

ФГУ «НИИ онкологии
им. Н.Н.Петрова
Росмедтехнологий»
Санкт-Петербург

ЦИТОКИНЫ И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНИТЕТ

Г.М. Телетаева

Продукция различных цитокинов обычно сопровождает развитие иммунного ответа, воспалительных реакций и процессов гемопоэза. Опыт клинического применения показал, что эти белки имеют чрезвычайно многообразные биологические и фармакологические свойства, ряд цитокинов может индуцировать экспрессию других, а взаимодействие нескольких приводит к различным биологическим эффектам. Ясное представление о физиологической роли и о механизмах действия различных цитокинов, дальнейшее изучение механизмов их взаимодействия с клетками-мишенями будет способствовать более успешному их клиническому применению, в том числе в онкологии.

Эпохальные открытия в медицине случаются не часто. Это относится и к поиску новых эффективных лекарственных препаратов. В течение последних двух десятилетий существенно расширить сферу поиска позволили достижения современной молекулярной биологии и генетики. Особо следует отметить возросший интерес к иммунотерапии, что, несомненно, обусловлено развитием новых молекулярных подходов в изучении механизмов иммунитета и генной инженерии. Новые данные о механизмах иммунитета позволили выявить и охарактеризовать значительное количество специфических веществ – цитокинов, являющихся модуляторами иммунного ответа. В настоящее время в клинической онкологии наряду с традиционными методами противоопухолевого лечения все более прочные позиции завоевывает биотерапия.

Биотерапия – это метод лечения опухолей путем активизации естественных защитных механизмов или введения естественных полимерных молекул, таких как цитокины, факторы роста и моноклональные антитела. Все методы биотерапии классифицированы [4] следующим образом:

I группа – активная иммунотерапия:

- неспецифическая иммунотерапия (BCG, интерфероны, ИЛ-2);
- специфическая иммунотерапия (вакциноterapia);

II группа – пассивная иммунотерапия:

- антитела (моно- и поликлональные антитела, конъюгаты с токсинами и изотопами);
- клетки (опухольинфильтрирующие лимфоциты или ТП, лимфокинактированные киллеры или LAK);

III группа – непрямые методы биотерапии:

- удаление или блокирование факторов роста или ангиогенеза;

IV группа – высокодозная неаблативная химиотерапия с аллогенной трансплантацией элементов костного мозга.

Данный обзор посвящён активной неспецифической иммунотерапии, или цитокинам.

Цитокины – биологически активные вещества пептидной природы, регулирующие широкий спектр процессов, протекающих в организме. Термин «цитокины» был предложен N.Cohen и соавт. в 1974 г., в тот период считалось, что вырабатываются они только клетками иммунной системы и одновременно являются её регуляторами. Однако в последние годы установлено, что цитокины могут быть синтезированы и эндотелиальными клетками, при этом вырабатываемые ими цитокины также участвуют в регуляции процессов гемопоэза, регуляции иммунного ответа, хемотаксиса лейкоцитов, ангиогенеза. Цитокины регулируют межклеточные и межсистемные взаимодействия, определяют тип и длительность иммунного ответа, стимуляцию или подавление роста клеток, их дифференцировку, функциональную активность, регулируют гемопоэз, ангиогенез и апоптоз. Их биологический эффект на клетки реализуется как внеклеточным, так и внутриклеточным путём через взаимодействие со специфическими рецепторами, локализованными на клеточной цитоплазматической мембране.

Все цитокины, а их в настоящее время выявлено и охарактеризовано около 30, по структурным особенностям и биологическому действию делятся на несколько самостоятельных групп. Спектры биологических активностей цитокинов в значительной степени перекрываются: один и тот же процесс может стимулироваться в клетке более чем одним цитокином и во многих случаях в действиях цитокинов наблюдается синергизм.

Выделяют следующие группы цитокинов:

- интерлейкины: секреторные регуляторные белки иммунной системы, обеспечивающие медиаторное взаимодействие и связь её с другими системами организма;
- факторы некроза опухоли: цитокины с цитотоксическим и регуляторным действием (ФНО- α , ФНО- β);
- колониестимулирующие факторы: стимуляторы роста и дифференцировки гемопоэтических клеток;
- хемокины: хемоаттрактанты для лейкоцитов;
- факторы роста: регуляторы роста, дифференцировки и функциональной активности клеток различной тканевой принадлежности (фактор роста фибробластов, фактор роста эндотелиальных клеток, фактор роста эпидермиса, трансформирующий фактор роста).

В 1957 г. А. Isaaks и Y. Lindenmann описали фактор предположительно белковой природы, появление которого связали с противовирусной резистентностью клеток [1]. Поскольку это явление ранее описано как интерференция вирусов, авторы назвали обнаруженный белковый фактор **интерфероном**. К настоящему времени установлено, что интерфероны представляют собой класс клеточных гликопротеидов, вырабатываемые клетками в ответ на вирусную инфекцию и другие стимулы и обладающих целым рядом биологических свойств, а именно:

- 1) противовирусное: ингибирование роста микроорганизмов (РНК- и ДНК-содержащие вирусы);
- 2) иммуномодулирующее: повышение активности эффекторов естественного и специфического иммунитета;
- 3) антипролиферативное: подавление онкогенов, замедление митотического цикла и клеточной дифференцировки;
- 4) индуцирование синтеза белков;
- 5) антиангиогенное: подавление ангиогенеза;
- 6) противоопухолевое.

