

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **037056**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2021.01.29

(51) Int. Cl. **A61K 39/00** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(21) Номер заявки
201790709

(22) Дата подачи заявки
2015.04.15

**(54) КСЕНОГЕННЫЕ ВАКЦИНЫ, ПОЛУЧЕННЫЕ ИЗ ЗДОРОВЫХ ТКАНЕЙ,
ДЛЯ ПРЕОДОЛЕНИЯ ИММУННОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ В ОТНОШЕНИИ
ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ АНТИГЕНОВ**

(31) 2014 112

(32) 2014.09.26

(33) LT

(43) 2017.10.31

(86) PCT/IB2015/052738

(87) WO 2016/046651 2016.03.31

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
УАБ "ИННОВИТА РЕСЁРЧ" (LT)

(72) Изобретатель:
**Селедцов Виктор И., Селедцова
Галина В. (RU), Даринскас Адас (LT)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(56) DATABASE WPI Week 200314
Thomson Scientific, London, GB; AN 2003-146337
XP002742742, & RU 2 192 884 C2 (AS MED
SIBE CLINICAL IMMUNOLOGY RES INST) 20
November 2002 (2002-11-20) abstract

BREWER B.G. ET AL.: "Embryonic vaccines
against cancer: An early history", EXPERIMENTAL
AND MOLECULAR PATHOLOGY, ACADEMIC
PRESS, US, vol. 86, no. 3, 1 June 2009 (2009-06-01),
pages 192-197, XP026096504, ISSN: 0014-4800,
DOI:10.1016/J.YEXMP.2008.12.002 [retrieved on
2009-01-06], page 194, column 2, last paragraph -
page 195, column 1, paragraph 2

WO-A2-2007106576
AMBROSE K.R.; ANDERSON N.G.;
COGGIN J.H.: "Interruption of SV40 oncogenesis
with human foetal antigen.", NATURE, vol. 233, no.
5316, 1 January 1971 (1971-01-01), pages 194-195,
XP055204856, United Kingdom ISSN: 0028-0836,
DOI: 10.1038/233194a0, the whole document

(57) Описана противоопухолевая вакцина, содержащая тестикулярные и полученные из ткани плода компоненты. Клеточные препараты получают из здоровых тканей, взятых непосредственно из животных. Такие вакцины можно применять для лечения и предотвращения различных раков. Например, было обнаружено, что вакцина, содержащая обработанные глутаральдегидом клетки, полученные из семенников и легкого плода овцы, эффективна при индуцировании противоопухолевых клеточных ответов, а также при увеличении выживаемости мышей с раком легких.

B1**037056****037056****B1**

Область техники

Настоящее изобретение относится к ксеногенным полиантигенным противоопухолевым вакцинам и более конкретно к вакцинам, содержащим как гетерогенные (общие), так и тканеспецифичные, дифференцировочные антигены, полученные из здоровых (неопухолевых) тканей. Вакцины могут быть подходящими для лечения и предотвращения рака.

Уровень техники

В настоящее время системное лечение рака основывается главным образом на применении химиотерапии. Однако в большинстве случаев химиотерапия не является радикальным средством для лечения. В первоначально выявленных опухолях уже существуют клетки, которые устойчивы к действию токсического лекарственного средства вследствие своих биохимических свойств. Кроме того, доля таких клеток постепенно увеличивается в течение всего периода лечения, поскольку они получают селективные преимущества роста по сравнению с цитотоксическими клетками, восприимчивыми к лекарственным средствам. Следует также отметить, что цитотоксическое действие противоопухолевых лекарственных средств не является селективным: указанные лекарственные средства воздействуют не только на опухоль, но и на здоровые клетки. Следовательно, существует потребность в получении лекарственных средств с селективной цитотоксической активностью.

