

DOI: 10.17650/2313-805X-2022-9-2-111-119



Противоопухолевый эффект рекомбинантного интерферона гамма в экспериментальной модели билатеральной солидной карциномы Эрлиха

В.Г. Исаева, Л.Ю. Гривцова, Л.П. Жовтун, С.М. Самборский, Н.А. Фалалеева

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 249036 Обнинск, ул. Маршала Жукова, 10

Контакты: Станислав Михайлович Самборский samborsky.stas@yandex.ru

Введение. Иммуноterapia, входящая в состав комплексной и комбинированной терапии рака, является одним из приоритетных направлений в лечении онкологических больных. Однако эффективность применения иммунотерапевтических препаратов последнего поколения не так высока, а у некоторых больных эффект терапии оказался кратковременным. Факторами, препятствующими полноценной реализации противоопухолевого эффекта цитостатиков и иммунопрепаратов, возможно, являются особенности антигенного состава опухоли, а также ее клеточного и стромального микроокружения. Данные факты способствовали развитию новой стратегии, обозначенной как иммуноредактирование рака посредством воздействия различных биологически активных агентов, способных изменить соотношение организм – опухоль в пользу больного и сделать опухоль доступной для реализации противоопухолевого воздействия иммунной системы хозяина.

Цель исследования – экспериментальное обоснование разработки новых иммунотерапевтических подходов в лечении агрессивных форм рака.

Материалы и методы. Проведено экспериментальное изучение влияния человеческого рекомбинантного интерферона гамма (IFN γ) на рост карциномы Эрлиха при подкожной билатеральной трансплантации клеток опухоли животным. Трансплантацию карциномы Эрлиха мышам-самцам гибридам F1 (CBA \times C57Bl6) проводили подкожным введением $2,0 \times 10^6$ опухолевых клеток (7-дневная культура) в 0,1 мл суспензии в область латеральной поверхности правого и левого бедер с имитацией мультицентричного роста.

Результаты. Через сутки после курса введения препарата (6-е сутки роста опухолевых узлов) отмечен эффект подавления роста опухоли по отношению к росту в контрольной группе. Максимальный эффект торможения, составляющий 19,8 % ($p < 0,05$) роста опухоли, получен через 5 сут после курса препарата (10-е сутки опухолевого роста, правый узел) и 18,5 % ($p < 0,001$) через 9 суток после введения (14-е сутки опухолевого роста, левый узел).

Заключение. Таким образом, установлен отчетливый, статистически значимый противоопухолевый эффект IFN γ в отношении опухоли с мультицентричным характером роста.

Ключевые слова: иммуноterapia, цитокины, интерферон гамма, опухоли с мультицентричным характером роста

Для цитирования: Исаева В.Г., Гривцова Л.Ю., Жовтун Л.П. и др. Противоопухолевый эффект рекомбинантного интерферона гамма в экспериментальной модели билатеральной солидной карциномы Эрлиха. Успехи молекулярной онкологии 2022;9(2):111–9. DOI: 10.10.17650/2313-805X-2022-9-2-111-119.

Antitumor effect of recombinant interferon-gamma in an experimental model of Ehrlich's bilateral solid carcinoma.

V.G. Isaeva, L.Y. Grivtsova, L.P. Zhovtun, S.M. Samborsky, N.A. Falaleeva

A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 10 Marshala Zhukova St., Obninsk 249036, Russia

Contacts: Stanislav Mikhailovich Samborsky samborsky.stas@yandex.ru

Introduction. Immunotherapy, which is part of the complex and combined cancer therapy, is one of the priority areas in the treatment of cancer patients. However, the effectiveness of the use of immunotherapeutic drugs of the latest generation is not so high, and in some patients the effect of therapy was short-lived. Factors that prevent the full realization of the antitumor effect of cytostatics and immunopreparations may be the features of the antigenic composition of the tumor, as well as its cellular and stromal microenvironment. These facts contributed to the development of a new

strategy, designated as immunoreduction of cancer by exposure to various biologically active agents that can change the body – tumor ratio in favor of the patient and make the tumor available for the implementation of antitumor effects of the host immune system.

The study objective – experimental substantiation of the development of new immunotherapeutic approaches in the treatment of aggressive forms of cancer.

Materials and methods. An experimental study of the effect of human recombinant interferon-gamma (IFN γ) on the growth of Ehrlich's carcinoma during subcutaneous bilateral transplantation of tumor cells to animals was carried out. Transplantation of Ehrlich's carcinoma to male F1 hybrids (SWAhC57Bl6) was performed by subcutaneous injection of 2.0×10^6 tumor cells (7-day culture) in 0.1 ml of suspension into the lateral surface of the right and left femur with imitation of multicentric growth.

Results. A day after the course of drug administration (day 6 of tumor node growth), the effect of suppressing tumor growth in relation to growth in the control group was noted. The maximum inhibition effect of 19.8 % ($p < 0.05$) of tumor growth was obtained 5 days after the course of the drug (10 days of tumor growth, right node) and 18.5 % ($p < 0.001$) 9 days after administration (14 days of tumor growth, left node).

Conclusion. Thus, a distinct, statistically significant antitumor effect of IFN γ was established in relation to a tumor with a multicentric growth pattern.

Key words: immunotherapy, cytokines, interferon-gamma, tumors with multicentric growth pattern

For citation: Isaeva V.G., Grivtsova L.Y., Zhovtun L.P. et al. Antitumor effect of recombinant interferon-gamma in an experimental model of Ehrlich's bilateral solid carcinoma. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2022;9(2):111–9. (In Russ.). DOI: 10.10.17650/2313-805X-2022-9-2-111-119.