Интерфероны делятся на два основных серологических типа: первый – ИФН-1 включает ИФН- α (лейкоцитарный), ИФН- β (фибробластный), ИФН- ω и ИФН- τ , т.е. интерфероны, продукция которых индуцируется непосредственно вирусами и опухолевыми клетками. К настоящему времени описано 25 подтипов ИФН- α и ИФН- β . Хотя представители этой группы ИФН достаточно хорошо изучены, ИФН- τ охарактеризован недавно: он гомологичен ИФН- α и в той же степени обладает противовирусной активностью. Биологическими свойствами этой группы ИФН являются: противовирусное (подавление репликации вирусов); подавление клеточной пролиферации; усиление литического действия естественных киллеров на клетки-мишени; индуцирование экспрессии молекул МНС-1 класса (главного комплекса гистосовместимости).

Второй тип – ИФН-2 – представлен ИФН- γ (иммунный ИФН), который продуцируется Т-лимфоцитами и натуральными клетками-киллерами (НК). По большинству своих биологических свойств ИФН- γ похож на ИФН-1, однако его противовирусная активность существенно

ниже, а иммуномодулирующие свойства выражены в 100-1000 раз сильнее [1]. ИФН- γ : активует мононуклеарные фагоциты; повышает экспрессию молекул МНС I и II класса; непосредственно влияет на дифференцировку Т и В-лимфоцитов; активует нейтрофилы и естественные киллеры; является активатором васкулярных эндотелиальных клеток.

Биологические эффекты ИФН, как и многих других цитокинов, реализуются после их взаимодействия со специфическими рецепторами. Одним из первых было открыто противовирусное действие ИФН, проявляющееся как против неонкогенных, так и онкогенных вирусов. ИФН индуцирует в клетках ряд белков, различающихся по своим биохимическим свойствам и обладающих неодинаковой специфичностью противовирусного эффекта. В частности, индуцированные интерфероном фермент 2'-5'A-синтаза или киназа Р1 (протеинкиназа) способствуют нарушению механизмов транскрипции и трансляции вирусных белков и образованию дефектных частиц вируса [1].

Несомненно, важным является антипролиферативное действие ИФН в отношении как нормальных, так и опухолевых клеток мишеней. Ингибирование роста большинства клеток обусловлено цитостатическим действием ИФН, которое не ограничено определённой фазой клеточного цикла. Тем не менее, клетки, находящиеся в фазе G₀, более чувствительны к ИФН, чем на других стадиях цикла. Под воздействием препарата происходит замедление деления клеток, удлинение общего времени клеточной генерации – G₁, G₂ и S фаз клеточного цикла. Важным аспектом действия ИФН является его способность «нормализовать» фенотип опухолевых клеток, т.е. индуцировать реверсию трансформированного или злокачественного фенотипа к более «нормальному». ИФН оказывает обратимое блокирующее действие на дифференцировку нормальных и злокачественных клеток, причем эффект является дозозависимым: высокие дозы ИФН блокируют клеточную дифференцировку, а низкие могут способствовать ее активации. Особый интерес представляет иммуномодулирующее действие ИФН, которое тоже неоднозначно. ИФН может усиливать или тормозить антителообразование, ускорять или замедлять отторжение трансплантата, усиливать фагоцитарную активность макрофагов, цитотоксичность естественных киллеров. Влияние ИФН на активность субпопуляций иммунокомпетентных клеток зависит от дозы ИФН и времени его введения относительно фазы иммунного ответа [3].

Впервые сообщение о противоопухолевом эффекте ИФН было опубликовано Gresserom и соавт., проводившими исследования в 1960-70 годах. В опытах на мышах с использованием частично очищенных препаратов ИФН авторы установили, что цитокин оказался высокоэффективным, ингибируя рост самых разнообразных мышинных опухолей. Показателем противоопухолевой активности ИФН является ингибирование пролиферации клеток, однако антинеопластические эффекты ИФН могут быть

обусловлены, по крайней мере, частично, другими механизмами, включая способность цитокинов модулировать иммунную реакцию организма хозяина, влияние на дифференцировку клеток, повышение иммуногенности опухолей или модуляцию экспрессии онкогенов опухолевыми клетками. Толчком к бурному развитию по применению ИФН в онкологической практике стали работы Н. Strander и соавт. (1972 г.), показавших профилактический эффект лечения ИФН у больных с остеогенной саркомой. Проведенные к настоящему времени клинические исследования выявили, что из всех исследованных нозологических форм наибольшую эффективность ИФН демонстрирует при диссеминированном раке почки, меланоме, нейроэндокринных опухолях, саркоме Капоши и раке толстой кишки [5].

