

УДК 618.11-006.6:615.37

## ИММУННЫЕ НАРУШЕНИЯ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИХ КОРРЕКЦИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ РАКА ЯИЧНИКОВ

А.Т. Сулейменова, З.П. Камарли, З.А. Манамбаева

Представлена ключевая роль иммунных механизмов в прогнозировании клинического течения рака яичников. Отмечена взаимосвязь функционального состояния различных компонентов иммунной системы, что является основой для коррекции иммунных нарушений при раке яичников.

*Ключевые слова:* рак яичников; иммунный статус.

---

## IMMUNE DISORDERS AND POTENTIAL MECHANISMS FOR IMPROVE THE TREATMENT OF OVARIAN CANCER

A.T. Suleimenova, Z.P. Kamarli, Z.A. Manambaeva

The article presents a key role of immune mechanisms role in forecasting of the clinical course of an ovarian cancer. It is noted a correlation of the functional conditions of different components of the immune system, it is the basis for the treatment of the ovarian cancer immune disorders.

*Keywords:* ovarian cancer; immune status.

При многих новообразованиях попытки осуществления иммунотерапии по схемам, принятым в международной онкологической практике, в плане клинической эффективности оказались незначительными или вовсе безрезультатными [1, 2].

Главная задача иммунной системы – контроль за генетическим постоянством внутренней среды организма. Любые генетически, а следовательно, антигенно чужеродные клетки, попадающие в организм или возникающие в нем вследствие мутаций или других процессов, изменяющих геном, стимулируют иммунный ответ, направленный на элиминацию этих клеток.

Доказано, что независимость опухолевых клеток относительна. Между ними и организмом хозяина складываются сложные взаимоотношения. Они начинаются с момента трансформации нормальных клеток в опухолевые и продолжают в течение всего развития основного заболевания, от характера этого взаимодействия зависит, каким будет прогноз злокачественного процесса [3].

Все составляющие современного комплексного лечения онкологических заболеваний оказываются факторами, индуцирующими иммуносупрессию по клеточному типу, что крайне опасно, так как опухоль также использует механизмы супрессии для уменьшения реакции организма на ее на-

личие. Выделяются три степени иммуносупрессии [4], ассоциированной с опухолевым ростом:

1. Угнетение систем иммунореактивности на тканевом (локальном) уровне при превращении единичной опухолевой клетки в опухолевый зачаток (carcinoma in situ).

2. Иммуносупрессия на системном уровне под действием факторов опухолевых клеток.

3. Общая иммунодепрессия, возникающая вследствие нарушения процессов регуляции.

К этому можно добавить и системное иммуносупрессивное действие лечения рака.

Вторичный иммунодефицит при злокачественных опухолях выражается в снижении количественных и функциональных показателей клеточного иммунитета, в то время как показатели гуморального иммунитета практически соответствуют норме даже на поздних стадиях развития опухоли. В сыворотке опухоленосителей имеются блокирующие факторы, затрудняющие реализацию цитотоксического потенциала эффекторными клетками разного типа. Этими факторами могут быть антитела к опухолевым клеткам. Экранирование опухолевых клеток такими антителами от повреждения цитотоксическими лимфоцитами названо феноменом усиления опухолевого роста. Связывание антител с мембранными опухолевыми антигенами приводит к экрани-

рованию последних от цитотоксических лимфоцитов. Кроме того, в крови опухоленосителей присутствуют растворимые опухолевые антигены, которые активно секретируются опухолевой клеткой или “слущиваются” (shedding) с поверхности мембраны и связываются с рецепторами соответствующих цитотоксических лимфоцитов, препятствуя реализации их функций [5].

Иммунный ответ при развитии опухоли нарушается как на этапе презентации антигена, так и на этапе реализации эффекторной функции. Первыми клетками, которые подвергаются атаке со стороны опухоли, являются дендритные. Определенную роль дендритные клетки играют также в индукции и поддержании толерантности к собственным антигенам. В норме для адекватного иммунного ответа необходимо контактное и дистантное взаимодействие дендритной клетки и Т-хелпера.

