

*Санкт-Петербургский
клинический научно-
практический центр
специализированных видов
медицинской помощи
(онкологический),
Санкт-Петербург*

ИММУНОТЕРАПИЯ НА ОСНОВЕ ЦИТОКИНОВ (ИЛ-1, ИЛ-2, ТНФ, КСФ, ИНТЕРФЕРОНЫ)

В.А. Чубенко

IMMUNOTHERAPY IS BASED ON CYTOKINES (IL-1, IL-2, FNO, CSE, IFN)

В.А. Чубенко

*Кандидат медицинских наук,
заведующий отделением химиотерапии №2,
ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр
специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»
197758, Россия, Санкт-Петербург, пос. Песочный, Ленинградская ул., д. 68а, Лит. А.
Тел.: 8 (921) 759-82-66,
E-mail: vchubenko@me.com*

V.A. Chubenko

*Candidate of Medicine,
Head of Chemotherapy Department No. 2,
Saint-Petersburg clinical scientific and practical center
of specialized types of medical care (oncological).
68a, Lit. A, Leningradskaya street, vill. Pesochniy, St. Petersburg, 197758.
Tel.: 8 (921) 759-82-66,
E-mail: vchubenko@me.com*

Иммунная система организма регулируется цитокинами. Они подразделяются на три группы: интерлейкины, интерфероны и колониестимулирующие факторы. Данный обзор посвящен анализу их биологии и функции с точки зрения применения в клинической практике. В большинстве своем, механизмы действия подобных белков противоречивы, разнонаправлены и дублируются в опухолевом микроокружении. Это приводит к развитию широкого спектра иммунных стратегий в лечении злокачественных опухолей. Основной проблемой является отсутствие предиктивного биомаркера для селекции больных. В статье приведены перспективные методы решения этого вопроса с целью выбора наиболее эффективной терапии.

Ключевые слова: *иммунная система, цитокины, интерлейкины, интерфероны, колониестимулирующие факторы, микроокружение, терапевтические стратегии.*

The immune system is regulated by cytokines. They are included into three groups: interleukins, interferons and colony stimulating agents. This review is dedicated to the analysis of their biology and functions from the point of view of the application in clinical practice. In most, the role of this proteins is contradictory, variety and duplicated in a tumour microenvironment. It results in development of the wide spectrum of immune therapeutic strategies in malignancies. A basic problem is absence of the predictive biomarker for the selection of the patients. To select the most effective therapy the perspective methods of the treatment decisions are discussed in this article.

Keywords: *immune system, cytokines, interleukins, interferons, colony stimulating agents, microenvironment, strategies of the immunotherapy.*

На сегодняшний день история применения иммуноterapiи рака по своим срокам значительно превосходит историю использования традиционных цитостатиков. Однако, с точки зрения, эффективности лечения подобного преимущества, к сожалению, в целом нет. Исключения составляют аллогенная трансплантация костного мозга, выраженный противоопухолевый ответ в гематологии при использовании рекомбинантных моноклональных антител (например, ритуксимаб), а также отдельные клинические наблюдения сохранения длительного противоопухолевого эффекта при использовании вакцин и цитокинов [1]. Отдельно необходимо отметить активно развивающееся новое направление в применении check-point ингибиторов, которые регулируют активность противоопухолевого иммунитета, что реализуется в излечении группы больных при определенных злокачественных опухолях.

Задачей данного обзора является обсуждение иммуноterapiи на основе цитокинов – их роль и эффективность в клинической практике. Безусловно, попытка понимания воздействия на микроокружение (иммунные клетки, опухолевые сосуды, строма, «цитокиновый коктейль») позволит оптимизировать терапевтическую стратегию для повышения эффективности лечения [2].

Прежде чем приступить к изложению клинической части работы, необходимо задать себе вопрос о том, что же такое цитокины и зачем их использовать при лечении больных злокачественными новообразованиями. Другими словами, как биологию и функцию цитокинов, а также их роль в патогенезе опухолей можно применить для эффективной стратегии терапии.

В целом функции иммунной системы сводятся к активации врожденного и приобретенного иммунного ответа для удаления чужеродного антигена, предотвращению аутоиммунизации (отсутствие реакции на собственные клетки) и формированию «памяти» для быстрой реакции на патогены [1]. Эти функции регулируются цитокинами. Цитокины – это сигнальные белки, которые, в основном, продуцируются клетками миелоидного ряда и участвуют в регуляции иммунного ответа в организме, воспалении и гемопоэзе. В целом, они подразделяются на три группы: интерфероны (ИФН), интерлейкины (ИЛ) и колониестимулирующие факторы (КСФ) [3].

Интерфероны

ИФН – это многочисленная группа цитокинов, которая подразделяется на три главных типа, различающихся по генетической последовательности, происхождению и функции [4]. К ИФН I типа относятся 17 белков (13 белков ИФН- α , ИФН- β , ИФН- ϵ , ИФН- κ , ИФН- ω), реализация эффекта которых осуществляется через соответствующие рецепторы – ИФН α/β –

рецептор 1 и 2. К ИФН II типа относится ИФН- γ , действующий через свои рецепторы – ИФН- γ -1Р и ИФН- γ -2Р. К ИФН III типа относится ИФН- λ . Выделяют 4 его субъединицы – 1, 2, 3, которые известны как ИЛ-29, 28А и 28В, а также ИФН- λ 4, которые действуют через соответствующие рецепторы – ИФН- λ Р и ИЛ-10Р. Продукция ИФН I и III типа осуществляется через активацию белков PRR, а II типа за счет ИЛ-12 и ИЛ-18, выделяемых Т- и НК-клетками. ИФН I типа выделяются большинством клеток в организме. В частности, дендритные клетки (ДК) синтезируют ИФН- α в связи с высокой экспрессией регуляторного фактора 7. Миелоидные клетки и остеокласты продуцируют ИФН- β за счет колониестимулирующего фактора (КСФ) 1 (макрофагальный КСФ, М-КСФ) и активатора NF- κ B (RANKL). ИФН II типа синтезируются Т- и НК-клетками. Необходимо отметить, что синтез ИФН клетками регулируется по типу отрицательной обратной связи [4]. Интересно отметить, что секреция ИФН- γ НК-клетками и антигенпрезентирующими клетками (АПК) осуществляется на ранних этапах защитных реакций, а активированные CD8+ клетки выделяют ИФН- γ после антигенной стимуляции на поздних этапах [5]. Что касается механизмов секреции ИФН III типа, то они, на сегодняшний день, изучены недостаточно.

