

## ИНТЕРФЕРОН-ГАММА В ОНКОЛОГИИ

З.Г. Кадагидзе, Е.Г. Славина, А.И. Черткова  
 Централизованный клиничко-лабораторный отдел РОНЦ  
 им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва  
 Автор для связи: З.Г. Кадагидзе – д.м.н., проф., акад. РАЕН,  
 зав. централизованным клиничко-лабораторным отделом РОНЦ  
 им. Н.Н. Блохина РАМН; e-mail: kad-zaira@yandex.ru

Приводятся литературные данные об иммуномодулирующем действии интерферона- $\gamma$  в клинике и эксперименте, а также данные о клиническом применении и эффективности отечественного рекомбинантного препарата интерферона- $\gamma$  – Ингарона. Исследования Ингарона продемонстрировали его значительную иммуномодулирующую активность при лечении онкологических больных с меланомой, раком шейки матки и раком молочной железы. Наиболее интересным представляется влияние Ингарона на естественные киллеры. Независимо от количества этих клеток Ингарон увеличивает их цитотоксические потенции относительно опухолевых клеток. Ингарон может играть важную роль в повышении результативности клинического эффекта терапии онкологических больных.

**Ключевые слова:** иммуномодуляторы, интерферон- $\gamma$ , Ингарон, опухоли, иммунитет

*The article presents the data on the immunomodulating effect of interferon- $\gamma$  in clinical and experimental settings, and clinical data on the use and effectiveness of the domestic preparation of recombinant interferon- $\gamma$  – Ingaron. Studies have demonstrated that Ingaron has significant immunomodulating activity in the treatment of cancer patients with melanoma, cervical cancer and breast cancer. The most interesting is the effect of Ingaron on natural killer cells. Regardless of the number of these cells, Ingaron increases their cytotoxic potency relative to tumor cells. Ingaron can play an important role in enhancing the effectiveness of the treatment of cancer patients.*

**Key words:** immunomodulating agents, interferon - $\gamma$ , Ingaron , tumors, immunity

Полученные за последние 25 лет данные о состоянии иммунной системы онкологических больных показали, что рост большинства злокачественных новообразований сопровождается определенными нарушениями иммунного ответа. В то же время анализ зависимости иммунологических показателей от степени распространенности процесса выявил, что наличие локального процесса при некоторых нозологических формах не оказывало существенного влияния на иммунный ответ, в то время как при других формах наблюдалась выраженная иммунодепрессия. Особый интерес представляют больные с резко сниженными иммунологическими показателями уже на ранних стадиях заболевания; у большинства таких пациентов опухоли быстро прогрессируют, приводя к гибели больного. При распространении процесса во всех случаях отмечается значительное снижение количества иммунологически активных клеток. В 65–70 % случаев имеет место совпадение между уровнем иммунологических показателей и течением заболевания, т. е. определение состояния иммунной системы

дает дополнительную информацию о степени распространенности опухолевого процесса, клинического течения и прогноза заболевания. Хотя ряд этих исследований в настоящее время оценивается несколько критически, однако благодаря им были выявлены некоторые существенные закономерности взаимоотношения развивающейся опухоли и иммунной системы организма, взаимосвязи степени подавления иммунного ответа с размерами опухоли и эффектом проводимого лечения. Эти данные послужили основанием широкого использования иммунотерапии в комплексном лечении злокачественных новообразований. С этой целью используются различные иммуномодуляторы (ИМ), которые в терапевтических дозах восстанавливают функции иммунной системы [1]. Почти 25-летний опыт использования ИМ в онкологии выявил как положительные, так и отрицательные стороны этого вида лечения. Показано, что ряд препаратов способствует быстрому восстановлению иммунологических и гематологических показателей после хирургической, химио- и радиотерапии, что позволяет раньше начинать

следующие курсы лечения, а это в свою очередь повышает эффективность проводимой терапии [2]. Ряд препаратов при их профилактическом применении способствует увеличению длительности ремиссии. В то же время отмечено, что неадекватное применение иммунотропных препаратов может способствовать ускорению опухолевого роста.