Опухолевые клетки отличаются от здоровых количественной и качественной экспрессией на их поверхностях потенциально иммуногенных структур (антигенов). Общепринято, что иммунные ответы, вызванные этими структурами, могут вызывать разрушение опухолевых клеток и что реактивность иммунной системы может определять исход заболевания. Все опухолеассоциированные антигены (ТАА) можно разделить на две группы: первая включает в себя дифференцировочные антигены, экспрессия которых может осуществляться не только в опухолевых, но и в здоровых клетках, тогда как вторая содержит продукты мутированных или вирусных генов, экспрессия которых осуществляется исключительно в злокачественных клетках. Подавляющее большинство ТАА относится к первой группе. Экспрессия некоторых из ТАА в этой группе, например раково-тестикулярных антигенов (СТА), может осуществляться во множестве опухолей вследствие общности внутриклеточных механизмов, участвующих в малигнизации различных типов клеток. Другие ТАА (например, онкофетальные антигены) определяются типом опухоли и главным образом представлены тканеспецифичными, дифференцировочными антигенами (рассмотрено Strioga и др., 2014). У взрослого организма экспрессия СТА обычно осуществляется только в органах с иммунной привилегией, включая семенники и плаценту, и они могут ошибочно экспрессироваться в раковых клетках. Например, в теле взрослого организма экспрессия продуктов семейств генов MAGE, BAGE, GAGE и некоторых других главным образом происходит в семенниках, а не в других тканях и органах. С другой стороны, многие типы опухолей могут экспрессировать данные СТА (рассмотрено Fratta и др., 2011). СТА обладают высоким иммуногенным потенциалом, поскольку они "неизвестны" иммунной системе и, следовательно, не переносятся. Экспрессия онкофетальных антигенов может нормальным образом осуществляться при очень низких уровнях в здоровых тканях (например, альфа-фетопротеин в печени), и их гиперэкспрессия может происходить при некоторых раковых заболеваниях или при различных незлокачественных патологиях. Гиперэкспрессированные онкофетальные антигены являются менее иммуногенными, нежели СТА (Strioga и др., 2014).

Следует отметить, что иммунизация одним или несколькими опухолеассоциированными антигенными пептидами часто не контролирует общее развитие опухоли, создавая благоприятные условия для роста клонов опухолевых клеток, не содержащих вакцинных детерминант. Более того, вследствие высокой лабильности генома рака существует антигенное разнообразие даже в опухолевых клетках одного и того же происхождения (рассмотрено Khong HT, Restifo NP., 2002).

Поскольку цельные опухолевые клетки экспрессируют различные ТАА и способны вызывать широкий спектр иммунных реакций, они могут быть более применимы для конструирования вакцин против рака по сравнению с одиночными или всего лишь несколькими антигенными пептидами. Более того, антигенные клеточные частицы обычно значительно более иммуногенны по сравнению с растворимыми антигенными пептидами вследствие их способности полностью фагоцитироваться профессиональными антиген-презентирующими клетками, способными к презентации идентичных, полученных из клеток пептидов в сочетании с молекулами главного комплекса гистосовместимости (ГКГ) при плотности, достаточной для запуска Т-клеточных ответов.

Разработаны различные типы вакцин на основе опухолевых клеток. Аутологичные (полученные из опухолевых клеток одного и того же индивидуума) и аллогенные (полученные из опухолевых клеток другого индивидуума того же вида) цельноклеточные вакцины, а также вакцины на основе дендритных клеток, применяли для индукции специфичных противоопухолевых иммунных ответов (de Gruijl и др., 2008; Itoh и др., 2009). Тем не менее, иммунизация с немодифицированными гомологичными (аутологичными или аллогенными) опухолевыми клетками продемонстрировала лишь ограниченный терапевтический эффект у пациентов с раком. Существует две основные причины низкой иммуногенности гомологичных клеточных вакцин. Во-первых, как упоминалось выше, большинство ТАА представляют собой аутоантигены, которые по своей природе не являются иммуногенными. Во-вторых, антиген-презентирующие клетки не распознают гомологичные опухолевые клетки как потенциально патогенные

мишени, которые должны быть интернализированы, а их антигены обработаны (Khong HT, Restifo NP, 2002). Соответственным образом, преодоление иммунной толерантности в отношении ТАА является главной целью иммунотерапии рака.

Определенные подходы были предприняты для повышения иммуногенности аутологических или аллогенных вакцин против рака на основе генетических модификаций вакцинных клеток, что делает их поверхностно-экспрессирующими костимулирующими молекулами и/или секретирующими иммуностимулирующими цитокинами (de Gruijl и др., 2008; Andersen и др. 2008). Однако все эти виды модификаций трудно реализовать в клинической практике, так как модификация опухолевых клеток технически сложна и занимает много времени (рассмотрено Parmiani и др., 2011).

