

Dla celów terapii genowej nowotworów w różnych modelach doświadczalnych i klinicznych ocenia się szeroki repertuar genów terapeutycznych, które można podzielić na 4 grupy: geny przywracające prawidłowe funkcje komórki (takie jak kontrola cyklu komórkowego lub apoptoza, np. p53), geny samobójcze, uczulające komórkę na toksyczne metabolity leków (np. HSVtk), geny pobudzające niszczenie komórek nowotworowych przez układ odpornościowy (należą do nich geny kodujące antygeny nowotworowe, białka HLA, cząsteczki kostumulujące (B-7, 1) lub cytokiny) oraz geny hamujące angiogenezę w guzie. Oprócz testowania różnych genów terapeutycznych w modelach zwierzęcych i badaniach klinicznych I i II fazy, dynamicznie rozwijają się metody dostarczania genów do komórek, ponieważ podstawowym warunkiem skutecznego leczenia choroby nowotworowej jest eliminacja lub kontrola wszystkich komórek klonogennych. Do tej pory podstawowym narzędziem były wektory retrowirusowe, obecnie coraz częściej stosuje się udoskonalone wektory adenowirusowe, retrowirusowe typu C, lentiwirusowe oraz wektory hybrydowe. Udoskonalona się także techniki dostarczania genów do określonych komórek/tkanek docelowych, poprzez stosowanie swoistych tkankowo promotorów. W związku z tym, że obecnie nie ma wektorów umożliwiających dostarczenie genów do wszystkich komórek docelowych, badania koncentrują się na wykorzystaniu lub wzmocnieniu tzw. bystander effect. Efekt ten może mieć charakter lokalny (np. w przypadku terapii genami samobójczymi) lub uogólniony, propagowany przez układ immunologiczny. W Zakładzie Immunologii Nowotworów w Poznaniu prowadzi się od 1996 r. kliniczne badanie II fazy polegające na podawaniu chorym na czerniaka złośliwego z przerzutami modyfikowanych genetycznie, allogenicznych komórek czerniaka. Do komórek nowotworowych wprowadzane są geny interleukiny 6 (IL-6) oraz rozpuszczalnego receptora IL-6 (sIL-6R) przy pomocy dwucistronowego, retrowirusowego wektora podwójnej kopii. W programie jest leczonych ok. 170 chorych. U ok. 20 proc. obserwuje się obiektywną odpowiedź kliniczną, a u dodatkowych 30 proc. stabilizację choroby. Przygotowywana jest nowa generacja wektorów adenowirusowych, które posłużą do doguzowego dostarczania genów. Planujemy rozpoczęcie badań klinicznych I fazy z nowymi nośnikami genów u chorych na czerniaka i raka nerki.

Słowa kluczowe: terapia genowa nowotworów, szczepionki genetycznie modyfikowane.

¹Zakład Radioterapii, Wielkopolskie Centrum Onkologii

²Zakład Immunologii Nowotworów Akademii Medycznej w Poznaniu, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

Terapia genowa nowotworów wyzwaniem XXI wieku

Cancer gene therapy a challenge for the XXI century

Sergiusz Nawrocki¹, Andrzej Mackiewicz²

TERAPIA GENOWA

Rozwój w latach 80. technik biologii molekularnej, takich jak sekwencjonowanie i mapowanie genów, *Southern blot*, PCR oraz coraz lepsza znajomość biologii wirusów umożliwiły skonstruowanie narzędzi umożliwiających dostarczenie wybranych sekwencji DNA (genów) do komórek eukariotycznych. Pierwsze próby kliniczne somatycznej (genetyczna korekcja komórek somatycznych, a nie zarodkowych – plemników, jaja, zygoty) terapii genowej u ludzi zostały zainicjowane w 1989 r. w USA. Na razie ze względów etycznych oraz prawnych (w Europie terapia germinalna u ludzi jest nielegalna) oficjalnie nie prowadzono badań polegających na korekcji genetycznej ludzkich komórek zarodkowych.