В отечественной клинической практике количество препаратов, применяемых в онкологии, довольно ограничено, т. к. рекомендованы могут быть лишь те, которые прошли клинические исследования и для которых разработаны показания и режимы введения. Большинство из них обладает хорошо изученным механизмом действия и преимущественным влиянием на то или иное звено иммунной системы, что указывает на необходимость предварительной оценки состояния иммунитета в каждом конкретном случае и назначении препарата в соответствии с дефектом иммунной системы. Наиболее целесообразно назначать их при вторичных иммунодефицитах, являющихся следствием опухолевого процесса, а также хрони-

ческих, вялотекущих, рецидивирующих инфекционно-воспалительных процессах любой локализации. Целесообразным также остается раннее применение ИМ при назначении этиотропных химиотерапевтических средств или в различных комбинациях со стандартным противоопухолевым лечением. Наиболее часто применяемыми ИМ являются Полиоксидоний, Имунфан, Галавит, Липоид, Лейкинферон и др. Особую группу ИМ составляют цитокины – интерфероны (ИФ), интерлейкины (ИЛ), фактор некроза опухолей, действие которых связано не только с влиянием на иммунокомпетентные клетки, но и на процессы апоптоза, ангиогенеза и др. Кроме того, возможны и различные их комбинации [3].

### Применение в онкологической практике интерферона- $\gamma$

ИФ- $\gamma$  – лимфоцитарный иммунный интерферон, является ключевым цитокином как естественного, так и адаптивного иммунитета. Он играет центральную роль в защите организма от патогенных микроорганизмов и является необходимым компонентом системы иммунологического надзора и регуляции опухолевого роста [4]. Нарушение продукции этого цитокина повышает чувствительность организма к инфекционным заболеваниям, а также способствует развитию опухолей. ИФ- $\gamma$  продуцируется активированными Т-лимфоцитами и НК-клетками. Продукентами ИФ- $\gamma$  являются как цитотоксические CD8<sup>+</sup>-, так и хелперные CD4<sup>+</sup>-клетки. При этом способность вырабатывать ИФ характерна только для Th1, но не для Th2. ИФ- $\gamma$  играет важную роль в иммунорегуляции [5]. Он участвует в обеспечении взаимосвязи между лимфоцитами и макрофагами, стимулирует антигенпрезентирующую функцию макрофагов, усиливает продукцию ими цитокинов ИЛ-1 и -12, регулирует соотношение клеточного и гуморального звеньев иммунного ответа, усиливая развитие клеточного иммунитета и подавляя гуморальный иммунный ответ. ИФ- $\gamma$  повышает экспрессию антигенов главного комплекса гистосовместимости МНС I и II классов на

поверхности опухолевых клеток как *in vitro*, так и *in vivo* [6], наличие которых на опухолевых клетках необходимо для развития специфического противоопухолевого иммунного ответа. ИФ- $\gamma$  оказывает также прямое антипролиферативное действие на опухолевые клетки и индуцирует их апоптоз *in vitro* и *in vivo* [7, 8]. Противоопухолевое действие ИФ- $\gamma$  связано также с его способностью активировать НК-клетки, цитотоксические Т-лимфоциты и макрофаги. По-видимому, противоопухолевое действие ИФ- $\gamma$  обусловлено комбинацией его иммуномодулирующей активности, прямого антипролиферативного действия на опухолевые клетки и подавления ангиогенеза.

Отторжение опухоли, как правило, становится результатом действия цитотоксических лимфоцитов, убивающих опухолевые клетки, однако во многих случаях Т-клетки, обладающие литической функцией, но не способные продуцировать ИФ- $\gamma$ , не могут отторгнуть опухоль. В экспериментах на мышах было продемонстрировано, что отторжению различных опухолей (фибросаркома, gas-трансформированные фибробласты, карцинома толстого кишечника, плазмцитомы), осуществляемому цитотоксическими CD8<sup>+</sup>-Т-клетками, предшествует подавление опухолеиндуцированного ангиогенеза ИФ- $\gamma$ . Торможение ангиогенеза и отторжение опухоли наблюдались у перфорин-, но не у ИФ- $\gamma$ -дефицитных мышей. По-видимому, ИФ- $\gamma$ -зависимый антиангиогенез играет важную роль в отторжении опухоли CD4<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>-клетками [9, 10]. ИФ- $\gamma$ , как и ИФ- $\alpha$ , способен также повышать цитотоксическую активность химиопрепаратов [11, 12]. В настоящее время активно ведутся исследования по изучению эффективности ИФ- $\gamma$  для онкологических больных.

Так, по результатам двух клинических исследований II и III фаз U. Otto и соавт. [13] общий эффект в группе терапии ИФ- $\alpha$  составил 31 %, сохраняющийся от 2 до 24 + 1 месяц, а ИФ- $\gamma$  – 30 % с продолжительностью эффекта от 2 до 34 + 1 месяц. ИФ- $\gamma$  вводился в/в (4-часовая инфузия) 100 мкг/м<sup>2</sup> 3 раза в неделю каждые 2 недели либо

в/в (24-часовая инфузия) 500 мкг/м<sup>2</sup> 5 раз в неделю каждые 2 недели.