ВВЕДЕНИЕ

Опухоль – результат сложного механизма взаимодействия генетических и эпигенетических изменений, приводящего к нарушению регуляции межклеточных взаимосвязей и внутриклеточных сигнальных путей. Гетерогенный клеточный состав опухоли и измененное ею микроокружение ограничивают эффективность стандартной химиотерапии из-за внутренней, уже имеющейся или приобретенной, лекарственной устойчивости, а также в связи с подавлением апоптоза [1].

Иммунотерапия – одно из приоритетных направлений в лечении онкологических больных, входящее в состав комплексной и комбинированной терапии рака. Однако эффективность применения иммунотерапевтических препаратов последнего поколения не так высока, как ожидалось: в 25 % случаев ответа на лечение ингибиторами контрольных точек иммунитета не получено, а у некоторых больных эффект терапии оказался кратковременным, и причины этого до сих пор неизвестны. Факторами, препятствующими полноценной реализации противоопухолевого эффекта цитостатиков и иммунопрепаратов, возможно, являются особенности антигенного состава опухоли, а также ее клеточного и стромального микроокружения. Данные факты способствовали развитию новой стратегии, обозначенной как иммуноредактирование рака посредством воздействия различных биологически активных агентов, способных изменить соотношение организм – опухоль в пользу больного и сделать опухоль доступной для реализации противоопухолевого воздействия иммунной системы хозяина [2].

В одном из недавних исследований показано, что резистентность к иммунотерапии ингибиторами контрольных точек иммунитета объясняется дефектами в сигнале интерферона гамма (IFN γ) [3].

Интерферон гамма составляет семейство интерферонов 2-го типа и секретируется целым рядом иммунокомпетентных клеток. Роль IFN γ в модулировании иммунных реакций огромна. В большей степени секреция IFN γ свойственна активированным лимфоцитам: в основном это CD4⁺ Т-хелперы 1-го типа (Th1), CD8⁺ цитотоксические Т-клетки, $\gamma\delta$ -Т-клетки, естественные киллеры (NK) и, в меньшей степени, Т-клетки с киллерной функцией (NKT), В-клетки и антигенпрезентирующие клетки. Экспрессия IFN γ индуцируется митогенами и цитокинами, такими как интерлейкин 12 (ИЛ-12), интерлейкин 15 (ИЛ-15), интерлейкин 18 (ИЛ-18) и интерфероны 1-го типа. Плейотропные функции IFN γ опосредуются клеточно-специфичной экспрессией более 250 IFN γ -регулируемых генов, контролирующих сигнальные воспалительные молекулы, апоптоз, регуляторы клеточного цикла и активаторы транскрипции [4–19].

Интерферон гамма может считаться одним из ключевых игроков в иммунном контроле рака, стимулировании противоопухолевого иммунитета и содействии в распознавании и элиминации опухолей [20–26].

Кроме активации антигенпрезентирующих клеток, усиления экспрессии ряда цитокинов (ИЛ-12 и ИЛ-18), приводящих к дифференцировке Th-1 в цитотоксические лимфоциты, индукции каскада сигналов в Т-клетках для обеспечения их эффекторных функций и активации экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости, т.е. реализации цитотоксичности в отношении опухоли, IFN γ вызывает также регрессию сосудистой системы опухоли. Таким образом, возможно, что IFN γ замедляет рост опухоли за счет индукции ее ишемии [27, 28].

При физиологических условиях содержание интерферонов и 1-го (интерфероны альфа), и 2-го (IFN γ) типов жестко контролируется, и их локализация

ограничена тканями. Постоянные уровни эндогенного $IFN\gamma$ способствуют гомеостазу иммунной системы, сохранению клеточных функций, поддержанию постоянства костно-мозговых ниш стволовых кроветворных клеток и остеогенеза [29–33].

При злокачественных новообразованиях содержание $IFN\gamma$ различно. Так, уровни данного цитокина снижены у больных раком легкого, а гиперметилирование гена-промотора $IFN\gamma$ в $CD4^+$ Т-клетках показывает обратную корреляцию с уровнями цитокина в плазме крови [34].

К сожалению, $IFN\gamma$ -индуцированные сигналы могут оказывать и иммуносупрессивное действие и даже индуцировать эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП). Данный факт установлен на экспериментальной модели папиллярного рака щитовидной железы [35].

Секреция $IFN\gamma$ клетками опухолевого микроокружения способствует усилению опухолевого ангиогенеза, и высокие уровни данного цитокина в циркуляции являются фактором неблагоприятного прогноза, в частности при раке яичников. Повышенная продукция $IFN\gamma$ $CD8^+$ Т-клетками микроокружения может вызывать экспрессию синтазы оксида азота (iNOS) в моноцитарных миелоидно-супрессорных клетках опухолевого микроокружения, тем самым повышая их иммуносупрессорную активность и способствуя росту опухоли [36, 37].

Интерферон гамма, как и все эндогенные цитокины, обладает плейотропностью биологических эффектов, и данные относительно его влияния на процессы канцерогенеза на первый взгляд противоречивы. Однако необходимо учитывать, что $IFN\gamma$, синтезируемый в организме больного, секретируется трансформированными клетками опухолевого микроокружения.

