

Российский  
онкологический научный  
центр им. Н.Н. Блохина РАМН,  
Москва

## ЦИТОКИНЫ

З.Г. Кадагидзе

*Чрезвычайно важно  
значение цитокиновых  
сигналов  
для функционирования  
многих процессов  
в организме человека,  
и дальнейшее изучение  
механизмов  
взаимодействия  
цитокинов и клеток-  
мишеней будет  
способствовать их  
клиническому применению,  
в том числе в онкологии.*

**Цитокины** – биологически активные вещества пептидной природы, регулирующие широкий спектр процессов, протекающих в организме. Термин «цитокины» был предложен N.Cohen в 1974 г, и в это время считалось, что они вырабатываются клетками иммунной системы, являясь одновременно и ее регуляторами. В последние годы появились данные, что продуцентами цитокинов могут быть и эндотелиальные клетки, причем вырабатываемые ими цитокины также участвуют в регуляции процессов гемопоэза, хемотаксиса лейкоцитов, дифференцировке иммунокомпетентных клеток, синтезе острофазных белков. Цитокины могут быть как в секретируемой, так и мембранно-связанной формах, а их действие может осуществляться как внеклеточным – «паракринным», так и внутриклеточным «аутокринным» путём через соответствующие клеточные рецепторы. Основными функциями цитокинов являются: регуляция гемопоэза, иммунного ответа и воспалительных процессов, участие в ангиогенезе, апоптозе, хемотаксисе, эмбриогенезе. Продукция цитокинов определяет развитие ряда заболеваний, в связи с чем встает вопрос об их использовании или применении антагонистов к ним в терапевтических целях.

В настоящее время выявлено и охарактеризовано около 30 цитокинов, однако, в данном обзоре основное внимание будет уделено цитокинам, играющим важную роль в развитии злокачественных заболеваний и являющимися перспективными для использования в комплексном лечении опухолей.

Функциональные свойства цитокинов

Функции	Цитокины
Гемопоэз	ИЛ-3, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, ИЛ-11, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-14, Г-КСФ, ГМ-КСФ, М-КСФ
Регуляция иммунного ответа (созревание, пролиферация и функциональная активность иммунокомпетентных клеток)	Интерфероны I и II типа, ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-15, ИЛ-18, фактор некроза опухолей (ФНО)
Воспаление	ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-11, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-16, ИЛ-18
Апоптоз	ИЛ-3, ИЛ-5, ИЛ-6, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-12, ИФ- $\alpha$
Ангиогенез	ГМ-КСФ, Г-КСФ, ТРФ, ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8, ИЛ-13
Нейрогенез	ИЛ-1, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-11

В этой таблице приведены далеко не все процессы, в которых участвуют цитокины.

**Интерферон** был открыт в 1957 г. А. Isaaks и Y. Lindenmann, в настоящее время семейство интерферонов представляет группу секреторных гликопротеидов, обладающих рядом биологических свойств: 1) антивирусное; 2) антипролиферативное; 3) повышающее активности эффекторов естественного и специфического иммунитета; 4) регулирующие процессы клеточной дифференцировки; 5) стимулирующее процессы апоптоза; 6) уменьшающее образование фиброза; 7) усиливающее действие цитостатических препаратов.

Интерфероны делятся на два основных типа: первый – ИФН-1 включает ИФН- $\alpha$  (лейкоцитарный), ИФН- $\beta$  (фибробластный), ИФН $\omega$  и ИФН $\gamma$ , т.е. интерфероны, продукция которых индуцируется непосредственно вирусами и опухолевыми клетками. К настоящему времени описано 24 подтипа ИФН- $\alpha$  и ИФН- $\beta$ . Хотя представители этой группы ИФН достаточно хорошо изучены, ИФН $\gamma$  охарактеризован лишь недавно. Установлено, что на 45–55% он гомологичен ИФН- $\alpha$  и в той же степени обладает противовирусной активностью. Биологическими свойствами этой группы ИФН являются:

- 1) подавление репликации вирусов;
- 2) подавление клеточной пролиферации;
- 3) повышение литического потенциала естественных киллеров;
- 4) модулирование экспрессии молекул МНС-1 класса (главного комплекса гистосовместимости).

Второй тип – ИФН-2 – представлен ИФН- $\gamma$  (иммунный ИФН), который образуется при стимуляции различными антигенами Т-лимфоцитов. По большинству своих свойств ИФН- $\gamma$  похож на ИФН-1, однако существенным отличием является его способность влиять на процессы иммунорегуляции. ИФН- $\gamma$ :

- 1) активизирует мононуклеарные фагоциты;
- 2) повышает экспрессию молекул МНС-I и -II класса;
- 3) непосредственно влияет на дифференцировку Т- и В-лимфоцитов;
- 4) активизирует нейтрофилы и естественные киллеры;
- 5) является активатором васкулярных эндотелиальных клеток.