Początkowo pojęcie *terapia genowa* oznaczało wprowadzenie do komórki z nieaktywnym lub uszkodzonym genem jego prawidłowej kopii. Tak rozumiana terapia genowa miała przywracać syntezę określonego białka i mogła służyć do leczenia tzw. chorób monogenetycznych, takich jak mukowiscydoza lub hemofilia. Pojęcie terapii genowej jest obecnie znacznie szersze i obejmuje wprowadzenie genów kodujących białka trudne do ogólnoustrojowego podawania, a wydzielane miejscowo, np. w mikrośrodowisku guza. Przykładem mogą być cytokiny stosowane w terapii genowej nowotworów. Innym rodzajem terapii

genowej jest wprowadzanie genów samobójczych, kodujących enzymy uczulające komórkę, do których wprowadzono gen samobójczy, na określony lek, np. przeciwwirusowy gancyklowir. Wreszcie pod pojęciem terapii genowej kryje się również wprowadzanie sekwencji antysensownych, blokujących ekspresję określonych genów.

NARZĘDZIA DO WPROWADZANIA GENÓW

Do wprowadzania genów do komórek stosuje się różne metody. Rozwój technologii transferu genów jest jednym z priorytetowych zadań terapii genowej, ponieważ jak do tej pory jednym z głównych czynników ograniczających jej zastosowanie i skuteczność jest brak odpowiednich nośników genów, które umożliwiałyby wprowadzenie genu terapeutycznego do wszystkich lub prawie wszystkich komórek docelowych w sposób wysoce wybiórczy, np. tylko do komórek nowotworowych. W terapii genowej stosuje się metody fizyczne, takie jak elektroporacja lub bezpośrednie wstrzyknięcie *gołego* (*naked*) lub oplotzonego DNA na kuleczkach złota wstrzykniętych w tkankę przy pomocy *gene gun*'u. Metody chemiczne wykorzystują zmianę przepuszczalności błony komórkowej dla makromolekuł pod wpływem związków kationowych lub zdolność wnikania liposomów (z zapakowanym genem terapeutycznym) do wnętrza komórek.

Tab. 1. Liczba prowadzonych badań i liczba leczonych chorych (lub zdrowych ochotników) w zależności od kategorii chorób i rodzaju terapii genowej (na podstawie Wile&Sons Inc Publishers, <http://www.wiley.co.uk>)

Rodzaj terapii genowej	Protokół		Pacjenci	
	liczba	proc.	liczba	proc.
terapia genowa nowotworów	252	63,6	2 269	69,2
<i>gene marking</i> ¹	41	10,4	227	6,9
zdrowi ochotnicy	2	0,5	6	0,2
choroby zakaźne	33	8,3	412	12,6
choroby monogenetyczne	53	13,4	298	9,1
inne	15	3,8	66	2
suma	396	100	3 278	100

¹gene marking polega na wprowadzeniu genu wskaźnikowego, tzn. nieterapeutycznego, umożliwiającego np. śledzenie dystrybucji zmodyfikowanych komórek w organizmie chorego

Genes used in human cancer gene therapy may be classified into four groups: genes restoring control of the cell cycle and apoptosis (i.e. p53), suicide genes, sensitising the cell for toxic metabolites (i.e. HSVtk (HSV thymidine kinase), genes promoting elimination of cancer cells by immune system (such as: genes encoding tumour antigens, HLA proteins, co-stimulatory molecules (B-7.1) and cytokines), genes interfering with tumour angiogenesis. As well as testing of therapeutic genes in animals' models and in clinical trials, gene therapy develops tools for genes' delivery because only elimination of every clonogenic cancer cell assures the full control of cancer. So far retroviral vectors were used in most of clinical trials. Nowadays, adenoviral II-generation vectors, retroviral-C vectors, lentiviral and hybrid vectors are introduced. Targeting gene expression to a specific tissue or cell population is also possible. Since currently used tools for gene transfer are not able to deliver the therapeutic gene to every tumour cell, bystander effect is explored and enhanced. In the Department of Cancer Immunology in Poznań since 1996 we have vaccinated 170 patients with advanced melanoma with cellular vaccine genetically modified with IL-6 and sIL-sR genes using double copy dicistronic retroviral vector. We have observed clinical responses in about 20% of patients and stable disease in 30% of patients. Now we are preparing a new generation of adenoviral vectors, which will be used for intratumoural gene therapy of melanoma and renal cell carcinoma patients.