Для преодоления иммунной толерантности в отношении гомологичных собственных ТАА было предложено использовать ксеногенные ТАА. Действительно, с эволюционной точки зрения многие гены являются высококонсервативными с различной степенью сходства у разных видов. Тем не менее, небольшие межвидовые структурные различия могут придавать повышенную иммуногенность ксенопротеинам и обеспечивать выраженную иммунную перекрестную реактивность, направленную против их гомологичных аналогов. Фактически, ксеноантигены, возможно, могут представлять собой "измененное свое", с достаточными отличиями от аутоантигенов, чтобы обладать свойством иммуногенности, однако с достаточными сходствами для того, чтобы реактивные Т-клетки сохраняли способность к распознаванию "своего" (рассмотрено Seledtsov и др., 2011; Strioga и др., 2014). Существуют доказательства того, что ксеноэпитопы могут сильнее связывать молекулы ГКГ хозяина, чем те эпитопы, которые получены из нативных гомологичных белков, в результате чего образуются более устойчивые комплексы вида ксеногенный пептид/ГКГ. В конечном итоге это приводит к более эффективным индуцированным ксеноантигенами Т-клеточным ответам, перекрестно-реактивным с ТАА, полученными из собственных белков (Overwijk и др., 1998).

Большинство исследований, касающихся ксеногенных вакцин, проводили на животных с меланомой, опухолью, которая экспрессирует целый ряд потенциально иммуногенных антигенов. Существует убедительное доказательство того, что ксеногенные антигены, ассоциированные с меланомой, гораздо более эффективны при индуцировании противоопухолевых иммунных ответов у мышей, чем их мышинные аналоги. Например, сообщалось о том, что множественные иммунизации мышей гликопротеинами gp75 и gp-100 человека эффективны в предотвращении роста сингенных клеток меланомы, экспрессирующих соответствующие мышинные аналоги (Overwijk и др., 1998; Weber и др., 1998). Об иммуногенных и противоопухолевых эффектах ксеновакцинации также сообщали при экспериментальных моделях гепатоцеллюлярной карциномы, глиомы, нейробластомы, рака толстой кишки и карциномы легких. Было обнаружено, что вакцинотерапия способна образовывать специфичные к опухоли CD4+ и CD8+ Т-лимфоциты, а также противоопухолевые антитела (рассмотрено Strioga и др., 2014).

Также накапливаются данные, указывающие на возможности применения в терапии противоопухолевой ксеновакцинации у людей. Например, сообщалось, что вакцина, состоящая из клеток меланомы и карциномы мыши, а также клеток семенника свиньи, иммунологически и клинически эффективна у определенных пациентов с меланомой и колоректальным раком (патент RU 2192884 C2). Опубликованные результаты свидетельствуют о том, что ксеногенные вакцины безопасны в применении, способны индуцировать измеримые клеточные и гуморальные иммунные ответы у пациентов и могут служить эффективным средством для лечения меланомы, рака почек, опухолей пищеварительной системы, рака легких и рака предстательной железы (Seledtsov и др., 2011).

Важно отметить то, что у всех людей присутствуют естественные (ранее существовавшие) антитела (Abs), которые обеспечивают резкое отторжение любых клеток, не относящихся к человеку, и выполняют функцию основного барьера для трансплантации органов животных у людей. Значимая часть этих Abs представляет собой иммуноглобулины (IgG), специфичные к альфа-гал (alpha-gal) эпитопу экспрессия которого в большом количестве осуществляется на гликопротеинах и гликолипидах млекопитающих, не являющихся человеком, и обезьян Нового Света (Galili U., 1993). Благодаря опсонизации ксеногенных клеток естественные Abs способствуют интернализации антигенного материала в антиген-презентирующих клетках (АПК) через опосредованный Fcγ-рецептором механизм и значительным образом улучшают иммуногенную перекрестную презентацию антигенных пептидов антигенспецифичным CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитам (Galili U., 1993; Platzer и др., 2014). Это предложение согласуется с опубликованными результатами, свидетельствующими о том, что отторжение альфа-гал-положительных опухолевых клеток может эффективно усиливать иммунный ответ в отношении других опухолеассоциированных антигенов, присутствующих в альфа-гал-отрицательных опухолевых клетках (Rossi и др., 2005).