Другим аспектом действия ИФН является его возможное влияние на апоптоз. Имеются противоречивые данные об индукции самим ИФН апоптоза в опухолевых клетках, а также о модуляции апоптозиндуцирующей активности других проапоптотических агентов, в частности ФНО, и антител к FAS/APO-1 антигену, правда, в основном такого рода данные описаны для ИФН- γ [5]. Как известно, интенсивность процессов апоптоза в клетке регулируется группой генов, одним из которых является ген Bcl-2, гиперэкспрессия которого в опухолевых клетках позволяет избегать апоптоза и выживать после воздействия противоопухолевых препаратов. С целью изучения влияния ИФН на индукцию апоптоза в клетках-мишенях противоопухолевыми препаратами были использованы интактные и трансфицированные геном Bcl-2 клетки HeLa и MCF7 [3]. Добавление в культуру одновременно с противоопухолевыми лекарствами интерферона усиливало цитотоксическое и апоптозиндуцирующее действие этих лекарств. Это действие было существенно более выраженным в отношении клеток, гиперэкспрессирующих в результате его трансфекции гена Bcl-2. Оно также различалось в зависимости от дозы препаратов: усиление как цитотоксического, так и апоптозиндуцирующего действия лекарств интерфероном проявлялось только в отношении низких и средних их концентраций, убивающих опухолевые клетки апоптотическим путем, но не в отношении высоких доз, вызывающих некротическую гибель. Таким образом, полученные результаты показывают, что усиление интерфероном цитотоксической и апоптозиндуцирующей активности противоопухолевых лекарств связано с гиперэкспрессией гена Bcl-2.

Большой интерес привлекает антиангиогенный эффект интерферона. Ангиогенез играет важную роль в метастазировании солидных опухолей. Метастазирование представляет собой многоэтапный процесс, требующий взаимодействия организма с опухолевыми клетками. Данные об успешном применении ИФН- α при гемангиомах, саркоме Капоши, а также вызываемое интерфероном угнетение пролиферации эндотелиальных клеток и фибробластов показывают, что ИФН могут действовать как сильные антиангиогенные факторы, ограничивая рост солидных опухолей [1].

Интерлейкины – растворимые медиаторы, продуцируемые в основном лимфоцитами и моноцитами и обладающие регуляторным действием на клетки иммунной системы или клетки, участвующие в иммунной реакции организма. Кроме того, многие интерлейкины принимают участие в регуляции дифференцировки и пролиферации клеток. В настоящее время описано около 20 интерлейкинов (ИЛ) [2].

ИЛ-1 – полипептид с молекулярной массой 11-17 кДа, впервые был описан в 1972 г. как фактор, производимый мононуклеарными фагоцитами и усиливающий Т-клеточный ответ на антигены или поликлональные активаторы, т.е. костимулятор Т-клеточной активации. ИЛ-1 синтезируется и эндотелиальными клетками, а также Т- и В-лимфоцитами, клетками стромы, эпителиальными клетками [1]. Исследование генов ИЛ-1 показало, что существует два различных белка – ИЛ-1 α и ИЛ-1 β , имеющие сходную активность и молекулярную массу и различающиеся по изоэлектрической точке. Оба они связываются с одним и тем же рецептором на клеточной мембране. Считается, что ИЛ-1 является лидирующим среди цитокинов воспаления, опосредуя катаболические воспалительные реакции и неспецифическую сопротивляемость инфекциям. В то же время ИЛ-1 обладает большим влиянием на иммунорегуляторные процессы: усиливает пролиферацию CD4+ клеток, рост и дифференцировку В-клеток, индуцирует продукцию ИЛ-2 и экспрессию его рецептора, способствует активации продукции антител, усиливает связывание НК с опухолевыми клетками, действует на мононуклеарные фагоциты и клетки васкулярного эндотелия, стимулируя дальнейшую продукцию ими ИЛ-1 и вызывая синтез других цитокинов: ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-10 и ИЛ-12. Благодаря способности усиливать продукцию ряда колониестимулирующих факторов ИЛ-1 стимулирует процессы гемопоэза, начиная с уровня стволовых кроветворных клеток. Показано, что введение ИЛ-1 защищает около 90% мышей от летальной дозы облучения. Это позволило рекомендовать его для использования при остром аварийном облучении человека. Имеются данные об использовании ИЛ-1 при трансплантации костного мозга для стимуляции ранних стадий гемопоэза.

Способностью продуцировать ИЛ-1, причем, как ИЛ-1 α , так и ИЛ-1 β , обладает ряд опухолевых клеток, в связи с чем полагают, что продукция ИЛ-1 может способствовать пролиферации последних. Системное применение ИЛ-1 у животных приводило к улучшению васкуляризации опухолей, увеличению их размеров, а добавление ИЛ-1 к культуре опухолевых клеток стимулировало их пролиферацию [2]. До настоящего времени остается спорным вопрос о ведущей роли в развитии опухолевого процесса ИЛ-1 α или ИЛ-1 β , хотя большее внимание в этом отношении уделяется ИЛ-1 β , который способен активно ингибировать последовательность экспрессии на клетках антигенов гистосовместимости II класса, что нарушает реализацию противоопухолевого иммунного ответа. У человека повышенная продукция ИЛ-1 отмечается при

гемобластозах – остром лимфобластном и миелобластном лейкозах, множественной миеломе. Полагают, что при этих заболеваниях ИЛ-1 способствует продукции ИЛ-6, который, в свою очередь, стимулирует пролиферацию опухолевых клеток. В то же время ИЛ-1 может ингибировать опухолевую пролиферацию, индуцируя такие цитокины, как ФНО- α , ИЛ-12, а также образование кислородных радикалов. В эксперименте получены убедительные данные о способности ИЛ-1, введенного как системно, так и в опухоль, угнетать или задерживать на довольно продолжительные сроки опухолевый рост у животных при прививке им неопластических клеток. Таким образом, действие ИЛ-1 зависит от целого ряда факторов – характера его воздействия на различные звенья иммунного ответа, типа опухоли и т.д. В настоящее время проводятся I и II фазы клинических испытаний ИЛ-1 при различных злокачественных новообразованиях. В них показана его способность стимулировать у больных гемопоэз, продукцию ИЛ-6, повышать уровень кортизола, однако, данные об его клинической эффективности пока малоубедительны.