Одним из первых было открытие противовирусного действия ИФН, проявляющееся как против неонкогенных, так и онкогенных вирусов. Механизм этого действия заключается во взаимодействии ИФН со специфическим рецептором вирусов, в результате чего происходят определенные ферментативные изменения, в частности, синтез протеинкиназы и 2,5-олигоденилатсинтазы, способствующие, в свою очередь, нарушению механизмов транскрипции и трансляции вирусных белков. Чрезвычайно важным является антипролиферативное действие ИФН в отношении как нормальных, так и опухолевых клеток-мишеней. Механизм этого эффекта ИФН еще недостаточно изучен: известно, что под воздействием препарата происходит замедление деления клеток, удлинение общего времени клеточной генерации –  $G_1$ ,  $G_2$  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.

Первое сообщение о применении ИФН в терапии опухолей появилось в 1966 г., когда E. Falcoff и соавт. показали, что длительное введение человеческого лейкоцитарного ИФН способствовало увеличению жизни больных острым лейкозом. 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 высокая эффективность отмечается при использовании ИФН при метастатическом раке почки, для предупреждения рецидивов и метастазов злокачественной меланомы и острого лейкоза у детей.

Одним из механизмов противоопухолевого действия ИФН считают его воздействие на иммунную систему человека. Известно, что ИФН стимулирует активность клеток естественной защиты организма (ЕК-клеток), что часто используется как контроль действия ИФН у онкологических больных. В то же время данные о влиянии ИФН на различные иммунорегуляторные популяции иммунокомпетентных клеток довольно противоречивы. В НИИ КО РОНЦ РАМН было обследовано 118 больных распространенным раком почки, получавших ИФН- $\alpha 2a$  (Roferon-A) в режиме монотерапии. Исследование иммунологического статуса проводили до, после и в процессе лечения, а также анализировали динамику иммунологических показателей в зависимости от эффекта лечения. Оказалось, что исходное состояние иммунологического статуса имеет более существенное значение для клинического эффекта, чем изменения его показателей в процессе лечения: нормальный или высокий процент лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD 25, CD 38, HLA-Dr, а также нормальный или высокий уровень активности ЕК-клеток наиболее характерны для больных с последующим положительным клиническим ответом на ИФН-терапию.

Еще в конце 80-х годов в экспериментальных работах было показано, что ИФН повышает чувствительность опухолевых клеток к специфическим методам лечения; так, комбинации ИФН с циклофосфамидом, метотрексатом, винбластином, цисплатиной и некоторыми другими препаратами увеличивала продолжительность жизни мышей с различными видами злокачественных новообразований (лейкозы, лимфомы, рак молочной железы). Позднее аналогичные результаты были получены и на бестимусных мышках с перевиваемыми опухолями человека. В связи с этим в лаборатории клинической иммунологии РОНЦ РАМН было проведено исследова-

ние по выяснению возможности влияния ИФН на механизм множественной лекарственной устойчивости, обусловленной гиперэкспрессией гена MDR-1, кодирующего мембранный Р-гликопротеин (сокращенно Р-gp). Прямая зависимость между экспрессией гена MDR-1 и чувствительностью к химиопрепаратам была показана как для гемобластозов, так и солидных опухолей. Е. Г. Славиной и соавт. [3] было изучено влияние рекомбинантного человеческого ИФН- $\alpha$  на чувствительность к цитотоксическому действию винкристина, доксорубина и 5-фторурацила клеток K-562 и HT-29 интактных и гиперэкспрессирующих ген MDR-1. Оказалось, что ИФН в равной мере усиливал цитотоксичность доксорубина и винкристина в отношении как интактных клеток, так и трансфицированных геном MDR-1. Кроме того, усиливается также цитотоксическое действие 5-фторурацила – лекарства, действие которого не контролируется геном MDR-1. В опытах по специальному исследованию механизма функционирования белка Р-gp показано, что ИФН не влиял на выброс родамина 123, т.е. механизм действия ИФН, усиливающий чувствительность опухолевых клеток к противоопухолевым лекарствам, не связан с геном MDR-1.

Другим аспектом действия ИФН является его возможное влияние на апоптоз. Имеются отрывочные и противоречивые данные об индукции самим ИФН апоптоза в опухолевых клетках, а также о модуляции апоптоз-индуцирующей активности других проапоптотических агентов, в частности ФНО, и антител к FAS/APO-1 антигену, правда, в основном, такого рода данные описаны для ИФН- $\gamma$ . 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. Добавление в культуру одновременно с противоопухолевыми лекарствами интерферона усиливало цитотоксическое и апоптоз-индуцирующее 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 апоптоз-индуцирующего 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 апоптоз-индуцирующей активности противоопухолевых лекарств связано с гиперэкспрессией гена Bcl-2.