Функция ИФН, с точки зрения влияния на опухоль, заключается в прямом и непрямом цитотоксическом действии [6]. Она реализуется за счет активации определенных сигнальных путей в эффекторных клетках: JAK1 киназа, STAT, TYK2, MAPK. ИФН I типа регулирует противоопухолевый иммунный ответ посредством стимуляции популяции цитотоксических лимфоцитов (Т-клетки, НК-клетки, ДК, В-клетки) и подавлении функции Treg и клеток-супрессоров миелоидного ряда (MDSC) [4]. Прямой тумороцидный эффект проявляется подавлением пролиферации и стимуляцией апоптоза опухолевых клеток, изменением их дифференцировки и способности к инвазии и метастазированию, а также нарушением степени экспрессии поверхностных маркеров [7]. Кроме того, ИФН I типа влияют на опухолевый ангиогенез за счет изменения функции миелоидных клеток (повышение фракции M1-макрофагов в строме опухоли). ИФН II типа играют основную роль в экспрессии главного комплекса гистосовместимости I и II класса (HLA-DR) и действуют за счет активации Т- и НК-клеток. Этот класс ИФН подавляет продукцию иммуносупрессоров, таких как трансформирующий фактор роста (TGF- β), простагландин E2, ИЛ-4 и ИЛ-10 [6, 8, 9]. Необходимо отметить, что пониженная экспрессия ИФН наблюдается при многих злокачественных опухолях (меланома, рак желудка, рак легких, глиобластома, опухоли головы и шеи, колоректальный рак и рак почки). Это указывает на патогенетическое участие цитокинов в опухолевом процессе в виде снижения его иммуногенности [5].

Биологические особенности ИФН определяют их применение и эффективность в клинической практике. Изначально терапия ИФН, учитывая механизм действия, рассматривалась как “волшебная палочка”, которая позволит излечить больных злокачественными опухолями. Однако, к сожалению, этого не произошло, в связи с сохраняющейся до сих пор проблемой селекции и поиском предиктивного биомаркера [10].

ИФН I типа входят в стандарты лечения лимфо-пролиферативных заболеваний (волосато-клеточный лейкоз, хронический миелолейкоз). Применение принципов иммунотерапии кардинально изменило стратегию лечения больных в гематологии, с точки зрения продолжительности жизни по сравнению с традиционными цитостатиками. Безусловно, появление иматиниба мезилата в лечении хронического миелолейкоза с BCR-ABL транслокацией несколько уменьшило спектр интерферонотерапии. Однако, на сегодняшний день, продолжаются клинические исследования комбинации препаратов с целью сохранения максимально продолжительного терапевтического эффекта и длительной ремиссии болезни [11].

Что касается солидных опухолей, то ИФН I типа одобрены в лечении меланомы, саркомы Капоши, рака почки и нейроэндокринных опухолей. Однако их дозозамещающая токсичность (гриппоподобный синдром, озноб, депрессия, лейкопения) ограничивает применение в клинической практике. С другой стороны, в исследовании Kilbridge половина больных II и III стадией меланомы, несмотря на токсичность, были готовы продолжать лечение высокими дозами ИФН для достижения максимального эффекта [12].

С 80-х годов XX века ИФН изучались в лечении рака молочной железы. Была оценена эффективность монотерапии, причем в различных синтетических формах, комбинации с эндокрино- (тамоксифен), химиотерапией (СМФ, цисплатин) и другими цитокинами (ИЛ-2, ФНО). В целом, объективный ответ составил 0–55% с клинически значимой токсичностью [4].

Проведенные исследования при различных опухолях показали, что преимущество ИФН либо в профилактике, либо в поддерживающей терапии с целью сохранения достигнутого эффекта при небольшой опухолевой массе в организме. Таким образом реализуется не прямой, а иммуномодулирующий механизм действия цитокинов. Подобная стратегия подтверждается при меланоме, раке почки, раке яичников, раке молочной железы [4, 7].

Одной из стратегий применения ИФН явилась попытка снижения их токсичности путем создания новой формы препарата для повышения биодоступности и подавления иммуногенности. Это реализовалось в создании пегилированной формы, т.е. комбинации ИФН с полиэтиленгликолем. Недостатком подобного подхода было отсутствие значимой эффективности в клинике [4, 6, 11].

В дальнейшем были предприняты попытки замены интерферонотерапии на препараты – агонисты рецепторов ИФН (БЦЖ, липид А). Их введение способствовало повышенной продукции эндогенных ИФН. Данный подход был одобрен FDA в лечении некоторых солидных опухолей (рак мочевого пузыря, глиомы). Однако он не нашел широкого применения в связи с отсутствием доказанной эффективности [13].

Безусловно, главной стратегией повышения эффективности ИФН является поиск предиктивного биомаркера. На сегодняшний день, изучается роль ИФН γ , STAT1 и STAT2 на поверхности опухолевых клеток. Кроме того, учитывая механизм действия интерферонов, изучаются комбинации биопрепаратов. Например, предполагая иммунологический механизм действия анти-Her2/neu препаратов (трастузумаб, лапатиниб) и принимая во внимание необходимость активации костимулирующих молекул, таких как ИФН I и II типа, для реализации противоопухолевого эффекта, проводятся клинические исследования комбинации ингибиторов ERBB2 и ИФН при раке молочной железы. Учитывая синергизм в механизме действия, изучаются комбинации с check-point ингибиторами и лучевой терапией [4, 10, 14].

Интерлейкины

ИЛ играют важную роль в регуляции иммунного ответа в организме. На сегодняшний день выделено огромное число белков подобного типа (ИЛ-1, 2, 3, 4, 7, 9, 15, 21 и др.). Одними из них являются ИЛ-1 (основной провоспалительный цитокин или лимфоцит-активирующий фактор) и ИЛ-2 или, так называемый, фактор роста Т-клеток [2, 5, 14].

ИЛ-1 впервые описан в 1972 году Gery и Waksman. Он продуцируется, в основном, макрофагами и влияет на все клетки иммунной системы (Т-лимфоциты, В-лимфоциты, НК-клетки, нейтрофилы), а также на клетки ЦНС (астроциты), фибробласты, кератиноциты, эндотелий сосудов, гладкомышечные клетки [15]. Подобный эффект связан с функцией ИЛ-1 – главный медиатор как острого воспаления при первом контакте с любым антигеном, так и гемопоэза. Выделяют 3 типа семейства ИЛ-1: ИЛ-1- α , ИЛ-1- β и ИЛ-1-рецептор. Первые два являются агонистами и приводят к стимуляции иммунного ответа, последний – антагонист, приводит к торможению активности миелоидных клеток. Учитывая функцию ИЛ-1, применение его в клинической практике ограничено вследствие узкого терапевтического окна в связи с высокой токсичностью из-за активации цитокинового каскада [15]. Реализация эффекта ИЛ-1 осуществляется через его рецепторы – ИЛ-1RI (передает сигнал через MAPK и NF- κ B к ядру клетки) и ИЛ-1RII (является растворимым рецептором в плазме для связывания избыточного количества ИЛ-1) [16]. С точки зрения влияния на ЦНС, ИЛ-1 является эндогенным пирогеном, действуя

на центр терморегуляции в гипоталамусе через активацию простагландина E2. Кроме того, центральный эффект реализуется за счет стимуляции секреции кортикотропина и адренкортикотропина. Эндокринологический эффект цитокина осуществляется, главным образом, посредством активации синтеза стероидов, подавления функции бета-клеток поджелудочной железы и секреции прогестерона, а также цитотоксическим действием на клетки щитовидной железы [17, 18]. К другим биологическим эффектам ИЛ-1 относятся вазодилатация за счет активации простагландинов и оксида азота, стимуляция синтеза прокоагулянтов и активация адгезионных молекул (CXCL1, VCAM-1, ICAM-1), подавление синтеза альбумина и, наоборот, стимуляция секреции белков «острой фазы». Кроме того, он стимулирует коллагеназу и индуцирует гиперкальциемию, блокирует функцию гладкомышечных клеток и кардиомиоцитов. Что касается иммунологической функции, то ИЛ-1 приводит к выраженной индукции синтеза всех провоспалительных цитокинов – ФНО, ИЛ-6, ИЛ-2, ГМ-КСФ, ИЛ-4, что проявляется в активации как клеточного, так и гуморального иммунного ответа [19].