Key words: cancer gene therapy, genetically modified tumor vaccines.

Najszerzej stosowanymi i najnowocześniejszymi narzędziami w terapii genowej są wektory wirusowe. W przypadku modyfikacji komórek poza organizmem chorego (*ex vivo*) najczęściej stosuje się retrowirusy. Nośniki retrowirusowe wywodzą się od wirusa mysiej białaczki Moloney (MoMLV). Wirus MoMLV jest retrowirusem w otoczcze zdolnym do infekowania wielu dzielących się komórek. Z oryginalnego genomu wirusa usunięto sekwencję *gag-pol-env*, które można zastąpić dowolnymi genami o długości do 8,5 kb. W produkcji wektorów wykorzystuje się tzw. komórki pakujące, które mają wirusowe sekwencje *gag-pol-env in trans*, umożliwiające produkcję otoczki wirusa. Po zainfekowaniu komórki dzielącej się, retrowirus przepisuje swoje RNA na DNA (odwrotna transkrypcja), które następnie zostaje wbudowane do komórki docelowej w przypadkowym miejscu jej genomu i zapewnia stałą ekspresję genu terapeutycznego. Do modyfikowania komórek *in vivo* obecnie najczęściej stosuje się adenowirusy: umożliwiają one osiągnięcie wysokich mian wirusa (>10¹¹ p.f.u./ml), co jest warunkiem wprowadzenia genu do wysokiego odsetka komórek docelowych *in vivo*. Podstawową cechą różniącą wektory oparte na adenowirusach od nośników retrowirusowych jest możliwość dostarczania genów do komórek nie będących w trakcie cyklu podziałowego. Wektory adenowirusowe pierwszej generacji wywoływały silną odpowiedź immunologiczną ze strony organizmu, co znacznie ograniczało ich skuteczność i wiązało się ze zwiększoną toksycnością. Ich minusem była również niewielka pojemność. Obecnie skonstruowano III generację wektorów adenowirusowych, z których usunięto ich własne geny strukturalne (tzw. wektory *gutless helper dependent*), znacznie zwiększając pojemność (do 37 kb), a także zmniejszono ich immunogenność poprzez usunięcie genów E2a i E4. Cechą wektorów nowej generacji jest również zdolność do częściowej integracji z genomem infekowanych komórek. Wektory *adeno-associated* (AAV) cechują się niewielką pojemnością i zdolnością do episomalnego (pozachromosomalnego) replikowania materiału genetycznego i jednoczesnego integrowania wprowadzonego materiału genetycznego z DNA komórki gospodarza. Początkowo wektory AAV zawierały *zanieczyszczenia* w postaci immunogennych cząsteczek adenowirusów koniecznych do pakowania AAV. Obecnie opracowano techniki umożliwiające oczyszczenia wektorów AAV. W terapii genowej wykorzystuje się również wirusy opryszczki pospolitej (HSV-1): wykazują one tropizm do komórek układu nerwowego, co umożliwia tkankowo-swoistą ekspresję genów terapeutycznych.