На поверхности антигенпрезентирующих клеток из опухоли было обнаружено снижение уровня экспрессии МНС I и II классов, CD80, CD86, CD54, а также снижение уровня экспрессии  $\xi$ -цепи TCR Т-хелперов. Уровень экспрессии рецептора IL-2,  $\xi$ -цепи TCR, CD54, а также некоторых других показателей составляет примерно 80 % для периферических лимфоцитов и 30 % (от уровня этих показателей, соответствующих здоровым людям) для лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль [6].

Согласно современным представлениям, основные эффекторные механизмы, лежащие в основе иммунной деструкции опухолевых клеток и тканей, следующие: лизис, опосредованный антителами и комплементом; прямой клеточно-опосредованный лизис; цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ); лектинзависимая клеточная цитотоксичность; натуральные (естественные) киллеры (NK-клетки); антителозависимая клеточно-опосредованная цитотоксичность; лимфокин-активированные клетки; лизис, опосредованный макрофагами; токсичные медиаторы, выделяемые лимфоцитами, макрофагами и другими иммунными клетками.

Антитела способны осуществлять деструкцию клеток при их связывании с антигенами и комплементом. Кроме того, они играют роль опсонин, обеспечивая функционирование фагоцитов.

Популяция NK-клеток способна избирательно лизировать опухолевые клетки-мишени без предварительной сенсibilизации. Физиологическая роль этой популяции так же, как и механизм противоопухолевого ее действия, изучена недостаточно.

Третьей группой клеток-эффекторов в противоопухолевой защите являются лимфокин-активированные киллеры (ЛАК) или лимфоциты, способные лизировать разные опухолевые клетки после пред-

варительной обработки интерлейкином-2. Предшественниками ЛАК, возможно, являются нулевые лимфоциты. Клетки этой субпопуляции не несут на своей поверхности Т- и В-клеточных маркеров. Однако более детальные исследования с помощью различных панелей моноклональных антител показали, что, по крайней мере, одна из субпопуляций ЛАК является CD-позитивной. Предшественники и зрелые клетки этой субпопуляции несут на своей поверхности маркер Leu-19 [7].

Активированные макрофаги также распознают и лизируют опухолевые клетки. В отличие от лимфоцитарного лизиса этот процесс более пролонгирован, и эффект выявляется через 48–72 час.

Помимо регуляции иммунных реакций, контроля процессов созревания и дифференцировки иммунокомпетентных клеток, некоторые цитокины оказывают прямое цитотоксическое действие на клетки опухоли (интерферон- $\gamma$ ), а также способны изменять условия жизнедеятельности опухоли косвенными механизмами (ФНО). В функции цитокинов, регулирующих хемотаксическую активность, проницаемость сосудистой стенки, также входит создание условий для деструкции опухолей путем активации клеток-эффекторов различных типов [8, 9].

Установлено, что практически все медиаторы, входящие в состав номенклатуры интерлейкинов, могут быть использованы для лечения заболеваний различной природы, в том числе и новообразований. Развивается концепция, согласно которой в процессе неогенеза происходит нарушение баланса между продукцией пронеопластических (IL-6, кислотолabileная фракция IFN- $\alpha/\beta$ ), антинеопластических (IL-2, кислотостабильная фракция IFN- $\alpha/\beta$ , ФНО- $\alpha$ ), и других регуляторных цитокинов [10,11].

Помимо охарактеризованных интерлейкинов, в онкологической практике имеют большое значение и другие медиаторы – интерфероны (ИФН), колониестимулирующие факторы (КСФ) и фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ).

В отношении рака яичников выявлена существенная роль ряда различных факторов иммунной системы в патогенезе и прогнозе клинического течения.

Наблюдения, которые проводились в течение нескольких десятилетий, позволили сделать заключение, что имеются естественные иммунные реакции на опухоли яичников, и они могут оказывать существенное влияние на клиническое течение болезни.

