
- choriogonadotropina beta (bHCG), występująca w łożysku (HUSSA i SELL 1981);
- antygen karcynoembrionalny (CEA), obecny w przewodzie pokarmowym płodu (KABAWAT i współaut. 1983);
- łożyskowa fosfataza alkaliczna (PLAP), występująca w trofoblaście (NATHANSON i FISHMAN 1971).

2. Antygeny swoiste dla specyficznych struktur komórkowych lub obecne jedynie w części populacji ludzkiej. Antygeny te występują w warunkach prawidłowych u osobników dorosłych, ale albo jedynie w pewnym procencie populacji, albo na specyficznych strukturach komórek prawidłowych:

- CA 19-9, sialoglikoproteina (Lewis^a; Le^a) — antygen grupowy obecny w warunkach prawidłowych, na przykład w 7% populacji amerykańskiej lub 20% populacji japońskiej (RITTENHOUSE i współaut. 1985);
- neuronospecyficzna enolaza (NSE), w warunkach prawidłowych swoista dla neuronów i komórek neuroendokrynych.

3. Antygeny swoiste wyłącznie dla specyficznych nowotworów — antygen raka kolczystokomórkowego (SCC), obecny poza chorobą nowotworową jedynie w niektórych zaawansowanych stanach chorobowych, na przykład rozległym uszkodzeniu wątroby (KATO i TORIGOE 1977).

4. Antygeny obecne w strukturach wewnętrznych komórki — proteina p120, obecna w jąderku komórki, niewykrywalna na jej powierzchni (VALDEZ i współaut. 1990).

Ta grupa antygenów nie jest dostępna dla układu odpornościowego, stąd nawet po immunizacji, to jest nauczaniu komórek odpornościowych ich rozpoznawania, odgrywają one niewielką rolę w procesach niszczenia nowotworów.

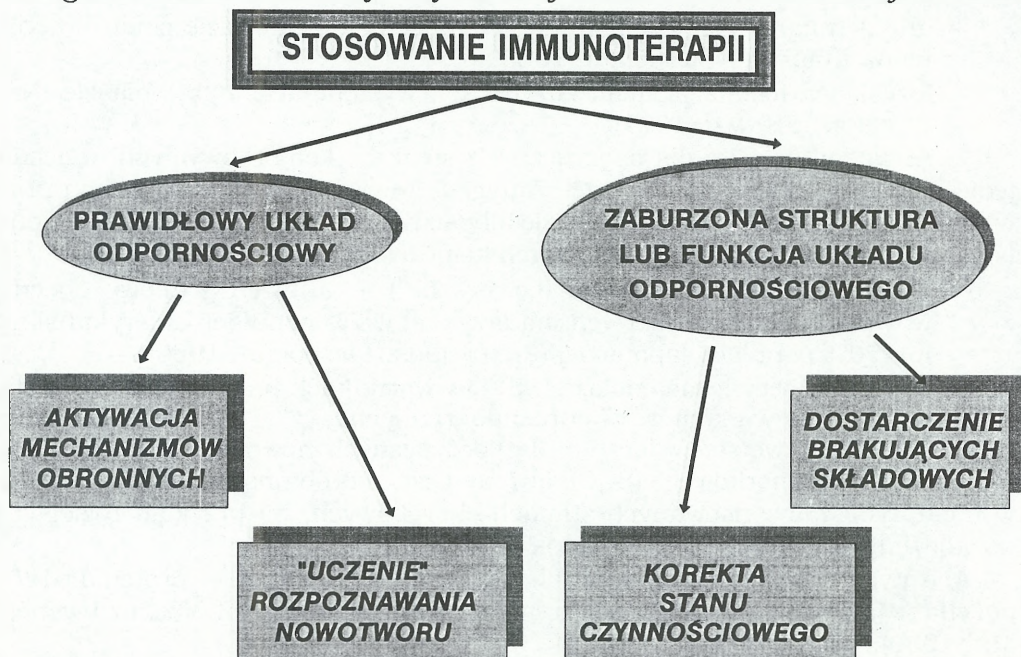
Zasadniczą przyczyną, dla której antygeny nowotworowe nie wystarczają dla samoistnej immunizacji układu odpornościowego pacjenta jest ich tożsamość lub znaczne podobieństwo do „prawidłowych” antygenów chorego. Wyspecjalizowane limfocyty, zwane komórkami pamięci immunologicznej, posiadają z kodowane wzorce „swoich” antygenów, stąd też powtórna aktywacja genów odpowiedzialnych za syntezę na przykład antygenów płodowych nie jest sygnałem zagrożenia dla układu odpornościowego i nie powoduje niszczenia komórek prezentujących te antygeny.

CELE I METODY IMMUNOTERAPII W ODNIESIENIU DO LECZENIA NOWOTWORÓW

Celami stosowanej immunoterapii (schemat 1) mogą być:

- zmiana liczebności określonych komórek układu odpornościowego;
- zmiana aktywności komórek tego układu;
- wytworzenie elementów nieobecnych w normalnym repertuarze środków obronnych organizmu (na przykład przeciwciał sprzężonych z molekułami o działaniu cytotoksycznym);
- wytworzenie i aktywacja mechanizmów umożliwiających rozpoznawanie nowotworu przez układ odpornościowy.

