ТОМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ТОМСКИЙ НИИ ОНКОЛОГИИ

ИММУННАЯ СИСТЕМА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

Издательство Томского университета
2015

УДК 616-006.04-08:612.017.1:577.2:615.277.3

ББК 55.6:52.5:28.0

И 53

*Работа поддержана грантом Российского научного фонда
№14-15-00350 «Молекулярный механизм действия регуляторных белков
макрофагов второго типа на формирование опухолевого
микроокружения и прогрессию опухолей»*

Редакторы:

Ю.Г. Кжышковска, д-р биол. наук,

Н.В. Чердынцева, д-р биол. наук

Рецензент – *Е.Л. Чойнзонов, д-р мед. наук, академик РАН*

Авторы:

Ю.Г. Кжышковска, М.Н. Стахеева, Н.В. Литвяков, О.Е. Савельева,

И.В. Митрофанова, И.В. Степанов, А.Н. Грачев, Т.С. Геращенко,

М.В. Завьялова, Н.В. Чердынцева

Иммунная система и эффективность противоопухолевого ле-
И53 чения / Ю.Г. Кжышковска, М.Н. Стахеева, Н.В. Литвяков и др.;
под ред. Ю.Г. Кжышковской, Н.В. Чердынцевой. – Томск: Изд-во
Том. ун-та, 2015. – 164 с.

ISBN 978-5-7511-2391-8

DOI 10.17223/978-5-7511-2391-8

Представлены сведения о современных методах конвенциональной и «таргетной» химиотерапии злокачественных опухолей, дан анализ причин ее недостаточной эффективности, связанных с феноменом множественной лекарственной устойчивости, внутриопухолевой гетерогенностью и множественностью молекулярных механизмов опухолевой прогрессии. Охарактеризовано опухолевое микроокружение как важнейший компонент, определяющий биологическое поведение опухоли. Проанализирована роль хронического воспаления в прогрессии опухолей. Показано, что цитостатическое лечение активирует ответ иммунной системы на опухоль. Обоснованы перспективы для использования макрофагов и других компонентов в качестве терапевтических мишеней с целью модификации опухолевого микроокружения в направлении ингибции роста опухоли и снижения риска метастазирования.

Для патофизиологов, онкологов, иммунологов, врачей, специалистов биомедицинского профиля, студентов медицинских и биологических специальностей.

УДК 616-006.04-08:612.017.1:577.2:615.277.3

ББК55.6:52.5:28.0

ISBN 978-5-7511-2391-8

© Ю.Г. Кжышковска, М.Н. Стахеева, Н.В. Литвяков,
О.Е.Савельева, И.В. Митрофанова, И.В. Степанов, А.Н. Грачев,
Т.С. Геращенко, М.В. Завьялова, Н.В. Чердынцева, 2015

TOMSK STATE UNIVERSITY
TOMSK CANCER RESEARCH INSTITUTE

IMMUNE SYSTEM AND THE EFFICACY OF CANCER TREATMENT

Tomsk University Publishing House

2015

*This study was supported by the grant from the Russian Science Foundation
№14-15-00350 «Molecular mechanism of action of regulatory proteins of
type 2 macrophages on tumor microenvironment
and tumor progression*

Editors: *Yu.G. Kzhyshkovska, Dr. of Sciences
N.V. Cherdyntseva, Dr. of Sciences*

Reviewer – *E.L. Choyazonov, Dr. of Sciences,
academician Russian Academy of Science*

Authors:

Yu.G. Kzhyshkovska, M.N. Stakheeva, N.V. Litviakov, O.E. Savelyeva,
I.V. Mitrofanova, I.V. Stepanov, A.N. Gratchev, T.S. Gerashchenko,
M.V. Zavyalova, N.V. Cherdyntseva

Immune system and the efficacy of cancer treatment /
153 Yu.G. Kzhyshkovska, M.N. Stakheeva, N.V. Litviakov et al.; by
Yu.G. Kzhyshkovska, N.V. Cherdyntseva. – Tomsk: University Publi-
shing House, 2015. – 164 p.

ISBN 978-5-7511-2391-8

DOI 10.17223/978-5-7511-2391-8

The current methods of conventional and "targeted" cancer chemotherapy have been presented and the reasons for chemotherapy's lack of effectiveness related to the phenomenon of multiple drug resistance, intratumor heterogeneity and multiplicity of the molecular mechanisms of tumor progression have been analyzed. Tumor microenvironment as an important component that determines the biological behavior of the tumor has been characterized. The role of chronic inflammation in the tumor progression has been analyzed. Cytostatic treatment has been shown to activate antitumor immune response, contributing significantly to the efficacy of chemotherapy. The data obtained provide promise for using macrophages and other inflammatory and stromal components as targets for therapeutic interventions to modify the tumor microenvironment towards tumor growth inhibition and reduced risk of metastasis.

For pathophysiologists, oncologists, immunologists, physicians, researchers in biomedicine, students of medical and biological specialties.

ISBN 978-5-7511-2391-8

© Yu.G. Kzhyshkovska, M.N. Stakheeva, N.V. Litviakov,
O.E. Savelyeva, I.V. Mitrofanova, I.V. Stepanov, A.N. Gratchev,
T.S. Gerashchenko, M.V. Zavyalova, N.V. Cherdyntseva, 2015

ПРЕДИСЛОВИЕ

Повышение эффективности противоопухолевого лечения остается одной из наиболее актуальных задач современной онкологии. Традиционно основной целью включения цитостатических методов в схемы комбинированного противоопухолевого лечения является достижение максимальной циторедукции первичной опухоли и метастатических очагов путем индукции апоптоза, некроза или блокирования неконтролируемой пролиферации (Переводчикова Н.И., 2005; Zitvogel L. et al., 2008). При этом эффективность цитостатического лечения связывают с биологическими особенностями опухолевых клеток, их чувствительностью или резистентностью к лечебным воздействиям (Имянитов Е.Н., 2010; Переводчикова Н.И., 2005).

Однако необходимо отметить, что современные терапевтические стратегии, направленные на максимальное удаление опухолевых клеток, в том числе находящихся в состоянии dormant state (так называемые дремлющие, непролиферирующие клетки опухоли), сопряжены с высоким риском серьезных побочных эффектов для организма пациента, включая интоксикацию, при этом развитие лекарственной резистентности выживших раковых клеток фактически обеспечивает невозможность достижения полной регрессии (Standish L.J. et al., 2008; Thomas F. et al., 2013). Даже в случаях полной патологической регрессии опухоль часто прогрессирует в 10–40 % случаев в зависимости от локализации процесса, используемых режимов терапии, длительности наблюдения (Baselga J. et al., 2012; De Azambuja E. et al., 2014).

В качестве альтернативного подхода конвенциональной химиотерапии разрабатывается биологически направленная, или таргетная, терапия, основным принципом которой является воздействие на конкретные молекулярные мишени опухолевых клеток, однако ее

результаты в большинстве случаев не обеспечивают полной эрадикации опухоли, хотя в определенных случаях эффективность лечения достаточно высока. Так, например, использование таргетных препаратов у больных HER-2 позитивным РМЖ (моноклонального антитела против HER-2 трастузумаба и тирозинкиназного ингибитора лапатиниба) дало возможность достигнуть полной морфологической регрессии в 55 % случаев (Baselga J. et al., 2012; De Azambuja E. et al., 2014). Следует отметить, что даже при полной эрадикации первичной опухоли под влиянием таргетных препаратов часто наблюдаются рецидивы (Bhatia S. et al., 2012).

Основной причиной низкой эффективности существующих методов лекарственной терапии является ее неклональная направленность, т.е. невозможность воздействия на все опухолевые популяции (клоны), разнообразие которых в опухоли достаточно широко и определяет феномен внутриопухолевой гетерогенности. Внутриопухолевая гетерогенность играет существенную роль в реализации различных клинических проявлений опухолевой прогрессии и рассматривается как один из основных факторов, определяющих развитие новообразования, поддержание онкогенного потенциала, выживание клеток в условиях динамичного микроокружения и устойчивость опухоли к лекарственному воздействию (Greaves M., Maley C.C., 2012; Chen J. et al., 2012; Fisher R. et al., 2013).

Наличие внутриопухолевой гетерогенности как результат клональной эволюции – одна из важнейших фундаментальных проблем современной онкологии, на решение которой направлены усилия многих научных коллективов. В табл. 1 представлены результаты лечения онкологических больных (рак молочной железы) с использованием конвенциональной и таргетной химиотерапии в исследованиях разных авторов на основе оценки доли полных морфологических регрессий и безрецидивной выживаемости пациентов.

В последние годы экспериментально выявлены, теоретически обоснованы и доказаны на клиническом материале феномены вовлечения иммунной системы в реализацию противоопухолевого эффекта цитостатической терапии (Ehrke M.J., 2003; Vacchelli E. et al., 2014, 2015).

Показано, что эффективное цитостатическое лечение связано с проявлением цитотоксической активности эффекторов иммунной системы в отношении опухолевых клеток (Mozaffari F. et al., 2007;

Wright S.E. et al., 2010; Zhang Y. et al., 2007), которая индуцируется *de novo* или стимулируется под влиянием лучевой или химиотерапии. В обеспечение терапевтической эффективности вносят вклад механизмы врожденного и адаптивного иммунитета (Standish L.J. et al., 2008). Нарушение функционирования иммунной системы может быть причиной снижения эффективности цитостатических воздействий.

Модуляция иммунной системы цитостатическими агентами проявляется на уровне повышения антигенных свойств опухолевых клеток, что способствует их распознаванию иммунной системой; увеличения противоопухолевой активности эффекторов иммунной системы; удаления элементов, обладающих иммуносупрессорной активностью; а также системного влияния противоопухолевого лечения (Bracci L. et al., 2014; Vacchelli E. et al., 2014). Понимание принципиально важной роли иммунной системы в определении эффективности противоопухолевой цитостатической терапии открывает перспективы по разработке новых терапевтических подходов для лечения злокачественных новообразований на основе сбалансированного синергического действия цитостатических агентов и инновационных иммуномодулирующих подходов. Экспериментальными и клиническими исследованиями показано, что каждая опухоль имеет свои особенности, и одним из ключевых индивидуальных различий является характер взаимодействия опухолевых клеток с иммунной системой хозяина как локально, так и на системном уровне. Последние достижения в понимании механизмов взаимодействия опухоли с эффекторами врожденного иммунитета в условиях локального микроокружения открывают перспективы для использования макрофагов и других компонентов в качестве мишеней терапевтических воздействий с целью модификации опухолевого микроокружения в направлении ингибции роста опухоли и снижения риска метастазирования.

В монографии представлены современные литературные сведения и результаты собственных исследований авторов, посвященные изучению причин недостаточной эффективности химиотерапии и феноменов и механизмов взаимоотношений опухоли и микроокружения как важнейшего фактора, определяющего эффективность лечения и исход заболевания.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема злокачественных новообразований приобретает все большую остроту во всем мире в связи с объективными неблагоприятными обстоятельствами, такими как старение населения, нарушение его демографической структуры, повышение нагрузки вредными экологическими факторами. В 2008 г. было выявлено 12,7 млн новых случаев рака и 7,6 млн смертей от него (Ferlay J. et al., 2010).

Рак является причиной четверти всех смертей в развитых странах и 12,5 % смертей во всем мире (Thomas F. et al., 2013). Затраты на лечение рака в мире составили 895 блн долл. в 2008 г. согласно отчету Lancet Oncology Commission «*Delivering Affordable Cancer Care in High-Income Countries*» (Keogh B. et al., 2012). Происходит постоянный прирост числа заболевших раком, согласно прогнозу МАИР (Международного агентства по изучению рака, Globocan) к 2020 г. он составит 33,7 % по отношению к уровню заболеваемости в 2008 г. (Ferlay J. et al., 2010). Прирост заболеваемости опережает темпы прироста населения (Напалков Н.П., 2005). В России в 2013 г. было зарегистрировано 535 887 новых случаев рака, что на 15 % больше, чем в 2003 г. (Каприн А.Д. и др., 2015).

Высокая заболеваемость и смертность от рака требуют огромных инвестиций как для лечения, так и для научных исследований. Например, уровень затрат на решение проблемы рака в США составил 90 млрд долл. в 2008 г. по сравнению с 27 млрд долл. в 1990 г., и ожидается его увеличение до 157 млрд к 2020 г. В Англии объем затрат на лечение рака молочной железы в последние 4 года возрастает ежегодно на 10 % (Keogh B., 2012). В России лидирующей онкологической патологией среди женщин является рак молочной железы, и его распространенность постоянно увеличивается. Так, абсолютные показатели вновь заболевших составили 59,03 тыс. в 2012 г. по сравнению с 45,8 тыс. в 2002 г., а число смертей составило

22,9 тыс. по сравнению с 21,8 тыс. в 2002 г. (Каприн А.Д. и др., 2014). Несмотря на существенные финансовые инвестиции и достижения в лечении рака за последние 30 лет, показатели общей выживаемости онкологических больных лишь незначительно повысились за этот период (Jiang Y., Wang M., 2010; Thomas F. et al., 2013; Potti A. et al., 2010).

Хотя в последние годы достигнуты определенные успехи в совершенствовании методов противоопухолевой терапии, лечение каждого пациента остается комплексной проблемой, при этом для выбора оптимального персонализированного подхода к лечению должны быть учтены многочисленные параметры состояния пациента и особенности течения злокачественного процесса (Parkinson D.R. et al., 2012; Beijnen J.H., Schellens J.H., 2010; Jiang Y., Wang M., 2010; Kalia M., 2013; Potti A. et al., 2010; Srivastava P.K., Duan F., 2013).

Традиционно основной целью включения цитостатических агентов (радиотерапия, химиотерапия) в схемы комбинированного противоопухолевого лечения является достижение максимальной циторедукции первичной опухоли и метастатических очагов путем индукции апоптоза, некроза или блокирования неконтролируемой пролиферации (Переводчикова Н.И., 2005; Zitvogel L. et al., 2008). При этом эффективность цитостатического лечения связывают с биологическими особенностями опухолевых клеток, с их чувствительностью или резистентностью к лечебным воздействиям (Имянитов Е.Н., 2010; Переводчикова Н.И., 2005). Стремление к максимальному противоопухолевому эффекту обуславливает увеличение силы (дозы) воздействия на опухоль, которое приводит к возрастанию токсической нагрузки на организм, но не дает существенного выигрыша в эффективности (Standish L.J. et al., 2008). Тем больший интерес вызвало открытие феномена метронормальной терапии, когда применение малых доз цитостатических воздействий вызывает такой же, а порой и больший терапевтический эффект, как и при высоких дозах (Чуденко В.А., Моисеенко В.М., 2009; Zagazdzon R., Golab J., 2001). Изучение вопроса привело к пониманию того, что при проведении специфического лечения значительную роль в опухолевой циторедукции играют собственные противоопухолевые механизмы организма и, прежде всего, иммунная система (Ehrke M.J., 2003; Zagazdzon R., Golab J., 2001; Zitvogel L. et al., 2008). Клетки,

принадлежащие как к системе врожденного, так и приобретенного иммунитета (макрофаги, NK-клетки, различные субпопуляции Т-клеток), активно вовлекаются в растущую опухоль, начиная с самых ранних этапов ее развития, составляют значительную часть опухолевой массы и являются основными регуляторными клетками опухолевого микроокружения (Bailey S.R. et al., 2014; Lafont V. et al., 2014; Larsen S.K. et al., 2014; Noy R., Pollard J.W. et al., 2014; Riabov V. et al., 2014; Vitale M. et al., 2014). В литературе активно обсуждаются роль иммунной системы и механизмы действия иммунных клеток в определении эффективности цитостатической терапии.

В настоящее время экспериментальными и клиническими исследованиями совершенно четко подтверждено, что каждая опухоль имеет свои особенности, и одним из ключевых индивидуальных различий является характер взаимодействия опухолевых клеток с иммунной системой хозяина как локально, так и на системном уровне. Ключевыми клетками иммунной системы, определяющими взаимоотношения клеток опухоли с микроокружением, начиная с ранних стадий роста опухоли, включая регуляцию неоангиогенеза и до терминальной стадии диссеминации злокачественного процесса, являются опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ). Значительное число данных указывает на отрицательную роль макрофагов при раке молочной железы как в условиях модельных экспериментов, так и в клинической ситуации. Показано, что опухолеассоциированные макрофаги могут способствовать резистентности клеток опухоли к химиотерапии, однако ингибция инфильтрации в опухоль или удаление макрофагов из опухоли с помощью блокады рецептора колоние-стимулирующего фактора, использования бисфосфонатов (золедроната, в частности), а также специфических липосом, показавших эффективность в эксперименте, приводит к ингибции роста первичной опухоли и метастазирования. При этом создаются условия для перепрограммирования М2-фенотипа в макрофаги 1-го фенотипа, обладающие противоопухолевыми свойствами. При других локализациях опухолей, например раке толстого кишечника, роль ОАМ более комплексна и не исключает их участия в противоопухолевом ответе.

Достижения фундаментальной онкологии в понимании механизмов взаимодействия опухоли с эффекторами врожденного иммунитета в условиях локального микроокружения как в первичной

опухоли, так и в метастатических сайтах (метастатических нишах) открывают перспективы для использования макрофагов и других воспалительных и стромальных компонентов в качестве мишеней терапевтических воздействий с целью модификации опухолевого микроокружения в направлении ингибиции роста опухоли и снижения риска метастазирования (Heindryckx F., Gerwins P., 2015; Kzhyshkowska J. et al., 2008).

ПРОБЛЕМЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ

1.1. Критерии эффективности противоопухолевой терапии

Основными компонентами лечения больных раком разных локализаций являются операция и предоперационная и/или послеоперационная радио- или химиотерапия. Использование цитостатических воздействий (лекарственной либо лучевой терапии) после оперативного удаления опухоли направлено на снижение риска метастазирования, в то время как неоадьювантная химио- или лучевая терапия призвана уменьшить размер первичной опухоли и тем самым создать возможность оперативного удаления в случае изначально неоперабельного процесса либо проведения органосохранной операции. Прежде чем говорить об эффективности цитостатической терапии рака, которая предполагает воздействие на опухолевую клетку с помощью таких повреждающих (цитостатических и цитотоксических) воздействий, как противоопухолевые лекарственные препараты, радиотерапия, таргетные препараты, следует определиться, каковы же ключевые критерии оценки эффективности терапии. Несомненно, что генеральным конечным показателем результативности проведенной терапии считается выживаемость онкологических больных (Ciani O. et al., 2014). Но каковы пути достижения максимальной выживаемости? Ответ на этот вопрос определит цель лечения, т.е. то, что следует считать результатом эффективной терапии и к чему надо стремиться.

Непосредственной целью онколога при назначении терапии является достижение полной клинической и патологической регрессии опухоли, в том числе и стремление к полной абластичности при оперативном удалении первичного очага. Для достижения этого результата в онкологии развивались циторедуктивные подходы, направленные на максимально полное удаление опухолевых клеток (хирургическое удаление опухоли, радиотерапия, высокие дозы химиотерапии, комбинации этих методов) (Pinder-Schenck M.,

Bepler G., 2009; Mellas N. et al., 2010). Однако часто на практике невозможно достигнуть полного оперативного удаления опухоли или полной регрессии опухоли в ответ на цитостатическое воздействие (лекарственное или лучевое).

У пациентов с операбельной формой рака системную химиотерапию делят на предоперационную (неoadъювантную) и послеоперационную (адъювантную). Адъювантная химиотерапия (АХТ) – вспомогательное, дополняющее хирургические и лучевые методы лекарственное лечение. Целью адъювантной терапии является длительное подавление отдаленного метастазирования рака и эрадикация микрометастазов после хирургического лечения, что дает в результате увеличение выживаемости пациентов и продление безрецидивного (безметастатического) периода [Загрекова Е.И. и др., 2002; Семиглазов В.Ф. и др., 2001; Семиглазов В.Ф. и др., 2008].

Неoadъювантная химиотерапия при больших размерах опухоли (в данном случае она называется индукционной терапией) позволяет уменьшить объем первичной опухоли и уровень региональной лимфаденопатии, что делает возможным выполнение радикального оперативного вмешательства (Bonadonna G. et al., 1998). В случае операбельного РМЖ использование НАХТ позволяет сократить объем оперативного вмешательства у 50–60 % пациентов и проводить органосохранное лечение (Mauriac L. et al., 1991; Schwartz G.F. et al., 2004).

Во многих исследованиях было показано, что только при достижении полной морфологической регрессии опухоли в ответ на проведенную НАХТ значительно улучшаются отдаленные результаты лечения (общая и безрецидивная выживаемость), и в настоящий момент полную морфологическую регрессию оценивают как ключевой фактор прогнозирования ответа на адъювантную химиотерапию (Bertheau P. et al., 2005; Fisher B. et al., 1998; Kaufmann M. et al., 2012; Kuerer H.M. et al., 1998; Wolmark N. et al., 2001).

Частота развития ПМР опухоли на фоне НАХТ колеблется в широких пределах – от 6–9 % при люминальном типе В, до 22–58 % при тройном негативном РМЖ (Carey L. et al., 2007; Liedtke C. et al., 2008; Hayes D. et al., 2007; Rouzier R. et al., 2005; Boltz K., 2013), т.е. зависит от молекулярного подтипа и других клинико-патологических показателей опухоли. Широко распространенный в настоящее время подход по использованию предоперационной те-

рапии при раке молочной железы в режиме стандартной комбинации 4 циклов антрациклина с последующей терапией таксанами показал, что ПМР (т.е. отсутствие опухолевых клеток в гистологическом препарате опухоли после лечения) встречается в 22–31 % случаев (Sachelarie I. et al., 2006; Liedtke C. et al., 2008; Andre F. et al., 2008).

В зависимости от используемого режима объективный ответ на НАХТ, включая и полную (pCR) и частичную регрессию (PR), составляет 45–65 %, при этом у 35–55 % пациентов не достигается желаемого результата (Ferriere J.P. et al., 1998; Pierga J.Y. et al., 2003). НАХТ также может иметь некоторые недостатки. Во-первых, у пациентов с опухолями, резистентными к НАХТ, использование другого лечения может быть отложено на несколько недель, хотя прямая резистентность к НАХТ и прогрессия опухоли при ее проведении – редкий феномен и встречается менее чем у 5 % пациентов (Fisher B. et al., 1998; van der Hage J.A. et al., 2001). Во-вторых, существует мнение, что НАХТ может увеличивать частоту или тяжесть хирургических или лучевых осложнений, однако исследования последних 30 лет опровергли это утверждение. В-третьих, НАХТ сильно изменяет первичную опухоль и метастазы в региональных лимфоузлах, и это значительно уменьшает возможность получить точную гистологическую оценку операционного материала. Было также показано, что НАХТ изменяет прогностическое значение лимфогенного метастазирования (Bonadonna G. et al., 1998; Rouzier R. et al., 2002).

В качестве альтернативного подхода конвенциональной химиотерапии разрабатывается биологически направленная, или таргетная, терапия, основным принципом которой является воздействие на конкретные молекулярные мишени опухолевых клеток, однако ее результаты в большинстве случаев не обеспечивают полной эрадикации опухоли, хотя в определенных случаях эффективность лечения достаточно высока. Так, например, использование таргетных препаратов у больных HER-2 позитивным РМЖ (моноклонального антитела против HER-2 трастузумаба и тирозинкиназного ингибитора лапатиниба) дало возможность достигнуть полной морфологической регрессии в 55 % случаев (Baselga J. et al., 2012; De Azambuja E. et al., 2014). Следует отметить, что даже при полной эрадикации

первичной опухоли под влиянием таргетных препаратов часто наблюдаются рецидивы (Bhatia S. et al., 2012).

Основной причиной низкой эффективности существующих методов лекарственной терапии является ее неклональная направленность, т.е. невозможность воздействия на все опухолевые популяции (клоны), разнообразие которых в опухоли достаточно широко и определяет феномен внутриопухолевой гетерогенности. Внутриопухолевая гетерогенность играет существенную роль в реализации различных клинических проявлений опухолевой прогрессии и рассматривается как один из основных факторов, определяющих развитие новообразования, поддержание онкогенного потенциала, выживание клеток в условиях динамичного микроокружения и устойчивость опухоли к лекарственному воздействию (Greaves M., Maley C.C., 2012; Chen J. et al., 2012; Fisher R. et al., 2013).

Наличие внутриопухолевой гетерогенности как результат клональной эволюции – одна из важнейших фундаментальных проблем современной онкологии, на решение которой направлены усилия многих научных коллективов. В табл. 1 представлены результаты лечения онкологических больных (рак молочной железы) с использованием конвенциональной и таргетной химиотерапии в исследованиях разных авторов на основе оценки доли полных морфологических регрессий и безрецидивной выживаемости пациентов.

Анализ данных табл. 1 свидетельствует, что достижение полной морфологической регрессии (фактически полной циторедукции) лишь на 10–20 % повышает показатели безрецидивной и общей выживаемости таких больных, при этом не достигается 100 %-ной выживаемости. Однако необходимо отметить, что современные терапевтические стратегии, направленные на максимальное удаление опухолевых клеток, в том числе находящихся в состоянии *dormant state* (так называемых дремлющих, непролиферирующих клеток опухоли), сопряжены с высоким риском серьезных побочных эффектов для организма пациента, включая интоксикацию, при этом развитие лекарственной резистентности выживших раковых клеток фактически обеспечивает невозможность достижения полной регрессии (Thomas F. et al., 2013). Даже в случаях полной патологической регрессии опухоль часто прогрессирует в 10–40 % случаев, в зависимости от локализации процесса, используемых режимов терапии, длительности наблюдения (см. табл. 1).

Таблица 1. Полная морфологическая регрессия опухоли в ответ на предоперационную терапию и показатели выживаемости у больных раком молочной железы

НАХТ, схема лечения или препарат	Молекулярный подтип, маркеры и TNM	Кол-во пациентов	ПМР, абс. (%)	Общая БВ и ОВ	БВ и ОВ у пациентов с ПМР (%)	Источник информации
FEC	Все подтипы T1c-4b	350	23 (6,6)	4 года ОВ=84 БВ=69	Нет данных	van der Hage J.A. et al., 2001
AC	Все подтипы T1-3N0-1M0	682	88 (13)	9 лет ОВ=70 БВ=55	9 лет ОВ=85 БВ=78	Wolmark N. et al., 2001
AT + Трастузумаб у HER2 позитивных	Все подтипы T1-4N0-3M0	6 377	Все подтипы – 955 (15) Lum A – 107 (6,4) Lum B –166 (15) HER2+ – 164 (31) TNBC – 282 (31)	10 лет ОВ=89 БВ=79 Lum A – OS=94 БВ=85 Lum B – ОВ=89 БВ=78 HER2 + – ОВ=87 БВ=76 Трижды негативный – ОВ=82 БВ=72	10 лет ОВ=95 БВ=89	von Minckwitz G. et al., 2012

ТАС	Все подтипы T ₁₋₄ N ₀₋₃ M ₀	3 938	645 (16,4)	10 лет ОВ=89 БВ=78	10 лет ОВ=98 БВ=91	von Minckwitz G. et al., 2005
FAС	p53 позитивный РМЖ	28	5 (18)	5 лет ОВ=44 БВ=35	5 лет ОВ=67 БВ=60	Gonzalez-Angulo A.M. et al., 2004
ЕС-Т + Бевацизумаб	T ₁₋₃ N ₀₋₁ TNBC	663	259 (39)	Нет данных	Нет данных	von Minckwitz G. et al., 2012
Лаплатиниб и трастузумаб	HER2 позитивный	152	78 (51)	4 года ОВ=87 БВ=72	4 года ОВ=94 БВ=86	Baselga J. et al., 2012; De Azambuja E. et al., 2014
Цисплатин	<i>BRCA1</i> 5382insC мутация	12	10 (83)	Нет данных	Нет данных	Byrski T. et al., 2010
Цисплатин	I–III стадии <i>BRCA1</i> 5382insC мутация	107	65 (61)	Нет данных	Нет данных	Byrski T. et al., 2014

Примечание. БВ – безрецидивная выживаемость; ОВ – общая выживаемость; ППО – полный патологический ответ (полная морфологическая ремиссия); TNBC – трижды негативный рак молочной железы; АС – доксорубин, циклофосфан; FES – 5-фторурацил, эпирубин и циклофосфан; АТ – антрациклин на основе таксана; ЕС-Т – эпирубин, циклофосфан, доцетаксел; ТАС – доцетаксел, доксорубин и циклофосфан; FАС – фторурацил, доксорубин и циклофосфан; VCAР – винкристин, циклофосфан, доксорубин и преднизолон; TFES – паклитаксел, эпирубин и циклофосфан; TFAC – паклитаксел, фторурацил, циклофосфан, доксорубин и циклофосфан; CMF – циклофосфан, метотрексат и 5-фторурацил; ЕС – эпирубин и циклофосфан; Раc – паклитаксел.

Другим лимитирующим фактором успешной терапии рака является присутствие циркулирующих опухолевых клеток в периферической крови больных, резистентных к лекарственному воздействию, которые могут репопулировать в первичную опухоль (рецидивирование) или диссеминировать в отдаленные органы, давая начало метастазам. В последние годы показано наличие клеток опухоли в крови у пациентов, у которых не было признаков клинической прогрессии процесса после лечения на протяжении длительного периода (от 5 до 20 лет) (Demicheli R. et al., 2008; Bakacs T. et al., 2008). Этот феномен связан с уже упоминавшимся выше «дремлющим» состоянием опухолевых клеток, фактически латентным существованием опухоли как таковой. Гипотетически в большой популяции находящихся на лечении и последующем наблюдении онкологических больных дремлющее состояние опухолевых клеток рассматривается как хроническое течение заболевания, контролирующееся защитными механизмами организма пациента, которые сдерживают дальнейшее развитие болезни и клиническую манифестацию (Bakacs T., Mehrishi J.N., 2010). В соответствии с этими наблюдениями и на основе математического моделирования (Gatenby R.A. et al., 2009) стратегия «лечение для излечения» может быть заменена на менее токсичный и эффективный в более длительном периоде подход «лечение для стабилизации» с целью достижения максимально возможного увеличения продолжительности жизни больных, в том числе с распространенными злокачественными процессами (Bakacs T., Mehrishi J.N., 2010; Gatenby R.A. et al., 2009). На достижение такого эффекта направлено использование нового подхода – метрономной терапии, когда длительное применение малых доз цитостатических воздействий вызывает такой же, а порой и больший, терапевтический эффект, чем при высоких дозах (Чуденко В.А., Моисеенко В.М., 2009; Zagozdzon R., Golab J., 2001; Andre N. et al., 2014; Woo H.Y. et al., 2012; Pallis A.G. et al., 2011).

Стратегия «лечение для стабилизации процесса» также приводит к существенному повышению качества жизни пациентов, поскольку лечение назначается персонализированно, с учетом молекулярных характеристик заболевания, принципиально важных для выбора терапевтических режимов, а в случае метрономной терапии дозы препаратов существенно снижены.

Для развития таких эффективных подходов воздействия на опухолевые клетки не только с целью циторедукции, но и возможности регуляции защитных факторов организма необходимо понимание развивающихся при этом интимных молекулярных и клеточных событий. В этом контексте система иммунитета представляется ключевым кандидатом для эффективной элиминации первичной опухоли и сдерживания метастатической болезни, способной поддерживать длительный контроль за опухолевыми клетками, оставшимися в организме пациента (Vacchelli E. et al., 2014; Zitvogel L. et al., 2013).

1.2. Эффективность цитостатической терапии рака

Множественная лекарственная устойчивость.

В настоящее время множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам считается одной из наиболее важных причин неэффективности конвенциональной терапии злокачественных новообразований. Множественная лекарственная устойчивость – вид лекарственной резистентности клеток опухоли, для которой свойственна широкая перекрестная устойчивость (кроссрезистентность) клеток к различным веществам, отличающимся по химической структуре и механизму действия, которая может индуцироваться одним или несколькими не сходными по структуре веществами (Gottesman M.M. et al., 2002).

На сегодняшний день множественная лекарственная устойчивость опухолевых клеток к химиотерапевтическим препаратам является одной из наиболее важных причин неэффективности терапии злокачественных новообразований. Развитие МЛУ связывают и с плохим ответом на химиотерапию, и с плохим прогнозом (O'Driscoll L. et al., 2006; Szakacs G. et al., 2006). Наиболее часто МЛУ связывают с повышением экспрессии энергозависимых АВС-транспортеров (АТР-Binding Cassette) лекарств, которые осуществляют выброс цитостатических препаратов из опухолевых клеток против градиента концентрации с затратой энергии АТФ.

Существуют два механизма (естественный, или предсуществующий, и приобретенный, или адаптивный), благодаря которым экспрессия генов АВС может привести к лекарственной устойчивости клеток опухоли. Естественная, или предсуществующая, МЛУ

свойственна клеткам опухоли с высокой экспрессией генов ABC-транспортёров, существующей в нормальных тканях, из которых происходит опухоль. В этом случае химиотерапия малоэффективна. Было показано, что частота встречаемости гиперэкспрессии генов ABC-транспортёров зависит от типа опухоли и ее гистогенеза. Повышенная экспрессия наблюдается в опухолях, происходящих из тканей, в норме экспрессирующих высокий уровень генов МЛЮ, таких как нейробластома, астроцитомы, рак почек и надпочечников, гепатома, феохромоцитомы, и хорошо известно, что эти опухоли малочувствительны к химиотерапии (Leonard G.D. et al., 2003).

В случае приобретенной (адаптивной) МЛЮ клетки опухоли, изначально чувствительные к химиотерапии, находятся в состоянии готовности к быстрой активации экспрессии генов ABC-транспортёров в ответ на химиотерапию. После проведения химиотерапии погибают чувствительные клетки, но промоторные и энхансерные участки генов ABC оставшихся клеток увеличивают экспрессию, повышая резистентность к повторной химиотерапии (Scotto K.W., 2003). Считается, что исследования, учитывающие спектр резистентности опухоли к химиопрепаратам, зависимый от генов ABC, являются наиболее перспективными для формирования подходов к индивидуальной лекарственной терапии опухолей (Dorai T. et al., 2004).

Анализ литературы приводит к заключению о том, что важными причинами неэффективности циторедуктивной терапии опухолей можно считать: множественность и взаимозаменяемость молекулярных механизмов опухолевой прогрессии; наличие меж- и внутри-опухолевой гетерогенности опухолей; системную природу злокачественного процесса.

Множественность молекулярных механизмов опухолевой прогрессии

В последнее десятилетие были выдвинуты две концепции терапии рака: онкогенной аддикции (*oncogene addiction*) и синтетической летальности (*synthetic lethality*) (Schilsky R.L. et al., 2010; Servant N. et al., 2014). Первая базируется на представлении, что злокачественность ряда специфических опухолей определяется одним онкогеном, обеспечивающим ее биологические свойства, способствующие выживаемости и прогрессии. Ингибирование этого онкогена и

его функций, следовательно, должна привести к остановке злокачественного процесса (Weinstein B., Joe A., 2008).

Вторая концепция синтетической летальности базируется на гипотезе, что инактивация двух или более генов может быть летальной для опухолевой клетки, тогда как индивидуальная инактивация каждого из этих генов не приводит к гибели клетки (McLornan D.P. et al., 2014). Эта концепция обосновывает возможность селективного уничтожения клеток опухоли, если один из генов, формирующих так называемую «летальную пару», уже инактивирован, и необходимо уничтожить только второй ген (McLornan D.P. et al., 2014). Таргетная терапия с помощью специфических «малых молекул» продемонстрировала высокую эффективность при опухолях с одиночными дефектами, которые однако достаточно редки в природе. В частности, к таким опухолям относится миелоидный лейкоз с наличием филадельфийской хромосомы (Beijnen J.H., Schellens J.H., 2010), для лечения которого применяется иматиниб (гливек).

Однако для большинства широко распространенных новообразований существуют объективные причины, ограничивающие эффективность их таргетной терапии, направленной на молекулярные мишени опухолевых клеток. Интенсивные геномные исследования последних лет показали, что драйверные мутации, обеспечивающие малигнизацию клетки, происходят в генах, вовлеченных в разные мультипотентные сигнальные пути, при этом ингибция одного из уровней или путей индуцирует альтернативный путь активации механизмов злокачественности по принципу сетевого взаимодействия генов в передаче внутриклеточных сигналов (Chaturvedi M.M. et al., 2011).

Кроме того, как показал анализ результатов полногеномного секвенирования, различные мутации в одних и тех же генах могут вызывать разные биологические эффекты (Ogino S. et al., 2013). Например, индивидуальные мутации в разных кодонах генов *EGFR*, *PIK3CA* и *KRAS* могут обеспечивать значительные вариации в поведении опухоли, особенно ее агрессивности, т.е. фактически определять опухолевую прогрессию (Martini M. et al., 2011; Ogino S. et al., 2013). Поэтому клинический ответ на таргетную терапию может зависеть от типа мутации, что влияет в результате на эффективность лечения (Martini M. et al., 2011).

Получены интересные данные о геномном ландшафте опухолей, в частности колоректального рака, идентифицировано около 80 не-

молчащих (функционально значимых) мутаций в индивидуальных опухолях, среди которых около 15 было ответственно за инициацию, прогрессию или поддержание роста опухоли (Thomas F. et al., 2013). Первичные драйверные (от англ. «driver» – водитель) мутации (так называемые основатели) приводят к активации онкогенных сигнальных путей и/или инактивации опухолевых супрессоров, являются жизненно необходимыми для опухоли и фактически обеспечивают ее биологическое поведение, определяющее клиническое течение и исход злокачественного процесса. В результате повышения генетической нестабильности в первичном злокачественном клоне и в этой связи приобретения клеточными субпопуляциями новых генетических нарушений, обеспечивающих мутаторный фенотип, происходит образование новых мутаций (вторичные драйверные), при этом возникают новые субклоны, которые в процессе отбора могут приобретать доминирующие позиции. Так называемые мутации-пассажиры, хотя и имеют лишь небольшой эффект на поведение опухоли, могут приводить к существенному кумулятивному влиянию на ее агрессивность. Логично предположить, что в дополнение к различным *bona fide* (действительным) драйверам сетевой эффект «малых» воздействий, включающих геномные, эпигенетические, транскрипционные, протеомные и метаболомные нарушения, образуют драйверы или создают необходимые условия для развития и прогрессии опухолей. Поэтому маловероятно, что терапевтическое воздействие на один мутированный ген или один сигнальный путь может быть эффективным для лечения злокачественных опухолей (Chaturvedi M.M. et al., 2011; Beijnen J.H., Schellens J.H., 2010).

Внутриопухолевая гетерогенность

Опухолевая гетерогенность – один из важнейших факторов, обеспечивающих неэффективность циторедуктивной терапии. Описано два типа гетерогенности: межопухолевая и внутриопухолевая (Ogino S. et al., 2013). Межопухолевая гетерогенность известна давно и, по сути, представляет различия между опухолями одинакового происхождения у разных пациентов, связанные с набором уникальных комбинаций характеристик геномных, эпигеномных, транскрипционных, белковых, метаболических особенностей, которые присущи именно этой опухоли у данного пациента. В настоящее

Рис. 1. Клональная эволюция опухоли в процессе канцерогенеза и лечения: слева: древо клональной эволюции. Линиями обозначены опухолевые клоны, фиолетовый цвет – драйверная мутация, которую, как правило, несут все опухолевые клоны. В процессе малигнизации дисплазии II и III степени за счет мутаций-пассажира (зеленый и коричневый цвета) увеличивается количество опухолевых клонов. После проведения химиотерапии часть клонов может элиминироваться, часть клонов сохраняется и могут появляться новые клоны и/или происходит экспансия минорных клонов (с представленностью менее 10 %). При этом новые клоны, как правило, уже не имеют общей драйверной мутации, что плохо с позиций таргетной терапии; справа: клинический пример клональной эволюции опухоли молочной железы в процессе неoadьювантной химиотерапии (NAC). Больная Б2: люминальный В субтип РМЖ, T2N1M0, схема NAC–FAC (5-Fluorouracil-Adriamycin-Cyclophosphamide) 4 курса. Эффект NAC – частичная регрессия, 63 %-ное уменьшение объема опухоли по данным УЗИ. Показаны результаты микроматричного анализа образцов опухоли до лечения и после NAC на платформе CytoScan™ HD Array (Affymetrix, USA), обработанные при помощи программы «Chromosome Analysis Suite 2.0» (Affymetrix, USA). На рисунке видны новые опухолевые клоны (выделены черной рамкой), несущие

Gain в длинном плече 3-й хромосомы и Loss в длинном плече 16-й хромосомы.

До НАХТ в хромосомных регионах опухоли молочной железы до лечения были обнаружены несбалансированные хромосомные aberrации (делеции и амплификации, или потери и увеличение); после НАХТ в хромосомных регионах опухоли молочной железы после неoadьювантной химиотерапии были обнаружены несбалансированные хромосомные aberrации (делеции и амплификации, или потери и увеличение)

время такая гетерогенность систематизируется в виде выявления множества подтипов опухолей одной локализации, различающихся по молекулярным характеристикам, а следовательно, биологическому поведению, включая ответ на терапию (Wolman S.R., Herppner G.H., 1992; Ogino S. et al., 2013).

В последние годы появились доказательства наличия генетических и других молекулярных различий не только между разными опухолями, но и внутри одной и той же опухоли (Aktipis C.A., Nesse R.M., 2013) (рис. 1). Даже опухоли, имеющие одинаковые мутации в генах, вовлеченных в одни и те же сигнальные пути, или идентичные генетические нарушения, например в случае *BCR-ABL* транслокаций при лейкозах (Melo I.V., Barnes D.J., 2007) или мутаций в *RB* гене при ретинобластоме (Dyer M.A., Bremner R., 2005), могут существенно различаться по набору мутаций в других генах. Этот феномен называется внутриопухолевой гетерогенностью.

В настоящее время известно, что внутриопухолевая гетерогенность свойственна большинству типов солидных опухолей человека и проявляется в неоднородности морфологического строения и вариабельной экспрессии биохимических, хромосомных и экспрессионных маркеров отдельными группами клеток в пределах одного новообразования (Bhatia S. et al., 2012).

Основными причинами внутриопухолевой гетерогенности являются генетическая нестабильность, приводящая к формированию клонов опухоли с разными свойствами, и изменения в микроокружении, в котором локализуются клетки опухоли (Aktipis C.A., Nesse R.M., 2013).

Канцерогенез – процесс клональной эволюции, в котором последовательные циклы клональной селекции в адаптивном тканевом микроокружении дают начало опухолям с разнообразными генетическими и другими молекулярными изменениями, определяющими особенности биологического поведения каждой индивидуальной опухоли, что диктует необходимость персонализированного подхода к терапии для каждого пациента. Терапевтические вмешательства могут уничтожать определенные опухолевые клоны, но при этом обеспечивается селективная экспансия резистентных клонов. Именно клональная эволюция опухолей под влиянием таких факторов, как химиотерапия и радиотерапия, приводящая к доминирующему распространению нечувствительных опухолевых клонов, является важнейшей причиной неудач

противоопухолевого лечения и дальнейшей опухолевой прогрессии (Greaves M., Maley C.C., 2012). При отсутствии терапевтических воздействий клональная эволюция обеспечивается в процессе взаимодействия опухолевых клеток и микроокружения.

Выше уже отмечалось, что опухоли состоят из имеющих селективное преимущество клеток с драйверными изменениями, клеток, несущих нейтральные мутации и не подвергающихся селективному отбору, а также множества клеток со случайными изменениями, которые часто могут способствовать росту опухоли. При этом микроокружение также способно изменяться в процессе эволюции под влиянием опухолевых клеток.