Таким образом, исследование противоопухолевой активности экзогенного $IFN\gamma$ представляется перспективным для последующей разработки иммунотерапевтических стратегий для полной эрадикации рака. При этом критически важной для дальнейшего применения препаратов интерферона у онкологических больных является необходимость изучения его влияния и выявления клеточных мишеней $IFN\gamma$, в первую очередь в тех опухолях, где этот цитокин может оказывать противоопухолевое воздействие.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в рамках государственного задания по разработке иммунотерапевтических подходов у онкологических больных.

Лабораторные животные. Исследования проведены на 20 половозрелых мышцах-самцах гибридах F1 (СВАхС57В16), массой 27–29 г (10 животных – контрольная группа, 10 животных – опытная группа). Животные были получены из питомника Научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-

биологического агентства России, имели ветеринарный сертификат и прошли 20-суточный карантин в виварии Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба. Экспериментальные работы выполнены в соответствии с требованиями приказа Минздрава России № 708н от 08.10.2015 г. Животные содержались в пластиковых клетках в условиях естественного освещения и принудительной 16-кратной вентиляции при температуре 18–20 °С и относительной влажности воздуха 40–70 %, на подстилке из простерилизованных древесных стружек, со свободным доступом к питьевой воде и стандартному брикетированному корму ПК-120–1 (ООО «Лабораторснаб», Россия). Каждая исследованная группа животных состояла из 10 особей.

Работы с лабораторными животными выполнены в соответствии с общепринятыми этическими нормами на основе стандартных операционных процедур, которые приняты в Медицинском радиологическом научном центре им. А.Ф. Цыба и отвечают правилам Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS № 123).

Опухолевая модель. Исследования проведены на перевиваемой мышшиной карциноме Эрлиха. Штамм поддерживался на аутбредных мышцах-самцах в виде асцитной карциномы. Трансплантацию солидной карциномы Эрлиха мышам-самцам гибридам F1 (СВАхС57В16), проводили подкожным введением $2,0 \times 10^6$ опухолевых клеток (7-дневная культура) в 0,1 мл суспензии в область латеральной поверхности правого и левого бедер с имитацией мультицентричного роста (рис. 1).

Интерферон гамма. В данной экспериментальной работе использован ингарон[®] – запатентованный препарат (ООО «НПП «Фармаклон», Россия), представляющий собой рекомбинантный $IFN\gamma$ человека, содержащий в качестве действующего вещества $IFN\gamma$ человеческий рекомбинантный (100 000 МЕ) и маннит в качестве вспомогательного вещества (14,5 мг) (регистрационный номер ЛС – 000924; международное непатентованное название – интерферон гамма человеческий рекомбинантный).

Ингарон[®] получают с помощью микробиологического синтеза в рекомбинантном штамме *Esherichia coli* с последующей очисткой колоночной хроматографией. Интерферон гамма, входящий в состав данного препарата, является измененной молекулой с молекулярной массой 16,9 кДа, состоит из 144 аминокислотных остатков (а. о.), лишен первых трех а. о. – Cys-Туг-Cys, замененных на Met.

Данный препарат вводили через 3 сут после трансплантации опухолевых клеток в дозе 42860 МЕ/кг массы тела трехкратно подкожно в область холки животного в объеме 0,1 мл 1 раз в сутки. Контрольным животным по аналогичной схеме и в том же объеме вводили 0,9 % раствор хлорида натрия (физиологический раствор).