Formalny podział (CURRIE 1977) wyróżnia cztery rodzaje immunoterapii, czynną, bierną, adoptywną i grupę metod nie mieszczących się w poprzednich kategoriach (tabela 1.). Używany rzadziej termin immunomodulacja określa



wszelkie rodzaje świadomej interwencji z zewnątrz, mającej na celu zmianę własności układu odpornościowego. Bywa on używany zamiennie z wymienionymi powyżej, ale przeważnie jest rezerwowany dla określania działań wywierających bardziej złożony efekt.

Tabela 1

Ogólny podział metod immunoterapii nowotworów według CURRIE (1977), zmodyfikowany przez autora

Rodzaj terapii	Swoista	Nieswoista
Czynna	Szczepionki z komórek nowotworowych bądź uzyskanych z nich antygenów. Komórki nowotworowe poddane manipulacjom genetycznym. Cytokiny podawane doustnie celem poprawy skuteczności immunizacji komórkami nowotworu.	Inne szczepionki, nie zawierające antygenów swoistych dla nowotworu (np. BCG)
Bierna	Swoiste przeciwciała w postaci „naturalnej” lub sprzężone z izotopami promieniotwórczymi lub substancjami cytotoksycznymi.	Typowe składniki surowicy, nie zawierające przeciwciał swoistych dla nowotworu
Adoptywna	Fracje komórkowe o pożądanej aktywności, aktywowane i/lub namnożone <i>in vitro</i> . Komórki układu odpornościowego poddane manipulacjom genetycznym. Cytokiny podawane ogólnie celem zmiany liczebności lub cech komórek układu odpornościowego.	Komórki układu odpornościowego w postaci takiej, w jakiej występują u normalnego osobnika
Inne	Wirusy onkolityczne. Toksyna Coleya.	

NARZĘDZIA PRACY IMMUNOTERAPEUTY

Cytokiny

W ciągu ostatnich kilku lat poznano szereg biologicznie aktywnych substancji zwanych cytokinami. Czynniki te są produkowane przez wiele rodzajów komórek i mają za zadanie przekazywać informację innym komórkom, między innymi należącym do układów krwiotwórczego i odpornościowego. Są to więc pewnego rodzaju „hormony krótkodystansowe” — substancje, które podobnie jak hormony pełnią funkcje regulacyjne, ale w przeciwieństwie do tych ostatnich nie muszą być obecne w całym ustroju, bo przenoszą sygnały pomiędzy komórkami położonymi w bezpośredniej bliskości. Nazwy tych czynników (przy stosunkowo dużym bałaganie panującym w zakresie ich mianownictwa) wywodzą się na ogół od nazw komórek produkujących je i komórek będących adresatem przekazywanych sygnałów. Tak więc wszystkie czynniki przenoszące sygnał pomiędzy izolowanymi komórkami są nazywane cytokinami. Czynniki wytwarzane przez leukocyty to leukokiny, a wytwarzane przez leukocyty i przekazujące sygnał leukocytom to interleukiny. Podobnie można nazywać monokinami czynniki produkowane przez monocyty, limfokinami przez limfocyty i tak dalej. Kłopot z tym, że przeważająca liczba cytokin jest produkowana przez kilka różnych rodzajów komórek.

Praktyczne znaczenie cytokin w immunoterapii nowotworów niepomniernie wzrosło po opanowaniu techniki ich wytwarzania metodami inżynierii genetycznej, co pozwoliło na ich stosowanie jako leków. Do najistotniejszych preparatów w praktyce doświadczalno-klinicznej należą obecnie: interleukiny (IL-2, IL-4,

IL-6, IL-7, IL-10, IL-12), czynniki martwicy nowotworów (TNF- α i TNF- β), granulopoetyny (G-CSF, GM-CSF, M-CSF) oraz interferony (IFN- α , IFN- γ). Cytokiny w immunoterapii nowotworów są wykorzystywane do zmieniania liczby i właściwości komórek układu odpornościowego w układach *in vivo* i *in vitro*, zmieniania właściwości komórek nowotworowych (podawanie doguzowe lub transfekcja genu do komórek pobranych z guza) oraz do bezpośredniego hamowania wzrostu nowotworów.

Antygeny niespecyficzne

Szereg antygenów bakteryjnych, podanych drogą pozajelitową, aktywuje odpowiedź układu odpornościowego również na czynniki inne niż bakterie (między innymi nowotwory). Antygeny te (*Propionibacterium granulosum*, BCG, OK-432) są stosowane jako szczepionki.

Manipulacja genami

Rozwój inżynierii genetycznej umożliwił poznawanie sekwencji genowej znanych cytokin, syntezę genów odpowiedzialnych za ich produkcję i wszczepianie ich „zgodnie z zamówieniem” wybranym komórkom. Pierwsze zastosowanie tej metody w omawianym temacie to transfekowanie komórek bakterii, drożdży lub organizmów wyższych i przemysłowa produkcja cytokin w procesie przypominającym fermentację wina.