ИЛ-2, или Т-клеточный фактор роста, представляет собой гликопротеин с молекулярной массой 15,5 кДа. Преимущественно он продуцируется активированными Т-клетками. Является фактором роста и активации НК, В- и Т-лимфоцитов. В основе действия ИЛ-2 на лимфоциты лежат [3]:

1) стимуляция иммунного ответа за счет активации Т-клеточных популяций: ИЛ-2 стимулирует синтез других, продуцируемых Т-клетками цитокинов, в частности ИФН- γ , ФНО;

2) стимуляция роста НК-клеток и усиление их цитотоксических функций с образованием так называемых лимфокинактивированных киллеров (ЛАК);

3) действие на В-лимфоциты человека как фактор их роста и стимулятор синтеза антител;

4) повышение образования циркулирующих эозинофилов и тромбоцитов, но подавление миелоидного и эритроидного ростков кроветворения, способствуя развитию экстрамедуллярных очагов гемопоэза.

Рецептор ИЛ-2 состоит из 3 цепей: α , β и γ . На находящихся Т-клетках экспрессируются β - и γ -цепи, при активации Т-клеток активируется α -цепь, которая формирует высокоаффинный рецептор вместе с β - и γ -цепями, причем ИЛ-2 обладает способностью усиливать экспрессию α -цепи своего рецептора. Способностью усиливать экспрессию рецепторов для ИЛ-2 обладает ИФН- γ , а ИЛ-4 подавляет её. Таким образом, ИЛ-2 является важным медиатором в основном клеточного иммунитета. В экспериментальных исследованиях была показана способность ИЛ-2 восстанавливать функцию цитотоксических лимфоцитов у мышей, получавших циклофосфамид, нормализовать клеточный иммунитет у атимических мышей. Системное применение ИЛ-2 у мышей приводило к регрессии уже развившихся метастазов (внутрикожных и легочных), причем эффект был дозозависимым. S. Rosenberg и соавт. первыми провели ряд экспериментов

с целью изучения противоопухолевого эффекта как ИЛ-2, так и его комбинации с ЛАК у больных меланомой. В последующем оказалось, что введение ИЛ-2+ЛАК приводило к регрессии микрометастазов многих опухолей, как иммуногенных, так и неиммуногенных. Изучение противоопухолевой активности ЛАК человека выявило широкий спектр их специфического цитолитического действия в отношении свежих клеток из большого количества злокачественных новообразований: рак яичников, почки, толстой кишки, меланомы, мягкотканых и остеогенных сарком и других. Все эти данные легли в основу клинических испытаний ИЛ-2 и ИЛ-2+ЛАК в терапии злокачественных опухолей. К настоящему времени свыше 20 000 больных во всем мире получили лечение ИЛ-2 по различным схемам: в монорежиме в различных дозах, ИЛ-2+ЛАК, ИЛ-2+ИФ, ИЛ-2+цитостатики и другие [3]. Однако, несмотря на очень большие надежды, спектр опухолей, при которых ИЛ-2 эффективен, оказался довольно узким. Наилучшие результаты получены при раке почки и диссеминированной меланоме кожи (объективный ответ составляет 29 и 23% соответственно). При других формах злокачественных новообразований клинические эффекты незначительны. Гистологические исследования кожных метастазов у больных с эффективно леченной меланомой выявили значительную инфильтрацию опухолей лимфоцитами. Тем не менее, хотя доказана роль НК и цитотоксических Т-клеток в эффекте ИЛ-2 терапии, механизм противоопухолевого эффекта ИЛ-2 еще не достаточно ясен. Длительные инфузии ИЛ-2 в низких дозах применяются для стимуляции иммунного ответа против инфекционных агентов и подавления роста опухолевых клеток у больных с гемобластозами после трансплантации костного мозга; при этом отмечается увеличение количества и активности НК-клеток. ИЛ-2 активно используется при получении противоопухолевых вакцин: введение опухолевых клеток, трансфицированных опухолевоассоциированным антигеном совместно с ИЛ-2, значительно повышало эффект иммунизации. Клинические исследования у больных с меланомой показали, что введение подобной вакцины более успешно, чем применение только одного пептида, выделенного из клеток меланомы, или только ИЛ-2. Полагают, что ИЛ-2, способствуя активации цитотоксических Т-лимфоцитов, повышает распознавание антигенов систем HLA. Способность ИЛ-2 повышать презентацию антигена иммунокомпетентным клеткам используется и при получении вакцин на основе дендритных клеток.

ИЛ-3 – полипептид с молекулярной массой 15-17 кДа, известный как поливалентный колониестимулирующий фактор. ИЛ-3 продуцируется Т-хелперами 1-го и 2-го класса, а также рядом других клеток (эпителиальные клетки тимуса, стромальные клетки костного мозга, нервные клетки, кератиноциты). Установлено, что ИЛ-3 является цитокином, стимулирующим рост, дифференцировку и выживание ранних кроветворных клеток предшественников, кроме того, он стимулирует образование макрофагов, гранулоцитов и дендритных клеток из кост-

номозговых предшественников, активирует эозинофилы, непосредственно противоопухолевой активностью ИЛ-3 не обладает. Довольно сложно оценивать роль ИЛ-3 в опухолевом процессе, однако, его влияние на активацию Т-клеток, особенно на стимулирование противоопухолевой цитотоксичности Т-лимфоцитов, дает основание для продолжения изучения ИЛ-3 в онкологии.