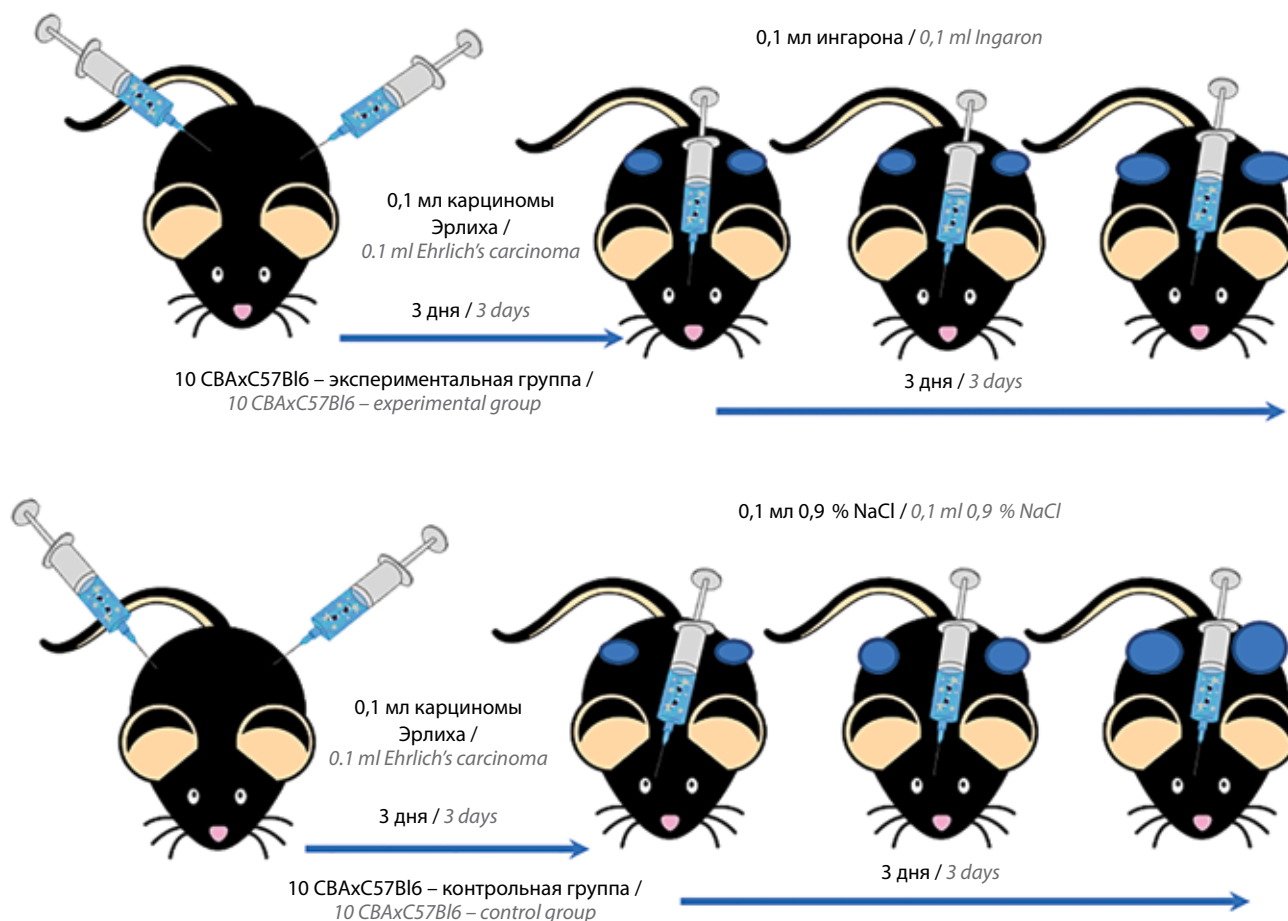


Рис. 1. Трансплантация опухолевых клеток карциномы Эрлиха билатерально в область бедра опытным и контрольным мышам и введение через 3 сут опытным особям ингарона, а контрольным – 0,9 % NaCl трехкратно подкожно в область холки

Fig. 1. Transplantation of tumor cells of Ehrlich's carcinoma bilaterally into the thigh area to experimental and control mice and introduction of ingarone to experimental individuals three days later, and 0.9 % NaCl to control subjects three times subcutaneously into the withers

Доза вводимого препарата соответствует суточной терапевтической дозе для человека (500 000 МЕ), пересчитанной на поверхность тела экспериментального животного [38]. Исходя из расчета, доза ингарона на мышь составила 857 МЕ или 1,7 мкл из флакона, содержащего 500 000 МЕ. Для введения препарата в объеме 0,1 мл эту дозу разводили в 59 раз 0,9 % раствором NaCl. В связи с этим контрольным животным-опухоленосителям вводили 0,9 % раствор NaCl.

Оценка эффектов. Влияние препаратов на опухолевый процесс изучали по динамике роста опухолевых узлов солидной формы карциномы Эрлиха. Для этого на протяжении всего эксперимента у животных измеряли длину и ширину опухолевых узлов на обеих лапах, вычисляя объем опухоли (V) по формуле:

$$V = (a^* \times b^2) / 2,$$

где a – больший; b – меньший размер узла.

Процент торможения роста опухоли (ТРО) на правой и левой лапах опытных мышей вычисляли по отношению к росту опухоли на правой или левой лапах контрольных особей по формуле:

$$\text{ТРО} = (V_k - V_o) / V_k \times 100 \%,$$

где V_k – среднестатистический объем опухоли у контрольных особей; V_o – среднестатистический объем опухоли у опытных животных.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Statistika 10.0 (StatSoft, Inc.) с применением методов вариационной статистики. После проверки нормальности распределения вариационных рядов подсчитывали средний показатель и стандартную ошибку среднего ($M \pm SEM$). Групповые сравнения количественных показателей оценивали с использованием параметрических критериев Фишера и Стьюдента и непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Достоверность основных полученных данных подтверждалась также результатами их воспроизведения в 2 независимых сериях экспериментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования показали, что IFN γ (Ингарон[®]), введенный животным курсом с 3-х по 6-е

Влияние препарата ингарон[®] на динамику роста солидной формы карциномы Эрлиха у мышей-самцов гибридов F1 (CBAxС57BL6)

Effect of Ingaron[®] on the dynamics of growth of the solid form of Ehrlich's carcinoma in F1 (CBAxС57BL6) hybrid male mice

Время от 1-го введения препарата, сут Time from the first injection the drug, days	Рост опухоли, сут Tumor growth, days	Правый узел Right tumor node		Левый узел Left tumor node	
		Объем опухоли (M ± m), см ³ Tumor volume (M ± m), cm ³	Торможение роста опухоли, % Tumor growth inhibition index, %	Объем опухоли (M ± m), см ³ Tumor volume (M ± m), cm ³	Торможение роста опухоли, % Tumor growth inhibition index, %
3-и сутки: 3 rd day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	6	0,58 ± 0,02	—	0,60 ± 0,02	—
		0,51 ± 0,01*	13,4	0,52 ± 0,01*	13,8
4-е сутки: 4 th day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	7	0,85 ± 0,04	—	0,88 ± 0,05	—
		0,72 ± 0,01*	15,3	0,75 ± 0,01*	14,8
7-е сутки: 7 th day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	10	1,31 ± 0,07	—	1,34 ± 0,03	—
		1,05 ± 0,02*	19,8*	1,22 ± 0,03*	9,0
9-е сутки: 9 th day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	12	1,80 ± 0,11	—	1,92 ± 0,08	—
		1,63 ± 0,03	9,4	1,74 ± 0,02*	9,4
11-е сутки: 11 th day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	14	2,63 ± 0,11	—	2,71 ± 0,11	—
		2,28 ± 0,05*	13,3	2,21 ± 0,06*	18,5
15-е сутки: 15 th day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	18	3,62 ± 0,14	—	3,71 ± 0,23	—
		3,17 ± 0,07*	12,4	3,47 ± 0,14	6,5
16-е сутки: 16 th day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	19	4,0 ± 0,18	—	4,18 ± 0,19	—
		3,71 ± 0,15	7,3	3,63 ± 0,15*	13,2
21-е сутки: 21 st day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	24	5,41 ± 0,24	—	5,98 ± 0,28	—
		5,22 ± 0,29	3,5	5,60 ± 0,34	6,4
23-и сутки: 23 rd day: контрольная группа control group ингарон Ingaron	26	6,14 ± 0,23	—	6,47 ± 0,29	—
		5,64 ± 0,33	8,1	6,34 ± 0,44	2,0

*Статистически значимые различия ($p < 0,05$).