К настоящему времени секвенированы 18 485 генов и 464 139 опухолей, выявлено 20 090 уникальных мутаций, систематизированных в Каталоге соматических мутаций рака (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) (<http://www.sanger.ac.uk/cosmic>, v47 release, 2010). Исследования генетических характеристик рака молочной железы, колоректального рака, опухолей поджелудочной железы и головного мозга выявили чрезвычайную сложность ракового генома (Bignell G.R. et al., 2010; Ding L. et al., 2010; Pleasance E.D. et al., 2010a) с количеством соматических мутаций в каждой опухоли от 48 до 101 в зависимости от локализации (Jones S. et al., 2008; Parsons D.W. et al., 2008; Bell D.W., 2010).

Изучение 12 типов опухолей в рамках проекта «The Cancer Genome Atlas» (TCGA) в целом выявило 127 серьезно мутированных генов с 2–6 драйверными мутациями в среднем на одного пациента (Kandoth C. et al., 2013).

Глубокое секвенирование 50 раковых клеток от пациентов с опухолями молочной железы продемонстрировало существование трех классов мутаций: клональные (найлены в большинстве опухолевых клеток), субклональные, обнаруженные в двух или более клетках, и мутации *de novo*, найденные в отдельных клетках (Wang Y. et al., 2014). Однако неясно, каков должен быть уровень гетерогенности, чтобы принять решение о смене терапевтического препарата у пациента, в процессе лечения которого обнаруживаются резистентные опухолевые клоны (Allison K.H., Sledge G.W., 2014).

Другим важным вопросом является наличие несоответствия мутаций в первичной опухоли и метастатических очагах. В частности, у пациентов со светлоклеточным раком почки найдены так называемые

мые *truncal* (истинно положительные) мутации, встречающиеся как в первичной опухоли, так и в метастазах (Gerlinger M. et al., 2012). Однако некоторые типы метастазов одновременно содержат специфические мутации, что указывает на необходимость использовать другие препараты для воздействия на вторичные очаги опухоли (Gerlinger M. et al., 2012). Подобные данные были получены и для меланомы (Harbst K. et al., 2014).

Все эти данные указывают на существование проблемы поиска рекуррентных (повторяющихся) мутаций для каждого типа рака, чтобы обеспечить удовлетворительное соотношение «цена – польза» при назначении терапии и полезную информацию как для лечения первичной опухоли, так и для мониторинга заболевания с целью определения дальнейших мишеней для воздействия при опухолевой прогрессии.

Генетическая нестабильность создает разнообразие злокачественных клонов с различными биологическими свойствами, чей потенциал в существенной мере определяется ближайшим микроокружением. Однако механизмы взаимодействия опухоли и локального микроокружения, а также их регуляция системными факторами, в частности, циркулирующими моноцитами и опухолеассоциированными макрофагами, требуют дальнейшего изучения для выявления маркеров прогноза, ответа на химиотерапию и мишеней для терапевтического воздействия.

Внутриопухолевая гетерогенность обеспечивает вероятность того, что выжившие при ХТ клетки со специфическими мутациями будут пролиферировать (клональная экспансия) или сохранять жизнеспособность в условиях поддержки со стороны адаптивного микроокружения, что может приводить к быстрой прогрессии. При этом также высока вероятность, что уже перед терапией в опухоли существуют резистентные клетки, в связи с чем возрастает вероятность отсутствия ответа на терапию и рецидивирования (Aktipis C.A., Nesse R.M., 2013).

Внутриопухолевая гетерогенность как результат клональной эволюции опухоли создает объективные проблемы в плане эффективной диагностики, прогноза заболевания и успешного лечения злокачественных новообразований (Greaves M. et al., 2012). Существуют доказательства, что терапия, особенно генотоксическая, т.е. ДНК-повреждающая, может создавать или усиливать гетерогенность опухоли (Allison K.H., Sledge G.W., 2014). Любой вид циторедуктивной

терапии, будь то конвенциональная или инновационная таргетная, направленная на определенную молекулярную мишень, практически не в состоянии уничтожить все злокачественные клетки.

Химиорезистентные опухолевые клетки, выжившие и прошедшие отбор, существенно превалируют, создают новые экологические ниши и распространяются в опухоли, ухудшая прогноз клинического течения заболевания. Для проведения успешной терапии необходимо знание о ключевых молекулярных маркерах прогноза (появление резистентных клонов предсказывает неэффективность терапии) и мишенях для терапии (появляются доминантные драйверные мутации, на которые необходимо воздействовать) в динамике проведения лечения (Aktipis C.A., Nesse R.M., 2013).

Одним из наиболее известных примеров клональной эволюции опухоли, приводящей к развитию резистентности, может служить экспансия мутации *T790M* гена эпидермального фактора роста EGFR у больных раком легкого, у которых были определены мутации в тирозин-киназном домене EGFR и назначено лечение специфическим ингибитором гефитинибом (Godin-Heymann N. et al., 2008; Lovly C. et al., 2015).

Благодаря феномену внутриопухолевой гетерогенности в одной опухоли одновременно сосуществуют клетки с разными биологическими свойствами, что исключает возможность применения единого режима терапии для всех клеток, поскольку каждый таргетный агент воздействует на специфическую мишень, но при этом остаются и селективно отбираются в опухолевом микроокружении резистентные клоны. Это приводит к неэффективности терапии.

Таким образом, феномен опухолевой гетерогенности, как меж-, так и внутриопухолевой, приводит к невозможности решения проблемы создания унифицированного лекарства или воздействия. Уникальность индивидуальной опухоли подразумевает существование большого количества опухолевых подтипов и необходимость включения каждого из них в модельную систему поиска и апробации средств лечения, что делает задачу полной циторедукции при помощи лекарственных средств практически невыполнимой (Ogino S. et al., 2013; Roukos D.H., 2010).

Для успешной трансляции знаний о маркерах гетерогенности в клиническую практику с максимальной пользой для больного необходимы крупномасштабные клинические исследования по валида-

ции прогностической и предсказательной значимости тех или иных опухолеассоциированных критериев. Кроме того, есть доказательства, что иммунная система может вносить вклад в уничтожение опухолевых клеток при использовании лекарственной терапии, которая индуцирует иммуногенную гибель опухолевых клеток и экспрессию на их мембранах распознаваемых неоантигенов, запуская иммунный ответ (Allison K.H., Sledge G.W., 2014). Система врожденного иммунитета является своего рода первой линией обороны, которая распознает изменения на клеточном и молекулярном уровне и может узнавать и элиминировать не только инфекционные, но и свои измененные клетки, в том числе малигнизированные. На основе механизмов врожденного иммунитета могут быть разработаны подходы персонализированной терапии злокачественных новообразований и индивидуальные терапевтические протоколы.

МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

2.1. Участие иммунной системы в реализации противоопухолевых эффектов цитостатических воздействий

Вклад иммунной системы в обеспечение эффективности противоопухолевых цитостатических препаратов подтверждается экспериментальными данными о том, что химиотерапия приводит к регрессии опухоли у мышей с сохранным иммунитетом, но неэффективна у иммунодефицитных животных (Fridman W.H., et al., 2012). Многочисленные преклинические исследования свидетельствуют, что эффективность многих химиопрепаратов и разных видов лучевой терапии зависит от сохранности функционального благополучия иммунной системы (Ludgate C.M., 2012; Hiniker S.M. et al., 2012).

Клинические исследования, демонстрирующие взаимосвязь эффективности цитостатического лечения конвенциональными и таргетными (молекулярно-направленными) препаратами с состоянием иммунной системы, представлены в табл. 2.

В большинстве исследований выявлено, что клиническая эффективность цитостатических воздействий ассоциирована с определенными изменениями параметров клеточного иммунитета. Как правило, наблюдается более высокий уровень лимфоцитов, CD3+ клеток и NK-клеток в периферической крови и опухолевом микроокружении у пациентов с выраженным ответом опухоли на цитостатические воздействия (Кухарев Я.В. и др., 2013; Стахеева М.Н. и др., 2013; Hornychova H. et al., 2008; Lissoni P. et al., 2006; Rody A.H. et al., 2009). Многими авторами показано, что высокий уровень CD8+ Т-лимфоцитов, как и его сочетание с уменьшением числа внутриопухолевых CD4+CD25+FOXP3+ Т-регуляторных клеток ассоциировано с улучшением показателей выживаемости пациентов с различными солидными опухолями, получавших терапию (Senovilla L. et al., 2012; Pol J. et al., 2015).

Таблица 2. Взаимосвязь эффективности цитостатического лечения с состоянием иммунной системы у больных злокачественными новообразованиями

Локализация ЗНО	Вид и режим цитостатического воздействия	Показатели иммунной системы, ассоциированные с эффективностью лечения	Этап оценки иммунологических показателей	Источники данных
РМЖ	НАХТ (доксорубин и паклитаксел) НАХТ (FAC, FACx)	Большое количество CD3+ и CD83+ клеток в опухолевом инфильтрате В периферической крови уменьшение CD4/CD8, увеличение CD95L+ лимфоцитов, высокий уровень IgG, высокая продукция TNF α , IL-1 β , IFN- γ и IL-10, активность нейтрофилов и пролиферативная активность лимфоцитов на уровне здоровых лиц	До лечения	[39]
Рак молочной железы стадии T1-4N0-3M0	НАХТ (ТАС: доцетаксел+доксорубин+циклофосфан/паклитаксел/ FАС: фторурацил+доксорубин+циклофосфан	Экспрессия метатена лимфоцит-специфической киназы (LSK-metapene) – суррогатного маркера Т-лимфоцитов и метатена IgG в опухоли	До лечения	[6]
ER-негативный инвазивный рак молочной железы	НАХТ (паклитаксел+карбоплатин)+НАЛТ (СОД 40 Гр)	Высокие показатели относительного количества CD56+ клеток (NK-клетки) и содержания IgG и IgM в сыворотке крови	До лечения	[68]
Рак гортани и гортаноглотки	НАХТ (паклитаксел+карбоплатин)+НАЛТ (СОД 40 Гр)	Увеличение общего количества лимфоцитов, CD56 ⁺ клеток, CD4 ⁺ , CD8+ лимфоцитов, уровня IgG в периферической крови	До лечения	[10]
Рак гортани и гортаноглотки	НАХТ (паклитаксел+карбоплатин)+НАЛТ (СОД 40 Гр)		После неопластического лечения	[10]

Метастатические карциномы легкого, толстой кишки, молочной железы и предстательной железы	АХТ (РЛ: цисплатин+темитабин, РТК: оксалиплатин+фторурацил, РМЖ: таксотер, РПЖ: таксотер)	Увеличение среднего количества лимфоцитов	После завершения АХТ	[47]
Рак молочной железы	АХТ (антрациклины), ЛТ	Asp299Asr генотип гена TLR4, обеспечивающий нормальное связывание с белком HMGB1		[14]
Рак молочной железы	НАХТ (антрациклины)	Каппа-цепь иммуноглобулина G IGKC (экспрессия гена или белка) в плазматических клетках, инфильтрирующих опухоль	До лечения	[78]
Рак молочной железы стадии T1-4N0-3M0	НАХТ (FAC, FACx)	TT-генотип при полиморфизме IL1B+ 3954 C/T, AA-генотип при полиморфизме -592C/A гена IL10, ассоциированные с высоким уровнем экспрессии генов		[6]
Местно-распространенный рак молочной железы	АХТ (циклофосфансодержащие схемы)	Отсутствие Treg (FoxP3+) клеток в опухоли	До лечения	[41]
Местно-распространенный рак молочной железы	НАХТ (адриамицин+циклофосфан)	Значительное снижение CD4+CD25+CD127-FOXP3+Treg клеток в периферической крови	После 8 курсов НАХТ	[76]
Метастатическая меланома	Химиотерапия (темозоломид)	Синхронизация цикла активности иммунной системы (29 цитокинов, хемокинов, факторов роста и 22 клеточные субпопуляции) с началом ХТ	До начала ХТ	[38, 46]

Очевидно, что увеличение эффективности цитостатических агентов связано в первую очередь с цитотоксической активностью клеток иммунной системы в отношении опухолевых клеток, которую в этих условиях проявляют как Т-лимфоциты, так и NK-клетки (Mozaffari F. et al., 2007; Wright S.E. et al., 2010; Zhang Y. et al., 2007).

Известно, что NK-клетки индуцируют апоптоз опухолевых клеток при взаимодействии рецептора NKG2D с экспрессирующимися в процессе химиотерапии на мембранах клеток опухоли стресс-индуцированными молекулами MICA и MICB (Gasser S. et al., 2005; Larsen S.K. et al., 2014). Индукция антиген-специфического адаптивного иммунного ответа требует дополнительных условий, прежде всего, вовлечения специализированных клеток, предоставляющих антиген лимфоцитам. Нарушения в функционировании антиген-презентирующих клеток приводят к более раннему прогрессированию РМЖ после проведенного комбинированного лечения (Apetoh L. et al., 2007a; Zitvogel L. et al., 2008). Так, полиморфизм гена *TLR4* (*A896G*), приводящий к аминокислотной замене Asp299Gly во внеклеточном домене рецептора, снижает уровень связывания белка HMGB1, экспрессируемого опухолевыми клетками, с TLR4 на дендритных клетках у человека, приводя к неэффективному иммунному ответу (Apetoh L. et al., 2007a; Zitvogel L. et al., 2008). Адаптерные молекулы DAP10 осуществляют дальнейшую передачу сигнала, индуцируя цитотоксическое действие лимфоцита, опосредованное перфорином и гранзимом В (Wu J. et al., 1999). Значимость взаимодействия NKG2D-MICA для осуществления противоопухолевого ответа подтверждается результатами (Lavado-Valenzuela R. et al., 2009), показавшими, что функциональный полиморфизм гена *MICA* взаимосвязан с риском развития рака молочной железы (Nowak A.K. et al., 2002). Клеточная цитотоксичность может быть также обусловлена взаимодействием молекулы FasL, которую экспрессируют активированные NK-клетки и Т-лимфоциты, с CD95/APO-1 опухолевых клеток (Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В., 2002; Кухарев Я.В. и др., 2013). Противоопухолевой цитотоксической активностью обладают также нейтрофилы и макрофаги (DeNardo D.G. et al., 2012; Grivennikov S.I. et al., 2010; Polyak K., Vogt P.K., 2012).

Интересен факт взаимосвязи эффективности цитостатического лечения с гуморальным иммунным ответом (Стахеева М.Н. и др.,

2013; Rody A.H. et al., 2009; Schmidt M. et al., 2012; Whiteside T.L., Ferrone S., 2012). Долгие годы роль факторов гуморального иммунитета в патогенезе злокачественных новообразований рассматривалась как негативная в связи с экранированием опухолевых детерминант специфическими антителами, что снижало эффективность противоопухолевого клеточного ответа (Qin Z. et al., 1998). В настоящее время показано, что естественный гуморальный иммунитет, обусловленный полиреактивными IgM, продуцируемыми CD5+ В-лимфоцитами, вносит вклад в противоопухолевый иммунный ответ при РМЖ (Гадецкая Н.А. и др., 2006). Антителозависимая цитотоксичность также может влиять на эффективность терапии. С этим феноменом связывают часть терапевтических эффектов таких таргетных препаратов – моноклональных антител, как ритуксимаб (антиCD20), цетуксимаб (антиEGFR), трастузумаб (анти-HER 2-neu) (Whiteside T.L., Ferrone S., 2012). Опухолеспецифические антитела не только ингибируют онкогенные сигнальные пути опухолевой клетки, но, связываясь с антигенами клетки-мишени, активируют Fc-рецепторы NK-клеток или систему комплемента, что приводит к лизису мишени. Более того, эти эффекторные механизмы могут запускать или усиливать опухолеспецифичный адаптивный Т-клеточный ответ или активировать эффекторы врожденного иммунитета (Whiteside T.L., Ferrone S., 2012).

Выявлена взаимосвязь эффективности цитостатической терапии с высоким уровнем продукции провоспалительных цитокинов мононуклеарными клетками периферической крови (Кухарев Я.В. и др., 2013), что может быть связано как с их прямым цитотоксическим эффектом на опухолевые клетки (Sabel M.S. et al., 2010), так и плеiotропным регуляторным влиянием на эффекторы иммунной системы (Grivennikov S.I. et al., 2010). Несмотря на то, что интерлейкин-10 (ИЛ-10) рассматривается как иммуносупрессорный цитокин, показана его способность к активации внутриопухолевых цитотоксических CD8+ лимфоцитов с увеличением экспрессии ими эффекторных молекул гранзимов. Также ИЛ-10, стимулируя продукцию интерферона- γ (ИФН- γ) Т-хелперами-1 (Th₁) и экспрессию антигенпрезентирующих молекул, обеспечивает формирование адаптивного иммунного ответа (Mumm J.B. et al., 2011). Противоопухолевая активность ИЛ-10 также может быть связана с его антиангиогенным

действием, приводящим к регрессии опухоли (Asadullah K. et al., 2003).

Выше уже упоминалось, что иммунологические механизмы играют значительную роль в реализации эффективности таргетного лечения. Таргетная терапия направлена против патогенетически значимых молекулярных мишеней, представленных онкогенами, которые индуцируют появление и прогрессию опухоли и определяют ее биологическое поведение (Ponomaryova A.A. et al., 2011; Bachireddy P. et al., 2012; Bellocin D.I. et al., 2013). Под влиянием мишень-направленного препарата регрессия опухоли вначале происходит без участия иммунной системы и является результатом инактивации патологического онкогензависимого сигнального пути методом включения «внутренних» клеточных программ: ареста пролиферации, в том числе посредством блокирования аутокринного механизма стимуляции пролиферации, активации апоптоза, дифференцировки. Однако в условиях компрометации иммунной системы неизбежно происходит рецидив опухолевого роста (Bachireddy P. et al., 2012; Bellocin D.I. et al., 2013), тогда как наличие функционально сохранных эффекторов, особенно CD4+ клеток, индуцирует клеточное старение и супрессию ангиогенеза, что приводит к устойчивой регрессии опухоли (Rakhra K. et al., 2010).

В эксперименте показано, что CD4+ лимфоциты вовлечены в механизм опухолевой эрадикации на модели регрессии *MYC*- или *BCR-ABL*-индуцированных опухолей у мышей. После специфической инактивации онкогена *MYC* CD4+ клетки и другие эффекторы заселяют сайты опухолевого роста уже на 4-е сут и персистируют до 3 нед, вызывая регрессию опухоли. У мышей с иммунодефицитом при инактивации онкогена не происходило полной эрадикации опухоли, при этом уровень минимальной остаточной болезни был тысячекратно выше, чем у мышей с нормальной иммунной системой (Rakhra K. et al., 2010). Плейотропный протеин тромбоспондин-1 (TSP-1) идентифицирован как критический медиатор устойчивой регрессии опухоли, опосредованной CD4+ Т-клетками при *MYC*-инактивации. TSP-1 наряду с другими цитокинами может играть неоднозначную роль в ремоделировании опухолевого микроокружения при инактивации драйверного онкогена (Acosta J.C. et al., 2008; Kuilman T. et al., 2008).

Исследования S.G. Holtan et al. показали важность оценки функционирования иммунной системы как взаимосвязанного целого. Исследователи путем лонгитюдного анализа, подразумевающего повторное измерение показателей в течение времени, выявили биоритм профиля 52 различных иммунологических параметров (29 цитокинов/хемокинов/факторов роста и 23 клеточные субпопуляции) у пациентов с метастатической меланомой. Флуктуации большинства иммунологических показателей соответствуют косинусоиду с периодом 3–4 дня, колеблясь от фазы активации до фазы толерантности. При этом наилучший клинический ответ на химиотерапию отмечен у пациентов, у которых были синхронизированы активность противоопухолевого иммунного ответа и начало химиотерапии как единая фаза этого цикла (Holtan S.G. et al., 2011; Leontovich A.A. et al., 2012).

Итак, экспериментальные и клинические исследования указывают, что иммунная система вносит принципиально важный вклад в эффективность цитостатического лечения, при этом вовлекаются механизмы врожденного и адаптивного иммунитета и широкий спектр цитокинов, обеспечивающие цитотоксическое воздействие на опухолевые клетки. Угнетение этих механизмов у пациентов может быть причиной снижения эффективности цитостатической терапии. Действительно, уровень Т-регуляторных клеток (Treg) – клеток, ингибирующих как клеточный (Th₁), так и гуморальный (Th₂) ответ, в зоне опухоли при РМЖ предопределяет эффективность химиотерапии (ХТ) и прогноз у больных: полученный клинический эффект достигается благодаря селективной элиминации регуляторных Т-клеток под влиянием проводимого лечения (Verma C. et al., 2013). Это дает возможность цитотоксическим Т-лимфоцитам уничтожать опухолевые клетки (Kruijf E.M. de et al., 2010). В других исследованиях также отмечено повышение эффективности циторедуктивного лечения при элиминации иммуносупрессорных Т-регуляторных клеток (Zitvogel L. et al., 2008).

2.2. Влияние цитостатического лечения на опухоль

Отмечая существенное значение формирования ответа иммунной системы на опухоль для достижения результатов цитостатического лечения, следует заметить, что в большинстве случаев его

полноценная реализация нарушена в результате наличия у пациента иммунодефицитных состояний (Boshoff C., Weiss R., 2002; Penn I., 1991; Zitvogel L. et al., 2008) или индуцированных опухолевым процессом иммунологических нарушений (Балдуева И.А., Семиглазов В.Ф., 1996; Чердынцева Н.В., Жордания К.И., 2013; Cherdyntseva N.V. et al., 2010; Curiel T.J., 2007). Принципиально важным является тот факт, что конвенциональное лечение может выступить в качестве инструмента, который дает возможность иммунной системе реализовать ответ против опухоли (Ehrke M.J., 2003). Специфическое лечение, как цитостатическое, так и хирургическое, приводит не только к уничтожению опухолевых клеток, но и к модуляции функционирования иммунной системы, в результате чего она приобретает способность распознавать и уничтожать опухолевые клетки (Hannani D. et al., 2011).

Основные эффекты модуляции иммунной системы проводимым цитостатическим лечением можно условно разделить следующим образом (Bracci L. et al., 2014; Zitvogel L. et al., 2008).

1. Модификация антигенных свойств опухолевых клеток, индуцирующая ответ иммунной системы на опухоль.
2. Увеличение функциональной активности эффекторов иммунной системы, обладающих противоопухолевой активностью.
3. Удаление элементов, обладающих иммуносупрессивной активностью.
4. Системное влияние противоопухолевого лечения.

Модификация свойств опухолевых клеток, индуцирующая противоопухолевую активность иммунной системы

При воздействии многих цитостатических агентов увеличивается экспрессия опухолевыми клетками молекул I класса главного комплекса гистосовместимости (Kruijf E.M. de et al., 2010), опухолевых антигенов и маркеров готовности к апоптозу CD95, что увеличивает их доступность для действия цитотоксических Т-лимфоцитов (Zitvogel L. et al., 2008).

ДНК-повреждающие средства, такие как ионизирующее излучение или ингибиторы топоизомеразы и другие химиотерапевтические агенты, стимулируют экспрессию NKG2D лигандов на опухолевых клетках по АТМ-зависимому и CHK1-зависимому, но p53-независимому пути (Gasser S. et al., 2005), вовлекая натуральные кил-

леры, $\gamma\delta$ T- и CD8+ $\alpha\beta$ T-лимфоциты в цитотоксический ответ на клетки опухоли.

Общим ответом на любое стресс-индуцирующее воздействие, включая ХТ, является активация транскрипции в клетках ряда молекулярных шаперонов, которые принадлежат к классу индуцибельных белков теплового шока (Kaigorodova E.V., Bogatyuk M.V., 2014). Индукция экспрессии белка теплового шока HSP90 на мембране опухолевых клеток приводит к облегчению процессинга антигена и созревания дендритных клеток. Во-первых, HSP70 и HSP90, также как gp96 и кальретикулин, могут действовать на рецептор CD91 на поверхности дендритных клеток, таким образом передавая сигналы для созревания (Somersan S. et al., 2001). Белки теплового шока могут связывать пептиды, включая опухолеспецифичные антигены, способствуя их предоставлению Т-лимфоцитам. Комплексы «пептид – белок теплового шока» могут быть особенно эффективны как источники антигенов для перекрестного праймирования (Brabletz T. et al., 1999). Во-вторых, в дополнение к транспортной функции шаперонов для антигенов они могут играть важную роль в активации дендритных клеток в качестве сигналов «съешь-меня». Например, HSP90 появляется на поверхности клеток у больных миеломной болезнью после лечения ингибитором протеасом бортезомибом (Spisek R. et al., 2007) и затем служит как сигнал контакт-зависимой активации для аутогенных дендритных клеток. Следует отметить, что тип индуцированного ответа на стресс зависит от природы стимула (Zitvogel L. et al., 2008).

Большинство цитостатических воздействий вызывает гибель опухолевых клеток путем апоптоза. Апоптоз – программируемая гибель клеток без индукции иммунного ответа, ассоциированного с воспалением. Соответственно для вовлечения механизмов иммунной системы необходимы воздействия, создающие иммуногенность умирающих клеток. Феномен «иммуногенной смерти» означает гибель клеток путем особой формы апоптоза, приводящей к ответу ИС на антигены погибших клеток. Одним из таких механизмов является увеличение экспрессии кальретикулина на поверхности клеток в результате повреждения ДНК (Casares N. et al., 2005; Zitvogel L. et al., 2008). На экспериментальных моделях рака толстой кишки и молочной железы у мышей показано, что химиотерапевтические агенты и лучевая терапия вызывают иммуногенную гибель опухолевых

клеток (Shiao S.L., Coussens L.M., 2010). При проведении лучевой терапии у больных со злокачественными новообразованиями наблюдалось уменьшение размеров очагов опухоли, не подвергавшихся облучению, которое происходило путем иммуногенной гибели опухолевых клеток (Zitvogel L. et al., 2008).

В ответ на некоторые индукторы клеточной гибели, в частности, антрациклины и ионизирующее облучение кальретикулин может перемещаться из эндотелиального ретикулума на поверхность клеток в ранней преапоптотической стадии (Obeid M. et al., 2007a). Белок кальретикулин действует как сигнал «съешь-меня» для макрофагов через взаимодействие с CD91-рецептором, опосредующим эндоцитоз (Gardai S.J. et al., 2005). Кальретикулин является критической молекулой для распознавания и поглощения умерших опухолевых клеток дендритными клетками. Таким образом, антрациклины и гамма-облучение, стимулирующие экспрессию кальретикулина, вызывают иммуногенную гибель клетки, тогда как другие проапоптотические агенты, такие как митомицин С и этопозид, не обладают такой способностью. Истощение экспрессии кальретикулина в эксперименте путем трансфекции специфических siRNA отменяет иммуногенность клеточной гибели, тогда как добавление экзогенного кальретикулина (рекомбинантный белок) или использование фармакологических средств, которые способствуют транслокации кальретикулина, таких как PP1-ингибиторы фосфатазы, могут увеличивать иммуногенность гибели клеток (Obeid M. et al., 2007a; Spisek R. et al., 2007). PP1-ингибиторы, например таутомицин и каликулин А, могут увеличивать терапевтический эффект митомицина С и этопозиды *in vivo*, вызывая специфический иммунный ответ (Obeid M. et al., 2007b). Фармакологическое восстановление экспрессии кальретикулина может повысить эффективность химиотерапии.

Паклитаксел, цисплатин и доксорубицин, стимулируя рецептор маннозо-6-фосфата на поверхности опухолевых клеток, увеличивают проницаемость клеточных мембран для гранзима В, что делает их чувствительными к воздействию цитотоксических Т-лимфоцитов (Ramakrishnan R. et al., 2010). Циклофосфан увеличивает чувствительность опухолевых клеток к TRAIL-зависимой CD8 Т-клеточной цитотоксичности (Most R.G. van der et al., 2009).

Иммуногенная смерть опухолевых клеток под влиянием цитостатических агентов

В последние годы получены экспериментальные и клинические свидетельства, что терапевтическая эффективность противоопухолевых препаратов, как конвенциональных, так и таргетных, обусловлена, по крайней мере частично, формированием адаптивного иммунного ответа *de novo* или активацией уже предсуществующей иммунной реакции на опухолевые клетки.

Одним из механизмов реализации такого действия химиотерапии является индукция так называемой «иммуногенной смерти» клеток опухоли, на механизмах которой хотелось бы остановиться более подробно. «Иммуногенная смерть» – форма апоптоза, которая приводит к иммунному ответу на антигены погибших клеток. При этом фактически такие опухолевые клетки выступают в качестве противоопухолевой вакцины, вызывающей адаптивный иммунный ответ. Такими свойствами обладает большинство противоопухолевых лекарственных средств, использующихся в онкологической практике (циклофосфамид, доксорубин, эпирубин, оксалиплатин и митоксантрон, идарубин, блеомицин, бортезомиб, ряд таргетных препаратов, включая тирозинкиназные ингибиторы, моноклональные антитела). Ряд препаратов могут выступать в качестве своеобразных адъювантов химиотерапии (сердечные гликозиды, такие как дигоксин и дигитоксин, и золедроновая кислота). На модели сингенной опухоли у мышей с нормальной иммунной системой в эксперименте показано, что эти препараты индуцируют иммуногенную смерть, в результате которой на поверхности опухолевых клеток появляются новые антигены, которые распознаются иммунной системой, и на них формируется иммунный ответ. Иммуногенная смерть зависит от координированного появления серии ассоциированных с повреждением молекулярных паттернов (DAMP, damage-associated molecular patterns), включающих экспрессию на поверхности клеток шаперонов эндоплазматического ретикулама, выход из клеток АТФ и выход негистонового хроматин-связывающего белка (HMGB1, high mobility group box 1) и иммуностимуляторных цитокинов, в частности, интерферона 1-го типа. В ответ на эти события рекрутируются антиген-презентирующие (в том числе дендритные) клетки, которые поглощают ассоциированные с гибелью клеток антигены, процессируют и презентуют их

CD4- и CD8-лимфоцитам в контексте костимуляторных сигналов, индуцируя антиген-специфичный иммунный ответ (Ma Y. et al., 2014; Ma Y. et al., 2013a; Ma Y. et al., 2013b).

E.R. Lutz et al. продемонстрировали, что низкие дозы циклофосфана превращают толерогенное микроокружение у больных раком поджелудочной железы в иммуногенное, и это коррелирует с эффективностью аллогенной вакцины (Lutz E.R. et al., 2014).

C.P. Pallasch et al. (Massachusetts Institute of Technology; Cambridge, MA, US) показали, что циклофосфан индуцирует приобретение секреторного фенотипа опухолевых клеток, повышая секрецию иммуностимулирующих цитокинов, которые способствуют формированию макрофаг-опосредованного врожденного иммунного ответа (Pallasch C.P. et al., 2014; Geissmann F. et al., 2010).

Множество из применяющихся в клинической практике химиотерапевтических агентов способны индуцировать иммуногенный вариант апоптоза, что при условии наличия полноценной иммунной системы запускает адаптивный иммунный ответ против АГ, появляющихся при гибели клеток. В последнее время иницировано большое число клинических исследований, вовлекающих агенты, индуцирующие иммуногенную гибель опухолевых клеток. Основное внимание обращается на возможность повышения эффективности путем комбинации конвенциональных, таргетных препаратов и иммунотерапевтических подходов. Можно полагать, что эффективность противоопухолевой терапии с использованием индукторов иммуногенной смерти может быть существенно увеличена при комбинации с различными иммуномодулирующими воздействиями, в частности с блокаторами регуляторных молекул иммунного ответа, например АТ против рецептора CTLA4 (ипилимумаб), программируемой клеточной смерти PDCD1 (пембролизумаб, ниволумаб) (Robert C. et al., 2014a; Robert C., 2014b). В ближайшее время результаты уже начавшихся клинических исследований прояснят вопрос о целесообразности таких комбинированных подходов.

Повышение функциональной активности эффекторов иммунной системы, обладающих противоопухолевым действием, под влиянием цитостатической терапии

Низкие дозы ионизирующего облучения стимулируют экспрессию молекул адгезии эндотелиальными клетками, что обеспечивает

направленное движение Т-лимфоцитов к облученным опухолевым сайтам (Lugade A.A. et al., 2005).

У пациенток с местно-распространенным РМЖ, леченных таксанами, отмечено увеличение количества Т-лимфоцитов и функциональной активности натуральных киллеров в периферической крови по сравнению с соответствующими показателями у больных без применения таксанов (Carson W.E. et al., 2004). Показано, что ответ на химиотерапию паклитакселом и карбоплатином у больных раком гортани и гортаноглотки был ассоциирован с более высоким уровнем Т-лимфоцитов и НК-клеток в периферической крови после завершения химиолучевого этапа лечения (Стахеева М.Н. и др., 2013). Это связано с достаточным уровнем антигенного сигнала для созревания дендритных клеток, индуцирующих последующий ответ иммунной системы на объект, признанный чужеродным (Zitvogel L. et al., 2008).

Метрономный режим применения циклофосфана в значительной степени стимулирует НК-зависимый противоопухолевый ответ на поздних стадиях злокачественного процесса у человека (Doloff J.C., Waxman D.J. et al., 2012) и способствует рекрутированию дендритных клеток, макрофагов и НК-клеток в опухоль в экспериментальных моделях на мышах (Liu P. et al., 2010). Низкие дозы циклофосфана также могут способствовать перепрограммированию М2-макрофагов, функционирующих в режиме содействия опухолевой прогрессии, в М1-популяцию макрофагов, которые продуцируют радикалы кислорода, провоспалительные цитокины ИЛ-6, ИЛ-12, стимулируя противоопухолевую активность эффекторов врожденного иммунитета (Bryniarski K. et al., 2009). Подобным образом паклитаксел может направленно стимулировать цитотоксичность опухолеассоциированных макрофагов, реализуемую через секрецию ИЛ-12, ФНО- α и индуцибельной синтазы оксида азота (iNOS), и индуцировать активацию дендритных клеток, НК-клеток и опухолеспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов, что приводит к регрессии опухоли (Park S. et al., 2013).

Ингибция иммуносупрессорных механизмов

Низкие дозы циклофосфана уменьшают количество и супрессорную активность CD4⁺CD25⁺ регуляторных Т-лимфоцитов путем снижения экспрессии ключевых функциональных маркеров

Treg-клеток – белка FOXP3 и белка GITR (Ghiringhelli F. et al., 2004; Lutsiak M.E. et al., 2005).

Treg – это определенная субпопуляция Т-клеток, которая может ингибировать как клеточный (Th₁), так и гуморальный (Th₂) ответ. Treg – CD4⁺ CD25^{hi} клетки, экспрессирующие транскрипционный фактор Foxp3 (Ярилин А.А., Донецкова А.Д., 2006; Shevach E.M., 2002), являются критическим механизмом для поддержания толерантности к собственным антигенам.

При злокачественных новообразованиях Treg могут быть индуцированы опухолью. Они могут ингибировать противоопухолевые CD8⁺ и CD4⁺ лимфоциты, NK-клетки, В-лимфоциты. Количество Treg увеличено в крови и опухоли у больных злокачественными новообразованиями и отрицательно коррелирует с клиническим исходом заболевания (Wolf A.M. et al., 2003; Liyange U.K. et al., 2002; Audia S. et al., 2007).

Рядом авторов высказано предположение, что всякое воздействие, которое нейтрализует или предотвращает развитие Treg при злокачественных опухолях, может увеличить иммунный ответ на опухоль (Knutson K.L. et al., 2006; Juang C.M. et al., 2007; Kruijf E.M. et al., 2010; Sharabi A. et al., 2010) и ингибировать опухолевый рост. Алкилирующие агенты, такие как циклофосфан и темозоломид, способны селективно удалять Treg. В эксперименте на мышах показано, что одно введение ЦФ способно значительно снизить как количество, так и супрессорную функцию данной популяции клеток, что способствует регрессии опухоли при вакцинотерапии (Ghiringhelli F. et al., 2007). Повторяющиеся введения ЦФ в низких дозах у мышей с перевиваемой опухолью, имитирующей миеломную болезнь человека, по времени совпадающие с периодом обновления популяции Treg, приводят к уменьшению опухолевого узла и предотвращают или задерживают развитие рецидивов (Sharabi A. et al., 2010; Sharabi A., Haran-Ghera N., 2011; Burton J.H. et al., 2011).

Основной механизм действия низких доз ЦФ на Treg связан с увеличением чувствительности последних к апоптозу через механизм угнетения экспрессии Bcl-xL и CTLA-4 в этих клетках (Sharabi A. et al., 2010).

Клинические исследования показали, что применение ЦФ в метрономном режиме у больных с распространенными формами

злокачественных опухолей, резистентных к обычным режимам химиотерапии, приводило к мощному и селективному снижению циркулирующих Treg, ассоциированному с отменой их угнетающего влияния на Т-лимфоциты и NK-клетки. В результате восстанавливалась пролиферативная активность и функция киллинга у эффекторов противоопухолевого ответа (Ghiringhelli F. et al., 2007).

Однако в другом клиническом исследовании не было получено данных о значимом снижении Treg как в циркулирующей крови, так и в опухолевом инфильтрате при использовании ЦФ (Audia S. et al., 2007).

Известно, что клетки миелоидного ряда, к которым относятся дендритные клетки, макрофаги и гранулоциты, в норме дифференцируются из незрелых миелоидных клеток, образующихся в костном мозге. В то же время при патологических состояниях, таких как рак, инфекции, сепсис, травма, трансплантация костного мозга и некоторые аутоиммунные заболевания, дифференцировка миелоидных клеток частично блокируется, в результате чего происходит экспансия популяции незрелых миелоидных клеток. Под действием ряда цитокинов, выделяемых опухолью и её микроокружением, данная популяция клеток начинает синтезировать большое количество иммуносупрессорных факторов, в числе которых аргиназа (кодируется геном *ARG1*), индуцибельная NO-синтаза (iNOS) вместе с синтезируемым ею NO, а также активные формы кислорода (reactive oxygen species, ROS). Таким образом, образуется популяция активированных незрелых миелоидных клеток, обладающих иммуносупрессорными свойствами; эта популяция в настоящее время известна как миелоидные супрессоры, или MDSC (Gabrilovich D.I., Nagaraj S., 2009). У человека миелоидные супрессоры имеют фенотип CD11b+CD14–CD33+, не экспрессируют маркеры зрелых миелоидных и лимфоидных клеток, а также MHC II (Ochoa A.C. et al., 2007).

Супрессорная активность MDSC связана с двумя ферментами – аргиназой и индуцибельной NO-синтазой (iNOS), повышенная экспрессия которых характерна для популяции MDSC (Rodriguez P.C., Ochoa A.C., 2008). Аргиназа участвует в превращении L-аргинина в L-орнитин. Недостаток аргинина, в свою очередь, ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов, способствуя снижению экс-

прессии CD3-молекулы и циклин-зависимой киназы 4 (CDK4) (Rodriguez R.C. et al., 2007).

Другим важным механизмом супрессорной активности MDSC является повышенная продукция ими активных форм кислорода (Kusmartsev S. et al., 2004), которые инактивируют Т-клеточный рецептор, что приводит к развитию неответственности Т-клеточного звена иммунитета на антигенную стимуляцию (Nagaraj S. et al., 2007).

Согласно данным ряда исследователей MDSC способны стимулировать развитие индуцированных Т-регуляторных клеток из CD4⁺ лимфоцитов, а также увеличивать количество натуральных Tregs. Экспрессия на MDSC молекулы ADAM17 (a disintegrin and metalloproteinase domain 17) снижает экспрессию L-селектина на поверхности наивных CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, ограничивая способности этих клеток к миграции во вторичные лимфоидные органы (Hanson E.M. et al., 2009). Также MDSC экспрессирует галектин 9, который связывается с TIM3 на поверхности лимфоцитов, индуцируя их апоптоз (Sakuishi K. et al., 2011).

Ингибирование миелоидных супрессоров может быть осуществлено по 4 направлениям: инактивация MDSC, стимулирование дифференцировки MDSC в зрелые миелоидные клетки, ингибирование развития MDSC из миелоидных предшественников, а также снижение общего количества миелоидных супрессоров (Draghiciu O. et al., 2015; Medina-Echeverz J. et al., 2014; Waldron T.J. et al., 2013).

Цитостатическое лечение, в основном, оказывает влияние на снижение общего количества клеток данной популяции. Ряд цитотоксических агентов, в том числе гемцитабин, цисплатин, паклитаксел, 5-фторурацил (5-ФУ), флударабин, циклофосфан, обладают способностью снижать количество MDSC посредством не до конца изученных механизмов (Ugel S. et al., 2012). Гемцитабин ингибирует пролиферацию В-лимфоцитов и продукцию антител в ответе на опухолевые антигены (Nowak A.K. et al., 2002), в таких условиях может происходить переключение иммунной системы на эффективный ответ цитотоксических Т-лимфоцитов (Qin Z. et al., 1998). Кроме того, гемцитабин уменьшает долю CD11B+GR1⁺ миелоидных супрессорных клеток (Suzuki E. et al., 2005). Основным механизмом действия считают индукцию гемцитабином апоптоза и некроза в

MDSC (Draghiciu O. et al., 2015). Подобное действие на MDSC отмечено и у 5-ФУ (Vincent J. et al., 2010).

Цисплатин вызывает снижение уровня MDSC и Treg у мышей с карциномой легкого (Tseng C.W. et al., 2008). Применение паклитаксела способствует ингибированию функций миелоидных супрессоров за счет стимулирования их дифференцировки в дендритные клетки (Naiditch Y. et al., 2011). Доцетаксел, обладающий свойством ингибировать STAT3-сигнальный путь, снижает количество MDSC у мышей с перевиваемыми опухолями и индуцирует поляризацию оставшихся миелоидных супрессоров в клетки M1-фенотипа (Kodumudi K.N. et al., 2010).

Комбинированное применение ЦФ и гемцитабина, направленное против Treg и MDSC соответственно, оказало выраженный эффект на Т-клеточный противоопухолевый иммунитет путем ингибиции супрессорных популяций иммунной системы (Tongu M. et al., 2013).

Таким образом, цитостатические агенты, удаляя иммуносупрессорные популяции клеток, могут в значительной мере восстанавливать функции противоопухолевой защиты.

Системное влияние цитостатического лечения на иммунный ответ

Многие цитостатические агенты имеют непосредственные иммуносупрессивные побочные эффекты – через ингибицию или киллинг эффекторных клеток или косвенные, вызывая анергию иммунной системы (Curiel T.J., 2007; Weiner H.L., Cohen J.A., 2002).

У больных РМЖ после проведения неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) отмечают снижение абсолютного уровня практически всех исследуемых в клинике субпопуляций клеток периферической крови. Однако в результате различной чувствительности клеточных субпопуляций к повреждающему действию цитостатических агентов в структуре соотношения различных пулов происходят изменения. Относительное количество CD19-, CD23-, CD56-, CD16- и CD8CD16-положительных клеток снижается, но значительно возрастают субпопуляции CD3-, CD4-, CD8-, CD25-положительных клеток (Murta E.F. et al., 2000).

При исследовании карцином легкого, толстой кишки, молочной железы и предстательной железы было показано, что независимо от

гистогенеза опухоли и режима химиотерапии у больных, для которых была достигнута объективная регрессия опухоли, наблюдался лимфоцитоз, и среднее количество лимфоцитов, отмечаемое в конце химиотерапии, было значимо выше по сравнению с таковым до назначения лечения (Lissoni P. et al., 2006; Ray-Coquard I. et al., 2009). Напротив, у больных с прогрессированием среднее количество лимфоцитов существенно снижалось. Исследователи предполагают, что, приводя к состоянию лимфоцитоза в результате адаптивного ответа системы кроветворения на ХТ-индуцированную лейкопению, химиотерапия может действовать парадоксально, как иммунотерапия путем модуляции цитокиновой сети (Lissoni P. et al., 2006).