**ИЛ-1** – полипептид (15 – 17 кДа), впервые был описан в 1972 г. как фактор, производимый мононуклеар-

ными фагоцитами и усиливающий Т-клеточный ответ на антигены или поликлональные активаторы, т.е. ко-стимулятор Т-клеточной активации. Исследование генов ИЛ-1 показало, что существует два различных белка – ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ , имеющие сходную активность и молекулярную массу и различающиеся по изоэлектрической точке. Считается, что ИЛ-1 является лидирующим среди цитокинов воспаления. В то же время ИЛ-1 обладает большим влиянием на иммунорегуляторные процессы: усиливает пролиферацию CD4<sup>+</sup>-клеток, рост и дифференцировку В-клеток, индуцирует продукцию ИЛ-2 и экспрессию его рецептора, способствует активации продукции антител, усиливает связывание ЕК с опухолевыми клетками, действует на мононуклеарные фагоциты и клетки васкулярного эндотелия, стимулируя дальнейшую продукцию ими ИЛ-1 и вызывая синтез 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 $\alpha$ , так и ИЛ-1 $\beta$ , обладает ряд опухолевых клеток, в связи с чем полагают, что продукция ИЛ-1 может способствовать пролиферации последних [1]. В пользу такого предположения свидетельствуют данные о том, что индукция системного воспаления с последующим введением мышам клеток меланомы B-16 приводила к активному метастазированию. 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. До настоящего времени остается спорным вопрос о ведущей роли в развитии опухолевого процесса ИЛ-1 $\alpha$  или ИЛ-1 $\beta$ , хотя большее внимание в этом отношении уделяется ИЛ-1 $\beta$ , 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, остром и хроническом миелобластном лейкозах и множественной миеломе. Полагают, что при этих заболеваниях ИЛ-1 способствует продукции ИЛ-6, который, в свою очередь, стимулирует пролиферацию опухолевых клеток. На этой основе разрабатываются методы блокирования продукции ИЛ-1 и его рецепторов с помощью соответствующих МКА.

В то же время ИЛ-1 может ингибировать опухолевую пролиферацию, индуцируя такие цитокины, как ФНО- $\alpha$ , 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. Имеется отечественный препарат рекомбинантного ИЛ-1 – «беталейкин».

**ИЛ-2** – 15 кДа – был открыт и клонирован в 1980 г. как фактор роста Т-клеток. Он продуцируется активированными Т-клетками и способствует дальнейшему росту активированных Т-лимфоцитов. В основе действия ИЛ-2 на лимфоциты лежит:

1) стимуляция иммунного ответа за счет активации Т-клеточных популяций. ИЛ-2 стимулирует синтез других, продуцируемых Т-клетками цитокинов, в частности ИФ- $\gamma$ , ФНО;

2) стимуляция роста естественных киллеров и усиление их цитолитических функций с образованием так называемых лимфокинактированных киллеров (ЛАК);

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

4) повышение образования эозинофилов и тромбоцитов, но подавляет миелоидный и эритроидный ростки кроветворения, способствуя развитию экстрамедулярных очагов гемопоэза.

Рецептор ИЛ-2 состоит из 3 цепей:  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ . На покоящихся Т-клетках экспрессируются  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепи и с умеренной афинностью связываются с ИЛ-2. При активации Т-клеток активируется  $\alpha$ -цепь, которая формирует высокоафинный рецептор вместе с  $\beta$ - и  $\gamma$ -цепями, причем ИЛ-2 обладает способностью усиливать экспрессию рецепторов для ИЛ-2 обладает ИФ- $\gamma$ , а ИЛ-4 подавляет её. Таким образом, ИЛ-2 является важным медиатором в основном клеточного иммунитета. Известно, что у мышей, нокаутированных по ИЛ-2, снижается Т-клеточный иммунный ответ к большинству антигенов. 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 (подкожных и легочных), причем эффект был дозозависимым. S. Rosenberg и соавт. провели ряд экспериментов с целью изучения противоопухолевого эффекта как ИЛ-2, так и его комбинации с ЛАК. Оказалось, что введение ИЛ-2+ЛАК приводило к регрессии микрометастазов мно-