*Statistically significant differences ($p < 0.05$).

сутки опухолевого роста, обладает противоопухолевой активностью. Торможение роста опухоли отмечено с 2-х сторон, однако оно было неравномерным и составило от 13,4 до 19,8 %. Противоопухолевый эффект продолжался с 6-х по 19-е сутки роста опухоли (с 1-х по 14-е сутки после окончания курса введения препарата). Максимальный эффект торможения роста правого опухолевого узла достигнут на 10-е сутки его роста, т. е. через 5 сут после окончания введения препарата, а левого опухолевого узла – на 14-е сутки роста (на 9-е сутки после окончания введения препарата). Торможение роста опухоли правого опухолевого узла составило 19,8 %, а левого – 18,5 % (см. таблицу; рис. 2).

Таким образом, человеческий рекомбинантный IFN γ (ингарон[®]) при введении мышам трехкратно подкожно в область холки в объеме 0,1 мл 1 раз в сутки в дозе 42 860 МЕ/кг с 3-х по 6-е сутки после трансплантации опухолевых клеток карциномы Эрлиха билатерально в область бедра обеих лап обладает противоопухолевой активностью и способен задерживать рост опухоли на ранних стадиях процесса.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данном исследовании мы показали, что 3-кратное введение рекомбинантного человеческого IFN γ (препарата ингарон[®]) в дозе 42 860 МЕ/кг замедляет рост билатерально привитой солидной формы карциномы Эрлиха у мышей гибридов F1 (СВАхС57В16). Этот эксперимент прямо свидетельствует о противоопухолевой активности экзогенного IFN γ (препарата ингарон[®]).

Первые сообщения, указывающие на значимость IFN γ в противоопухолевом иммунитете, были получены более 25 лет назад в результате исследований с клетками фибросаркомы линии Мет А, характеризующейся отсутствием экспрессии рецептора к IFN γ (IFN γ R1). В ходе этих экспериментов было установ-

лено, что эндогенный IFN γ играет облигатную роль в опосредовании LPS-индуцированного отторжения опухоли. Этот вывод был дополнительно подтвержден исследованиями с использованием 129/SV мышей, нокаутных по рецептору IFN γ (IFN γ R1) или STAT1, у которых химически индуцированные саркомы развивались быстрее и чаще, чем у мышей дикого типа. Примечательно, что у этих мышей отсутствует также и опухоль-супрессорный белок p53, и скорость образования спонтанных опухолей у них выше в сравнении с IFN γ -чувствительными p53-дефицитными мышами [39, 40].

Прямой противоопухолевый эффект IFN γ выявлен в нескольких экспериментальных моделях, однако механизмы развития данного эффекта были различными. Так, в клеточных линиях колоректального рака он вызывал ассоциированный с аутофагией апоптоз путем индукции митохондриями активных форм кислорода. В Т98G-линии глиобластомы индукция апоптоза обусловлена подавлением пути PI3K (фосфоинозитид-3-киназа)/АКТ (протеинкиназа В), а апоптоз другой клеточной линии глиобластомы (U87MG) произошел независимо от сигнального пути PI3K/АКТ, посредством активации NF- κ B. А в клетках карциномы поджелудочной железы человека IFN γ индуцирует апоптоз в каспаза-1-зависимой манере [41–43].

Интерферон гамма может индуцировать активацию некоторых микро-РНК, оказывающих противоопухолевый эффект. Так, на клеточных линиях меланомы показано, что активация miR-29a/b через STAT1 посредством IFN γ приводит к увеличению скорости взаимодействия IFN γ с другими молекулами для реализации противоопухолевого эффекта. Так, у мышей, дефицитных одновременно по генам IFN γ и гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору (ГМ-КСФ), развивались лимфомы и солидные опухоли существенно быстрее, чем у животных, нокаутных только по ГМ-КСФ или IFN γ [44, 45].

Однако реакции миелоидных и других кроветворных клеток на IFN γ недостаточно для регрессии опухоли, тогда как влияние IFN γ на эндотелиальные клетки обеспечивает значимый противоопухолевый эффект. То есть для развития противоопухолевого эффекта недостаточно воздействия IFN γ непосредственно на клетки опухоли и опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, и необходимо его воздействие и на клетки стромы [46–49].

Клинические исследования показали эффективность IFN γ -терапии в комбинации с циклофосфамидом и цисплатином, обеспечившей существенное увеличение периода выживаемости без прогрессирования при раке яичников [50].