Идея применения ИЛ-1 в клинике основывалась на прямом цитолитическом действии на опухолевые клетки, активации НК-клеток и опухолецидных лимфокинов. Впервые прямое цитотоксическое действие ИЛ-1 было описано Onozaki в 1985 году на клеточных линиях меланомы, которое впоследствии подтвердилось и на других моделях солидных опухолей. Активация НК-клеток достигается, главным образом, в комбинации с ИЛ-2, ФНО, ИФН- α и ИФН- γ [20]. В 1989 году была проведена I фаза клинических исследований для определения максимально переносимой дозы препарата. Исследователи MSKCC тестировали дозы от 0,002 до 0,1 мг/кг в виде коротких в/в инфузий в течение 2-х дней. Основной дозопонижающей токсичностью была гипотензия. В дальнейшем было проведено изучение эффективности ИЛ-1 у больных раком почки и меланомой. Объективный эффект составил 5–26%. [21]. В результате проведенных клинических исследований был сделан вывод о недостаточной клинической эффективности препарата и высокой токсичности.

В РФ разрешен к клиническому применению препарат беталейкин, основная функция которого сводится к стимуляции гемопоэза на фоне цитостатической терапии.

Учитывая механизм действия ИЛ-1 и его влияние на микроокружение в опухоли и ангиогенез, клиническое исследование данного цитокина было направлено на его блокаду. В экспериментальных исследованиях было продемонстрировано, что блокада ИЛ-1- β приводила к подавлению роста сосудов в опухоли, торможению инвазии опухолевых клеток и метастазирования вследствие снижения инфильтрации патологической ткани миелоидными клетками

из-за подавления экспрессии провоспалительных генов V β 8, CCL2, CCL3. При этом подобный эффект не наблюдался в здоровых тканях. На сегодняшний день, антагонисты ИЛ-1 доступны в клинической практике. К ним относятся ИЛ-1Р-антагонист анакирна (Кинерет), который применяется в терапии ревматоидного артрита. Разрабатываются анти-ИЛ-1- β антитела, или «ловушки рецептора», клиническое изучение которых проходит этап I фазы у больных злокачественными опухолями [15].

ИЛ-2 продуцируется активированными Т-клетками (CD4+), что приводит к пролиферации цитотоксических Т-лимфоцитов и НК-клеток для формирования противоопухолевого клеточного иммунного ответа [22]. С другой стороны, ИЛ-2 стимулирует выработку опухолеспецифических антител В-лимфоцитами, обеспечивая гуморальный противоопухолевый иммунный ответ. Подобный эффект ИЛ-2 связан с высокой экспрессией рецептора ИЛ-2 на клетках-мишенях (ИЛ-2Р), который представлен 3 субъединицами: α (CD25), β (CD122), γ (CD132) [10]. Сигнал от рецептора поступает через JAK1, JAK3 и STAT3/5 киназы к ядру клетки, где и реализуется функция белка. Это может приводить к развитию, так называемого, «цитокинового взрыва» (cytokine storm), т.е. вторичному выбросу разных групп цитокинов мононуклеарами периферической крови вследствие их молекулярных изменений на фоне лечения с системным воздействием на все органы (подобно патогенетическому развитию септического шока) [19].

Кроме того интересно отметить тот факт, что ИЛ-2 способен поддерживать пролиферацию регулирующих клеток (Treg - CD25+CD4+) в периферической крови [19]. Эта особенность ИЛ-2 реализуется в:

- адаптивной терапии;
- развитии реакции «трансплантат против хозяина» во время аллогенной трансплантации костного мозга;
- изменении физиологии и функции Т-клеток (активация индуцированной клеточной гибели и предотвращение аутоиммунных заболеваний).

Описано повышение Treg у больных меланомой и раком почки на фоне терапии высокими дозами ИЛ-2, причем их уровень снижался при развитии эффекта на фоне лечения [23].

Необходимо отметить, что ИЛ-2 необходим для клональной экспансии Т-лимфоцитов только на поздних стадиях иммунных реакций. При этом, если он отсутствует, то дифференцировка Т-клеточного рецептора приводит к анергии. Антагонистом ИЛ-2 является растворимый ИЛ-2Р, концентрация которого регулируется по принципу обратной связи ИФН- γ [5].

В настоящее время синтетический ИЛ-2 (алдеслейкин, Пролейкин) одобрен к клиническому применению при раке почки (с 1992 года) и меланоме (с 1998 года). Первоначально идея терапии ИЛ-2 была основана на достаточно механистических взглядах

о взаимодействии цитокина с клеткой-эффектором (опухолевая или лимфоидная клетка) в результате чего развивался цитотоксический эффект. Эффективность высоких доз ИЛ-2 составляет 7–20% при всех нозологических формах [24]. При этом продолжительность эффекта наблюдается в течение 39–148 месяцев, что определяется формированием пула Т-клеток памяти [20]. ИЛ-2 применялся в дозах 50 млн ЕД каждые 8 часов, создавая концентрацию в плазме крови, позволяющую влиять как на высокоаффинные рецепторы ИЛ-2, так и на рецепторы с низкой и промежуточной чувствительностью. В результате наблюдался массивный выброс провоспалительных цитокинов (ИФН- γ , ИЛ-6, ФНО, ГМ-КСФ), приводящий к реализации противоопухолевого эффекта и токсичности. При этом прогрессирование болезни и плохой прогноз коррелировал с низкой концентрацией ИЛ-2 или высокой концентрацией растворимого ИЛ-2Р [10]. Особенности препарата были его короткое время полужизни и, в этой связи, низкая биодоступность, а также двойной противоречивый механизм действия, а именно стимуляция как эффекторных противоопухолевых цитотоксических лимфоцитов, так и фракции CD25+Foxp3+Treg, которые подавляют иммунный ответ. Поэтому были попытки применения данного препарата в ультранизких дозах у больных после трансплантации костного мозга. Обоснованием послужила чувствительность определенного гетеротримерного компонента ИЛ-2Р к низким дозам препарата и, в этой связи, селективная активация CD56+CD3-CD16-NK-клеток, а также низкая токсичность. Однако в клинической практике подобные теоретические обоснования не подтвердились в результате также, по-видимому, активации Treg [19].