В 2003 г. Zhang, Conejo-Garcia et al. показали, что инфильтрация опухолей яичников Т-клетками была связана с повышением выживаемости боль-

ных. У 74 пациентов с полным клиническим ответом на консервативное лечение, пятилетняя выживаемость составила 73,9 % среди тех больных, у которых в тканях новообразования имелись CD3+ лимфоциты по сравнению с 1,9 % у пациентов без Т-клеточной инфильтрации.

Цитотоксические Т-лимфоциты (CD8+) являются основными медиаторами противоопухолевого иммунного ответа. Эти клетки распознают антигены, входящие в состав главного комплекса тканевой совместимости (HLA) молекулы класса I, экспрессированные на клетках опухолей яичника. После распознавания антигена CD8+ клетки с помощью нескольких посредников, активируют апоптоз клеток-мишеней. Sato et al. [12] проанализировали 117 клинических случаев и наблюдали более высокую выживаемость пациенток, у которых было более высокое внутриэпителиальное содержание CD8+ клеток по сравнению с пациентками без такового (медиана выживаемости 55 против 26 месяцев).

Эти результаты являются очередным свидетельством двойной роли иммунной системы при злокачественных новообразованиях. В 2012 г. был завершен мета-анализ, объединяющий результаты 10 предшествующих работ, в которых исследовали связи числа инфильтрирующих опухоль лимфоцитов и выживаемость больных раком яичников. При анализе исследований, в которых выявляли все CD3+ (общий маркер Т-лимфоцитов) клетки или CD8+ (цитотоксические Т-лимфоциты) выявили, что инфильтрация опухоли лимфоцитами с любыми маркерами, повысило выживаемость в общей группе пациентов, которая включала различные гистологические формы и степени рака яичников, хотя преобладали серозные формы и запущенные случаи новообразования [13].

Роль инфильтрации опухоли клетками-хелперами (CD4+) менее ясна. Sato and Milne наблюдали сходные результаты у пациентов с наличием или без CD4+ клеток в тканях опухолей [14, 15], в то время как Le Page заметил, что повышение содержания CD4+ клеток у 199 обследованных с серозным раком было связано с увеличением выживаемости [16].

Были также изучены другие специфические кластеры цитотоксических клеток, но с менее определенными результатами.

Образование антител против клеток злокачественных новообразований яичников предполагает в прогнозе заболевания наличие роли В-лимфоцитов [17].

Недавнее исследование состава клеток инфильтрирующих опухоли яичников у женщин с серозным раком яичников II–III ст. в трех когортах

пациентов показали, что инфильтрация опухолей CD8+ и CD20+ (В-клеточный маркер) лимфоцитами была связана с повышением выживаемости (число клеток этих двух кластеров дифференцировки коррелировало). В-лимфоциты при этом не экспрессировали маркер клеток памяти (CD27), но секвенс IgG свидетельствовал о том, что они были экспонированы с антигеном.

В одном из недавних исследований (Milne K. et al., 2009) определяли лейкоцитарную инфильтрацию и экспрессию иммунных маркеров в большой серии биоптатов и рака яичников, включающую: 199 – высокодифференцированного серозного рака, 39 – муцинозного, 125 – эндометриоидного и 132 образца тканей яичников, не пораженных опухолевым процессом. Они выявили, что при высокодифференцированном серозном раке было наибольшее число образцов тканей, содержащих общий лейкоцитарный маркер CD45. Также они чаще содержали другие маркеры иммунцитов, такие как FoxP3, CD25 и CD20, по сравнению с другими иммунцитарными маркерами. При муцинозных формах наблюдались наименьшее число лейкоцитарно инфильтрированных опухолей и мощность инфильтрации. Это исследование определяет возможность того, что различные гистологические формы рака яичников различно взаимодействуют с иммунной системой и предполагают возможность дифференцированных иммунотерапевтических подходов [18].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют, что клетки рака яичников, как и других злокачественных новообразований осуществляют воздействия на цитотоксические и другие эффекторные клетки в микроокружении для подавления иммунного ответа. В нескольких исследованиях была проведена оценка содержания Tregs у больных раком яичников и было выявлено, что этот показатель негативно влияет на прогноз и исходы новообразования, а также на негативные клинические показатели, такие как запущенность случая и недостаточное уменьшение объема опухоли в ходе лечения. Вдобавок к прямому иммуносупрессивному действию Treg-ассоциированные факторы, такие как TGF $\beta$ , оказывают непосредственное действие на клетки новообразования, увеличивающие их агрессивность.