Истощение популяции лимфоцитов при цитостатических воздействиях увеличивает хоминг Т-лимфоцитов в ложе опухоли и внутриопухолевую пролиферацию эффекторных клеток (Dudley M.E. et al., 2005; Morgan R.A. et al., 2006). Транзиторная лимфопения в результате проведенного цитостатического лечения предположительно активизирует гомеостатические механизмы стимуляции опухолеспецифических Т-эффекторов и противодействует опухолеендуцированной супрессии (Козлов В.А., 2006). При восстановлении популяции лимфоцитов могут быть преодолены индуцированные опухолью дефекты в проведении сигнала в Т-лимфоцитах, генерированы антиген-презентирующие клетки с костимулирующими функциями, с увеличением продукции цитокинов, таких как ИЛ-7, ИЛ-15 и ИЛ-21, стимулирующих активность CD8+ цитотоксических Т-лимфоцитов. При исследовании карцином легкого, толстой кишки, молочной железы и предстательной железы было показано, что независимо от гистогенеза опухоли и режима ХТ у больных, для которых была достигнута объективная регрессия опухоли, в конце курса терапии наблюдался лимфоцитоз (Lissoni P. et al., 2006; Ray-Coquard I. et al., 2009). Напротив, у больных с прогрессированием количество лимфоцитов существенно снижалось (Lissoni P. et al., 2006).

Длительность восстановительного периода после воздействия ХТ зависит от вида клеток и определяется не стадией заболевания, а схемой и объемом проведенного лечения. Например, восстановление количества клеток в отдельных субпопуляциях и экспрессии ИЛ-6 происходит быстрее, чем возвращение к исходному (до лечения) уровню показателей пролиферации лимфоцитов, цитотоксич-

ности NK-клеток и продукции цитокинов ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4 (Lee K.M. et al., 2005). Через год после комбинированного лечения РМЖ методами лучевой и химиотерапии цитотоксичность NK-клеток превышала значения у пациенток, получавших в адъювантном режиме лишь лучевую терапию. Уровень Treg в группе комбинированного лечения был ниже, а экспрессия внутриклеточных цитокинов ИФН- γ , ИЛ-2, ИЛ-4 выше, чем в группе контроля (Mozaffari F. et al., 2007).

Таким образом, конвенциональные методы лечения в зависимости от дозы, режима, схемы, объема способны увеличивать или восстанавливать противоопухолевую активность иммунной системы.

ОПУХОЛЕВОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ КАК ВАЖНЕЙШИЙ КОМПОНЕНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОПУХОЛИ

Метастазирование злокачественных опухолей – одна из основных причин смертельных исходов больных раком. Одной из актуальнейших задач в онкологии является установление механизма формирования метастазов с тем, чтобы разработать диагностические подходы по прогнозу риска метастазирования и предложить инновационные подходы по профилактике и лечению метастатической болезни. Подавляющее большинство известных модальностей противоопухолевой терапии направлено на уничтожение опухолевых клеток. Однако многолетними исследованиями и клинической практикой показано, что при всех видах воздействий (конвенциональные, таргетные молекулярно-направленные препараты, радиотерапия) достаточно часто рано или поздно наблюдается опухолевая прогрессия (рецидивирование или отдаленное метастазирование). В основе этого лежит феномен внутриопухолевой гетерогенности как результат клональной эволюции опухолей, в том числе под влиянием терапии, которая приводит к появлению резистентных клонов опухоли, которые выживают в процессе лечения (Almendro V. et al., 2013; Polyak K., 2014; Almendro V. et al., 2014).

Доказано, что опухоль содержит не только паренхиматозные элементы (опухолевые клетки и опухолевые стволовые клетки), но и немалигнизированные клетки – стромальные, воспалительные иммунные, сосудистый компонент, мезенхимальные стволовые клетки, предшественники гемопоэтических и стромальных клеток, принимающие активное участие в определении биологического поведения новообразования (Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013; Place A.E. et al., 2011; Santamaria-Martinez A., Huelsken J., 2013; Greaves M., Maley C.C., 2013).

Ассоциации взаимодействующих между собой нормальных клеток организма, эндотелиальных, рекрутируемых из костного мозга

стромальных элементов и инфильтрирующих воспалительных иммунных клеток составляют опухолевое микроокружение, поддерживающее рост и прогрессию злокачественной опухоли (Hanahan D., Coussens L.M., 2012). Показано, что выживание трансформированных клеток принципиально зависит от адаптивного микроокружения, которое по своей природе является нетуморогенным, в отличие от прямых повреждений генетического материала в опухолевой клетке, и в данном случае можно говорить о создании условий для клональной эволюции опухоли под воздействием компонентов окружения. Клиническая манифестация злокачественных опухолей и их прогрессия возможны только при благоприятствующих для этого вариантах стромальных изменений (Bhatia S. et al., 2012). Ключевыми событиями ангиогенеза и стромообразования является секреция опухолевыми клетками ряда цитокинов и хемокинов, мобилизующих из костного мозга в опухоль клетки-предшественники эндотелия, фибробластов и макрофагов (Gao D. et al., 2012; Malanchi I. et al., 2012; Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013).

Клетки опухолевого микроокружения вносят активный вклад в канцерогенез, и, по-видимому, этим можно объяснить разное биологическое поведение опухолей одной гистологической принадлежности у разных индивидуумов, в результате взаимодействия разных сочетаний эпителиального и «стромального» фенотипов. Такое представление об опухоли как сложно организованной многокомпонентной системе делает перспективными исследования по разработке новых подходов к терапии рака на основе поиска мишеней не только в клетках опухоли, но и среди компонентов микроокружения.

Подтверждением важности микроокружения в определении биологических свойств опухоли могут служить результаты экспериментального исследования коллектива ученых под руководством J. Dick (University of Toronto, Canada). Считалось обоснованным представление, что опухоль имеет генетически различные клоны, которые при трансплантации различаются по биологическому поведению (способность к рецидивам, метастазированию, резистентность к ХТ). Однако канадские ученые на модели многократных последовательных трансплантаций субклонов от одной первоначальной линии клеток колоректального рака выявили особенности их биологического поведения, связанные с продолжительностью жизни клонов, временем возникновения опухолей, наличием дремлющего состоя-

ния, способностью рецидивировать, резистентностью к препаратам платины. При использовании полногеномного секвенирования авторы показали, что эти особенности не сопровождались генетическими изменениями клонов, т.е. все трансплантаты генетически не отличались от исходных клеток. Эпигенетические изменения также поддерживались в течение многих пассажей одного клона. Это свидетельствует о функциональной гетерогенности клеток, имеющих общее генетическое происхождение, которая, очевидно, обусловлена условиями микроокружения (Kreso A. et al., 2013). Таким образом, микроокружение может модулировать злокачественные свойства (фенотип) клеток опухоли (Hanahan D., Weinberg R.A., 2011).

Важнейшим участником формирования стромы опухоли является воспалительная инфильтрация лимфоидными элементами и макрофагами, происходящими из моноцитов крови и, частично, непосредственно из костномозговых клеток-предшественников. Воспалительная инфильтрация – это проявление сложной совокупности процессов, обусловленных механизмами врожденного и адаптивного иммуногенеза. Как на этапе канцерогенеза, так и в большинстве случаев в период клинической манифестации опухоли в ее строме имеют место в разной степени выраженные проявления хронического персистирующего воспаления. Однако эффекты воспаления неоднозначны, они могут не только стимулировать, но и тормозить рост опухолевых элементов. Многообразие вариантов воспаления в опухоли обусловлено преимущественным развитием в ней Th1 или Th2 типа иммунных реакций и связанных с ними M1 или M2 вариантов противо- или проопухолевой дифференцировки макрофагов, а также активностью опухолеассоциированных фибробластов (Gordon S., Mantovani A., 2011; Qian B.Z. et al., 2011; Qian B.Z., Pollard J.V., 2010). Не вызывает сомнений, что злокачественные свойства клетками опухоли приобретаются не только в результате изменения генома клетки, но и под влиянием микроокружения (Almendo V. et al., 2013; Greaves M., Maley C.C., 2013).

Новым направлением терапии может быть «репрограммирование» микроокружения, которое индуцировало бы нормализацию его фенотипа и функций, тем самым ингибируя процессы опухолевой промоции и прогрессии (Polyak K., Vogt P.K., 2012; Bhatia S. et al., 2012; Place A.E. et al., 2011; Geraschenko T.S. et al., 2013). Например, моноклональные антитела бевацизумаб специфически взаимодейст-

вуют с васкулярным эндотелиальным ростовым фактором, таким образом, выступая в роли ингибиторов ангиогенеза (Vacchelli E. et al., 2015).

Одним из новых направлений таргетной терапии опухолей является использование моноклональных антител, которые воздействуют на молекулы, регулирующие иммунный ответ. Среди иммуносупрессорных механизмов, отменяющих ответ ИС на опухолевые клетки, важное место занимает нарушение соотношения активационных и ингибиторных сигналов при активации Т-клеток-эффекторов (Кадагидзе З.Г. и др., 2015). Для стимуляции Т-клеток необходимо взаимодействие с антигеном в комплексе с молекулами гистосовместимости и коингибиторными и коингибиторными сигналами, чтобы обеспечить эффективный ответ на антиген с последующей его остановкой при элиминации антигена. Однако хроническая персистенция антигенных молекул при опухолевом процессе вызывает повышение экспрессии коингибиторных молекул CTLA-4 и PD-1 на лимфоцитах, подавляющих активацию Т-клеток при взаимодействии с лигандами CD80/CD86 на антиген-представляющих клетках. Моноклональные антитела anti-CTLA-4 (ипилимумаб) и PD-1 (ниволумаб) направлены против CTLA-4 и PD-1 соответственно, экспрессированных на активированных и регуляторных Т-лимфоцитах, и способны блокировать сигналы с этих рецепторов, способствуя полноценной активации Т-клеточного ответа. Показано, что при использовании указанных антител происходит повышение соотношения Т-цитотоксические / Т-регуляторные клетки в опухолевом микроокружении, ассоциированное с увеличением продолжительности жизни пациентов с меланомой (Delyon J. et al., 2015) и другими злокачественными новообразованиями, что свидетельствует о формировании эффективного иммунного ответа и ремиссии у определенных групп пациентов. Развитие этого подхода связано с определением четких показаний к применению и разработкой комбинированных подходов, которые бы включали цитотоксические препараты и другие иммунотерапевтические методы (Blank C.U., Enk A., 2015). Рецепторы LAG-3 и TIM-3, экспрессирующиеся на CD4⁺ лимфоцитах и связывающиеся с молекулами главного комплекса гистосовместимости 2-го класса и негативно регулирующие Т-клеточную пролиферацию, гомеостаз и функции, могут рассматриваться как новые мишени в качестве контрольных регуляторов

иммунного ответа, воздействие на которые позволит усилить противоопухолевый ответ (Li X. et al., 2015). Таким образом, это один из примеров, когда воздействие на иммунологические «мишени», в частности блокирование супрессорной активности рецепторных сигналов таргетным препаратом, показывает перспективные результаты в противоопухолевой терапии.

События, происходящие в строме, связанные с вариантами функционирования макрофагов, фибробластов и лимфоцитов, в значительной степени определяют биологическое поведение опухоли: ее длительное существование в дремлющем состоянии или развитие метастатической болезни, приводящей к гибели больного. Для развития клинически манифестирующего метастаза обязательным является не только приобретение опухолевыми клетками метастатического фенотипа, но и наличие в месте развития метастаза благоприятных для роста вторичной опухоли условий согласно гипотезе «семян и почвы» Стивена Педжета (Langley R.R., Fidler I.J., 2011; Santamaria-Martinez A., Huelsken J., 2013). Развивающая эту гипотезу современная концепция «метастатических ниш» D. Lyden предполагает формирование кластера клеток костномозгового происхождения в месте будущего развития метастаза до того, как туда попадают опухолевые клетки (Peinado H. et al., 2011). Клетки-предшественники макрофагов – одни из важных компонентов метастатической ниши (Перельмутер В.М., Манских В.Н., 2012; Gao D. et al., 2012; Malanchi I. et al., 2012; Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013).

В.М. Перельмутером и В.Н. Манских (2012) высказана гипотеза, согласно которой в месте последующего метастазирования развивается совокупность клеточных и молекулярных событий в период, предшествующий поступлению костномозговых клеток-предшественников (формирование «прениши»). Прениша формируется в условиях хронического персистирующего воспаления наряду с активацией эндотелия микроциркуляторного русла, обеспечивающего рекрутирование миелоидных и опухолевых клеток. Органы, в которых возникают прениши, богаты орган-специфическими макрофагами (печень, легкое, мозг), где эндотелий способен интенсивно рекрутировать миелоидные предшественники макрофагов. Гипотеза поясняет избирательную локализацию метастазов в указанных выше органах и открывает возможности разработки профилактических

подходов для снижения риска метастазирования (Перельмутер В.М., Манских В.Н., 2012).

Как упоминалось выше, клинические наблюдения и экспериментальные данные свидетельствуют, что ХТ может выступать в качестве «репрограммирующего» воздействия, приводя к восстановлению иммунного ответа на клетки опухоли и индукции «дремлющего» состояния опухолевых клеток, что ассоциировано с противоопухолевым эффектом (Place A.E. et al., 2011; Polyak K., Vogt P.K., 2012). Исследований, посвященных изучению механизмов стромально-паренхиматозных отношений в опухоли в условиях ХТ, практически нет. Неизвестно, как ХТ модулирует свойства и биологическое поведение опухолевых клеток, формирование стромально-воспалительного микроокружения, а также других локальных и системных факторов, способствующих прогрессии опухоли. Выявление закономерностей формирования и характера иммуновоспалительных реакций в опухоли в сопоставлении с патогенетическими признаками злокачественного процесса позволит идентифицировать маркеры риска прогрессии и клеточные и молекулярные мишени врожденного и адаптивного иммунитета для воздействия с целью ингибции ключевых событий опухолевой диссеминации.

Выше были приведены доказательства, что микроокружение может играть решающую роль в ингибции опухолевого роста и его изменения могут создавать условия для элиминации опухоли и сдерживания метастазирования, повышать эффективность терапевтических воздействий на опухолевые клетки (Aktipis C.A., Nesse R.M., 2013, Correia A.L., Bissell M.J., 2012; Nakasone E.S. et al., 2012; Pontiggia O. et al., 2012; Bissell M.J., Hines W.C., 2011). Без сомнения, особенности взаимодействия опухоли и микроокружения в существенной мере определяют биологическое поведение опухоли. Нами были проведены исследования по анализу распределения инфильтрации иммунными клетками разных морфологических структур опухоли молочной железы, которые представляют фенотипическое проявление гетерогенности опухоли (Zavyalova M.V. et al., 2013b; Zavyalova M.V. et al., 2013a; Перельмутер В.М. и др., 2007).

Проведение ассоциативных исследований на большой выборке больных раком молочной железы (РМЖ) выявило их корреляцию с разным клиническим течением заболевания и ответом на терапию, что свидетельствует о их разном вкладе в опухолевую прогрессию,

различиях в чувствительности к ХТ, а следовательно, о прогностическом потенциале и возможности определения новых мишеней для терапии (Zavyalova M.V. et al., 2013a; Gerashchenko T.S. et al., 2013).

Оказалось, что в разных структурах опухоли были обнаружены специфические паттерны инфильтрации иммунными клетками, что указывает на различия взаимоотношений опухоли и микроокружения в разных сайтах опухоли. Было обнаружено, что инфильтрация CD8⁺ Т-цитотоксическими клетками рядом с тубулярными опухолевыми структурами ассоциирована с гематогенным метастазированием (Перельмутер В.М. и др., 2007).

Е.В. Денисовым получены данные о связи наличия разных структур с ответом на цитостатическую терапию на примере использования неоадьювантной химиотерапии у больных раком молочной железы. Резистентность опухолей с трабекулярными структурами зависела от экспрессии генов множественной лекарственной устойчивости (МЛУ), в частности гена ABCB1. Наличие альвеолярных структур в паренхиматозном компоненте опухоли также было сопряжено с резистентностью к химиотерапии, но при этом не было связи с высоким уровнем экспрессии генов МЛУ. Полученные данные косвенно свидетельствуют о вкладе микроокружения в реализацию этого феномена (Denisov E.V. et al., 2014).

Таким образом, представление об опухоли как комплексно организованной мультикомпонентной системе открывает широкие возможности разработки новых подходов, базирующихся на определении мишеней для воздействия не только среди опухолевых клеток, но и компонентов опухолевого микроокружения (Almendo V. et al., 2013; Polyak K., 2014; Almendo V. et al., 2014). Генетические и эпигенетические изменения в клетках стромы при опухолевой прогрессии могут выступать как маркеры прогноза и мишени для терапии. В настоящее время для лечения РМЖ используется три типа препаратов, направленных против мишеней опухолевого микроокружения: ингибиторы ароматазы, агенты, модулирующие ангиогенез, и ингибиторы рецепторов HER2/neu. Проблема высокой токсичности такого рода препаратов обусловлена тем, что мишени широко присутствуют в нормальных тканях, что нарушает их гомеостаз при противоопухолевой химиотерапии. Новым направлением терапии может быть «репрограммирование» микроокружения, которое индуцировало бы нормализацию его фенотипа и функций, тем самым ингибируя

процессы опухолевой промоции и прогрессии. Клинические наблюдения и экспериментальные данные свидетельствуют, что в качестве таких «репрограммирующих» воздействий могут выступать конвенциональная ХТ, эпигенетическая терапия (ингибиторы гистоновой деацетилазы), а также метрономная терапия, предполагающая частое или постоянное введение малых доз химиопрепаратов. В число событий, происходящих в строме при указанных воздействиях, прежде всего, входит восстановление иммунного ответа на клетки опухоли, ингибция ангиогенеза, индукция «дремлющего» состояния опухолевых клеток, ассоциированные с противоопухолевым эффектом (Polyak K., 2012; Bhatia S. et al., 2012; Place A.E. et al., 2011).

ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ОПУХОЛЕВАЯ ПРОГРЕССИЯ

4.1. Роль хронического воспаления в формировании и прогрессии злокачественных опухолей

Одной из наиболее актуальных задач современной биомедицины является установление роли хронического и субклинического воспаления в прогрессии наиболее опасных для жизни заболеваний человека: сердечно-сосудистых и онкологических. Хроническое и субклиническое воспаление (воспаление 2-го типа) принципиально отличается от острых воспалительных реакций иммунной системы в ответ на вторжение бактериальных или вирусных патогенов (воспаление 1-го типа). В настоящее время существует острая необходимость глубокого и систематичного исследования клеточных и молекулярных механизмов, поддерживающих долговременное хроническое воспаление в различных тканях и органах человека. Также актуальным является нерешенный вопрос о том, как различные вирусные и бактериальные патогены создают условия для поддержания субклинического воспаления, не вызывая при этом краткосрочных острых воспалительных реакций. Авторами монографии и другими лидирующими научными коллективами было установлено, что хроническое субклиническое воспаление можно охарактеризовать как воспаление 2-го типа, индуцированное эндогенными факторами, включающими цитокины, факторы роста, высокую концентрацию глюкозы и модифицированных липопротеидов (Kzhysh-kowska J. et al., 2012; Gratchev A. et al., 2013; Osborn O., Olefsky J.M., 2012; Quail D.F., Joyce J.A., 2013).

В настоящее время не подлежит сомнению тот факт, что развитие злокачественной опухоли и ее прогрессия – процесс, при котором происходят изменения как в паренхиматозных элементах, так и в строме. Клиническая манифестация злокачественных опухолей и их прогрессия возможны только при благоприятствующих для этого вариантах стромальных изменений (Bhatia S. et al., 2012). Ключевым событием ангиогенеза и образования стромально-воспалительного микроокруже-

ния является секреция опухолевыми клетками цитокинов и хемокинов, мобилизующих из костного мозга в опухоль клетки-предшественники эндотелия, фибробластов и макрофагов (Gao D. et al., 2012; Malanchi I. et al., 2012; Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013).

События, происходящие в строме, связанные с вариантами функционирования макрофагов, фибробластов и лимфоцитов, в значительной степени определяют биологическое поведение опухоли: ее длительное существование в дремлющем состоянии или, напротив, развитие метастатической болезни, приводящей к гибели больного. Одним из ключевых механизмов диссеминации является способность клеток опухоли к эпителиально-мезенхимальному переходу (ЭМП) с приобретением локомоторного фенотипа. Оптимальные условия для индукции ЭМП возникают при развитии в строме опухоли варианта воспаления, основным эффектором которого являются макрофаги с M2-фенотипом. Именно они секретируют ростовой фактор $TGF\beta$, индуцирующий ЭМП (Giordano A. et al., 2012; Mego M. et al., 2012; Markiewicz A. et al., 2014). В результате ЭМП клетки опухоли приобретают свойства стволовости и выходят в кровоток, что является необходимым условием диссеминации. Однако в соответствии с представлениями в рамках гипотезы «семян и почвы» наличие опухолевых клеток в кровотоке не гарантирует развития вторичных очагов (Langley R.R., Fidler I.J., 2011; Santamaria-Martinez A., Huelsken J., 2013). Для успешного метастазирования необходимо наличие так называемой преметастатической ниши для выживания клеток опухоли (Peinado H. et al., 2011). Экспрессия VEGF и других факторов – FGF, $TNF\alpha$, TGF, CSF, GM-CSF – как макрофагами, так и опухолевыми клетками, является одним из условий, способствующих метастазированию. Эти цитокины вовлечены в рекрутирование в кровеносное русло костномозговых клеток-предшественников различных ростков, которые являются обязательными компонентами преметастатических ниш, в которых создаются условия для поддержания опухолевых клеток, попадающих в отдаленные сайты метастазирования (Gao D. et al., 2012; Malanchi I. et al., 2012; Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013).

Этиологическая роль бактериальной и вирусной инфекции в формировании и прогрессии злокачественных опухолей доказана экспериментальными и клиническими исследованиями. Длительно персистирующая инфекция вирусами гепатита В или С часто приводит к развитию гепатоцеллюлярной карциномы. При этом установлено, что непо-

средственная онкогенная активность инфектов кооперируется с хроническим воспалением, развивающимся в ответ на патоген, которое создает митогенное и мутагенное микроокружение, способствующее накоплению генетических нарушений, активации клеточной пролиферации и, в конечном счете, малигнизации (D'Ambrosio R. et al., 2015). Кроме этого, афлатоксин, алкогольная нагрузка, проявления метаболического синдрома, диабет, создавая условия персистирующего хронического воспаления, модифицируют микроокружение и повышают генетическую чувствительность к формированию ГЦК. Стромальные компоненты, включая печеночные липоциты (hepatic stellate cells), макрофаги, эндотелиальные клетки, вносят вклад в малигнизацию, а возникшие опухолевые клетки также влияют на клетки микроокружения, создавая условия для злокачественной трансформации и прогрессии (Heindryckx F., Gerwins P., 2015). Липоциты активируются при повреждении паренхимы печени и продуцируют ангиогенные факторы и рекрутируют макрофаги, которые, в свою очередь, секретируют и ангиогенные цитокины, приводя к формированию новых сосудов, что повышает снабжение опухоли кислородом и питательными веществами, способствуя росту опухоли и ее диссеминации. Секреция хемокинов опухолевыми клетками также ведет к привлечению макрофагов, которые играют ключевую роль в формировании воспаления путем секреции опухоль-промотирующих ростовых факторов и других цитокинов. В целом этот комплекс взаимоотношений ответствен за малигнизацию и опухолевую прогрессию, что указывает на возможность терапевтического воздействия не только на опухолевые клетки, но и на стромальное микроокружение с целью ингибиции злокачественного процесса.

Онкогенные компоненты *H. pylori* нарушают гомеостаз желудка посредством активации провоспалительного транскрипционного фактора NF- κ B, который, в свою очередь, индуцирует продукцию воспалительных цитокинов и других молекул в слизистой оболочке, таких как IL-1 β , TNF α , и IL-6, ИЛ-8, фактор роста сосудов VEGF, индуцибельная NO синтаза iNOS, циклооксигеназа COX2, матриксные металлопротеиназы и молекулы адгезии, которые способствуют формированию малигнизированного фенотипа, повышая риск развития рака желудка (Suganuma M. et al., 2008; Tu S.P. et al., 2011; Tu S. et al., 2008). В условиях хронического воспаления при участии iNOS и простагландинов продуцируются генотоксические факторы, повреждающие ДНК, и поддерживаются условия, обеспечивающие выживание трансформиро-

ванных клеток, неоангиогенез, что приводит к прогрессированию процесса и сопряжено с низкой выживаемостью пациентов с аденокарциномой желудка (Hock Eng A.K. et al., 2010; Jung J.-H. et al., 2013). При персистенции штаммов *H. pylori*, которые не имеют специфических вирулентных молекул, обладающих канцерогенным потенциалом, в условиях неадекватного иммунного ответа на инфекционный агент в слизистой желудка также формируется хронический воспалительный процесс, запускающий такие ключевые провоспалительные механизмы, как NF- κ B, индуцируемый гипоксией транскрипционный фактор HIF-1 α и STAT-3 (signal transducer and activator of transcription). Эти факторы индуцируют экспрессию воспалительных медиаторов – цитокинов, хемокинов, простагландинов, оксида азота (Mantovani A. et al., 2008). NF- κ B поддерживает хроническое воспаление и способствует выживанию опухолевых клеток путем прямой активации сигнальных путей, обеспечивающих пролиферацию и избегание апоптоза, способность клеток опухоли к метастазированию (Ma J. et al., 2014; Shin V.Y. et al., 2011; Xiao G. et al., 2011). Также есть сведения о связи NF- κ B с химиорезистентностью при раке желудка (Zhou W. et al., 2013). Индуцируемые NF- κ B процессы способствуют подавлению противоопухолевого иммунитета, что вносит вклад в прогрессирование опухоли и возникновение метастазов. Полученные данные открывают возможности для иммунотерапии при раке желудка (Tsujimoto H. et al., 2010).

Провоспалительное микроокружение непосредственно участвует в механизмах прогрессирования рака желудка, активируя в опухолевых клетках факторы роста и их рецепторы, регуляторы клеточного цикла, молекулы межклеточной адгезии и сосудистые факторы роста, в том числе эпидермальный фактор роста (EGF), его рецептор EGFR, онкогены K-sam, HER-2, IL-8, сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF), циклин E, p27, E-cadherin, Cdx1, Cdx2, CD44v6, c-мус, протеинкиназа AURKA (aurora kinase), матриксные металлопротеиназы-1 (MMP-1, 2, 9) и тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы-1 (TIMP-1) (Akagi T. et al., 2011; Kim A. et al., 2010; Sehdev V. et al., 2013). STAT-3 активирован в аденокарциномах желудка и способствует опухолевой прогрессии, стимулируя пролиферацию клеток, в том числе через TLR (Yuan X. et al., 2013). Показана важная роль ИЛ-11 и ИЛ-6, которые продуцируются как эпителиальными клетками, так и клетками микроокружения, в запуске STAT-зависимой прогрессии. IL-6 способствует усугублению воспаления, индуцируя противоапоптотические

сигналы, опосредованные STAT3. L.G. Necula et al. показали повышенный уровень содержания IL-6 и IL-11 в ткани желудка, который коррелирует с опухолевой прогрессией (Chen J., Huang X.F., 2009; Necula L.G. et al., 2012; Jones S.A. et al., 2011). Показано, что наличие *H. pylori* в опухоли связано с лучшим прогнозом для пациентов, вероятно в связи с развитием противоопухолевого иммунитета, показан лучший ответ на терапию цисплатином у пациентов с *H. pylori* (Sangiolo D., 2011; Chang W.J. et al., 2014). Изучение механизмов стромально-воспалительных взаимодействий, связанных с благоприятным или неблагоприятным прогнозом, позволит выявить ключевые мишени для воздействия с целью снижения риска прогрессии. Важным регуляторным медиатором, обладающим транскрипционной активностью в отношении многих генов, является трансформирующий фактор роста β , индуктор эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), обеспечивающего метастатический фенотип, супрессор противоопухолевого иммунного ответа. Он связан с прогрессированием рака желудка (Gao Q. et al., 2007; Lee K. et al., 2014). Изучение механизмов сигналинга TNF β в макрофагах позволит прояснить возможности регуляции проопухолевых функций макрофагов, опосредованных этим цито-кином.

Показано влияние белка RhoE, индуктора ЭМП, на продукцию макрофагами TNF α , выявлена ассоциация его активации с процессами лимфогенного и гематогенного метастазирования рака желудка (Stanley A.C. et al., 2014; Feng B. et al., 2013). Ключевым клеточным элементом, индуцирующим и регулирующим воспалительные процессы в опухолевом микроокружении, являются макрофаги (Mantovani A. et al., 2008; Nagy T.A. et al., 2011; Allavena P., Mantovani A., 2012). Воспалительное микроокружение содержит костномозговые клетки, включая нейтрофилы, макрофаги, миелоидные супрессорные клетки, дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты (Lee K. et al., 2014). В литературе есть указания на связь макрофагальной инфильтрации опухоли с прогнозом аденокарциномы желудка, однако данные разноречивы. В зависимости от профиля продуцируемых цитокинов различают М1-макрофаги, которые активируются интерфероном-гамма и продуцируют провоспалительные цитокины. М2 активируются ИЛ-4, ущербны в презентации антигенов и туморицидной активности, продуцируют иммуносупрессорный ИЛ-10, инфильтрация ими опухоли ассоциирована с плохим прогнозом (Biswas S.K., Mantovani A., 2010; Fehlings M. et al., 2012). Однако по цитокиновому профилю трудно оп-

ределить различия между этими двумя субпопуляциями *in vivo*, что требует использования новых подходов для их дифференциальной детекции в опухоли и определения функционального статуса. Чрезвычайно широкий спектр цитокинов, продуцируемых макрофагами (IL-1 β , MCP-1, MIF, IL-6, IL-8, IL-12, IL-18, CCL18, VEGF и др.), обеспечивает их беспрецедентный регуляторный потенциал. С другой стороны, высокая пластичность, т.е. способность репрограммировать свои функции под влиянием соответствующих внешних факторов, свидетельствует об их высокой значимости в качестве терапевтических мишеней, воздействие на которые может существенно модулировать условия микроокружения, взаимоотношения воспалительного, стромального и паренхиматозного компонентов, изменяя, в конечном счете, биологические свойства клеток опухоли. Продуцируемые макрофагами цитокины и другие сигнальные молекулы могут повреждать ДНК и непосредственно влиять на процессы пролиферации, апоптоза и дифференцировки эпителиальных клеток, активируя онкогенные пути, способствующие злокачественной трансформации и опухолевой промоции. Участие в опухолевой прогрессии осуществляется путем активации неоангиогенеза, индукции ЭМП и создания других условий, повышающих риск метастазирования.

В последние годы ведущие лаборатории мира тщательно исследовали фенотип макрофагов, ассоциированных с опухолью (MAO), в различных моделях опухолей у животных. Наиболее хорошо изучены макрофаги в моделях аденокарциномы молочной железы мышей. Было установлено, что MAO относятся к макрофагам 2-го типа (M2) и основной функцией этих макрофагов является поддержка опухолевого роста за счет секреции факторов роста и стимуляции ангиогенеза (Bonacchi R. et al., 2011). В лаборатории Дж. Полларда (Qiang B.Z., Pollard J.W., 2012; Wynn T.A. et al., 2013) было показано, что MAO отвечают за инициацию ангиогенеза (angiogenic switch) в модели аденокарциномы молочной железы мышей. Таким образом, наиболее устойчивой точкой зрения на настоящий момент является то, что MAO имеют, прежде всего, патологическое действие и поддерживают развитие опухоли и метастазирование за счет обеспечения доступа метастатическим клеткам в кровотоки и обеспечения оптимальных условий для оседания метастатических клеток в отдаленных органах. В лаборатории Р. Беелена (Университет Амстердама), напротив, показали, что про- или противоопухолевая активность макрофагов зависит от типа

опухоли. Так, Р. Бееленом и соавт. было показано, что клетки карциномы молочной железы вызывают в макрофагах секрецию толерогенных цитокинов, а клетки карциномы кишечника вызывают секрецию воспалительных цитокинов (Bogels M. et al., 2012). Однако полноценного сравнения фенотипа макрофагов по спектру маркеров в различных типах опухолей человека проведено не было. Еще меньше информации доступно в настоящий момент о фенотипе и функциях макрофагов в раке желудка и гортани. Более того, если высокие концентрации провоспалительных факторов, секретируемые макрофагами, ассоциированными с опухолью (МАО), еще могли бы оказывать противоопухолевое действие, то низкие концентрации большого спектра цитокинов с различным типом действия скорее всего приведут к дополнительному повышению мутагенеза в опухолях, повышению пролиферации опухолевых клеток и созданию благоприятных условий для метастазирования.

В лаборатории Kornelia Polyak (Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute and Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, MA 02115, USA) разрабатываются проблемы взаимоотношений опухоли и опухолевого микроокружения, которое обеспечивает условия для опухолевого роста и прогрессии. Исследуются возможности перепрограммирования компонентов микроокружения, в том числе индукции иммунного ответа на опухолевые клетки в условиях химиотерапии (Polyak K., Vogt P.K., 2012; Bhatia S. et al., 2012). Изучается клональная эволюция опухоли под влиянием химиотерапии у больных раком молочной железы, выявлены генотипические и фенотипические изменения клеток опухоли после ХТ (Polyak K., 2014; Almendro V. et al., 2014). Основным объектом указанных исследований является рак молочной железы. Группой авторов во главе с Н. Tsujimoto и S. Ono (Department of Surgery, National Defense Medical College, 3-2 Namiki, Tokorozawa 359-8513, Japan) проводятся исследования закономерностей развития хронического воспаления в опухолевой ткани при раке желудка. Показано, что несколько про- и противовоспалительных цитокинов способствуют прогрессии опухоли через прямую активацию ядерного фактора-кВ (NF-кВ) и усиление активности ангиогенеза и адгезии молекул. Эти процессы способствуют подавлению противоопухолевого иммунитета, что приводит к прогрессированию опухоли и метастазированию. Авторы полагают, что получен-

ные данные открывают новые возможности для иммунотерапии при раке желудка (Tsujimoto H. et al., 2010).

Изучением влияния HPV на опухолевую прогрессию занимается большое количество научных коллективов. При этом процесс осложняется популяционными особенностями больных, большим количеством высокоонкогенных типов HPV, различными локализациями первичной опухоли, каждая из которых имеет свои особенности в клиническом течении, терапии и исходах. Среди наиболее крупных центров – Comprehensive Cancer Center Государственного университета Огайо (США), занимающийся изучением эпидемиологии HPV среди населения при онкопатологиях, а также генетическими маркерами ответа на химиотерапию (Akagi K. et al., 2014). Впервые повышенная выживаемость пациентов с HPV-опосредованными опухолями была показана в подразделении Otolaryngology-Head and Neck Surgery Университета Мичиган (США) под руководством C.R. Bradford и T.E. Carey. В настоящее время они занимаются изучением генетических изменений, обуславливающих различную прогрессию опухоли у HPV-позитивных и HPV-негативных пациентов с раком ротоглотки (Vainshtein J.M. et al., 2014). Изучению клеточного иммунитета при HPV-инфекциях опухолей головы и шеи посвящены работы из Лаборатории изучения опухолей Регионального центра по борьбе с онкологическими заболеваниями (Lab de Biologie Tumorale, Centre Régional de Lutte Contre le Cancer Paul Strauss, Hôpital), Страсбург (Франция) под руководством A.C. Jung (Jung A.C. et al., 2013).

Получены данные о повышении показателей общей выживаемости и безрецидивной выживаемости пациентов и 50-процентном снижении риска смерти у пациентов с HPV-положительными опухолями. Кроме того, у них отмечается более эффективный ответ опухоли на предоперационную терапию (Shaughnessy J.N. et al., 2014; O'Rorke M.A. et al., 2012). Механизм таких различий пока не установлен окончательно, но предполагается изменение свойств опухолевых клеток под влиянием молекулярных факторов, образующихся при осуществлении жизненного цикла вирусными частицами в клетках эпителия, что дает возможность формирования иммунного ответа на вирус-инфицированные клетки. Показано, что высокий уровень CD8 Т-лимфоцит-ассоциированного противоопухолевого ответа связан с лучшим прогнозом заболевания у пациентов с ВПЧ-положительными опухолями (Wansom D. et al., 2012; Jung A.C. et al., 2013). В литера-

туре существуют лишь единичные исследования роли макрофагов (Alexander S., Friedl P., 2012; Meng S.D. et al., 2012). Изучение закономерностей функционирования макрофагов в опухолевом микроокружении в зависимости от наличия патогена в опухоли и связи с риском прогрессирования заболевания позволит выявить новые молекулярные маркеры опухолевой прогрессии, а также целевые клетки и молекулы, воздействие на которые может изменить условия микроокружения, и, как следствие, биологические свойства опухолевых клеток в направлении снижения риска диссеминации опухолей гортани и желудка, а также для других типов злокачественных новообразований. Установление уникальных специфических биомаркеров макрофагов с проопухолевыми свойствами и определение субпопуляций клеток-мишеней послужит обоснованием для принципиальной возможности прицельного терапевтического воздействия на макрофаги индивидуально подобранными комбинациями стимулов для изменения условий микроокружения с целью снижения риска метастазирования.

4.2. Опухлеассоциированные макрофаги – ключевой компонент опухолевого микроокружения и перспективные мишени для терапии

Последние публикации ведущих мировых научных коллективов показали, что моноциты и тканевые макрофаги являются ключевыми клетками, которые первые определяют ответ на стимулы, вызывающие воспаление 2-го типа (Nahrendorf M., Swirski F.K., 2013; Swirski F.K., Nahrendorf M., 2013).

Известно, что для развития клинически манифестирующего метастаза необходимо не только приобретение опухолевыми клетками метастатического фенотипа, но и наличие в месте развития метастаза благоприятных для роста вторичной опухоли условий, согласно гипотезе «семян и почвы» Стивена Педжета (Langley R.R., Fidler I.J., 2011; Santamaria-Martinez A., Huelsken J., 2013). Развивающая эту гипотезу современная концепция «метастатических ниш» D. Lyden (Peinado H. et al., 2011) предполагает формирование кластера клеток костномозгового происхождения, который формируется в месте будущего развития метастаза до проникновения в него опухолевой клетки. Клетки-предшественники макрофагов – одни из важных компонентов метаста-

тической ниши (Gao D. et al., 2012; Malanchi I. et al., 2012; Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013; Перельмутер В.М., Манских В.Н., 2012). Метастатическая ниша обеспечивает хоминг и выживание метастазирующей опухолевой клетки. Клиническая манифестация метастаза возможна только при развитии ангиогенеза, стромы опухоли и процессов воспаления в сайте метастазирования. Таким образом, рост первичной злокачественной опухоли, эпителиально-мезенхимальный переход, лежащий в основе инвазивного роста и метастазирования, формирование метастатических ниш, рост вторичной метастатической опухоли происходят при участии макрофагов, играющих в этих процессах ключевую роль. В связи с этим возможность управлять функциональным состоянием макрофагов перспективна как для терапии первичных опухолей, так и для профилактики и терапии метастатических опухолей.

Нами было проведено масштабное исследование с использованием геномных технологий и системно-биологических подходов для анализа экспрессионного профиля различных субпопуляций человеческих макрофагов. Было установлено, что каждый отдельный стимул приводит к высокоспецифичному профилю экспрессии молекулярных маркеров. Был сделан вывод, что молекулярный фенотип макрофагов может использоваться как диагностический маркер субклинического воспаления и специфического определения варианта воспаления 2-го типа. Нами и другими лидирующими научными коллективами было показано, что макрофаги обладают высокой степенью разнообразия и функциональной пластичностью (Gratchev A. et al., 2006; Possamai L.A. et al., 2014; Hussell T., Bell T.J., 2014; Li.Y. et al., 2013; Sica A. et al., 2014). Многие современные исследователи пришли к выводу, что макрофаги являются оптимальными мишенями для иммуномодулирующей терапии. Для разработки инновационных диагностических и терапевтических подходов наиболее важной является задача определения фенотипов и патологических свойств и макрофагов в конкретных патологических состояниях человека.

Наши исследования показали, что стабиллин-1 является универсальным маркером M2 как у мыши, так и у человека (Schledzewski K. et al., 2006; Martens J.H. et al., 2006). В лаборатории профессора Ю.Г. Кжышковской был впервые описан белок стабиллин-1 как M2-маркер, и открыт молекулярный механизм его действия (Kzhyshkowska J. et al., 2006a; Park S.Y. et al., 2009; Kzhyshkowska J. et

al., 2004; Kzhyshkowska J. et al., 2006c; Kzhyshkowska J. et al., 2008; Zhang J. et al., 2009; Schledzewski K. et al., 2011). Было показано, что одной из функций стабиллина-1 в М2 является транспорт SI-CLP (stabilin-1 interacting chitinase-like protein) в секреторные везикулы (Kzhyshkowska J. et al., 2006b). Более того, было впервые показано, что YKL-39 и SI-CLP являются дифференциальными маркерами субпопуляций М2 у человека (Kzhyshkowska J. et al., 2007a; Gratchev A. et al., 2008b). Было также показано, что экспрессия YKL-39 и SI-CLP регулируется антагонистически различными цитокинами, продуцируемыми в опухолях. Более того, полноценный ген YKL-39 отсутствует у мышей и не экспрессируется ни на уровне РНК, ни на белковом уровне. Под руководством Ю.Г. Кзышковой были разработаны функциональные тесты на про- и противовоспалительные активности макрофагов, специфический эндоцитоз в М2, разработаны модельные клеточные системы для молекулярного механизма эндоцитоза и для визуализации внутриклеточного везикулярного транспорта при помощи конфокальной микроскопии (Kzhyshkowska J. et al., 2006c; Kzhyshkowska J. et al., 2008). Было впервые показано, что стабиллин-1 отвечает за эндоцитоз регуляторного белка ангиогенеза и опухолевой прогрессии SPARC (Kzhyshkowska J. et al., 2006c), а также разработана уникальная система дифференцировки из моноцитов крови различных субпопуляций человеческих макрофагов 1-го и 2-го типа и проведен системно-биологический анализ по выявлению специфического молекулярного профиля различных субпопуляций М2 (Gratchev A. et al., 2005; Gratchev A. et al., 2006; Gratchev A. et al., 2008a; Popova A. et al., 2011). А. Gratchev et al. (2006, 2008a), J. Kzhyshkowska et al. (2006c, 2008) впервые продемонстрировали функциональную пластичность человеческих макрофагов и разработали функциональные тесты для оценки степени этой пластичности.

Дифференцировку макрофагов в М2 обеспечивают хитиназоподобные белки, которые в последнее время рассматриваются в качестве маркеров онкопатологии. Было обнаружено, что повышенный уровень YKL-40 одного из перспективных прогностических маркеров данного класса ассоциирован со снижением выживаемости у пациентов с опухолями в области головы и шеи (ОГШ) (Roslind A. et al., 2008).

4.3. Хитиназоподобные белки (ХПБ) как маркеры воспаления: природа и функции

Накопленные в последние годы данные позволяют с уверенностью утверждать, что хроническое воспаление лежит в основе многих патологических состояний и создает необходимые условия для развития рака и сердечно-сосудистых заболеваний. Ключевую роль в этих процессах играют макрофаги, обладающие широчайшим спектром эффекторных и регуляторных функций. Хитиназоподобные белки (ХПБ, CLP – chitinase-like proteins) – новый класс белков, внеклеточных медиаторов, способных регулировать воспалительные и регенеративные процессы. Макрофаги являются как источником ХПБ, так и клетками-мишенями для их регуляторных эффектов. В частности, последние вызывают дифференцировку макрофагов М2-типа, которые способствуют опухолевой диссеминации. Имеются первые наблюдения, свидетельствующие о способности ХПБ участвовать в хемотаксисе и активации иммунных клеток, влиять на рост опухолевых клеток, апоптоз и ангиогенез.