Ostatnio jako wektory wykorzystuje się lentiwirusy oparte na wirusie HIV. Ich podstawową cechą jest zdolność do trwałego integrowania materiału genetycznego z genomem komórek nie dzielących się. Posiadają one również unikalny potencjał do

transdukowania wczesnych, macierzystych komórek szpiku CD34+, co stwarza ciekawą perspektywę, gdyż komórki macierzyste szpiku są zdolne w określonych warunkach różnicować się nie tylko w kierunku linii komórek hematopoetycznych, ale również w kierunku innych tkanek, np. komórek mięśniowych lub nerwowych. Obawy związane ze stosowaniem wektorów opartych na HIV są nieuzasadnione, ponieważ wektory te są odpowiednio modyfikowane, a w niedalekiej przyszłości problem ten zostanie pominięty, np. poprzez zastosowanie wektorów opartych na niepatogennych dla człowieka wirusach FIV – kociego nabytego niedoboru odporności (koty również chorują na AIDS). Stworzenie idealnego nośnika wirusowego jest również bliższe, ponieważ możliwe stało się konstruowanie wektorów hybrydowych, tzn. chimer wykorzystujących fragmenty, a tym samym cechy różnych wirusów. Do tej pory nośniki wirusowe stosowane w terapii genowej nie były w stanie replikować *in vivo* – był to podstawowy warunek związany z bezpieczeństwem ich stosowania. Obecnie uważa się, że aby skutecznie wprowadzić gen do większości komórek guza nowotworowego, konieczne będzie użycie nośników replikujących *in vivo*. Prototypowym wektorem posiadającym zdolność do replikacji jest adenowirusowy ONYX-015, który wybiórczo infekuje komórki z brakiem funkcjonalnego genu p53. ONYX-015 nie jest właściwie wektorem *sensu stricto*, ponieważ w przeprowadzonych do tej pory badaniach I i II fazy nie był nośnikiem żadnego genu terapeutycznego, ale powodował lizę komórek docelowych, co jest cechą cyklu proliferacyjnego adenowirusów. Obecnie przygotowuje się ONYX-015 z genami terapeutycznymi, co w połączeniu z efektem litycznym jest bardzo obiecujące w przypadku terapii genowej nowotworów.

Ważnym zagadnieniem związanym z nośnikami genów jest celowana ekspresja genów (*targeted gene therapy*) w wybranych tkankach docelowych. Idealny wektor do celowanej terapii genowej po podaniu ogólnoustrojowym powinien transdukować tylko wybrane komórki (przerzuty nowotworowe). Musi być trwały i nieimmunogenny, aby nie został wyeliminowany przed wypełnieniem swojej misji. Dodatkowo musi posiadać zdolność do przejścia bariery krew-guz. Celowana terapia genowa jak do tej pory opiera się na 2 podstawowych strategiach:

- ▶ receptorach swoistych powierzchniowo,
- ▶ swoistych tkankowo promotorach genów.

Wykorzystuje się obecność swoistych powierzchniowych proteaz nowotworowych, mających służyć jako receptor dla nośników retrowirusowych. W przypadku adenowirusów celowana ekspresja genu oparta na antygenach powierzchniowych jest również możliwa. Swoiste tkankowo promotory zapewniają ekspresję genu terapeutyczne-

go tylko w wybranych tkankach lub komórkach – ich zastosowanie jednak oznacza nie tyle większą efektywność transferu genów (większy odsetek zainfekowanych komórek docelowych), co raczej większe bezpieczeństwo, tzn. ograniczenie ekspresji genu do wybranych tkanek.

STRATEGIE STOSOWANE W TERAPII GENOWEJ NOWOTWORÓW

Terapia genowa nowotworów opiera się obecnie na kilku podstawowych strategiach. Podstawowa, polegająca na przywróceniu kontroli nad cyklem komórkowym i apoptozą, wciąż pozostaje w sferze marzeń ze względu na niedoskonałość stosowanych wektorów. Do komórek nowotworowych wprowadza się geny powodujące apoptozę, np. p53. Ekspresja niezmutowanego genu p53 zwiększa również radiowrażliwość i chemiowrażliwość komórek nowotworowych. Podstawowym mankamentem tej strategii jest konieczność korekcji genetycznej wszystkich komórek klonogennych w guzie, w przeciwnym razie prędzej czy później dochodzi do proliferacji klonu niezmodyfikowanego genetycznie i odrostu guza.