Вакцины на основе ксеногенных клеток обычно представлены в виде цельных опухолевых клеток или их лизатов (Seledtsov и др., 2011). Однако применение культур опухолевых клеток является довольно дорогостоящим, и они не всегда являются воспроизводимыми источниками ТАА. Важно также знать и то, что хотя опухолевые клетки, применяемые в ксеногенных вакцинах, не являются жизнеспособными, такие вакцины могут все еще содержать компоненты, которые могут участвовать в опухолегенезе.

Как уже упоминалось, подавляющее большинство ТАА принадлежит к дифференцировочным антигенам, высокая экспрессия которых осуществляется в здоровых клетках, участвующих в морфогенезе

органов. Это повышает возможность получения ксеногенных вакцинных антигенов из здоровых тканей, где происходит их высокая экспрессия. Например, раково-тестикулярные антигены (СТА), относящиеся к так называемым общим ТАА, можно легко получить из здоровых тестикулярных тканей и впоследствии их можно применять в качестве универсальных противоопухолевых иммуногенов. Согласно опубликованным данным (рассмотрено Lim и др., 2012), иммунные ответы, направленные против СТА, могут вызвать разрушение опухоли, не нарушая здоровых тканей и органов. Здоровые ткани, полученные из плода, могут быть подходящими источниками для онкофетальных вакцинных антигенов. Также хорошо известно, что плацента экспрессирует целый ряд дифференцировочных антигенов, включая те, которые являются общими для разных опухолей, включая меланому (Zhong и др, 2006).

Несмотря на вышесказанное, остается потребность в вакцине против рака, которая будет клинически эффективной, легко получаемой, воспроизводимой и недорогой. Также весьма желательно, чтобы технология на основе вакцин против рака могла быть применима для лечения или предотвращения более одного типа рака, или можно было бы легко изменять ее специфичность. Ксеногенные вакцины, полученные из здоровых тканей, по-видимому, могут соответствовать всем этим требованиям.

Краткое описание чертежей

Фиг. 1. Представлена инфильтрация лейкоцитов опухоли у контрольных и вакцинированных мышей, где "***" обозначает $P < 0,05$ по сравнению с контролем на этой и других фигурах.

Фиг. 2. Представлено индуцированное LLC-антигеном образование ИЛ-2 клетками селезенки, выделенными из контрольных и вакцинированных мышей.

Фиг. 3. Представлена медиана выживаемости контрольных и вакцинированных мышей.

Описание изобретения

Настоящее изобретение направлено на преодоление ранее существовавшей иммунной толерантности в отношении опухолеассоциированных дифференцировочных антигенов. Предложена ксеногенная вакцина, которая содержит компоненты, полученные из здоровой ткани, собранной у одного вида млекопитающего, для предотвращения или лечения опухолей у млекопитающих другого вида. Объектами данного изобретения являются композиции вакцин, содержащие ксеногенные тестикулярные клетки и ксеногенные клетки, полученные из тканей. Предполагается, что такие композиции вакцин могут быть подходящими для лечения многих видов рака и обладают очевидными преимуществами перед всеми ранее описанными вакцинами. Они намного более иммуногенны по сравнению с аутологичными или аллогенными аналогами. Они индуцируют поликлональные иммунные реакции и, следовательно, более эффективны при ингибировании роста опухоли по сравнению с вакцинами на основе пептидов, способными индуцировать только олигоклонные иммунные ответы.

Очень важным преимуществом ксеногенных вакцин, полученных из здоровых тканей, согласно настоящему изобретению является применение неограниченных и воспроизводимых источников для их получения. Из выбранного животного источника, представляющего млекопитающее, можно получить многочисленные количества тестикулярных и получаемых из тканей клеток. Предпочтительно указанное млекопитающее представляет собой овцу, свинью, кошку или мышь. Наиболее предпочтительным животным источником является овца.

Композиции вакцин обычно будут содержать тестикулярные клетки и клетки, полученные из ткани плода от одного и того же ксеногенного вида; однако в некоторых вариантах реализации можно применять тестикулярные клетки от первого ксеногенного вида и клетки, полученные из тканей от второго ксеногенного вида, например, тестикулярные клетки овцы и клетки, полученные из тканей свиньи, или наоборот.

Количество компонентов композиции вакцины будет очевидным для специалиста в данной области техники. Предпочтительное соотношение тестикулярных клеток и полученных из тканей клеток в указанной композиции вакцины составляет от 1:10 до 10:1; более предпочтительное соотношение составляет от 1:5 до 5:1; наиболее предпочтительное соотношение составляет 1:1.