Общая особенность хитиназоподобных белков – наличие у них Glyco_18-домена. Семейство человеческих белков, содержащих Glyco_18-домен, включает каталитически активные хитиназы и ХПБ. В семейство ХПБ человека входят белки YKL-39 (Chondrocyte protein 39, Chitinase 3 like 2 (CHI3L2)), YKL-40 (Breast regression protein (BRP)-39, Chitinase 3 like 1(CHI3L1), Cartilage glycoprotein (GP)-39, Human cartilage glycoprotein (HcGP)-39) и SI-CLP (Stabilin-1 interacting chitinase-like protein, хитиназоподобный протеин, взаимодействующий со стабилином-1).

Все три человеческих ХПБ секретируются во внеклеточное пространство и могут быть обнаружены в тканях и крови. Повышенный уровень YKL-40 ассоциирован с хроническими воспалительными заболеваниями и раком. Биологическая активность YKL-40 направлена на регуляцию клеточной пролиферации, адгезии, миграции и активации. YKL-40 способствует росту синовиальных клеток, хондроцитов, фибробластов кожи и эмбриональных фибробластов легких. YKL-39 может вносить вклад в прогрессию остеоартрита, во-первых, путем индукции аутоиммунного ответа и, во-вторых, за счет тканевого ремоделирования.

Биологическая активность SI-CLP интенсивно изучается в лаборатории, руководимой Ю.Г. Кжышковской. Показано, что YKL-40 и SI-CLP экспрессируются различными типами клеток, в том числе макрофагами и опухолевыми клетками. Установлены возможности антагонистической регуляции экспрессии YKL-40 и SI-CLP в макрофагах человека. Экспрессия YKL-40 индуцируется $INF\gamma$, одним из центральных цитокинов Th1 иммунного ответа, который инициирует классический воспалительный ответ. В то же время IL-4, цитокин Th2 иммунного ответа, и глюкокортикоид дексаметазон супрессируют экспрессию YKL-40. При этом IL-4 и дексаметазон синергически активируют продукцию SI-CLP, а $INF\gamma$ отменяет эти эффекты.

YKL-39 был идентифицирован как активно секретирующийся белок в первичной культуре человеческих хондроцитов суставных хрящей. В настоящее время YKL-39 рассматривается как биомаркер активации хондроцитов и прогрессирования остеоартрита у человека. Недавно нами было найдено, что уровень мРНК YKL-39 значительно повышается под влиянием IL-4 и фактора роста TGF β , который играет ключевую роль в регуляции злокачественного роста и атеросклероза. Таким образом, все три хитиназоподобных белка – YKL-39, YKL-40 и SI-CLP – являются индикаторами того или иного типа макрофагальной активации, что было показано на примере разных патологических состояний у человека.

Известно несколько регуляторных сигнальных путей, которые используют макрофаги для секреции растворимых медиаторов, однако механизмы, регулирующие внутриклеточную сортировку человеческих CLP, и условия их секреции остаются неизученными. Мы провели исследование механизма сортировки и секреции SI-CLP в человеческих альтернативно-активированных макрофагах. На основе подходов биохимии и клеточной биологии в наших исследованиях показано, что SI-CLP взаимодействует с мультифункциональным макрофагальным рецептором стабилином-1. Стабилин-1 распознает вновь синтезированный SI-CLP в позднем компартменте аппарата Гольджи и направляет их в секреторные лизосомы. Однако SI-CLP могут быть доставлены в лизосомы и в отсутствие стабилина-1, что свидетельствует о вовлечении других рецепторов в его сортировку. Также было обнаружено, что глюкокортикоид дексаметазон в терапевтических концентрациях в условиях индукции экспрессии SI-CLP блокирует его секрецию, приводя к аккумуляции внутри клетки

SI-CLP в высокой концентрации. Ниже обсуждается значимость указанных находок для понимания механизмов формирования макрофагассоциированных патологических состояний.

Изучение молекулярных механизмов функционирования ХПБ перспективно созданием широкого спектра таргетных препаратов, нацеленных на управление функцией макрофагов, иммунными реакциями и в итоге возможностью воздействовать на ключевые звенья прогрессии злокачественных опухолей.

4.3.1. Способность хитиназоподобных белков связывать сахараиды

Общей структурной особенностью истинных хитиназ и хитиназоподобных белков у млекопитающих является наличие высококонсервативного Glyco_18-домена. Наличие Glyco_18-домена характерно для эволюционно консервативных хитиназ, принадлежащих к классу 18-гликозил-гидролаз. Хитиназы широко распространены в различных организмах, включая бактерии, растения, грибки, насекомых, вирусы, простейших паразитов, а не так давно были обнаружены в клетках млекопитающих. Роль хитиназ заключается в катализировании реакции гидролиза хитина. Дополнительная ферментативная активность хитиназ связана с реакцией трансгликозилирования, которая приводит к образованию преобладающего количества олигомеров хитина по сравнению с исходным субстратом (Sasaki C. et al., 2002). Хитин, который является полимером N-ацетилглюкозамина, считается самым распространенным полисахаридом в природе после целлюлозы. Хитин является компонентом клеточных стенок грибов, экзоскелетов насекомых и ракообразных, оболочек микрофилярий паразитических нематод. Эволюционно сложившаяся функция хитиназ низших жизненных форм заключается в защите хозяев от хитинсодержащих организмов (Elias J. et al., 2005). В настоящее время установлено, что существует 6 белков, содержащих Glyco_18-домен в клетках человека: хитотриозидаза, кислая хитиназа млекопитающих (AMCase), овидуктин, YKL-39, YKL-40 и SI-CLP. Кроме того, у грызунов было выявлено 2 сходных по строению белка, включающих Glyco_18-домены, – YM1 (Chitinase 3 like 3(CHI3L3)) и YM2 (Chitinase 3 like 4(CHI3L4)). Од-

нако их гомологов ни на генном, ни на протеомном уровнях у человека обнаружить не удалось (Kzhyshkowska J. et al., 2007a).

Только два белка млекопитающих, содержащих Glyco_18-домен, обладают ферментативной активностью: хитотриозидаза (Renkema G.H. et al., 1995; Boot R.G. et al., 1995) и кислая хитиназа млекопитающих (AMCase) (Boot R.G. et al., 2001). Хитотриозидаза способна гидролизовать искусственный субстрат 4-метилумбеллиферил-хитотриозид с такой же эффективностью реакции, как и хитин (Renkema G.H. et al., 1995). При избытке субстрата хитотриозидазы проявляют трансгликозилирующую активность по отношению к молекулам субстрата (Aguilera B. et al., 2003). Кислая хитиназа млекопитающих также способна расщеплять как природный хитин из клеточной стенки грибов и раковины ракообразных, так и искусственный хитиноподобный субстрат. В отличие от хитотриозидазы кислая хитиназа млекопитающих является кислотоустойчивой, оптимальный pH для ферментативной активности находится в области pH=2 (Boot R.G. et al., 2001). Каталитическая активность белков, содержащих Glyco_18-домен, обеспечивается за счет наличия остатка глутаминовой кислоты в последовательности DXDXE (где D – аспарагиновая кислота, E – глутаминовая кислота, X – любая аминокислота), расположенного через один остаток от высококонсервативного трипептида FDG (Fusetti F. et al., 2002). При этом и хитотриозидаза, и кислая хитиназа млекопитающих, помимо Glyco_18-домена, содержат функциональный хитинсвязывающий домен на С-терминальном конце аминокислотной последовательности (рис. 2).

В свою очередь, белки YKL-39, YKL-40, SI-CLP и YM1/YM2 содержат только Glyco_18-домен и не имеют в своей структуре хитинсвязывающего домена. Овидуктин/муцин 9 содержит Glyco_18-домен и длинный фрагмент с многочисленными сайтами для О-гликозилирования, характерный для всех муцинов. YKL-39, YKL-40, SI-CLP, YM1/YM2 и овидуктин не имеют функционально значимых аминокислот внутри каталитического центра (рис. 2, B) и соответственно не обладают ферментативной активностью. YKL-40 и YKL-39 являются сходными по своей структуре, наиболее изученными хитиназоподобными белками человека. В литературе показана их ассо-

Рис. 2. Структура Glyco_18-доменсодержащих хитиназ и хитиназоподобных белков: *A* – схематическое изображение Glyco_18-доменсодержащих белков; *B* – расположение функционально значимых аминокислот, входящих в состав каталитического центра. FDG – последовательность, расположенная перед каталитическим центром ферментов, выделена серым цветом. Функционально значимые аминокислоты выделены жирным шрифтом. Функционирующий каталитический центр выделен подчеркиванием (Kzhyshkowska J. et al.; Blood, 2006)

цияция с некоторыми патологическими процессами. Первым обнаруженным хитиназоподобным белком человека является YKL-40. Его название происходит от обозначений аминокислот (тирозин, лизин, лейцин), расположенных на N-конце, и молекулярного веса белковой молекулы (Johansen J.S. et al., 1992; Nakala B. et al., 1993). Секвенирование N-терминального участка YKL-40, содержащей фракции супернатанта клеточной культуры, обнаружило присутствие еще одного сходного по структуре белка. В случае белка YKL-40 обнаруженная последовательность была следующей: YKLVCYYTSWSQYR. В то время как в случае с обнаруженным белком последовательность была другой – YKLVCYFTNWSQDR. Так как новый белок также имел YKL-мотив, он был назван YKL-39 в соответствии со своим молекулярным весом. В отличие от YKL-40 YKL-39 не является гликопротеином (Hu B. et al., 1996).

Glyco_18-домен хитиназоподобных белков, несмотря на отсутствие каталитической активности, несет ответственность за взаимодействие с различными углеводами. Биохимический и структурный анализ четко показал, что YKL-40 является каталитически неактивным лектином. Замена остатка глутаминовой кислоты в каталитическом центре хитотриозидазы на остаток лейцина, который присутствует в YKL-40 в том же положении, преобразует каталитически активный сайт в хитин-связывающий сайт (Renkema G.H. et al., 1998). Соответственно было установлено, что YKL-40 является хитин-специфическим лектином (Renkema G.H. et al., 1998). Связывание YKL-40 с фрагментами хитина разной длины позволило установить девять участков связывания с сахарами в структуре канавки YKL-40. Было показано, что специфичность связывания YKL-40 с хитином зависит от длины олигосахаридов (Fusetti F. et al., 2003). Дисахариды хитина занимают дистальные участки связывания, в то время как длинные цепи занимают предпочтительно центральное положение в канавке. Кристаллические структуры нативного YKL-40 и его комплекса с GLcNAc8 показали, что связывание YKL-40 с олигосахаридами аналогично каталитически активным представителям семейства хитиназ. Но в отличие от хитиназ связывание лиганда с YKL-40 индуцирует большие конформационные изменения, которые могут иметь регуляторное значение в ответе хозяина на инвазию нематод или грибов (Houston D.R. et al., 2003).

Было проведено исследование взаимодействия олигосахаридов и белка YM-1, выделенного из тканей мышей, инфицированных *T. spiralis*, и иммобилизованного на CM5 микрочипе с помощью методики поверхностного плазмонного резонанса. Оказалось, что белок YM-1 с одинаковой специфичностью связывает такие моносахариды, как глюкозамин и галактозамин (Chang N.C. et al., 2001; Sun Y.J. et al., 2001). Очищенный препарат белка YM-1 также обладает способностью связывать иммобилизованный гепарин. Вероятно, этот биологический эффект YM-1 и вносит свой вклад в процессы воспаления и ремоделирования тканей. Трехмерная кристаллическая структура YM1 с разрешением 2,5 Å показала наличие сайтов связывания сахаридов в домене TIM, который является частью домена Glyco_18 (Sun Y.J. et al., 2001).

Наши недавние исследования показали, что выявленный нами белок SI-CLP также обладает лектин-связывающими свойствами. Мы исследовали способность как *in vitro* транслируемого, так и очищенного рекомбинантного SI-CLP связывать различные иммобилизованные на гранулах углеводы и обнаружили способность связывать гепарин 1-го и 2-го типа (Kzhyshkowska J., Mamidi I., неопубликованные данные). Взаимодействие SI-CLP с гепарином позволяет нам предположить о роли белка SI-CLP в различных клеточных процессах, в том числе пролиферации клеток, дифференциации, адгезии и подвижности. Учитывая высокий уровень синтеза SI-CLP альтернативно активированными макрофагами, может быть предложен новый молекулярный механизм макрофаг-опосредованного контроля морфогенеза ткани.

Таким образом, ферментативно неактивный домен Glyco_18 отражает свойства белка как лектинов, и, следовательно, ферментативно неактивные хитиназоподобные белки представляют собой новый класс секретируемых лектинов, которые сочетают в себе свойства цитокинов и факторов роста и опосредуют клеточные перекрестные взаимодействия.

4.3.2. Клеточная специфичность и регуляция экспрессии ХПБ

Основные типы клеток, продуцирующие хитиназы млекопитающих и ХПБ, – это макрофаги, нейтрофилы, эпителиальные клетки, хондроциты, синовиальные, а также опухолевые клетки (см.

табл. 1). Экспрессия этих белков регулируется на уровне мРНК с помощью различных цитокинов и гормонов.

YKL-40 – это наиболее охарактеризованный с точки зрения его биологических эффектов ХПБ. YKL-40 был впервые идентифицирован как один из основных секретируемых белков хондроцитов и синовиальных фибробластов (Nakala B. et al., 1993). Белок gp38k является его гомологом в организме свиньи, секретируется в процессе культивирования клеток гладких мышц (Millis A.J. et al., 1986; Shackelton L.M. et al., 1995). Было показано, что YKL-40 является маркером макрофагов в том случае, если их экспрессия регулируется преимущественно фактором транскрипции SP1 (Rehli M. et al., 1997; Rehli M. et al., 2003). YKL-40 секретируется в среду при культивировании некоторых линий опухолевых клеток человека различного происхождения, в том числе глиобластомы, рака толстой кишки, рака яичников, рака предстательной железы, остеосаркомы, злокачественной меланомы (Johansen J.S. et al., 2006). В соответствии с этим экспрессия белка YKL-40 была обнаружена в биопсийном материале больных раком молочной железы, раком толстой кишки и глиобластомой (Nutt C.L. et al., 2005; Pelloso C.E. et al., 2005; Johansen J.S. et al., 2006).

Экспрессия YKL-40 связана с интенсивным процессом ремоделирования ткани в живом организме; мРНК YKL-40 была обнаружена в хрящевой ткани суставов, пораженных остеоартритом (Nakala B. et al., 1993; Connor J.R. et al., 2000). Иммуногистохимический анализ показал, что YKL-40 экспрессируется в хондроцитах хряща при остеоартрите, в основном, в поверхностной и средней зоне, не затрагивая более глубоких участков (Volck B. et al., 1999). YKL-40 экспрессируется в клетках гладкой мускулатуры человека, при этом его синтез индуцируется в макрофагах, входящих в состав атеросклеротической бляшки. Существует гипотеза, что хитотриозидаса, наряду с YKL-40 способна регулировать миграцию клеток и ремоделирование тканей во время атерогенеза (Boot R.G. et al., 1999). Экспрессия мРНК YKL-40 значительно выше при ранних атеросклеротических изменениях, а также в макрофагах, глубоко инфильтрирующих атеросклеротическую бляшку (Boot R.G. et al., 1999). Экспрессия YKL-40 может являться маркером дифференцировки макрофагов во время формирования атеросклеротической бляшки (Rathcke C.N. et al., 2006b).

Рис. 3. Результат ПЦР-анализа экспрессии SI-CLP и YKL-40 в макрофагах человека.

Моноциты из периферической крови, не подвергавшиеся стимуляции, использовали в качестве контроля; моноциты, стимулированные различными цитокинами, культивировали 6 дней. На рисунке представлена экспрессия белков SI-CLP и YKL-40 от трех доноров: *A* – IL-4, дексаметазон и их комбинация индуцируют экспрессию мРНК SI-CLP в культуре макрофагов, самая низкая экспрессия SI-CLP детектировалась после стимуляции IFN γ ; *B* – IFN γ индуцировал экспрессию YKL-40, в то время как, дексаметазон оказывал сильное ингибирующее действие (Kzhyshkowska J. et al.; Blood, 2006)

Протеомное исследование, проведенное Е.М. Fach et al., продемонстрировало повышенное содержание YKL-40 в супернатантах культуры макрофагов THP-1, обработанных окисленными липопротеинами низкой плотности (модель пенных клеток *in vitro*) (Fach E.M. et al., 2004). В эксперименте *in vitro* те же макрофаги, которые секретируют хитотриозидазу, могут секретировать и YKL-40 (Renkema G.H. et al., 1998), однако экспрессия этих двух белков регулируется независимо друг от друга. Таким образом, мРНК YKL-40

обнаруживается в культуре макрофагов уже после 2 дней культивирования и достигает максимума на 14-й день, тогда как экспрессия хитотриозидазы начинается только после 7 дней и резко возрастает с течением времени. YKL-40 также экспрессируется нейтрофилами, которые способны высвобождать его под действием воспалительных факторов (Volck B. et al., 1998).

Продукция YKL-40 регулируется различными гормонами и цитокинами. Исследования на нокаутных мышах по гену IL-6 подтвердили его роль в регуляции экспрессии YKL-40 (Johansen J.S. et al., 2006). ПЦР-анализ в режиме реального времени, проведенный в нашей лаборатории, продемонстрировал, что экспрессия мРНК гена YKL-40 в моноцитах периферической крови значительно повышается под действием цитокина Т-хелперов 1-го типа IFN γ и снижается под действием цитокина Т-хелперов 2-го типа IL-4 и дексаметазона (рис. 3) (Kzhyshkowska J. et al.; Blood, 2006b).

Провоспалительные гормоны аргинин-вазопрессин (AVP) и паратгормон-связанный белок (PTHrP) дифференциально влияют на секрецию YKL-40 в культуре хондроцитов (Petersson M. et al., 2006). Оба гормона стимулировали секрецию YKL-40 в культурах первичных хондроцитов, полученных от пациентов с ревматоидным артритом. Однако при культивировании хондроцитов, полученных от пациентов с остеоартритом, AVP снижал секрецию YKL-40, в то время как PTHrP не оказывал никакого эффекта на его продукцию. В хондроцитах, полученных от здоровых людей, PTHrP не изменял продукцию YKL-40, а AVP оказывал ингибирующий эффект. Таким образом, болезнь-специфичное программирование хондроцитов делает их восприимчивыми к дальнейшей гормональной стимуляции и может индуцировать продукцию YKL-40. В опухолевых клетках различные стрессовые факторы влияют на экспрессию YKL-40. Гипоксия, ионизирующее излучение, этопозид, церамид, удаление сыворотки из культуральной среды стимулируют экспрессию YKL-40, в то время как FGF и TNF подавляют его продукцию (Junker N. et al., 2005). Ю.Г. Кжышковой и соавт. было выдвинуто предположение о том, что YKL-40 является фактором выживания клеток. Будет ли наблюдаться стимуляция экспрессии в случае нетрансформированных клеток, требует дальнейшего выяснения. Особенно интересным является вопрос, продуцируют ли опухолеассоциированные макрофаги, находящиеся в гипоксических очагах, повышенные количества белка YKL-40.

В отличие от широко экспрессирующегося белка YKL-40 долгое время считалось, что YKL-39 является специфичным ХПБ только для хондроцитов и синовиоцитов (Hu B. et al., 1996). Первые данные о том, что YKL-39 может продуцироваться макрофагами, были получены при изучении группой авторов синдрома Альцгеймера (Colton C.A. et al., 2006). Было установлено, что экспрессия мРНК генов YKL-40 и YKL-39 выражено повышается в клетках головного мозга больных с синдромом Альцгеймера, это наблюдение подтверждает наличие альтернативной активации макрофагов микроглии во время течения заболевания (Colton C.A. et al., 2006). На базе нашей лаборатории был проведен комплексный анализ различных стимулирующих факторов для изучения их способности индуцировать экспрессию YKL-39 в макрофагах (Kzhyshkowska J. et al., 2006b; Gratchev A. et al., 2008a). В работе мы использовали модель дифференцировки *in vitro* макрофагов из моноцитов человека. Выделенная с помощью магнитной сортировки (MACS) фракция CD14+ моноцитов подвергалась действию таких стимулирующих агентов, как IFN γ , IL-4, дексаметазон и TGF β , после чего оценивалась экспрессия YKL-39 с помощью ПЦР в режиме реального времени. Мы обнаружили, что IL-4 и TGF β оказывают слабое стимулирующее действие на экспрессию YKL-39, если использовать их отдельно. Однако сочетание IL-4 и TGF β имело сильный стимулирующий эффект на экспрессию YKL-39 во всех отдельных анализируемых культурах макрофагов (Gratchev A. et al., 2008a). Использование INF γ не продемонстрировало статистически значимого эффекта на экспрессию мРНК гена YKL-39. При этом присутствие дексаметазона почти полностью блокировало стимулирующие эффекты IL-4 и TGF β (рис. 4). Таким образом, созревание макрофагов в присутствии цитокинов Т-хелперов 2-го типа – IL-4 и TGF β – приводит к выраженному повышению экспрессии YKL-39. Следовательно, повышенный уровень YKL-39, наблюдаемый в ходе хронических воспалений, не может быть связан исключительно с деятельностью хондроцитов. В перспективе YKL-39 может служить в качестве информативного биомаркера для выявления макрофагального ответа при таких заболеваниях, как рак, атеросклероз и болезнь Альцгеймера.

Рис. 4. Результат анализа экспрессии YKL-39 в первичной культуре макрофагов, полученной из моноцитов периферической крови (А). Нормализацию экспрессии YKL-39 осуществляли с помощью гена-рефери GAPDH. На рисунке представлены результаты от пяти индивидуальных доноров. Уровень экспрессии в контрольном образце 305.1, полученном от донора, принят за 1; В – статистический анализ влияния различных стимулов на экспрессию YKL-39 в первичных культурах макрофагов. Точки отражают уровень экспрессии в индивидуальных образцах. Средние значения представлены линиями. Уровень значимости вычисляли с помощью дисперсионного анализа ANOVA (Gratchev A. et al.; J. Immunol., 2008)

Рис. 5. Результат детекции SI-CLP в клетках бронхоальвеолярного лаважа и лейкоцитах периферической крови методом вестерн-блот-анализа с использованием моноклонального антитела (клон 1C11): *A* – экспрессия SI-CLP в клетках бронхоальвеолярного лаважа (BAL). BAL 01, 02, 04 и 05 – образцы, полученные от больных хроническим бронхитом; BAL 03 – образец, взятый от пациента с саркоидозом, получающего терапию глюкокортикоидами; *B*, *C* – лейкоциты периферической крови, были выделены из свежих образцов (PBL). Образцы PBL 01-05 получены от тех же пациентов, что и BAL01-05; образцы PBL 06-14 получены от здоровых доноров (Kzhyshkowska J. et al.; Blood, 2006)

Белки YM1 и YM2 представлены только в организме грызунов и не имеют ни геномных, ни протеомных аналогов в организме человека (Chang N.C. et al., 2001; Raes G. et al., 2005). YM1 экспрессируется преимущественно макрофагами (Chang N.C. et al., 2001; Welch J.S. et al., 2002; Nair M.G. et al., 2003). В мышинной модели паразитарной инфекции Th2-типа экспрессия YM-1 и кислой хитиназы млекопитающих зависит от активности IL-21-рецептора, который имеет структурную гомологию с IL- α 4R цепи и реагирует на цитокин Т-хелпера 2-го типа – IL-21 (Pesce J. et al., 2006). Так как экспрессия обоих белков индуцируется в цитокиновом окружении Т-хелпера 2-го типа, некоторые исследователи предположили, что кислая хитиназа млекопитающих является функциональным аналогом мышинного белка YM1. Хотя отсутствие хитин-связывающего домена и каталитически активных аминокислот внутри Glyco_18-домена белка YM1 (см. рис. 1) противоречит вышеуказанной гипотезе (Boot R.G. et al., 2005). Кроме того, в экспериментальной модели астмы на мышах было показано, что YM1 и AMCcase могут быть дифференциальными маркерами проксимального и дистального эпителия дыхательных путей. Так, AMCcase продуцируется только клетками Клара дистальных отделов дыхательных путей, не секретирующими слизь, в то время как YM1 экспрессируется слизь-

продуцирующими клетками проксимальных отделов дыхательных путей (Homer R.G. et al., 2006).

Наши исследования показали, что макрофаги продуцируют еще один каталитически неактивный белок, содержащий Glyco_18-домен, – SI-CLP (stabilin-1 interacting chitinase-like protein) (Kzhyshkowska J. et al., 2006b). Экспрессия SI-CLP в макрофагах человека индуцируется под действием IL-4 и дексаметазона (см. рис. 4). Комбинированный эффект IL-4 и дексаметазона характеризуется синергическим действием, который ослабляется в присутствии IFN γ . В организме большое количество SI-CLP детектируется в клетках бронхоальвеолярного лаважа пациентов с хроническим воспалением дыхательных путей (рис. 5). Пул клеток, экспрессирующих белок SI-CLP, не ограничен лишь макрофагами, он также детектируется в клетках линий Raji, Jurkat и других линий опухолевых клеток (Kzhyshkowska J. et al., 2006b), а также в CD3+ Т-клетках, выделенных из периферической крови здоровых доноров (Kzhyshkowska J., неопубликованные данные). Мы показали, что макрофаги способны секретировать SI-CLP (см. ниже), однако в настоящее время неизвестно, обладают ли такой способностью другие клетки.

4.3.3. Механизмы внутриклеточной сортировки ХПБ в макрофагах

Два основных типа клеток иммунной системы – макрофаги и нейтрофилы – используют регулируемые секреторные пути для высвобождения синтезируемых хитиназ и ХПБ. В то время как нейтрофилы используют специализированные секреторные гранулы, макрофаги – лизосомальный тип секреции. Поскольку из всех ХПБ лишь для SI-CLP изучены в деталях процессы синтеза и внутриклеточной сортировки, в данном обзоре параллельно будут представлены данные о механизмах секреции истинной хитиназы – хитотриозидазы.

Внутриклеточные исследования показали, что хитотриозидаза и SI-CLP в первую очередь локализуются в лизосомах макрофагов (Renkema G.H. et al., 1997; Kzhyshkowska J. et al., 2006b). Наряду с классическим механизмом секреции посредством эндоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи макрофаги используют неканонические пути секреции, а также лизосомальный тип секреции

(Andrews N.W., 2000; Stinchcombe J.C., Griffiths G.M., 1999). Лизосомальный тип секреции макрофагов обеспечивается за счет поступления вновь синтезируемых белковых продуктов в лизосомальные гранулы (Logan M.R. et al., 2003). Два хорошо изученных маннозофосфатных рецептора CI-MPR и CD-MPR ответственны за доставку лизосомальных ферментов в лизосомы различных клеток (Ghosh P. et al., 2003; Kornfeld S., Mellman I., 1989). Однако белки, содержащие Glyco₁₈-домен, отличаются от других лизосомальных белков отсутствием N-гликозилирования, которое необходимо для распознавания рецепторами семейства MPR (Renkema G.H. et al., 1997; Boot R.G. et al., 2001). Поэтому механизмы узнавания и лизосомальной маршрутизации вышеуказанных белков имеют некоторые особенности.

Мы показали, что внутриклеточная сортировка SI-CLP в альтернативно активированных макрофагах осуществляется посредством многофункционального рецептора стабилин-1. Стабилин-1 специфически экспрессируется на поверхности макрофагов здоровых тканей, в плаценте, на опухолеассоциированных макрофагах, а также на эндотелиальных клетках синусоидов печени, селезенки и лимфатических узлов (Kzhyshkowska J. et al., 2006a). Стабилин-1-позитивные макрофаги и эпителиальные клетки синусоидов печени характеризуются повышенным фагоцитирующим потенциалом, и первая обнаруженная нами функция стабилина-1 – эндоцитоз. Мы показали, что стабилин-1 опосредует интернализацию ацетилированных липопротеинов низкой плотности (acLDL) (Kzhyshkowska J. et al., 2005), а также регулятора ремоделирования внеклеточного матрикса и клеточной адгезии – белка SPARC (Kzhyshkowska J. et al., 2006c) и гормона плацентарного лактогена (PL) (Kzhyshkowska J. et al., 2008). И SPARC, и acLDL после взаимодействия со стабилином-1 подвергаются деградации в лизосомах. В случае же плацентарного лактогена часть гормона избегает деградации и переносится в аппарат Гольджи, образуя новые везикулы, с возможностью дальнейшей секреции во внеклеточное пространство.

Мы также обнаружили, что стабилин-1 перемещается между аппаратом Гольджи и эндосомами и взаимодействует с адаптором клатрина GAA (Kzhyshkowska J. et al., 2004). Для поиска внутриклеточного лиганда, который для сортировки может использовать рецептор стабилин-1, мы использовали двугибридный скрининг в дрожжевой системе и обнаружили, что именно SI-CLP является ли-

Рис. 6. Внутриклеточная сортировка SI-CLP в макрофагах человека.

Эндогенный SI-CLP детектировали посредством иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии и вестерн-блот-анализа с использованием крысиных моноклональных антител (клон IC11). Эндогенный стабилилин-1 детектировали с помощью кроличьего поликлонального антитела F4: *A* – белок SI-CLP характеризуется строгой колокализацией с Lamp1; *B* – SI-CLP характеризуется строгой колокализацией с CD63, маркером секреции лизосом; *C* – SI-CLP детектируется в p62lck-позитивных поздних эндосомах; *D* – SI-CLP частично колокализован со стабилином-1 в аппарате Гольджи, но отсутствует в стабилилин-1-позитивных поздних эндосомах; *E, F* – рекомбинантный SI-CLP, слитый с белком FLAG, располагающийся в глобулярных ядерных структурах стабильно трансфицированных клеток линии H1299. Транзиентная экспрессия стабилилина-1 выражалась в изменении локализации SI-CLP и его перемещении в цитоплазму. Стабилилин-1 и SI-CLP частично колокализированы с TGN46; *G* – M_{IL-4/Dex}, трансфицированные контрольной siRNA и siRNA стабилилина-1. Снижение сортировки в лизосомы и аномальная концентрация в краевых ядерных структурах были обнаружены в клетках, трансфицированных siRNA стабилилина-1; *H* – белковая экспрессия стабилилина-1 в M_{IL-4/Dex} выражено снижена под действием siRNA стабилилина-1. *G* – вестерн-блот-анализ экспрессии SI-CLP в долгоживущих культурах макрофагов. Детекция экспрессии SI-CLP в культуральной среде на 8-й и 21-й день после стимуляции культуры IL-4. Костимуляция с помощью дексаметазона выражается во внутриклеточном накоплении SI-CLP и блокировании его секреции (Kzhyshkowska J. et al.; Blood, 2006)

Рис. 7. Транспортные пути рецептора стабилина-1 и его лигандов. Стабилин-1 распознает внеклеточные лиганды SPARC (изображен в виде треугольников), плацентарный лактоген (изображен в виде кругов), а также вновь синтезированный внутриклеточный лиганд SI-CLP (изображен в виде капли). После связывания с экспрессируемым на поверхности клетки рецептором происходит интернализация лиганда и его доставка в ранние эндосомы (EE). Часть рецепторов, освободившихся от лиганда в эндосомах (RE), может вернуться обратно на поверхность клеточной мембраны. Стабилин-1 переносит SPARC и плацентарный лактоген в поздние эндосомы (LE), а затем в лизосомы (L) для их дальнейшей деградации. Некоторое количество плацентарного лактогена избегает деградации и доставляется стабилином-1 в аппарат Гольджи (TGN). В аппарате Гольджи комплекс плацентарного лактогена со стабилином-1 диссоциирует, далее плацентарный лактоген перемещается в специализированные везикулы для хранения (SV), из которых в дальнейшем может секретироваться во внеклеточное пространство. Стабилин-1 также вовлечен в процессы внутриклеточной сортировки, которые осуществляются между эндосомами и аппаратом Гольджи. Нами была предложена модель, в которой вновь синтезированный SI-CLP узнается стабилином-1 в отдаленных компартментах аппарата Гольджи и доставляется в поздние эндосомы. В поздних эндосомах SI-CLP покидает комплекс рецептор – лиганд и перемещается в лизосомы, где далее может подвергаться стимул-зависимой секреции (Kzhyshkowska J. et al.; Immunobiology, 2007b)

гандом для стабилина-1 (Kzhyshkowska J. et al., 2006b). Биохимический анализ показал, что SI-CLP взаимодействует с Fas-cyclin 7-доменом (F7) рецептора стабилина-1, который может экспонироваться во внеклеточное пространство или внутрь везикул. Исследование внутриклеточной локализации на культуре первичных макрофагов выявило, что SI-CLP может узнаваться стабилином-1 в аппарате Гольджи и доставляться в поздние эндосомы и, следовательно, в Lamp1- и CD63-позитивные лизосомы (см. рис. 5). Дополнительное подтверждение того, что стабиллин-1 обеспечивает внутриклеточную сортировку SI-CLP, было получено нами на клеточной модели. Линия клеток H1299, которая не экспрессирует эндогенные SI-CLP и стабиллин-1, была стабильно трансфецирована экспрессионным вектором SI-CLP-FLAG. Оверэкспрессированный рекомбинантный SI-CLP перемещался в ядро и депонировался в глобулярных структурах. Транзиентная экспрессия стабилина-1 выражалась в изменении локализации SI-CLP и его перемещении в цитоплазму (см. рис. 5). Окончательное подтверждение того факта, что стабиллин-1 вовлечен в сортировку SI-CLP, было получено с использованием блокирования его экспрессии в культуре первичных макрофагов человека посредством siRNA. Дифференцированные в присутствии IL-4 и дексаметазона макрофаги подвергали воздействию siRNA, снижающей экспрессию стабилина-1. При этом наблюдалось снижение способности рецептора направлять SI-CLP в лизосомы. Используя долгоживущие культуры макрофагов, мы показали, что SI-CLP может высвобождаться в культуральную среду, при этом присутствие дексаметазона блокирует этот процесс (рис. 6) (Kzhyshkowska J. et al., 2006b).

Много вопросов, касающихся роли стабилина-1 во внутриклеточном транспорте ХПБ, остаются неясными. До сих пор неизвестно, может ли стабиллин-1 переносить в лизосомы не только SI-CLP, но и другие ХПБ, а также какие другие внутриклеточные рецепторы могут взаимодействовать со стабилином-1 во время этого процесса. Еще одним интересным вопросом является, как способность стабилина-1 к эндоцитозу и внутриклеточной сортировке взаимосвязана с другими его эффектами внутри макрофагов. Другими словами, как стабиллин-1-опосредованный эндоцитоз acLDL и SPARC будет влиять на доставку вновь синтезированного SI-CLP из белок-синтезирующей системы к секреторным лизосомам. Транспорт стабилина-1 схематично представлен на рис. 7.

Синтез, созревание и внутриклеточная сортировка хитотриозидазы человека были детально изучены на первичных культурах макрофагов, полученных из моноцитов периферической крови посредством их культивирования в отсутствие цитокинов Th1 и Th2 (Renkema G.H. et al., 1997). Использование методов иммуноэлектронной микроскопии и субклеточного фракционирования показали, что хитотриозидаза переносится в лизосомы. Хитотриозидаза детектируется в лизосомальных везикулах наряду с катепсином D, активность хитотриозидазы обнаружена в позитивной фракции лизосомального фермента β -гексозаминидазы. Было показано, что хитотриозидаза синтезируется как белок с молекулярной массой 50 кДа с последующим созреванием в форму с молекулярной массой 39 кДа. Эта изоформа была обнаружена преимущественно в плотной фракции зрелых лизосом, тогда как изоформа с массой 50 кДа детектировалась во фракции низкой плотности, которая, по нашему мнению, содержит прелизосомальные везикулы. В кровотоке, в основном, регистрируется изоформа массой 50 кДа, в то время как изоформа 30 кДа обнаруживается в тканях (Renkema G.H. et al., 1997). Учитывая этот факт, можно предположить, что изоформа 50 кДа в процессе сортировки направляется в специализированную субпопуляцию лизосом, предназначенных для секреции. В настоящее время неизвестно, какие внутриклеточные рецепторы могут участвовать в процессе подобной сортировки. Моноциты периферической крови, прошедшие дифференцировку в макрофаги, обладают способностью секретировать в культуральную среду – как хитотриозидазу, так и YKL-40 (Renkema G.H. et al., 1998). Однако до настоящего времени не установлено, попадает ли YKL-40 в процессе сортировки в те же везикулы макрофагов, что и хитотриозидаза.

Известно, что в нейтрофилах хитотриозидаза и YKL-40 сортируются в специальные гранулы (Volck B. et al., 1998; Nordenbaek C. et al., 1999; van Eijk M. et al., 2005). Индукция лизосомальной секреции в полиморфно-ядерных нейтрофилах демонстрирует, что хитотриозидаза не попадает в лизосомоподобные азурофильные гранулы. Двойное окрашивание иммунозолотом показало, что хитотриозидаза детектируется в специализированных лактоферринсодержащих гранулах полиморфно-ядерных нейтрофилов (van Eijk M. et al., 2005). Аналогично и для YKL-40 при субклеточном субфракционировании на стимулированных и нестимулированных нейтрофилах

было установлено, что этот белок колокализован с лактоферрином, но не с желатиназой (Volck B. et al., 1998). Иммуноэлектронная микроскопия с двойным окрашиванием подтвердила колокализацию YKL-40 и лактоферрина в специфических гранулах нейтрофилов. Предполагается, что высвобожденный нейтрофилами YKL-40 при ревматоидном артрите действует как аутоантиген. Более того, высвобождение YKL-40 из специфических гранул нейтрофилов предположительно может приводить к посттрансфузионным осложнениям, которые могут быть предотвращены посредством фильтрации цельной крови с целью удаления лейкоцитов (Cintin C. et al., 2001). Вопрос, ответ на который можно получить экспериментально: секретируются ли хитотриозидаза и YKL-40 одновременно одними и теми же полиморфно-ядерными нейтрофилами и какие биологические эффекты можно регулировать с помощью комбинированного действия этих двух белков?

Имеющиеся представления о внутриклеточной локализации и регуляции хитиназы и ХПБ еще далеки от законченности. Особенно важными являются вопросы, помещаются ли эти белки во время сортировки в какие-то специфические лизосомы макрофагов и какие внутриклеточные рецепторы определяют столь специфическую сортировку вновь синтезированных ХПБ. Механизмы секреции ХПБ клетками немиелоидного происхождения, такими как фибробласты, эпителиальные и опухолевые клетки, будут детально изучены в дальнейшем.

4.3.4. Биологические эффекты YKL-39, YKL-40 и YM1/2

Биологическая активность двух ХПБ человека, а именно YKL-40 и YKL-39, была изучена экспериментально и суммирована в данном разделе. Несмотря на отсутствие аналогов у человека, белки грызунов YM1/2 также характеризуются рядом выраженных биологических эффектов. К тому же сходство доменной структуры, профиль экспрессии и биохимические параметры предполагают, что SL-CLP может быть функциональным гомологом белка YM1. Таким образом, данные о функции белков YM1/2 также включены в этот раздел.

YKL-40

Биологические функции YKL-40 включают в себя регулирование пролиферации клеток, адгезии, миграции и активации различных типов клеток. YKL-40 в наномолярных концентрациях стимулирует клеточный рост синовиальных клеток, хондроцитов, клеток кожи и фетальных фибробластов легких. Пролиферативный эффект YKL-40 усиливается в присутствии инсулиноподобного фактора роста-1 (Recklies A.D. et al., 2002). Митогенный ответ на действие YKL-40 зависит от активности митоген-активируемой (MAP) киназы и протеинкиназы B/Akt. В то же время YKL-40 способен подавлять секрецию TNF α , IL-1-индуцированных матричных металлопротеаз и IL-8 в фибробластах кожи и суставных хондроцитов. Таким образом, YKL-40 стимулирует пролиферацию и ингибирует катаболические реакции и процессы деградации во время воспалительного ответа соединительных тканей (Ling H., Recklies A.D., 2004). Cg-Clp1, консервативный гомолог YKL-40 моллюсков, стимулирует пролиферацию и регулирует синтез компонентов внеклеточного матрикса в суставных хондроцитах кролика (Badaritti F. et al., 2006). Было показано, что гомолог YKL-40 в организме свиньи – gp38k (CH3L1) стимулирует миграцию некоторых клеток, например гладкомышечных клеток сосудов, но не фибробластов. Кроме того, gp38k способствует прикреплению и распространению гладкомышечных клеток (Nishikawa K.C., Millis A.J., 2003). Было обнаружено, что существует 3 изоформы YKL-40: мажорная и минорная форма детектировались в резорбированном хряще, в то время как третья изоформа обнаруживалась только в хондроцитах (Bigg H.F. et al., 2006). Проведение аффинной хроматографии с очищенным препаратом YKL-40 продемонстрировало возможность специфического связывания с коллагеном I, II и III. Изоформа YKL-40, полученная из хондроцитов, обладала способностью предотвращать расщепление коллагена I типа и увеличивать скорость образования фибрилл коллагена I типа. В противоположность этому мажорная форма YKL-40 оказывает ингибирующий эффект на фибрилlogenез коллагена I типа. Столь разнонаправленные биологические эффекты различных изоформ YKL-40 показывают, что характер экспрессии специфических изоформ должен быть принят во внимание при проведении эпидемиологических и функциональных исследований.

Способность YKL-40 регулировать пролиферацию клеток, адгезию, миграцию и активацию, а также регулирование состава внеклеточного матрикса, коррелирует с повышенным уровнем экспрессии YKL-40 в участках хронического воспаления и замещения соединительной тканью. Интересным является вопрос, могут ли макрофаги, активированные различными стимулами, экспрессировать различные изоформы YKL-40 и каков вклад каждой из секретируемых изоформ в формирование различных патологических состояний.

YKL-39

Известно, что два биологических эффекта YKL-39 оказывают влияние на прогрессию заболевания, один из которых – индукция аутоиммунного ответа (Sekine T. et al., 2001; Tsuruha J. et al., 2002; Du H. et al., 2005), а другой – участие в ремоделировании тканей. Иммунизация очищенным препаратом YKL-39 вызывает развитие артрита у различных линий мышей (Sakata M. et al., 2002). Гистологическое исследование тканей демонстрирует синовиальную пролиферацию и неравномерность поверхности хряща у мышей линии BALB/c. После введения YKL-39 регистрируется появление не только анти-YKL-39-антител, но и антител против коллагена II типа, что говорит о распространении аутоиммунных реакций (Sakata M. et al., 2002), тогда как участие YKL-39 в индукции аутоиммунного ответа подтверждается с использованием экспериментальных моделей. Предположение о его функции в ремоделировании ткани выдвигается на основании высокой экспрессии в культурах хондроцитов и высокой структурной гомологии с YKL-40, который обладает доказанной способностью индуцировать клеточную пролиферацию и миграцию. Таким образом, биологическая активность YKL-39 нуждается в дальнейшем исследовании в условиях *in vitro* и *in vivo*.