Не вызывает сомнений тот факт, что для повышения эффективности терапии в качестве новой стратегии необходим поиск определенных предиктивных биомаркеров. В этой связи интересно отметить, что при опухоли почки наибольший эффект регистрируется при светлоклеточном раке с высокой экспрессией карбоангидразы-IX по сравнению с другими гистологическими формами и низкой экспрессией фермента [10]. Впоследствии концепции терапии ИЛ-2 пересматривались, во-первых, с точки зрения применения его как кофактора, учитывая механизм действия, в комбинации с другими препаратами (цитокинами, цитостатиками, ингибиторами тирозинкиназ, антителами, вакцинами) [19]. Во-вторых, в качестве активной части комбинированного препарата, которая ковалентно связана либо со средством доставки (полиэтиленгликоль) к эффектору, либо со стабилизирующей молекулой (альбумин), либо с токсином (дифтерийный токсин) [19]. В-третьих, в качестве создания новой синтетической молекулы ИЛ-2 с измененной аминокислотной последовательностью для повышения аффинности к ИЛ-2Р на NK-клетках или удаленным фрагментом, отвечающим за про-

ницаемость сосудов, с целью снижения токсичности [20]. Например, клинические исследования комбинации ИЛ-2 и сорафениба при лечении диссеминированного рака почки демонстрируют достаточно выраженный противоопухолевый эффект, который сопровождается развитием клинически значимой токсичности [3]. При меланоме, где определение Т-клеточного рецептора может быть ключом к созданию антигенспецифической пептидной вакцины, важным фактом является лимфодеплеция, которая достигается комбинацией с ИЛ-2. Результаты клинических исследований демонстрируют преимущество комбинации ИЛ-2 и пептидной вакцины на основе gp100 по сравнению с монотерапией. Объективный ответ опухоли составил 16% и 6%, соответственно [16, 19]. При кожных Т-клеточных лимфомах (грибовидный микоз) денileyкин входит в современные схемы лечения с ожидаемой эффективностью до 30–40%. С другой стороны, достаточно популярным было направление химиоиммунотерапии (комбинация цитокинов, ИЛ-2 в частности, с химиопрепаратами). Однако проведенные к настоящему времени исследования указывают на отсутствие значимых положительных результатов [19].

Что касается эффективности ИЛ-2 при других заболеваниях, то наиболее впечатляющие результаты были получены в отдельных исследованиях при лимфопрлиферативных заболеваниях после прогрессирования на фоне аутологичной трансплантации стволовых клеток. Однако, к сожалению, подобные эффекты не были подтверждены в рандомизированных клинических исследованиях [25].

Фактор некроза опухолей

Впервые в литературе в 1975 году Carswell с соавт. опубликовал статью, описывающую геморрагический некроз в опухоли за счет действия эндотоксина плазмы крови, выделяемого клетками организма. С этого времени началась научная история изучения ФНО. Спустя 10 лет была расшифрована его генетическая последовательность. А в 90-х годах было открыто целое семейство цитокинов этого типа, обладающее разным механизмом действия и влияющее на пролиферацию клеток и органогенез [26].

Основной клеткой, продуцирующей ФНО, являются макрофаги (МФ). Это фактически первые клетки, которые находятся в патологическом очаге и продуцируют провоспалительные цитокины. В этой связи ФНО является цитокином «первого звена», т.е. выделяется при первом контакте с антигеном для активации нейтрофилов и моноцитов. Также он стимулирует эндотелиальные клетки с точки зрения повышенной экспрессии адгезионных молекул и синтеза факторов коагуляции. Кроме того он влияет на сократительную функцию миоцитов и проницаемость сосудов. [5]. Учитывая механизм действия, клиническая картина

эффекта ФНО напоминает септический шок. В этой связи, терапевтической индекс этого цитокина в качестве препарата достаточно невелик. На сегодняшний день выделяют 2 типа ФНО- α и β (или лимфотоксин). Реализация их эффекта осуществляется за счет воздействия на рецепторы – ФНОР1 и ФНОР2 (или CD120a и CD120b, соответственно), ФНОР1 определяется практически на всех клетках в организме. ФНОР2 присутствует, в основном, на гемопоэтических клетках. Рецепторы подобного типа активируют цепь внутриклеточных сигналов за счет фосфорилирования TRADD, FADD, TRAF2 сигнальных путей. Это приводит к стимуляции каспазы8, JNK, MAPK и NFkB белков, которые вызывают апоптоз, воспаление и пролиферацию клеток [27–29].

В преclinical исследованиях было показано, что ФНО вызывает некроз экспериментальных опухолей. Для наибольшей эффективности цитокин вводили местно несколько раз через определенные промежутки времени. Основным недостатком этой модели был в репопуляции клеток по периферии опухолевого узла. На модели мышинной саркомы Meth A был показан системный эффект ФНО. В подкожных трансплантируемых опухолях наблюдался геморрагический некроз при внутривенном введении цитокина. При этом все мыши погибли в связи с развитием септического шока [27].

В клинической практике начал применяться рекомбинантный ФНО. Из 219 больных, которым внутривенно вводили данный препарат, только у 2 был зарегистрирован объективный ответ опухоли на лечение. При этом высокие дозы сопровождалась дозозимитирующей токсичностью (гипотензия, отек легких), а более низкие – 75–100 мг/м²/сутки, переносились неплохо, токсичность была обратима. Однако не было зарегистрировано ни одного клинического эффекта [27]. Для того чтобы нивелировать системный токсический эффект ФНО, идея применения цитокина в клинической практике заключалась в региональной перфузии и/или инфузии либо конечности, либо органа. Другим направлением было снижение дозы препарата в комбинации с цитостатиками (мелфалан, доксорубин) при их региональном введении, учитывая антиангиогенный механизм действия цитокина, увеличение проницаемости сосудов и, тем самым, повышение концентрации химиопрепарата в опухоли. Родоначальником этого подхода были хирурги А. Eggermont и F. Lejeune. Из 217 больных саркомой объективный ответ составил 75%, а сохранить конечность удалось у 87%. Основным недостатком такого подхода было отсутствие влияния на отдаленные метастазы [26].

Для повышения эффективности терапии ФНО были изучены ряд комбинаций с вакцинами при определенных молекулярно-генетических нарушениях, например, при мутации в гене MYD88. В преclinical моделях наблюдалось значительное

торможение роста саркомы у мышей. Другим подходом повышения эффективности было создание комбинированной молекулы – низкие дозы ФНО в сочетании с элементом доставки к опухоли, например, аминопептидаза N (CD113), эффективность которой исследуется в III фазе у больных диссеминированным раком поджелудочной железы [27]. Интересным подходом терапии ФНО является способ доставки цитокина в опухоль при помощи опухолевой клетки. Циркулирующие клетки сепарируются из крови, нагружаются лентивирусом, содержащим вектор ФНО, и вводятся обратно в кровоток. В преclinical моделях наблюдается практически полное торможение опухолевого роста (меланома B16, карцинома Льюиса, аденокарцинома рака молочной железы) [30].