Kolejną aplikacją metod inżynierii genowej jest korekta genomu izolowanych uprzednio komórek układu odpornościowego poprzez „wszczepianie” im genów inicjujących syntezę produktów przydatnych do niszczenia nowotworu (na przykład TNF).

Ostatnim wreszcie zastosowaniem inżynierii genetycznej jest modyfikowanie komórek nowotworu poprzez zmuszanie ich do produkcji tych czynników, które zmieniają odpowiedź immunologiczną chorego (transfekcja komórek nowotworowych genami indukującymi syntezę wybranych cytokin).

Komórki nowotworowe

Komórki nowotworu były i są wykorzystywane jako wyjściowy produkt dla modyfikacji odpowiedzi immunologicznej chorego. We wcześniejszym okresie całe komórki bądź ich izolowane frakcje służyły do produkcji szczepionek, a obecnie w tym celu wykorzystuje się produkty manipulacji genetycznej, to znaczy wspomniane już komórki „obdarzone” genem zmuszającym je do produkcji wybranych cytokin.

Komórki układu odpornościowego *in vitro*

Szereg manipulacji, jakim są poddawane komórki układu odpornościowego chorego nie jest możliwych do wykonania *in situ*, to jest w środowisku organizmu pacjenta z powodu efektów ubocznych, jakie wywoływane byłyby przez czynniki stosowane w tym celu. Dotyczy to takich zabiegów, jak indukowanie nowych cech komórek (powstawanie komórek obdarzonych zdolnością spontanicznego niszczenia nowotworu, tak zwanych komórek LAK), manipulacje genetyczne (wspomniana transfekcja genami zmieniającymi antynowotworową aktywność komórek), wreszcie selektywne namnażanie komórek pożądaných dla celów immunoterapii.

Obecny poziom techniczny klinicznych metod separacji komórek z krwi pacjenta pozwala na uzyskiwanie dużej liczby pożądaných komórek w sposób stosunkowo mało uciążliwy i bezpieczny (tak zwany zabieg cytaferazy). Innym źródłem komórek może być szpik chorego lub tkanka odczynu zapalnego otaczającego zmiany nowotworowe (pozyskiwanie tak zwanych komórek TIL, to jest limfocytów nacieku nowotworowego). Stąd też zdobycie wyjściowego materiału dla wspomnianych zabiegów prowadzonych następnie w warunkach *in vitro* nie jest problemem.

IMMUNOTERAPIA CZYNNA

Zgodnie z klasycznym podziałem (CURRIE 1977), jako czynną immunoterapię określano metody oparte na immunizacji pacjenta szczepionkami wytworzonymi z komórek nowotworowych. Do chwili obecnej próby takie są podejmowane, a szczepionki wytworzone z ekstraktów uzyskiwanych z tkanki nowotworu (AAPRO 1993) lub komórek nowotworu połączonych z adiuwantem, to jest czynnikiem wzmagającym ich immunogenność (BEATTY 1992), wykazują pewną chociaż niewystarczającą skuteczność.

Nowe podejście metodyczne stało się możliwe od momentu rozwoju warsztatu biologii molekularnej. Założeniem tej koncepcji jest takie przekształcenie komórek nowotworowych, aby w większym stopniu prowokowały do reakcji układ odpornościowy. Oczywiście manipulacjom może być poddana tylko część komórek, które następnie pełnią rolę szczepionki, „ucząc” układ odpornościowy, jak ma zwalczać pozostałe komórki nowotworu. Praktycznie zmierza się do tego wyposażając uprzednio pobrane od chorego lub zwierzęcia doświadczalnego komórki nowotworu w gen zmuszający je do produkcji określonych cytokin (PARDOLL 1992), na przykład IL-2 (TSAI i współaut. 1993), IL-2 plus IL-4 (OHE i współaut. 1993), IFN- α , IFN- γ (OGASAWARA i ROSENBERG 1993) czy też genów układu zgodności tkankowej (PLAUTZ i współaut. 1993). Transfekowane komórki, po uniemożliwieniu im namnażania, na przykład poprzez napromienienie, są wszczepiane choremu. Najprostszy postulowany efekt leczniczy miałby polegać na wytworzeniu wokół tych komórek dużego stężenia cytokin produkowanych przez transfekowany gen, a cytokiny te z kolei aktywowałyby komórki układu odpornościowego umożliwiając skuteczniejsze niszczenie nowotworu. Szereg obserwacji (OGASAWARA i ROSENBERG 1993, TSANG i współaut. 1993, HILLMAN i współaut. 1994) sugeruje dodatkowy mechanizm polegający na zwiększonej ekspresji różnych, w tym „nowotworowych”, antygenów na powierzchni komórek transfekowanych genami inicjującymi produkcję cytokin. Autorzy cytowanych prac obserwowali nie tylko eliminację genetycznie modyfikowanych komórek nowotworu po ich wszczępieniu zwierzętom doświadczalnym, ale również jednoczesną redukcję masy „natywnego” guza, składającego się z komórek nie posiadających genu indukującego produkcję cytokin. Zaobserwowano również, że transfekowane nie napromienione, a więc zdolne do namnażania komórki nowotworu wykazywały mniejszą zdolność do inicjacji wzrostu nowotworu niż kontrolne komórki tego samego nowotworu, nie poddane uprzednio manipulacji genetycznej (CHAKRAVARTY i współaut. 1992, DOUVDEVANI i współaut. 1992, KATSANIS i współaut. 1994). Pomimo bardzo obiecujących wyników doświadczeń

na zwierzętach, opisana metoda na obecnym etapie rozwoju nie pozwala jednak na radykalne wyleczenie nowotworu niemożliwego do eliminacji metodami konwencjonalnymi.