YM1 (ECF-L) и YM2

Экспрессия YM1, подобно AMCase и SI-CLP, повышена при иммунологических реакциях, протекающих по Th-2 типу. YM2 является очень близким гомологом YM1, его экспрессия зависит от активации IL-4 и IL-13 сигнальной трансдукции (Webb D.C. et al., 2001). YM1/2, в основном, связаны с двумя патологическими процессами: паразитарные инфекции и заболевания легочной системы. На экспериментальной мышинной модели трипаносомоза было показано, что YM1 экспрессируется на поздних стадиях заболевания и осуществляет конверсию активации макрофагов по классическому

пути в сторону альтернативной (Raes G. et al., 2002). Повышенная экспрессия YM1 характерна для всех нематодных инфекций, а также, наряду с увеличением экспрессии AMCse, наблюдается при легочных инфекциях у мышей, вызванных *N. brasiliensis* (Nair M.G. et al., 2005). Во время аллергического перитонита макрофаги секретируют YM1 под действием IL-4 и STAT6 (Welch J.S. et al., 2002). Экспрессия YM2 выражено повышена в ткани легких мышей линии BALB/c при аллергическом воспалении дыхательных путей в ответ на воздействие овальбумина (экспериментальная модель астмы на животных), при этом оверэкспрессия YM2 зависит от CD4+ Т-клеток и активации сигнальных путей IL-4 и IL-13 через IL-4R α субъединицу (Webb D.C. et al., 2001). Кроме того, полиморфные варианты гена 4R α коррелируют с экспрессией YM2, также как и с гиперчувствительностью дыхательных путей и эозинофилией (Webb D.C. et al., 2001).

Повышенная экспрессия YM1 и YM2 была обнаружена при изучении мышинной модели пролиферативного дерматита, которая характеризуется значительным накоплением эозинофилов (Hogenesch H. et al., 2006). YM1 кристаллизуется в легких иммунодефицитных мышей, которые характеризуются гиперреактивностью альвеолярных макрофагов и последующим формированием внутрилегочных кристаллов Шарко–Лейдена (Guo L. et al., 2000). Кристаллы YM1 также были найдены в участках хронического воспаления легких в мышинной модели хронического гранулематоза (Harbord M. et al., 2002) и в клетках бронхоальвеолярного лаважа мышей, нокаутных по гену ABCG1 (АТФ-зависимый транспортер), характеризующихся прогрессирующим и хроническим воспалением легких, сопровождающимся липидозом и повышением количества пенистых макрофагов и лейкоцитов в смывах бронхоальвеолярного лаважа (Baldan A. et al., 2008). Эти данные свидетельствуют о том, что в нагруженных холестерином макрофагах (пенистых клетках) индуцируется синтез YM1/2.

YM1 (также обозначаемый как ECF-L – Eosinophil chemotactic factor-L), полученный из супернатанта культуры спленоцитов мышей C57BL6, обладает активностью в отношении хемотаксиса эозинофилов, Т-лимфоцитов и полиморфно-ядерных лейкоцитов в экспериментах *in vitro* и стимулирует селективную экстравазацию эозинофилов в условиях *in vivo* (Owhashi M. et al., 2000). Индукция экс-

прессии YM-1 (ECF-L) в альвеолярных макрофагах в мышинной модели гиперчувствительности дыхательных путей регистрируется вскоре после воздействия аллергена, но до начала непосредственного воспаления дыхательных путей (Iwashita H. et al., 2006). Тот факт, что интратрахеальное введение экспрессионного аденовирусного вектора, содержащего антисмысловую вставку гена YM-1, приводит к супрессии эозинофильной инфильтрации и гиперчувствительности дыхательных путей, и указывает на то, что биологическая активность YM-1 оказывает критическое воздействие на патогенез воспаления аллергического генеза и бронхиальной астмы.

В дополнение к хемотаксической способности по отношению к клеткам иммунной системы YM-1 (ECF-L) действует и как остеокласт-стимулирующий фактор (Oba Y. et al., 2003). Было показано, что YM-1 (ECF-L) действует как мощный медиатор образования остеокластов, который потенцирует эффект RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) посредством стимуляции экспрессии ICAM-1 и LFA-1 (Garcia-Palacios V. et al., 2007; Garcia-Palacios V. et al., 2006). Таким образом, белок YM1 участвует в аллергических реакциях Th-2 типа, а также действует как фактор клеточной дифференцировки.

4.4. Хитиназоподобные белки как биомаркеры воспаления: связь с различными патологическими процессами

Хитиназы и ХПБ млекопитающих секретируются во внеклеточное пространство и могут детектироваться в различных тканях и кровотоке. Они регулируют множество различных физиологических и иммунологических процессов. Накопленные данные указывают на связь их биологической активности с различными заболеваниями человека.

YKL-40

YKL-40, также именуемый HC gp-39 (human cartilage glycoprotein-39) и CHI3L1 (Chitinase-3-like-1), – наиболее изученный ХПБ человека в связи с его ролью в патогенезе различных заболеваний. Сравнительно недавно было опубликовано несколько обширных обзоров, описывающих характер экспрессии YKL-40 при различных заболеваниях, а также методы его детекции и возможности исполь-

зования YKL-40 в качестве потенциальных диагностических и прогностических маркеров (Johansen J.S. et al., 2006; Rathcke C.N., Vestergaard H., 2006b; Johansen J.S. et al., 2007). В данном параграфе мы приводим основные патологии, характеризующиеся повышением экспрессии YKL-40.

Циркулирующий в сыворотке белок YKL-40 может детектироваться неинвазивным методом с использованием радиоиммунного анализа (Johansen J.S. et al., 1993; Johansen J.S. et al., 2006), а также коммерчески доступных антител (Quidel, Santa Clara, C.A.) методом ИФА (Harvey S. et al., 1998). Повышенные концентрации YKL-40 регистрируются не только в очагах воспаления, но также и в сыворотке больных ревматоидным артритом. Исследование независимых групп больных продемонстрировало, что повышение содержания YKL-40 в сыворотке отражает выраженность воспалительного процесса в синовиальной оболочке и разрушение сустава у больных ревматоидным артритом и остеоартритом (Johansen J.S. et al., 1999; Johansen J.S. et al., 2001; Matsumoto T., Tsurumoto T., 2001; Peltomaa R. et al., 2001; Conrozier T. et al., 2000). Повышенная экспрессия YKL-40 в сыворотке также является маркером вовлечения в патологический процесс суставов при воспалительных заболеваниях кишечника, которым часто сопутствуют ревматические симптомы (Bernardi D. et al., 2003; Vind I. et al., 2003). Содержание в плазме YKL-40, также как и высокочувствительного С-ре-активного белка, связано с резистентностью к инсулину больных сахарным диабетом 2-го типа (Rathcke C.N. et al., 2006a). Было обнаружено, что уровни YKL-40 и высокочувствительного С-реак-тивного белка в плазме связаны с инсулиновой резистентностью у пациентов со 2-м типом сахарного диабета (Rathcke C.N. et al., 2006a). Таким образом, YKL-40 может быть использован в качестве независимого маркера воспаления и атеросклеротического процесса у больных сахарным диабетом 2-го типа (Rathcke C.N., Vestergaard H., 2006b; Rathcke C.N. et al., 2006a).

Также была обнаружена ассоциация экспрессии YKL-40 с заболеваниями легких, в частности, с легочным саркоидозом (Johansen J.S. et al., 2005b) и астмой (Chupp G.L. et al., 2007). Показано, что и макрофаги, и гигантские клетки саркоидной гранулемы легких экспрессируют YKL-40, а его содержание в сыворотке отражает степень активности саркоидного воспаления и протекающих

фиброзных изменений (Johansen J.S. et al., 2005b). Было обнаружено, что сывороточный уровень YKL-40 положительно коррелирует с тяжестью течения астмы, в частности, с частотой использования ингалятора, перорального применения глюкокортикоидов и госпитализации (Chupp G.L. et al., 2007). Повышенный уровень YKL-40 в ткани легкого коррелирует с его содержанием в кровотоке. В биопсийном материале, полученном из бронхов больных астмой, повышенная экспрессия YKL-40 детектируется в субэпителиальных клетках, а также в макрофагах и нейтрофилах бронхоальвеолярного лаважа (Chupp G.L. et al., 2007). Полногеномный поиск ассоциаций однонуклеотидных замен YKL-40 с бронхиальной астмой показал, что *CH13L1* (ген, кодирующий белок YKL-40) отвечает за восприимчивость индивидуума к терапии астмы, гиперчувствительность бронхов и снижение функции легких (Ober C. et al., 2008). Экспрессия YKL-40 в сыворотке и спинальной жидкости также повышается при патоген-индуцированном воспалении, включая гнойный менингит, пневмонию и эндотоксемию, вызванную действием эндотоксина *E. coli* (Ostergaard C. et al., 2002; Nordenbaek C. et al., 1999; Kronborg G. et al., 2002; Johansen J.S. et al., 2005a). В случае пневмонии и менингита YKL-40 секретируется локально активированными макрофагами (Ostergaard C. et al., 2002) и нейтрофилами (Nordenbaek C. et al., 1999). Было предложено использовать YKL-40 в качестве специфического дополнительного серологического маркера активации гранулоцитов и макрофагов в воспаленных тканях (Rathcke C.N., Vestergaard H., 2006b).

Увеличение экспрессии YKL-40 также является показателем патологических процессов в печени. YKL-40 характеризуется гиперэкспрессией при циррозе печени, возникающем на конечной стадии вирусного гепатита С (HCV) (Shackel N.A. et al., 2003). Сывороточный уровень YKL-40 коррелирует с экспрессией мРНК в печени (Kamal S.M. et al., 2006). Было предложено использовать этот показатель как информативный неинвазивный маркер для оценки выраженности фиброза, а также эффективности терапии у больных с поражениями печени, вызванными вирусом гепатита С (Saitou Y. et al., 2005). Повышенный уровень YKL-40 в плазме было также предложено использовать для оценки степени развития фиброза печени у больных с алкогольной зависимостью (Tran A. et al., 2000).

Повышение уровня YKL-40 в кровотоке было обнаружено в ряде солидных опухолей, включая рак молочной железы, колоректальный рак, рак яичников, рак глиобластомы, метастатический рак почек и предстательной железы и злокачественную меланому (Johansen J.S. et al., 2006). Повышенный сывороточный уровень YKL-40 указывает на плохой прогноз и прогрессирование метастатического процесса. Например, повышенная концентрация в плазме YKL-40 связана с плохим прогнозом и низкой выживаемостью больных раком яичников (Hogdall E.V. et al., 2003), колоректальным раком (Cintin C. et al., 2002), метастатическим раком простаты (Brasso K. et al., 2006) и меланомой (Schmidt H. et al., 2006a; Schmidt H. et al., 2006b). Экспрессия YKL-40 характерна для глиобластомы – чрезвычайно злокачественной глиомы, характеризующейся высокоинвазивным фенотипом (Colin C. et al., 2006). Исследование, направленное на изучение эффективности противоопухолевой терапии ингибиторами VEGF, показало, что клетки глиомы человека, трансфицированные siRNA против гена VEGF-A и затем имплантированные в хориоаллантоисную мембрану кур, экспрессируют YKL-40 (CHI3L1) и YKL-39 (CHI3L2). Авторы работы пришли к выводу, что YKL-40 может применяться в качестве нового прогностического маркера, а также может оказаться потенциальной терапевтической мишенью для лечения глиобластомы (Saidi A. et al., 2008). C.S. Diefenbach et al. (2006) было показано, что определение экспрессии YKL-40 может также использоваться для диагностики рака эндометрия. Однако повышение экспрессии YKL-40 в сыворотке при различных солидных опухолях не обладает специфичностью для определения локализации процесса, а следовательно, определение экспрессии YKL-40 не может использоваться как единственный маркер для диагностики злокачественных новообразований (Johansen J.S. et al., 2006; Kzhyshkowska J. et al., 2007a). Кроме того, нет никакой прямой корреляции между сывороточным уровнем YKL-40 и известными специфическими антигенами простаты (Brass K. et al., 2006). Из шести необходимых критериев опухолевого маркера по Hayes («tumor marker utility system») (Hayes D.F. et al., 1996; Hayes D.F., 1998) YKL-40 отвечает требованиям только по трем пунктам и, следовательно, требует дальнейшего изучения (Johansen J.S. et al., 2006). Было высказано предположение, что дифференциальные уровни YKL-40 отражают разницу в биологии раковых клеток, которые секретируют

YKL-40 или не способны к его продукции. Так, было показано, что макрофаги, расположенные перитуморально, являются основным источником YKL-40 в сыворотке больных мелкоклеточным раком легкого (Junker N. et al., 2005). Следует принимать во внимание, что многие солидные опухоли состоят не только из опухолевых клеток, но также из стромальных компонентов и клеток иммунной системы, где опухолеассоциированные макрофаги могут быть преобладающими клеточными элементами. Так как макрофаги являются одним из основных источников YKL-40, различные уровни экспрессии YKL-40 в кровотоке онкологических больных могут отражать степени активности и вектор поляризации опухолеассоциированных макрофагов.

YKL-39

Белок YKL-39 был идентифицирован как белок, секретирующийся в большом количестве в супернатант первичной культуры хондроцитов человека (Hu B. et al., 1996). YKL-39 составляет всего 4 % от общего белка, секретируемого культурой хондроцитов, в то время как YKL-40 – 33 %. Несмотря на высокую степень гомологии между белками YKL-39 и YKL-40, разработанный метод детекции YKL-40 на основе радиоиммунного анализа характеризуется высокой специфичностью и не позволяет детектировать YKL-39 в культуральной среде (Hu B. et al., 1996). В настоящее время считается, что YKL-39 является более точным биохимическим маркером активации хондроцитов и прогрессии остеоартрита, чем YKL-40 (Knorr T. et al., 2003).

Сравнение экспрессии YKL-39 и YKL-40 в ткани хряща, пораженного остеоартритом, показал, что экспрессия YKL-39 значительно повышена в группе больных по сравнению с контрольной группой здоровых. При этом повышение уровня YKL-39 коррелирует с увеличением содержания коллагена II, в то время как экспрессия YKL-40 в пораженном хряще не изменяется (Steck E. et al., 2002). Другое исследование демонстрирует, что в нормальной хрящевой ткани обнаруживается экспрессия YKL-39 и YKL-40. При этом если экспрессия YKL-39 повышена как при раннем дегенеративном процессе, так и на поздних этапах остеоартрита, то в случае YKL-40 наблюдается снижение экспрессии при прогрессировании процесса (Knorr T. et al., 2003). Проведенное F. De Ceuninck et al. (2005) протеомное исследование выявило содержание YKL-39, но не YKL-40 в

супернатанте культуры хрящевой ткани человека, пораженной остеоартритом. Однако более раннее исследование J.S. Johansen et al. показало, что изолированные хондроциты способны к спонтанному высвобождению вновь синтезированного YKL-40. Более того, присутствие IL-1 β и TGF β способно снижать продукцию YKL-40 хондроцитами. Способность к спонтанному высвобождению YKL-40 хондроцитами в культуральную жидкость, вероятно, является ответом на изменение состава внеклеточного матрикса (Johansen J.S. et al., 2001). Особенности экспрессии YKL-40 в хондроцитах в системе *in vivo* были получены группой авторов под руководством B. Volck. Проведенное иммуногистохимическое исследование показало, что в синовиальной оболочке локализация YKL-40 детектируется в выстилающих и стромальных клетках (макрофагах), тогда как в хряще, поврежденном артритом, экспрессия YKL-40 определяется в хондроцитах (Volck B. et al., 2001). Таким образом, повышенное содержание YKL-40 в синовиальной жидкости больных артритом является результатом повышенной продукции YKL-40 синовиальными клетками, макрофагами и/или хондроцитами. Наше исследование показало, что YKL-39 может продуцироваться макрофагами, полученными из периферической крови под действием цитокина IL-4 и многофункционального регулятора клеточной дифференцировки и тканевого ремоделирования TGF β (Gratchev A. et al., 2008a). Таким образом, уровень YKL-39 в кровотоке будет отражать не только активность хондроцитов, но и поляризацию макрофагов, которые обильно инфильтрируют очаги воспаления.

Функциональные исследования на животных моделях показали, что YKL-39 может выступать в роли индуктора аутоиммунного процесса в патогенезе артрита (Sakata M. et al., 2002). Соответственно антитела YKL-39 могут детектироваться в сыворотке больных ревматоидным артритом и остеоартритом методами ИФА и вестерн-блот-анализа (Sekine T. et al., 2001; Du H. et al., 2005; Tsuruha J. et al., 2002). Появление аутоантител к YKL-39 регистрируется у 8–11,8 % (Sekine T. et al., 2001; Tsuruha J. et al., 2002) больных ревматоидным артритом и у 11,1 % (Tsuruha J. et al., 2002) больных остеоартритом, в то время как аутоантитела к YKL-40 детектируются лишь у 1 % больных ревматоидным артритом (Sekine T. et al., 2001). Иммунный ответ на YKL-39 развивается независимо от YKL-40. У пациентов с остеоартритом появление аутоантител к YKL-39 и другим аутоанти-

генам на ранних стадиях заболевания указывает на то, что аутоиммунный ответ происходит во время начальной фазы дегенерации хряща (Du H et al., 2005).

SI-CLP

SI-CLP был обнаружен как лиганд, взаимодействующий с многофункциональным рецептором стабилин-1, который специфически экспрессируется на субпопуляциях тканевых макрофагов и эндотелиальных клетках синусоидов печени, селезенки, лимфатических узлов и костного мозга (Kzhyshkowska J. et al., 2006a; Martens J.H. et al., 2006). Наряду со стабилином-1 экспрессия SI-CLP в макрофагах выражено повышается под действием ИЛ-4 и дексаметазона. Нами получено мышинное моноклональное антитело 1C11, распознающее N-терминальный конец SI-CLP. Антигенный эпитоп расположен выше консервативного Glyco_18-домена и не имеет сходства с последовательностями других Glyco_18-доменсодержащих белков, т.е. специфичен для SI-CLP. Использование нового антитела 1C11 позволило выявить, что совместное применение ИЛ-4 и дексаметазона увеличивает белковую экспрессию SI-CLP в макрофагах, при этом степень увеличения варьирует у разных доноров. Моноклональное антитело 1C11 способно распознавать SI-CLP и в клетках бронхоальвеолярного лаважа, полученного от больных хроническими респираторными заболеваниями, и в лейкоцитах периферической крови от этих же больных, а также в образцах здоровых доноров (см. рис. 4). Таким образом, антитело 1C11 может применяться в дальнейшем для исследования ассоциации экспрессии SI-CLP с различными заболеваниями.

SI-CLP является единственным ХПБ, экспрессия которого повышается под действием глюкокортикоидов (Kzhyshkowska J. et al., 2006b). Примечательно, что наивысшая экспрессия SI-CLP была обнаружена нами в клиническом материале больного саркоидозом, получающего глюкокортикоидную терапию. Мы наблюдали сильные различия в отношении стимуляции экспрессии SI-CLP под действием дексаметазона в макрофагах, полученных от разных здоровых доноров. Эти факты указывают на то, что SI-CLP является перспективным маркером для оценки индивидуального ответа на лечение глюкокортикоидами и прогнозирования побочных эффектов лечения.

Таким образом, хитиназоподобные лектины человека YKL-40, YKL-39 и SI-CLP образуют новый класс внеклеточных медиаторов, которые сочетают в себе свойства цитокинов и факторов роста. Много вопросов касательно хитиназоподобных лектинов остаются неясными: каковы внутриклеточные механизмы сортировки, ответственные за их селективное распределение по различным секреторным путям; могут ли эти белки действовать сообща с точки зрения их биологической активности или они являются антагонистами друг друга; какие биологические эффекты вызывают ХПБ в клетках различных типов, в том числе в нейронах, клетках врожденного и адаптивного иммунитета. Для ответа на последний вопрос основной экспериментальной задачей является выявление специфических рецепторов, которые распознают хитиназоподобные лектины. Благодаря высокой значимости ХПБ в качестве биомаркеров различных патологий получение ответов на вышеуказанные вопросы обеспечит понимание молекулярных и клеточных механизмов таких угрожающих жизни заболеваний, как рак, атеросклероз и астма. ХПБ экспрессируются различными типами клеток, однако одним из основных клеточных типов, которые продуцируют ХПБ при патологии, являются макрофаги и нейтрофилы. Таким образом, повышение уровня ХПБ в тканях и кровотоке является ценным диагностическим критерием для мониторинга разных типов активации иммунной системы во время различных заболеваний.

4.5. Анализ экспрессии рецептора CD68 и стабилина-1 в клетках воспалительного инфильтрата опухолей молочной железы во взаимосвязи с микроокружением

Как уже отмечалось выше, опухолеассоциированные макрофаги способствуют росту опухоли и метастазированию, в частности, в отношении рака молочной железы это показано на разных экспериментальных моделях (Lin E.Y. et al., 2006; Riabov V. et al., 2014; Iwata C. et al., 2007; Lin E.Y., Pollard J.W., 2007; Yeo E.J. et al., 2014). Однако есть сведения о гетерогенности популяции макрофагов и их различной функциональной роли в опухолевой прогрессии (Buddingh E.P. et al., 2011; Zhou Q. et al., 2010; Forssell J. et al., 2007; Ohri C.M. et al., 2009). В этой связи нами были изучены закономер-

ности распределения макрофагов, несущих разные маркеры, в различных участках микроокружения опухоли молочной железы человека и их связь с патогенетически значимыми признаками злокачественного процесса, характеризующими прогрессию.

Исследован операционный материал от 36 больных инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа стадии T1-3N0-3M0. Предоперационного лечения больные не получали. У всех обследованных лиц было получено добровольное информированное согласие на участие в настоящем исследовании в соответствии с требованиями локального комитета по биомедицинской этике Томского НИИ онкологии (протокол № 13 от 27.09.2014 г.). Материал фиксировался в 10–12 %-ном растворе нейтрального формалина. Проводка материала и изготовление гистологических препаратов осуществлялись по стандартной методике. Исследование выполнялось с применением светового микроскопа «CarlZeissAxio Lab.A1» (Германия) и гистосканера «MiraxMidiZeiss» (Германия). В препаратах первичной опухоли, окрашенных гематоксилином и эозином, определялся гистологический тип новообразования по классификации ВОЗ. В удаленных лимфоузлах оценивалось метастатическое поражение. Иммуногистохимическое исследование осуществлялось по стандартной методике. Применялись антитела фирмы «Novocastra» к CD68 (клон 514H12, рабочее разведение 1:80) и Stabilin-1 (клон RS1 (альфа-GSThStab1-CT), Rabbit, разведение 1:10 000). Определялось наличие цитоплазматической экспрессии указанных маркеров в клетках воспалительного инфильтрата в разных сегментах опухоли: 1) в участках с нежно-волокнуистой стромой; 2) в участках с грубоволокнуистой стромой; 3) в областях с так называемым «максимальным стромально-паренхиматозным взаимоотношением», где отдельные опухолевые клетки, короткие тяжи и группы опухолевых клеток располагались в нежно-волокнуистой строме; 4) среди паренхиматозных элементов; 5) в просветах протоковых опухолевых структур. В случаях с наличием позитивной экспрессии в каждом из перечисленных сегментов новообразования определялась выраженность экспрессии по 4-балльной системе: 1 балл (+) – 1–2 клетки в поле зрения; 2 балла (++) – 3–5 клеток в поле зрения; 3 балла (+++) – 6–10 клеток в поле зрения, 4 балла (+++++) – более 10 клеток в поле зрения (увеличение $\times 400$). Обработка полученных данных выполнялась с использованием пакета программ «Statistica 6.0 for Windows». Применялись дисперсионный анализ, критерий $\times 2$, корреляционный

Таблица 3. Клинико-патологическая характеристика больных раком молочной железы

Параметр	Абс (%)
Возраст (год)	60,8±11,3
Состояние менструальной функции	81
Локализация опухоли	
Наружные квадранты	56
Граница квадрантов	19
Внутренние квадранты	25
Экспрессия РЭ:	
позитивная	81
негативная	19
Экспрессия РП:	
позитивная	72
негативная	28
HER2 статус:	
позитивный	3
негативный	78
неопределенный	19
Ki-67:	
экспрессия ≥20%	20
экспрессия <20%	16
Стадия:	
I	64
II	25
III	11
IV	0
Размер опухоли (см):	
T1 (≤2)	33
T2 (2–5)	58
T3 (>5)	9
Состояние лимфатических узлов:	
N0	64
N1	25
N2	8
N3	3
Лимфогенные метастазы:	
есть	36
нет	64
Степень злокачественности:	
Low grade (I)	5
Grade II	81
High grade (III)	14

анализ по Спирмену. Обсуждались результаты с достоверностью различий при $p < 0,05$ и с тенденцией к различиям при $p < 0,1$.

Средний возраст больных раком молочной железы составил $60,8 \pm 11,3$ года. У 7 (19 %) пациенток менструальная функция была сохранена, у 29 (81 %) определялась менопауза. Во всех случаях гистологическая форма опухоли соответствовала инвазивной карциноме неспецифического типа (табл. 3).

Таблица 4. Экспрессия CD68 в клетках воспалительного инфильтрата стромы опухоли у больных с инвазивной карциномой молочной железы

Локализация экспрессии	Экспрессия CD68. Количество пациентов, абс. ч. (%)					
	No		1 балл	2 балла	3 балла	4 балла
Нежно-волокнистая строма	1	4/35 (11 %)	1/35 (3 %)	8/35 (23 %)	3/35 (9 %)	19/35 (54 %) $p_2=0,0001$ $p_4=0,0000$ $p_5=0,0002$
Грубоволокнистая строма	2	6/31 (19 %)	7/31 (23 %) $p_1=0,008$ $p_5=0,06$	12/31 (39 %)	3/31 (9,5 %)	3/31 (9,5 %)
«Максимальное стромально-паренхиматозное взаимоотношение»	3	1/14 (7 %)	–	1/14 (7 %)	1/14 (7 %)	11/14 (79 %) $p_2=0,0000$ $p_4=0,0000$ $p_5=0,0000$
Между клетками паренхимы опухоли	4	32/36 (88 %) $p_1=0,0000$ $p_2=0,0000$ $p_3=0,0000$	–	1/36 (3 %)	1/36 (3 %)	2/36 (6 %)
Просветы протоковоподобных опухолевых структур	5	22/34 (65%)	3/34 (9 %)	5/34 (14 %)	–	4/34 (12 %)

Молекула CD68 играет роль в фагоцитарной активности тканевых макрофагов как во внутриклеточном лизосомальном метаболизме, так и во внеклеточных взаимодействиях клетка–клетка и клетка–патоген. CD68 связывается с лектинами и селектинами, что

позволяет макрофагу заякориваться в определённом участке ткани. Стабилилин-1 экспрессируется на альтернативно активированных макрофагах M2, осуществляет клиренс, участвует в ангиогенезе, хоминге лимфоцитов, адгезии.

Хитиназоподобные белки YKL-39, YKL-40, SI-CLP, как уже указывалось выше, содержат Glyco_18-домен и не обладают ферментативной активностью, выступают в качестве маркеров хронического воспаления и связанных с ним патологических процессов.

Маркер CD68 является специфичным для макрофагальных клеток (моноцитов крови и тканевых макрофагов). Анализ экспрессии CD68 в клетках воспалительного инфильтрата в разных сегментах опухоли у больных раком молочной железы показал, что наиболее выраженная экспрессия, соответствующая 4 баллам, или (++++), чаще выявлялась в участках с нежно-волоконистой стромой (54 %) или с так называемым «максимальным стромально-паренхима-тозным взаимодействием» (79 %). Наименее выраженная экспрессия, соответствующая 1 баллу, или (+), чаще наблюдалась в областях с грубоволоконистой стромой (23 %). Отсутствовали CD68-позитивные клетки воспалительного инфильтрата чаще между паренхиматозными элементами опухоли (88 %) (табл. 4).

Наиболее выраженная экспрессия стабилина-1, соответствующая 4 баллам, чаще наблюдалась в участках опухоли с нежно-волоконистой стромой (44 %). Отсутствие экспрессии RS1 в клетках воспалительного инфильтрата чаще наблюдалось в сегментах с грубоволоконистой стромой (63 %), между элементами паренхиматозных структур новообразования (91 %) и в просветах тубулярных опухолевых структур (90 %) (табл. 5).

Оказалось, что между размером новообразования и выраженностью экспрессии CD68 в клетках воспалительного инфильтрата, располагающихся в просвете протокоподобных опухолевых структур, существует обратная корреляция ($R=-0,67$; $p=0,02$). Экспрессия CD68 в клетках воспалительного инфильтрата, находящихся в других участках опухоли, равно как и экспрессия стабилина-1, не была связана с размером новообразования (табл. 6).

Таблица 5. Экспрессия стабилина-1 в клетках воспалительного инфильтрата стромы опухоли у больных инвазивной карциномой молочной железы неспецифического типа

Локализация экспрессии	Экспрессия стабилина-1, Количество пациентов, абс. ч. (%)					
	No	1 балл	2 баллов	3 баллов	4 баллов	
Нежно- волоконистая строма	1	13/35 (37 %)	2/35 (6 %)	8/35 (23 %)	5/35 (14 %)	7/35 (20 %)
Грубово- локнистая строма	2	20/31 (63 %) $p_1=0,01$	4/31 (13 %)	3/31 (9 %)	2/31 (6 %)	3/31 (9 %)
«Макси- мальное стромально- парен- химатозное взаимоот- ношение»	3	4/9 (44 %)	1/9 (12 %)	—	—	4/9 (44 %) $p_1=0,07$ $p_2=0,009$ $p_5=0,001$
Между клет- ками парен- химы опу- холи	4	33/36 (91 %) $p_1=0,0000$ $p_3=0,001$	2/36 (6 %)	1/36 (3%)	—	—
Просветы протоково- подобных опухо-левых структур	5	27/30 (90 %) $p_1=0,0000$ $p_3=0,002$	2/30 6,5 %)	—	—	1/30 (3,5 %)

Таблица 6. Корреляция экспрессии CD68 и стабилина-1 в клетках воспалительного инфильтрата стромы опухоли с размером новообразования у больных инвазивной карциномой молочной железы

Локализация экспрессии	Размер опухоли	
	CD68	Стабилин-1
Нежно-волокнистая строма	R=0,06; p=0,72 (n=29)	R=0,39; p=0,06 (n=22)
Грубоволокнистая строма	R=0,19; p=0,35 (n=24)	R=0,27; p=0,89 (n=12)
«Максимальное стромально-паренхиматозное взаимоотношение»	R=0,08; p=0,78 (n=12)	R=-0,35; p=-0,65 (n=5)
Между клетками паренхимы опухоли	R=-0,94; p=-4,24 (n=4)	R=0,86; p=1,73 (n=3)
Просветы протоковоподобных опухолевых структур	R=-0,67; p=0,02 (n=11)	R=0,5; p=0,58 (n=3)

Корреляции экспрессии CD68 и стабилина-1 в клетках воспалительного инфильтрата опухоли со степенью злокачественности новообразования обнаружено не было (табл. 7).

Таблица 7. Корреляция экспрессии CD68 и стабилина-1 в клетках воспалительного инфильтрата стромы опухоли со степенью злокачественности новообразования у больных инвазивной карциномой молочной железы

Локализация экспрессии	Степень злокачественности новообразования	
	CD68	Стабилин-1
Нежно-волокнистая строма	R=0,19; p=0,35 (n=25)	R=0,21; p=0,93 (n=20)
Грубоволокнистая строма	R=-0,20; p=0,86 (n=20)	R=-0,23; p=0,72 (n=11)
«Максимальное стромально-паренхиматозное взаимоотношение»	R=0,51; p=0,86 (n=4)	R=0,18; p=0,32 (n=5)
Между клетками паренхимы опухоли	R=0,54; p=0,92 (n=4)	R=-1,0 (n=3)
Просветы протоковоподобных опухолевых структур	R=0,55; p=1,90 (n=10)	R=1,0 (n=3)

Сопоставление экспрессии маркера CD68 в клетках воспалительного инфильтрата опухоли с наличием метастатического поражения регионарных лимфатических узлов показало, что в случаях с наличием лимфогенных метастазов средний балл экспрессии CD68 в клетках, располагающихся в просветах протоковых опухолевых

структур, был ниже ($1,4 \pm 0,5$) в сравнении со случаями с негативными лимфоузлами ($3,1 \pm 1,0$; $F=10,9$; $p=0,007$). В отношении экспрессии стабиллина-1 подобного рода закономерностей не обнаруживалось (табл. 8).

Таблица 8. Связь лимфогенного метастазирования с экспрессией CD68 и стабиллина-1 в клетках воспалительного инфильтрата стромы опухоли у больных инвазивной карциномой молочной железы

Локализация экспрессии	Средний показатель экспрессии CD68, $M \pm SD$		Средний показатель экспрессии стабиллина-1, $M \pm SD$	
	N0	N+	N0	N+
Нежно-волоконистая строма	$3,5 \pm 0,8$ (n=20)	$2,8 \pm 0,8$ (n=10) $F=3,7$; $p=0,06$	$2,7 \pm 1,1$ (n=16)	$3,0 \pm 0,8$ (n=6) $F=0,39$; $p=0,53$
Грубоволоконистая строма	$2,2 \pm 0,9$ (n=17)	$1,7 \pm 1,1$ (n=7) $F=1,4$; $p=0,24$	$2,2 \pm 1,2$ (n=9)	$2,7 \pm 1,5$ (n=3) $F=0,27$; $p=0,61$
«Максимальное стро-мально-паренхиматозное взаимоотношение»	$4,0 \pm 0,0$ (n=8)	$3,5 \pm 1,0$ (n=4) $F=2,2$; $p=0,16$	$3,4 \pm 1,3$ (n=5)	– (n=0)
Между клетками паренхимы опухоли	$3,3 \pm 1,1$ (n=3)	$3,0$ (n=1) $F=0,06$; $p=0,82$	$1,3 \pm 0,3$ (n=3)	– (n=0)
Просветы протоковоподобных опухолевых структур	$3,1 \pm 1,0$ (n=7)	$1,4 \pm 0,5$ (n=5) $F=10,9$; $p=0,007$	$2,5 \pm 2,1$ (n=2)	$1,0$ (n=1) $F=0,33$; $p=0,66$

Принципиальным отличием наших исследований является анализ опухолеассоциированных макрофагов в разных морфологических компартментах (сегментах), которые могут быть охарактеризованы с точки зрения функционирования паренхиматозных и стромальных элементов. Участки опухоли с нежно-волоконистой стромой характеризуются большим количеством клеток, экспрессирующих все изучаемые нами маркеры (CD68, SCLP, YKL39, RS1). В данных локусах опухоли воспалительная инфильтрация стромы, как правило, более выражена, строма имеет нежно-волоконистое ретикулярное строение, паренхима опухоли преобладает над стромой. В участках с нежно-волоконистой стромой формируются крупные по количеству клеток комплексы (солидные, альвеолярные структуры) (Zavjalova M. et al., 2013b). Такой тип стромы способствует инвазивному характеру роста клеток опухоли (Ham M., Moon A., 2013). Подобно-

го же рода характеристика вполне применима для участков опухоли с «максимальным стромально-паренхиматозным» взаимодействием, в которых короткие тяжи, мелкие ячейки, дискретные группы клеток находятся в нежно-волокнуистой ретикулярной строме. Из этого следует, что выраженность и состав макрофагального инфильтрата в строме в большей степени зависят не от варианта опухолевых (паренхиматозных) структур, а от типа соединительной ткани, составляющей строму опухоли.

Подобная зависимость вполне ожидаема, поскольку рыхлая неоформленная соединительная ткань опухолевой стромы в данном случае в наибольшей степени близка к физиологическому состоянию стромы паренхиматозных органов или участков репаративной регенерации. Именно в строме такого типа белки и гликозаминогликаны межклеточного матрикса в большей мере обладают способностью связывать цитокины, ростовые факторы и представлять их клеточным элементам стромы, обеспечивая, таким образом, оптимальное клеточно-стромальное взаимодействие и аккумуляцию макрофагов (Mahmoud S.M. et al., 2012).

Грубоволокнистая строма представлена коллагеновыми волокнами, нередко с явлениями в той или иной степени выраженного гиалиноза. Строма значительно преобладает над паренхимой опухоли. В грубоволокнистой строме преобладают группы опухолевых клеток и однородные тяжи (Buldakov M. et al., 2015).

В отличие от нежно-волокнуистой стромы грубоволокнистая строма в прогрессирующем порядке утрачивает нормальные функции из-за нарушения синтеза гликопротеинов и белков межклеточного матрикса. В подобного рода локусах опухоли уменьшается способность, вплоть до ее потери, представлять клеточным элементам молекулы, активирующие функции последних. Кроме того, в грубоволокнистой строме редуцируется сосудистая сеть, нарушается процесс экстравазации лейкоцитов, становится ограниченной способность движения лейкоцитов (Campbell M.J. et al., 2011; Eiro N. et al., 2012; Ruffell B. et al., 2012; Tang X., 2013).

В нежно-волокнуистой строме возможны лучшие условия для амебовидного и мезенхимального вариантов инвазивного роста (Zavyalova M.V. et al., 2013b). В грубоволокнистой строме возможен амебовидный вариант инвазии, а мезенхимальный будет ограничен способностью опухолевых клеток к синтезу протеолитических фер-

ментов. Влияние стромы на инвазивные свойства опухоли в значительной степени обусловлено вариантом активности клеточных элементов, инфильтрирующих строму.

Наличие макрофагов между клетками паренхиматозных структур объясняется физиологическим прототипом движения клеток воспалительного инфильтрата при развитии хронического воспаления, когда лейкоциты инфильтрируют паренхиму ткани, органа. В данном случае мы имеем дело только с массивом опухоли. Проникновение макрофагов при этом происходит благодаря механизму, подобному эмпириополезису или периполезису.

Отсутствие связи между количеством этих клеток и параметрами опухолевого роста можно объяснить, вероятно, мощным цитокиновым давлением опухолевых клеток. Присутствие отдельных макрофагов в этих сегментах может объясняться выраженной способностью клеток моноцитарного происхождения инфильтрировать участки с признаками хронического воспаления (Lofdahl B. et al., 2012).

Связь большого количества макрофагов в просветах опухолевых протоков с менее частым лимфогенным метастазированием обусловлена, по-видимому, тем, что это те макрофаги, которые обладают способностью проникать из стромы между опухолевыми клетками и затем попадать в просвет протоков, т.е. они полноценны в наличии локомоторных и инвазивных свойств. Протоки являются местом пролиферации атипичных или трансформированных эпителиальных клеток. То обстоятельство, что такая связь отмечается для общего пула макрофагов без признаков дифференцировки в М2-макрофаги, как это было показано при сочетанном использовании иммуногистохимического анализа и конфокальной микроскопии, отражает значимость наличия полноценного пула макрофагов, не имеющих признаков функциональных субтипов, в частности М2, в механизмах лимфогенного метастазирования. По-видимому, наличие такого пула «неспециализированных» макрофагов обеспечивает реализацию их пластических потенций для перехода в различные функциональные субтипы, в зависимости от микроокружения, в котором такие клетки находятся. Подобные данные представлены для опухолей кишечника (Gulubova M. et al., 2013). В противоположность сведениям ряда авторов о положительной корреляции между высоким уровнем инфильтрации макрофагами и лимфогенным метастазированием М. Gulubova et al. (2013) показали, что низкий уровень мак-

рофагов в инвазивном фронте ассоциирован с наличием лимфогенного метастазирования. Это свидетельствует о том, что субпопуляции макрофагов, локализованные в определенных сайтах опухоли, способны ингибировать формирование лимфогенных метастазов, по крайней мере, при некоторых типах опухолей.

СИСТЕМНАЯ ПРИРОДА РАКА: ВОВЛЕЧЕНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ПРОГРЕССИЮ

Одной из важных причин неэффективности терапии рака является системная природа злокачественных новообразований. Опухоль — это не просто сообщество независимых атипичных клеток, а практически функционирующий орган (Prehn R.T., 1993), вовлеченный в динамические и реципрокные взаимодействия с различными органами и системами организма. Опухолевая прогрессия может быть управляема на уровне целостного организма (Greaves M., Maley C.C., 2012; McAllister S.S., Weinberg R.A., 2014). Первичная опухоль, вторичные опухолевые сайты в отдаленных органах и циркулирующие опухолевые клетки находятся в определенном равновесии и взаимодействуют между собой посредством различных растворимых факторов и цитокинов. Системный баланс активных молекул, вовлеченных в ангиогенез (про- и антиангиогенные стимулы), наряду с иммунной системой играют ключевую роль в поддержании дремлющего состояния опухоли (Demicheli R. et al., 2008).

При нарушении баланса под влиянием различных условий дремлющие метастазы могут быстро развиваться и клинически манифестироваться (Demicheli R. et al., 2008). Активация дремлющих опухолевых клеток, приводящая к формированию макрометастазов, может происходить под влиянием различных стрессов, болезней, повреждения тканей, например при хирургическом удалении первичной опухоли или при цитостатической терапии (Coghlin C., Murray G.I., 2010). При этом основным фактором, способствующим так называемому созреванию преметастатической ниши и реализации вторичной опухоли в отдаленном сайте, является провоспалительное микроокружение (хроническое воспаление, Th2-лимфоциты, M2-макрофаги, воспалительные цитокины) (Muller-Hermelink N. et al., 2008).

Существуют доказательства того, что ряд процессов могут обес-

печивать условия, активирующие и поддерживающие рост метастазов, создающие так называемую почву для пролиферации и выживания циркулирующих клеток во вторичных сайтах (отдаленных органах метастазирования). Установлено, что гемопоэтические клетки-предшественники из костного мозга заселяют специфические преметастатические ниши перед тем, как туда попадают опухолевые клетки. При этом формируются клеточные кластеры стромального микроокружения, способствующие росту вторичных опухолей – метастазированию. Сделана попытка дополнить концепцию метастатических ниш новым понятием «прениша», которая определяет место формирования преметастатической ниши и в последующем локализации там метастаза. Согласно определению В.М. Перельмутера и В.Н. Манских, прениша – совокупность клеточных и молекулярных событий, развивающихся в месте будущего появления метастаза до поступления в него костномозговых клеток-предшественников. Основой прениши является активация эндотелия микроциркуляторного русла органов-мишеней в очаге будущего метастаза в условиях хронического персистирующего продуктивного воспаления, которое может быть индуцировано как поступающими из первичной опухоли цитокинами, так и независимо от влияния первичной опухоли. Активация эндотелия обеспечивает адгезию и образование кластера рекрутированных миелоидных клеток-предшественников, а также задержку клеток злокачественных опухолей в сайте будущего метастаза. Авторы считают, что прениша особенно легко возникает в органах, богатых органоспецифическими макрофагами (легкие, печень, мозг и т.д.), где эндотелий имеет врожденную способность к интенсивному рекрутированию миелоидных клеток-предшественников макрофагов, особенно в условиях воспаления. Введение понятия «прениша» позволяет ликвидировать затруднения создания концепции метастатических ниш, главным образом касающиеся проблемы избирательной локализации метастазов, сформулировать ряд предсказаний для экспериментальной проверки и путь для возможной профилактики метастазирования у определенной части онкологических больных (Перельмутер В.М., Манских В.Н., 2012).

Клиническая манифестация метастаза возможна только при развитии ангиогенеза, стромы опухоли и воспаления – процессов, аналогичных подобным при росте первичной опухоли. Наиболее актуальными здесь являются вопросы о ключевых секретируемых мак-

рофагами факторах, регулирующих как биологию опухолевой клетки, так и формирование опухолевого микроокружения (Перельмутер В.М., Манских В.Н., 2012).

Первичная опухоль обеспечивает инвазию злокачественных клеток и фактически «дирижирует» формированием метастатических ниш посредством секреции различных цитокинов и ростовых факторов, которые способствуют мобилизации костномозговых клеток-предшественников в очаги будущего метастазирования (Sceneay J. et al., 2013). Гипотеза «семян и почвы», предложенная Стивеном Педжетом (1989 г.), постулировала, что для метастазирования солидных опухолей необходимо взаимодействие между малигнизированными клетками и широким ассортиментом «активированных», т.е. настроенных на взаимодействие с опухолью, стромальных и воспалительных элементов как в первичной опухоли, так и в местах локализации вторичных опухолей (DeNardo D.G. et al., 2008).