гих 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, аденокарциномы, 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: самостоятельно в различных дозах, ИЛ-2+ЛАК, ИЛ-2+ИФ, ИЛ-2+цитостатики и другие. Однако, несмотря на очень большие надежды, спектр опухолей, при которых ИЛ-2 эффективен, оказался довольно узким. Наилучшие результаты получены при раке почки и метастатической меланоме. При других формах злокачественных новообразований клинические эффекты незначительны. Определенные положительные результаты получены у больных со злокачественными экссудативным плевритом и асцитом. Гистологические исследования кожных метастазов у больных с эффективно леченной меланомой выявили значительную инфильтрацию опухолей лимфоцитами. Тем не менее, хотя доказана роль ЕК и цитотоксических Т-клеток в эффекте ИЛ-2 терапии, механизм противоопухолевого эффекта ИЛ-2 еще недостаточно ясен. Длительные инфузии ИЛ-2 в низких дозах применяются для стимуляции иммунного ответа против инфекционных агентов и подавления роста опухолевых клеток у больных с гемобластомами после трансплантации костного мозга; при этом отмечается увеличение количества и активности ЕК-клеток. ИЛ-2 активно используется при получении противоопухолевых генно-инженерных вакцин: введение опухолевых клеток, трансфецированных опухолево-ассоциированным антигеном совместно с ИЛ-2 значительно повышало эффект иммунизации. Клинические исследования у больных со злокачественной меланомой показали, что введение такой вакцины более успешно, чем применение только одного пептида, выделенного из меланомных клеток, или только ИЛ-2. Полагают, что ИЛ-2, способствуя активации цитотоксических Т-лимфоцитов, повышает распознавание антигенов системы НЛА. Способность ИЛ-2 повышать презентацию антигена иммунокомпетентным клеткам используется и при получении вакцин на основе дендритных клеток.

**ИЛ-3** – белок с молекулярной массой 21–36 кДа, впервые описан в 1981 г. как фактор дифференцировки Т-лимфоцитов. ИЛ-3 продуцируется Т-хелперами 1-го и 2-го класса, а также рядом других клеток (В-лимфоциты, миелоидные клетки, стромальные клетки костного мозга, астроциты головного мозга, кератиноциты). Установлено, что ИЛ-3 является полипептидом, стимулирующим рост, дифференцировку и выживание ранних кроветворных клеток-предшественников, кроме того, он стимулирует образование макрофагов, гранулоцитов и дендритных клеток из костномозговых предшественни-

ков, активирует эозинофилы и тормозит развитие К-клеток, является ростовым фактором для тучных клеток. Таким образом, ИЛ-3 участвует в развитии аллергических реакций, влияет на ранние стадии гемопоэза, Т- и В-клеточного гемопоэза. 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. В настоящее время ИЛ-3 в комбинации с ростовыми факторами используется для поддержания пролиферации как мышиных, так и человеческих клеток в культуре ткани.

**ИЛ-4** – гликопротеин с молекулярной массой 19–22 кДа, продуцируется Т-хелперами 2-го класса, способствует их дифференцировке. ИЛ-4 является сильным ростовым фактором для В-лимфоцитов, способствуя активации и размножению покоящихся клеток, усиливает выработку IgE и IgG1, поддерживает пролиферацию серозных тучных клеток. По ряду своих функций он является двойником или антагонистом некоторых цитокинов. Так, ИЛ-4 способен подавлять секрецию макрофагами ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО, повышать экспрессию антигенов HLA I и II классов (как интерферон), усиливать пролиферацию Т-лимфоцитов и активированных зрелых Т-клеток. Таким образом, ИЛ-4 играет важную роль в развитии аллергических и противовоспалительных реакций. Установлено, что клетки большинства опухолей человека продуцируют ИЛ-4 и его рецепторы, которые отличаются высокой афинностью. 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 обусловлено его способностью снижать экспрессию 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 дендритных клеток, а вместе с другими цитокинами способствует повышению их антиген-презентирующей способности.

**ИЛ-5** – гомодимер с молекулярной массой 45–60 кДа, продуцируется Т-хелперами 2-го класса. Основным его действием является регуляция пролиферации и дифференцировки эозинофилов, дифференцировки В-лимфоцитов в плазматические клетки, повышение выработки IgA. Эти исследования указывают на значительную роль ИЛ-5 в аллергических реакциях и в воспалительных процессах. Имеющиеся данные свидетельствуют о способности ИЛ-5 стимулировать цитотоксические Т-лимфоциты, участвовать в апоптозе, что позволяет предполагать его возможную противоопухолевую активность. В подтверждении этого тезиса свидетельствует ряд экспериментальных исследований о цитотоксическом

действии активированных ИЛ-5 эозинофилов в отношении клеток-мишеней [4].