ИЛ-4, или В-клеточный фактор роста, – гликопротеин с молекулярной массой 19-22 кДа. Продуцируется, главным образом, популяцией Т-хелперных лимфоцитов 2-го класса, а также тучными клетками, макрофагами и клетками стромы. ИЛ-4 является сильным ростовым фактором для В-лимфоцитов, способствуя активации и размножению покоящихся клеток, усиливает выработку IgG1 и IgG3, поддерживает пролиферацию серозных тучных клеток. По ряду своих функций он является антагонистом некоторых цитокинов. Так, ИЛ-4 способен подавлять секрецию макрофагами ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО, повышать экспрессию антигенов HLA I и II классов (эффект интерферона), усиливать пролиферацию NK-клеток, Т-лимфоцитов и активированных зрелых Т-клеток и усиливает их противоопухолевое действие. Таким образом, ИЛ-4 играет важную роль в развитии аллергических и противовоспалительных реакций. Установлено, что клетки большинства опухолей человека продуцируют ИЛ-4, а также его рецепторы. Связывание ИЛ-4 с соответствующим рецептором приводит к подавлению роста опухоли. Механизм противоопухолевого действия ИЛ-4 недостаточно изучен. Полагают, что это может быть прямое антипролиферативное действие, обусловленное блокадой клеточного цикла, или обусловленное его способностью подавлять выработку некоторых цитокинов. Кроме того, допускается, что под его влиянием повышение экспрессии антигенов HLA способствует развитию противоопухолевого иммунного ответа. В настоящее время ИЛ-4 используется в основном при культивировании дендритных клеток для получения противоопухолевых вакцин. ИЛ-4 способствует созреванию ЛАК, дендритных клеток, а вместе с другими цитокинами способствует повышению антиген-презентирующей способности моноцитов.

ИЛ-5 является специфическим фактором роста эозинофилов. Представляет собой протеин с молекулярной массой около 18 кДа, синтезируется в основном Т-хелперами 2-го класса и тучными клетками. Основным его действием является регуляция пролиферации и дифференцировки предшественников эозинофилов, активация функции эозинофилов, дифференцировки В-лимфоцитов в плазматические клетки, повышение выработки IgA и IgM. Эти исследования указывают на значительную роль ИЛ-5 в аллергических реакциях и в противовоспалительных процессах. Имеющиеся данные свидетельствуют о способности ИЛ-5 стимулировать цитотоксические Т-лимфоциты, участвовать в апоптозе, индуцирует экспрессию рецепторов для ИЛ-2 на Т-клетках, что позволяет предполагать его возможную противоопухолевую активность [13].

ИЛ-6 – гликопротеин с молекулярной массой 21-26 кДа, синтезируется мононуклеарными фагоцитами, фибробластами, лимфоцитами, гепатоцитами, эндотелиальными, мезангиальными клетками [9]. Индукторами выработки ИЛ-6 являются ИЛ-1, ФНО- α , интерфероны, колониестимулирующие факторы, бактериальные продукты, митогены. Это плейотропный цитокин, играющий центральную роль в торможении опухолевого роста, патогенезе шока и сепсиса [1]. ИЛ-6 является мощным провоспалительным цитокином, как и ИЛ-1 и ФНО, но продуцируется несколько позже последних, ингибируя их образование и, как полагают, относится к цитокинам, завершающим развитие воспалительной реакции. Установлено, что ИЛ-6 обладает большим влиянием на регуляцию иммунного ответа: стимулирует пролиферацию и дифференцировку В-клеток, секрецию иммуноглобулинов, усиливает антителообразование, участвует в продукции мультипотентных колониеобразующих факторов и дифференцировке мегакариоцитов, может подавлять апоптоз нейтрофилов, обладающих высокой цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток, стимулирует гепатоциты к синтезу различных белков. В последнее время показано, что ИЛ-6 является костимулятором Т-клеток и тимоцитов, индуцирует продукцию ИЛ-2, а также образование ЛАК-клеток под влиянием ИЛ-2 и NK-клеток при действии ИФН- γ , усиливает действие ИЛ-3 и колониестимулирующих факторов.

Молекулами аналогами ИЛ-6 являются: фактор стимуляции В-клеток BSF-2, ИФН- β 2, фактор роста гибридом/плазмоцитом (HPGF), фактор стимуляции гепатоцитов, макрофагально-гранулоцитарный индуцирующий фактор-2, фактор дифференцировки Т-клеток [3]. Клетки опухолей различных экспериментальных линий способны продуцировать ИЛ-6 и экспрессировать его рецепторы. Имеются данные о способности ИЛ-6 потенцировать рост клеток миеломы. Предполагается, что ИЛ-6 имеет решающее значение как фактор роста миеломы, поскольку индуцирует пролиферацию клеток миеломы, несущих рецепторы к ИЛ-6. Рост миеломных клеток ингибируется антителами к ИЛ-6. Известно, что ИЛ-6 стимулирует рост ряда экспериментальных опухолей: рака шейки матки, почки, толстой кишки, молочной и предстательной желёз. Имеющиеся литературные данные указывают, что при большинстве злокачественных новообразований выявляется увеличение уровня экспрессии ИЛ-6, что сопровождается неблагоприятным клиническим течением заболевания. Влияние ИЛ-6 на опухолевую прогрессию может осуществляться по следующим направлениям: экспрессия ИЛ-6 в опухолях, возникающих из клеток, в норме не продуцирующих ИЛ-6; и приобретение зависимости роста опухоли от ИЛ-6 по мере опухолевой прогрессии (отсутствие чувствительности) [7].

