

УДК 615-006.04-097:612.017.1

DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-61-74

Для цитирования: Чердынцева Н.В., Митрофанова И.В., Булдаков М.А., Стахеева М.Н., Патышева М.Р., Завьялова М.В., Кжышковска Ю.Г. Макрофаги и опухолевая прогрессия: на пути к макрофаг-специфичной терапии. *Бюллетень сибирской медицины*. 2017; 16 (4): 61–74.

## Макрофаги и опухолевая прогрессия: на пути к макрофаг-специфичной терапии

Чердынцева Н.В.<sup>1,2</sup>, Митрофанова И.В.<sup>1,2</sup>, Булдаков М.А.<sup>1,2</sup>, Стахеева М.Н.<sup>1</sup>,  
Патышева М.Р.<sup>1</sup>, Завьялова М.В.<sup>1,4</sup>, Кжышковска Ю.Г.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (РАН)  
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский государственный университет (НИ ТГУ)  
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36

<sup>3</sup> Университет Гейдельберга  
Германия, 68167, г. Маннхайм, Theodor-Kutzer-Ufer, 1-3

<sup>4</sup> Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2

### РЕЗЮМЕ

Согласно современной парадигме, предложенной Peter Novell [1], канцерогенез – это 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. Отбор разных по биологическим свойствам клонов приводит к гетерогенности клеток внутри одной опухоли и обеспечивает тем самым низкий эффект химиотерапии.

В среднем только 40–60% пациентов с онкологическими заболеваниями эффективно отвечают на химиотерапию, и даже в случае первоначальной полной регрессии опухолей остается высокая вероятность рецидива [2, 3]. Повышение эффективности терапии солидных опухолей и снижение вероятности рецидива требует не только выбора оптимальных индивидуальных для каждого пациента схем терапии, но и разработки комбинированных подходов, направленных как на уничтожение опухолевых клеток, так и на противоопухолевое программирование микроокружения, где основную регуляторную роль играют иммунные клетки. Ключевыми клетками иммунной системы, определяющими взаимоотношения клеток опухоли с микроокружением, начиная с ранних стадий роста опухоли, включая регуляцию неангиогенеза и до терминальной стадии диссеминации злокачественного процесса, являются опухолеассоциированные макрофаги (ОАМ) [4–6]. Идентификация путей, ответственных за поддерживающую опухоль функцию макрофагов, дает возможность разработки терапевтических подходов, которые сочетают в себе химиотерапию, в том числе таргетную, со стратегией блокирования макрофагов. Инструментом блокирования макрофагов может быть ингибция их инфильтрации в опухоль, их уничтожение с помощью антимacroфагальных лекарственных агентов, выключение функции макрофагального колоние-стимулирующего фактора. Перспективны подходы одновременного воздействия на стволовые раковые

✉ Чердынцева Надежда Викторовна, e-mail: nvch@tnimc.ru.

клетки и ОАМ для отмены химиорезистентности и торможения опухолевой прогрессии. Развиваются стратегии перепрограммирования макрофагов с проопухолевыми функциями в клетки с противоопухолевым фенотипом.

Таким образом, чрезвычайно широкий спектр регуляторной и эффекторной активности, с одной стороны, и высокая функциональная пластичность макрофагов, с другой, указывают на перспективность разработки макрофаг-направленных воздействий с целью создания таких условий для взаимоотношений опухоли и микроокружения, которые бы препятствовали прогрессии опухолевого процесса.

**Ключевые слова:** опухолеассоциированные макрофаги, метастазирование, химиотерапия, гетерогенность опухоли, хитиназо-подобные белки, перепрограммирование макрофагов.

## ВВЕДЕНИЕ

Проблема заболеваемости злокачественными новообразованиями носит глобальный характер и связана с объективными демографическими причинами – увеличением доли пожилых лиц, имеющих более высокий риск заболеть раком. Ежегодно в мире регистрируется более 12 млн новых случаев рака и около 6,2 млн смертей от него [7]. Злокачественные новообразования являются причиной каждого четвертого летального исхода в развитых странах и каждого восьмого в мире в целом [8]. По сведениям комиссии журнала *Lancet Oncology*, расходы, связанные с преждевременной смертью и инвалидностью, вызванными онкологическими заболеваниями, во всем мире в 2008 г. достигли 895 млрд. долларов [9]. При этом следует заметить, что заболеваемость злокачественными новообразованиями продолжает неуклонно расти. Скорость прироста заболеваемости раком превышает скорость прироста населения [10]. По прогнозу к 2020 г. прирост заболеваемости составит около 33,7% [7].