Множество цитокинов и хемокинов, продуцируемых первичной опухолью и компонентами воспалительного микроокружения (IL-1, IL-6, TGF β , TNF α , GM-CSF, G-CSF, CSF, VEGF, CCL2 и т.д.) способны содействовать рекрутированию опухолевых клеток из первичного очага в кровь, а также инициируют мобилизацию гемопоэтических клеток-предшественников из костного мозга, обеспечивая тем самым локальные и системные необходимые условия для развития метастазов (Kopp H.G. et al., 2006; Langley R.R., Fidler I.J., 2011; Santamaria-Martinez A., Huelsken J., 2013). Мобилизация костномозговых предшественников в кровь с последующим их поступлением в метастатические сайты может быть индуцирована гипоксией, повреждением тканей в процессе лекарственного и оперативного лечения, т.е. в тех условиях, когда происходит активация процессов тканевой регенерации (Kopp H.G. et al., 2006; Gao D. et al., 2012; Malanchi I. et al., 2012; Barcellos-Hoff M.H. et al., 2013).

Первичная опухоль продуцирует цитокины, способствующие активации программы эпителиально-мезенхимального перехода, в результате которого опухолевая клетка приобретает локомоторный мезенхимальный фенотип и становится способной к миграции и проникновению в кровоток. Для подтверждения вовлечения цитокинов, продуцирующихся опухолевыми клетками, в процесс метастазирования мы провели исследование по оценке связи отдаленного метастазирования с хромосомными аномалиями опухолевых клеток,

затрагивающими локусы цитокинов и ростовых факторов у больных раком молочной железы. Мы тестировали несбалансированные хромосомные аномалии в виде числовых или структурных вариаций числа копий (хромосомные делеции или амплификации) в образцах опухолей, полученных от пациентов до проведения специфического лечения, с использованием высокоплотной микроматричной платформы CytoScan™ HD Array (Affymetrix, USA). Были протестированы aberrации практически всех цитокинов и их рецепторов, включая хемокины, интерлейкины, ростовые факторы, в целом 75 генов, и проведен анализ связи изучаемых маркеров с отдаленным метастазированием.

Анализ показал, что хромосомные делеции в локусах, содержащих гены ряда провоспалительных цитокинов, хемокинов и их рецепторов, ассоциированы с уменьшением частоты метастазирования и увеличением показателей выживаемости этих пациентов. Делеции локусов указанных генов свидетельствуют о потере или снижении функции генов, кодирующих цитокины, что сопровождается уменьшением или потерей экспрессии соответствующего белкового продукта (цитокина или его рецептора).

В число выявленных нами информативных цитокинов и их рецепторов вошли STAB1L1N1, CCL2. Делеции соответствующих локусов связаны с уменьшением частоты появления отдаленных метастазов у больных раком молочной железы при послеоперационном мониторинге пациентов на протяжении 5-летнего периода. Кроме того, делеции в локусах генов CCR1, CCR2, CCR3, CCR5, CCR9, CXCR6, XCR1, CCL2, расположенных в 3p21.31 участке хромосомы, как оказалось, ассоциированы с повышением показателей безметастатической выживаемости.

Как уже упоминалось выше, стабиллин-1 является мультифункциональным рецептром-скавенджером, представленным на различных типах клеток, включая эпителиальные, эндотелиальные, воспалительные иммунные клетки. M. Karikoski et al. (2014) было показано, что он проявляет иммуносупрессивную активность, тем самым способствуя опухолевой прогрессии.

Данные по связи делеции локуса стабиллин-1 в опухолевых клетках с повышенной безметастатической выживаемостью подтверждаются и связью уровня экспрессии стабилилина-1 в опухолевой тка-

ни молочной железы с геметогенным метастазированием на уровне тенденции (рис. 8).

Рис. 8. Безметастатическая выживаемость больных РМЖ в зависимости от уровня экспрессии стабили-1 (прерывистая линия – уровень экспрессии меньше 0,04; сплошная линия – уровень больше 0,04)

Хемокины играют критически важную роль в опухолевой прогрессии, особенно в формировании отдаленных метастазов. Они вовлечены в регуляцию роста опухоли, процессов клеточного старения, ангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода, метастазирования, избегания клетками иммунного ответа. CCL2-CCR2 ось, так же как CXCL6-CXCR6 (CXCR1) сигналинг, вовлечены в процессы неоангиогенеза (Sarvaiya P.J. et al., 2013).

Многими исследователями показана критическая важность сигналинга хемокины-рецепторы в эпителиально-мезенхимальном переходе, в процессе которого происходит метастатическая трансформация опухолевых клеток. Индукция ЭМП в клетках карциномы человека ассоциирована с увеличением секреции целого ряда цито-

кинов, включая CXCL8, CCL5, CXCL1 и др. С. Johnson-Holiday et al. (2011) показано, что CCR9 способствует метастазированию рака молочной железы путем усиления миграции, повышения продукции матриксной металлопротеиназы (ММР-9) через CCL25 и поддержания выживания опухолевых клеток в метастатических сайтах.

В настоящей работе впервые проведено исследование связи делеции локусов провоспалительных цитокинов в опухоли с метастазированием. Тесная связь между потерей хромосомных локусов, содержащих гены воспалительных цитокинов, и опухолевой диссеминацией свидетельствует о вкладе цитокинов, продуцируемых первичной опухолью, в отдаленное метастазирование. Основными механизмами, ответственными за указанные связи, по-видимому, являются модификация поведения опухолевых клеток и влияние на микроокружение, в основном процессы ангиогенеза и компоненты иммунной системы, а также формирование преметастатических ниш. Это предполагает вовлечение системной регуляции указанных процессов, механизмы которой практически не изучены.

В этом отношении некоторыми авторами декларируется гомеостатическая роль Т-лимфоцитов, основным регуляторным механизмом при этом является постоянная периферическая стимуляция Т-клеточных рецепторов посредством растворимых форм, представляющих собственные пептиды молекул главного комплекса гистосовместимости, подчиняющихся закону действия массы (для химических реакций – скорость реакции прямо пропорциональна молекулярной концентрации участвующих реагентов) (Bakacs T., Mehrishi J.N., 2010). Главный регуляторный механизм – это постоянная периферическая стимуляция Т-клеточных рецепторов растворимыми формами молекул ГКГ, презентующих собственные пептиды. Опухолевые клетки также считаются объектами гомеостатического Т-клеточного контроля. Резекция опухоли может рассматриваться организмом как потеря большой массы «нормальных» клеток, формирующих ткани. Следовательно, усилия, направленные на восстановление тканевого гомеостаза, скорее стимулируют, чем ингибируют рост дремлющих опухолевых клеток и внесосудистых микрометастазов. Т. Bakacs, J.N. Mehrishi (2010) полагают, что такой «ударный» рост может быть предотвращен использованием рекомбинантных лигандов к Т-клеточным рецепторам, которые модифицируют поведение Т-клеток через механизм частичной активации.

В наших исследованиях было показано, что системное состояние иммунитета важно для ответа на терапию и исход заболевания у больных раком молочной железы (Stakheyeva M. et al., 2011). Оказалось, что состояние иммунной системы у определенной доли пациенток с РМЖ на фоне проводимого противоопухолевого лечения изменяется в сторону ассоциированного с благоприятным клиническим течением заболевания по сравнению с таковым до начала лечебных мероприятий.

Эти данные были получены при осуществлении визуализации состояния иммунной системы у больных РМЖ ($n=230$). Состояние иммунной системы, характеризуемое большим количеством показателей ($n=55$) у каждой пациентки, было рассмотрено как многомерное измерение. Для такого представления был использован метод визуализации многомерных данных NovoSpark Corporation (Канада). Рассматриваемый метод визуализации многомерных объектов и процессов основан на изометричности двух пространств, где объекты одного пространства (пространства данных) считаются оригиналами, в то время как объекты другого играют роль изображений. Основой выявления сходства или различия в оригинальных данных является визуальная близость соответствующих этим данным образов, выражаемая в расстоянии Махаланобиса (Eidenzon D. et al.; <http://www.tsu.ru/storage/iro/k020410/s4/s4.doc>).

Целью анализа было выявить, с какой частотой состояние иммунной системы у пациенток с неизвестным исходом (больные, проходящие лечение и не достигшие прогрессирования заболевания на момент исследования) классифицируется как ассоциированное с благоприятным или неблагоприятным клиническим течением РМЖ. Для решения поставленной задачи была проведена оценка динамики визуального образа у больных с неизвестным исходом на этапах противоопухолевого лечения относительно групп пациенток с известным исходом – без прогрессирования более 3 лет и с возникшим гематогенным метастазированием.

До начала противоопухолевого лечения большая часть образцов, характеризующих состояние иммунной системы у отдельных больных РМЖ из группы с неизвестным исходом, располагалась вблизи области, отражающей состояние иммунной системы у пациенток с развившимися впоследствии метастазами (рис. 9, А). По-видимому, до начала лечения у большинства больных РМЖ

функционирование иммунной системы ориентировано в сторону содействия опухолевой прогрессии и взаимосвязано с риском гематогенного метастазирования.

Содействие опухолевой прогрессии может быть реализовано в неэффективности противоопухолевых механизмов иммунной системы, что выражено в терминах ускользания опухоли из-под иммунологического надзора. В настоящее время предложено немало гипотез, стремящихся дать объяснение этому феномену. Наиболее систематизированно новая парадигма неэффективности функционирования иммунной системы в условиях опухолевого роста представлена в публикации T.J. Curiel (2007).

В результате неэффективной элиминации трансформированных клеток иммунной системой происходит селекция наиболее резистентных клонов, что в свою очередь снижает эффективность противоопухолевого надзора (Curiel T.J., 2007; Swann J.B., Smyth M.J., 2007).

Другим вектором участия иммунной системы в опухолевой прогрессии является создание (поддержание) условий для опухолевого роста. Прежде всего, это связано с тем, что многие механизмы иммунной системы, которые обладают стимулирующим эффектом в отношении опухоли, в нормальных условиях выполняют важные физиологические функции, такие как репарация повреждений, ангиогенез, продукция цитокинов при развитии фазы острого воспаления и т.д. Соответственно их функциональная активность биологически обоснована, и ее значимость искажается именно в условиях злокачественного роста (Ben-Baruch A., 2003).

После проведения 2 курсов НАХТ состояние иммунной системы у больных РМЖ не претерпело выраженных перемен к улучшению. Большинство наблюдений располагалось в области, характерной для пациенток с развившимися впоследствии метастазами в отдаленные органы (рис. 9, Б). Однако после завершения 3–4 курсов НАХТ для части больных РМЖ отмечено смещение визуального образа, отражающего состояние иммунной системы на данном этапе наблюдения, в сторону расположения случаев длительной клинической ремиссии (рис. 9, В).

А

Б

В

Г

Рис. 9 (начало)

Д

Рис. 9 (окончание). Расположение визуальных образов, соответствующих состоянию иммунной системы у больных РМЖ с неизвестным исходом на этапах противоопухолевого лечения: оранжевый цвет – группа без прогрессирования более 3 лет; голубой цвет – группа с развившимися метастазами; зеленый цвет – группа с неизвестным исходом; А – до начала противоопухолевого лечения; Б – после 2 курсов НАХТ; В – после 3–4 курсов НАХТ; Г – после операции; Д – через год после окончания противоопухолевого лечения

Выраженные изменения в расположении визуальных образов, отражающих состояние иммунной системы у больных РМЖ с неизвестным исходом, относительно таковых у пациенток без прогрессирования либо с возникшими метастазами было отмечено и после хирургического удаления первичного опухолевого узла. На 10–12-е сут после операции у достаточной части больных с неопределенным исходом образы состояния иммунной системы располагались в области, характеризующей группу пациенток без прогрессирования. Таким образом, именно деструкция цитостатическими воздействиями и хирургическое удаление опухоли приводят к качественной перемене в состоянии иммунной системы. Очевидно, исчезают негативные факторы опухолевого происхождения, с которыми связывают реализацию иммуносупрессии, неадекватной активации, а также прямого подчинения механизмов иммунной системы для нужд злокачественного роста (Ostrand-Rosenberg S. et al., 2004). Такое благоприятное состояние иммунной системы предоставляет возможность для проведения противоопухолевой иммунотерапии именно на этих этапах лечения. С вовлечением собственных противоопухолевых механизмов организма связывают улучшение результатов специфического лечения и увеличение длительности безрецидивной / безметастатической выживаемости (Гранов А.М., Молчанов О.Е., 2008; Гранов А.М. и др., 2009; Молчанов О.Е., Гранов А.М., 2008; Ehrke M.J., 2003).

Однако через 1 год после завершения противоопухолевого лечения вновь отмечено смещение визуальных образов, характеризующих состояние иммунной системы у больных РМЖ с неопределенным исходом, в сторону расположения таковых у пациенток с возникшим впоследствии метастазированием (рис. 9, Д). Соответственно состояние иммунной системы у больных РМЖ вновь обрело статус неблагоприятного в плане безметастатической выживаемости.

Данный факт, вероятно, свидетельствует о наличии у больной скрытых метастазов, несмотря на проведенное противоопухолевое лечение. Согласно теории В. Fisher РМЖ – это первично диссеминированный процесс (Семиглазов В.Ф., 2002; Семиглазов В.Ф. и др., 2006; Семиглазов В.Ф. и др., 2007), соответственно метастазы в отдаленных органах – событие высоковероятное.

Таким образом, на фоне противоопухолевого лечения состояние иммунной системы способно обрести статус ассоциированного с благоприятным клиническим течением РМЖ. Изменения в иммунном статусе связаны с увеличением вариабельности иммунных реакций в ответ на биологические свойства опухоли, модифицированные цитостатическим воздействием. Максимальное вовлечение иммунологических механизмов в дискриминацию дальнейшего клинического течения РМЖ на этапе НАХТ указывает на значение этих механизмов для эффективности проводимой химиотерапии и возможный синергизм противоопухолевых эффектов лечения и иммунной системы.

Наши результаты свидетельствуют о существовании различного статуса иммунной системы: противоопухолевого или промотирующего опухолевую прогрессию. Действительно, иммунная система как интегрированное функциональное целое может формировать разные стратегии функционирования у разных пациентов, которые способствуют либо препятствуют прогрессированию опухолевого процесса. Иммунная система может определять скорость и степень эрадикации опухоли, элиминировать остаточную опухоль после резекции, определять продолжительность клинического ответа на лечение (Bachiredy P. et al., 2012). С другой стороны, опухоль или компоненты опухолевого микроокружения могут повреждать не только локальный иммунный ответ в опухолевых сайтах, но также негативно влиять на системный иммунитет (Holtan S.G. et al., 2011).

Представленные выше данные свидетельствуют, что циторедуктивные методы лечения злокачественных новообразований часто приводят к селекции и экспансии резистентных клонов раковых клеток и соответственно к опухолевой прогрессии. Объективные сложности решения этой проблемы делают актуальным поиск принципиально новых подходов к противоопухолевой терапии. Стабилизация опухолевого процесса или поддержание «дремлющего» состояния опухоли могут представлять многообещающие возможности для достижения цели лечения, отличной от стремления полностью удалить злокачественные клетки из организма больного. Согласно мнению D.F. Quail и J.A. Joyce (2013), «дремлющее» состояние опухоли опосредуется несколькими процессами, которые частично запускаются и контролируются микроокружением, включая отсутствие прироста опухолевой массы, которое достигается благодаря балансу процессов пролиферации и апоптоза, состояние клеточного «покоя» (арест клеток в фазе G0), иммуноопосредованный «покой» (достижение состояния равновесия, паритета в результате иммуноредактирования, которое в настоящее время рассматривается как стратегия взаимоотношения опухоли и организма) (Quail D.F., Joyce J.A., 2013). Воздействие на процесс иммуноредактирования с целью достичь и сохранять фазу равновесия может быть скоординировано с результатом стандартной терапии, чтобы максимально увеличить длительность периода ремиссии у пациентов (Quail D.F., Joyce J.A., 2013). Мы хотим дополнить предложенную иерархию системным уровнем контроля «дремлющего состояния», которое поддерживает или, наоборот, прерывает его при возникновении таких неблагоприятных системных процессов, как воспаление, инфекция, стресс и даже лечение. Представление о том, что рак часто, если не всегда, без исключения является системным заболеванием, предполагает,

что можно предложить множество терапевтических воздействий, чтобы ингибировать или блокировать сигнальные механизмы, лежащие в основе системных изменений у больных раком, таких как противовоспалительная терапия (McAllister S.S., Wenderg R.A., 2014; Перельмутер В.М., Манских В.Н., 2012; Aktipis C.A., Nesse R.M., 2013; Mantovani A. et al., 2010), антиинфекционная терапия (Thomas F. et al., 2013).

L. Bracci et al. полагают, что понимание механизмов, обеспечивающих иммуногенность гибели опухолевых клеток под влиянием цитостатических воздействий, может существенно улучшить дизайн противоопухолевой терапии. Согласно данным этих авторов (Bracci L. et al., 2014), могут быть найдены новые возможности для эффективного применения конвенционального лечения злокачественных новообразований. Большое число препаратов способно таким образом изменить опухолевые клетки, что в процессе гибели они становятся «видимыми» для иммунной системы. Другие агенты индуцируют преходящую лимфодеплецию, таким образом нивелируя иммуносупрессивные механизмы, а также могут оказывать прямой или непрямой иммуностимулирующий эффект (Bracci L. et al., 2014).

Более того, использование ряда таргетных препаратов дает возможность преодолевать препятствия, связанные с опухолевой гетерогенностью благодаря тому, что гибель клеток-мишеней может индуцировать иммунный ответ, так что экспозиция на опухолевых клетках новых антигенов приводит к иммунной атаке на оставшиеся опухолевые клетки (Allison K.H., Sledge G.W., 2014).

Как уже упоминалось выше, макрофаги рассматриваются в качестве перспективных инструментов для противоопухолевого воздействия (Heindryckx F., Gerwins P., 2015). В частности, реверсия фенотипа M2 макрофагов в фенотип M1, обладающий противоопухолевой активностью, может быть достигнута разными методами. Есть сведения о возможности изменения фенотипа M2 на M1 под влиянием цитостатиков, применяемых совместно с иммунотерапией, таким же свойством обладают препараты бисфосфонатов (золедронат), гистидин-богатый гликопротеин. Ингибция продукции простагландинов COX ингибиторами предотвращает дифференцировку моноцитов в M2-макрофаги в опухолевом микроокружении, реполяризация макрофагов может быть индуцирована Th1-клетками (Huang Y., 2011; Heusinkveld M. et al., 2011).

На основе изучения особенностей экспрессии клеточных и секретруемых биомаркеров для диагностической детекции субпопуляций макрофагов в ткани опухоли могут быть разработаны персонализированные подходы, направленные на блокировку патологических функций макрофагов и стимуляцию их терапевтической активности. Выявление клеточных субпопуляций как мишеней для терапевтического воздействия и разработка соответствующих терапевтических комбинаций для иммунотерапии хронического воспаления позволят создать способы снижения риска или предотвращения опухолевой диссеминации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Для повышения эффективности поиска прогностических и предсказательных иммунологических маркеров и мишеней для терапии следует учитывать факторы опухоли и микроокружения, принимая во внимание гетерогенность взаимоотношений воспалительного стромального и паренхиматозного компонентов, которая обеспечивает формирование уникального микроокружения у каждого пациента и разное биологическое поведение опухоли.

Представленные в книге результаты свидетельствуют о том, что механизмы иммунной системы представляют собой важный фактор, вносящий существенный вклад в эффективное цитостатическое лечение. Это ставит вопрос о необходимости обеспечения и поддержания полноценного морфофункционального состояния иммунной системы при планировании и проведении противоопухолевого лечения. Особый интерес представляют данные об иммуномодулирующем влиянии определенных цитостатических агентов и схем, что в перспективе делает возможным их использование в качестве воздействий, восстанавливающих противоопухолевую функцию иммунной системы, супрессированную опухолевым процессом. Для разработки инновационных иммуномодулирующих подходов необходимо также проведение интенсивных исследований по определению взаимодействия цитостатических агентов с макрофагами, ассоциированными с опухолью. Достижение синергизма противоопухолевых эффектов цитостатического лечения и иммунной системы открывает новые возможности в терапии злокачественных новообразований, заключающиеся, прежде всего, в снижении экономических затрат, токсичности воздействий и увеличении продолжительности жизни пациентов.

Перспективным направлением терапии рака является модуляция микроокружения в первичной опухоли и нишах для противодействия опухоли, поиск комбинаций ХТ с иммунотерапией для повыше-

ния эффективности лечения. Важным представляется систематический многокомпонентный анализ как биологических свойств клеток, определяющих метастатический потенциал, так и специфического локального микроокружения и системных условий, включая иммунную систему, ответственную за мобилизацию компонентов, формирующих ниши, и поддержание метастазирования. С целью развития персонализированной медицины и разработки новых диагностических подходов перспективным является изучение маркеров и ключевых функциональных характеристик субпопуляций опухолиассоциированных макрофагов для прогноза клинического течения заболевания, оценки степени риска диссеминации, эффективности терапевтических подходов, а также выявления молекулярных мишеней для терапевтического воздействия.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ABC – ATP-Binding Cassette
ABCB1 – ATP-binding cassette sub-family B member 1
AC – Doxorubicin, Cyclophosphamide (доксорубин, циклофосфан)
acLDL – Acetylated-low density lipoprotein (ацетилированные липопротеины низкой плотности)
ADAM17 – A disintegrin and metalloproteinase domain 17
AMCase – Acidic mammalian chitinase (кислая хитиназа млекопитающих)
ARG1 – ген, кодирующий белок аргиназы 1
AT – Doxorubicin, and Taxol or Taxotere (доксорубин на основе таксанов)
ATM – Ataxia telangiectasia mutated
AURKA – Aurora kinase
AVP – Arginine vasopressin (аргинин-вазопрессин)
Bcl-xL – B-cell lymphoma-extra large
BCR-ABL – Fusion gene
CCL – The chemokine (C-C motif) ligand
CCR – C-C chemokine receptor
CD – Classification Determinant
CDK4 – Cyclin-dependent kinase 4 (циклин-зависимая киназа 4)
CD-MPR – Cation-dependent mannose-6-phosphate receptor
CHK1 – Checkpoint kinase 1
CI-MPR – Cation-independent mannose 6-phosphate receptor
CLP – Chitinase-like protein
CMF – циклофосфан, метотрексат и 5-фторурацил
COX2 – Cyclooxygenase
CSFs – Colony-stimulating factors
CTLA4 – Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
DAMP – Damage-associated molecular patterns
DAP10 – адаптерные молекулы
EC – Epirubicin and Cyclophosphamide (эпирубин и циклофосфан)
ECF-L - Eosinophil chemotactic factor-L
EC-T – Epirubicin, Cyclophosphamide and Docetaxel (эпирубин, циклофосфан, доцетаксел)

EGFR – Epidermal growth factor receptor (рецептор эпидермального фактора роста)
FAC – 5-fluorouracil, Doxorubicin and Cyclophosphamide (5-фторурацил, доксорубин и циклофосфан)
FasL – Fas ligand
FEC – 5-fluorouracil, Epirubicin and Cyclophosphamide (5-фторурацил, эпирубин, и циклофосфан)
FGFs – Fibroblast growth factors (фактор роста фибробластов)
FOXP3 – Forkhead box P3
GAPDH – Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase
GITR – Glucocorticoid-induced TNFR family related gene
GM-CSF – Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
HcGP – Human cartilage glycoprotein (-39)
HER-2 – Human epidermal growth factor receptor-2
HIF-1alpha – Hypoxia-inducible factor 1-alpha
HMGB1 – High mobility group box 1 (негистоновый хроматин-связывающий белок)
HPV – Human papilloma virus
HSP90 – Heat shock protein 90 (белок теплового шока)
ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule 1
IgM – иммуноглобулины класса M
IL – Interleukin
INF gamma – Interferon gamma
iNOS – Inducible nitric oxide synthase (индуцибельной синтазы оксид азота)
LAG-3 – lymphocyte-activation gene 3
LFA-1 – Lymphocyte function-associated antigen 1
MCP-1 – Monocyte chemoattractant protein-1
MDSC – Myeloid-derived suppressor cells (миелоидные супрессоры)
MHC II – Major histocompatibility complex
MICA/B – Major histocompatibility complex class I chain-related protein A or B
MIF – Migration inhibiting factor
MMP – Matrix metalloproteinase
MPR – Mannose 6-phosphate receptor proteins
NF-kB – Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (транскрипционный фактор)
NK – Natural killer cells (натуральные киллеры)
NKG2D – Natural-killer group 2, member D
NO – Оксид азота
Pac – Paclitaxelum (паклитаксел)
pCR – Complete pathologic response (полная морфологическая регрессия)
PD-1 – Programmed cell death protein 1
PL – плацентарный лактоген
PP1 – Protein phosphatase 1

PR – Partial response (частичная регрессия)
PTHrP – Parathyroid hormone-related protein (паратгормон-связанный белок)
RANKL – Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand
RB – ретинобластома
ROS – Reactive oxygen spicies
SI-CLP – Stabilin-1 interacting chitinase-like protein (хитиназо-подобный протеин, взаимодействующий со стабилином 1)
siRNA – Small interfering RNA
SPARC – Secreted protein acidic and rich in cysteine
STAT3 – Signal transducer and activator of transcription 3
TAC – Taxotere, Adriamycin and Cyclophosphamide
TCGA – The Cancer Genome Atlas
TFAC – паклитаксел, фторурацил, доксорубицин и циклофосфан
TFEC – паклитаксел, фторурацил, эпирубицин и циклофосфан
TGFβ – The transforming growth factor β
Th₁ – Т-хелперы 1
TIMP1 –тканевой ингибитор матриксной металлопротеиназы -1
TLR4 – Toll-like receptor 4
TNBC – трижды негативный рак молочной железы
TNFα – Tumor necrosis factor alpha
TRAIL – TNF-related apoptosis-inducing ligand
Treg – Т-регуляторные клетки
TSP-1– тромбоспондин-1
VCAP – винкристин, циклофосфан, доксорубицин и преднизолон
VEGF – Vascular endothelial growth factor
YKL-39– Chitinase 3 like 2 proteins
YKL-40 – Chitinase 3 like 1 proteins
YM1 – Chitinase 3 like 3(CHI3L3)
YM2 – Chitinase 3 like 4(CHI3L4)
АГ – антиген
АТ – антитело
АХТ – адъювантная химиотерапия
БВ – безрецидивная выживаемость
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
ВПЧ – вирус папилломы человека
ГКГ – главный комплекс гистосовместимости
ГЦК – гепатоцеллюлярная карцинома
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ИЛ – интерлейкин
ИС – иммуностимуляторы
ИФА – иммуноферментный анализ
ИФН-γ – интерферона-γ
М1 – макрофаги первого типа

М2 – макрофаги второго типа
МАИР – Международное агентство по изучению рака
МАО – макрофаги, ассоциированные с опухолью
МЛУ – множественная лекарственная устойчивость
мРНК – матричная рибонуклеиновая кислота
НАХТ – неоадьювантная химиотерапия
ОАМ – опухолеассоциированные макрофаги
ОВ – общая выживаемость
ПМР – полная морфологическая регрессия
ППО – полный патологический ответ
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РЛ – рак легкого
РМЖ – рак молочной железы
РНК – рибонуклеиновая кислота
РПЖ – рак предстательной железы
РТК – рак толстой кишки
СОД – суммарная очаговая доза
ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа
ХПБ – хитиназо-подобные белки
ХТ – химиотерапия
ЦФ – циклофосфан
ЭМП – эпителиально-мезенхимальный переход

ЛИТЕРАТУРА

Балдуева И.А., Семиглазов В.Ф. Иммунологические показатели больных раком молочной железы (зависимость от возраста, состояния репродуктивной функции, клинико-патогенетической формы заболевания и темпа роста опухоли // Вопросы онкологии. 1996. № 42(5). С. 31–35.

Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. Иммунологические проблемы апоптоза. М.: Эдиториал УРСС, 2002. 320 с.

Гадецкая Н.А., Гривцова Л.Ю., Кадагидзе З.Г. Субпопуляции В-лимфоцитов у больных раком молочной железы: LЕс-специфичные В-клетки // Маммология. 2006. №(2). С. 63–67.

Гранов А.М., Молчанов О.Е. Канцерогенез и иммунобиология опухоли. Фундаментальные и клинические аспекты // Вопросы онкологии. 2008. № 54 (4). С. 401–409.

Гранов А.М., Молчанов О.Е., Карелин М.И. и др. Влияние иммунологических параметров на эффективность системной и локо-регионарной иммунотерапии больных диссеминированным раком почки // Вопросы онкологии. 2009. №55(5). С. 580–585.

Загрекова Е.И., Мещеряков А.А. Лекарственное лечение рака молочной железы // Русский медицинский журнал. 2002. Т. 10, № 14. С. 605–608.

Имянитов Е.Н. Молекулярные механизмы опухолевого роста // Вопросы онкологии. 2010. № 56(2). С. 117–128.

Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Заботина Т.Н. и др. Новые возможности регуляции противоопухолевого иммунного ответа // Злокачественные опухоли. 2015. № 1. С. 24–30.

Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2014.

Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2013 году (заболеваемость и смертность). М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2015.

Козлов В.А. Гомеостатическая пролиферация лимфоцитов в аспекте иммунопатогенеза различных заболеваний // Иммунология. 2006. № (6). С. 378–382.

Кухарев Я.В., Стахеева М.Н., Дорошенко А.В. и др. Связь иммунологических показателей с эффективностью неoadъювантной химиотерапии у

больных раком молочной железы // Сибирский онкологический журнал. 2013. № (2). С. 50–57.

Молчанов О.Е., Гранов А.М. Прогнозирование эффективности лечения диссеминированных форм почечноклеточного рака на основе молекулярного мониторинга // Материалы XII Рос. онкологического конгресса. М., 2008. С. 11–16.

Напалков Н.П. Рак и демографический переход // Вопросы онкологии. 2004. № 50(2). С. 127–144.

Неoadъювантное и адъювантное лечение рака молочной железы / В.Ф. Семиглазов, В.В. Семиглазов, А.Е. Клетсель. М.: Медицинское информационное агентство, 2008.

Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. 2-е изд., доп. М.: Практическая медицина, 2005. 704 с.

Перельмутер В.М., Завьялова М.В., Вторушин С.В. и др. Взаимосвязь морфологической гетерогенности инфильтрирующего протокового рака молочной железы с различными формами опухолевой прогрессии // Сибирский онкологический журнал. 2007. № 3. С. 58–63.

Перельмутер В.М., Манских В.Н. Прениша как отсутствующее звено концепции метастатических ниш, объясняющее избирательное метастазирование злокачественных опухолей и форму метастатической болезни // Биохимия. 2012. № 77. С. 130–139.

Семиглазов В.Ф., Арзунов А.С., Божок А.А. и др. Адъювантная терапия рака молочной железы // Хирургия. 2001. № 5. С. 53.

Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., Клецель А.Е. Неинвазивные и инвазивные опухоли молочной железы. СПб., 2006.

Семиглазов В.Ф., Зернов К.Ю., Божок А.А. и др. Воспалительная форма рака молочной железы (предсказывающие и прогностические факторы эффективности первичной химиотерапии) // Вопросы онкологии. 2007. № 53(1). С. 21–25.

Стахеева М.Н., Эйдензон Д., Слонимская Е.М. и др. Взаимосвязь состояния иммунной системы как интегрированного целого с клиническим течением рака молочной железы // Сибирский онкологический журнал. 2011. № 2. С. 11–19.

Стахеева М.Н., Чойнзонов Е.Л., Чижевская С.Ю., Бычков В.А. Взаимосвязь эффективности противоопухолевого лечения с состоянием иммунной системы у больных раком гортани и гортаноглотки // Медицинская иммунология. 2013. № 15(6). С. 555–564.

Чердынцева Н.В., Жордания К.И. Клеточные и молекулярные параллели злокачественного роста и беременности // Онкогинекология. 2013. № 1. С. 4–11.

Чуденко В.А., Моисеенко В.М. Клинико-экспериментальные исследования метронормальной терапии диссеминированных солидных опухолей // Вопросы онкологии. 2009. № 55 (1). С. 327–334.

Ярилин А.А., Донецкова А.Д. Естественные регуляторные Т-клетки и фактор FOXP3 // Иммунология. 2006. № 3. С. 176–188.

Acosta J.C., O'Loughlen A., Banito A. et al. Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence // Cell. 2008. 133(6): 1006–18.

Aguilera B., Ghauharali-van der Vlugt K., Helmond M.T. et al. Transglycosidase activity of chitotriosidase: improved enzymatic assay for the human macrophage chitinase // *J. Biol. Chem.* 2003. Oct. 17. 278(42): 40911–6.

Allavena P., Mantovani A. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: tumour-associated macrophages: undisputed stars of the inflammatory tumour microenvironment // *Clin. Exp. Immunol.* 2012. Feb. 167(2): 195–205.

Allison K.H., Sledge G.W. Heterogeneity and Cancer // *Oncology (Williston Park).* 2014. Sep. 15. 28(9).

Almendo V., Marusyk A., Polyak K. Cellular heterogeneity and molecular evolution in cancer // *Annu Rev. Pathol.* 2013. Jan. 24. 8: 277–302.

Almendo V., Cheng Y.K., Randles A. et al. Inference of tumor evolution during chemotherapy by computational modeling and in situ analysis of genetic and phenotypic cellular diversity // *Cell. Rep.* 2014. Feb. 13. 6(3): 514–527.

Akagi K., Li J., Broutian T.R. et al. Genome-wide analysis of HPV integration in human cancers reveals recurrent, focal genomic instability // *Genome. Res.* 24: 185–99 2/1/2014.

Akagi T., Shiraishi N., Kitano S. Lymph Node Metastasis of Gastric Cancer // *Cancers.* 2011. 3:2141–2159.

Aktipis C.A., Nesse R.M. Evolutionary foundations for cancer biology // *Evol. Appl.* 2013. 6(1): 144–159.

Alexander S., Friedl P. Cancer invasion and resistance: interconnected processes of disease progression and therapy failure // *Trends. Mol. Med.* 2012. Jan. 18(1): 13–26.

Andre F., Mazouni C., Liedtke C. et al. HER2 expression and efficacy of preoperative paclitaxel/FAC chemotherapy in breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* 2008. Mar. 108(2): 183–190.

Andre N., Carre M., Pasquier E. Metronomics: towards personalized chemotherapy? // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2014. Jul. 11(7):413–31.

Andrews N.W. Regulated secretion of conventional lysosomes // *Trends. Cell. Biol.* 2000. 10: 316–321.

Apetoh L., Ghiringhelli F., Tesniere A. et al. Toll-like receptor 4-dependent contribution of the immune system to anticancer chemotherapy and radiotherapy // *Nature Med.* 2007a. (13): 1050–1059.

Apetoh L., Ghiringhelli F., Tesniere A. et al. The interaction between HMGB1 and TLR4 dictates the outcome of anticancer chemotherapy and radiotherapy // *Immunol. Rev.* 2007b. 220: 47–59.

Asadullah K., Sterry W., Volk H.D. Interleukin-10 therapy – review of a new approach // *Pharmacol. Rev.* 2003. 55 (2): 241–269.

Audia S., Nicolas A., Cathelin D. et al. Increase of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral blood of patients with metastatic carcinoma: a Phase I clinical trial using cyclophosphamide and immunotherapy to eliminate CD4+CD25+ T lymphocytes // *Clin. Exp. Immunol.* 2007. 150(3): 523–530.

Bachiredy P., Rakhra K., Felsher D.W. Immunology in the clinic review series; focus on cancer: multiple roles for the immune system in oncogene addiction // Clin. Exp. Immunol. 2012. Feb. 167(2): 188–194.

Badariotti F., Kyriotou M., Lelong C. et al. The Phylogenetically Conserved Molluscan Chitinase-like Protein 1 (Cg-Clp1), Homologue of Human HC-gp39, Stimulates Proliferation and Regulates Synthesis of Extracellular Matrix Components of Mammalian Chondrocytes // J. Biol. Chem. 2006. 281: 29583–96.

Baldan A., Gomes A.V., Ping P., Edwards P.A. Loss of ABCG1 Results in Chronic Pulmonary Inflammation // J. Immunol. 2008. 180: 3560–8.

Bakacs T., Mehrishi J.N. Breast and other cancer dormancy as a therapeutic endpoint: speculative recombinant T cell receptor ligand (RTL) adjuvant therapy worth considering? // BMC Cancer. 2010. 10:251.

Bailey S.R., Nelson M.H., Himes R.A. et al. Th17 cells in cancer: the ultimate identity crisis // Front. Immunol. 2014. 5: 276.

Barcellos-Hoff M.H., Lyden D., Wang T.C. The evolution of the cancer niche during multistage carcinogenesis // Nat. Rev. Cancer. 2013. Jul. 13(7): 511–8.

Baselga J., Bradbury I., Eidtmann H. et al. NeoALTTO Study Team: Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial // Lancet. 2012. Feb. 18. 379(9816): 633–40.

Beijnen J.H., Schellens J.H. Personalized medicine in oncology: a personal view with myths and facts // Curr. Clin. Pharmacol. 2010. 5(3): 141–147.

Bell D.W. Our changing view of the genomic landscape of cancer // J. Pathol. 2010. 220(2): 231–243.

Bellovin D.I., Das B., Felsher D.W. Tumor Dormancy, Oncogene Addiction, Cellular Senescence and Self-Renewal Programs // Adv. Exp. Med. Biol. 2013. 734: 91–107.

Ben-Baruch A. Inflammatory cells, cytokines and chemokines in breast cancer progression: reciprocal tumor-microenvironment interactions // Breast. Cancer. Res. 2003. 5: 31–36.

Bernardi D., Podsiadek M., Zaninotto M. et al. YKL-40 as a marker of joint involvement in inflammatory bowel disease // Clin. Chem. 2003. 49: 1685–8.

Bertheau P., Lerebours F., Mounier N. et al. Prognostic significance of a combined clinicopathologic score for response to primary systemic therapy in locally advanced breast cancer // Oncol. Rep. 2005. Vol. 14, no 2. P. 513–520.

Bhatia S., Frangioni J.V., Hoffman R.M. et al. The challenges posed by cancer heterogeneity // Nat. Biotechnol. 2012. Jul. 10. 30(7): 604–10.

Bigg H.F., Wait R., Rowan A.D., Cawston T.E. The mammalian chitinase-like lectin, YKL-40, binds specifically to type I collagen and modulates the rate of type I collagen fibril formation // J. Biol. Chem. 2006. 281: 21082–95.

Bignell G.R., Greenman C.D., Davies H. et al. Signatures of mutation and selection in the cancer genome // Nature. 2010. 463(7283): 893–898.

Bingisser R., Tilbrook P., Holt P., Kees U. Macrophage-derived nitric oxide regulates T-cell activation via reversible disruption of the Jak3/STAT5 signaling pathway // *J. Immunol.* 1998. 160: 5729–5734.

Bissell M.J., Hines W.C. Why don't we get more cancer? A proposed role of the microenvironment in restraining cancer progression // *Nat. Med.* 2011. 17(3): 320–329.

Biswas S.K., Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm // *Nat. Immunol.* 2010. Oct. 11(10). P. 889–96.

Blank C.U., Enk A. Therapeutic use of anti-CTLA-4 antibodies // *Int. Immunol.* 2015. Jan. 27(1): 3–10.

Bogels M., Braster R., Nijland P.G. et al. Carcinoma origin dictates differential skewing of monocyte function // *Oncoimmunol.* 2012. Sep. 1. 1(6): 798–809.

Bonadonna G., Valagussa P., Brambilla C. et al. Primary chemotherapy in operable breast cancer: eight-year experience at the Milan Cancer Institute // *J. Clin. Oncol.* 1998. Vol. 16, no 1. P. 93–100.

Bonecchi R., Locati M., Mantovani A. Chemokines and cancer: a fatal attraction // *Cancer Cell.* 2011. Apr. 12. 19(4): 434–5.

Boot R.G., Blommaert E.F., Swart E. et al. Identification of a novel acidic mammalian chitinase distinct from chitotriosidase // *J. of Biol. Chem.* 2001. 276: 6770–6778.

Boot R.G., Bussink A.P., Aerts J.M. Human acidic mammalian chitinase erroneously known as eosinophil chemotactic cytokine is not the ortholog of mouse YM1 // *J. Immunol.* 2005. 175: 2041–2.

Boot R.G., Renkema G.H., Strijland A. et al. Cloning of a cDNA encoding chitotriosidase, a human chitinase produced by macrophages // *J. of Biol. Chem.* 270: 26252–26256.

Boot R.G., van Achterberg T.A., van Aken B.E. et al. Strong induction of members of the chitinase family of proteins in atherosclerosis: chitotriosidase and human cartilage gp-39 expressed in lesion macrophages // *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* 1999. 19: 687–694.

Boshoff C., Weiss R. AIDS-related malignancies // *Nat. Rev. Cancer.* 2002. 2: 373–382.

Brabletz T., Jung A., Dag S. et al. Beta-catenin regulates the expression of the matrix metalloproteinase-7 in human colorectal cancer // *Am. J. Pathol.* 1999. 155: 1033–1038.

Bracci L., Schiavoni G., Sistigu A., Belardelli F. Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer // *Cell. Death. and Differentiation.* 2014. 21: 15–25.

Brasso K., Christensen I.J., Johansen J.S. et al. Prognostic value of PINP, bone alkaline phosphatase, CTX-I, and YKL-40 in patients with metastatic prostate carcinoma // *Prostate.* 2006. 66: 503–513.

Bryniarski K., Szczepanik M., Ptak M. *et al.* Influence of cyclophosphamide and its metabolic products on the activity of peritoneal macrophages in mice // *Pharmacol. Rep.* 2009. 1: 550–557.

Buddingh E.P., Kuijjer M.L., Duim R.A. *et al.* Tumor-infiltrating macrophages are associated with metastasis suppression in high-grade osteosarcoma: a rationale for treatment with macrophage activating agents // *Clin. Cancer. Res.* 2011. Apr. 15. 17(8): 2110-9.

Buldakov M., Zavyalova M., Krakhmal N. *et al.* CD68+, but not stabilin-1+ tumor associated macrophages in gaps of ductal tumor structures negatively correlate with the lymphatic metastasis in human breast cancer // *Immunobiology.* 2015. Sep. 8; pii: S0171-2985(15): 30062-0.

Burton J.H., Mitchell L., Thamm D.H. *et al.* Low-dose cyclophosphamide selectively decreases regulatory T cells and inhibits angiogenesis in dogs with soft tissue sarcoma // *J. Vet. Intern. Med.* 2011. 25(4): 920–6.

Byrski T., Gronwald J., Huzarski T. *et al.* Pathologic complete response rates in young women with BRCA1-positive breast cancers after neoadjuvant chemotherapy // *J. Clin. Oncol.* 2010. Jan. 20. 28(3): P. 375–9.

Byrski T., Huzarski T., Dent R. *et al.* Pathologic complete response to neoadjuvant cisplatin in BRCA1-positive breast cancer patients // *Breast Cancer Res. Treat.* 2014. Sep. 147(2): 401–5.

Campbell M.J., Tonlaar N.Y., Garwood E.R. *et al.* Proliferating macrophages associated with high grade, hormone receptor negative breast cancer and poor clinical outcome // *Breast Cancer Res. Treat.* 2011. Aug. 128(3): 703–11.

Carey L., Winer E., Viale G. *et al.* Triple-negative breast cancer: disease entity or title of convenience? // *Nature reviews Clinical oncology.* 2010. Vol. 7, no 12. P. 683–692.

Carson W.E., Shapiro C.L., Cressin T.R. *et al.* Cellular immunity in breast cancer patients completing taxane treatment // *Clin. Cancer Res.* 2004. 10: 3401–3409.

Casares N., Pequignot M.O., Tesniere A. *et al.* Caspase-dependent immunogenicity of doxorubicin-induced tumor cell death // *J. Exp. Med.* 2005. 202: 1691–1701.

Catalogue of Somatic Mutations in Cancer [<http://www.sanger.ac.uk/cosmic>]. 2010. Vol. 47.

Chang N.C., Hung S.I., Hwa K.Y. *et al.* A macrophage protein, Ym1, transiently expressed during inflammation is a novel mammalian lectin // *J. Biol. Chem.* 2001. May 18. 276(20): 17497–506.

Chang W.J., Du Y., Zhao X. *et al.* Inflammation-related factors predicting prognosis of gastric cancer // *World J. Gastroenterol.* 2014. Apr. 28. 20(16): 4586–96.

Chaturvedi M.M., Sung B., Yadav V.R. *et al.* NF- κ B addiction and its role in cancer: ‘one size does not fit all’ // *Oncogene.* 2011. 30(14): 1615–1630.

Chen J., Huang X.F. Interleukin-6 promotes carcinogenesis through multiple signal pathways. Comment on: Clinical significance of interleukin-6 gene polymor-

phism and IL-6 serum level in pancreatic adenocarcinoma and chronic pancreatitis // Dig. Dis. Sci. 2009. Jun. 54(6): 1373–4.

Chen J., Li Y., Yu T.S. *et al.* A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy // Nature. 2012. 488: 522–526.

Cherdyntseva N.V., Gervas P.A., Litvyakov N.V. *et al.* Age-related function of tumor suppressor gene TP53: contribution to cancer risk and progression // Exp. oncology. 2010. 32 (3): 205–208.

Chupp G.L., Lee C.G., Jarjour N. *et al.* A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma // N. Engl. J. Med. 2007. Nov. 15. 357(20): 2016–27.

Ciani O., Davis S., Tappenden P. *et al.* Validation of surrogate endpoints in advanced solid tumors: systematic review of statistical methods, results, and implications for policy makers // Int. J. Technol. Assess Health Care. 2014. 30(3): 312–324.

Cintin C., Johansen J.S., Christensen I.J. *et al.* High serum YKL-40 level after surgery for colorectal carcinoma is related to short survival // Cancer. 2002. 95: 267–374.

Coghlin C., Murray G.I. Current and emerging concepts in tumour metastasis // J. Pathol. 2010.

Colin C., Baeza N., Bartoli C. *et al.* Identification of genes differentially expressed in glioblastoma versus pilocytic astrocytoma using Suppression Subtractive Hybridization // Oncogene. 2006. 25: 2818–26.

Colton C.A., Mott R.T., Sharpe H. *et al.* Expression profiles for macrophage alternative activation genes in AD and in mouse models of AD // J. Neuroinflammation. 2006. 3: 27.

Connor J.R., Dodds R.A., Emery J.G. *et al.* Human cartilage glycoprotein 39 (HC gp-39) mRNA expression in adult and fetal chondrocytes, osteoblasts and osteocytes by in-situ hybridization // Osteoarthritis Cartilage. 2000. 8: P. 87–95.

Conrozier T., Carlier M.C., Mathieu P. *et al.* Serum levels of YKL-40 and C reactive protein in patients with hip osteoarthritis and healthy subjects: a cross sectional study // Ann. Rheum. Dis. 2000. 59: 828–831.

Correia A.L., Bissell M.J. The tumor microenvironment is a dominant force in multidrug resistance // Drug. Resist. Updat. 2012. 15(0). P. 39–49.

Curiel T.J. Treg and rethinking cancer immunotherapy // The J. of Clinical Investigation. 2007. 117 (5): 1167–1174.

Curiel T.J., Coukos G., Zou L. *et al.* Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival // Nature Medicine. 2004. 10(9): 942–949.

D'Ambrosio R., Della Corte C., Colombo M. Hepatocellular Carcinoma in Patients with a Sustained Response to Anti-Hepatitis C Therapy // Int. J. Mol. Sci. 2015. Aug. 19. 16(8): 19698–712.

Dayyani F., Etzel C.J., Liu M. *et al.* Meta-analysis of the impact of human papillomavirus (HPV) on cancer risk and overall survival in head and neck squamous cell carcinomas (HNSCC) // Head. Neck. Oncol. 2010. Jun. 29. 2: 15.

de Azambuja E., Holmes A.P., Piccart-Gebhart M. et al. Lapatinib with trastuzumab for HER2-positive early breast cancer (NeoALTTO): survival outcomes of a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial and their association with pathological complete response // *Lancet. Oncol.* 2014. Sep. 15(10): 1137–46.

De Ceuninck F., Marcheteau E., Berger S. et al. Assessment of some tools for the characterization of the human osteoarthritic cartilage proteome // *J. Biomol. Tech.* 2005. 16: 256–265.

Delyon J., Maio M., Lebbé C. The ipilimumab lesson in melanoma: achieving long-term survival // *Semin. Oncol.* 2015. Jun. 42(3): 387–401.

Demicheli R., Retsky M.W., Hrushesky W.J. et al. The effects of surgery on tumor growth: a century of investigations // *Ann. Oncol.* 2008. 19(11): 1821–1828.

DeNardo D.G., Brennan D.J., Rexhepaj E. et al. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy // *Cancer Discov.* 2011. 1 (1): 54–67.

DeNardo D.G., Johansson M., Coussens L.M. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis // *Cancer Metastasis Rev.* 2008. 27: P. 11–18.

Denisov E.V., Litviakov N.V., Zavyalova M.V. et al. Intratumoral morphological heterogeneity of breast cancer: neoadjuvant chemotherapy efficiency and multidrug resistance gene expression // *Sci. Rep.* 2014. Apr. 16.4: 4709.

Denisov E.V., Skryabin N.A., Vasilyev S.A. et al. Relationship between morphological and cytogenetic heterogeneity in invasive micropapillary carcinoma of the breast: a report of one case. // *J. Clin. Pathol.* 2015. Sep. 68(9): 758–762.

Diefenbach C.S., Shah Z., Iasonos A. et al. Preoperative serum YKL-40 is a marker for detection and prognosis of endometrial cancer // *Gynecol. Oncol.* 2006.

Ding L., Ellis M.J., Li S. et al. Genome remodelling in a basal-like breast cancer metastasis and xenograft // *Nature.* 2010. 464(7291): 999–1005.

Doloff J.C., Waxman D.J. VEGF receptor inhibitors block the ability of metronomically dosed cyclophosphamide to activate innate immunity-induced tumor regression // *Cancer Res.* 2012. (72): 1103–1115.

Dorai T., Aggarwal B.B. Role of chemopreventive agents in cancer therapy // *Cancer Lett.* 2004. Vol. 215, no 2. P. 129–140.

Draghiciu O., Lubbers J., Nijman H.W., Daemen T. Myeloid derived suppressor cells-An overview of combat strategies to increase immunotherapy efficacy // *Oncoimmunol.* 2015. 3. 4(1): e954829.

Du H., Masuko-Hongo K., Nakamura H. et al. The prevalence of autoantibodies against cartilage intermediate layer protein, YKL-39, osteopontin, and cyclic citrullinated peptide in patients with early-stage knee osteoarthritis: evidence of a variety of autoimmune processes // *Rheumatol. Int.* 2005. 26: 35–41.

Dudley M.E., Wunderlich J.R., Yang J.C. et al. Adoptive cell transfer therapy following non-myeloablative but lymphodepleting chemotherapy for the treatment of patients with refractory metastatic melanoma // *J. Clin. Oncol.* 2005. 23: 2346–2357.

Dyer M.A., Bremner R. The search for the retinoblastoma cell of origin // *Nat. Rev. Cancer.* 2005. 5(2). P. 91–101.

Ehrke M.J. Immunomodulation in cancer therapeutics // *International Immunopharmacol.* 2003. 3 (8): 1105–1119.

Eidenzon D., Shamroni D., Volovodenco V. et al. Multidimensional data visualization and analysis with NovoSpark® Visualizer. Электрон. дан. Режим доступа: <http://www.tsu.ru/storage/iro/k020410/s4/s4.doc>

Eiro N., Pidal I., Fernandez-Garcia B. et al. Impact of CD68/(CD3+CD20) ratio at the invasive front of primary tumors on distant metastasis development in breast cancer // *PLoS One.* 2012. 7(12):e52796.

Elias J.A., Homer R.J., Hamid Q., Lee C.G. Chitinases and chitinase-like proteins in T H 2 inflammation and asthma // *J. of allergy and clinical immunol.* 2005. 116: 497–500.

Erdmann J. Recent studies attempt to clarify relationship between oral cancer and human papillomavirus // *J. Natl. Cancer Inst.* 2003. 95: 638–639.

Fach E.M., Garulacan L.A., Gao J. et al. In vitro biomarker discovery for atherosclerosis by proteomics // *Mol. Cell. Proteomics.* 2004. 3: 1200–10.

Fehlings M., Drobbe L., Moos V. et al. Comparative analysis of the interaction of *Helicobacter pylori* with human dendritic cells, macrophages, and monocytes // *Infect. Immun.* 2012. Aug. 80(8): 2724–2734.

Feng B., Li K., Zhong H. et al. RhoE promotes metastasis in gastric cancer through a mechanism dependent on enhanced expression of CXCR4 // *PLoS One.* 2013. Nov. 29. 8(11): e81709.

Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 // *Int. J. Cancer.* 2010. 127(12): 2893–2917.

Ferriere J.P., Assier I., Cure H. et al. Primary chemotherapy in breast cancer: correlation between tumor response and patient outcome // *Am. J. Clin. Oncol.* 1998. Vol. 21, no 2. P. 117–120.

Fisher B., Bryant J., Wolmark N. et al. Effect of preoperative chemotherapy on the outcome of women with operable breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 1998. Vol. 16, no 8. P. 2672–85.

Fisher R., Pusztai L., Swanton C. Cancer heterogeneity: implications for targeted therapeutics // *Br. J. Cancer.* 2013.

Forssell J., Oberg A., Henriksson M.L. et al. High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer // *Clin. Cancer Res.* 2007. Mar. 1. 13(5): 1472–9.

Fridman W.H., Teillaud J.-L., Sautès-Fridman C. et al. The ultimate goal of curative anti-cancer therapies: inducing an adaptive anti-tumor immune response // *Front. Immunol.* 2011. 2: 66.

Fusetti F., Pijning T., Kalk K.H. et al. Crystal structure and carbohydrate-binding properties of the human cartilage glycoprotein-39 // *J. Biol. Chem.* 2003. Sep. 26. 278(39): 37753–60.

Fusetti F., von Moeller H., Houston D. et al. Structure of human chitotriosidase. Implications for specific inhibitor design and function of mammalian chitinase-like lectins // *J. Biol. Chem.* 2002. Jul. 12. 277(28): 25537–44.

Gabrilovich D.I., Nagaraj S. Myeloid-derived-suppressor cells as regulators of the immune system // *J. Immunol.* 2009. 9(3): 162–174.

Gao D., Vahdat L.T., Wong S. et al. Microenvironmental regulation of epithelial-mesenchymal transitions in cancer // *Cancer. Res.* 2012. Oct. 1. 72(19): 4883–9.

Gao Q., Qiu S.J., Fan J. et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection // *J. Clin. Oncol.* 2007. Jun. 20. 25(18): 2586–93.

Gardai S.J., McPhillips K.A., Frasca S.C. et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through transactivation of LRP on the phagocyte // *Cell.* 2005. 123: 321–334.

Garcia-Palacios V., Chung H.Y., Choi S.J. et al. Eosinophil chemotactic factor-L (ECF-L) enhances osteoclast formation by increasing ICAM-1 expression // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2006. 1068: 240–3.

Garcia-Palacios V., Chung H.Y., Choi S.J. et al. Eosinophil chemotactic factor-L (ECF-L) enhances osteoclast formation by increasing in osteoclast precursors expression of LFA-1 and ICAM-1 // *Bone.* 2007. 40: 316–22.

Gasser S., Orsulic S., Brown E.J., Raulet D.H. The DNA damage pathway regulates innate immune system ligands of the NKG2D receptor // *Nature.* 2005. 436: 1186–1190.

Gatenby R.A., Silva A.S., Gillies R.J., Frieden B.R. Adaptive Therapy // *Cancer Res.* 2009. 69(11): 4894–4903.

Geissmann F., Manz M.G., Jung S. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells // *Science.* 2010. 327: 656–61; PMID:20133564; <http://dx>.

Gerashchenko T.S., Denisov E.V., Litviakov N.V. et al. Intratumor heterogeneity: nature and biological significance // *Biochemistry (Mosc).* 2013. Nov. 78(11): 1201–15.

Gerlinger M., Rowan A.J., Horswell S. et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing // *N. Engl. J. Med.* 2012. 366: 883–92.

Ghiringhelli F., Larmonier N., Schmitt E. et al. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative // *Eur. J. Immunol.* 2004. 34 (2): 336–344.

Ghiringhelli F., Menard C., Puig P.E. et al. Metronomic cyclophosphamide regimen selectively depletes CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and restores T and NK effector functions in end stage cancer patients // *Cancer. Immunol. Immunother.* 2007. 56(5): 641–8.

Ghosh P., Dahms N.M., Kornfeld S. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 2003. 4: 202–12.

Gianni L., Eiermann W., Semiglazov V. et al. Neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab followed by adjuvant trastuzumab versus neoadjuvant chemotherapy alone, in patients with HER2-positive locally advanced breast cancer (the NOAH

trial): a randomised controlled superiority trial with a parallel HER2-negative cohort // *Lancet*. 2010. Jan. 30. 375(9712): 377–84.

Gianni L., Pienkowski T., Im Y.H. *et al.* Efficacy and safety of neoadjuvant pertuzumab and trastuzumab in women with locally advanced, inflammatory, or early HER2-positive breast cancer (NeoSphere): a randomised multicentre, open-label, phase 2 trial // *Lancet. Oncol.* 2012. Jan. 13(1): 25–32.

Giordano A., Gao H., Anfossi S. *et al.* Epithelial-mesenchymal transition and stem cell markers in patients with HER2-positive metastatic breast cancer // *Mol. Cancer. Ther.* 2012. Nov. 11(11): 2526–34.

Godin-Heymann N., Ulkus L., Brannigan B.W. *et al.* The T790M "gatekeeper" mutation in EGFR mediates resistance to low concentrations of an irreversible EGFR inhibitor // *Mol. Cancer. Ther.* 2008. Apr. 7(4): 874–9.

Gonzalez-Angulo A.M., Walters R.S., Carpenter R.J. Jr. *et al.* Paclitaxel chemotherapy in a pregnant patient with bilateral breast cancer // *Clin. Breast. Cancer*. 2004. Oct. 5(4): 317–9.

Gordon S., Mantovani A. Diversity and plasticity of mononuclear phagocytes. *Eur // J. Immunol.* 2011. Sep. 41(9): 2470–2.

Gottesman M.M., Fojo T., Bates S.E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters // *Nat. Rev. Cancer*. 2002. Vol. 2, no 1. P. 48–58.

Gratchev A., Kzhyshkowska J., Kannoakadan S. Activation of a TGF-beta-specific multistep gene expression program in mature macrophages requires glucocorticoid-mediated surface expression of TGF-beta receptor // *J. Immunol.* 2008a. May. 15. 180(10): 6553–65.

Gratchev A., Kzhyshkowska J., Kothe K. Mphi1 and Mphi2 can be re-polarized by Th2 or Th1 cytokines, respectively, and respond to exogenous danger signals // *Immunobiol.* 2006. 211(6–8): 473–86.

Gratchev A., Kzhyshkowska J., Utikal J., Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counterregulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand // J. Immunol.* 2005. Jan. 61(1): 10–7.

Gratchev A., Ovsy I., Manousaridis I. *et al.* Novel monocyte biomarkers of atherogenic conditions // *Curr. Pharm. Des.* 2013. 19(33): 5859–64.

Gratchev A., Schmuttermayer C., Mamidi S. *et al.* Expression of Osteoarthritis Marker YKL-39 is Stimulated by Transforming Growth Factor Beta (TGF-beta) and IL-4 in Differentiating Macrophages // *Biomark Insights*. 2008b. Feb. 14. 3: 39–44.

Greaves M., Maley C.C. Clonal evolution in cancer // *Nature*. 2012. Jan. 18. 481(7381): 306–13.

Grivennikov S.I., Greten F.R., Karin M. Immunity, Inflammation, and Cancer // *Cell*. 2010. 140 (6): 883–899.

Gulubova M., Ananiev J., Yovchev Y. *et al.* The density of macrophages in colorectal cancer is inversely correlated to TGF-β1 expression and patients' survival // *J. Mol. Histol.* 2013. Dec. 44(6): 679–92.

Guo L., Johnson R.S., Schuh J.C. Biochemical characterization of endogenously formed eosinophilic crystals in the lungs of mice // *J. Biol. Chem.* 2000. 275: 8032–7.

Hakala B., White C., Recklies A. Human cartilage gp-39, a major secretory product of articular chondrocytes and synovial cells, is a mammalian member of a chitinase protein family // *J. of Biol. Chem.* 268: 25803–25810.

Ham M., Moon A. Inflammatory and microenvironmental factors involved in breast cancer progression // *Arch. Pharm. Res.* 2013. Dec. 36(12): 1419–31.

Hanahan D., Coussens L.M. Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment // *Cancer Cell.* 2012. 21(3): 309–322.

Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell.* 2011. 144: 646–674.

Hannani D., Sistigu A., Kepp O. et al. Prerequisites for the antitumor vaccine-like effect of chemotherapy and radiotherapy // *Cancer J.* 2011. 17 (5): 351–358.

Hanson E.M., Clements V.K., Sinha P. et al. Myeloid-derived suppressor cells down-regulate L-selectin expression on CD4+ and CD8+ T cells // *J. Immunol.* 2009. 183: 937–44.

Harari O., Liao J.K. Inhibition of MHC II gene transcription by nitric oxide and antioxidants // *Curr. Pharm. Des.* 2004. 10: 893–898.

Harbord M., Novelli M., Canas B. et al. Ym1 is a neutrophil granule protein that crystallizes in p47phox-deficient mice // *J. Biol. Chem.* 2002. 277: 5468–75.

Harbst K., Lauss M., Cirenajwis H. et al. Molecular and genetic diversity in the metastatic process of melanoma // *J. Pathol.* 2014. 233: 39–50.

Harvey S., Weisman M., O'Dell J. et al. Chondrex: new marker of joint disease // *Clin. Chem.* 1998. 44: 509–16.

Hayes D.F. Determination of clinical utility of tumor markers: a tumor marker utility grading system // *Recent. Results. Cancer Res.* 1998. 152: 71–85.

Hayes D.F., Bast R.C., Desch C.E. et al. Tumor marker utility grading system: a framework to evaluate clinical utility of tumor markers // *J. Natl. Cancer. Inst.* 1996. 88: 1456–66.

Heusinkveld M., de Vos van Steenwijk P.J., Goedemans R. et al. M2 macrophages induced by prostaglandin E2 and IL-6 from cervical carcinoma are switched to activated M1 macrophages by CD4+ Th1 cells // *J. Immunol.* 2011. Aug. 1. 187(3): 1157–65.

Heindryckx F., Gerwins P. Targeting the tumor stroma in hepatocellular carcinoma // *World. J. Hepatol.* 2015. Feb. 27. 7(2): 165–76.

Hiniker S.M., Chen D.S., Knox S.J. Abscopal effect in a patient with melanoma // *N. Engl. J. Med.* 2012. 366: 2035–6. author reply 2035–6. PMID:22621637.

Hock Eng A.K., Kon O.L. Molecular Genetics of Gastric Adenocarcinoma // *Proceedings of Singapore Healthcare.* 2010. 1: 57–63.

Hogdall E.V., Johansen J.S., Kjaer S.K. et al. High plasma YKL-40 level in patients with ovarian cancer stage III is related to shorter survival // *Oncol. Rep.* 2003. 10: 1535–8.

Hogenesch H., Dunham A., Seymour R. et al. Expression of chitinase-like proteins in the skin of chronic proliferative dermatitis (cpdm/cpdm) mice // *Exp. Dermatol.* 2006. 15: 808–14.

Holtan S.G., Dronca R.S., Nevala W.K. *et al.* The dynamic human immune response to cancer: it might just be rocket science // *Immunotherapy*. 2011. 3(9): 1021–1024.

Homer R.J., Zhu Z., Cohn L. *et al.* Differential expression of chitinases identify subsets of murine airway epithelial cells in allergic inflammation // *Am. J. Physiol. Lung. Cell. Mol. Physiol.* 2006. 291: L502–L511.

Hornychova H., Melichar B., Tomsova M. *et al.* Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast carcinoma // *Cancer Invest.* 2008. 26 (10): 1024–1031.

Houston D.R., Recklies A.D., Krupa J.C., van Aalten D.M. Structure and ligand-induced conformational change of the 39-kDa glycoprotein from human articular chondrocytes // *J. Biol. Chem.* 2003. Aug. 8. 278(32): 30206–12.

Hu B., Trinh K., Figueira W.F., Price P.A. Isolation and sequence of a novel human chondrocyte protein related to mammalian members of the chitinase protein family // *J. of Biological. Chemistry*. 1996. 271: 19415–19420.

Huang Y., Snuder M., Rakesh K., Jain R. Polarization of tumor-associated macrophages: A novel strategy for vascular normalization and anti-tumor immunity // *Cancer Cell*. 2011. Jan. 18. 19(1): 1–2.

Hussell T., Bell T.J. Alveolar macrophages: plasticity in a tissue-specific context. *Nat Rev // Immunol.* 2014. Feb. 14(2): 81–93.

Iwashita H., Morita S., Sagiya Y., Nakanishi A. Role of eosinophil chemotactic factor by T lymphocytes on airway hyperresponsiveness in a murine model of allergic asthma // *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.* 2006. 35: 103–9.

Iwata C., Kano M.R., Komuro A. *et al.* Inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses lymph node metastasis via reduction of lymphangiogenesis // *Cancer Res.* 2007. 67. 10181.

Jayaprakash V., Reid M., Hatton E. *et al.* Human papillomavirus types 16 and 18 in epithelial dysplasia of oral cavity and oropharynx: a meta-analysis, 1985–2010 // *Oral. Oncol.* 2011. Nov. 47(11): 1048–54.

Jiang Y., Wang M. Personalized medicine in oncology: tailoring the right drug to the right patient // *Biomark. Med.* 2010. 4(4): 523–33.

Johansen J.S., Jensen H.S., Price P.A. A new biochemical marker for joint injury. Analysis of YKL-40 in serum and synovial fluid. // *Br. J. Rheumatol.* 1993. 32: 949–55.

Johansen J.S., Jensen B.V., Roslind A. *et al.* Serum YKL-40, a new prognostic biomarker in cancer patients? // *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006. Feb. 15(2): 194–202.

Johansen J.S., Jensen B.V., Roslind A., Price P.A. Is YKL-40 a new therapeutic target in cancer? // *Expert Opin. Ther. Targets.* 2007. 11: 219–34.

Johansen J.S., Krabbe K.S., Moller K., Pedersen B.K. Circulating YKL-40 levels during human endotoxaemia // *Clin. Exp. Immunol.* 2005. 140: 343–8.

Johansen J.S., Olee T., Price P.A. *et al.* Regulation of YKL-40 production by human articular chondrocytes // *Arthritis Rheum.* 2001. Apr. 44(4): 826–37.

Johansen J.S., Stoltenberg M., Hansen M. et al. Serum YKL-40 concentrations in patients with rheumatoid arthritis: relation to disease activity // *Rheumatology (Oxford)*. 1999. 38: 618–26.

Johansen J.S., Williamson M.K., Rice J.S., Price P.A. Identification of proteins secreted by human osteoblastic cells in culture // *J. Bone. Miner. Res.* 1992. May. 7(5): 501–12.

Johnson-Holiday C., Singh R., Johnson E. et al. CCL25 mediates migration, invasion and matrix metalloproteinase expression by breast cancer cells in a CCR9-dependent fashion // *Int. J. Oncol.* 2011. May. 38(5): 1279–85.

Jones S., Zhang X., Parsons D.W. et al. Core signaling pathways in human pancreatic cancers revealed by global genomic analyses // *Science*. 2008. 321(5897): 1801–1806.

Jones S.A., Scheller J., Rose-John S. Therapeutic strategies for the clinical blockade of IL-6/gp130 signaling // *J. Clin. Invest.* 2011. Sep. 121(9): 3375–83.

Juang C.M., Hung C.F., Yeh J.Y. Regulatory T cells: potential target in anticancer immunotherapy. Taiwan // *J. Obstet. Gynecol.* 2007. 46 (3): 215–221.

Jung J.-H., Im S., Jung E.S. et al. Clinicopathological Implications of the Expression of Hypoxia-related Proteins in Gastric Cancer // *J. Med. Sci.* 2013. 10(9): 1217–1223.

Jung A.C., Guihard S., Krugell S. et al. CD8-alpha T-cell infiltration in human papillomavirus-related oropharyngeal carcinoma correlates with improved patient prognosis // *Int. J. Cancer*. 2013. Jan. 15. 132(2): E26-36.

Junker N., Johansen J.S., Andersen C.B., Kristjansen P.E. Expression of YKL-40 by peritumoral macrophages in human small cell lung cancer // *Lung. Cancer*. 2005. 48: 223–31.

Kaigorodova E.V., Bogatyuk M.V. Heat shock proteins as prognostic markers of cancer // *Curr. Cancer Drug. Targets*. 2014. 14 (8): 713–726.

Kalia M. Personalized oncology: recent advances and future challenges // *Metabolism*. 2013. 62 (Suppl 1):11–4.

Kamal S.M., Turner B., He Q. et al. Progression of fibrosis in hepatitis C with and without schistosomiasis: correlation with serum markers of fibrosis // *Hepatology*. 2006. 43: 771–9.

Kandoth C., McLellan M.D., Vandin F. et al. Mutational landscape and significance across 12 major cancer types // *Nature*. 2013. 502: 333–9.

Karikoski M., Marttila-Ichihara F., Elima K. et al. Clever-1/stabilin-1 controls cancer growth and metastasis // *Clin. Cancer. Res.* 2014. Dec. 15. 20(24): 6452–64.

Kaufmann M., von Minckwitz G., Mamounas E.P. et al. Recommendations from an international consensus conference on the current status and future of neoadjuvant systemic therapy in primary breast cancer // *Annals of surgical oncology*. 2012. Vol. 19, no 5. P. 1508–1516.

Keogh B. Era of Personalized Medicine May Herald End of Soaring Cancer Costs // *Oxford J. Medicine & Health JNCI. J. Natl. Cancer Inst.* 2012. 104 (1): 12–17.

Kim A., Eng H. Molecular Genetics of Gastric Adenocarcinoma // Proceedings of Singapore Healthcare. 2010. 19: 57–63.

Knorr T., Obermayr F., Bartnik E. et al. YKL-39 (chitinase 3-like protein 2), but not YKL-40 (chitinase 3-like protein 1), is up regulated in osteoarthritic chondrocytes // Ann. Rheum. Dis. 2003. 62: 995–8.

Knutson K.L., Dang Y., Lu H. et al. IL-2 immunotoxin therapy modulates tumor-associated regulatory T cells and leads to lasting immune-mediated rejection of breast cancers in neu-transgenic mice // J. Immunol. 2006. 177: 84–91.

Kodumudi K.N., Woan K., Gilvary D.L. et al. A novel chemoimmunomodulating property of docetaxel: suppression of myeloid-derived suppressor cells in tumor bearers // Clin. Cancer. Res. 2010. 16: 4583–94.

Kornfeld S., Mellman I. The biogenesis of lysosomes // Annu. Rev. Cell. Biol. 1989. 5: 483–525.

Kopp H.G., Ramos C.A., Rafii S. Contribution of endothelial progenitors and proangiogenic hematopoietic cells to vascularization of tumor and ischemic tissue // Curr. Opin. Hematol. 2006. May. 13(3): 175–81.

Kreso A., O'Brien C.A., van Galen P. et al. Variable Clonal Repopulation Dynamics Influence Chemotherapy Response in Colorectal Cancer // Science. 2013. 339: 543–548.

Kronborg G., Ostergaard C., Weis N. et al. Serum level of YKL-40 is elevated in patients with Streptococcus pneumoniae bacteremia and is associated with the outcome of the disease // Scand. J. Infect. Dis. 2002. 34: 323–6.

Kruijff E.M. de, Nes J.G. H van, Sajet A. et al. The Predictive Value of HLA Class I Tumor Cell Expression and Presence of Intratumoral Tregs for Chemotherapy in Patients with Early Breast Cancer // Clin. Cancer. Res. 2010. 16 (4).

Kuilman T., Michaloglou C., Vredevelde L.C. et al. Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network // Cell. 2008. 133: 1019–31.

Kusmartsev S., Nefedova Y., Yoder D., Gabrilovich D.I. Antigen-specific inhibition of CD8+ T cell response by immature myeloid cells in cancer is mediated by reactive oxygen species // J. Immunol. 2004. 172: 989–999.

Kzhyshkowska J., Gratchev A., Brundiers H. et al. Phosphatidylinositol 3-kinase activity is required for stabilin-1-mediated endosomal transport of acLDL // Immunobiol. 2005. 210: 161–73.

Kzhyshkowska J., Gratchev A., Goerdt S. Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer // Biomark. Insights. 2007a. May. 3.2: 128–46.

Kzhyshkowska J., Gratchev A., Goerdt S. Stabilin-1, a homeostatic scavenger receptor with multiple functions // J. Cell. Mol. Med. 2006a. Jul.–Sep. 10(3): 635–49.

Kzhyshkowska J., Gratchev A., Martens J.H. et al. Stabilin-1 localizes to endosomes and the trans-Golgi network in human macrophages and interacts with GGA adaptors // J. Leukoc. Biol. 2004. Dec.76(6): 1151–61.

- Kzhyshkowska J., Gratchev A., Schmutzmaier C. et al.* Alternatively activated macrophages regulate extracellular levels of the hormone placental lactogen via receptor-mediated uptake and transcytosis // *J. Immunol.* 2008. Mar. 1. 180(5): 3028–37.
- Kzhyshkowska J., Mamidi S., Gratchev A. et al.* Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway // *Blood.* 2006b. Apr. 15. 107(8): 3221–8.
- Kzhyshkowska J., Marciniak-Czochra A., Gratchev A.* Perspectives of mathematical modelling for understanding of intracellular signalling and vesicular trafficking in macrophages // *Immunobiol.* 2007b. 212: 813–25.
- Kzhyshkowska J., Neyen C., Gordon S.* Role of macrophage scavenger receptors in atherosclerosis // *Immunobiol.* 2012. May. 217(5): 492–502.
- Kzhyshkowska J., Workman G., Cardó-Vila M.* Novel function of alternatively activated macrophages: stabilin-1-mediated clearance of SPARC // *J. Immunol.* 2006c. May. 15. 176(10): 5825–32.
- Lafont V., Sanchez F., Laprevotte E. et al.* Plasticity of $\gamma\delta$ T Cells: Impact on the Anti-Tumor Response // *Front. Immunol.* 2014. 5: 622.
- Langley R.R., Fidler I.J.* The seed and soil hypothesis revisited--the role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs // *Int. J. Cancer.* 2011. Jun. 1. 128(11): 2527–35.
- Larsen S.K., Gao Y., Basse P.H.* NK Cells in the Tumor Microenvironment // *Crit. Rev. Oncog.* 2014. 19: 91–105.
- Lavado-Valenzuela R., Benavides M., Carabantes F. et al.* MHC class I chain-related gene A transmembrane polymorphism in Spanish women with breast cancer // *Tissue Antigens.* 2009. Jul. 74(1): 46–9.
- Lee K.M., Choi J.Y., Kang C. et al.* Genetic polymorphisms of selected DNA repair genes, estrogen and progesterone receptor status, and breast cancer risk // *Clin. Cancer. Res.* 2005. 11 (12): 4620–4626.
- Lee K., Hwang H., Nam K.T.* Immune response and the tumor microenvironment: how they communicate to regulate gastric cancer // *Gut. Liver.* 2014. Mar. 8(2): 131–9.
- Leonard G.D., Fojo T., Bates S.E.* The role of ABC transporters in clinical practice // *The Oncologist.* 2003. Vol. 8, no 5. P. 411–424.
- Leontovich A.A., Dronca R.S., Suman V.J. et al.* Fluctuation of systemic immunity in melanoma and implications for timing of therapy // *Front. Biosci. (Elite Ed).* 2012. 1 (4): 958–975.
- Li X., Hu W., Zheng X. et al.* Emerging immune checkpoints for cancer therapy // *Acta Oncol.* 2015. Sep. 11: 1–8.
- Liedtke C., Mazouni C., Hess K.R. et al.* Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2008. Mar. 10. 26(8): 1275–81.

Lin E.Y., Li J.F., Gnatovskiy L. et al. Macrophages regulate the angiogenic switch in a mouse model of breast cancer // *Cancer Res.* 2006. Dec. 1. 66(23): 11238–46.

Lin E.Y., Pollard J.W. Tumor-associated macrophages press the angiogenic switch in breast cancer // *Cancer Res.* 2007. Jun. 1. 67(11): 5064–6.

Ling H., Recklies A.D. The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 inhibits cellular responses to the inflammatory cytokines interleukin-1 and tumour necrosis factor-alpha // *Biochem. J.* 2004. 380: 651–9.

Lissoni P., Fumagalli L., Brivio F. et al. Cancer chemotherapy-induced lymphocytosis: a revolutionary discovery in the medical oncology // *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.* 2006. 20 (1–2): 29–35.

Li Y., Dalli J., Chiang N. et al. Plasticity of leukocytic exudates in resolving acute inflammation is regulated by MicroRNA and proresolving mediators // *Immunity.* 2013. Nov. 14. 39(5): 885–98.

Liedtke C., Mazouni C., Hess K.R. et al. Response to neoadjuvant therapy and long-term survival in patients with triple-negative breast cancer // *J. of Clin. Oncology.* 2008. Vol. 26, no 8. P. 1275–1281.

Liu P., Jaffar J., Hellstrom I., Hellstrom K.E. Administration of cyclophosphamide changes the immune profile of tumor-bearing mice // *J. Immunother.* 2010. 33: 53–59.

Liyange U.K., Moore T.T., Joo H.-G. et al. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinomas // *J. of Immunol.* 2002. 169: 2756–2761.

Lofdahl B., Ahlin C., Holmqvist M. et al. Inflammatory cells in node-negative breast cancer // *Acta Oncol.* 2012. May. 51(5): 680–6.

Logan M.R., Odemuyiwa S.O., Moqbel R. Understanding exocytosis in immune and inflammatory cells: the molecular basis of mediator secretion // *J. Allergy. Clin. Immunol.* 2003. 111: 923–32.

Lovly C., Horn L., Oxnard G., Pao W. 2015. EGFR c.2369C>T (T790M) Mutation in Non-Small Cell Lung Cancer. My Cancer Genome [http:// www. mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/egfr/4/](http://www.mycancergenome.org/content/disease/lung-cancer/egfr/4/)

Ludgate C.M. Optimizing cancer treatments to induce an acute immune response: radiation Abscopal effects, PAMPs, and DAMPs // *Clin. Cancer. Res.* 2012. Sep. 1. 18(17): 4522–5.

Lugade A.A., Moran J.P., Gerber S.A. et al. Local radiation therapy of B16melanoma tumors increases the generation of tumor antigen-specific effector cells that traffic to the tumor // *J. Immunol.* 2005. 174: 7516–7523.

Lutsiak M.E., Semnani R.T., De Pascalis R. et al. Inhibition of CD4(+)25+ T regulatory cell function implicated in enhanced immune response by low-dose cyclophosphamide // *Blood.* 2005. 105 (7): 2862–2868.

Lutz E.R., Wu A.A., Bigelow E. et al. Immunotherapy converts nonimmunogenic pancreatic tumors into immunogenic foci of immune regulation // *Cancer Immunol. Res.* 2014. 2: 616–31. PMID: 24942756.

Ma J., Liu J., Wang Z. *et al.* NF-kappaB-dependent microRNA-425 upregulation promotes gastric cancer cell growth by targeting PTEN upon IL-1 β induction // *Mol. Cancer*. 2014. Feb. 26. 13:40.

Ma Y., Adjemian S., Mattarollo S.R. *et al.* Anticancer chemotherapy-induced intratumoral recruitment and differentiation of antigen-presenting cells // *Immunity* 2013a;38:72941. PMID:23562161; <http://dx.doi.org/10.1016/j.immuni.2013.03.003>.

Ma Y., Adjemian S., Yang H. *et al.* ATP-dependent recruitment, survival and differentiation of dendritic cell precursors in the tumor bed after anticancer chemotherapy // *Oncoimmunology*. 2013b. 2: e24568. PMID: 23894718; [http:// dx.doi.org / 10.4161/onci.24568](http://dx.doi.org/10.4161/onci.24568).

Ma Y., Adjemian S., Galluzzi L. *et al.* Chemokines and chemokine receptors required for optimal responses to anticancer chemotherapy // *Oncoimmunol*. 2014. 3:e27663; PMID: 24800170; [http://dx](http://dx.doi.org/10.1080/21624022.2014.912345).

Mahmoud S.M., Lee A.H., Paish E.C. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer // *J. Clin. Pathol*. 2012. Feb. 65(2): 159–63.

Malanchi I., Santamaria-Martínez A., Susanto E. *et al.* Interactions between cancer stem cells and their niche govern metastatic colonization // *Nature*. 2011. Dec. 7. 481(7379): 85–9.

Mantovani A., Allavena P., Sica A., Balkwill F. Cancer-related inflammation // *Nature*. 2008. Jul. 24. 454(7203): 436–44.

Mantovani A., Garlanda C., Allavena P. Molecular pathways and targets in cancer-related inflammation // *Ann. Med*. 2010. 42(3): 161–70.

Markiewicz A., Książkiewicz M., Welnicka-Jaskiewicz M. *et al.* Mesenchymal phenotype of CTC-enriched blood fraction and lymph node metastasis formation potential // *PLoS One*. 2014. Apr. 7. 9(4):e93901.

Martens J.H., Kzhyshkowska J., Falkowski-Hansen M. *et al.* Differential expression of a gene signature for scavenger/lectin receptors by endothelial cells and macrophages in human lymph node sinuses, the primary sites of regional metastasis // *J. Pathol*. 2006. Mar. 208(4): 574–89.

Martini M., Vecchione L., Siena S. *et al.* Targeted therapies: how personal should we go? // *Nat Rev. Clin. Oncol*. 2011. 9(2): 87–97.

Matsumoto T., Tsurumoto T. Serum YKL-40 levels in rheumatoid arthritis: correlations between clinical and laboratory parameters // *Clin. Exp. Rheumatol*. 2001. 19: 655–60.

Mazouni C., Kau S.W., Frye D. *et al.* Inclusion of taxanes, particularly weekly paclitaxel, in preoperative chemotherapy improves pathologic complete response rate in estrogen receptor-positive breast cancers // *Ann. Oncol*. 2007. May. 18(5): 874–80.

Mauriac L., Durand M., Avril A., Dillhuydy J.M. Effects of primary chemotherapy in conservative treatment of breast cancer patients with operable tumors larger than 3 cm. Results of a randomized trial in a single centre // *Ann. Oncol*. 1991. Vol. 2, no 5. P. 347–54.

McAllister S.S., Weinberg R.A. The tumour-induced systemic environment as a critical regulator of cancer progression and metastasis // *Nature Cell. Biology.* 2014. 16(8): 717–727.

McLornan D.P., List A., Mufti G.J. Applying Synthetic Lethality for the Selective Targeting of Cancer // *N. Engl. J. Med.* 2014. 371: 1725–1735.

Medina-Echeverz J., Aranda F., Berraondo P. Myeloid-derived cells are key targets of tumor immunotherapy // *OncoImmunol.* 2014. 3(4).

Mego M., Mani S.A., Lee B.N. et al. Expression of epithelial-mesenchymal transition-inducing transcription factors in primary breast cancer: The effect of neoadjuvant therapy // *Int. J. Cancer.* 2012. Feb. 15. 130(4): 808–16.

Mellas N., Elmesbahi O., Masbah O., Errihani H. Neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer: current state and future // *Bull. Cancer.* 2010. 97(2): 211–23.

Melo J.V., Barnes D.J. Chronic myeloid leukaemia as a model of disease evolution in human cancer // *Nat. Rev. Cancer.* 2007. 7(6): 441–453.

Meng C.D., Zhu D.D., Jiang X.D. et al. Overexpression of interleukin-17 in tumor-associated macrophages is correlated with the differentiation and angiogenesis of laryngeal squamous cell carcinoma // *Chin. Med. J. (Engl.).* 2012. May. 125(9): 1603–7.

Millis A.J., Hoyle M., Kent L. In vitro expression of a 38,000 dalton heparin-binding glycoprotein by morphologically differentiated smooth muscle cells // *J. Cell. Physiol.* 1986. Jun. 127(3): 366–72.

Morgan R.A., Dudley M.E., Wunderlich J.R. et al. Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes // *Science.* 2006. Vol. 314, no 5796. P. 126–129.

Most R.G. van der, Currie A.J., Cleaver A.L. et al. Cyclophosphamide chemotherapy sensitizes tumor cells to TRAIL-dependent CD8 T-cell-mediated immune attack resulting in suppression of tumor growth // *PLoS One* 2009. 4: e6982.

Mozaffari F., Lindemalm C., Choudhury A. et al. NK-cell and T-cell functions in patients with breast cancer: effects of surgery and adjuvant chemo- and radiotherapy // *Br. J. Cancer.* 2007. 97 (1): 105–111.

Muller-Hermelink N., Braumuller H., Pichler B. et al. TNFR1 signaling and IFN-gamma signaling determine whether T cells induce tumor dormancy or promote multistage carcinogenesis // *Cancer Cell.* 2008. 13(6): 507–518.

Mumm J.B., Emmerich J., Zhang X. et al. IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance // *Cancer Cell.* 2011. 20 (6): 781–796.

Murta E.F., de Andrade J.M., Falcao R.P., Bighetti S. Lymphocyte subpopulations in patients with advanced breast cancer submitted to neoadjuvant chemotherapy // *Tumori.* 2000. 86 (5): 403–407.

Nagaraj S., Gupta K., Pisarev V. et al. Altered recognition of antigen is a novel mechanism of CD8 $^{+}$ T cell tolerance in cancer // *Nat. Med.* 2007. 13: 828–835.

Nagy T.A., Wroblewski L.E., Wang D. et al. β -Catenin and p120 mediate PPAR δ -dependent proliferation induced by *Helicobacter pylori* in human and rodent epithelia // *Gastroenterology*. 2011. Aug. 141(2): 553–64.

Nahrendorf M., Swirski F.K. Monocyte and macrophage heterogeneity in the heart // *Circ. Res.* 2013. Jun. 7. 112(12): 1624–33.

Naiditch H., Shurin M.R., Shurin G.V. Targeting myeloid regulatory cells in cancer by chemotherapeutic agents // *Immunol. Res.* 2011. 50: 276–285.

Nair M.G., Cochrane D.W., Allen J.E. Macrophages in chronic type 2 inflammation have a novel phenotype characterized by the abundant expression of Ym1 and Fizz1 that can be partly replicated in vitro // *Immunol. Lett.* 2003. 85: 173–80.

Nair M.G., Gallagher I.J., Taylor M.D. et al. Chitinase and Fizz family members are a generalized feature of nematode infection with selective upregulation of Ym1 and Fizz1 by antigen-presenting cells // *Infect. Immun.* 2005. 73: 385–94.

Nair S., Pillai M. Human papillomavirus and disease mechanisms: relevance to oral and cervical cancers // *Oral. Dis.* 2005. 11: 350–359.

Nakasone E.S., Askautrud H.A., Kees T. et al. Imaging tumor-stroma interactions during chemotherapy reveals contributions of the microenvironment to resistance // *Cancer Cell*. 2012. 21(4): 488–503.

Necula L.G., Chivu-Economescu M., Stanculescu E.L. et al. IL-6 and IL-11 as markers for tumor aggressiveness and prognosis in gastric adenocarcinoma patients without mutations in Gp130 subunits // *J. Gastrointest. Liver. Dis.* 2012. Mar. 21(1): 23–9.

Nishikawa K.C., Millis A.J. gp38k (CHI3L1) is a novel adhesion and migration factor for vascular cells // *Exp. Cell. Res.* 2003. 287: 79–87.

Nordenbaek C., Johansen J.S., Junker P. et al. YKL-40, a matrix protein of specific granules in neutrophils, is elevated in serum of patients with community-acquired pneumonia requiring hospitalization // *J. Infect. Dis.* 1999. 180: 1722–6.

North R.J. Cyclophosphamide-facilitated adoptive immunotherapy of an established tumor depends on elimination of tumor-induced suppressor T cells // *J. Exp. Med.* 1982. 155: 1063–1074.

Nowak A.K., Robinson B.W., Lake R.A. Gemcitabine exerts a selective effect on the humoral immune response: implications for combination hemoimmunotherapy // *Cancer. Res.* 2002. 62: 2353–2358.

Noy R., Pollard J.W. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy // *Immunity*. 2014. 41 (1): 49–61.

Nutt C.L., Betensky R.A., Brower M.A. et al. YKL-40 is a differential diagnostic marker for histologic subtypes of high-grade gliomas // *Clin. Cancer Res.* 2005. Mar. 15. 11(6): 2258–64.

Oba Y., Chung H.Y., Choi S.J., Roodman G.D. Eosinophil chemotactic factor-L (ECF-L): a novel osteoclast stimulating factor // *J. Bone. Miner. Res.* 2003. 18: 1332–41.

Obeid M., Tesniere A., Ghiringhelli F. et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death // *Nature Med.* 2007a. 13: 654–661.

Obeid M., Tesniere A., Panaretakis T. et al. Ecto-calreticulin in immunogenic chemotherapy // *Immunol. Rev.* 2007b. 220: 22–34.

Ober C., Tan Z., Sun Y. et al. Effect of Variation in CHI3L1 on Serum YKL-40 Level, Risk of Asthma, and Lung Function // *N. Engl. J. Med.* 2008.

Ochoa A.C., Zea A.H., Hernandez C., Rodriguez P.C. Arginase, prostaglandins, and myeloid-derived suppressor cells in renal cell carcinoma // *Clin. Cancer Res.* 2007. 13: 721s–726s.

O'Driscoll L., Clynes M. Molecular markers of multiple drug resistance in breast cancer // *Chemotherapy.* 2006. Vol. 52, no 3. P. 125–9.

Ogino S., Fuchs C.S., Giovannucci E. How many molecular subtypes? Implications of the unique tumor principle in personalized medicine // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2012. 12(6): 621–628.

Ohri C.M., Shikotra A., Green R.H. et al. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival // *Eur. Respir. J.* 2009. Jan. 33(1): 118–26.

O'Rorke M.A., Ellison M.V., Murray L.J. et al. Human papillomavirus related head and neck cancer survival: a systematic review and meta-analysis // *Oral. Oncol.* 2012. Dec. 48(12): 1191–201.

Osborn O., Olefsky J.M. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease // *Nat. Med.* 2012. Mar. 6.18(3): 363–74.

Ostergaard C., Johansen J.S., Benfield T. et al. YKL-40 is elevated in cerebrospinal fluid from patients with purulent meningitis // *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 2002. 9: 598–604.

Ostrand-Rosenberg S., Sinha P., Danna E.A. et al. Antagonists of tumor-specific immunity: tumor-induced immune suppression and host genes that co-opt the anti-tumor immune response // *Breast. Dis.* 2004. 20: 127–35.

Owhashi M., Arita H., Hayai N. Identification of a novel eosinophil chemotactic cytokine (ECF-L) as a chitinase family protein // *J. Biol. Chem.* 2000. 275: 1279–86.

Pallasch C.P., Leskov I., Braun C.J. et al. Sensitizing protective tumor microenvironments to antibody-mediated therapy // *Cell.* 2014. 156: 590–602. PMID:24485462. <http://dx>.

Pallis A.G., Chandrinos V., Pavlakou G. et al. A multicentre phase I trial of metronomic oral vinorelbine plus cisplatin in patients with NSCLC // *Cancer Chemother Pharmacol.* 2011. Jun. 67(6): 1239–45.

Park S., Kang S., Chen X. et al. Tumor suppression via paclitaxelloaded drug carriers that target inflammation marker upregulated in tumor vasculature and acrophages // *Biomaterials.* 2013. 34: 598–605.

Park S.Y., Jung M.Y., Lee S.J. et al. Stabilin-1 mediates phosphatidylserine-dependent clearance of cell corpses in alternatively activated macrophages // *J. Cell. Sci.* 2009. Sep. 15.122(Pt 18): 3365–73.

Parkinson D.R., Johnson B.E., Sledge G.W. Making Personalized Cancer Medicine a Reality: Challenges and Opportunities in the Development of Biomarkers and Companion Diagnostics // *Clin. Cancer Res.* 2012. 18: 619.

- Parsons D.W., Jones S., Zhang X. *et al.*: An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme // *Science*. 2008. 321(5897): 1807–1812.
- Peinado H., Lavotshkin S., Lyden D. The secreted factors responsible for pre-metastatic niche formation: old sayings and new thoughts // *Semin. Cancer Biol.* 2011. Apr. 21(2): 139–46.
- Pelloski C.E., Mahajan A., Maor M. *et al.* YKL-40 expression is associated with poorer response to radiation and shorter overall survival in glioblastoma // *Clin. Cancer Res.* 2005. May. 11(9): 3326–34.
- Peltomaa R., Paimela L., Harvey S. *et al.* Increased level of YKL-40 in sera from patients with early rheumatoid arthritis: a new marker for disease activity // *Rheumatol. Int.* 2001. 20: 192–6.
- Penn I. Posttransplant malignancies // *Transplant. Proc.* 1999. 1: 1260–1262.
- Pesce J., Kaviratne M., Ramalingam T.R. *et al.* The IL-21 receptor augments Th2 effector function and alternative macrophage activation // *J. Clin. Invest.* 2006. 116: 2044–55.
- Petersen R.P., Campa M.J., Sperlazza J. *et al.* Tumor infiltrating FOXP3 regulatory T-cells are associated with recurrence in pathologic stage I NSCLC patients // *Cancer*. 2006. 107(12): 2866–2872.
- Petersson M., Bucht E., Granberg B., Stark A. Effects of arginine-vasopressin and parathyroid hormone-related protein (1–34) on cell proliferation and production of YKL-40 in cultured chondrocytes from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis // *Osteoarthritis Cartilage*. 2006. 14: 652–9.
- Pierrg J.Y., Mouret E., Laurence V. *et al.* Prognostic factors for survival after neoadjuvant chemotherapy in operable breast cancer. the role of clinical response // *Eur. J. Cancer*. 2003. Vol. 39, no 8. P. 1089–96.
- Pinder-Schenck M., Bepler G. Neoadjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer // *Minerva Chir.* 2009. 64(6): 611–28.
- Place A.E., Jin Huh S., Polyak K. The microenvironment in breast cancer progression: biology and implications for treatment // *Breast. Cancer Res.* 2011. 13(6): 227.
- Pleasant E.D., Cheetham R.K., Stephens P.J. *et al.*: A comprehensive catalogue of somatic mutations from a human cancer genome // *Nature*. 2010. 463(7278): 191–196.
- Pol J., Vacchelli E., Aranda F. *et al.* Trial Watch: Immunogenic cell death inducers for anticancer chemotherapy // *Oncoimmunol.* 2015. Mar. 2.4(4): e1008866. eCollection 2015.
- Polyak K. Tumor heterogeneity confounds and illuminates: a case for Darwinian tumor evolution // *Nat. Med.* 2014. Apr. 20(4): 344–6.
- Polyak K., Vogt P.K. Progress in breast cancer research // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012. Feb. 21.109(8): 2715–7.
- Ponomaryova A.A., Rykova E.Yu., Cherdyntseva N.V. *et al.* Molecular genetic markers in diagnostic of lung cancer // *Molecular biology*. 2011. 45(2): 175–189.

Pontiggia O., Sampayo R., Raffo D. et al. The tumor microenvironment modulates tamoxifen resistance in breast cancer: a role for soluble stromal factors and fibronectin through $\beta 1$ integrin // *Breast. Cancer Res. Treat.* 2012. 133(2): 459–471.

Potti A., Schilsky R.L., Nevins J.R. Refocusing the war on cancer: the critical role of personalized treatment // *Sci. Transl. Med.* 2010. 2(28):28cm13.

Popova A., Kzhyshkowska J., Nurgazieva D. et al. Pro- and anti-inflammatory control of M-CSF-mediated macrophage differentiation // *Immunobiol.* 2011 Jan.–Feb. 216(1–2): 164–72.

Possamai L.A., Thursz M.R., Wendon J.A., Antoniadou C.G. Modulation of monocyte/macrophage function: a therapeutic strategy in the treatment of acute liver failure // *J. Hepatol.* 2014. Aug. 61(2): 439–45.

Prehn R.T. Two competing influences that may explain concomitant tumour resistance // *Cancer Res.* 1993. 53: 3266–3269.

Prowell T.M., Pazdur R. Pathological complete response and accelerated drug approval in early breast cancer // *New. England J. of Medicine.* 2012. Vol. 366, no 26. P. 2438–2441.

Qian B.Z., Li J., Zhang H. et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis // *Nature.* 2011. Jun. 8.475(7355): 222–5.

Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis // *Cell.* 2010. Apr. 2. 141(1): 39–51.

Qin Z., Richter G., Schüler T. et al. B cells inhibit induction of T cell dependent tumor immunity // *Nature Med.* 1998. 4: 627–630.

Quail D.F., Joyce J.A. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis // *Nature medicine.* 2013. 19(11):1423–1437.

Raes G., de Baetselier P., Noel W. et al. Differential expression of FIZZ1 and Ym1 in alternatively versus classically activated macrophages // *J. Leukoc. Biol.* 2002. 71: 597–602.

Raes G., Van den B.R., de Baetselier P. et al. Arginase-1 and Ym1 are markers for murine, but not human, alternatively activated myeloid cells // *J. Immunol.* 2005. 174: 6561–2.

Ragin C.C.R., Taioli E. Survival of squamous cell carcinoma of the head and neck in relation to human papillomavirus infection: review and meta-analysis // *Int. J. Cancer.* 2007. Oct. 15.121(8): 1813–20.

Rakhra K., Bachireddy P., Zabuawala T. et al. CD4+ T Cells Contribute to the Remodeling of the Microenvironment Required for Sustained Tumor Regression upon Oncogene Inactivation // *Cancer Cell.* 2010. 18 (5): 485–498.

Ramakrishnan R., Assudani D., Nagaraj S. et al. Chemotherapy enhances tumor cell susceptibility to CTL-mediated killing during cancer immunotherapy in mice // *J. Clin. Invest.* 2010. 120: 1111–1124.

Rathcke C.N., Johansen J.S., Vestergaard H. YKL-40, a biomarker of inflammation, is elevated in patients with type 2 diabetes and is related to insulin resistance // *Inflamm. Res.* 2006a. 55: 53–9.

Rathcke C.N., Vestergaard H. YKL-40, a new inflammatory marker with relation to insulin resistance and with a role in endothelial dysfunction and atherosclerosis // *Inflamm. Res.* 2006b. 55: 221–7.

Ray-Coquard I., Cropet C., Glabbeke M. van et al. Lymphopenia as a prognostic factor for overall survival in advanced carcinomas, sarcomas and lymphomas // *Cancer Res.* 2009. 69 (13): 5383–5391.

Recklies A.D., White C., Ling H. The chitinase 3-like protein human cartilage glycoprotein 39 (HC-gp39) stimulates proliferation of human connective-tissue cells and activates both extracellular signal-regulated kinase- and protein kinase B-mediated signalling pathways // *Biochem. J.* 2002. 365: 119–26.

Rehli M., Krause S.W., Andreesen R. Molecular characterization of the gene for human cartilage gp-39 (CHI3L1), a member of the chitinase protein family and marker for late stages of macrophage differentiation // *Genomics.* 1997. Jul. 15. 43(2): 221–5.

Rehli M., Niller H.H., Ammon C. et al. Transcriptional regulation of CHI3L1, a marker gene for late stages of macrophage differentiation // *J. Biol. Chem.* 2003. Nov. 7.278(45): 44058–67.

Renkema G.H., Boot R.G., Au F.L. et al. Chitotriosidase, a chitinase, and the 39-kDa human cartilage glycoprotein, a chitin-binding lectin, are homologues of family 18 glycosyl hydrolases secreted by human macrophages. *Eur J. Biochem.* 1998. Jan. 15.251(1–2): 504–9.

Renkema G.H., Boot R.G., Muijsers A.O. et al. Purification and characterization of human chitotriosidase, a novel member of the chitinase family of proteins // *J. Biol. Chem.* 1995. Feb. 3. 270(5): 2198–202.

Renkema G.H., Boot R.G., Strijland A. et al. Synthesis, sorting, and processing into distinct isoforms of human macrophage chitotriosidase // *Eur. J. Biochem.* 1997. 244: 279–85.

Riabov V., Gudima A., Wang N. et al. Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis // *Front Physiol.* 2014. Mar. 5: 75.

Rivoltini L., Carrabba M., Huber V. et al. Immunity to cancer: attack and escape in T lymphocyte-tumor cell interaction // *Immunol. Rev.* 2002. 188: 97–113.

Robert C., Long G.V., Brady B. et al. Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation // *N. Engl. J. Med.* 2014a. 372(4): 320–30171.

Robert C., Ribas A., Wolchok J.D. et al. Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial // *Lancet.* 2014b. 384: 1109–17. PMID:25034862. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60958-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60958-2).

Rodriguez P.C., Ochoa A.C. Arginine regulation by myeloid derived suppressor cells and tolerance in cancer: mechanisms and therapeutic perspectives // *Immunol. Rev.* 2008. 222: 180–191.

Rodriguez P.C., Quiceno D.G., Ochoa A.C. L-arginine availability regulates T-lymphocyte cell-cycle progression // *Blood.* 2007. 109: 1568–1573.

Rody A.H., Pusztai U., Liedtke L.C. *et al.* T-cell metagene predicts a favorable prognosis in estrogen receptor-negative and HER2-positive breast cancers // *Breast. Cancer. Research.* 2009. 11 (2): R15.

Rosling A., Johansen J.S., Christensen I.J. *et al.* High serum levels of YKL-40 in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck are associated with short survival // *Int. J. Cancer.* 2008. Feb. 15. 122(4): 857–63.

Roukos D.H. Novel clinico-genome network modeling for revolutionizing genotype-phenotype-based personalized cancer care // *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 2010. 10(1): 33–48.

Rouzier R., Extra J.M., Klijanienko J. *et al.* Incidence and prognostic significance of complete axillary downstaging after primary chemotherapy in breast cancer patients with T1 to T3 tumors and cytologically proven axillary metastatic lymph nodes // *J. Clin. Oncol.* 2002. Vol. 20, no 5. P. 1304–10.

Ruffell B., Au A., Rugo H.S. *et al.* Leukocyte composition of human breast cancer // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. Feb. 21. 109(8): 2796–801.

Sabel M.S., Su G., Griffith K.A., Chang A.E. Intratumoral delivery of encapsulated IL-12, IL-18 and TNF-alpha in a model of metastatic breast cancer // *Breast. Cancer. Res. Treat.* 2010. 122 (2): 325–336.

Sachelarie I., Grossbard M.L., Chadha M. *et al.* Primary Systemic Therapy of Breast Cancer. *The Oncologist.* 2006. 11 (6): 574–589.

Saidi A., Javerzat S., Bellahcene A. *et al.* Experimental anti-angiogenesis causes upregulation of genes associated with poor survival in glioblastoma // *Int. J. Cancer.* 2008. 122: 2187–98.

Saitou Y., Shiraki K., Yamanaka Y. *et al.* Noninvasive estimation of liver fibrosis and response to interferon therapy by a serum fibrogenesis marker, YKL-40, in patients with HCV-associated liver disease // *World. J. Gastroenterol.* 2005. 11: 476–81.

Sakata M., Masuko-Hongo K., Tsuruha J. *et al.* YKL-39, a human cartilage-related protein, induces arthritis in mice // *Clin. Exp. Rheumatol.* 2002. 20: 343–50.

Sakuishi K., Jayaraman P., Behar S.M. *et al.* Emerging Tim-3 functions in antimicrobial and tumor immunity // *Trends. Immunol.* 2011. 32: 345–9.

Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors // *J. Cancer.* 2011. 2: 363–8.

Santamaria-Martinez A., Huelsken J. The niche under siege: novel targets for metastasis therapy // *J. Intern. Med.* 2013. Aug. 274(2): 127–36.

Sarvaiya P.J., Guo D., Ulasov I. *et al.* Chemokines in tumor progression and metastasis // *Oncotarget.* 2013. Dec. 4(12): 2171–85.

Sasaki C., Yokoyama A., Itoh Y. *et al.* Comparative study of the reaction mechanism of family 18 chitinases from plants and microbes // *J. Biochem.* 2002. Apr. 131(4): 557–64.

Sceney J., Smyth M.J., Moller A. The pre-metastatic niche: finding common ground // *Cancer Metastasis Rev.* 2013. Dec. 32(3–4): 449–64.

Schilsky R.L. Personalized medicine in oncology: the future is now // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2010. 9(5): 363–366.

Schledzewski K., Falkowski M., Moldenhauer G. et al. Lymphatic endothelium-specific hyaluronan receptor LYVE-1 is expressed by stabilin-1+, F4/80+, CD11b+ macrophages in malignant tumours and wound healing tissue in vivo and in bone marrow cultures in vitro: implications for the assessment of lymphangiogenesis // J. Pathol. 2006. May. 209(1): 67–77.

Schledzewski I., Geraud C., Arnold B. et al. Deficiency of liver sinusoidal scavenger receptors stabilin-1 and -2 in mice causes glomerulofibrotic nephropathy via impaired hepatic clearance of noxious blood factors // J. Clin. Invest. 2011. Feb. 121(2): 703–14.

Schmidt M., Hellwig B., Hammad S. et al. A comprehensive analysis of human gene expression profiles identifies stromal immunoglobulin κ C as a compatible prognostic marker in human solid tumors // Clin. Cancer Res. 2012. 18 (9): 2695–2703.

Schmidt H., Johansen J.S., Gehl J. et al. Elevated serum level of YKL-40 is an independent prognostic factor for poor survival in patients with metastatic melanoma // Cancer. 2006a. 106: 1130–9.

Schmidt H., Johansen J.S., Sjoegren P. et al. Serum YKL-40 predicts relapse-free and overall survival in patients with American Joint Committee on Cancer stage I and II melanoma // J. Clin. Oncol. 2006b. 24: 798–804.

Sehdev V., Katscha A., Ecsedy J. et al. The combination of alisertib, an investigational Aurora kinase A inhibitor, and docetaxel promotes cell death and reduces tumor growth in preclinical cell models of upper gastrointestinal adenocarcinomas // Cancer. 2013. 119(4): 904–14.

Sekine T., Masuko-Hongo K., Matsui T. et al. Recognition of YKL-39, a human cartilage related protein, as a target antigen in patients with rheumatoid arthritis // Ann. Rheum. Dis. 2001. 60: 49–54.

Semiglazov V.F., Semiglazov V.V., Dashyan G.A. et al. Phase 2 randomized trial of primary endocrine therapy versus chemotherapy in postmenopausal patients with estrogen receptor-positive breast cancer // Cancer. 2007. Jul. 15. 110(2): 244–54.

Senovilla L., Vacchelli E., Galon J. et al. Trial watch: Prognostic and predictive value of the immune infiltrate in cancer // Oncoimmunol. 2012. 1:1323–43. PMID:23243596. <http://dx.doi.org/10.4161/onci.22009>.

Senovilla L., Vitale I., Martins I. et al. An immunosurveillance mechanism controls cancer cell ploidy // Science. 2012. 337:1678–84. PMID:23019653. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1224922>.

Servant N., Roméjon J., Gestraud P. et al. Bioinformatics for precision medicine in oncology: principles and application to the SHIVA clinical trial // Front. Genet. 2014. 5: 152.

Schwartz G.F., Hortobagyi G.N. Proceedings of the consensus conference on neoadjuvant chemotherapy in carcinoma of the breast, April 26–28, 2003, Philadelphia, Pennsylvania // Cancer. 2004. Vol. 100, no 12. P. 2512–32.

Scotto K.W. Transcriptional regulation of ABC drug transporters // Oncogene. 2003. Vol. 22, no 47. P. 7496–511.

Shackel N.A., McGuinness P.H., Abbott C.A. et al. Novel differential gene expression in human cirrhosis detected by suppression subtractive hybridization // *Hepatology*. 2003. 38: 577–88.

Shackelton L.M., Mann D.M., Millis A.J. Identification of a 38-kDa heparin-binding glycoprotein (gp38k) in differentiating vascular smooth muscle cells as a member of a group of proteins associated with tissue remodeling // *J. Biol. Chem.* 1995. Jun. 2.270(22): 13076–83.

Sharabi A., Haran-Ghera N. Immune Recovery after Cyclophosphamide Treatment in Multiple Myeloma: Implication for Maintenance Immunotherapy // *Bone Marrow. Res.* 2011: 269519.

Sharabi A., Laronne-Bar-On A., Meshorer A., Haran-Ghera N. Chemoimmunotherapy reduces the progression of multiple myeloma in a mouse model // *Cancer Prev. Res. (Phila)*. 2010. 3(10): 1265–76.

Shaughnessy J.N., Farghaly H., Wilson L. et al. HPV: a factor in organ preservation for locally advanced larynx and hypopharynx cancer? // *Am. J. Otolaryngol.* 2014. Jan.–Feb. 35(1): 19–24.

Shiao S.L., Coussens L.M. The Tumor-Immune Microenvironment and Response to Radiation Therapy // *J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia*. 2010. 15 (4): 411–421.

Shin V.Y., Jin H., Ng E.K. et al. NF- κ B targets miR-16 and miR-21 in gastric cancer: involvement of prostaglandin E receptors // *Carcinogenesis*. 2011. 32(2): 240–5.

Sica A., Invernizzi P., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization in liver homeostasis and pathology // *Hepatology*. 2014. May. 59(5): 2034–42.

Shevach E.M. CD4⁺ CD25⁺ suppressor T cells: more questions than answers // *Nat. Rev.* 2002. 2: 389–400.

Somersan S., Larsson M., Fonteneau J.F. et al. Primary tumor tissue lysates are enriched in heat shock proteins and induce the maturation of human dendritic cells // *J. Immunol.* 2001. 167: 4844–4852.

Spisek R., Charalambous A., Mazumder A. et al. Bortezomib enhances dendritic cell (DC)-mediated induction of immunity to human myeloma via exposure of cell surface heat shock protein 90 on dying tumor cells: therapeutic implications // *Blood*. 2007. 109: 4839–4845.

Srivastava P.K., Duan F. Harnessing the antigenic fingerprint of each individual cancer for immunotherapy of human cancer: genomics shows a new way and its challenges // *Cancer Immunol. Immunother.* 2013. 62(5): 967–974.

Stakheyeva M., Eidenzon D., Slonimskaya E. et al. The relationship of immune system state as integrated entire with breast cancer outcome // *Siber. Oncol. J.* 2011. 2:1–19.

Standish L.J., Torkelson C., Hamill F.A. et al. Immune defects in breast cancer patients after radiotherapy // *J. Soc. Integr. Oncol.* 2008. 6 (3): 110–121.

Stanley A.C., Wong C.X., Micaroni M. et al. The Rho GTPase Rac1 is required for recycling endosome-mediated secretion of TNF in macrophages // *Immunol. Cell. Biol.* 2014. Mar. 92(3): 275–86.

Steck E., Breit S., Breusch S.J. et al. Enhanced expression of the human chitinase 3-like 2 gene (YKL-39) but not chitinase 3-like 1 gene (YKL-40) in osteoarthritic cartilage // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002. 299: 109–15.

Stinchcombe J.C., Griffiths G.M. Regulated secretion from hemopoietic cells // *J. Cell. Biol.* 1999. 147: 1–6.

Suganuma M., Yamaguchi K., Ono Y. et al. TNF-alpha-inducing protein, a carcinogenic factor secreted from H. pylori, enters gastric cancer cells // *Int J. Cancer.* 2008. Jul. 1.123(1): 117–22.

Sun Y.J., Chang N.C., Hung S.I. et al. The crystal structure of a novel mammalian lectin, Ym1, suggests a saccharide binding site // *J. Biol. Chem.* 2001. May. 18. 276(20): 17507–14.

Suzuki E., Kapoor V., Jassar A.S. et al. Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1+/CD11b+ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity // *Clin. Cancer Res.* 2005. 11: 6713–6721.

Swann J.B., Smyth M.J. Immune surveillance of tumors // *The J. of Clinical Investigation.* 2007. 117 (5): 1137–1146.

Swirski F.K., Nahrendorf M. Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure // *Science.* 2013. Jan. 11. 339(6116): 161–6.

Syrjanen K., Syrjanen S., Lamberg M. et al. Morphological and immunohistochemical evidence suggesting human papillomavirus (HPV) involvement in oral squamous cell carcinogenesis // *Int. J. Oral. Surg.* 1983. 12: 418–424.

Syrjanen S. Human papillomavirus (HPV) in head and neck cancer // *J. of Clinical. Virology.* 32S (2005). S59–S66

Szakacs G., Paterson J.K., Ludwig J.A. et al. Targeting multidrug resistance in cancer // *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2006. Vol. 5, no 3. P. 219–34.

Tang X. Tumor-associated macrophages as potential diagnostic and prognostic biomarkers in breast cancer // *Cancer Lett.* 2013. May. 10.332(1): 3–10.

Thomas F., Fisher D., Fort P. et al. Applying ecological and evolutionary theory to cancer: a long and winding road // *Evol. Appl.* 2013. 6(1): 1–10.

Thompson I.O., van der Bijl P., van Wyk C.W., van Eyk A.D. A comparative lightmicroscopic, electron-microscopic and chemical study of human vaginal and buccal epithelium // *Arch. Oral. Biol.* 2001. 46: 1091–1098.

Tongu M., Harashima N., Monma H. et al. Metronomic chemotherapy with low-dose cyclophosphamide plus gemcitabine can induce anti-tumor T cell immunity in vivo // *Cancer Immunol. Immunother.* 2013. 62: 383–91.

Tran A., Benzaken S., Saint-Paul M.C. et al. Chondrex (YKL-40), a potential new serum fibrosis marker in patients with alcoholic liver disease // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2000. 12: 989–93.

Tseng C.W., Hung C.F., Alvarez R.D. et al. Pretreatment with cisplatin enhances E7-specific CD8+ T-Cell-mediated antitumor immunity induced by DNA vaccination // *Clin. Cancer Res.* 2008. 14: 3185–3192.

Tsujimoto H., Ono S., Ichikura T. et al. Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes? // *Gastric. Cancer.* 2010. 13: 212–221.

Tsuruha J., Masuko-Hongo K., Kato T. et al. Autoimmunity against YKL-39, a human cartilage derived protein, in patients with osteoarthritis // *J. Rheumatol.* 2002. 29: 1459–66.

Tu S., Bhagat G., Cui G. et al. Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice // *Cancer Cell.* 2008. Nov. 4.14(5): 408–19.

Tu S.P., Quante M., Bhagat G. et al. Wang TC. IFN- γ inhibits gastric carcinogenesis by inducing epithelial cell autophagy and T-cell apoptosis // *Cancer Res.* 2011. Jun. 15.71(12): 4247–59.

Ugel S., Peranzoni E., Desantis G. et al. Immune tolerance to tumor antigens occurs in a specialized environment of the spleen // *Cell. Rep.* 2012. 2:628–39.

Untch M., von Minckwitz G., Konecny G.E. et al. Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie PREPARE investigators. PREPARE trial: a randomized phase III trial comparing preoperative, dose-dense, dose-intensified chemotherapy with epirubicin, paclitaxel, and CMF versus a standard-dosed epirubicin-cyclophosphamide followed by paclitaxel with or without darbepoetin alfa in primary breast cancer--outcome on prognosis // *Ann Oncol.* 2011. Sep. 22(9): 1999–2006.

Vacchelli E., Aranda F., Eggermont A. et al. Trial Watch: Chemotherapy with immunogenic cell death inducers // *Oncoimmunol.* 2014. 3: e27878.

Vacchelli E., Pol J., Bloy N. et al. Trial watch: Tumor-targeting monoclonal antibodies for oncological indications // *Oncoimmunol.* 2015. Feb. 3.4(1): e985940. eCollection 2015.

Vainshtein J.M., Spector M.E., McHugh J.B. et al. Refining risk stratification for locoregional failure after chemoradiotherapy in human papillomavirus-associated oropharyngeal cancer // *Oral. Oncol.* 2014. May. 50(5): 513–9.

van der Hage J.A., van de Velde C.J., Julien J.P. et al. Preoperative chemotherapy in primary operable breast cancer: results from the European Organization for Research and Treatment of Cancer trial 10902 // *J. Clin. Oncol.* 2001. Nov. 15.19(22): 4224–37.

van Eijk M., van Roomen C.P., Renkema G.H. et al. Characterization of human phagocyte-derived chitotriosidase, a component of innate immunity // *Int. Immunol.* 2005. 17: 1505–12.

Verma C., Eremin J.M., Robins A. et al. Abnormal T regulatory cells (tregs: FOXP3+, CTLA-4+), myeloid-derived suppressor cells (MDSCs: monocytic, granulocytic) and polarised T helper cell profiles (Th1, Th2, Th17) in women with large and locally advanced breast cancers undergoing neoadjuvant chemotherapy (NAC) and surgery: failure of abolition of abnormal treg profile with treatment and correlation of treg levels with pathological response to NAC // *J. of Translational Medicine.* 2013. 11: 16.

Vincent J., Mignot G., Chalmin F. et al. 5-fluorouracil selectively kills tumor-associated myeloid-derived suppressor cells resulting in enhanced T cell-dependent antitumor immunity // *Cancer Res.* 2010. 70: 3052–61.

Vind I., Johansen J.S., Price P.A., Munkholm P. Serum YKL-40, a potential new marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease // Scand. J. Gastroenterol. 2003. 38: 599–605.

Vitale M., Cantoni C., Pietra G. et al. Effect of tumor cells and tumor microenvironment on NK-cell function // Eur. J. Immunol. 2014. 44 (6): 1582–1592.

Volck B., Johansen J.S., Stoltenberg M. et al. Studies on YKL-40 in knee joints of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Involvement of YKL-40 in the joint pathology // Osteoarthritis Cartilage. 2001. Apr. 9(3): 203–14.

Volck B., Ostergaard K., Johansen J.S. The distribution of YKL-40 in osteoarthritic and normal human articular cartilage // Scand. J. Rheumatol. 1999. 28: 171–9.

Volck B., Price P.A., Johansen J.S. et al. YKL-40, a mammalian member of the chitinase family, is a matrix protein of specific granules in human neutrophils // Proc. Assoc. Am. Physicians. 1998. 110: 351–60.

Von Minckwitz G., Eidmann H., Rezai M. et al. Neoadjuvant chemotherapy and bevacizumab for HER2-negative breast cancer // New. Engl. J. of Medicine. 2012. Vol. 366, no 4. P. 299–309.

Von Minckwitz G., Raab G., Caputo A. et al. Doxorubicin with cyclophosphamide followed by docetaxel every 21 days compared with doxorubicin and docetaxel every 14 days as preoperative treatment in operable breast cancer: the GEPARDUO study of the German Breast Group // J. of Clinical. Oncology. 2005. Vol. 23, no 12. P. 2676–2685.

Von Minckwitz G., Loibl S., Untch M. What is the current standard of care for anti-HER2 neoadjuvant therapy in breast cancer? // Oncology (Williston Park). 2012. Jan. 26(1): 20–6.

Waldron T.J., Quatromoni J.G., Karakasheva T.A. et al. Myeloid derived suppressor cells // Oncoimmunol. 2013. 2(4).

Wang Y., Waters J., Leung M.L. et al. Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing // Nature. 2014. 512: 155–60 15.

Wansom D., Light E., Thomas D. et al. UM Head Neck SPORE Program: Infiltrating lymphocytes and human papillomavirus-16-associated oropharyngeal cancer // Laryngoscope. 2012 Jan. 122(1): 121–7.

Webb D.C., McKenzie A.N., Foster P.S. Expression of the Ym2 lectin-binding protein is dependent on interleukin (IL)-4 and IL-13 signal transduction: identification of a novel allergy-associated protein // J. Biol. Chem. 2001. 276: 41969–76.

Weiner H.L., Cohen J.A. Treatment of multiple sclerosis with cyclophosphamide: critical review of clinical and immunologic effects // Mult. Scler. 2002. 8: 142–154.

Weinstein B., Joe A. Oncogene Addiction // Cancer Res. 2008. 68: 3077.

Welch J.S., Escoubet-Lozach L., Sykes D.B. et al. TH2 cytokines and allergic challenge induce Ym1 expression in macrophages by a STAT6-dependent mechanism // J. Biol. Chem. 2002. 277: 42821–9.

Whiteside T.L., Ferrone S. For Breast Cancer Prognosis, Immunoglobulin Kappa Chain Surfaces to the Top // Clin. Cancer. Res. 2012. 18 (9): 2417–2419.

Wolf A.M., Wolf D., Steurer M. et al. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients // *Clinical. Cancer Res.* 2003. 9: 606–612.

Wolman S.R., Heppner G.H. Genetic heterogeneity in breast cancer // *J. Natl. Cancer. Inst.* 1992. Apr. 1.84(7): 469–70.

Wolmark N., Wang J., Mamounas E. et al. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 // *J. Natl. Cancer. Inst. Monogr.* 2001. No 30. P. 96–102.

Wolmark N., Wang J., Mamounas E. et al. Preoperative chemotherapy in patients with operable breast cancer: nine-year results from National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project B-18 // *JNCI Monogr.* 2001. Vol. 2001, no 30. P. 96–102.

Woo H.Y., Youn J.M., Bae S.H. et al. Efficacy and safety of metronomic chemotherapy for patients with advanced primary hepatocellular carcinoma with major portal vein tumour thrombosis. Korean // *J. Hepatol.* 2012. Mar. 18(1): 32–40.

Wright S.E., Rewers-Felkins K.A., Quinlin I.S. et al. Number of treatment cycles influences development of cytotoxic T cells in metastatic breast cancer patients - a phase I/II study // *Immunol. Invest.* 2010. 39 (6): 570–586.

Wu J., Song Y., Bakker A.B. et al. An activating immunoreceptor complex formed by NKG2D and DAP10 // *Science.* 1999. Jul. 30. 285(5428): 730–2.

Wynn T.A., Chawla A., Pollard J.W. Macrophage biology in development, homeostasis and disease // *Nature.* 2013. Apr. 25.496(7446): 445–55.

Xiao G., Fu J. NF- κ B and cancer: a paradigm of Yin-Yang // *Am. J. Cancer Res.* 2011. 1(2): 192–221.

Yeo E.J., Cassetta L., Qian B.Z. et al. Myeloid WNT7b mediates the angiogenic switch and metastasis in breast cancer // *Cancer Res.* 2014. Jun. 1.74(11): 2962–73.

Yuan X., Zhou Y., Wang W. et al. Activation of TLR4 signaling promotes gastric cancer progression by inducing mitochondrial ROS production // *Cell. Death. and Disease.* 2013. 4: 794.

Zagozdzon R., Golab J. Immunomodulation by anticancer chemotherapy: more is not always better (review) // *Int. J. Oncol.* 2001. 18 (2): 417–424.

Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A. et al. Phenotypic drift as a cause for intratumoral morphological heterogeneity of invasive ductal breast carcinoma not otherwise specified // *Biores. Open. Access.* 2013a. Apr. 2(2): 148–54.

Zavyalova M.V., Perelmuter V.M., Vtorushin S.V. et al. The presence of alveolar structures in invasive ductal NOS breast carcinoma is associated with lymph node metastasis // *Diagn. Cytopathol.* 2013b. Mar. 41(3): 279–82.

Zhang J., Gratchev A., Riabov V. et al. A novel GGA-binding site is required for intracellular sorting mediated by stabilin-1 // *Mol. Cell. Biol.* 2009. Nov. 29(22): 6097–105.

Zhang Y., Ma B., Zhou Y. et al. Dendritic cells fused with allogeneic breast cancer cell line induce tumor antigen-specific CTL responses against autologous breast cancer cells // *Breast. Cancer Res. Treat.* 2007. 105 (3): 277–286.

Zhou Q., Peng R.Q., Wu X.J. The density of macrophages in the invasive front is inversely correlated to liver metastasis in colon cancer // J. Transl. Med. 2010. Feb. 8.8:13.

Zhou W., Fu X.-Q., Zhang L.-L. et al. The AKT1/NF-kappaB/Notch1/PTEN axis has an important role in chemoresistance of gastric cancer cells // Cell. Death and Disease. 2013. 4: 847.

Zitvogel L., Apetoh L., Ghiringhelli F., Kroemer G. Immunological aspects of cancer chemotherapy // Nature reviews immunol. 2008. 8: 59–73.

Zitvogel L., Galluzzi L., Smyth M.J., Kroemer G. Mechanism of action of conventional and targeted anticancer therapies: reinstating immunosurveillance // Immunity. 2013. Jul. 25.39(1): 74–88.

zur Hausen H. Papillomavirus and cancer: from basic studies to clinical application // Nat. Rev. Cancer. 2002. 2: 342–350.

zur Hausen H. Papillomavirus infections—a major cause of human cancers // Biochim. Biophys. Acta. 1996. 1288: F55–F78.

О Г Л А В Л Е Н И Е

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	5
ВВЕДЕНИЕ	8
Глава 1. ПРОБЛЕМЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЦИТОСТАТИЧЕСКОЙ ТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ	12
1.1. Критерии эффективности противоопухолевой терапии	12
1.2. Эффективность цитостатической терапии рака	19
Глава 2. МЕХАНИЗМЫ ВОВЛЕЧЕНИЯ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИЮ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ ЭФФЕКТОВ ЦИТОСТАТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ	29
2.1. Участие иммунной системы в реализации противоопухолевых эффектов цитостатических воздействий.	29
2.2. Влияние цитостатического лечения на опухоль	35
Глава 3. ОПУХОЛЕВОЕ МИКРООКРУЖЕНИЕ КАК ВАЖНЕЙШИЙ КОМПОНЕНТ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЙ БИОЛОГИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ ОПУХОЛИ	48
Глава 4. ХРОНИЧЕСКОЕ ВОСПАЛЕНИЕ И ОПУХОЛЕВАЯ ПРОГРЕССИЯ	56
4.1. Роль хронического воспаления в формировании и прогрессии злокачественных опухолей	56
4.2. Опухولةассоциированные макрофаги – ключевой компонент опухолевого микроокружения и перспективные мишени для терапии	64
4.3. Хитиназоподобные белки (ХПБ) как маркеры воспаления: природа и функции	67
4.3.1. Способность хитиназоподобных белков связывать сахараиды.	69
4.3.2. Клеточная специфичность и регуляция экспрессии ХПБ.....	73
4.3.3. Механизмы внутриклеточной сортировки ХПБ в макрофагах	80
4.3.4. Биологические эффекты YKL-39, YKL-40 и YM1/2	87
4.4. Хитиназоподобные белки как биомаркеры воспаления: связь с различными патологическими процессами	91
4.5. Анализ экспрессии рецептора CD68 и стабиллина-1 в клетках воспалительного инфильтрата опухолей молочной железы во взаимосвязи с микроокружением	98
Глава 5. СИСТЕМНАЯ ПРИРОДА РАКА: ВОВЛЕЧЕНИЕ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ В ПРОГРЕССИЮ	109
Глава 6. НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ТЕРАПИИ РАКА	120
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	123
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	125
ЛИТЕРАТУРА	129

CONTENTS

INTRODUCTION	5
FOREWORD.....	8
<i>Chapter 1. PROBLEMS IN THE EFFICACY OF CYTOSTATIC</i>	
ANTITUMOR THERAPY	12
1.1. Criteria for efficiency of cancer therapy	12
1.2. Why efficiency of currently available tumor therapy is insufficient?.....	19
<i>Chapter 2. MECHANISMS OF IMMUNE SYSTEM</i>	
CONTRIBUTION TO THE EFFICIENCY	
OF ANTITUMOR CYTOSTATIC THERAPY	29
2.1. Immune system contributes to antitumor efficacy of cytostatic therapy.....	29
2.2. Cytostatic therapy can induce antitumor response against tumor.....	35
<i>Chapter 3. TUMOR MICROENVIRONMENT</i>	
AS A CRUCIAL FACTOR AFFECTED	
TUMOR PROGRESSION.....	48
<i>Chapter 4. CHRONIC INFLAMMATION AND CANCER</i>	
PROGRESSION	56
4.1. Role of chronic inflammation in the tumor formation and progression	56
4.2. Tumor-associated macrophages is a key innate immune component of tumor Microenvironment.....	64
4.3. Chitinase-like proteins (CLP) as the markers of chronic inflammation: nature and functions.....	67
4.3.1. The ability of Chitinase-like proteins to bind saccharides	69
4.3.2. Cell specificity of CLP regulation	73
4.3.3. Mechanism of intracellular CLP sorting in macrophages	80
4.3.4. Biological effects of YKL-39, YKL-40 and YM1/2	87
4.4. Chitinase-like proteins as biomarkers of inflammation: relation to different pathological processes.....	91
4.5. Expression of CD68 and stabilin-1 in inflammatory infiltrate within breast tumor in relation to microenvironment.....	98
<i>Chapter 5. SYSTEMIC NATURE OF CANCER: IMMUNE</i>	
SYSTEM IS INVOLVED TO TUMOR PROGRESSION	109
<i>Chapter 6. NEW APPROACHES TO CANCER THERAPY</i>	<i>120</i>
CONCLUSION	123
REFERENCE	125
LITERATURE	129

Научное издание

КЖЫШКОВСКА Юлия Георгиевна
СТАХЕЕВА Марина Николаевна
ЛИТВЯКОВ Николай Васильевич
САВЕЛЬЕВА Ольга Евгеньевна
МИТРОФАНОВА Ирина Валерьевна
СТЕПАНОВ Иван Вадимович
ГРАЧЕВ Алексей Николаевич
ГЕРАЩЕНКО Татьяна Сергеевна
ЗАВЬЯЛОВА Марина Викторовна
ЧЕРДЫНЦЕВА Надежда Викторовна

ИММУННАЯ СИСТЕМА И ЭФФЕКТИВНОСТЬ
ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ЛЕЧЕНИЯ

Редактор *В.Г. Лихачева*
Компьютерная вёрстка *Г.П. Орловой*

Подписано в печать 10.12.2015 г.
Формат 60х84¹/₁₆. Печ. л. 10,3; усл. печ. л. 9,5; уч.-изд. л. 10,0.
Тираж 500 экз. Заказ

ООО «Издательство ТГУ», 634029, г. Томск, ул. Никитина, 4
ООО «НТП», 634040, г. Томск, ул. Высоцкого, 28, стр. 1