С другой стороны, представляется интересным тот факт, что ФНО может стимулировать опухолевый рост. В 1987 году Spriggs продемонстрировал активирующее влияние этого цитокина на клетки рака молочной железы. Кроме того, было обнаружено, что больные с высоким уровнем ФНО в плазме имеют плохой прогноз с точки зрения продолжительности жизни. Попытки объяснения данного факта сводились к проангиогенной активности низких доз ФНО за счет стимуляции VEGF и гиперпроницаемости сосудов. Кроме того этот цитокин является основным медиатором в микроокружении опухоли. Он стимулирует выработку стромального фактора (SDF1), лиганда хемокинов (CCL2), ИЛ-6 и фактора, подавляющего МФ (MIF). Это приводит к дифференцировке миелоидных клеток-предшественников в эндотелиоциты [27]. В работах Leibovich (1989) было показано, что внутрибрюшинное введение ФНО мышам с трансплантированной опухолью яичников приводит к формированию канцероматоза и стимулирует метастазирование. Объяснением этому факту послужили также данные лаборатории Karin M., в которой выявили способность некоторых опухолевых клеток выделять версикан (versican), внеклеточный матриксный протогликан, который активирует МФ через стимуляцию Toll-подобных рецепторов (TLR2 и TLR6) и способствует выбросу ИЛ-6 и ФНО [2, 25]. Другим доказательством туморогенного эффекта ФНО является небольшое число индуцированных опухолей у нокаутных, «TNF-», мышей [27]. Интересно отметить, что ФНО могут продуцировать как клетки микроокружения, так и непосредственно опухолевые клетки за счет повышения активности ФНО мРНК. Например, при раке почки VHL мутация приводит к активации секреции ФНО. Н. pylori за счет Tpa генов и RAS стимулирует образование ФНО при раке желудка [27].

Таким образом, предполагая стимулирующее влияние ФНО на рост опухоли, появились терапевтические стратегии, направленные на подавление функции этого цитокина. Были созданы моноклональные антитела против ФНО, эффективность которых была изучена в I и II фазах клинических исследований. При этом

был отмечен не только прямой антиФНО эффект, но и опосредованный через стимуляцию Treg и увеличение продукции ИЛ-17. Так, инфликсимаб, антиФНО-АТ, приводил к стабилизации опухоли у 7 из 41 больного распространенным раком. Наибольшая эффективность была отмечена у больных раком почки – более 50% больных наблюдалась стабилизация опухоли и у 3 из 39 был достигнут частичный регресс. У больных раком яичников этанерцепт (антиФНО-АТ) приводил к стабилизации у 6 из 30 больных [26, 28, 31].

Колонистимулирующие факторы

КСФ – особый вид цитокинов, участвующих в регуляции пролиферации и дифференцировки клеток гемопоэза. Гранулоцитарно-макрофагальный КСФ (ГМ-КСФ) и гранулоцитарный КСФ (Г-КСФ) участвуют в противоопухолевом иммунном ответе вследствие стимуляции дифференцировки клеток-предшественников костного мозга в гранулоциты, МФ, Т-клетки, НК-клетки, ДК. История их изучения насчитывает более 65 лет, когда впервые в 1950 г. в лаборатории D. Metcalf был открыт и охарактеризован КСФ [32].

КСФ – это гликопротеины, которые продуцируются клетками иммунной системы, фибробластами и эндотелиоцитами. Их функция реализуется через рецепторы КСФ, состоящих из нескольких субъединиц (α и β) и располагающихся на многих клетках в организме, в т.ч. и на опухолевых. Интересно отметить, что мутация в гене рецептора КСФ приводит к развитию врожденной нейтропении. Через цепь тирозинкиназных каскадов, включающих MAPK, JAK и STAT5, сигнал проходит к ядру клетки, вызывая пролиферацию и дифференцировку клеток [33].

Помимо стимуляции продукции, пролиферации, мобилизации и хемотаксиса гранулоцитов, КСФ участвуют в росте и миграции эндотелиальных клеток, снижают захват норэпинефрина, повышают активность остеокластов и блокируют функцию остеобластов [33].

Они одобрены к клиническому применению в лечении фебрильной нейтропении на фоне химиотерапии и лучевой терапии, однако, учитывая их функцию, обладают иммунотерапевтическим действием, а также стимулирующим влиянием на опухолевый рост [32].

Г-КСФ снижает продолжительность, степень нейтропении и частоту развития фебрильной нейтропении (ФН). Кроме того КСФ влияют на длительность госпитализации больных (менее 10 дней) и скорость восстановления гранулоцитов (на 1–2 дня быстрее). При этом КСФ не влияют на риск смерти в комбинации с антибактериальной терапией по сравнению только с терапией антибиотиками. Они входят в стандарт профилактики гематологических осложнений в

Европе и Америке у больных с высоким риском (т.е. более 20%) развития ФН и в качестве поддерживающей терапии при трансплантации костного мозга. На сегодняшний день в клинической практике используются препараты короткого действия, требующие ежедневного введения (филграстим, ленограстим), и пролонгированные формы (пегфилграстим) [13, 19].

Предполагая противоопухолевую активность, КСФ изучались во многих клинических исследованиях. ГМ-КСФ 125 мкг/м² каждые 14 дней в течение года применялся в адъювантном лечении больных меланомой III стадии. Пятилетняя безрецидивная выживаемость составила 67%, что сопоставимо с результатами терапии ИФН. При этом общая выживаемость не отличалась от группы, получающей плацебо (69,6 и 62,4 мес., $p=0,78$). В нескольких исследованиях использовалось внутриопухолевое введение КСФ (ГМ-КСФ 400 мкг/сут в течение 5 дней). Из 13 больных у 1 зарегистрирован частичный регресс, а у 8 – стабилизация процесса [33].

С целью повышения эффективности лечения проводились попытки комбинации КСФ с химиотерапией. Это были небольшие, в основном одноцентровые исследования, с общей эффективностью от 0 до 40% в конечном счете за счет эффекта цитостатиков [33].

Иммунотерапевтическая роль КСФ изучена в комбинации с другими биопрепаратами. Во-первых, изучалось сочетание КСФ и вакцины, как при одновременном назначении, так и при введении КСФ в место инъекции вакцины или внутривенно. Дозы КСФ, как правило, при таком подходе значительно меньше стандартных (250 мкг/м²/сут в течение 21 дня). В результате эффективность мультипептидной вакцины, включая gp100, и КСФ составила в среднем 27% (у 4 из 15 больных). В некоторых работах был обнаружен негативный результат комбинации. Это объясняется разнонаправленным механизмом действия КСФ: стимуляция ДК и индукция миелоидных клеток-супрессоров [32]. Для повышения эффективности подобного подхода комбинацию КСФ и вакцины сочетали с ИФН. Однако значимых положительных результатов не получили. Во-вторых, другим подходом реализации иммунного эффекта КСФ было повышение концентрации цитокина в опухолевом микроокружении за счет стимуляции клеток-продуцентов. К таким агентам относятся онколитические вирусы или векторы/плазмиды, кодирующие КСФ. Наиболее изучен из них вирус простого герпеса 1. Атенуированный HSV-1 за счет делеции генов ICP34.5 и ICP47, нагруженный вектором, кодирующим КСФ (T-VEC), вводился в организм и селективно реплицировался в злокачественных клетках, вызывая противоопухолевый иммунный ответ и торможение роста. В клинических исследованиях эффективность такого подхода составила 26%. В-третьих, были проведены попытки комбинации КСФ с check-point ингибита-

ми. ГМ-КСФ демонстрирует синергизм в комбинации с ипилимумабом. В исследовании E1608 сравнивалась эффективность КСФ 250 мкг/сутки с 1 по 14 день в комбинации с ипилимумабом и монотерапии СТЛ4 – ингибитора. В исследование было включено 245 больных меланомой и в группе комбинированной терапии наблюдалось увеличение общей выживаемости [32, 33, 36].