Понимание роли ИЛ-6 как ростового фактора стимулировало фундаментальные исследования механизма передачи сигнала ИЛ-6 в опухолевых клетках. Действие ИЛ-6 опосредуется специфическим рецептором, экспрессированным на клетках многих типов как лимфоидной,

так и нелимфоидной дифференцировки [1]. Рецептор для ИЛ-6, состоит из 2 полипептидных цепей: α -цепь – собственно ИЛ-6 или gp 80 и молекула gp 130 [6]. Последняя является общей для 6 различных типов цитокинов: ИЛ-6, ИЛ-11, кардиотрофина 1, онкостатина М, цилиарного нейротропного фактора (CNTF), лейкоингибирующего фактора (LIF). Все эти цитокины, передающие сигнал через молекулу gp 130, относят к семейству ИЛ-6. Было установлено, что связавшийся с ИЛ-6 рецептор ассоциирован с внеклеточной частью gp 130 и что его внутриклеточная часть потенцирует модулирующий гены и антипролиферативный эффекты ИЛ-6 *in vitro*. Связывание ИЛ-6 с его рецептором и присоединение полученного комплекса к gp 130 индуцирует внутрицитоплазматическую гомодимеризацию gp 130 дисульфидной связью, что является первым этапом передачи сигналов данным интерлейкином. Представляет интерес изучение регуляторной роли gp 130, и на примере множественной миеломы показано, что активация gp 130 под влиянием ИЛ-6 способствует росту злокачественных клеток, препятствуя апоптозу [6].

ИЛ-7 – полипептид с молекулярной массой около 25 кДа, продуцируется клетками стромы костного мозга, тимуса и макрофагами. Он играет важную роль в лимфопоэзе, и удаление гена ИЛ-7 приводит к развитию тотальной лимфопении. Таким образом, ИЛ-7 является лимфопоэтином, способствующим росту и дифференцировке стволовой клетки в про-В и пре-В-лимфоциты, внутри тимусных предшественников Т-лимфоцитов, а также в пролиферации субпопуляций Т-клеток. Известно, что ИЛ-7 индуцирует секрецию других цитокинов моноцитами. Данные о возможной роли ИЛ-7 в противоопухолевом иммунитете довольно противоречивы. С одной стороны, ИЛ-7 усиливает экспрессию гена Vcl-2, тем самым блокируя процесс апоптоза. С другой стороны, трансфекция гена ИЛ-7 в различные опухолевые клетки с последующей трансплантацией их животным приводила к подавлению опухолевого роста.

ИЛ-8, или активирующий нейтрофилы протеин, представляет собой полипептид с молекулярной массой около 8кДа. ИЛ-8 синтезируется моноцитами, макрофагами, эндотелиальными и некоторыми другими клетками. ИЛ-8 тормозит колониеобразующую активность ранних миелоидных предшественников и является противопалительным цитокином.

ИЛ-9, так называемый Т-клеточный фактор роста III, – это гликопротеин с молекулярной массой около 40 кД. Продуцируется Т-хелперами 2-го типа. По своему действию является синергистом других цитокинов – ИЛ-1,2,4,5. Основным его эффектом считают потенцирование синтеза В-лимфоцитами, стимулированными ИЛ 4, иммуноглобулинов класса Е и активацию цитотоксических клеток, повышение активности тучных клеток. Именно эти свойства ИЛ-9 могут предполагать его участие в противоопухолевом иммунитете, однако, до настоящего времени литературных данных об использовании ИЛ-9 в онкологической практике нет.

ИЛ-10, или фактор, ингибирующий синтез цитокинов, представляет собой полипептид с молекулярной массой 17-21 кДа. Вырабатывается Т-хелперами 1-го типа, моноцитами и цитотоксическими клетками. ИЛ-10 является иммуномодулятором широкого спектра действия с выраженным иммуносупрессивным эффектом: подавляет пролиферацию и активность Т-клеток, продукцию синтеза ряда цитокинов, развитие гиперчувствительности замедленного типа, снижает активность макрофагов и моноцитов и в то же время ИЛ-10 стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов и синтез IgM и IgA, выработку антигенов главного комплекса гистосовместимости II класса и является фактором роста тучных клеток. Различные опухолевые клетки способны продуцировать ИЛ-10, при этом отмечается негативная роль ИЛ-10 для организма. Например, у ИЛ-10 трансгенных мышей опухоли более агрессивны, а введение лимфоцитов от этих мышей способствует ускорению роста опухоли. Полагают, что, подавляя Т-клеточный иммунный ответ, ИЛ-10 способствует стимуляции опухолевого роста. В сыворотке крови онкологических больных отмечается повышение уровня ИЛ-10, что сочетается со снижением активности Т-лимфоцитов, уменьшением экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости I класса. Однако в последнее время появились данные о том, что эффект ИЛ-10 в отношении опухолевого роста не столь однозначен: так, показано ингибирующее действие ИЛ-10 – продуцирующих опухолевых клеток человека у иммуносупрессивных мышей. Предполагается, что эффект зависит от состояния иммунокомпетентных клеток. Полученные данные о способности ИЛ-10 влиять на антигенпрезентирующую способность дендритных клеток могут быть использованы для повышения эффективности противоопухолевых вакцин.