Podobny efekt zwiększonej ekspresji antygenów na powierzchni komórek nowotworowych osiągnąć można w niektórych przypadkach podawaniem cytokin doguzowo lub ogólnoustrojowo. Opisano (HILL i współaut. 1994) regresję brodawczaka i raka u bydła po doguzowym wstrzykiwaniu IL-2. Podawanie myszom IL-2 i IFN- α wzmagало ekspresję genu odpowiedzialnego za syntezę czynnika martwicy nowotworów (TNF- α) w komórkach raka nerki (SONOUCHI 1994). Zaobserwowano również, że IFN- γ indukował ekspresję antygenów zgodności tkankowej MHC II na komórkach raka pęcherza moczowego, a TNF- α , nie wykazując takiej zdolności, wzmagал intensywność ekspresji na komórkach już prezentujących te antygeny (HAWKYARD i współaut. 1993). Wyniki te sugerują, że niekiedy podawanie cytokin w układzie *in vivo* również może ułatwiać rozpoznawanie nowotworu przez układ odpornościowy gospodarza.

Kolejna metoda wchodząca w zakres czynnej immunoterapii, jaką jest stosowanie szczepionek nieswoistych, nie odnotowała w latach ostatnich większych sukcesów. Poznano lepiej mechanizmy działania dawno stosowanych czynników (na przykład stwierdzono, że BCG aktywuje komórki NK niszczące nowotwór (THANHAUSER i współaut. 1993)). Poznano również bardziej specyficzne metody nieswoistego aktywowania komórek odpornościowych, jak na przykład stymulacja limfocytów T podaniem odpowiednio spreparowanych przeciwciał anty-CD3 (WEDRYCHOWSKI i współaut. 1993). Żadna z tych metod jednak nie poprawia w zasadniczy sposób wyników leczenia nowotworów w warunkach klinicznych.

IMMUNOTERAPIA BIERNA

Klasyczna, historycznie najwcześniejsza metoda polegała (tabela 1.) na podawaniu pacjentowi przeciwciał izolowanych z surowicy zwierząt immunizowanych komórkami nowotworu lub frakcji surowicy zdrowych dawców. Próby takie nie przynosiły istotnych klinicznie korzyści.

Powtórne zainteresowanie stosowaniem przeciwciał w onkologii nastąpiło po opracowaniu metody otrzymywania przeciwciał monoklonalnych. Metoda ta pozwala uzyskiwać praktycznie dowolne ilości przeciwciała skierowanego przeciwko pożądanemu antygenowi, a odpowiednie manipulacje genowe stwarzają możliwość planowania szczegółów jego struktury (PTAK 1987). Przeciwciała monoklonalne nie są co prawda w stanie zniszczyć pierwotnej zmiany nowotworowej, co tłumaczone jest między innymi ich trudnym dostępem do komórek nowotworowych (RIETHMULLER i JOHNSON 1992), ale mogą być wykorzystywane do wykrywania i zwalczania mikroprzerzutów. Skierowane mogą być albo przeciwko specyficznym antygenom nowotworowym, albo receptorom czynników niezbędnych dla proliferacji komórek guza (TAETLE i współaut. 1994). Skuteczność przeciwciał konstruowanych dla zwalczania nowotworów może być dodatkowo zwiększona poprzez sprzęganie ich z chemicznymi związkami cytotoksycznymi lub izotopami promieniotwórczymi, które są w ten sposób wybiórczo koncentrowane w bezpośredniej bliskości komórek nowotworowych (HARTMANN i współaut. 1994). W perspektywie można oczekiwać, że specyficznie konstruo-

wane przeciwciała nie wystarczą co prawda do kompletnego niszczenia nowotworów, ale będą cennym narzędziem uzupełniającym, pozwalającym lokalizować i niszczyć mikroprzerzuty nowotworowe.