В отличие от воздействий, которые непосредственно увеличивают или уменьшают численность лимфоцитов тех или иных кластеров дифференцировки или их присутствие в опухоли, возможны нарушения регуляции функции противоопухолевого иммунитета, связанные с нарушениями интеграции цитокиновых сетей. Наиболее известной интегрированной цитокиновой сетью является “сеть ФНО”, включающая непосредственно фактор нек-

роза опухоли, CXCL-12 и IL-6. Она была выявлена у пациентов с раком яичников. Содержание IL-6 непосредственно способствует росту новообразования и его распространению посредством нескольких механизмов, включающих клеточную пролиферацию, ангиогенез и снижение чувствительности к проапоптотическим регуляторам [19]. Высокие уровни IL-6 в сыворотке крови больных раком яичников были связаны с уменьшением выживаемости. Кроме того, высокое содержание IL-6 часто обнаруживается при наличии асцита. Одним из непосредственно следующих выводов, связанных с проканцерогенным эффектом IL-6, является возможность его подавления для коррекции опухолевого роста. Во множестве клинических исследований при различных формах новообразований, включая рак яичников, почек и простаты был использован Силтуксимаб (CNTO328) – человеческо-мышинное химерное антитело против IL-6 [20]. Обычно применение данных антител переносится хорошо, однако результаты исследований неоднозначны. Во второй фазе клинического исследования, проведенного у 18 больных раком яичников: одна пациентка имела частично положительный ответ и у 7 отмечалась временная стабилизация процесса. Эффективность блокирования IL-6 связана со спецификой новообразования.

Содержание CXCR4, как ранее сообщали, было более значительным при раке яичников; соответствующий лиганд, CXCL12, кроме клеток рака яичников секретируется стромальными и эндотелиальными клетками. Высокие уровни CXCL12 также были выявлены при асцитах, связанных с новообразованиями [21]. Данная сигнальная линия имеет многочисленные эффекты, включая стимуляцию пролиферации, ангиогенез, стимулированный эндотелиальным фактором роста сосудов и изменения аффинности иммуноцитов к тканям опухоли [21]. Блокада CXCL12/CXCR4-сигнального каскада приводит к уменьшенной вербовке Treg-клеток в опухоли и последующему значительному увеличению отношения клеток CD8+/Treg и увеличению иммунного ответа.

Экспрессия ФНО- $\alpha$  при различных новообразованиях, включая рак яичников, изучалась в течение длительного времени. Она четко коррелирует с повышенной экспрессией CXCL12 и IL-6, что приводит к множественности эффектов ФНО- $\alpha$ . Результирующее воздействие ФНО- $\alpha$  на опухоль может зависеть как от времени, так и от содержания; однократное воздействие в большой дозе может стимулировать регресс опухоли, в то время как хроническая экспрессия низкой дозы ФНО- $\alpha$  может быть компонентом сети прогрессирования опухоли при раке яичников.

Таким образом, имеется множество подтверждений наличия взаимосвязей функционального состояния различных компонентов иммунной системы, клинического течения и исходов злокачественных новообразований, в том числе рака яичников, что может служить основой для создания новых методов лечения.