Несмотря на довольно обнадеживающие факты относительно противоопухолевого эффекта IFN γ , он до настоящего момента не одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA)

11 сут после 1-й инфузии ингарона /
11 days after first Ingaron infusion

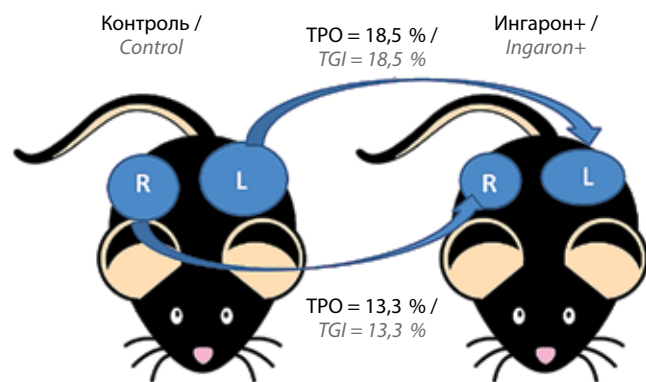


Рис. 2. Торможение роста (TPO) левого и правого опухолевых узлов у опытных мышей после введения ингарона (14-е сутки роста опухоли)
Fig. 2. Inhibition of growth (TPO) of the left and right tumor nodes in experimental mice after ingaron introduction (14th day of tumor growth)

для клинического использования при раке, за исключением опухолевого остеопороза. Это объясняется недостаточностью наших знаний относительно механизмов влияния IFN γ в той или иной клинической ситуации, а также в связи указанной выше возможностью усиления посредством IFN γ способности опухоли к инвазии.

К сожалению, опухоль может избегать воздействия IFN γ вследствие утраты экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости класса I (HLA-I) из-за метаболического стресса. Кроме того, IFN γ в комбинации с фактором некроза опухоли альфа (ФНО α) индуцирует экспрессию MUC16 – муцина, вовлечен-

ного в канцерогенез при раке молочных желез, яичников и эндометриальных опухолях [51, 52].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, накоплено много данных относительно роли IFN γ в опухолевом канцерогенезе. Несомненно, он может оказывать прямое противоопухолевое воздействие, как показало в том числе и наше исследование. Однако для широкого клинического применения IFN γ необходимо дальнейшее экспериментальное изучение механизмов и условий, которые обеспечат максимальный противоопухолевый эффект при минимуме побочных и нежелательных явлений.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Tian T., Olson S., Whitacre J.M., Harding A. et al. The origins of cancer robustness and evolvability. *Integr Biol (Camb.)* 2011;3(1):17–30. DOI: 10.1039/c0ib00046a.
2. Dunn G.P., Koebel C.M., Schreiber R.D. et al. Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol* 2006;6(11):836–48. DOI: 10.1038/nri1961.
3. Manguso R.T., Pope H.W., Zimmer M.D. et al. *In vivo* CRISPR screening identifies Ptpn2 as a cancer immunotherapy target. *Nature* 2017;547(7664):413–8. DOI: 10.1038/nature23270.
4. Kasahara T., Hooks J.J., Dougherty S.F. et al. Interleukin 2-mediated immune interferon (IFN-gamma) production by human T cells and T cell subsets. *J Immunol* 1983;130(4):1784–9.
5. Corthay A., Skovseth D.K., Lundin K.U. et al. Primary antitumor immune response mediated by CD4+ T cells. *Immunity* 2005;22(3):371–83. DOI: 10.1016/j.immuni.2005.02.003.
6. Matsushita H., Hosoi A., Ueha S. et al. Cytotoxic T lymphocytes block tumor growth both by lytic activity and IFN gamma-dependent cell-cycle arrest. *Cancer Immunol Res* 2015;3(1):26–36. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0098.
7. Girardi M., Oppenheim D.E., Steele C.R. et al. Regulation of cutaneous malignancy by gammadelta T cells. *Science* 2001;294(5542):605–9. DOI: 10.1126/science.1063916.
8. Gao Y., Yang W., Pan M. et al. Gamma delta T cells provide an early source of interferon gamma in tumor immunity. *J Exp Med* 2003;198(3):433–42. DOI: 10.1084/jem.20030584.
9. Ribot J.C., deBarros A., Pang D.J. et al. CD27 is a thymic determinant of the balance between interferon-gamma- and interleukin 17-producing gamma-delta T cell subsets. *Nat Immunol* 2009;10(4):427–36. DOI: 10.1038/ni.1717.
10. Silva-Santos B., Serre K., Norell H. $\gamma\delta$ T cells in cancer. *Nat Rev Immunol* 2015;15(11):683–91. DOI: 10.1038/nri3904.
11. Yu J., Wei M., Becknell B. et al. Pro- and antiinflammatory cytokine signaling: reciprocal antagonism regulates interferon-gamma production by human natural killer cells. *Immunity* 2006;24(5):575–90. DOI: 10.1016/j.immuni.2006.03.016.
12. Keppel M.P., Saucier N., Mah A.Y. et al. Activation-specific metabolic requirements for NK cell IFN-gamma production. *J Immunol* 2015;194(4):1954–62. DOI: 10.4049/jimmunol.1402099.
13. Yoshimoto T., Takeda K., Tanaka T. et al. IL-12 up-regulates IL-18 receptor B cells: synergism with IL-18 for IFN-gamma production. *J Immunol* 1998;161(7):3400–7.
14. Barr T.A., Brown S., Mastroeni P. et al. TLR and B cell receptor signals to B cells differentially program primary and memory Th1 responses to Salmonella enterica. *J Immunol* 2010;185(5):2783–9. DOI: 10.4049/jimmunol.1001431.
15. Bao Y., Liu X., Han C. et al. Identification of IFN-gamma-producing innate B cells. *Cell Res* 2014;24(2):161–76. DOI: 10.1038/cr.2013.155.
16. Ohteki T., Fukao T., Suzue K. et al. Interleukin 12-dependent interferon gamma production by CD8 alpha+ lymphoid dendritic cells. *J Exp Med* 1999;189(12):1981–6. DOI: 10.1084/jem.189.12.1981.
17. Nguyen K.B., Cousens L.P., Doughty L.A. et al. Interferon alpha/beta-mediated inhibition and promotion of interferon gamma: STAT1 resolves a paradox. *Nat Immunol* 2000;1(1):70–6. DOI: 10.1038/76940.
18. Matikainen S., Paananen A., Miettinen M. et al. IFN-alpha and IL-18 synergistically enhance IFN-gamma production in human NK cells: differential regulation of Stat4 activation and IFN-gamma gene expression by IFN-alpha and IL-12. *Eur J Immunol* 2001;31(7):2236–45.
19. De Veer M.J., Holko M., Frevel M. et al. Functional classification of interferon-stimulated genes identified using microarrays. *J Leukoc Biol* 2001;69(6):912–20.
20. Shankaran V., Ikeda H., Bruce A.T. et al. IFN-gamma and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 2001;410(6832):1107–11. DOI: 10.1038/35074122.
21. Wang L., Wang Y., Song Z. et al. Deficiency of interferon-gamma or its receptor promotes colorectal cancer development. *J Interferon Cytokine Res* 2015;35(4):273–80. DOI: 10.1089/jir.2014.0132.
22. Kaplan D.H., Shankaran V., Dighe A.S. et al. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(13):7556–61. DOI: 10.1073/pnas.95.13.7556.
23. Street S.E., Cretney E., Smyth M.J. Perforin and interferon-gamma activities independently control tumor initiation, growth, and metastasis. *Blood* 2001;97(1):192–7. DOI: 10.1182/blood.v97.1.192.
24. Street S.E., Trapani J.A., MacGregor D. et al. Suppression of lymphoma and epithelial malignancies effected by interferon gamma. *J Exp Med* 2002;196(1):129–34. DOI: 10.1084/jem.20020063.
25. Enzler T., Gillesen S., Manis J.P. et al. Deficiencies of GM-CSF and interferon gamma link inflammation and cancer. *J Exp Med* 2003;197(9):1213–9. DOI: 10.1084/jem.20021258.
26. Mitra-Kaushik S., Harding J., Hess J. et al. Enhanced tumorigenesis in HTLV-1