IMMUNOTERAPIA ADOPTYWNA

Próby modyfikacji odporności chorego poprzez dożylnie przetaczanie aktywowanych limfocytów lub makrofagów były czynione od stosunkowo długiego czasu. Zakładano, że zwiększanie w ten sposób liczby takich komórek, zdolnych do niszczenia nowotworów, jak komórek NK (SKÓRSKI 1986a) limfocytów cytotoksycznych (SKÓRSKI 1986b) i makrofagów (SKÓRSKI 1985) może spowodować regres choroby. Z uwagi jednak na niewielką liczbę komórek zdolnych do niszczenia nowotworu możliwych do izolowania a następnie przetoczenia choremu, metody te nie dawały istotniejszych korzyści terapeutycznych. Dopiero opublikowane przez GRIMM i współpracowników (1982) obserwacje, wskazujące na istnienie odrębnej populacji tak zwanych komórek LAK (komórki zabijające aktywowane limfokinami) dały początek nowej grupie znacznie skuteczniejszych metod. Komórki LAK rozpoznają i niszczą nowotwory znacznie skuteczniej niż poprzednio wymienione populacje komórek, przy czym nie wymagają uprzedniego „uczenia się” rozpoznawania przeciwnika. Cechą, która czyni z nich wyjątkowo dobre narzędzie immunoterapeuty jest możliwość uzyskiwania dużej ich liczby i aktywowania ich funkcji poprzez inkubację limfocytów *in vitro* z IL-2. Stąd też podstawowym schematem leczniczym była izolacja limfocytów pacjenta, ich inkubacja z IL-2 i „zwracanie” choremu zawiesiny jego komórek znacznie wzbogaconych w populację LAK (ROSENBERG 1984). Wkrótce zaobserwowano, że podawanie choremu IL-2 zwiększa liczbę komórek LAK w jego organizmie, co dało początek metodzie leczenia interleukiną 2 (ROSENBERG i współaut. 1985b) lub połączonemu podawaniu choremu wytworzonych *in vitro* komórek LAK i IL-2 (ROSENBERG i współaut. 1985a). Od tej pory metoda adoptywnej immunoterapii przy wykorzystaniu interleukiny 2 została szeroko rozpowszechniona, a wyniki badań zestawione w szeregu prac przeglądowych (Foa i współaut. 1992, HILLMAN i współaut. 1992, TARTOUR i współaut. 1992, BUBENIK 1993, DIETRICH i współaut. 1993, MAAS i współaut. 1993, OSULLIVAN i LEWIS 1994). Wraz z rozwojem metody wyróżniono inne subpopulacje komórek zdolnych do niszczenia nowotworu (TIL, czyli „limfocyty naciekające guz”, WIL — „limfocyty naciekające ranę”, czy też MAK — „makrofagi przeciwnowotworowe”) (WALLACE i współaut. 1993, DUBINETT i współaut. 1993, CHOKRI i współaut. 1992) oraz znacznie udoskonalono metody pozyskiwania *in vitro* dużej ich liczby (HILLMAN i współaut. 1994). Podjęto również próby uzyskiwania *in vivo* lub *in vitro* komórek LAK przy użyciu innych cytokin stosowanych oddzielnie albo w różnych kompozycjach, na przykład GM-CSF z witaminą D3 (CHOKRI i współaut. 1992), IL-2 z interferonem alfa (KEILHOLZ i współaut. 1994) lub beta (LIBERATI i współaut. 1994), IL-7 (SCHADENDORF i współaut. 1994), oraz IL-2, IL-4, IL-7, IL-10 i IL-12 (LOTZE i współaut. 1992).

Ostatnią wreszcie koncepcją adoptywnej immunoterapii jest modyfikowanie komórek typu TIL poprzez transfekowanie ich genami odpowiedzialnymi za produkcję takich czynników, jak na przykład TNF, które w odpowiednim stężeniu niszczą komórki nowotworowe. Tak modyfikowane komórki, obdarzone zdolno-

ścią naciekania okolicy nowotworu, pełniłyby rolę japońskich kamikadze, dostarczających ładunki wybuchowe na okręty wroga. Podobnie, jak opisana już metoda sprzęgania przeciwciał z izotopami promieniotwórczymi, sposób ten powinien umożliwić uzyskiwanie w otoczeniu nowotworu wysokiego stężenia czynników toksycznych, minimalnie narażając na ich działanie zdrowe komórki chorego.

PODSUMOWANIE

Możliwości ingerencji w funkcje układu odpornościowego zwiększają się proporcjonalnie do pogłębiania znajomości mechanizmów działania tego układu i rozwoju dziedzin „narzędziowych”, na przykład inżynierii genetycznej. Układ odpornościowy samoistnie posiada bardzo ograniczoną zdolność niszczenia komórek nowotworowych. Są one zbyt podobne do komórek prawidłowych, aby uruchamiać mechanizmy obronne oparte na metodzie rozpoznawania antygenów w kategoriach „swój — obcy”. Jednocześnie mechanizmy specyficzne, na przykład aktywność komórek NK nie wystarczają w przypadkach intensywnego rozrostu nowotworowego. Współczesne metody immunoterapii nowotworów zmierzają do:

- uczynienia komórek nowotworowych bardziej „widocznymi” dla układu odpornościowego, na przykład poprzez ich modyfikacje genetyczne lub podawanie cytokin miejscowo w okolicę nowotworu;
- lokalizację i niszczenie mikroprzerzutów za pomocą przeciwciał o odpowiednio zaprojektowanej strukturze;
- wytworzenie *in vitro* lub *in vivo* komórek potrafiących odszukać nowotwór w organizmie chorego i zniszczyć go — w miarę możliwości uzbrojenie tych komórek w bardziej skuteczne mechanizmy niszczące poprzez wszczepienie im odpowiednich genów.