В целом для клинической практики оптимальная доза ИФ- $\gamma$  до сих пор не определена, а рекомендуемое назначение ИФ- $\gamma$  в дозе 100 мкг/м<sup>2</sup> основано на экспериментальных данных. При этой дозе у больных наблюдалась максимальная иммунологическая активность ИФ- $\gamma$ : активация лимфоцитов и моноцитов, антителзависимая цитотоксичность моноцитов, экспрессия Fc рецепторов [14], индукция в плазме  $\beta$ 2-микроглобулина и уровня неоптеина [15], связанные авторами с клиническим эффектом.

В экспериментах на животных также показано, что ежедневное введение ИФ- $\gamma$  было менее эффективным, чем введение 3 раза в неделю [16]. Лабораторные и клинические данные показали, что ежедневные инъекции препарата в конечном счете снижают иммунные параметры, повышенные после первого введения ИФ- $\gamma$  [17–19].

Клиническая активность ИФ- $\gamma$  была показана во II фазе исследования J. Ellerhorst и соавт. [20] (n = 34) при изучении эффективности и безопасности низкой дозы ИФ- $\gamma$  (100 мкг ежедневно) для больных с прогрессирующим заболеванием после нефрэктомии по поводу рака почки. Общая эффективность составила 15 %, длительность эффекта – от 2 до 21 + 1 месяц. Клинически значимой токсичности не отмечено.

В большом мультицентровом исследовании E. Small и соавт. [21] из 202 больных метастатическим раком почки, получавших ИФ- $\gamma$  (60 мкг/м<sup>2</sup> 1 р/7 дней), лишь у 6 (3 %) отмечен клинический эффект, из них у 3 пациентов – полная ремиссия, у 3 – частичная с медианой длительности эффекта 13,3 месяца (от 2 до 23 месяцев) и медианой выживаемости 13,4 месяца (от 5,5 до 29,2 месяца). Токсичность была минимальной в виде астении, лихорадки, озноба, тошноты, головных болей. У 14 % развилась токсичность III–IV степеней.

В другой группе исследований пациентам с распространенным раком яичников с остаточными проявлениями болезни после терапии цисплатином ИФ- $\gamma$  вводили внутривенно 2 раза

в неделю в течение 3–4 месяцев. Из 98 больных 23 достигли полного эффекта, 8 – частичного. При этом возраст и размер опухоли стали единственными факторами, влиявшими на результаты терапии [22]. В другой линии исследований 148 женщин, предварительно леченных цисплатином и циклофосфаном, получали ИФ-γ 3 раза в неделю. Введение ИФ-γ приводило к достоверному увеличению продолжительности периода стабилизации, однако не увеличивало общей продолжительности жизни больных [23].

В России разработан и внедрен в клиническую практику лечения различных заболеваний препарат Ингарон. Ингарон – рекомбинантный ИФ-γ человека, состоит из 144 аминокислотных остатков, лишен первых трех аминокислотных остатков – Cys–Tyr–Cys, замененных на Met. Молекулярная масса – 16,9 кДа. Получен микробиологическим синтезом в рекомбинантном штамме *Escherichia coli* и очищен колоночной хроматографией. Удельная противовирусная активность на клетках (фибробласты человека), инфицированных вирусом герпетического стоматита, составляет  $2 \times 10^7$  ЕД на 1 мг белка.

В лаборатории клинической иммунологии опухолей НИИ клинической онкологии ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» РАМН проведено изучение влияния терапии Ингароном в сочетании с химиотерапией на основные показатели иммунологической реактивности организма (субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови и цитотоксическую активность естественных киллеров (НК-клеток) больных меланомой, раком молочной железы и раком шейки матки на разных этапах лечения. Ингарон вводили больным ежедневно в дозе  $500 \times 10^3$  МЕ в течение 5 дней. Далее больные получали различные схемы химиотерапии (в зависимости от нозологической формы), затем вновь Ингарон [24]. К настоящему времени описан результат лечения 39 больных злокачественной меланомой. Четыре (10,3 %) больных достигли полного регресса опухоли, 9 (23,1 %) – частичного; у 16 (41 %) отмечена стабилизация болезни на срок не менее

3 месяцев. Полный + частичный регресс опухоли достигнут в 33,3 % случаев, общий лечебный эффект (полный + частичный регресс + стабилизация болезни) – в 77,4 %. Полученные высокие результаты клинической эффективности режима с включением Ингарона подтвердились анализом времени дожития больных. Во всей группе вероятность дожить до 7 месяцев составила 80,5 %, до 14 – 53,1 %, до 29 месяцев – 36,7 %.