Снижение смертности от рака может быть достигнуто за счет разработки подходов ранней диагностики злокачественного процесса, поскольку лечение пациентов с ранними стадиями более эффективно, чем распространенных форм заболевания. В целом совершенствование комбинированной терапии рака, как правило, включающей лекарственное лечение, также может повлиять на показатели смертности. В настоящее время появляются новые критерии оценки эффективности лечения, не ограничивающиеся оценкой степени регрессии опухоли или показателями продолжительности жизни после проведенного лечения. В социальном плане это, прежде всего, показатели качества жизни и снижение стоимости лечения. Полная элиминация опухоли не является единственной целью, которая, как оказалось, практически недостижима. Невозможность полной эрадикации злокачественного новообразования

из организма обусловлена клональным характером эволюции опухоли под влиянием химио- или лучевой терапии, что приводит к экспансии резистентных к лечению клонов, усилению феномена внутриопухолевой гетерогенности, и, в конечном счете, к отсутствию терапевтического эффекта и диссеминации опухолевого процесса. Доказана принципиально важная роль опухолевого микроокружения в определении судьбы опухоли. Регуляторное действие факторов микроокружения, важнейшим компонентом которого выступают воспалительные клетки, наряду с архитектурно-стромальной составляющей может приводить к остановке прогрессии злокачественного процесса без физической деструкции опухолевых клеток. Поэтому стабилизация процесса даже в условиях, когда не происходит полной элиминация опухоли, может рассматриваться как критерий клинической эффективности (end point) [11]. Смена целеполагания с точки зрения конечного результата лечения (остановка прогрессии) означает необходимость создания новых методологических подходов к предсказанию риска прогрессирования, выбору эффективных средств и методов воздействия на опухолевый процесс с учетом закономерностей процесса клональной эволюции опухоли, неразрывно сопряженной с адаптивным функционированием опухолевого микроокружения.

## КЛОНАЛЬНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ ОПУХОЛИ – ОСНОВА ВНУТРИОПУХОЛЕВОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ И ПРОГРЕССИИ ОПУХОЛИ

Современная парадигма онкологии была сформулирована Peter Nowell, который предложил рассматривать злокачественный рост как эволюционный процесс с клональной селекцией по типу естественного отбора Ч. Дарвина. Его концепция была опубликована в журнале *Science*

в 1976 г. в статье *Clonal evolution of tumor cell population* [1]. Основным принципом дарвиновской эволюционной системы – случайная генетическая изменчивость репродуктивных индивидуумов, объединенных общим происхождением, наряду с естественным отбором наиболее приспособленных вариантов может быть перенесен на опухолевую экосистему. Полагают, что опухоль возникает из единичной клетки и прогрессирует благодаря приобретенной генетической вариативности этого клона с последующей селекцией наиболее агрессивных субклиннов в адаптивном микроокружении и формированием клонов с определенными биологическими характеристиками, имеющих преимущество перед другими и обеспечивающих успешное развитие злокачественного новообразования. Следовательно, для каждого пациента требуется индивидуальная специфическая терапия, и даже соблюдение этого условия не исключает возникновение резистентных к лечению субклиннов [2].

Терапевтические вмешательства уничтожают определенные опухолевые клоны, но при этом может также обеспечиваться селективная экспансия резистентных клонов. Именно клональная эволюция опухолей под влиянием таких факторов, как химиотерапия и радиотерапия, следствием которой может быть доминирующее распространение нечувствительных опухолевых клонов, является важнейшей причиной опухолевой прогрессии и связанных с этим неудач противоопухолевого лечения.

Динамика эволюции соматических клеток зависит от скорости мутационных процессов, генетического разнообразия и клональной селекции [12–14]. Тканевые экосистемы обеспечивают пространство и определяющие детерминанты для соответствующего отбора, то есть так называемый адаптивный ландшафт [15]. Опухолевое микроокружение состоит из множества динамично взаимодействующих компонентов, которые могут определять эволюцию опухолевых клонов. Взаимодействие между клетками опухоли и микроокружением взаимно направлено, регулируется как системными факторами (нутриенты, гормоны), так и медиаторами, которые продуцируются инфильтрирующими воспалительными или эндотелиальными клетками. Клеточный состав опухолевого микроокружения является важным фактором формирования злокачественного потенциала. В частности показано, что плотность и состав клеток иммунной системы в опухолях толстой кишки может служить критерием прогноза, по точности превосходящим традиционные кри-

терии, такие как стадия и распространенность опухолевого процесса [16].