Opisane metody dają obiecujące wyniki w testach *in vitro* i testach na zwierzętach doświadczalnych. Również niektóre doświadczenia kliniczne sugerują korzystne efekty (zmniejszanie masy guza, czasowe cofanie się zmian nowotworowych) uzyskiwane przy zastosowaniu immunoterapii. Do chwili obecnej nie opublikowano jednak przekonujących danych wykazujących możliwość skutecznego wyleczenia choroby nowotworowej metodami immunoterapii w sytuacji, gdy metody konwencjonalne (chirurgia, chemio- i radioterapia) takiego wyleczenia nie umożliwiają. Zważywszy na stosunkowo bardzo krótki okres, przez jaki współczesne metody immunoterapeutyczne są udoskonalane i wdrażane, trudno jednoznacznie prognozować dalszy ich rozwój i przyszłą skuteczność. Wydaje się jednak, że będą one co najmniej cennym leczeniem uzupełniającym, o ile nie jedną z ważniejszych metod terapeutycznych w onkologii.

IMMUNOTHERAPY OF CANCER

The basic methods applied in the cancer immunotherapy are reviewed in the paper. Normally, the patient's immune system possesses a rather poor ability to destroy cancer cells, due to inadequate

recognition of the so-called "tumor antigens". The purpose of immunotherapy is to improve its anticancer activity through:

- application of factors increasing the number and activity of the immune system cells;
- preparation of the immune system for better recognition of neoplastic cells (modification of cancer cells through genetic engineering for vaccination of a cancer patient, local cytokine treatment);
- induction of *ex vivo* production of large quantities of leucocytes capable, when infused into the patient, to recognize and destroy cancer cells, injections of cytokines generating *in vivo* the cancer-killing cells.
- construction of the antibodies and cells which are normally non-existing, specifically prepared for cancer treatment.

Although the present state of the art of immunotherapy does not offer the possibility of a complete cure of cancer patients, this method seems to be a very promising tool for cancer treatment in a not so distant future.

LITERATURA

- AAPRO M. S., 1993. *Advances in systemic treatment of malignant melanoma*. Eur. J. Cancer 29A, 13-617.
- BEATTY J. D., 1992. *Immunotherapy of colorectal cancer*. Cancer 70, 1425-1433.
- BUBENIK J., 1993. *IL-2 and gene therapy of cancer — review*. Int. J. Oncol. 2, 1049- 1052.
- CHAKRAVARTY P. K., FUJI H., ABUHADID M. M., HSU S. C., SOOD A. K., 1992. *Tumorigenicity of interleukin-2 (IL-2)-cDNA-transfected L1210 — lymphoma and its invivo variants in modulated by changes in IL-2 expression — potential therapeutic implications*. Cancer Immunol. Immunother. 35, 347-354.
- CHOKRI M., LOPEZ M., OLERON C., GIRARD A., MARTINACHE C., CANEPA S., SIFFERT J. C., BARTHOLEYNS J., 1992. *Production of human macrophages with potent antitumor properties (MAK) by culture of monocytes in the presence of GM-CSF and 1,25-dihydroxy vitamin-D3*. Anticancer Res. 12, 2257-2260.
- CURRIE G., 1977. *Malignant disease*. [W:] HOLBOROWA E. J., REEVES W. G. (red.). *Immunology in medicine*. Academic Press, Grune and Stratton, 999-1023.
- DIETRICH P. Y., FARACE F., CAIGNARD A., ESCUDIER B., TRIEBEL F., 1993. *Immunotherapy of cancer — current developments and future strategies*. Bull. Cancer 80, 584-600.
- DOUVDEVANI A., HULEIHIL M., ZOLLER M., SEGAL S., APTE R.N., 1992. *Reduced tumorigenicity of fibrosarcomas which constitutively generate IL-1-alpha either spontaneously or following IL-1-alpha gene transfer*. Int. J. Cancer 51, 822- 830.
- DUBINETT S. M., PATRONE L., HUANG M., MARKOWITZ J., MCBRIDE W. H., ECONOMOU J. S., TOBIAS J., KELLEY D., YAN D., SEELIG M., 1993. *Interleukin-2-responsive wound-infiltrating lymphocytes in surgical adjuvant cancer immunotherapy*. Immunol. Invest. 22, 13-23.
- FOA R., GUARINI A., GANSBACHER B., 1992. *IL2 treatment for cancer — from biology to gene therapy*. Br. J. Cancer 66, 992-998.
- GRIMM E. A., MAZUMDER A., ZHANG H. Z., ROSENBERG S. A., 1982. *Lymphokine- activated killer cell phenomenon. Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes*. J. Exp. Med. 155, 1823-1841.
- HARTMANN F., HORAK E. M., GARMESTANI K., WU C. C., BRECHBIEL M. W., KOZAK R. W., TSO J., KOSTEINY S. A., GANSOW O. A., NELSON D. L., WALDMANN T. A., 1994. *Radioimmunotherapy of nude mice bearing a human interleukin 2 receptor alpha-expressing lymphoma utilizing the alpha-emitting radionuclide-conju-gated monoclonal antibody Bt-212-anti-Tac*. Cancer Res. 54, 4362-4370.
- HAWKYARD S. J., JACKSON A. M., PRESCOTT S., JAMES K., CHISHOLM G. D., 1993. *The effect of recombinant cytokines on bladder cancer cells in vitro*. J. Urol. 150, 514-518.
- HILL F. W. G., KLEIN W. R., HOYER M. J., RUTTEN V. P. M. G., KOCK N., KOTEN J. W., STEERENBERG P. A., RUITENBERG E. J., DENOTTER W., 1994. *Antitumor effect of locally injected low doses of recombinant human interleukin-2 in bovine vulval papilloma and carcinoma*. Vet. Immunol. Immunopathol. 41, 19-29.
- HILLMAN G. G., HAAS G. P., WAHL W. H., CALLEWAERT D. M., 1992. *Adoptive immunotherapy of cancer — biological response modifiers and cytotoxic cell therapy*. Biotherapy 5, 119-129.