**Интерлейкин 6 (ИЛ-6)** – гликопротеин с молекулярной массой 20–30 кДа, синтезируется мононуклеарными фагоцитами, фибробластами, лимфоцитами, гепатоцитами, эндотелиальными, мезангиальными и другими клетками [8]. Индукторами выработки ИЛ-6 являются ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , интерфероны, колониестимулирующие факторы, бактериальные продукты, митогены. 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, усиливает антителообразование, участвует в продукции мультипотентных колониобразующих факторов и мегакариоцитов, может подавлять апоптоз нейтрофилов, обладающих высокой цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток, стимулирует гепатоциты к синтезу различных белков плазмы. В последнее время показано, что ИЛ-6 является ко-стимулятором Т-клеток и тимоцитов, а также усиливает действие ИЛ-3, колониестимулирующих факторов, образование ЛАК-клеток под влиянием ИЛ-2 и ЕК-клеток при действии ИФН- $\gamma$ . Молекулами-аналогами ИЛ-6 являются: фактор стимуляции В-клеток BSF-2, ИНФ- $\beta$ 2, фактор роста гибридом/плазмодитом (HPGF), фактор стимуляции гепатоцитов, макрофагально-гранулоцитарный индуцирующий фактор-2, фактор дифференцировки Т-клеток. Системное действие цитокина наиболее отчетливо проявляется при ряде патологий: миеломы и плазмацитомы, болезни Кастельмана, ревматоидном артрите, мезангиальном пролиферативном гломерулонефрите, миксеме сердца. Клетки опухолей различных экспериментальных линий способны продуцировать ИЛ-6 и экспрессировать его рецепторы. Имеются данные о способности ИЛ-6 потенцировать рост клеток миеломы. Показано, что ИЛ-6 стимулирует рост ряда экспериментальных опухолей: рака шейки матки, почки, толстой кишки, молочной и предстательной желез. 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:

1) неоэкспрессия ИЛ-6 в опухолях, возникающих из клеток в норме не продуцирующих ИЛ-6;

2) приобретение зависимости роста опухоли от ИЛ-6 по мере опухолевой прогрессии – отсутствие чувствительности:

- паракринная регуляция (экспрессия рецептора ИЛ-6)
- аутокринная регуляция.

Понимание роли ИЛ-6 как ростового фактора стимулировало фундаментальные исследования механизма

передачи сигнала ИЛ-6 в опухолевых клетках. Важную роль в механизме функционирования ИЛ-6 играет его рецептор, состоящий из 2 полипептидных цепей:  $\alpha$ -цепь – собственно ИЛ-6 или gp80 и трансдюсерная молекула gp130. Последняя является общей для 6 различных типов цитокинов: ИЛ-6, ИЛ-11, кардиотрофина 1, онкостатина М, цилиарного нейротропного фактора, лейкозингибирующего фактора. Все эти цитокины, передающие сигнал через молекулу gp 130, относят к семейству ИЛ-6. Последовательность взаимодействия в передаче сигнала ИЛ-6 внутрь клетки такова: связывание ИЛ-6 с  $\alpha$ -цепью ИЛ-6-рецептора, присоединение полученного комплекса к gp130, ковалентная гомодимеризация gp130 с последующим внутрицитоплазматическим фосфорилированием различных субстратов. Представляет интерес изучение регуляторной роли gp130, так как на примере множественной миеломы показано, что активация gp130 под влиянием ИЛ-6 способствует пролиферации злокачественных клеток и препятствует апоптозу [4]. Экспериментальные исследования по ингибированию ростового сигнала ИЛ-6 с помощью МКА, блокирующих димеризацию, приводящее к подавлению опухолевого роста, позволяет рассматривать вопросы использования соответствующих МКА в противоопухолевой терапии.

**ИЛ-7** – 25 кДа, продуцируется клетками костного мозга, тимуса и макрофагами. Он играет важную роль в лимфопоэзе, так как удаление гена ИЛ-7 приводит к развитию тотальной лимфопении. Таким образом, ИЛ-7 является лимфопоэтином, способствующим росту и дифференцировке ранних про-В- и пре-В-клеток, внутритимусных предшественников Т-лимфоцитов, а также в пролиферации субпопуляций Т-клеток. Данные о возможной роли ИЛ-7 в противоопухолевом иммунитете довольно противоречивы. С одной стороны, ИЛ-7 усиливает экспрессию гена Bcl-2, являющегося ингибитором апоптоза. С другой стороны, трансфекция гена ИЛ-7 в различные опухолевые клетки с последующей трансплантацией их животным приводила к подавлению опухолевого роста.

**ИЛ-9** – 30 кДа, продуцируется Т-хелперами 2. По своему действию является синергистом других цитокинов – ИЛ-1,2,4,5. Основным его эффектом считают активацию цитотоксических клеток и повышение активности тучных клеток. Именно эти свойства ИЛ-9 могут предполагать его участие в противоопухолевом иммунитете, однако до настоящего времени ни экспериментальных, ни клинических данных об использовании ИЛ-9 в онкологии нет.