Стимуляция опухолевого роста на фоне введения КСФ была продемонстрирована в работах Shaked с соавт. Они обнаружили, что Г-КСФ и ГМ-КСФ на моделях меланомы и рака легкого способствуют мобилизации эндотелиальных клеток-предшественников и вызывают прогрессирование опухоли. Подобный эффект поддерживается избыточной секрецией Gr1+CD11b+ фактора-супрессора миелоидных клеток и активацией VEGF. При этом интересно отметить, что многие солидные опухоли по принципу аутокринной секреции выделяют КСФ. К ним относятся рак легкого, глиома, рак мочевого пузыря, колоректальный рак и меланома. В этой связи предпринимались попытки подавить функцию КСФ в опухолевом микроокружении путем использования различных доз цитокина

по принципу обратной связи, ДНК вакцин КСФ и онколитических вирусов. Результаты такого подхода трудно анализировать, учитывая лишь единичные наблюдения [32; 36].

Заключение

Таким образом, цитокины играют ключевую роль как в формировании противоопухолевого иммунного ответа, так и в патогенезе злокачественных опухолей. Их функции и клетки-эффекторы чрезвычайно разнообразны и, в большинстве своем, часто разнонаправлены. Кроме того, проведенные теоретические, экспериментальные и клинические исследования подчеркивают формирование, так называемой, цитокиновой сети или «коктейля» в опухолевом микроокружении. В этой связи, становится очевидным, что влияние лишь на один компонент подобной системы не приведет к значимым клиническим результатам. Поэтому, безусловно, необходим поиск предиктивного биомаркера и создание оптимальной терапевтической комбинации цитокинов с учетом молекулярно-генетических особенностей опухоли.

Список литературы

1. Su Z., Yang Z., Xie L., DeWitt J. P., Chen Y. Cancer therapy in the necroptosis era // *Cell Death Differ.* – 2016. – Vol. 23, No. 5 – P. 748–756.
2. Vaccelli E., Aranda F., Bloy N., Buqué A., Cremer I., Eggermont A., Fridman W.H., Fucikova J., Galon J., Spisek R., Zitvogel L., Kroemer G. and Galluzzi L. Trial Watch-Immuno-stimulation with cytokines in cancer therapy // *Oncoimmunology.* – 2016. – Vol. 5, No. 2 – P. e1115942–43.
3. Buchbinder E.I., McDermott D.F. Interferon, interleukin-2, and other cytokines // *Hematology/oncology Clinics of North America.* – 2014. – Vol. 28, No. 3. – P. 571–583.
4. Parker B.S., Rautela J., Hertzog P.J. Antitumour actions of interferons: implications for cancer therapy // *Nat Rev Cancer.* – 2016. – Vol. 16, No. 3. – P. 131–144.
5. Lippitz B.E. Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review // *The lancet oncology.* – 2013. – Vol. 14, No. 6. – P. e218–e228.
6. Jonasch E., Haluska F.G. Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities // *Oncologist.* – 2001. – Vol. 6, No. 1. – P. 34–55.
7. Ortiz A., Fuchs S.Y. Anti-metastatic functions of type 1 interferons: Foundation for the adjuvant therapy of cancer // *Cytokine.* – 2016. – Vol. 1, No. 10. – P. s1043–44.
8. Joshi S., Kaur S., Redig A.J. et al. Type I interferon (IFN)-dependent activation of Mnk1 and its role in the generation of growth inhibitory responses // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA.* – 2009. – Vol. 106, No. 29. – P. 12097–12102.
9. Sutlu T., Alici E. Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects // *Journal of Internal Medicine.* – 2009. – Vol. 266, No. 2. – P. 154–181.
10. Margolin K. Cytokine therapy in cancer // *Expert opinion on biological therapy.* – 2008. – Vol. 8, No. 10. – P. 1495–1505.
11. Green D.S., Nunes A.T., Annunziata C.M. and Zoon K.C. Monocyte and interferon based therapy for the treatment of ovarian cancer // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2016. – Vol. 1, No. 12. – P. S006–012.
12. Buoncervello M., Romagnoli G., Buccarelli M., Fragale A., Toschi E., Parlato S., Lucchetti D., Macchia D., Spada M., Canini I., Sanchez M., Falchi M., Musella M., Biffoni M., Belardelli F., Capone I., Sgambato A., Ricci-Vitiani L., Gabriele L. IFN- α potentiates the direct and immune-mediated antitumor effects of epigenetic drugs on both metastatic and stem cells of colorectal cancer // *Oncotarget.* – 2016. – Vol. 7, No. 19. – P. 27108–18.
13. Yin H., Chen N., Guo R., Wang H., Li W., Wang G., Cui J., Jin H., Hu J.F. Antitumor potential of a synthetic interferon-alpha/PLGF-2 positive charge peptide hybrid molecule in pancreatic cancer cells // *Sci Rep.* – 2015. – Vol. 5, No. 5. – P. 16975–76.