Innym sposobem uśmiercenia komórki nowotworowej jest zastosowanie tzw. genów samobójczych. Są to geny kodujące enzymy normalnie nie występujące w ludzkich komórkach, takie jak kinaza tymidynowa wirusa opryszczki pospolitej. Wprowadzenie kinazy tymidynowej do komórki eukariotycznej uwalnia ją na gancyklowir, który powoduje zaburzenie replikacji DNA, a tym samym uniemożliwia proliferację zmodyfikowanych komórek. Oprócz genu kinazy tymidynowej wykorzystuje się obecnie kilka innych genów samobójczych, takich jak: deaminazę cytozyny, działającą na podobnej zasadzie jak kinaza tymidynowa lub enterotoksynę gronkowcową. Ograniczenia tej strategii są podobne jak w przypadku korekcji genetycznej komórek nowotworowych – do skutecznego wyeliminowania guza konieczne jest samobójstwo wszystkich komórek klonogennych. Z pomocą przychodzi tutaj tzw. efekt *bystander* polegający na przedostawaniu się toksycznego metabolitu z komórki zmodyfikowanej genetycznie do komórek sąsiadujących przez połączenia komórkowe typu *gap-junction*, aczkolwiek zjawisko to ma ograniczony zasięg.

Celem większości prób klinicznych terapii genowej nowotworów jest obecnie pośrednie eliminowanie komórki nowotworu poprzez pobudzenie nieswoistych i swoistych mechanizmów efektorowych układu immunologicznego. Prototypowym nowotworem, który jest najczęściej celem immunoterapii genowej jest czerniak złośliwy. Scharakteryzowanie w latach 90. szeregu swoistych antygenów czerniakowych (MAGE-1, MAGE-3, MART-1, gp-100, tyrozynaza i inne), jak również doniesienia o spontanicznych remisjach zaawansowanego czerniaka przypisywanych nadzorowi im-

Tab. 2. Liczba prowadzonych badań i chorych w zależności od techniki wprowadzania genów do komórek (na podstawie Wiley&Sons Inc Publishers, <http://www.wiley.co.uk>)

Wektor	Protokół liczba	Chorzy proc.	Chorzy liczba	proc.
<i>adeno-associated</i> wirus (AAV)	3	0,8	36	1,1
adenowirus	71	17,9	437	13,3
elektroporacja	2	0,5	20	0,6
<i>gene gun</i>	4	1	35	1,1
wirus <i>Herpes</i>	1	0,3	0	0
lipofekcja	73	18,4	735	22,4
lipofekcja/AAV	2	0,5	0	0
lipofekcja/adenowirus	1	0,3	3	0,1
<i>goły</i> DNA	16	4	69	2,1
poxwirus	26	6,6	130	4
komórki produkujące retrowirusy	20	5,1	408	12,4
retrowirus	158	39,9	1 217	37,1
retrowirus/ <i>gene gun</i>	1	0,3	6	0,2
RNA transfer	1	0,3	30	0,9
inne rodzaje transfekcji	7	1,8	101	3,1
nie określone	9	2,3	51	1,6
suma	395	100	3 278	100

munologicznemu są odpowiedzialne za fakt, że chorzy na czerniaka stanowią obecnie większość pacjentów leczonych w badaniach I i II fazy z użyciem modyfikowanych genetycznie szczepionek przeciwnowotworowych. Do komórek nowotworowych (lub profesjonalnych komórek prezentujących antygeny, takich jak komórki dendrytyczne) wprowadza się geny kodujące antygeny nowotworowe, geny kodujące białka głównego kompleksu zgodności tkankowej klasy I, geny kodujące cząsteczki kostymulujące (np. B7.1), które są konieczne do aktywacji naiwnych limfocytów cytotoksycznych (limfocytów, które po raz pierwszy stykają się ze swoistym dla nich antygenem) lub geny kodujące cytokiny. Cytokiny wydzielane do mikrośrodowiska guza mają za zadanie przełamać tolerancję na swoiste antygeny nowotworowe i pobudzić cytotoksyczne limfocyty T i komórki NK do niszczenia przerzutów nowotworowych. Najczęściej stosowane cytokiny to IL-2, GM-CSF, IL-12, INF-gamma, IL-4 i IL-7.