#### Литература

1. Olsen L.R., Campos B., Barnkob M.S. et al. Bioinformatics for cancer immunotherapy target discovery // *Cancer Immunol Immunother.* 2014. Dec; 63(12):1235–49.
2. Rosenberg S.A. Decade in review-cancer immunotherapy: entering the mainstream of cancer treatment // *Nat Rev Clin Oncol.* 2014. Nov; 11(11):630–2.
3. Songur N., Kuru B., Kalkan F. et al. Serum interleukin-6 levels correlate with malnutrition and survival in patients with advanced non-small cell lung cancer // *Tumori.* 2004; 90:196–200.
4. Молчанов О.Е. Современные тенденции иммунотерапии злокачественных опухолей / О.Е. Молчанов, И.А. Попова, В.К. Козлов и др. СПб.: Изд-во СПбГУ, 2001. 88 с.
5. Cannon M.J., O'Brien T.J. Cellular immunotherapy for ovarian cancer // *Expert Opin Biol Ther.* 2009. June; 9 (6): 677–688.
6. Liu B., Nash J., Runowicz C. et al. Ovarian cancer immunotherapy: opportunities, progresses and challenges // *J Hematol Oncol.* 2010. Feb 10; 3:7.
7. Linn Y.C., Hui K.M., Nishimura R., Baker J., Beilhack A. et al. In vivo trafficking and survival of cytokine-induced killer cells resulting in minimal GVHD with retention of antitumor activity. *Blood.* 2008; 112(6):2563–2574.
8. Barbieri F., Bajetto A., Florio T. Role of chemokine network in the development and progression of ovarian cancer: a potential novel pharmacological target // *J Oncol.* 2010; 2010:15.
9. Zhang L., Conejo-Garcia J.R., Katsaros D. et al. Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer // *N Engl J Med.* 2003; 348:203–213.
10. Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance // *Nat Rev Cancer.* 2005; 5:263–274.
11. Leffers N., Gooden M.J., de Jong R.A. et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T-lymphocytes in primary and metastatic lesions of advanced stage ovarian cancer // *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58:449–459.
12. Hwang W.T., Adams S.F., Tahirovic E. et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating T cells in ovarian cancer: a meta-analysis // *Gynecol Oncol.* 2012; 124:192–198.

13. Sato E., Olson S.H., Ahn J. et al. Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer // Proc Natl Acad Sci USA. 2005; 102:18538–18543.
14. Le Page C., Marineau A., Bonza P.K. et al. BTN3A2 Expression in epithelial ovarian cancer is associated with higher tumor infiltrating T cells and a better prognosis // PLoS ONE. 2012; 7:e38541.
15. Milne K., Kobel M., Kalloger S.E. et al. Systematic analysis of immune infiltrates in high-grade serous ovarian cancer reveals CD20, FoxP3 and TIA-1 as positive prognostic factors // PLoS ONE. 2009; 4:e6412.
16. Curotto de Lafaille M.A., Lafaille J.J. Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor? // Immunity. 2009; 30:626–635.
17. Penson R.T., Kronish K., Duan Z. et al. Cytokines IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-6, IL-8, MCP-1, GM-CSF and TNF- $\alpha$  in patients with epithelial ovarian cancer and their relationship to treatment with paclitaxel // Int J Gynecol Cancer. 2000; 10:33–41.
18. Coward J., Kulbe H., Chakravarty P. et al. Interleukin-6 as a therapeutic target in human ovarian cancer // Clin Cancer Res. 2011; 17:6083–6096.
19. Scotton C.J., Wilson J.L., Scott K. et al. Multiple actions of the chemokine CXCL12 on epithelial tumor cells in human ovarian cancer // Cancer Res. 2002; 62:5930–5938.
20. Kajiyama H., Shibata K., Terauchi M. et al. Involvement of SDF-1 $\alpha$ /CXCR4 axis in the enhanced peritoneal metastasis of epithelial ovarian carcinoma // Int J Cancer. 2008; 122:91–99.
21. Righi E., Kashiwagi S., Yuan J. et al. CXCL12/CXCR4 Blockade induces multimodal antitumor effects that prolong survival in an immunocompetent mouse model of ovarian cancer // Cancer Res. 2011; 71:5522–5534.