

ОПУХОЛЕВАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ



Институт биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси

До настоящего времени в мире не получено достоверных или, как минимум, убедительных данных о повышении опасности развития злокачественных новообразований у пациентов после клеточной терапии различных соматических заболеваний.

На сегодняшний день, клеточные технологии активно и успешно применяются в лечении онкологических заболеваний, например, в качестве противорецидивной иммунотерапии солидных опухолей. В то же время, нельзя однозначно оценивать безопасность применения принципиально различных клеточных медицинских технологий в клинической практике. Поэтому предметом настоящего обсуждения является безопасность применения клеточной терапии в регенеративной медицине с использованием широко и давно известных стандартизированных биомедицинских клеточных продуктов (далее – БМКП) на основе мезенхимальных стволовых клеток жировой ткани (далее – МСК) и фибробластов кожи (далее – ФК) взрослого человека.

Кроме того, при обсуждении столь специфической темы, необходимо принимать во внимание степень достоверности источников информации. Современное общественное информационное пространство представляет собой, по сути, продукт социальной и маркетинговой инженерии, и не может служить адекватным источником для профессиональной медицинской аудитории, однако служит источником для формирования негативного общественного мнения. Выводы, представленные в данной статье, основаны на анализе опубликованных экспериментальных данных и клинических отчётов, приведенных на профильных ресурсах.

Ответы на следующие вопросы представляют собой научную позицию медицинского сообщества, и позволяют клиницистам рассматривать клеточную терапию как безопасный метод лечения различных заболеваний.



Влияют ли МСК на процесс канцерогенеза?

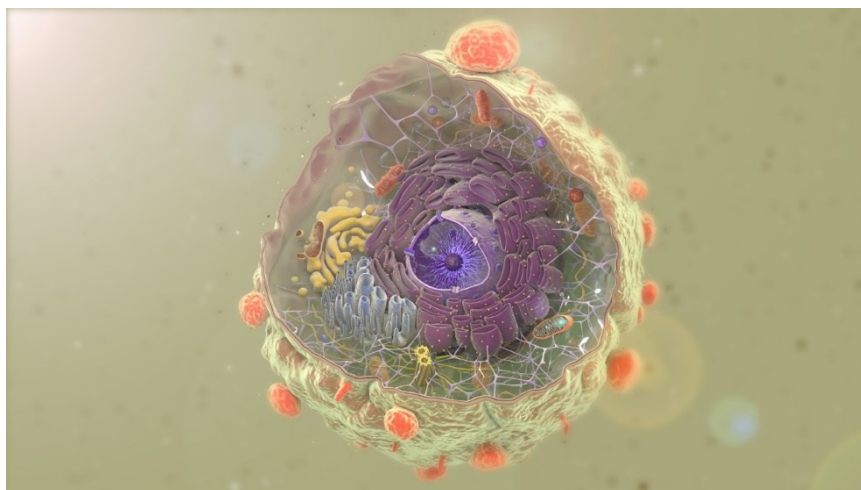
Канцерогенез — многоэтапный процесс, зависимый от многих факторов, среди которых роль культивированных МСК и ФК, трансплантируемых при клеточной терапии, остаётся недостаточно доказанной.

Стволовые клетки взрослого человека служат инструментом тканевого гомеостаза и регенерации, являясь в тоже время мишенью для различных канцерогенных факторов и объектом процессов мутагенеза. По мере накопления генетических нарушений при сохранении своего иммуноцитохимического профиля, эти клетки способны активно реплицироваться, рекрутировать и «программировать» другие нормальные стволовые и соматические клетки [1].

Одна из концепций канцерогенеза основана на ключевой роли опухолевых стволовых клеток (ОСК), образующихся в результате повторных мутаций и селективной экспрессии генов из нормальных стволовых клеток соответствующих тканей. Взаимодействие ОСК с собственными прогениторными клетками нарушает общие и местные внутритканевые закономерности ауторегуляции и саногенеза, что провоцирует опухолевый рост. При достижении генетически детерминированного лимита пролиферации и, как следствие, неизбежного накопления предельного числа мутаций, процесс самообновления нормальных стволовых клеток может нарушаться и запускается их неопластическая трансформация [11,17].