**ИЛ-10** – 35–40 кДа, вырабатывается Т-хелперами 1-го типа, моноцитами и цитотоксическими клетками. ИЛ-10 является иммуносупрессивным цитокином: подавляет пролиферацию и активность Т-клеток, продукцию синтеза ряда цитокинов, развитие гиперчувствительности замедленного типа, снижает активность макрофагов и моноцитов. В то же время ИЛ-10 стимулирует пролиферацию В-лимфоцитов и синтез IgM и IgA, пролиферацию тимоцитов. Различные опухолевые клетки способны продуцировать ИЛ-10, при этом отмечается негативная роль ИЛ-10 для опухоленосителя. 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. 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 бестимусных или 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** – 23 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 – gp130. При добавлении в культуру ИЛ-11 способствует созреванию ранних мегакариоцитов, дифференцировке нейтрофилов. На модели трансгенных животных показано, что он может приводить к снижению эозинофилии, уменьшению продукции ИЛ-4, ИЛ-5 и ИЛ-13, а также к подавлению функции Т-хелперов 2-го типа. 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 высокодозную химиотерапию и имевших высокий риск развития тромбоцитопении, показали способность ИЛ-11 уменьшать количество тяжелых осложнений и снижать количество переливаний тромбоцитарной массы. Эффект лечения связан с использованной дозой ИЛ-11: в исследованиях применяли от 25 до 100 мкг/кг, максимально переносимая доза (МПД) 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). Недостатком является достаточно высокая токсичность препарата, что пока ограничивает его применение в клинике.

**ИЛ-12** – состоит из 2 полипептидных цепей с молекулярной массой 40 и 35 кДа. ИЛ-12 продуцируется макрофагами и антигенпрезентирующими клетками, такими как моноциты, дендритные клетки, активированными В-лимфоцитами при стимуляции бактериальными и некоторыми другими продуктами. Являясь сильным провоспалительным цитокином, ИЛ-12 индуцирует продукцию ряда других цитокинов: ИЛ-6, ИЛ-15, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$ , ГМ-КСФ. В присутствии ИЛ-12 незрелые Т-лимфоциты дифференцируются в Т-хелперы 1-го типа, по-

вышается продукция последними ИФН- $\gamma$ . Под влиянием ИЛ-12 повышается активность ЕК-клеток (их пролиферация, дифференцировка), 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. Данные 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 возникают метастазы [10]. Однако проведенная I фаза клинических испытаний по системному применению ИЛ-12 у больных с различными злокачественными опухолями 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. 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. Основным направлением клинических исследований вакцин является подбор дозы и режима использования ИЛ-12 с целью уменьшения индукции ИЛ-10 и достижения максимальной стимуляции цитотоксических клеток.

**ИЛ-15** впервые был идентифицирован по своему биологическому действию – способности стимулировать пролиферацию Т-клеточных клонов. По многим своим свойствам он близок к ИЛ-12, но в отличие от последнего, продуцируемого только активированными Т-клетками, ИЛ-15 вырабатывается многими типами клеток: макрофагами/моноцитами, дендритными клетками, кератиноцитами, эпителиальными клетками. ИЛ-15 стимулирует дифференцировку цитотоксических Т-лимфоцитов, ЕК-клеток. Наиболее важным его свойством является содействие пролиферации и длительности выживания  $CD8^+$  Т-клеток памяти (но не  $CD4^+$  Т-клеток). Таким образом ИЛ-15 является ростовым фактором и антигеннезависимым активатором  $CD8^+$  Т-клеток памяти [12]. Опухолевые клетки различного гистогенеза (меланома,

остеосаркома и др.) способны продуцировать ИЛ-15, его мРНК и рецепторы. В экспериментальных исследованиях показано, что использование МКА против ИЛ-15 приводило к увеличению экспрессии антигенов HLA 1-го класса, что указывает на отрицательную роль ИЛ-15 в иммунологическом контроле опухолевого роста.