Настоящее изобретение обеспечивает возможность получения ряда вакцин, подходящих для лечения различных типов рака. Каждую специализированную вакцину получают при помощи сочетания гетерогенных (общих) и тканеспецифичных ТАА. Например, композиция вакцины для рака легких может содержать тестикулярные клетки и клетки, полученные из ткани легкого; композиция вакцины для рака почек может состоять из тестикулярных клеток и клеток, полученных из ткани почек плода; и так далее. Указанная композиция вакцины для лечения рака легких является предпочтительной. Следует отметить то, что ткани плода животных могут служить источниками не только для тканеспецифичных, но и общих дифференцировочных антигенов.

В некоторых вариантах реализации упомянутая композиция вакцины описывается как гетерологичная смесь антигенов, представленных цельными клетками тканей, которые были обработаны глутаральдегидом. Можно применять другие вещества для фиксации и консервации клеток, такие как формальдегид и спирт. Вакцины также можно использовать в виде интактных или лиофилизированных клеточных лизатов.

В настоящем изобретении предложена фармацевтическая композиция, содержащая терапевтически эффективное количество ксеногенных тестикулярных клеток и ксеногенных клеток, полученных из тка-

ни плода. Указанные фармацевтические композиции могут использоваться для применения человеком или животными в медицине человека и ветеринарии.

Примеры

Материалы и способы.

Мыши.

Авторы настоящего изобретения выращивали мышей C57BL/6(B6; H-2^b) в собственных устройствах. Мыши были самцами в возрасте от 4 до 6 месяцев. Они получали автоклавированную пищу и кипяченую воду.

Линия опухолевых клеток.

Линия LLC-клеток карциномы B6(H-2^b) происхождения получили из Московского онкологического научного центра РАМН и поддерживали в среде RPMI 1640, дополненной 10% ФБС, 2 мМ 1-глутамином и антибиотиками.

Приготовление лизата опухолевых клеток для иммунореактивного анализа.

LLC-клетки собирали, интенсивно промывали фосфатно-солевым буфером (PBS) и дополнительно хранили при -20°C до применения.

Приготовление вакцинных компонентов.

У взрослых овец выделяли семенники. После освобождения из капсул сперматогенную ткань фрагментировали ножницами, и затем суспендировали при помощи стеклянного гомогенизатора, применяя мягкое прессование фрагментов ткани в холодном PBS. Суспензию клеток выдерживали в течение 7 мин для осаждения крупных агрегатов. После переноса из гомогенизатора в пробирку клетки промывали холодным PBS. Затем часть указанных клеток инкубировали в 0,1% глutarальдегиде (об./об.) при 37°C в течение 20 мин и далее интенсивно промывали, чтобы получить препарат вакцинных клеток. Другую часть клеток три раза подвергали процедуре замораживания и оттаивания и затем центрифугировали для получения супернатанта, содержащего растворимые тестикулярные антигены.

Легкие выделяли у трех-четырех месячного плода овец. Изолированные легкие интенсивно промывали в большом объеме холодного PBS и затем фрагментировали ножницами. Клетки осторожно выдавливали из фрагментов легких в холодный PBS и переносили в пробирку. Обработанные глutarальдегидом вакцинные клетки легкого и супернатант, содержащий растворимые легочные антигены, по существу получали так, как описано выше.

Процедуры имплантации опухоли и вакцинации.

Создали пять групп из мышей-самцов B6, каждая из которых состояла из 15 животных. Все мышам подкожно (s.c.) осуществляли инъекцию LLC-клеток (2×10^5 на мышь) на нулевой день.

1. Контрольная группа. Мышей не подвергали какой-либо иммунизации.

2. Группу вакцинировали ксеногенными клетками семенников. Мышей подкожно иммунизировали обработанными глutarальдегидом клетками семенников на 3, 7 и 11 день в дозе 2×10^6 , 4×10^6 и 6×10^6 на мышь соответственно.

3. Группу вакцинировали ксеногенными клетками легкого. Мышей иммунизировали обработанными глutarальдегидом клетками легкого на 3, 7 и 11 день в дозе 2×10^6 , 4×10^6 и 6×10^6 на мышь соответственно.

4. Группу вакцинировали ксеногенным клетками семенников и легкого. Иммунизацию мышей осуществляли при помощи обработанных глutarальдегидом клеток семенников и легкого в дозе 1×10^6 , 2×10^6 и 3×10^6 на мышь для каждого вида клеток на 3, 7 и 11 день соответственно.