В свою очередь доказаны и противоопухолевые свойства мультипотентных МСК, стратегической функцией которых является возвращение клеток в состояние устойчивого равновесия (фаза G0), либо индукция системных эффекторных функций – пролиферации, дифференцировки и апоптоза, при помощи процесса межклеточного взаимодействия, известного как «эффект молекулярной адгезии» [15].

В эксперименте *in vitro* показано, что МСК способны мигрировать к опухолевым клеткам различных типов. Изучение особенностей направленной миграции экзогенных (трансплантированных) МСК и ФК *in vivo* выявило не только репаративный эффект, но и сложные взаимо-модулирующие влияния на ОСК в зоне неоплазии, вызывающие торможение опухолевой пролиферации, запуск апоптоза, усиление продукции специфических цитокинов, арест цикла опухолевых клеток в фазе G1 [14].



Может ли БМКП стать непосредственным источником опухолевого роста?

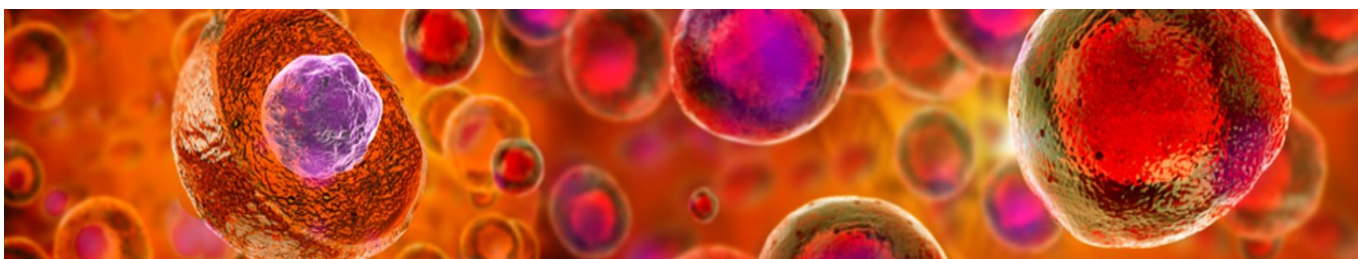
С точки зрения клеточной биологии, взрослые МСК и ФК, составляющие основу БМКП, уже получили свой вектор дифференцировки и возможность развития из них опухолей крайне ничтожна. Известно несколько исследований 2006-2007 годов, показавших возможность злокачественной трансформации МСК мышей в культуре при индукции онкогенами *in vitro* [16]. Дальнейшие исследования туморогенного потенциала МСК человека, проведенные в нескольких независимых лабораториях, продемонстрировали стабильность кариотипа и иммунофенотипа даже при длительном культивировании, а трансплантация этих клеток животным с иммунодефицитом не приводила к образованию опухолей *in vivo* [4,5].

Современные исследования также свидетельствуют о том, что МСК и ФК человека в культуре не трансформируются, также нет доказательств их злокачественного перерождения и формирования истинного опухолевого процесса после трансплантации [2,13].

Оказывает ли клеточная терапия прямое или опосредованное влияние на онкологический процесс, уже имеющийся у пациента?

Благодаря наличию универсального биологического механизма хоуминга любого типа стволовых клеток и феномену патотропизма (направленной миграции стволовых клеток в опухоль), наличие у пациента уже сформированной опухоли обеспечивает очень высокие шансы активации и генерализации имеющегося неопластического процесса при проведении клеточной терапии. Используемые при трансплантации аутологичные/аллогенные МСК и ФК могут воздействовать на имеющуюся опухоль в нескольких направлениях: оказывать прямое паракринное действие, влияя на фенотип опухолевых клеток; за счет естественной супрессорной активности изменять состав «местных» иммунокомпетентных клеток, нарушая противоопухолевый иммунитет; улучшать васкуляризацию опухоли, стимулируя неоангиогенез; дифференцироваться в микросреде опухоли и выступать в качестве местных источников для развития опухолевых стромальных клеток [7,12].