**ИЛ-18** – 18,3 кДа, был впервые выявлен как индуктор ИФН- $\gamma$ . Клонированный в 1995 г. ген ИЛ-18 подобен семейству ИЛ-1, в связи с чем назван ИЛ-1 $\gamma$ . В последующем было установлено, что он не связывается с рецепторами I типа ИЛ-1, в связи с чем он был переименован в ИЛ-18. Он продуцируется в основном макрофагами, а также Т- и В-лимфоцитами, дендритными клетками, остеобластами, купферовскими клетками. ИЛ-18 стимулирует цитотоксическую активность ЕК-клеток, пролиферацию Т-клеток, продукцию Т-клетками хелперами 1 ИЛ-12 и ИФН- $\gamma$ , ГМ-КСФ, снижает продукцию ИЛ-10, усиливает FasL-опосредованную цитотоксичность  $CD4^+$  Т- и ЕК-клеток. Уровень сывороточного ИЛ-18 значительно повышается при некоторых формах гемобластозов человека (миелоидном лейкозе, Т-лимфомах), а также при некоторых солидных опухолях, причем имеются данные о прогностическом значении экспрессии ИЛ-18. Роль ИЛ-18 в противоопухолевом иммунитете довольно широко исследована на экспериментальных моделях, где показана его способность подавлять рост опухолей у мышей. Полагают, что эффект осуществляется посредством стимуляции на первом этапе неспецифического (ЕК), а затем посредством развития специфического (цитотоксические Т-лимфоциты) иммунного ответа. В то же время отсутствие противоопухолевого эффекта ИЛ-18 у бестимусных мышей с некоторыми опухолями человека свидетельствует о недостаточности одного неспецифического иммунного ответа для подавления опухолевого роста. ИЛ-18 – экспрессирующие опухолевые клетки, обладают низкой активностью, растут значительно медленнее, чем контрольные, что объясняют продукцией ими ИФН- $\gamma$ . Определенный интерес представляют данные об одновременном применении ИЛ-18 и ИЛ-12, которое приводило к значительному подавлению опухолевого роста, причем исследование механизма противоопухолевого эффекта показало, что у 70% животных отмечалось ингибирование ангиогенеза. Гистологические исследования регрессирующих опухолей выявили очаги интенсивного некроза с плотным инфильтратом полиморфноядерных клеток. Комбинация этих цитокинов оказалась высокотоксична, но даже снижение доз препаратов (0,2 мкг для ИЛ-18 и 0,01 мкг для ИЛ-12) сопровождалось значительным подавлением опухолевого роста [7]. Очень важным следует считать данные о том, что противоопухолевый эффект ИЛ-18 гораздо сильнее проявляется при лечении высокоиммуногенных опухолей. При слабоиммуногенных опухолях эффект достигается только при введении цитокина до или сразу после трансплантации опухолевых клеток. Таким образом, встает вопрос, будет ли ИЛ-18 эффективен против слабоиммуногенных опухолей человека.

**Фактор некроза опухолей – ФНО** – занимает особое место среди цитокинов. Свое название он получил в связи со способностью вызывать геморрагический некроз некоторых опухолей у экспериментальных животных. Позднее было установлено, что ФНО – это целое семейство цитокинов, осуществляющих свои функции через соответствующее семейство клеточных рецепторов. В это семейство входят лимфотоксины  $\alpha$  и  $\beta$ , Fas-лиганд, мембранные молекулы CD40 и CD30, P-75 рецептор нейротрофина, ФНО-связанный апоптоз-индуцирующий лиганд (TRAIL) и др. Продуцентами этой группы цитокинов являются активированные мононуклеарные фагоциты, эндотелиальные клетки, антигенстимулированные Т-клетки ( $CD4^+$  и  $CD8^+$ ), активированные ЕК-клетки. Биологические свойства ФНО чрезвычайно разнообразны и зависят от преобладания того или иного цитокина из его семейства. Основными являются: стимуляция продукции ИЛ-1, ИЛ-6 и самого ФНО, стимуляция процессов адгезии, антителообразования В-клетками, индукция колониеобразующих факторов эндотелиальными клетками и фибробластами, ко-стимуляция Т-клеточной активации и ЕК-клеток. Входящие в семейство Fas-лиганд TRAIL индуцируют апоптоз, а лимфотоксины  $\alpha$  и  $\beta$  играют важную роль в развитии лимфоидных органов. Выключение генов лимфотоксинов у мышей приводит к подавлению развития лимфатических узлов, пейеровых бляшек, формирования зародышевых центров при иммунном ответе. ФНО- $\alpha$  влияет на процессы кроветворения, подавляя эритро-, миело- и лимфопоэз, однако, на фоне подавленного кроветворения проявляется стимулирующее действие ФНО- $\alpha$ . Введение ФНО может защищать мышей от летальных доз облучения: применение его через 24 ч после облучения снижает гибель мышей до 40% по сравнению с 75% в контроле. Индукция апоптоза и клеточной смерти цитокинами семейства ФНО является фундаментальной для использования их в лечении 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.

Эффект ФНО в значительной мере зависит от используемой дозы. При введении животным опухолевых клеток, трансфицированных геном ФНО- $\alpha$ , защита от опухолевого роста осуществлялась только при использовании клеток, продуцирующих умеренное количество ФНО. Слабо продуцирующие клетки пролиферировали и образовывали опухоль, а введение клеток, интенсивно продуцирующих ФНО, приводило к гибели животных в результате токсичности самого ФНО. В литературе имеются данные о модифицирующем действии ФНО в определенных концентрациях на чувствительность опухолевых клеток к цитотоксическому действию противоопухолевых препаратов.