- HILLMAN G. G., PURI R. K., KUKURUGA M. A., PONTES J. E., HAAS G. P., 1994. Growth and major histocompatibility antigen expression regulation by IL-4, interferon-gamma (IFN-gamma) and tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) on human renal cell carcinoma. *Clwspółaut. Exp. Immunol.* 96, 476-483.
- HILLMAN G. G., WOLF M. L., MONTECILLO E., YOUNES E., ALI E., PONTES J. E., HAAS G. P., 1994. Expansion of activated lymphocytes obtained from renal cell carcinoma in an automated hollow fiber bioreactor. *Cell Transplant.* 3, 263-271.
- HUSSA R. O., SELL W., 1981. Human chorionic gonadotropin as clinical marker: review of its biosynthesis. *Endocr. Rev.* 3, 1.
- KABAWAT S. E., BAST R. C. Jr., BAHAN A. K., Tissue distribution of a coelomic-epithelium-related antigen recognized by the monoclonal antibody OC125. *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2, 275-285.
- KATO H., TORIGOE T., 1977. Radioimmunoassay for tumor antigen of human cervical squamous cell carcinoma. *Cancer* 41, 1621-1628.
- KATSANIS E., ORCHARD P. J., BAUSERO M. A., GORDEN K. B., MCIVOR R. S., BLAZAR B. R., 1994. Interleukin-2 gene transfer into murine neuroblastoma decreases tumorigenicity and enhances systemic immunity causing regression of preestablished retroperitoneal tumors. *J. Immunother.* 15, 81-90.
- KEILHOLZ U., SCHEIBENBOGEN C., STOELBEN E., SAEGER H. D., HUNSTEIN W., 1994. Immunotherapy of metastatic melanoma with interferon-alpha and interleukin-2: pattern of progression in responders and patients with stable disease with or without resection of residual lesions. *Eur. J. Cancer* 30A, 955-958.
- LIBERATI A. M., DEANGELIS V., FIZZOTTI M., SCHIPPA M., CECCHINI M., ADIUTO D., DICLEMENTE F., PALMISANO L., MICOZZI E., ZUCCACCIA M., CINIERI S., 1994. Natural-killer-stimulatory effect of combined low-dose interleukin-2 and interferon beta in hairy-cell leukemia patients. *Cancer Immunol. Immunother.* 38, 323-331.
- LOTZE M. T., ZEH H. J., ELDER E. M., CAI Q., PIPPIN B. A., ROSENSTEIN M. M., WHITESIDE T. L., HERBERMAN R., 1992. Use of T-cell growth factors (interleukin-2, interleukin-4, interleukin-7, interleukin-10 and interleukin-12 in the evaluation of T-cell reactivity to melanoma. *J. Immunother.* 12, 212-217.
- MAAS R. A., DULLENS H. F. J., DENOTTER W., 1993. Interleukin-2 in cancer treatment — disappointing or (still) promising — a review. *Cancer Immunol. Immunother.* 36, 141-148.
- NATHANSON L., FISHMAN W. H., 1971. New observations on the Regan isoenzyme of alkaline phosphatase in cancer patients. *Cancer* 55, 1388-1397.
- OGASAWARA M., ROSENBERG S. A., 1993. Enhanced expression of HLA molecules and stimulation of autologous human tumor infiltrating lymphocytes following transduction of melanoma cells with gamma-interferon genes. *Cancer Res.* 53, 3561-3568.
- OHE Y., PODACK E. R., OLSEN K. J., MIYAHARA Y., OHIRA T., MIURA K., NISHIO K., SAWO N., 1993. Combination effect of vaccination with IL2 and IL4 against Lewis lung carcinoma cells. *Int. J. Cancer* 53, 432-437.
- OSULLIVAN C., LEWIS C. E., 1994. Tumour-associated leucocytes — friends or foes in breast carcinoma. *J. Pathol.* 172, 229-235.
- PARDOLL D., 1992. New strategies for active immunotherapy with genetically engineered tumor cells. *Curr. Opin. Immunol.* 4, 619-623.
- PLAUTZ G. E., YANG Z. Y., WU B. Y., GAO X., HUANG L., NABEL G. J., 1993. Immunotherapy of malignancy by in vivo gene transfer into tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 4645-4649.
- PTAK W., 1987. *Podstawy immunologii*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1987.
- RIETHMULLER G., JOHNSON J. P., 1992. Monoclonal antibodies in the detection and therapy of micrometastatic epithelial cancers. *Curr. Opin. Immunol.* 4, 647-655.
- RITTENHOUSE H. G., MANDERINO G. L., HASS G. M., 1985. Mucin-type glycoproteins as tumor markers. *Lab. Med.* 16, 556-560.
- ROSENBERG S. A., 1984. Adoptive immunotherapy of cancer: accomplishments and prospects. *Canc. Treat. Rep.* 68, 233-255.
- ROSENBERG S. A., LOTZE M. T., MUUL L. M., 1985a. Observations of the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N. Engl. J. Med.* 313, 1485-1492.
- ROSENBERG S. A., MULE J. J., SPIESS P. J., REICHERT C. M., SCHWARZ S. L., 1985b. Regression of established pulmonary metastases and subcutaneous tumor mediated by the systemic administration of high-dose recombinant interleukin 2. *J. Exp. Med.* 161, 1169-1188.
- SCHADENDORF D., BOHM M., MOLLER P., GRUNEWALD T., CZARNETZKI B. M., 1994. Interleukin-7 induces differential lymphokine-activated killer cell activity against human melanoma cells, keratinocytes, and endothelial cells. *J. Invest. Dermatol.* 102, 838-842.