14. Kapoor A.K., Hotte S.J. Current status of cytokine therapy in management of patients with metastatic renal cell carcinoma // *Can Urol Assoc J.* – 2007. – Vol. 1, No. 2. – P. S28–33.
15. Voronov E., Carmi Y., Apte R.N. The role IL-1 in tumor-mediated angiogenesis // *Front Physiol.* – 2014. – Vol. 5, No. 5. – P. 114–115.
16. Narayanan K.B., Park H.H. Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain-mediated cellular signaling pathways // *Apoptosis.* – Vol. 20, No. 2. – P. 196–209.
17. Dinarello C.A. Biologic basis for interleukin-1 in disease // *Blood.* – 1996. – Vol. 87, No. 6. – P. 2095–2147.
18. Plataniias L.C., Vogelzang N.J. Interleukin-1: biology, pathophysiology, and clinical prospects // *The American journal of medicine.* – 1990. – Vol. 89, No. 5. – P. 621–629.
19. Waldmann T.A. The shared and contrasting roles of IL2 and IL15 in the life and death of normal and neoplastic lymphocytes: implications for cancer therapy // *Cancer Immunol Res.* – 2015. – Vol. 3, No. 3. – P. 219–27.
20. Skrombolas D., Frelinger J.G. Challenges and developing solutions for increasing the benefits of IL-2 treatment in tumor therapy // *Expert Rev Clin Immunol.* – 2014. – Vol. 10, No. 2. – P. 207–17.
21. Veltri S., Smith J. Interleukin 1 Trials in Cancer Patients: A Review of the Toxicity, Antitumor and Hematopoietic Effects // *Oncologist.* – 1999. – Vol. 1, No. 2. – P. 199–206.
22. Li Y., Liu S., Margolin K. et al. Summary of the primer on tumor immunology and the biological therapy of cancer // *Journal of Translational Medicine.* – 2009. – Vol. 7, No. 3. – P. 11–16.
23. Cesana G.C., De Raffeale et al. Characterization of CD4+CD25+ regulatory T cells in patients treated with high-dose Interleukin-2 for metastatic melanoma or renal carcinoma // *J Clin Oncol.* – 2006. – Vol. 24, No. 4. – P. 1169–77.
24. Rosenberg S. Interleukin-2 and the development of immunotherapy for the treatment of patients with cancer // *Cancer J Sci Am.* – 2000. – suppl. 1. – P. S2–S7.
25. Thompson J.A., Fisher R.I., Leblanc M. et al. Total body irradiation, etoposide, cyclophosphamide and autologous peripheral blood stem cell transplantation followed by randomization to therapy with interleukin-2 versus observation for patients with non-Hodgkin's lymphoma: results of a phase III randomized trial by the Southwest Oncology Group (SWOG 9438) // *Blood.* – 2008. – Vol. 111, No. 12. – P. 4048–54.
26. Comen E., Wojnarowicz P., Sesban V.E., Shab R., Coker C., Norton L., Benezra R. TNF is a key cytokine mediating neutrophil cytotoxic activity in breast cancer patients // *NPJ Breast Cancer.* – 2016. – Vol. 2, No. 2. – P. 16009–16.
27. Balkwill F. Tumour necrosis factor and cancer // *Nature Reviews Cancer.* – 2009. – Vol. 9, No. 5. – P. 361–371.
28. Burton E.R., Libutti S.K. Targeting TNF- α for cancer therapy // *Journal of biology.* – 2009. – Vol. 8, No. 1. – P. 1–10.
29. Van Horssen R., Ten Hagen T.L., Eggermont A.M. TNF-alpha in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility // *Oncologist/* – 2006. – Vol. 11, No. 4. – P. 397–408.
30. Dondossola E., Dobroff A.S., Marchiò S., Cardó-Vila M., Hosoya H., Libutti S.K., Corti A., Sidman R.L., Arap W., Pasqualini R. Self-targeting of TNF-releasing cancer cells in preclinical models of primary and metastatic tumors // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2016. – Vol. 113, No. 4. – P. 2223–8.
31. Tse B.W., Scott K.F., Russell P.J. Paradoxical roles of tumour necrosis factor-alpha in prostate cancer biology // *Prostate Cancer.* – 2012. – Vol. 12, No. 12. – P. 965–66.
32. Alexander W.S. In vivo at last: Demonstrating the biological credentials and clinical potential of GM-CSF // *Exp Hematol.* – 2016. – Vol.1, No. 2. – P. 1–12.
33. Cetean S., Căinaş C., Constantin A.M., Căinaş S., Gherman A., Oprean L., Hangan A., Oprean R. The importance of the granulocyte-colony stimulating factor in oncology // *Clujul Med.* – 2015. – Vol. 88, No. 4 – P. 468–72.
34. Aliper A.M., Frieden-Korovkina V.P., Buzdin A., Roumiantsev S.A., Zhavoronkov A.A. Role for G-CSF and GM-CSF in nonmyeloid cancers // *Cancer Med.* – 2014. – Vol. 3, No. 4. – P. 737–46.
35. Mbaskar R., Clark O.A., Lyman G., Engel Ayer Botrel T., Morganti Paladini L., Djulbegovic B. Colony-stimulating factors for chemotherapy-induced febrile neutropenia // *Cochrane Database Syst Rev.* – 2014. – Vol. 10, No. 3. – P. 2–36.
36. Kaufman H.L., Ruby C.E., Hughes T., Slingluff C.L. Current status of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the immunotherapy of melanoma // *J Immunother Cancer.* – 2014. – Vol. 2, No. 11. – P. 1–14.

References

1. Su Z., Yang Z., Xie L., DeWitt J. P., Chen Y. Cancer therapy in the necroptosis era // *Cell Death Differ.* – 2016 May;23(5):748–56. doi: 10.1038/cdd.2016.8. Epub 2016 Feb 26. PMID: 26915291.
2. Vaccbelli E., Aranda F., Bloy N., Buqué A., Cremer I., Eggermont A., Fridman W.H., Fucikova J., Galon J., Spisek R., Zitvogel L., Kroemer G., Galluzzi L. Trial Watch-Immuno-stimulation with cytokines in cancer therapy // *Oncoimmunology.* – 2015 Dec 8;5(2):e1115942. eCollection 2016. PMID: 27057468.
3. Buchbinder E.I., McDermott D.F. Interferon, interleukin-2, and other cytokines // *Hematology/oncology Clinics of North America.* – 2014 Jun;28(3):571–83. doi: 10.1016/j.hoc.2014.02.001. Epub 2014 Apr 3. PMID: 24880948.
4. Parker B.S., Rautela J., Hertzog P.J. Antitumour actions of interferons: implications for cancer therapy // *Nat Rev Cancer.* – 2016 Feb 25;16(3):131–44. doi: 10.1038/nrc.2016.14. PMID: 26911188.