Сопоставление результатов лечения с включением Ингарона и контрольной группы (без Ингарона) показало, что как частота достижения объективного эффекта (полный + частичный) 33,3 против 20,9 %, так и лечебный эффект (полный + частичный + стабилизация болезни) были выше среди больных, получавших Ингарон.

Преимущество химиотерапии с включением Ингарона наиболее полно проявилось при сравнении выживаемости больных. Медиана времени до прогрессирования у 43 больных, получавших только химиотерапию, составила 5,8 месяца, против 9,2 – при проведении химиотерапии с включением Ингарона. Разница была статистически значимой,  $p = 0,03$ .

Медиана общей выживаемости при проведении химиотерапии составила 9,3 месяца, а у больных, получавших лечение с включением Ингарона, – 15,2; разница статистически значима ( $p = 0,02$ ).

Таким образом, продемонстрирована тенденция к увеличению эффекта химиотерапии благодаря включению в режим Ингарона. Особенно важно отметить статистически значимое увеличение времени до прогрессирования и общей выживаемости больных.

Определение субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных меланомой показало, что практически у всех исследованных больных после 2 курсов терапии Ингароном отмечено повышение пропорции лимфоцитов, экспрессирующих маркер Т-лимфоцитов CD5 по сравнению с исходным уровнем. Практически у всех больных до лечения имели место нарушения процентного содержания НК-клеток (CD16<sup>+</sup>): это выражалось как в увеличении

показателя выше нормы, так и в снижении его ниже нормы. После 2 курсов лечения наблюдалась нормализация количества этих клеток у больных как с показателями, превышающими норму, так и ниже нормы. При этом цитотоксическая активность НК-клеток практически у всех больных возрастала по сравнению с исходным уровнем.

Обследование больных раком шейки матки показало, что у большинства пациенток до начала лечения % CD3<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов был ниже нормы. В процессе лечения произошло повышение этого показателя до нормы. У обследованных больных до лечения был повышен % лимфоцитов, экспрессирующих HLA-DR, после проведенного лечения наблюдалось снижение этого показателя до нормальных значений. У части больных раком шейки матки до лечения имело место значительно превышающее норму количество CD25<sup>+</sup>-лимфоцитов. В процессе лечения % этих клеток у большинства больных снижался и приходил к норме. Следует отметить, что маркер CD25 является маркером не только активации лимфоцитов, но и в большей степени регуляторных Т-клеток, препятствующих эффективному иммунологическому ответу на опухоль.

Одновременно происходила и нормализация % лимфоцитов, экспрессирующих рецептор трансферрина CD71; показатель до лечения был выше нормы.

Особый интерес представляет анализ иммунологических данных больных с клиническим эффектом. В качестве примера можно привести данные больной М., которую проведенное лечение привело к полному клиническому эффекту. Иммунологическое обследование выявило повышение % лимфоцитов, экспрессирующих маркеры CD3, CD4, CD38, CD95. Несмотря на то что % CD16<sup>+</sup>-клеток практически не менялся в процессе лечения, цитотоксическая активность естественных киллеров (НК-клеток) возрастала, т. е. увеличивался их цитотоксический (противоопухолевый) потенциал. Таким образом, клинический эффект сопровождался улучшением иммунологических показателей.

После 4 курсов лечения больной была выполнена радикальная мастэктомия. По данным гистологического исследования удаленного материала был отмечен патоморфоз IV степени.

Проведенное исследование влияния терапии Ингароном на основные показатели иммунологической реактивности показало, что Ингарон оказывает имму-

номодулирующее действие на больных меланомой, раком шейки матки и раком молочной железы: наблюдается тенденция к повышению % лимфоцитов, экспрессирующих CD5, нормализация % CD3<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>-лимфоцитов. Наиболее интересным представляется влияние Ингарона на естественные киллеры.

Препарат приводит к нормализации как повышенного, так и пониженного % CD16<sup>+</sup>-клеток. При этом цитотоксическая активность NK-клеток возрастает. Полученные данные свидетельствуют: Ингарон может играть важную роль в повышении результативности клинического эффекта терапии онкологических больных.