5. Группу вакцинировали ксеногенными растворимыми тестикулярными и легочными антигенами. Мышей иммунизировали трижды смесью растворимых продуктов семенников и легкого в количествах, эквивалентных вакцинным клеткам, применяемым в четвертой группе.

Анализ на определение иммунореактивности.

Пять мышей из каждой группы анализировали на иммунореактивность в отношении LLC-антигенов карциномы на 18-й день после имплантации опухоли. Для гистологических исследований микроскопические срезы толщиной от 5 до 7 мкм окрашивали гематоксилинэозином. Степень инфильтрации лейкоцитов оценивали по шкале от 0 до 5. Для анализа реактивности Т-клеток, селезенки суспендировали при помощи стеклянного гомогенизатора. Суспензии клеток выдерживали в течение 7 мин, чтобы осадить большие агрегаты, и затем суспензии одиночных клеток переносили из гомогенизатора в пробирку. После интенсивного промывания холодной средой клетки селезенки культивировали в количестве 2×10^5 на лунку с лизатами LLC-клеток (каждого 5×10^4 на лунку) или без них в контроле в 96-луночной планшете с круглым дном в среде без содержания сыворотки в течение 3 дней. Количество интерлейкина-2 (ИЛ-2) в культуральных супернатантах оценивали с применением коммерчески доступных иммуоферментных анализов (ИФА). Индекс стимуляции рассчитывали следующим образом: исследуемый уровень ИЛ-2/контрольный уровень ИЛ-2.

Регистрация выживания.

За выживаемостью мышей наблюдали ежедневно и мертвых животных вскрывали. Явным образом были выявлены признаки опухолей с четко заметным процессом метастазирования.

Статистика.

Статистическую значимость данных определяли с применением критерия Стьюдента. Значение $P < 0,05$ рассматривали как статистически значимое. Метод Каплана-Мейера использовали для оценки общей выживаемости.

Пример 1.

Вакцинация ксеногенными клетками, полученными из тканей, стимулирует инфильтрацию опухоли лейкоцитами.

Воспалительный ответ на краю опухоли оценивали путем подсчета моноядерных и гранулоцитарных клеток в 10 полях зрения при большом увеличении (40х объектив). Как можно увидеть на фиг. 1, ксеновакцинация мышей с опухолью клетками либо семенников, либо легкого, а также смесью этих клеток индуцировала выраженную инфильтрацию лейкоцитов опухоли, тогда как вакцинация растворимыми ксеногенными антигенами не оказывает такого эффекта. Обнаруженные воспалительные ответы состояли из эозинофилов (около 20%), нейтрофилов (40%), лимфоцитов (30%) и макрофагов (10%). Выраженная опухолеассоциированная эозинофилия тканей на краях опухолей вакцинированных клетками мышей проводила различие этих воспалительных ответов от тех, которые наблюдали в опухолях контрольных мышей. Было показано, что опухолеассоциированный эозинофильный инфильтрат является благоприятным прогностическим показателем при колоректальной карциноме и ранней плоскоклеточной карциноме пищевода (FemandeZ-Acemo и др., 2000; OhashiY и др., 2000). Было обнаружено, что активированные эозинофилы или супернатанты их культур способны значимо ингибировать рост культивируемых клеток рака предстательной железы человека (Furber't-Harris и др., 2003). В собственных экспериментах авторов настоящего изобретения эозинофилы могли играть возможную роль при защитном иммунном ответе, вызванном ксеновакцинацией на основе клеток.

Пример 2.

Вакцинация ксеногенными клетками, полученными из ткани, индуцирует иммунную реактивность в отношении опухолевых клеток.

Данный пример демонстрирует, что иммунизация ксеногенными клетками, полученными из тканей, способна индуцировать противоопухолевую Т-реактивность, проявляющуюся в образовании интерлейкина-2 (ИЛ-2). Хорошо известно, что ИЛ-2 является основным посредником в механизме формирования продолжительного адаптивного иммунитета. Как представлено на фиг. 2, растворимые ксеногенные (тестикулярные и легочные) антигены не способны индуцировать Т-клеточную реактивность в отношении LLC-антигенов у мышей с опухолью. По всей видимости, адъюванты необходимы для того, чтобы придать ксеногенным растворимым антигенам способность индуцировать иммунные ответы с заметной эффективностью. В отличие от растворимых антигенов, клетки как семенников, так и легкого, способны индуцировать обнаруживаемую противоопухолевую реактивность ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Примечательно то, что комбинированная вакцинация клетками семенников и легкого в этом отношении была более эффективна по сравнению с вакцинацией либо только клетками семенников, либо только клетками легкого.