Najmłodsza strategia terapii genowej jest związana z entuzjazmem towarzyszącym odkryciu czynników regulujących angiogenezę w guzie. Warunkiem wzrostu guza nowotworowego jest wytworzenie własnej sieci naczyń krwionośnych. Migracja komórek endotelium w guzie może być zahamowana poprzez zaburzenie funkcji proteaz. Jednocześnie brak proteaz produkowanych przez komórki nowotworowe będzie uniemożliwiał osiedlenie się komórek w nowych miejscach i formowanie kolejnych przerzutów. Identyfikacja naturalnych substancji hamujących angiogenezę, takich jak angiostatyna i endo-

statyna, otworzyła drogę do szeregu badań mających na celu zapewnienie ekspresji ich genów w tkance nowotworowej.

WYNIKI BADAŃ KLINICZNYCH Z ZAKRESU TERAPII GENOWEJ NOWOTWORÓW

Do tej pory większość badań ma charakter doświadczalny. Są one prowadzone *in vitro* lub w modelach zwierzęcych. Badania kliniczne znajdują się w I lub II fazie. Oceniana jest toksyczność i bezpieczeństwo stosowanych metod terapii genowej, jak również wyniki kliniczne w postaci oceny obiektywnych odpowiedzi klinicznych w małych grupach chorych. Są już prowadzone pierwsze badania kontrolowane III fazy, jednak na ich wyniki będą znane za kilka lat. Wybrane wyniki badań I i II fazy przedstawiono w tab. 3.

DOTYCHCZASOWE WYNIKI AUTORÓW Z ZAKRESU IMMUNOTERAPII GENETYCZNEJ CZERNIAKA ZŁOŚLIWEGO

Od stycznia 1996 r. w Zakładzie Immunologii AM w Wielkopolskim Centrum Onkologii w Poznaniu prowadzone jest badanie kliniczne I/II fazy, polegające na immunizacji chorych na czerniaka złośliwego w III i IV stopniu wg AJCC przy pomocy modyfikowanej genetycznie szczepionki komórkowej. Szczepionka składa się z komórek autologicznych czerniaka, wyizolowanych ze zmian usuniętych chorym zmieszanych z komórkami allogenicznymi, utrzymywanych w hodowli komórkowej. Komórki alloge-

Tab. 3. Wyniki terapii genowej nowotworów – badania I/II fazy

Typ nowotworu	Wektor	Gen	Faza badania	Liczba chorych	Odpowiedź kliniczna (stabilizacja)	Autor i publikacja
czerniak	liposomy	HLA-B7	I	5	1	Nabel GJ i wsp., Proc Natl Acad Sci USA, 1993
rak jelita grubego – przerzuty do wątroby	liposomy	HLA-B7	I	15	6	Rubin J i wsp., Hum Gene Ther 1994
czerniak	liposomy	HLA-B7	I	17	7	Stopeck AT i wsp., J Clin Oncol 1997
czerniak	liposomy	HLA-A2, HLA-B13, H-2K (mysi MHC)	I/II	19	8	Hui KM i wsp., Gene Ther 1997
jajnik	retrowirus	BRCA-1	I	12	3	Tait DL i wsp., Clin Cancer Res 1999
glejak wielopostaciowy	retrowirus	kinaza tymidynowa	II	10	1 (5)	Weber F i wsp., J Mol Med. 1997
białaczka (kontrola GVHD)	retrowirus	kinaza tymidynowa	I	8	5	Bonini C i wsp., Science 1997
nowotwory lite	komórki Vero	IL-2	I	9	1 (4)	Stewart AK i wsp., Gene Ther 1999
czerniak	gene gun	IL-12	I	6	1 (3)	Sun Y i wsp., Gene Ther 1998
czerniak	retrowirus	IL-7	I			Moller P i wsp., Br J Cancer 1998
czerniak	retrowirus	IL-4	I	12	(2)	Arienti F i wsp., Hum Gene Ther 1999
rak nerki	liposomy	HLA-B7	I	14	0	Rini BI i wsp., Clin Cancer Res 1999
czerniak	retrowirus	GM-CSF	I	5	1	Chang AE i wsp., Hum Gen Ther 2000