- tax-transgenic mice deficient in interferon-gamma. *Blood* 2004;104(10):3305–11. DOI: 10.1182/blood-2004-01-0266.
27. Anderson C.C., Bretscher P., Corthay A. et al. Immunological tolerance. Part I of a Report of a Workshop on foundational concepts of immune regulation. *Scand J Immunol* 2017;85(2):84–94. DOI: 10.1111/sji.12500.
 28. Girardi M., Glusac E., Filler R.B. et al. The distinct contributions of murine T cell receptor (TCR)gammadelta+ and TCRalphabeta+ T cells to different stages of chemically induced skin cancer. *J Exp Med* 2003;198(5):747–55. DOI: 10.1084/jem.20021282.
 29. Tovey M.G., Streuli M., Gresser I. et al. Interferon messenger RNA is produced constitutively in the organs of normal individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84(14):5038–42. DOI: 10.1073/pnas.84.14.5038.
 30. Gattass C.R., King L.B., Luster A.D. et al. Constitutive expression of interferon gamma-inducible protein 10 in lymphoid organs and inducible expression in T cells and thymocytes. *J Exp Med* 1994;179(4):1373–8. DOI: 10.1084/jem.179.4.1373.
 31. Sercan O., Hammerling G.J., Arnold B. et al. Innate immune cells contribute to the IFN-gamma-dependent regulation of antigen-specific CD8+ T cell homeostasis. *J Immunol* 2006;176(2):735–9. DOI: 10.4049/jimmunol.176.2.735.
 32. Baldrige M.T., King K.Y., Boles N.C. et al. Quiescent haematopoietic stem cells are activated by IFN-gamma in response to chronic infection. *Nature* 2010;465(7299):793–7. DOI: 10.1038/nature09135.
 33. Duque G., Huang D.C., Dion N. et al. Interferon γ plays a role in bone formation in vivo and rescues osteoporosis in ovariectomized mice. *J Bone Miner Res* 2011;26(7):1472–83. DOI: 10.1002/jbmr.350.
 34. Wang F., Xu J., Zhu Q. et al. Downregulation of IFNG in CD4(+) T cells in lung cancer through hypermethylation: a possible mechanism of tumor-induced immunosuppression. *PLoS One* 2013;8(11):e79064. DOI: 10.1371/journal.pone.0079064.
 35. Lv N., Gao Y., Guan H. et al. Inflammatory mediators, tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma, induce EMT in human PTC cell lines. *Oncol Lett* 2015;10(4):2591–7. DOI: 10.3892/ol.2015.3518.
 36. Lu Y., Gu X., Chen L. et al. Interferon-gamma produced by tumor-infiltrating NK cells and CD4+ T cells downregulates TNFSF15 expression in vascular endothelial cells. *Angiogenesis* 2014;17(3):529–40. DOI: 10.1007/s10456-013-9397-y.
 37. Shime H., Maruyama A., Yoshida S. et al. Toll-like receptor 2 ligand and interferon-gamma suppress anti-tumor T cell responses by enhancing the immunosuppressive activity of monocytic myeloid-derived suppressor cells. *Oncoimmunology* 2017;7(1):e1373231. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1373231.
 38. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных веществ. Под ред. Р.У. Хабриева. М., 2005. [Guidelines for conducting preclinical studies of medicinal substances. Ed. by R.U. Khabriev. Moscow, 2005. (In Russ.)].
 39. Dighe A.S., Richards E., Old L.J. et al. Enhanced in vivo growth and resistance to rejection of tumor cells expressing dominant negative IFN gamma receptors. *Immunity* 1994;1(6):447–56. DOI: 10.1016/1074-7613(94)90087-6.
 40. Kaplan D.H., Shankaran V., Dighe A.S. et al. Demonstration of an interferon gamma-dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(13):7556–61. DOI: 10.1073/pnas.95.13.7556.
 41. Wang Q.S., Shen S.Q., Sun H.W. et al. Interferon-gamma induces autophagy-associated apoptosis through induction of cPLA2-dependent mitochondrial ROS generation in colorectal cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2018;498(4):1058–65. DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.03.118.
 42. Zhang R., Banik N.L., Ray S.K. Combination of all-trans retinoic acid and interferon-gamma suppressed PI3K/Akt survival pathway in glioblastoma T98G cells whereas NF-kappaB survival signaling in glioblastoma cells for induction of apoptosis. *Neurochem Res* 2007;32(12):2194–202. DOI: 10.1007/s11064-007-9417-7.
 43. Detjen K.M., Farwig K., Welzel M. et al. Interferon gamma inhibits growth of human pancreatic carcinoma cells via caspase-1 dependent induction of apoptosis. *Gut* 2001;49(2):251–62. DOI: 10.1136/gut.49.2.251.
 44. Schmitt M.J., Philippidou D., Reinsbach S.E. et al. Interferon- γ -induced activation of Signal Transducer and Activator of Transcription 1 (STAT1) up-regulates the tumor suppressing microRNA-29 family in melanoma cells. *Cell Commun Signal* 2012;10(1):41. DOI: 10.1186/1478-811X-10-41.
 45. Enzler T., Gillesen S., Manis J.P. et al. Deficiencies of GM-CSF and interferon gamma link inflammation and cancer. *J Exp Med* 2003;197(9):1213–9. DOI: 10.1084/jem.20021258.
 46. Braumüller H., Wieder T., Brenner E. et al. T-helper-1-cell cytokines drive cancer into senescence. *Nature* 2013;494(7437):361–5. DOI: 10.1038/nature11824.
 47. Zhang B., Karrison T., Rowley D.A. et al. IFN γ - and TNF-dependent bystander eradication of antigen-loss variants in established mouse cancers. *J Clin Invest* 2008;118(4):1398–404. DOI: 10.1172/JCI33522.
 48. Listopad J., Kammertoens T., Anders K. et al. Fas expression by tumor stroma is required for cancer eradication. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(6):2276–81. DOI: 10.1073/pnas.1218295110.
 49. Kammertoens T., Friese C., Arina A. et al. Tumour ischaemia by interferon-gamma resembles physiological blood vessel regression. *Nature* 2017;545(7652):98–102. DOI: 10.1038/nature22311.
 50. Windbichler G.H., Hausmaninger H., Stummvoll W. et al. Interferon-gamma in the first-line therapy of ovarian cancer: a randomized phase III trial. *Br J Cancer* 2000;82(6):1138–44. DOI: 10.1054/bjoc.1999.1053.
 51. Marijt K.A., Sluijter M., Blijleven L. et al. Metabolic stress in cancer cells induces immune escape through a PI3K-dependent blockade of IFN γ receptor signaling. *J Immunother Cancer* 2019;7(1):152. DOI: 10.1186/s40425-019-0627-8.
 52. Morgado M., Sutton M.N., Simmons M. et al. Tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma stimulate MUC16 (CA125) expression in breast, endometrial and ovarian cancers through NFkappaB. *Oncotarget* 2016;7(12):14871–84. DOI: 10.18632/oncotarget.7652.