ИЛ-11 – полипептид с молекулярной массой 24 кДа, продуцируется фибробластами, является плеiotропным гемопоэтическим ростовым фактором, вызывающим пролиферацию ранних кроветворных предшественников. Большинство функций ИЛ-11 аналогично ИЛ-6, так как они имеют общую рецепторную цепь – gp 130. При добавлении в культуру ИЛ-11 способствует созреванию ранних мегакариоцитов, дифференцировке нейтрофилов. Основное применение ИЛ-11 связано с его способностью стимулировать восстановление и активность тромбоцитов, нейтрофилов, т.е. как стимулятора гемопоэза. В экспериментальных исследованиях было показано, что введение ИЛ-11 способствовало мегакариоцитопоэзу и тромбопоэзу, стимулировало плюропотентные стволовые клетки в костном мозге и периферической крови. Клинические исследования у больных, получивших режим высокодозной химиотерапии и имевших высокий риск развития тромбоцитопении, показали способность ИЛ-11 уменьшать количество тяжелых осложнений и снижать число трансфузий тромбоконцентрата. Эффект лечения связан с использованной дозой ИЛ-11, максимально переносимая доза для человека составляет 75 мкг/кг в течение 14 дней. Чем выше доза, тем быстрее увеличивалось число

тромбоцитов (при дозе 10 мкг/кг – на 76%, при дозе 75 мкг/кг – на 185 % соответственно). Препарат рекомбинантного человеческого ИЛ-11 – Неумега (Neumega, Oprelvekin) разрешен FDA США для сопутствующего лечения при существующей или угрожающей миелодепрессии на фоне химиотерапии злокачественных опухолей (кроме миелолейкозов). Недостатком является достаточно высокая токсичность препарата, что пока ограничивает его широкое применение в клинике.

ИЛ-12, известный также как фактор стимуляции НК-клеток и фактор созревания цитотоксических лимфоцитов, оказывает плеiotропное действие на рост и функциональную активность НК-клеток, Т-лимфоцитов и гемопоэтических клеток. Этот цитокин необычен тем, что представляет собой гетеродимер из двух полипептидных цепей с молекулярной массой 35 и 40 кДа [8]. ИЛ-12 продуцируется макрофагами и антигенпрезентирующими клетками, такими как моноциты, дендритные клетки, активированными В-лимфоцитами при стимуляции бактериальными и некоторыми другими продуктами. ИЛ-12 обладает широким диапазоном биологической активности: являясь сильным провоспалительным цитокином, он индуцирует продукцию ряда других цитокинов: ИЛ-6, ИЛ-15, ИЛ-18, ФНО- α , ГМ-КСФ; в присутствии ИЛ-12 незрелые Т-лимфоциты дифференцируются в Т-хелперы 1-го типа, повышается продукция последними ИФН- γ ; имитирует некоторые из эффектов ИЛ-2 на НК-клетки – под его влиянием повышается их активность (пролиферация, дифференцировка), а также цитотоксических Т-лимфоцитов, ускоряется процесс созревания и усиливаются антигенпрезентирующие свойства дендритных клеток, кроме того, он стимулирует дифференцировку и цитотоксические способности антигенспецифических киллеров, повышает иммунологическую память, способствует активации В-лимфоцитов, является связующим звеном между врожденным и приобретенным иммунитетом. Эти свойства ИЛ-12 предполагают его важную роль в противоопухолевом иммунитете. Такие предположения подтверждаются и рядом экспериментальных данных, где ИЛ-12-дефицитные линии гораздо более чувствительны к химическим канцерогенам и у них после введения перевиваемых опухолевых клеток гораздо чаще возникает диссеминация процесса. Однако проведенная I фаза клинических испытаний по системному применению ИЛ-12 у больных с различными злокачественными опухолями (меланома, рак почки, саркомы мягких тканей) выявила его значительную токсичность, усугубляющуюся достаточно длительным периодом его полураспада (от 9 до 12 ч). Уменьшение же дозы ИЛ-12 или увеличение периодов между его введениями приводило к снижению противоопухолевого иммунного ответа и эффекта терапии. Исследования по II фазе у больных распространенным раком почки и яичников выявили клинически значимый эффект только у 7 и 4% соответственно [11]. Полагают, что токсичность препарата зависит от индуцируемой ИЛ-12 продукции

ИЛ-10. Способность ИЛ-12 повышать антигенпрезентирующую активность дендритных клеток в настоящее время активно используется для создания противоопухолевых вакцин, где в качестве антигенов используются различные пептиды опухолевых клеток. Клинические исследования пока малочисленны, но у большинства больных отмечается увеличение опухолеспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов, коррелирующее с клиническим эффектом [12].