Пример 3.

Вакцинация ксеногенными клетками, полученными из тканей, увеличивает выживаемость мышей с опухолью.

Как можно увидеть на фиг. 3, медиана выживаемости мышей с LLC, вакцинированных комбинацией ксеногенных клеток семенников и легкого, была значимо более продолжительной ($P < 0,05$), чем у контрольных мышей с LLC. Вакцинация либо только клетками семенников, либо только клетками легкого чуть незначительно увеличивает выживаемость мышей с LLC. В этом отношении ксеногенные растворимые антигены не являются эффективными. Из этих данных можно сделать вывод о том, что: 1) в отсутствие иммуноадъювантов ксеногенные клетки, полученные из тканей, намного более эффективны в качестве вакцины против рака, чем ксеногенные растворимые антигены того же происхождения; и 2) противоопухолевые клинические ответы могут быть в значительной степени высокоэффективны при комбинации вакцинных клеток, экспрессирующих гетерогенные (например, тестикулярные) и специфичные тканям плода (например, легким плода) антигены, которые могут экспрессироваться в опухолевых клетках.

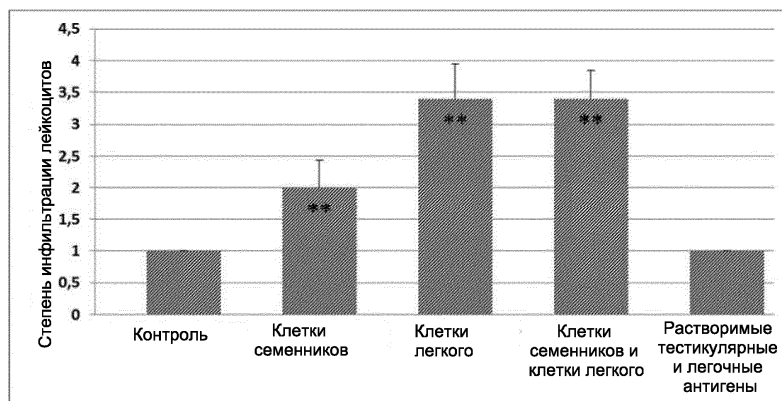
Ссылки.

1. Strioga M.M., Darinskas A., Pasukoniene V. и др. Vaccine. 2014; 32: 4015-4024.
2. Fratta E., Coral S., Cove A. и др. Mol. Oncol. 2011; 5:164-82.

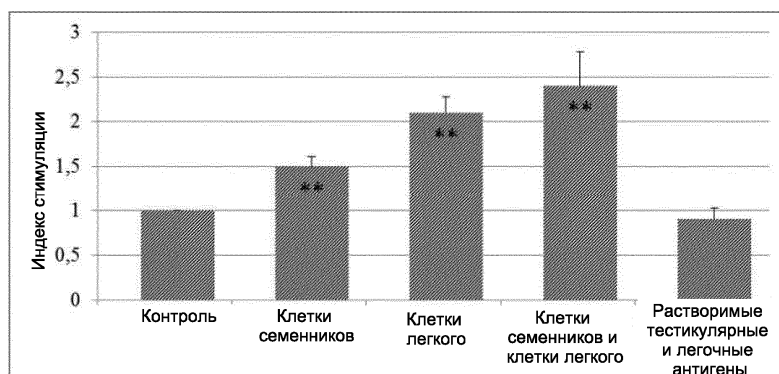
3. Khong H.T., Restifo N.P. *Nat. Immunol.* 2002; 3: 999-1005.
4. de Gruijl T.D., van den Eertwegh A.J., Pinedo H.M., Scheper R.J. *Cancer Immunol. Immunother.* 2008; 57: 1569-77.
5. Itoh K., Yamada A., Mine T., Noguchi M. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 2009; 39: 73-80.
6. Parmiani G., Pilla L., Maccalli C., Russo V. *Cancer J.* 2011; 17: 331-336.
7. Andersen M.H., Schrensen R.B., Schrama D. и др. *Cancer Immunol. Immunother.* 2008; 57: 1735-43.
8. Seledtsov V.I., Shishkov A.A., Seledtsova G.V. In: Ozdemir O., editor. *Current cancer treatment – novel beyond conventional approaches.* InTech. 2011; 415-428.
9. Overwijk W.W., Tsung A., Irvine K.R. и др. *J. Exp. Med.* 1998; 188: 277-286.
10. Weber L.W., Bowne W.B., Wolchok J.D. и др. *J. Clin. Invest.* 1998; 102: 1258-1264.
11. Galili U. *Immunol. Today* 1993; 14: 480-482.
12. Platzter B., Stout M., Fiebiger E. *Front. Immunol.* 2014; 5: 140.
13. Rossi G.R., Unfer R.C., Seregina T., Link C.J. *Cancer Immunol. Immunother.* 2005; 54: 999-1009.
14. Lim S.H., Zhang Y., Zhang J. *Am. J. Blood Res.* 2012; 2: 29-35.
15. Zhong Z., Kuszniuruk K.P., Popov I.A. и др., *J. Transl. Med.* 2006; 4: 22.
16. Fernandez-Acerno M.J. и др. *Cancer* 2000; 88: 1544-48.
17. Ohashi Y. и др. *Anticancer Res.* 2000; 20: 3025-30.
18. Furbert-Harris P. и др. *Prostate* 2003; 57: 165-175.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