С другой стороны, данные *in vitro* исследований свидетельствуют, что МСК также способны негативно воздействовать на неопластический процесс - снижать уровень пролиферации опухолевых клеток, ингибировать их инвазию и участвовать в апоптозе опухолевых клеток [6,9].



На чём основаны критерии и гарантии опухолевой безопасности клеточной терапии?

Разработанные критерии определения и контроля опухолевой безопасности уже давно прописаны и внедрены в существующих законах и нормативных актах. В Республики Беларусь существуют четко установленные требования к проверке и контролю онкологической безопасности БМКП и методов их клинического применения. Система контроля качества при производстве сертифицированных БМКП организована в соответствии с международными и локальными Правилами надлежащей производственной практики, включающими методы анализа рисков, в том числе и онкологических. В частности, культивирование МСК и ФК для терапевтического применения происходит в течение относительно короткого времени с ограничением числа пассажей, когда трансформация клеток не развивается [8].

Ещё на этапе разработки и доклинических исследований БМКП каждая клеточная линия (КЛ), используемая для их производства, должна быть стандартизирована, с установлением числа пассажей, при которых показатели качества КЛ остаются неизменными.

В ходе экспертизы качества определяются важнейшие критерии «идентичности» (подлинности) и стабильности КЛ, характеризующие фенотипический и генотипический профиль клеток входящих в состав БМКП.

Подтверждение идентичности КЛ включает как определение морфологических характеристик и экспрессии специфических маркеров, генов, специфических белков, так и определение маркеров стабильности КЛ, т.е. формулы кариотипа, наличие структурных и численных хромосомных аномалий, «ДНК-отпечатка» (STR-профиль или однонуклеотидный полиморфизм).

Для определения онкобезопасности важна именно генетическая стабильность КЛ, а не классическое понятие стабильной (перевиваемой) КЛ, принятое в вирусологии, или стабильная экспрессия генно-инженерной конструкции, принятая в молекулярной биологии.

При проведении доклинических исследований любого БМКП в обязательном порядке оценивается туморогенность клеточного материала, т.е. способность клеток, растущих в культуре, формировать опухоли при инокуляции бестимусным (иммунодефицитным) животным [17]. Оценивается возможность не только образования опухолевой ткани (как злокачественной, так и доброкачественной) непосредственно из клеточной линии БМКП, но и любых изменений клеточного продукта в организме, которые можно трактовать как предопухолевые. Срок наблюдения за лабораторными животными при исследованиях туморогенности составил 24 месяца для крыс и 18 месяцев для мышей, с обязательным использованием контрольной группы животных [10].

В рамках клинического этапа разработки БМКП отдельное внимание уделяется оценке риска онкогенности, т.е. вероятности индуцировать неопластическую трансформацию клеток реципиента при применении максимальных терапевтических доз, что в дальнейшем описывается в инструкции по применению БМКП и регистрационном досье. Особые меры при проверке опухолевой безопасности заключаются в предоставлении экспериментальной базы перед проведением клинических испытаний, и длительном контроле состояния реципиента.

Процедура государственной регистрации БМКП предполагает экспертизу результатов доклинических и клинических испытаний в аспекте возможных онкологических рисков и осложнений, а также оценку ожидаемой терапевтической пользы к возможному риску. Все вышеописанные этапы и подходы позволяют снять проблему онкологической безопасности производства и применения БМКП.



Современный взгляд на этиологию онкологических заболеваний выделяет пять основных источников риска, связанных с особенностями образа жизни, на долю которых приходится до 30 % всех возникших de novo опухолей: высокий индекс массы тела, недостаточное потребление фруктов и овощей, отсутствие физической активности, употребление табака и алкоголя. Таким образом, почти 30% населения имеют риск возникновения онкологии, вне зависимости, применялись ли к ним методы клеточной терапии или нет. Потенциальная канцерогенность сертифицированных БМКП не сопоставима с доказанной канцерогенностью продуктов питания и ряда фармакологических средств [3], широко используемых конвенциональной медициной.