Вклад авторов

В.Г. Исаева: проведение экспериментов и оценка результатов;
 Л.Ю. Гривцова: разработка концепции исследования, анализ данных, написание текста статьи;
 Л.П. Жовтун: проведение экспериментов;
 С.М. Самборский: проведение экспериментов, редактирование статьи;
 Н.А. Фалалева: научное консультирование.

Authors' contributions

V.G. Isaeva: conducting experiments and evaluating the results;
L.Y. Gritsova: development of the research concept, data analysis, writing the text of the article;
L.P. Zhovtun: conducting experiments;
S.M. Samborskiy: conducting experiments, article editing;
N.A. Falaleeva: scientific advice.

ORCID авторов / ORCID of authors

В.Г. Исаева / V.G. Isaeva: <https://orcid.org/0000-0003-0599-0691>
Л.Ю. Гривцова / L.Y. Gritsova: <https://orcid.org/0000-0001-9103-9688>
Л.П. Жовтун / L.P. Zhovtun: <https://orcid.org/0000-0002-2166-6608>
С.М. Самборский / S.M. Samborskiy: <https://orcid.org/0000-0003-3095-4158>
Н.А. Фалалеева / N.A. Falaleeva: <https://orcid.org/0000-0002-0023-4216>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Работа выполнена без спонсорской поддержки.
Financing. The work was performed without external funding.

Соблюдение правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике Медицинского радиологического научного центра им. А.Ф. Цыба – филиала ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России.
Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей.

Compliance with principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of A.F. Tsyba Medical Radiological Research Center – branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia.
The study was performed in accordance with the ethical standards for the treatment of animals adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for research and other scientific purposes.