## ЛИТЕРАТУРА

- Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. Современные иммуномодуляторы. Классификация. Механизмы действия // Аллергия, астма и клиническая иммунология 2000. №1. С. 9–16.
- Кадагидзе З.Г. Современные подходы к иммунотерапии опухолей // Новости прикладной иммунологии 2001. № 5. С. 12–14.
- Кадагидзе З.Г. Современные подходы к биотерапии опухолей // Аллергология и иммунология 2003. Т. 4. № 2. С. 6.
- Ikeda H, et al. The role of IFN gamma:in protection against tumor development and cancer immunoediting. Cytokine Growth Factor Rev 2002;13,95–109.
- Schroder K, et al. Hume DA. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. J Leukocyte Biology 2004;75:163–89.
- Propper DJ, et al. Low-dose IFN-gamma induces tumor MHC expression in metastatic malignant melanoma. Clinical Cancer Res 2003; 9:84–92.
- Wall L, et al. IFN-gamma induces apoptosis in ovarian cancer cells in vivo and in vitro. Clinical Cancer Res, 2003;9:2487–96.
- Chawla-Sarkar M, et al. Apoptosis and interferons: role of interferon-stimulated genes as mediators of apoptosis. Apoptosis 2003; 8:237–49.
- Qin Z, et al. A critical requirement of interferon gamma-mediated angiostasis for tumor rejection by CD8<sup>+</sup> T cells. Cancer Res 2003;63:4095–100.
- Blankenstein T. The role of tumor stroma in the interaction between tumor and immune system. Curr Opin Immunol 2005;17:180–86.
- Saidi RF, et al. AACR Meeting Abstracts 2006;4:1159.
- Славина Е.Г., Черткова А.И., Короткова О.В. и др. Модуляция интерфероном-γ цитотоксичности и индукции апоптоза доксорубицином и 5-фторурацилом // Иммунология 2005. Т. 26. № 1. С. 16–19.
- Otto U, Schneider A, Denkhau H, et al. Treatment of metastatic kidney cancer with recombinant alpha-2 or gamma interferon. Results of 2 clinical phase II and III studies. Onkologie 1988;11(4):185–91.
- Weiner LM, Steplewski Z, Kropowski H, et al. Biologic effects of γ-interferon pre-treatment followed by monoclonal antibody 17-1A administration in patients with gastrointestinal carcinoma. Hybridoma 1986;5(Suppl. 1):65–77.
- Aulitzky W, Gastl G, Aulitzky WE, et al. Interferon-γ for the treatment of metastatic renal cancer: dose-dependent stimulation and down-regulation of γ-2 microglobulin and neopterin responses. Immunobiology 1987;176:85–95.
- Talmadge JE, Black PL, Tribble H, et al. Preclinical approaches to the treatment of metastatic disease: therapeutic properties of rH TNF, rM IFN-γ, and rH IL-2. Drugs Exp Clin Res, 1987; 13:327–37.
- Maluish AE, Urba WJ, Longo, et al. The determination of an immunologically active dose of interferon-γ in patients with melanoma. J Clin Oncol 1988;6:434–45.
- Saiki I, Murata J, Saito S, et al. Effect of systemic administration of mouse recombinant interferon-γ on the lung tumor metastases in mice. Mol Biother 1989;1:261–67.
- Rossi CR, Foletto M, Mocellin S, et al. Hyperthermic isolated limb perfusion with low dose tumor necrosis factor-alpha and melphalan for bulky in transit melanoma metastases. Ann Surg Oncol 2004;11:173–77.
- Ellerhorst JA, Kilbourn RG, Amato RJ, et al. Phase II trial of low dose gamma-interferon in metastatic renal cell carcinoma. Logothetis J Urol 1994;152(3):841–45.
- Small EJ, Weiss GR, Malik UK, et al. The treatment of metastatic renal cell carcinoma patients with recombinant human gamma interferon. Cancer J Sci Am 1998;4(3):162–67.
- Pujade-Lauraine E, Guastalla JP, Colombo N, et al. Intraperitoneal recombinant interferon gamma in ovarian cancer patients with residual disease at second-look laparotomy. J Clin Oncol 1996;14:343–50.
- Windbichler GH, Hausmaninger HW, Stummvoll AH, et al. Interferon-gamma in the first line therapy of ovarian cancer: a randomized phase III trial. British J Cancer 2000;82: 1138–44.
- Абрамов М.Е., Гуторов С.Л., Славина Е.Г. и др. Химиотерапия диссеминированной меланомы кожи с включением ингарона (γ-интерферона). Клинико-иммунологическое исследование // Российский биотерапевтический журнал 2009. Т. 8. № 1. С. 64–74.