- SKÓRSKI T., 1985. Rola makrofagów, monocytów i granulocytów w zwalczaniu nowotworów. *Post. Biol. Kom.* 12, 185-204.
- SKÓRSKI T., 1986a. Komórki NK i K: Charakterystyka, stymulacja aktywności i rola w zwalczaniu nowotworów. *Post. Biol. Kom.* 13, 51-74.
- SKÓRSKI T., 1986b. Limfocyty B i T: Charakterystyka, stymulacja aktywności i rola w zwalczaniu nowotworów. *Post. Biol. Kom.* 13, 335-358.
- SONOUCHI K., HAMILTON T. A., TANNENBAUM C. S., TUBBS R.R., BUKOSKI R., FINKE J. H., 1994. Chemokine gene expression in the murine renal cell carcinoma, RENCA, following treatment in vivo with interferon-alpha and interleukin-2. *Am. J. Pathol.* 144, 747-755.
- TARTOUR E., MATHIOT C., FRIDMAN W. H., 1992. Current status of interleukin-2 therapy in cancer. *Biomed. Pharmacother.* 46, 473-484.
- TAETLE R., DOSSANTOS B., OHSUGI Y., KOISHIHARA Y., YAMADA Y., MESNER H., DALTON W., 1994. Effects of combined antigrowth factor receptor treatment on in vitro growth of multiple myeloma. *J. Nat. Cancer Inst.* 86, 450-455.
- THANHAUSER A., BOHLE A., FLAD H. D., ERNST M., MATTERN T., ULMER A.J., 1993. Induction of *Bacillus-Calmette-Guerin*-activated killer cells from human peripheral blood mononuclear cells against human bladder carcinoma cell lines invitro. *Immunol. Immunother.* 37, 105-111.
- TSAI S. C. J., GANSBACHER B., TAIT L., MILLER F. R., HEPPNER G. H., 1993. Induction of antitumor immunity by interleukin-2 gene-transduced mouse mammary tumor cells versus transduced mammary stromal fibroblasts. *J. Nat. Cancer Inst.* 85, 546-553.
- TSANG K. Y., KASHMIRI S. V. S., QI C. F., NIERODA C., CALVO B., DEFILIPPI R., GREINER J. W., PRIMUS F. J., SCHLOM J., 1993. Transfer of the IL-6 gene into a human colorectal carcinoma cell line and consequent enhancement of tumor antigen expression. *Immunol. Lett.* 36, 179-186.
- VALDEZ B. C., BUSCH R. K., BUSCH H., 1990. Phosphorylation of the human cell proliferation-associated nuclear protein p120. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 173, 423-430.
- WALLACE P. K., PALMER L. D., PERRYLALLEY D., BOLTON E. S., ALEXANDER R., B., HORAN P. K., YANG J. C., MUIRHEAD K. A., 1993. Mechanisms of adoptive immunotherapy — improved methods for in vivo tracking of tumor-infiltrating lymphocytes and lymphokine-activated killer cells. *Cancer Res.* 53, 2358-2367.
- WEDRYCHOWSKI A., KIM Y. W., CHANG T. W., 1993. Immune enhancers composed of polyvalent binding sites of anti-CD3 antibodies. *Biotechnology* 11, 486-489.
- WU A. H. B., SELL S., 1982. *Markers for hepatocellular carcinoma*. [W:] HERBERMAN R. B., MERCER D. W. (red.) Immunodiagnosis of Cancer, 2nd ed. Marcel Dekker, New York, 403-422.