Особое место среди всех цитокинов занимает **фактор некроза опухолей (ФНО)**. Своё название он получил в связи со способностью вызывать геморрагический некроз некоторых опухолей у экспериментальных животных. Позднее было установлено, что ФНО – это целая группа цитокинов, осуществляющих свои функции через соответствующее семейство клеточных рецепторов [10]. Продуцентами этой группы цитокинов являются стимулированные мононуклеарные фагоциты, эндотелиальные клетки, антигенстимулированные Т-клетки, тучные клетки, активированные НК-клетки. Различают: собственно фактор некроза опухоли (ФНО), или ФНО- α и лимфотоксин, или ФНО- β . Биологические свойства ФНО чрезвычайно разнообразны и зависят от преобладания того или иного цитокина из его семейства. После воздействия ФНО на клетки можно выделить три основных эффекта [1]:

- высвобождение растворимых медиаторов;
- индукция экспрессии генов;
- цитотоксическое действие.

В зависимости от типа клеток можно наблюдать один, два или все три из указанных эффектов, однако они независимы друг от друга. В результате воздействия ФНО на клетки происходят: стимуляция продукции ИЛ-1, ИЛ-6, активация процессов адгезии, антителообразования В-клетками, индукция колониеобразующих факторов эндотелиальными клетками и фибробластами, ко-стимуляция Т-клеточной активации и НК-клеток, индуцирование апоптоза. ФНО- α влияет на процессы кроветворения, подавляя эритро-, миело- и лимфопоэз, однако, на фоне подавленного кроветворения проявляется стимулирующее действие ФНО- α .

Индукция апоптоза и клеточной смерти цитокинами семейства ФНО является основой для использования их в лечении злокачественных опухолей. Кроме возможности непосредственно вызывать цитолиз, ФНО также усиливает экспрессию на клеточной поверхности антигенов гистосовместимости II класса и опухолеассоциированных антигенов, способствуя тем самым развитию более интенсивного иммунного ответа на опухоль [3]. В литературе имеются данные о модифицирующем действии ФНО в определенных концентрациях на чувствительность опухолевых клеток к цитотоксическому действию противоопухолевых препаратов, так, отмечается синергизм ФНО с алкилирующими агентами (препараты платины, антрациклины) и ингибиторами топоизомеразы II.

Широкое клиническое применение ФНО ограничено его высокой токсичностью, поэтому основные усилия

направлены на разработку методов, улучшающих переносимость подобного лечения. Одним из таких методов является регионарная перфузия ФНО больным с локализацией опухоли на конечностях; введение больным меланомой и саркомой мягких тканей ФНО в дозах до 0,2 мг в течение определенного времени (в течение нескольких часов до суток) в изолированную конечность самостоятельно или в комбинации с химиопрепаратами (мелфалан) или ИФН-γ. Практически все проводимые клинические исследования рекомбинантного ФНО основаны на его регионарном применении, включая изолированную регионарную перфузию, внутрисосудистое введение, а в некоторых случаях инъекции непосредственно в опухоль.

В заключение следует отметить, что продукция различных цитокинов обычно сопровождается развитием иммунного ответа, воспалительных реакций и процессов гемопоеза. Опыт клинического применения показал, что эти белки имеют чрезвычайно многообразные биологические и фармакологические свойства, ряд цитокинов может индуцировать экспрессию других, а взаимодействие нескольких приводит к различным биологическим эффектам.

Ясное представление о физиологической роли и о механизмах действия различных цитокинов, дальнейшее изучение механизмов их взаимодействия с клетками-мишенями будет способствовать более успешному их клиническому применению, в том числе в онкологии.

Литература

1. Винсента Т. Де Вита, мл., Сэмюэл Хеллман, Стивен А. Розенберг и соав. Биологические методы лечения онкологических заболеваний: принципы и практическое применение. Москва: Медицина. – 2002. – С. 90-96, 298-300, 309-382.
2. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак. – Киев: ДИА, 2000. – 224 с.
3. Кадагидзе З.Г. Цитокины // Практическая онкология. – 2003. – Т.4, №3. – С. 131-139.
4. Моисеенко В.М. Возможности вакцинотерапии меланомы кожи // Практ. онкол.: избр. лекции. СПб. – 2004. – С. 595-606.
5. Славина Е.Г. и др. Модуляция цитотоксического действия противоопухолевых лекарств in vitro интерфероном: связь с гиперэкспрессией генов mdr-1 и bc-2 // Аллергол. и иммун. – 2000. – Т.1, №2. – С. 170-171.
6. Тутицын Н.Н. Роль рецептора цитокинов gp 130 в росте и дифференцировке нормальных и опухолевых гемопоэтических клеток // Гемат. и трансфуз. – 2001. – Т.46. – С. 9-14.
7. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. – 2001. – №5. – С. 4-7.
8. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии // Иммунология. – 1997. – №5. – С. 7-14.
9. Kisimoto T. The biology of IL-6 // Blood. – 1989. – Vol.74, № 1. – P. 1-10.
10. Lakour S, Hammann A, Wotava A. et al. Anticancer agents sensitize tumor cells to TNF-related apoptosis-inducing Ligand-mediated Caspase-8 activation and apoptosis // Cancer Res. – 2001. – Vol.61. – P. 1645-1651.
11. Portielje J.E.A. et al. IL-12: a promising adjuvant for cancer vaccination // Cancer Immunol. Immunother. – 2003. – Vol.52. – P. 133-144.
12. Principles of cancer biotherapy. Third revised edition. Robert K. Oldham. Kluwer academic publishers. – 1998. – P. 211-265.
13. Tajima K. et al. Induction by IL-5 of human killer cell activity against cancer cellines and its regulatory mechanisms // Human Pathol. – 1998. – Vol. 29, 9. – P. 1024-1028.