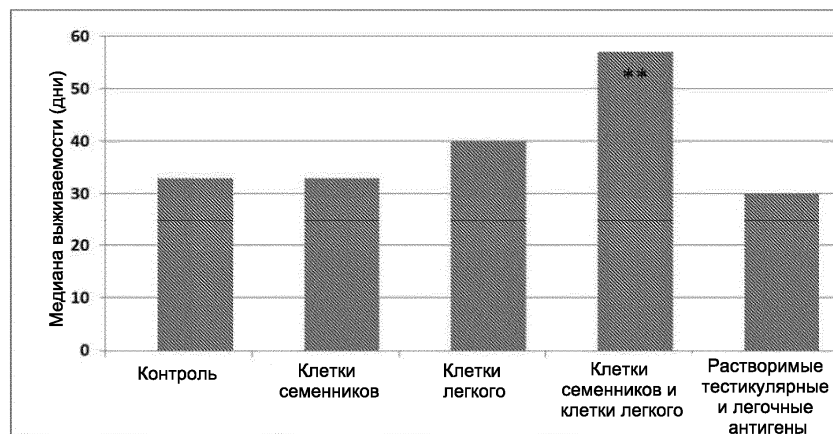
1. Композиция, содержащая ксеногенные клетки, полученные из сперматогенной ткани взрослого организма и экспрессирующие тестикулярные антигены, и ксеногенные клетки, полученные из ткани плода и экспрессирующие онкофетальные антигены, для проведения противоопухолевой иммунотерапии, причем иммунологическую специфичность указанной композиции против конкретного типа опухоли определяют ксеногенные клетки, полученные из ткани плода.
2. Композиция по п.1 для иммунотерапии опухоли легкого, отличающаяся тем, что указанная композиция содержит клетки, полученные из семенников взрослого барана, и клетки, полученные из фетальной ткани легкого плода овцы.
3. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что применяют интактные цельные клетки.
4. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что применяют фиксированные цельные клетки.
5. Композиция по п.4, отличающаяся тем, что указанные клетки фиксируют глутаральдегидом.
6. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что применяют лизаты интактных клеток.
7. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что применяют лиофилизированные клетки или их лиофилизированные лизаты.
8. Композиция по п.1, отличающаяся тем, что указанные клетки получают из млекопитающего.
9. Композиция по п.8, отличающаяся тем, что указанное млекопитающее представляет собой овцу (барана) или другое млекопитающее, дискордантное по отношению к человеку.
10. Применение ксеногенной композиции по любому из пп.1-9 для преодоления иммунной толерантности в отношении тканеспецифичных, дифференцировочных антигенов.
11. Применение ксеногенной композиции по п.10 для лечения рака у пациентов в условиях, когда не требуется сохранение пораженного опухолью органа.
12. Применение композиции по любому из пп.1-9 при получении лекарственного средства как для лечения, так и для профилактики опухолевого заболевания.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2