5. *Lippitz B.E.* Cytokine patterns in patients with cancer: a systematic review // *The lancet oncology*. – 2013 May;14(6):e218-28. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70582-X. PMID: 23639322.
6. *Jonasch E., Haluska F.G.* Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities // *Oncologist*. – 2001;6(1):34-55. PMID: 11161227.
7. *Ortiz A. and Fuchs S.Y.* Anti-metastatic functions of type 1 interferons: Foundation for the adjuvant therapy of cancer // *Cytokine*. – 2016 Jan 25. pii: S1043-4666(16)30010-2. doi: 10.1016/j.cyto.2016.01.010. [Epub ahead of print]. PMID: 26822709.
8. *Josbi S., Kaur S., Redig A.J. et al.* Type I interferon (IFN)-dependent activation of Mnk1 and its role in the generation of growth inhibitory responses // *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. – 2009 Jul 21;106(29):12097-102. doi: 10.1073/pnas.0900562106. Epub 2009 Jul 2. PMID: 19574459.
9. *Sutlu T., Alici E.* Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects // *Journal of Internal Medicine*. – 2009 Aug;266(2):154-81. doi: 10.1111/j.1365-2796.2009.02121.x. PMID: 19614820.
10. *Margolin K.* Cytokine therapy in cancer // *Expert opinion on biological therapy*. – 2008 Oct;8(10):1495-505. doi: 10.1517/14712598.8.10.1495. PMID: 18774918.
11. *Green D.S., Nunes A.T., Annunziata C.M., Zoon K.C.* Monocyte and interferon based therapy for the treatment of ovarian cancer // *Cytokine Growth Factor Rev*. 2016 Mar 15. pii: S1359-6101(16)30030-2. doi: 10.1016/j.cytogfr.2016.02.006. [Epub ahead of print]. PMID: 27026228.
12. *Buoncervello M., Romagnoli G., Buccarelli M., Fragale A., Toschi E., Parlato S., Lucchetti D., Macchia D., Spada M., Canini I., Sanchez M., Falchi M., Musella M., Biffoni M., Belardelli F., Capone I., Sgambato A., Ricci-Vitiani L., Gabriele L.* IFN- α potentiates the direct and immune-mediated antitumor effects of epigenetic drugs on both metastatic and stem cells of colorectal cancer // *Oncotarget*. 2016;7(19):27108-18.
13. *Yin H., Chen N., Guo R., Wang H., Li W., Wang G., Cui J., Jin H., Hu J.F.* Antitumor potential of a synthetic interferon-alpha/PLGF-2 positive charge peptide hybrid molecule in pancreatic cancer cells // *Sci Rep*. 2015; 5(5):16975-76.
14. *Kapoor A.K., Hotte S.J.* Current status of cytokine therapy in management of patients with metastatic renal cell carcinoma // *Can Urol Assoc J*. 2007 Jun;1(2 Suppl):S28-33. PMID: 18542782.
15. *Voronov E., Carmi Y., Apte R.N.* The role IL-1 in tumor-mediated angiogenesis // *Front Physiol*. 2014 Mar 28;5:114. doi: 10.3389/fphys.2014.00114. eCollection 2014. PMID: 24734023.
16. *Narayanan K.B., Park H.H.* Toll/interleukin-1 receptor (TIR) domain-mediated cellular signaling pathways // *Apoptosis*. 2015 Feb;20(2):196-209. doi: 10.1007/s10495-014-1073-1. PMID: 25563856.
17. *Dinarelli C.A.* Biologic basis for interleukin-1 in disease // *Blood*. 1996 Mar 15;87(6):2095-147. PMID: 8630372.
18. *Platanias L.C., Vogelzang N.J.* Interleukin-1: biology, pathophysiology, and clinical prospects // *The American journal of medicine*. 1990 Nov;89(5):621-9. PMID: 2239982.
19. *Waldmann T.A.* The shared and contrasting roles of IL2 and IL15 in the life and death of normal and neoplastic lymphocytes: implications for cancer therapy // *Cancer Immunol Res*. 2015 Mar;3(3):219-27. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-15-0009. PMID: 25736261.
20. *Skrombolas D., Frelinger J.G.* Challenges and developing solutions for increasing the benefits of IL-2 treatment in tumor therapy // *Expert Rev Clin Immunol*. 2014 Feb;10(2):207-17. doi: 10.1586/1744666X.2014.875856. PMID: 24410537.
21. *Veltri S., Smith J.* Interleukin 1 Trials in Cancer Patients: A Review of the Toxicity, Antitumor and Hematopoietic Effects // *Oncologist*. 1999;1(2):199-206.
22. *Li Y., Liu S., Margolin K. et al.* Summary of the primer on tumor immunology and the biological therapy of cancer // *Journal of Translational Medicine*. 2009 Jan 28;7:11. doi: 10.1186/1479-5876-7-11. PMID: 19175928.
23. *Cesana G.C., De Raffele et al.* Characterization of CD4+CD25+ regulatory T cells in patients treated with high-dose Interleukin-2 for metastatic melanoma or renal carcinoma // *J Clin Oncol*. 2006;24(4):1169-77.
24. *Rosenberg S.* Interleukin-2 and the development of immunotherapy for the treatment of patients with cancer // *Cancer J Sci Am*. 2000;(suppl. 1):S2-S7.
25. *Thompson J.A., Fisher R.I., Leblanc M. et al.* Total body irradiation, etoposide, cyclophosphamide and autologous peripheral blood stem cell transplantation followed by randomization to therapy with interleukin-2 versus observation for patients with non-Hodgkin's lymphoma: results of a phase III randomized trial by the Southwest Oncology Group (SWOG 9438) // *Blood*. 2008;111(12):4048-54.
26. *Comen E., Wojnarowicz P., Seshan V.E., Shab R., Coker C., Norton L., Benezra R.* TNF is a key cytokine mediating neutrophil cytotoxic activity in breast cancer patients // *NPJ Breast Cancer*. – 2016;2(2):16009-16.
27. *Balkwill F.* Tumour necrosis factor and cancer // *Nature Reviews Cancer*. 2009;9(5):361-71.
28. *Burton E.R., Libutti S.K.* Targeting TNF- α for cancer therapy // *Journal of biology*. 2009 Oct 23;8(9):85. doi: 10.1186/jbiol189. PMID: 19863762.
29. *Van Harsen R., Ten Hagen T.L., Eggermont A.M.* TNF-alpha in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility // *Oncologist* / 2006 Apr;11(4):397-408. PMID: 16614236.
30. *Dondossola E., Dobroff A.S., Marchio S., Cardó-Vila M., Hosoya H., Libutti S.K., Corti A., Sidman R.L., Arap W., Pasqualini R.* Self-targeting of TNF-releasing cancer cells in preclinical models of primary and metastatic tumors // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016 Feb 23;113(8):2223-8. doi: 10.1073/pnas.1525697113. Epub 2016 Feb 8. PMID: 26858439.
31. *Tse B.W., Scott K.F., Russell P.J.* Paradoxical roles of tumour necrosis factor-alpha in prostate cancer biology // *Prostate Cancer*. 2012;2012:128965. doi: 10.1155/2012/128965. Epub 2012 Dec 27. PMID: 23326670.

32. *Alexander W.S.* In vivo at last: Demonstrating the biological credentials and clinical potential of GM-CSF // *Exp Hematol.* 2016 Feb 1. pii: S0301-472X(16)00035-7. doi: 10.1016/j.exphem.2016.01.006. [Epub ahead of print]. PMID: 26835837.

33. *Cetean S., Căinap C., Constantin A.M., Căinap S., Gherman A., Oprean L., Hangan A., Oprean R.* The importance of the granulocyte-colony stimulating factor in oncology // *Clujul Med.* 2015;88(4): 468–72.

34. *Aliper A.M., Frieden-Korovkina V.P., Buzdin A., Roumiantsev S.A., Zhavoronkov A.A.* Role for G-CSF and GM-CSF in nonmyeloid cancers // *Cancer Med.* 2014 Aug;3(4):737-46. doi: 10.1002/cam4.239. Epub 2014 Apr 2. PMID: 24692240.

35. *Mhaskar R., Clark O.A., Lyman G., Engel Ayer Botrel T., Morganti Paladini L., Djulbegovic B.* Colony-stimulating factors for chemotherapy-induced febrile neutropenia // *Cochrane Database Syst Rev.* 2014 Oct 30;10:CD003039. doi: 10.1002/14651858.CD003039.pub2. PMID: 25356786.

36. *Kaufman H.L., Ruby C.E., Hughes T., Slingluff C.L.* Current status of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in the immunotherapy of melanoma // *J Immunother Cancer.* 2014 May 13;2:11. doi: 10.1186/2051-1426-2-11. eCollection 2014. PMID: 24971166.