niczne zmodyfikowano genetycznie poprzez wprowadzenie do nich genów interleukiny-6 i agonistycznego rozpuszczalnego receptora interleukiny-6. Geny wprowadzono, wykorzystując dwucistronowy, retrowirusowy wektor podwójnej kopii. Mieszanina komórek szczepionki jest każdorazowo napromieniana dawką 100 Gy w celu pozabawienia komórek nowotworowych zdolności do proliferacji oraz dalszego zwiększenia ich immunogenności. Szczepionka jest podawana początkowo 4 razy co 2 tyg., następnie 3 razy co miesiąc, po czym w zależności od reakcji chorego dalej co miesiąc lub co 2 mies. Do końca 1999 r. szczepionkę otrzymało 105 chorych. U 32 chorych z oczekiwanym czasem przeżycia krótszym niż 4 mies. badano toksyczność preparatu. Objawy uboczne miejscowe oraz ogólne były minimalne i u żadnego z chorych nie spowodowały przerwy w leczeniu (Mackiewicz A., Adv Exp Med Biol 1998). Pozostałych 73 chorych włączonych do programu rokowało dłuższe przeżycie:

- ▶ 18 chorych było leczonych krócej niż przez 6 mies.,
- ▶ 14 chorych leczono po usunięciu makroskopowych zmian przerzutowych,
- ▶ pozostała grupa 41 chorych podlegała ocenie klinicznej skuteczności stosowanej szczepionki:
 - u 22 chorych (54 proc.) zaobserwowano odpowiedź na leczenie, zdefiniowaną jako stabilizacja, całkowita lub częściowa remisja zmian przerzutowych,

- u 5 chorych (12 proc.) stwierdzono całkowitą remisję,
- u 4 (10 proc.) częściową remisję,
- u 13 (32 proc.) stabilizację choroby,
- u 19 chorych (46 proc.) stwierdzono progresję choroby.

Regresję zmian obserwowano w przypadku przerzutów do skóry, węzłów chłonnych, płuc. Regresja trwała od 3 do 21+ mies. U kilku chorych zaobserwowano wykładniki reakcji autoimmunologicznej w postaci odbarwień skóry (*vitiligo*) i regresji znamion barwnikowych, zmiany zabarwienia i ciepłoty badanych zmian przerzutowych świadczące o nacieku komórek układu immunologicznego, co zostało potwierdzone w badaniach immunohistochemicznych wycinków pobranych ze zmian przerzutowych. U chorych stwierdzono również wykładniki aktywacji odpowiedzi immunologicznej w badaniach *in vitro*. Stwierdzono wzrost aktywności komórek CTL i NK, a także wzrost stosunku Th1/Th2 świadczące o aktywacji swoistej komórkowej odpowiedzi przeciwczerniakowej. Otrzymane wyniki wskazują, że stosowana szczepionka jest bezpieczna, jej podawanie wiąże się z minimalnymi objawami ubocznymi, jest zdolna do wywołania odpowiedzi immunologicznej przeciwko komórkom czerniaka i u około połowy leczonych chorych wykazuje działanie kliniczne. Obecnie planowane są wieloosrodkowe badanie III fazy, a także rozpoczęcie badań I fazy z nowymi nośnikami w raku nerki i czerniaku złośliwym.

PIŚMIENNICTWO U AUTORÓW

ADRES DO KORESPONDENCJI

prof. dr hab. n. med. **Andrzej Mackiewicz**
Zakład Immunologii Nowotworów
Akademii Medycznej
Wielkopolskie Centrum Onkologii
ul. Garbary 15
61-866 Poznań

Praca częściowo finansowana z grantu KBN
4P05B13514.