Целесообразное применение методов клеточной терапии с использованием сертифицированных БМКП, с предварительным углубленным специализированным обследованием пациента в онкологическом направлении, в том числе, с иммунохимическим мониторингом онкомаркеров, позволяет минимизировать все возможные риски и оценить онкологическую безопасность клеточной терапии как абсолютную.

Литература.

1. Н.В. Андропова, Н.Т. Райхлин, Е.М. Трещалина Результаты изучения онкогенных потенциалов медицинских клеточных препаратов на иммунодефицитных мышах// *Российский биотерапевтический журнал*. – 2010. - № 2, том 9. – С.29-34.
2. Б.В. Афанасьев, А.В. Берсенёв Риск возникновения злокачественных новообразований после трансплантации клеток // *Гены и клетки*. – 2010. - № 9. - С. 15-18.
3. Г.А. Белицкий, К.И. Кирсанов Лекарственный канцерогенез: факторы риска и возможности предотвращения// *Успехи биологической химии*, 2020. - т. 60, с. 173–226.
4. А.С. Григорян, П.В. Кругляков Спонтанная злокачественная трансформация мезенхимальных стромальных клеток в культуре – происходит ли она в действительности? // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* – 2009. - том IV, № 4. С. 10-12.
5. О.М. Дорошенко, А.В. Берсенёв К вопросу о спонтанной онкогенетической трансформации мультипотентных мезенхимальных стромальных стволовых клеток // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия* – 2007. - том II, № 1 - С. 10-12.
6. Н.И. Лисянский, Ю.А. Гриневиц Роль стволовых клеток в канцерогенезе и иммунотерапии опухолей // *Клиническая онкология*. – 2017. - № 1. – С. 65-72.
7. А.В. Мелешина, Е.И. Черкасова, Е.А. Сергеева Исследование миграции трансплантированных мультипотентных мезенхимных стромальных клеток в организме опухоленосителя // *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия*. – 2013. - том VIII, № 2. С. 56-63.
8. Л.М. Михайлова, И.Б. Меркулова Методологические подходы к исследованию туморогенности клеточных линий и биопрепаратов на их основе при доклинической оценке безопасности // *Российский биотерапевтический журнал*. – 2010. - № 2, том 9. – С.45-48
9. Н. А. Нефёдова, П. Г. Мальков Роль стволовых клеток в канцерогенезе толстой кишки // *Онкологическая колопроктология*. – 2015. - № 5. Том 5. – С.15-17.
10. А.А. Ржанинова, Н.П. Ермакова, И.Б. Меркулова Исследование туморогенности культивированных хондробластов человека // *Тезисы докладов III съезда токсикологов России*. - 2008. – С. 238–241.
11. Said M. Afify and Masaharu Seno Conversion of Stem Cells to Cancer Stem Cells: Undercurrent of Cancer Initiation. *Cancer* 2019; 11: 345-348.
12. Bhowmick N.A., Neilson E.G., Moses H.L. Stromal fibroblasts in cancer initiation and progression. *Nature* 2004; 432: 332–337
13. Nastaran Z. Kuhn, Rocky S. Tuan Regulation of stemness and stem cell niche of mesenchymal stem cells: Implications in tumorigenesis and metastasis. *Cellular Physiology* 2010; 02: 268-277.
14. Lewis A. Jr. Regulatory implications of neoplastic cell substrate tumorigenicity. *U.S. Food and Drug Administration* 2005; 31.
15. Li L., Tian H., Yue W., Zhu F., Li S., Li W. Human mesenchymal stem cells play a dual role on tumor cell growth in vitro and in vivo. *Journal of Cellular Physiology* 2010; 226: 1860–1867.
16. Daniel Rubio, Javier Garcia-Castro, Alison C. Lloyd Spontaneous Human Adult Stem Cell Transformation. *Cancer* 2005; 65: 8-12.
17. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol* 2004; 51: 1–28.

Автор: Крицкий В.М.

заместитель директора
ГНУ "Институт биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси

