

## НЕОДНОЗНАЧНОСТЬ РОЛИ НЕЙТРОФИЛА В ГЕНЕЗЕ ОПУХОЛИ

© В. Н. Мальцева,<sup>1</sup> В. Г. Сафронова

*Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Московская обл.;*

<sup>1</sup> *электронный адрес: MaltsevaVN@gmail.com*

Представлен обзор литературы, касающейся участия полиморфноядерных гранулоцитов (нейтрофилов) в процессах возникновения, развития и распространения опухоли. Рассмотрены как давно известные функции нейтрофилов (секреторная дегрануляция, продукция активных форм кислорода (АФК)), так и недавно обнаруженные (презентация антигена). Особое внимание уделено неоднозначности роли нейтрофилов в онкогенезе. Вопреки доминирующему мнению о том, что нейтрофилы проявляют исключительно противоопухолевые свойства, представлены данные, свидетельствующие о проопухолевой активности нейтрофила: на поздних стадиях инфильтрация опухоли нейтрофилами способствует ее прогрессу, усиливая ангиогенез и метастазирование. Таким образом, определенные компоненты цитотоксического арсенала нейтрофилов (АФК, цитокины, ферменты) участвуют и в обеспечении противоопухолевой защиты организма, и проявляют противоопухолевую активность.

Ключевые слова: нейтрофил, цитотоксический потенциал, рост опухоли.

Принятые сокращения: АФК — активные формы кислорода, АЗКЦ — антителозависимая клеточная цитотоксичность, ГМ-КСФ — гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор, ИЛ — интерлейкин, ИНФ — интерферон, ММП — матриксная металлопротеиназа, ФНО — фактор некроза опухолей.

Нейтрофилы (полиморфноядерные нейтрофильные гранулоциты), клетки врожденного звена иммунной системы, обеспечивают наиболее быстрые защитные реакции организма в ответ на проникновение в организм чужеродных антигенов и появление собственных дефектных клеток организма.

Показано, что нейтрофилы первыми (уже на 10-е сут после инокуляции опухолевых клеток) мигрируют к опухоли на ранних стадиях ее формирования (Stoppacciaro et al., 1993), усиленно инфильтрируют очаги опухолевого роста (Graf et al., 2001) и становятся активными компонентами стромы (Mueller, Fusenig, 2004). Эти факты свидетельствуют о том, что нейтрофилы являются непременными участниками процесса формирования и развития опухоли. По отношению к опухоли нейтрофилы способны проявлять как противо-, так и проопухолевую активность.

В экспериментах *in vivo* показано, что нейтрофилы подавляют рост опухолей (Fujii et al., 1987; Wang et al., 1989). Эти клетки способны к фагоцитозу и антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) по отношению к опухолевым клеткам (Di Carlo et al., 2001). Непосредственное цитостатическое и цитотоксическое действие нейтрофилов на опухолевые клетки демонстрируется в исследованиях *in vitro* (Pericle et al., 1996; Igney et al., 2004). Ключевую роль в регрессии опухолей отводят активным формам кислорода (АФК), активным формам азота и цитокинам, продуцируемым нейтрофилами (Di Carlo et al., 2001; Jablonska et al., 2005).

В то же время результаты работ ряда авторов свидетельствуют о проопухолевой активности нейтрофилов. На модели трансэндотелиальной миграции *in vitro* пока-

зано, что нейтрофилы человека способствуют прохождению клеток опухоли молочной железы через эндотелиальный барьер (Wu et al., 2001). Увеличение концентрации эластазы, секретируемой нейтрофилами в области роста опухоли, приводит к разрушению окружающих тканей и межклеточного матрикса, что способствует развитию и распространению опухоли (Sun, Yang, 2004). Белок V $\alpha$ 8, также выделяемый нейтрофилами, помимо участия в мобилизации и продвижении миелоидных клеток играет важную роль в индукции ангиогенеза на ранних стадиях неопластической прогрессии (Shojaei et al., 2008).

Таким образом, сведения о роли нейтрофилов в онкогенезе оказываются довольно противоречивыми. Цель настоящего обзора — обобщить и систематизировать современные данные относительно участия нейтрофилов в возникновении, развитии и распространении опухоли.

### Цитотоксический потенциал нейтрофила

Нейтрофилы созревают в костном мозге и поступают в кровеносное русло предельно дифференцированными клетками, цитотоксический потенциал которых сформирован и представлен протеолитическими ферментами, бактерицидными пептидами и белками гранул, АФК и активными формами азота (рис. 1). Получив сигнал тревоги, клетки мигрируют по градиенту концентраций хемотаксических факторов в область повреждения, где проявляют свою функциональную активность. В зонах максимальных концентраций хемотаксических факторов нейтрофилы используют весь свой цитотоксический по-



Рис. 1. Схема цитотоксического действия нейтрофила.

Действие компонентов цитотоксического арсенала нейтрофила приводит к лизису чужеродных и трансформированных клеток.

тенциал для элиминации чужеродных антигенов и собственных трансформированных клеток (Segal, 2005). Нейтрофилы способны проявлять как непосредственную цитотоксическую активность за счет имеющегося собственного цитотоксического арсенала, так и опосредованную с привлечением других клеток иммунной системы. Непосредственная цитотоксическая активность нейтрофилов проявляется при активации секреторной дегрануляции, респираторного взрыва, АЗКЦ.

Секреторная дегрануляция — это высвобождение протеолитических ферментов и других белков из гранул и меньших запасующих органелл (Маянский, Маянский, 1989; Witko-Sarsat et al., 2000). Нейтрофилы имеют 4 типа гранул: азурофильные и специфические гранулы, С-частицы и секреторные везикулы. Азурофильные гранулы образуются первыми в процессе созревания нейтрофила на стадии промиелоцита. Они содержат кислые гидролазы ( $\beta$ -глюкоронидазу, катепсины), нейтральные протеазы (катепсины, лизоцим, миелопероксидазу), сериновые протеазы (протеазу-3, эластазу, азуоцидин), дефенсины. Именно эти гранулы мобилизуются при фагоцитозе и участвуют в образовании фаголизосом (Segal, 2005). Особую роль в защитных реакциях отводят дефенсинам, которые обладают высокой токсичностью против определенных типов опухолевых клеток (Lichtenstein et al., 1988). На стадии метамиелоцита появляются специфические гранулы. Они содержат коллагеназу, лактоферрин, лизоцим, белок, связывающий витамин  $B_{12}$ , и рецепторы для белков внеклеточного матрикса. Гранулы третьего типа, называемые С-частицами, содержат кислые гидролазы, желатиназу, протеиназу-3, гидролитические матриксные металлопротеиназы (Jaeschke, 2006). Четвертый тип гранул (секреторные везикулы) образуются на стадии зрелого нейтрофила. Вероятно, эти гранулы образуются путем эндоцитоза, так как они содержат белки плазмы, такие как альбумин (Witko-Sarsat et al., 2000), а также ас-

социированные с мембраной рецепторы (Faurstou, Borggaard, 2003).

Другим «цитотоксическим оружием» нейтрофила являются АФК, которые непосредственно осуществляют разрушение чужеродных агентов и опухолевых клеток. АФК генерируются во время респираторного взрыва, инициируемого активацией сложного мембранного комплекса NADPH-оксидазы (Segal, 2005). Супероксид-анион, генерируемый NADPH-оксидазой, является исходным продуктом для образования широкого спектра АФК, включая производные азота и галогенов, в частности гипохлорную кислоту, образуемую при активации миелопероксидазы (Klebanoff, 1999). Гипохлорной кислоте отводится особую роль, так как она вызывает быстрый лизис опухолевых клеток (Dallegrì et al., 1991) и образует хлорамины, обладающие иммуностимулирующими свойствами (Marcinkiewicz, 1997). Продуцируемые нейтрофилами АФК могут также активировать ингибиторы протеинкиназ, что, как и действие протеаз гранул нейтрофилов, приводит к элиминации клеток опухоли (Di Carlo et al., 2001).

Одним из механизмов проявления непосредственной цитотоксической активности нейтрофилов является АЗКЦ. АЗКЦ проявляется при связывании Fc-рецепторов нейтрофилов с антителами, образовавшими иммунные комплексы с антигенами на поверхности клеток-мишеней, в качестве которых могут быть опухолевые или инфицированные клетки. Такое связывание приводит к активации нейтрофилов, в результате чего происходит гибель опухолевых клеток (Stockmeyer et al., 2003). Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) усиливает данный тип цитотоксичности нейтрофилов, стимулируя экспрессию высокоаффинных Fc-рецепторов на их поверхности (Gericke et al., 1995; Volontà et al., 1996). Этот факт послужил основой для разработки терапии онкологических заболеваний с применением ГМ-КСФ (Valerius et al., 1993; Repp et al., 1995).

В активном состоянии нейтрофилы помимо генерации АФК и выброса ферментов и белков гранул продуцируют растворимые хемотаксические факторы (цитокины и хемокины). Некоторые цитокины вызывают непосредственные повреждения инфицированных и опухолевых клеток. Показано, что паракринный выброс ФНО- $\alpha$ , ИЛ-2, -4, -12, ИНФ- $\gamma$  вызывает повреждение опухоли и сопровождается наличием в очаге опухоли дегранулированных нейтрофилов. При этом нейтрофилы пребывают в тесном контакте с опухолевыми клетками (Di Carlo et al., 2001). Интересно, что у пациентов с раковыми заболеваниями во время инфузионной терапии рекомбинантным ИЛ-2, которая сопровождается активацией нейтрофилов, наблюдается выброс ФНО- $\alpha$  в кровеносное русло (Gemlo et al., 1988).

Помимо непосредственного цитотоксического действия цитокины обеспечивают опосредованную цитотоксическую активность нейтрофилов. Цитокины, продуцируемые нейтрофилами, привлекают клетки врожденного и адаптивного иммунитета, которые также способны элиминировать чужеродные антигены и трансформированные клетки. Показано, что выделенные нейтрофилами цитокины привлекают в зону развития опухоли и активируют макрофаги, естественные киллерные клетки (NK), дендритные клетки, Т- и В-лимфоциты (Zivkovic et al., 2005; De Visser et al., 2006). Кроме того, цитокины и хемокины ингибируют ангиогенез, что приводит к ишемии и некрозу опухоли (McCourt et al., 1999). Продуцируя цитокины, нейтрофилы сдвигают баланс между гуморальными и клеточно-опосредованными иммунными реакциями через активацию клеток Т-хелперов 1-го или 2-го типов. Таким образом, функционирование нейтрофилов обеспечивает взаимодействие врожденного и адаптивного иммунитета (Romani et al., 1997).

Экспериментально доказано, что нейтрофилы способны к презентации антигенов трансформированных клеток, и это создает условия для более быстрого и эффективного ответа со стороны адаптивного иммунитета (Giovarelli et al., 2000). Различные цитокины, такие как ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ , продуцируемые клетками иммунной системы, активируют нейтрофилы и замедляют процесс их вхождения в апоптоз. В результате увеличения продолжительности жизни нейтрофилы успевают мигрировать в лимфатические узлы, где представляют антигены трансформированных клеток лимфоцитам, запуская каскад специфических реакций иммунитета, подобно макрофагам и дендритным клеткам (Ishikawa, Miyazaki, 2005). Таким образом, презентацию антигенов нейтрофилами можно отнести к опосредованному цитотоксическому воздействию нейтрофилов.

### Противоопухолевая активность нейтрофила

В фазе активного роста опухоль инфильтрируют в первую очередь нейтрофилы, затем макрофаги, и последними в зону роста опухоли мигрируют Т-лимфоциты (Stoppacciaro et al., 1993). Нейтрофилы, как и другие инфильтрирующие опухоль иммунные клетки, становятся активными компонентами стромы, участвуют в ее формировании и влияют на процессы онкогенеза (Mueller, Fuse-nig, 2004).

Нейтрофилы как представители врожденного иммунитета активно вовлекаются в развитие противоопухолевого иммунного ответа. Это подтверждается исследованиями, в которых показано, что нейтрофилы замедляют

рост экспериментальных опухолей *in vivo*. Нейтрофилы полностью ингибировали рост сингенной опухоли у мышей линии BALB/c (Fujii et al., 1987). Увеличение количества нейтрофилов в кровотоке сопровождалось замедлением роста меланомы B16 у мышей линии C57BL/6; более того, перенос нейтрофилов непосредственно в опухоль вызывал подавление опухолевого роста в 49 % случаев (Neville et al., 1990). С использованием гистологических методов было показано, что нейтрофилы скапливаются в зонах наиболее интенсивного роста опухоли и ингибируют поверхностную диффузию опухолевых клеток (Bru et al., 2004).

В экспериментах *in vitro* показано непосредственное цитотоксическое и цитостатическое действие нейтрофилов на опухолевые клетки (Pericle et al., 1996; Igney et al., 2004). При совместном культивировании нейтрофилов и опухолевых клеток наблюдали ингибирование синтеза ДНК в опухолевых клетках (Katano, Tosifu, 1982) либо их лизис (Wang et al., 1989).

Проявляя противоопухолевую активность, нейтрофил использует весь свой цитотоксический арсенал, возможности которого подробно описаны в предыдущем разделе. Ряд экспериментов показывает, что нейтрофилы инактивируют опухолевые клетки с помощью дефенсинов, протеолитических ферментов гранул, растворимых медиаторов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИНФ- $\gamma$ ), которые вызывают повреждение клеток опухоли (Di Carlo et al., 2001; Zivkovic et al., 2005).

Нейтрофилы проявляют противоопухолевую активность также и опосредованно, участвуя в регуляции миграции эффекторных клеток в зону опухолевого роста, что подтверждается в экспериментах. Так, при раке мочевого пузыря у мышей наблюдали уменьшение количества нейтрофилов, что сопровождалось значительным ослаблением миграции Т-лимфоцитов в мочевой пузырь. Это регулирующее свойство нейтрофилов используется и считается необходимым для эффективной противоопухолевой терапии (Suttman et al., 2006).

Обработка нейтрофилов специфическими пептидами (например, пептидом FK565) способствует взаимодействию нейтрофилов с опухолевыми клетками и повышает продукцию АФК (Wang et al., 1989). При стимуляции нейтрофилов лимфокинами также наблюдается усиление их противоопухолевой активности (Fujii et al., 1987).

### Противоопухолевая активность нейтрофила

Наряду со значительным количеством работ, в которых показана противоопухолевая активность нейтрофилов, в последнее время появились работы, свидетельствующие о проопухолевой активности нейтрофилов. Удивительно, что цитотоксический потенциал нейтрофила может быть направлен на уничтожение опухолевых клеток (Pericle et al., 1996; Zivkovic et al., 2005) и в то же время способствовать прогрессии опухоли, усиливая процессы мутагенеза, ангиогенеза и метастазирования (De Larco et al., 2004; Queen et al., 2005; Knaapen et al., 2006).

Протеолитические ферменты, выбрасываемые нейтрофилами, могут способствовать ангиогенезу, инвазии, метастазированию опухоли. Среди протеолитических ферментов, секретлируемых инфильтрирующими опухоль нейтрофилами, особое значение имеют матриксные металлопротеиназы (ММП)-9 и -13, которые активно преобразуют межклеточный матрикс (Masson et al., 2005; Noza-



Рис. 2. Двойственность действия нейтрофила при развитии опухоли — деструкция или развитие опухоли и ее распространение. Схема составлена по данным: Di Carlo, 2001; Mueller et al., 2004; Jablonska et al., 2005.

wa et al., 2006). ММП-9 является ключевым медиатором ангиогенеза, так как стимулирует пролиферацию эндотелиальных клеток сосудов (Coussens et al., 2000; Giraudo et al., 2004). В экспериментах с мышами, дефицитными по ММП-9, наблюдали снижение скорости пролиферации эпителиальных клеток, замедление ангиогенеза и прекращение развития опухоли (Coussens et al., 2000). Кроме того, нейтрофилы способствуют распространению опухоли по организму. Они помогают отделиться одиночным опухолевым клеткам от первичной опухоли, что показано *in vitro* на культуре клеток A549 и *in vivo* при работе с пациентами с аденокарциномой легкого (Wislez et al., 2007). Нейтрофилы облегчают распространение опухолевых клеток по межклеточному матриксу за счет его протеолитической деградации. Кроме того, нейтрофилы способствуют преодолению эндотелиального барьера опухолевыми клетками и их прохождению через стенки сосудов (Welch et al., 1989; Wu et al., 2001).

АФК, продуцируемые нейтрофилами, обладают канцерогенным потенциалом, увеличивая количество мутаций в клетках (Кнаарен et al., 2006; Perwez, Harris, 2007). Разные формы АФК повреждают хроматин (Mansoor, Ali, 2007), ДНК (Passos et al., 2007), мембраны (Jung et al., 2008), изменяют концентрацию внутриклеточного кальция (Kim et al., 2006). В результате повреждения ДНК (окисления оснований, их модификации, разрывов цепей) происходят хромосомные aberrации, в том числе точечные мутации, делеции или перестройки (Jablonska et al., 2005; Burhans, Weinberger, 2007). Мутации накапливаются и приводят к злокачественному перерождению клеток (Жданова и др., 2007; Grant et al., 2007). Кроме прямого мутагенного действия АФК могут косвенно способствовать развитию опухоли. Так, при исследовании метастазирующих аденокарцином показано, что перекись водорода и оксид азота, продуцируемые нейтрофилами, подавляют реакции адаптивного иммунитета, снижая активность Т-клеток (Schmielau, Finn, 2001).

Цитокины, продуцируемые нейтрофилами, как описано выше, вызывают повреждения опухолевых клеток. Но имеются факты, свидетельствующие о том, что действие

цитокинов способствует и прогрессии опухоли. Так, пролонгированная секреция ИЛ-15 усиливает образование лимфом у мышей (Fehniger et al., 2001), ИЛ-6 участвует в возникновении и развитии лимфом, вызванных канцерогенами (Hilbert et al., 1995). ФНО- $\alpha$  рассматривают как ключевой цитокин, продуцируемый во время воспаления, который создает благоприятные условия для развития опухоли (Balkwill et al., 2005). Помимо этого, цитокины, продуцируемые нейтрофилами, привлекают другие воспалительные клетки, которые также способствуют ангиогенезу (Esposito et al., 2004).

Хотелось бы заметить, что проопухолевое действие нейтрофилов проявляется чаще всего на более поздних сроках роста опухоли, что соответствует III—IV стадии онкологического заболевания (Esposito et al., 2004; Wislez et al., 2007; Klink et al., 2008). Вероятно, в этот период иммунная система уже не справляется с развивающейся опухолью, а защитные механизмы иммунитета приобретают патологическую направленность, усугубляя онкологическое заболевание и способствуя его развитию.

### Модификация нейтрофилов при росте опухоли

Изложенные данные свидетельствуют о том, что роль нейтрофилов в генезе опухоли неоднозначна: их активность приводит к деструкции опухолевых клеток и, наоборот, способствует прогрессии опухоли и метастазированию (рис. 2). Интригующий вопрос о том, почему нейтрофилы не продолжают борьбу против рака, а переходят на сторону опухоли на поздних стадиях ее развития, в настоящее время остается без ответа.

Объяснить сложные взаимоотношения опухолевых и иммунных клеток ученые пытались давно. Теория иммунологического надзора, возникшая в начале XX в., пытается дать объяснения этим взаимоотношениям (Chirlunkar, 2001; Girardi, 2006). Согласно ей, иммунные клетки следят (надзирают) за возникновением трансформированных клеток и уничтожают их. Однако

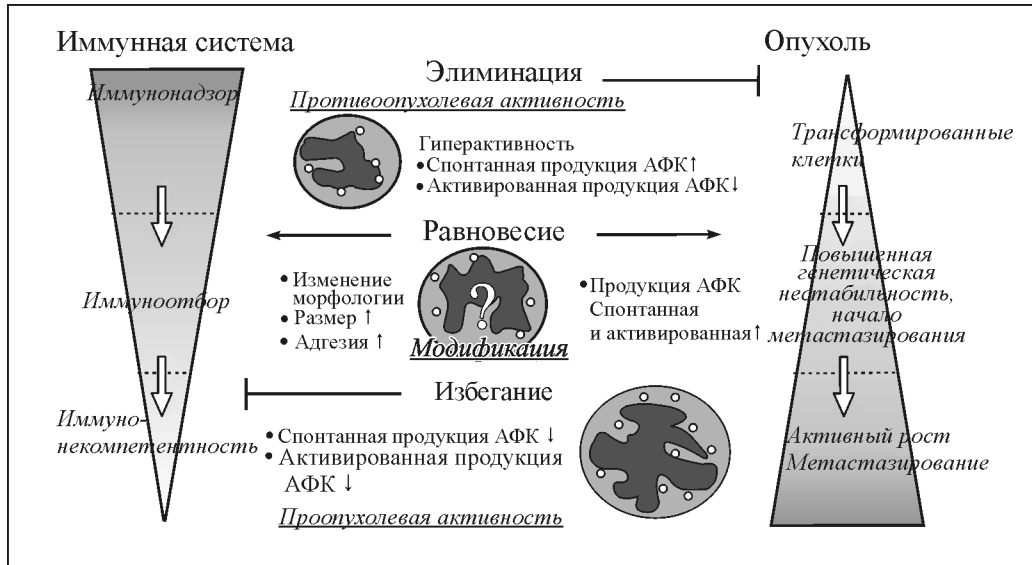


Рис. 3. Гипотетическая схема участия нейтрофилов во взаимоотношениях иммунной системы и растущей опухоли.

Показаны 3 возможных этапа модификации функционального состояния нейтрофила и смены противоопухолевой активности на проопухолевую. Составлено по: Zitvogel et al., 2006, с дополнениями и модификациями.

эта теория не объясняет, как опухоль избегает надзора иммунной системы, сохраняется в организме и развивается (Dunn, Old, 2004).

В настоящее время взаимоотношения между развивающейся опухолью и иммунной системой оцениваются иначе. Клинические и экспериментальные данные свидетельствуют о том, что иммунная система, с одной стороны, борется с опухолью, а с другой — способствует ее развитию. В начале этого десятилетия появилась теория иммуноредактирования или как ее называют в англоязычной литературе, гипотеза «трех Е» (elimination—equilibrium—escape) (Zitvogel et al., 2006; Swann, Smyth, 2007). Предполагается, что процесс иммуноредактирования включает в себя три стадии — элиминацию, равновесие и избегание. Элиминация характеризуется тем, что иммунные клетки распознают и удаляют возникающие в организме трансформированные клетки. Во второй фазе (равновесия) иммунные и опухолевые клетки сосуществуют в равновесных отношениях. Опухолевым клеткам свойственна повышенная генетическая нестабильность, а иммунные клетки пытаются распознать и удалить постоянно мутирующие опухолевые клетки. В этот период, вероятно, агенты, продуцируемые опухолевыми клетками, необратимо модифицируют сами нейтрофилы и другие иммунные клетки. В третьей фазе (избегания) иммунные клетки становятся некомпетентными по отношению к опухолевым клеткам, что позволяет последним прогрессировать и распространяться (Zitvogel et al., 2006; Germainis, Karanikas, 2007).

Мы предполагаем, что смена противоопухолевого действия нейтрофилов на проопухолевое может быть следствием влияния биологически активных веществ, продуцируемых опухолевыми клетками. Существует взаимосвязь между уровнем цитокинов и хемотаксических факторов, выделяемых раковыми клетками, и степенью вовлеченности нейтрофилов в иммунный ответ (Kato, Kitagawa, 2006). Раковые клетки секретируют широкий спектр цитокинов: в культуральной среде при выращивании клеток мезотелиомы в культуре, а также в плевральной жидкости пациентов со злокачественной

мезотелиомой идентифицировано около 80 различных цитокинов, которые обладают ангиогенными и иммуносупрессорными свойствами (Hegmans et al., 2006). Широкий спектр продуцируемых опухолью цитокинов и факторов роста создает и поддерживает определенное микроокружение развивающейся опухоли (Graf et al., 2001; Mueller, Fusenig, 2004). Возможно, что цитокины, праймируя или активируя нейтрофилы, запускают процессы, модифицирующие его функциональное состояние. Обнаружено, что непосредственное взаимодействие клеток рака яичника и нейтрофилов приводит к изменению функций последних. Авторы предположили, что активация провоспалительной активности нейтрофилов (высокая продукция АФК, повышенная экспрессия адгезивных молекул) является следствием влияния опухолевых клеток на сигнальные пути нейтрофилов (Klink et al., 2008).

В своих работах с экспериментальными опухолями мы показали, что развитие опухоли в организме животного сопровождается последовательным изменением морфологии и функциональной активности периферических нейтрофилов и зависит от стадии опухолевого роста (Мальцева и др., 2006; Мальцева, 2007). На ранних этапах роста опухоли (1—7 сут после инокуляции клеток карциномы Льюиса в лапу мыши) нейтрофилы находились в состоянии гиперактивности, которая характеризуется повышенным уровнем спонтанной продукции АФК и понижением ответа на активацию. На этом этапе нейтрофилы активно используют свой цитотоксический потенциал для борьбы с опухолью, и в то же время постоянно высокая базовая продукция АФК, возможно, способствует развитию опухоли (см. раздел «Проопухолевая активность нейтрофила»). Мы наблюдали повышение активности нейтрофилов (усиление адгезивных свойств и продукции АФК) у животных с 8—15-суточной опухолью. В этот период, вероятно, агенты, продуцируемые раковыми клетками, необратимо модифицируют нейтрофилы, что регистрировалось по изменению их морфологии, функциональной активности и ее регуляции, а также модификации регуляторной роли внутриклеточных протеинкиназ. На поздних стадиях развития карциномы

Льюиса (16—30 сут), когда резко увеличивается масса легких и гистологически выявляются метастазы, периферические нейтрофилы характеризуются снижением функциональной активности: уровень спонтанной и активированной продукции АФК значительно уменьшается. Огромный интерес для нас представляют дальнейшее исследование «второй фазы» и понимание механизмов перехода периферической (по отношению к опухоли) клетки от нормальной к модифицированной и разработка мероприятий по предотвращению этого процесса. Полученные нами результаты по модификации нейтрофилов согласуются с теорией «иммуноредирования», отражающей современные представления о взаимоотношениях растущей опухоли и иммунной системы (рис. 3).

### Заключение

Приведенные в настоящем обзоре литературные и собственные экспериментальные данные демонстрируют, что роль нейтрофилов в онкогенезе неоднозначна: нейтрофилы обладают как противоопухолевой, так и проопухолевой активностью. Вероятно, что на ранних этапах роста опухоли, когда иммунная система еще в состоянии выполнять свою функцию «надзора», реализуется противоопухолевое действие нейтрофила с привлечением всего его цитотоксического потенциала: протеолитических ферментов и белков гранул, АФК, цитокинов. На более поздних этапах онкогенеза, когда опухоль уходит из-под надзора иммунной системы, нейтрофил проявляет проопухолевую активность, способствуя прогрессу и распространению опухоли.

Мы наблюдали при росте экспериментальной опухоли модификацию нейтрофилов, которая проявлялась в измененных морфологии и функциональной активности клеток. Предполагается, что при этом происходит модификация нейтрофилов за счет воздействия на них продуктов, выделяемых клетками опухоли и ее стромы (цитокинов, гормонов), что сопровождается изменением направленности действия цитотоксического потенциала клеток. Множество работ демонстрирует модифицирующее влияние цитокинов на нейтрофилы. Например, увеличение уровня цитокинов приводит к праймированному состоянию нейтрофилов (Чекнев и др., 2002). Онкологическими заболеваниями сопутствует высокий уровень цитокинов в крови (Roodman, 2002; Viola, Bronte, 2007).

Необходимо исследование стадии онкогенеза, на которой противоопухолевая активность нейтрофила сменяется на проопухолевую, и выявление причин и факторов, способствующих этому процессу. Далеки от понимания механизмы, приводящие к тому, что одни и те же процессы (продукция АФК, секреторная дегрануляция, продукция цитокинов) приводят к противоположным результатам: уничтожению опухолевых клеток, либо обеспечение их прогрессии.

Пока не исследованы и не объяснены описанные явления, необходимо соблюдать осторожность при использовании нейтрофилов или их стимуляции в противораковой терапии. Свойства нейтрофилов замедлять рост опухоли, а также привлекать другие эффекторные клетки иммунной системы в зону роста опухоли за счет синтеза определенного спектра цитокинов используются в некоторых видах противоопухолевой терапии (Suttman et al., 2006; Simons et al., 2007). Было высказано предложение о том, что стимуляция нейтрофилов будет полезна при про-

тивораковой терапии (Александровский, 2002). Однако такая тактика чревата нежелательными последствиями, так как чрезмерная активация нейтрофилов, сопровождаемая постоянным высоким уровнем продукции АФК и цитокинов, напротив, может способствовать ангиогенезу и прогрессии опухоли (Wu et al., 2001; Esposito et al., 2004; Shojaei et al., 2008).

### Список литературы

- Александровский Я. А. 2002. Молекулярные механизмы взаимовлияния патологических процессов при совместном протекании сахарного диабета и рака. Научные и клинические аспекты. Биохимия. 67 (12) : 1611—1631.
- Жданова Н. С., Рубцов Н. Б., Минина Ю. М. 2007. Терминальные районы хромосом млекопитающих: эволюционный аспект. Генетика. 43 (7) : 873—886.
- Мальцева В. Н. 2007. Респираторный взрыв и особенности его регуляции в периферических нейтрофилах при росте опухоли in vivo: Автореф. канд. дис. Пушкино. 21 с.
- Мальцева В. Н., Авхачева Н. В., Санталов Б. Ф., Сафронова В. Г. 2006. Наблюдение в динамике модификации функциональной активности периферических нейтрофилов и ее регуляции при росте опухоли in vivo. Цитология. 48 (12) : 1000—1009.
- Маянский А. Н., Маянский Д. Н. 1989. Очерки о нейтрофиле и макрофаге. М.: Наука. 341 с.
- Чекнев С. Б., Амченкова А. М., Наровлинский А. Н. 2002. Взаимосвязь между праймирующим эффектом интерферона и функциональной активностью клеток крови человека. Вопросы вирусологии. 47 (2) : 40—42.
- Balkwill F., Charles K. A., Mantovani A. 2005. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. Cancer Cell. 7 : 211—217.
- Bovolenta C., Gasperini S., Cassatella M. A. 1996. Granulocyte colony-stimulating factor induces the binding of STAT1 and STAT3 to the IFN $\gamma$  response region within the promoter of the Fc(gamma)RI/CD64 gene in human neutrophils. FEBS Lett. 386 : 239—342.
- Bru A., Albertos S., Lopez Garcia-Asenjo J. A., Bru I. 2004. Pining of tumoral growth by enhancement of the immune response. Phys. Rev. Lett. 92 : 23 8101-1-4.
- Burhans W. C., Weinberger M. 2007. DNA replication stress, genome instability and aging. Nucl. Acids. Res. 35 : 7545—7556.
- Chiplunkar S. V. 2001. The immune system and cancer. Curr. Sci. 81 : 542—548.
- Coussens L. M., Tinkle C. L., Hanahan D., Werb Z. 2000. MMP-9 supplied by bone marrow-derived cells contributes to skin carcinogenesis. Cell. 103 : 481—490.
- Dallegri F., Ottonello L., Ballestrero A., Dapino P., Ferrando F., Patrone F., Sacchetti C. 1991. Tumor cell lysis by activated human neutrophils: analysis of neutrophil-delivered oxidative attack and role of leukocyte function-associated antigen 1. J. Inflamm. 15 : 15—30.
- De Larco J. E., Wuertz B. R. K., Furcht L. T. 2004. The potential role of neutrophils in promoting the metastatic phenotype of tumors releasing interleukin-8. Clin. Cancer Res. 10 : 4895—4900.
- De Visser K. E., Eichten A., Coussens L. M. 2006. Paradoxical role of the immune system during cancer development. Nat. Rev. Cancer. 6 : 24—37.
- Di Carlo E., Forni G., Lollini P. L., Colomobo M. P., Modesti A., Musiani P. 2001. The intriguing role of polymorphonuclear neutrophils in antitumor reactions. Blood. 97 : 339—345.
- Dunn G. P., Old L. J. 2004. The immunobiology of cancer immunosurveillance and immunoediting. J. Immunol. 21 : 137—146.
- Esposito I., Menicagli M., Funel N., Bergmann F., Boggi U., Mosca F., Bevilacqua G., Campani D. 2004. Inflammatory cells contribute to the generation of an angiogenic phenotype in pancreatic ductal adenocarcinoma. J. Clin. Pathol. 57 : 630—636.

- Faurschou M., Borregaard N. 2003. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect.* 5 : 1317—1327.
- Fehniger T. A., Suzuki K., Ponnappan A., VanDeusen J. B., Cooper M. A., Florea S. M., Freud A. G., Robinson M. L., Durbin J., Caligiuri M. A. 2001. Fatal leukemia in interleukin 15 transgenic mice follows early expansions in natural killer and memory phenotype CD8+ T cells. *Exp. Med.* 193 : 219—231.
- Fujii Y., Kimura S., Arai S., Sendo F. 1987. *In vivo* antitumor effect of lymphokine-activated rodent polymorphonuclear leukocytes. *Cancer Res.* 47 : 6000—6005.
- Gemlo B. T., Palladino M. A., Jaffe H. S., Espevik T. P., Raynor A. A. 1988. Circulating cytokines in patients with metastatic cancer treated with recombinant interleukin-2 and lymphokine activated killer cells. *Cancer Res.* 48 : 5864.
- Gericke G. H., Ericson S. G., Pan L., Mills L. E., Guyre P. M., Ely P. 1995. Mature polymorphonuclear leukocytes express high-affinity receptors for IgG (Fc gamma RI) after stimulation with granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF). *Leukoc. Biol.* 57 : 455—461.
- Germentis A. E., Karanikas V. 2007. Immunoepigenetics: the unseen side of cancer immunoediting. *Immunol. Cell Biol.* 85 : 55—59.
- Giovarelli M., Cappello P., Forni G., Salcedo T., Moore P. A., LeFleur D. W., Nardelli B., Di Carlo E., Lollini P.-L., Ruben S., Ullrich S., Garotta G., Musiani P. 2000. Tumor rejection and immune memory elicited by locally released LEC chemokine are associated with an impressive recruitment of antigen presenting cells, lymphocytes and granulocytes. *J. Immunol.* 164 : 3200—3206.
- Girardi M. 2006. Immunosurveillance and immunoregulation by  $\gamma\delta$ T cells. *J. Invest. Dermatol.* 126 : 25—31.
- Giraud E., Inoue M., Hanahan D. 2004. An amino-bisphosphonate targets MMP9 expressing macrophages and angiogenesis to impair cervical carcinogenesis. *Clin. Invest.* 114 : 623—633.
- Graf M., Prins R., Merchant R. 2001. IL-6 secretion by a rat T9 glioma clone induces a neutrophil-dependent antitumor response with resultant cellular, antiglioma immunity. *J. Immunol.* 166 : 121—129.
- Grant S. G., Das R., Cerceo C. M., Rubinstein W. S., Latimer J. J. 2007. Elevated levels of somatic mutation in a manifesting BRCA1 mutation carrier. *Pathol. Oncol. Res.* 13 : 276—283.
- Hegmans J. P., Hemmes A., Hammad H., Boon L., Hoogsteden H. C., Lambrecht B. N. 2006. Mesothelioma environment comprises cytokines and T-regulatory cells that suppress immune responses. *Eur. Respir. J.* 27 : 1086—1095.
- Hilbert D. M., Kopf M., Mock B. A., Köhler G., Rudikoff S. 1995. Interleukin 6 is essential for *in vivo* development of B lineage neoplasms. *Exp. Med.* 182 : 243—248.
- Igney F. H., Behrens C. K., Krammer P. H. 2004. CD95L mediates tumor counterattack *in vitro* but induces neutrophil-independent tumor rejection *in vivo*. *Int. J. Cancer.* 113 : 78—87.
- Ishikawa F., Miyazaki S. 2005. New biodefense strategies by neutrophils. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 53 : 226—233.
- Jablonska E., Puzewska W., Marcinczyk M., Grabowska Z., Jablonski J. 2005. iNOS expression and NO production by neutrophils in cancer patients. *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz.)* 53 : 175—179.
- Jaeschke H. 2006. Mechanisms of neutrophil-induced liver cell injury during hepatic ischemia-reperfusion and other acute inflammatory conditions. *Amer. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 290 : G1083—G1088.
- Jung C., Martins A. S., Niggli E., Shirokova N. 2008. Dystrophic cardiomyopathy: amplification of cellular damage by  $Ca^{2+}$  signalling and reactive oxygen species-generating pathways. *Cardiovasc. Res.* 77 : 766—773.
- Katano M., Tosiru M. 1982. Neutrophil-mediated tumor cell destruction in cancer ascites. *Cancer.* 50 : 62—68.
- Kato T., Kitagawa S. 2006. Regulation of neutrophil functions by proinflammatory cytokines. *Int. J. Hematol.* 84 : 205—209.
- Kim S. Y., Kim S. J., Kim B. J., Rah S. Y., Chung S. M., Im M. J., Kim U. H. 2006. Doxorubicin-induced reactive oxygen species generation and intracellular  $Ca^{2+}$  increase are reciprocally modulated in rat cardiomyocytes. *Exp. Mol. Med.* 38 : 535—545.
- Klebanoff S. J. 1999. Myeloperoxidase. *Proc. Assoc. Amer. Physicians.* 111 : 383—389.
- Klink M., Jastrzebska K., Nowak M., Bednarska K., Szpakowski M., Szylo K., Sulowska Z. 2008. Ovarian cancer cells modulate human blood neutrophils response to activation *in vitro*. *Scand. J. Immunol.* 68 : 328—336.
- Knaapen A. M., Gungor N., Schins R. P. F., Borm P. J. A., Schooten F. J. 2006. Neutrophils and respiratory tract DNA damage and mutagenesis: a review. *Mutagenesis.* 21 : 225—236.
- Lichtenstein A. K., Ganz T., Selsted M. E., Lehrer R. I. 1988. Synergistic cytotoxicity mediated by hydrogen peroxide combined with peptide defensins. *Cell. Immunol.* 114 : 104—116.
- Mansoor F., Ali R. 2007. Characterization of chromatin modified with reactive oxygen species: recognition by autoantibodies in cancer. *Clin. Biochem.* 40 : 928—935.
- Marcinkiewicz J. 1997. Neutrophil chloramines: missing links between innate and acquired immunity. *J. Immunol.* 18 : 577—580.
- Masson V., Ballina L. R., Munaut C., Wielockx B., Jost M., Maillard C., Blacher S., Bajou K., Itoh T., Itohara S., Werb Z., Libert C., Foidart J., Noe A. 2005. Contribution of host MMP-2 and MMP-9 to promote tumor vascularization and invasion of malignant keratinocytes. *FASEB J.* 19 : 234—236.
- McCourt M., Wang J. H., Sookhai S., Redmond H. P. 1999. Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. *Arch. Surg.* 134 : 1325—1331.
- Mueller M. M., Fusenig N. F. 2004. Friends or foes—bipolar effects of the tumor stroma in cancer. *Nature Rev. Cancer.* 4 : 839—849.
- Neville M. E., Pezzella K. M., Schmidt K., Galbraith W., Ackerman N. 1990. *In vivo* inhibition of tumor growth of B16 melanoma by recombinant interleukin 1 beta. II. Mechanism of inhibition: the role of polymorphonuclear leukocytes. *Cytokine.* 6 : 456—463.
- Nozawa H., Chiu Ch., Hanahan D. 2006. Infiltrating neutrophils mediate the initial angiogenic switch in a mouse of multistage carcinogenesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 103 : 12 493—12 498.
- Passos J. F., Saretzki G., von Zglinicki T. 2007. DNA damage in telomeres and mitochondria during cellular senescence: is there a connection? *Nucl. Acids Res.* 35.
- Pericle F., Kirken R. A., Epling-Burnette P. K., Blanchard D. K., Djeu J. Y. 1996. Direct killing of interleukin-2-transfected tumor cells by human neutrophils. *Int. J. Cancer.* 66 : 367—373.
- Perwez H. S., Harris C. C. 2007. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int. J. Cancer.* 121 : 2373—2380.
- Queen M. M., Ryan R. E., Holzer R. G., Keller-Peck C. R. 2005. Breast cancer cells stimulate neutrophils to produce oncostatin M: potential implications for tumor progression. *Cancer Res.* 65 : 8896—8904.
- Repp R., Valerius T., Wieland G., Becker W., Steininger H., Deo Y., Helm G., Gramatzki M., Van de Winkel J. G., Lang N. 1995. G-CSF-stimulated PMN in immunotherapy of breast cancer with a bispecific antibody to Fc gamma RI and to HER-2/neu (MDX-210). *Hematotherapy.* 5 : 415—421.
- Romani L., Bistoni F., Puccetti P. 1997. Initiation of T-helper cell immunity to *Candida albicans* by IL-12: the role of neutrophils. *Chem. Immunol.* 68 : 110—135.
- Roodman G. D. 2002. Role of the bone marrow microenvironment in multiple myeloma. *Bone Miner. Res.* 17 : 1923—1925.
- Schmielau J., Finn O. J. 2001. Activated granulocytes and granulocyte-derived hydrogen peroxide are the underlying mechanism of suppression of T-cell function in advanced cancer patients. *Cancer Res.* 61 : 4756—4760.
- Segal A. 2005. How neutrophils kill microbes. *Annu. Rev. Immunol.* 23 : 197—223.
- Shojaei F., Singh M., Thompson J. D., Ferrara N. 2008. Role of Bv8 in neutrophil-dependent angiogenesis in a transgenic model of cancer progression. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 105 : 2640—2645.

- Simons M. P., Nauseef W. M., Griffith T. S. 2007. Neutrophils and TRAIL: insights into BCG immunotherapy for bladder cancer. *Immunol. Res.* 39 : 79—93.
- Stockmeyer B., Beyer T., Neuhuber W., Repp R., Kalden J. R., Valerius T., Herrmann M. 2003. Polymorphonuclear granulocytes induce antibody-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *Immunology.* 171 : 5124—5129.
- Stoppacciaro A., Melani C., Parenza M., Mastracchio A., Bassi C., Baroni C., Parmiani G., Colombo M. P. 1993. Regression of an established tumor genetically modified to release granulocyte colony-stimulating factor requires granulocyte-T cell cooperation and T cell-produced interferon gamma. *J. Exp. Med.* 178 : 151—161.
- Sun Z., Yang P. 2004. Role of imbalance between neutrophil elastase and alpha 1-antitrypsin in cancer development and progression. *Lancet Oncol.* 5 : 182—190.
- Suttman H., Riemensberger J., Bentien G., Schmaltz D., Stöckle M., Jocham D., Böhle A., Brandau S. 2006. Neutrophil granulocytes are required for effective Bacillus Calmette-Guérin immunotherapy of bladder cancer and orchestrate local immune responses. *J. Cancer Res.* 66 : 8250—8257.
- Swann J. B., Smyth M. J. 2007. Immune surveillance of tumor. *J. Clin. Invest.* 117 : 1137—1146.
- Valerius T., Repp R., de Wit T. P., Berthold S., Platzer E., Kalden J. R., Gramatzki M., van de Winkel J. G. 1993. Involvement of the high-affinity receptor for IgG (Fc gamma RI; CD64) in enhanced tumor cell cytotoxicity of neutrophils during granulocyte colony-stimulating factor therapy. *Blood.* 82 : 931—939.
- Viola A., Bronte V. 2007. Metabolic mechanisms of cancer-induced inhibition of immune responses. *Semin. Cancer Biol.* 17 : 309—316.
- Wang Y. L., Kaplan S., Whiteside T., Herberman R. B. 1989. *In vitro* effects of an acyltripeptide, FK565, on antitumor effector activities and on metabolic activities of human monocytes and granulocytes. *Immunopharmacology.* 18 : 213—222.
- Welch D. R., Schissel D. J., Howrey R. P., Aeed P. A. 1989. Tumor-elicited polymorphonuclear cells, in contrast to «normal» circulating polymorphonuclear cells, stimulate invasive and metastatic potentials of rat mammary adenocarcinoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 86 : 5859—5863.
- Wislez M., Antoine M., Rabbe N., Gounant V., Poulot V., La-volé A., Fleury-Feith J., Cadranet J. 2007. Neutrophils promote aerogenous spread of lung adenocarcinoma with bronchioloalveolar carcinoma features. *Clin. Cancer Res.* 13 : 3518—3527.
- Witko-Sarsat V., Rieu P., Descamps-Latscha B., Lesavre P., Halbwachs-Mecarelli L. 2000. Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab. Invest.* 80 : 617—653.
- Wu Q. D., Wang J. H., Condron C., Bouchier-Hayes D., Redmond H. P. 2001. Human neutrophils facilitate tumor cell transendothelial migration. *Amer. J. Physiol. Cell. Physiol.* 280 : C814—C822.
- Zitvogel L., Tesniere A., Kroemer G. 2006. Cancer despite immunosurveillance: immunoselection and immunosurversion. *Nat. Rev. Immunol.* 7 : 1—13.
- Zivkovic M., Poljak-Blazi M., Egger G., Sunjic S. B., Schaur R. J., Zarkovic N. 2005. Oxidative burst and anticancer activities of rat neutrophils. *Biofactors.* 24 : 305—312.

Поступила 26 III 2008

#### AMBIGUITY ROLE OF NEUTROPHILS IN ONCOGENESIS

V. N. Maltseva,<sup>1</sup> V. G. Safronova

Institute of Cell Biophysics RAS, Pushchino, Moscow Region;  
<sup>1</sup> e-mail: MaltsevaVN@gmail.com

The review is focused on the participation of polymorphonuclear granulocytes (neutrophils) in development and spreading of a tumor. We consider both the well known functions of neutrophils (degranulation, production of reactive oxygen species (ROS)) and the recently shown one (presentation of an antigene). The special attention is focused on the ambiguity of the neutrophil role in oncogenesis. The dominant view is that neutrophils display exclusively antitumor properties. The update information testifies about protumoral activity of neutrophils: they migrate to a tumor and promote angiogenesis and metastasis at late stages of the tumor. It is interesting that certain components of neutrophil cytotoxic arsenal (ROS, cytokines, specific enzymes) participate both in antitumoral defenses of an organism and protumoral activity.

Key words: neutrophils, cytotoxic potential, tumor growth.