Способность цитокинов, входящих в семейство ФНО, индуцировать апоптоз различна. Наиболее активным в отношении целого ряда опухолевых клеток является TRAIL, причем дозы, вызывающие гибель клеток, не являются высокотоксичными. Тем не менее, существуют клеточные линии, причем в пределах одной и той же нозологической формы, которые могут быть как чувствительными, так и резистентными к TRAIL, и этот эффект не связан с экспрессируемыми рецепторами для TRAIL. Оказалось, что некоторые противоопухолевые препараты (доксорубин, цисплатин) могут повышать чувствительность опухолевых клеток к апоптотическому действию TRAIL. При этом не отмечается модификации экспрессии или локализации рецепторов TRAIL на клетках. Одним из возможных механизмов повышения чувствительности клеток к TRAIL химиопрепаратами считается активация прокаспазы 8, приводящая к каспаз-зависимому апоптозу. Эти исследования представляют интерес для разработки протоколов с использованием химиопрепаратов и TRAIL для лечения высокорезистентных опухолей [9].

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 (от нескольких часов до суток) в изолированную конечность самостоятельно или в комбинации с интерфероном- $\alpha$  и химиопрепаратами. Другой подход заключается в использовании менее токсичных представителей семейства ФНО, в частности TRAIL.

Исследование динамики иммунологических показателей у больных, получавших ФНО посредством 24-часовой инфузии, выявило, что сразу после введения препарата значительно снижается количество ЕК, продукция ИЛ-1, пролиферативная активность лимфоцитов. По-видимому, при введении ФНО происходит перераспределение иммунокомпетентных клеток, уходящих из периферической крови в лимфатические узлы, где, по всей видимости, они активируются, так как уже через 48 ч все указанные показатели повышаются, превосходя исходный уровень.

### **Заключение**

Как видно из приведенных данных, продукция ряда цитокинов обычно сопровождает развитие иммунного ответа, воспалительных реакций, процессов гемопоэза. В то же время чрезвычайно сложно предсказать развитие той или иной реакции организма на действие цитокинов. Связано это с рядом причин:

1) некоторые типы реакций организма обеспечиваются активностью двух или более цитокинов, и для осу-

щества таких реакций отсутствие одного из них может компенсироваться наличием другого, обладающего той же активностью в отношении конкретной функции;

2) ряд цитокинов может индуцировать продукцию других, а взаимодействие нескольких приводит к различным биологическим эффектам, зависящим от особенностей клеток-мишеней, экспрессии рецепторов, путей передачи внутриклеточного сигнала;

3) некоторые цитокины могут взаимодействовать с клеткой через один и тот же рецептор, но при этом биологические ответы на них будут различны.

Представленные данные указывают на чрезвычайно важное значение цитокиновых сигналов для функционирования многих процессов в организме человека, и дальнейшее изучение механизмов взаимодействия цитокинов и клеток-мишеней будет способствовать их клиническому применению, в том числе в онкологии.

## Литература

1. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Система интерлейкинов и рак. – Киев: ДИА, 2000. – 224 с.
2. Кадагидзе З.Г. Цитокины и их использование в онкологии // Int. J. Rehabilitation. – 1997. – № 6. – С. 47-56.
3. Славина Е.Г. и др. Модуляция цитотоксического действия противоопухолевых лекарств in vitro интерфероном: связь с гиперэкспрессией генов *mdr-1* и *bcl-2* // Аллергол. и иммунол. – 2000. – Т. 1, № 2. – С. 170-171.
4. Тупицын Н.Н. Роль рецептора цитокинов *gp 130* в росте и дифференцировке нормальных и опухолевых гемопоэтических клеток // Гематол. и трансфузиол. – 2001. – Т. 46. – С. 9-14.
5. Фрейдлин И.С. Паракринные и аутокринные механизмы цитокиновой иммунорегуляции // Иммунология. – 2001. – № 5. – С. 4-7.
6. Ярилин А.А. Система цитокинов и принципы ее функционирования в норме и патологии // Иммунология. – 1997. – № 5. – С. 7-14.
7. Gracie J.A., Robertson S.E., McInnes I.B. Interleukin-18 // J. Leucocyte Biol. – 2003. – Vol. 73 (2). – P. 213-214.
8. Kisimoto T. The biology of IL-6 // Blood. – 1989. – Vol. 74, № 1. – P. 1-10.
9. Lakour S., Hammam 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.
10. Portielje J.E.A. et al. IL-12: a promising adjuvant for cancer vaccination // Cancer Immunol. Immunother. – 2003. – Vol. 52. – P. 133-144.
11. 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.
12. Weng N.P. et al. IL-15 is growth factor and an activator of CD8 memory T-cells // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2002. – Vol. 975. – P. 46-56.

Поступила в редакцию 05.08.2003 г.