Характер взаимодействия клеток опухоли с микроокружением может быть изменен под влиянием химио- или лучевой терапии. Несмотря на то что большинство клеток может быть уничтожено под влиянием цитотоксических агентов, ремоделирование ландшафта создает условия для селективного отбора и экспансии минорных вариантов опухолевых клеток, не чувствительных к лечению [17]. Особенности биологического поведения каждой опухоли определяются специфическими молекулярно-генетическими изменениями как опухолевых клеток, так и компонентов микроокружения. Иммунная система является одним из ключевых участников клональной эволюции, формирует адаптивное микроокружение опухоли [18–20]. Нормальное микроокружение клеток играет критическую роль в супрессии рака, и его изменения могут выступать ключевым фактором инициации, прогрессии и чувствительности опухоли к лечению [21–25].

## ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ МАКРОФАГИ

Опухолеассоциированные макрофаги являются основными клетками врожденного иммунитета, которые регулируют взаимоотношения инфильтрирующих иммунокомпетентных клеток с опухолевыми клетками и с другими компонентами микроокружения, а также пролиферацию опухолевых клеток и ангиогенез [18, 26, 27]. Например, при раке молочной железы ОАМ составляют до 50% от опухолевой массы и играют важную роль в формировании и прогрессии рака молочной железы (РМЖ) [28]. Они происходят из циркулирующих моноцитов, которые привлекаются в опухоль и под влиянием внутриопухолевых факторов программируются в клетки, либо способствующие опухолевой прогрессии, либо ей препятствующие [6]. Моноциты составляют до 10% от циркулирующих клеток крови, морфологически и фенотипически неоднородны и являются предшественниками тканевых макрофагов различных органов. На мышиной модели было показано, что моноциты крови продуцируются костным мозгом (КМ) из клеток-предшественниц макрофагов или дендритных клеток (*macrophage dendritic precursors, MDP*). Установлено, что хемокиновый рецептор CCR2 и белок-хемоаттрактант 3 (*macrophage chemotactic protein, MCP-3*) имеют решающее значение для мобилизации моноцитов из костного мозга и поддержания тканевого гомеостаза [29].

Опухолеассоциированные макрофаги появляются в опухолях и связаны с конкретными злокачественными новообразованиями. Изучение их специфической поляризации показало, что ОАМ представлены М2-подобными макрофагами. Однако существуют также экспериментальные данные, предполагающие, что ОАМ участвуют как в М1-, так и М2-поляризации [30]. На основании различий в спектре активирующих молекул и секреторном цитокиновом паттерне макрофаги разделили на две функционально различающиеся популяции, по-разному влияющие на воспалительные процессы [31].

Классически активированные макрофаги (М1) формируются под влиянием липополисахарида (LPS), интерферона (IFN)  $\gamma$  и являются важными продуцентами провоспалительных цитокинов. Альтернативно активированные макрофаги (М2) отвечают на такие стимулы, как интерлейкин (IL) 4 или IL-13, и являются продуцентами противовоспалительных цитокинов. Недавно Р.Д. Murray et al. (2014) предложили номенклатуру и разработали экспериментальные указания по формированию М1- и М2-субпопуляций *in vitro* с целью получения данных, воспроизводимых в разных лабораториях [32]. Появление этого руководства указывает на актуальность изучения парадигмы популяций М1/М2, которые играют провоспалительную или противовоспалительную роль во время иммунных реакций при разных патологических состояниях, в том числе при формировании и прогрессии злокачественных новообразований.

Микроокружение солидных опухолей, клетки которого продуцируют множество хемоаттрактантов, обладает способностью привлекать циркулирующие моноциты, которые могут дифференцироваться в ОАМ и формировать там воспалительный инфильтрат. Показано, что ОАМ могут индуцировать ангиогенез, лимфангиогенез, ремоделирование стромы, подавление иммунитета и способствовать метастазированию. ОАМ продуцируют различные ферменты, включающие плазмин, урокиназный активатор плазминогена uPA, матриксные металлопротеиназы ММР и катепсин В, способствующие инвазии опухолевых клеток и метастазированию [33]. В 2014 г. R.A. Franklin et al. подтвердили в эксперименте, что воспалительные моноциты могут дифференцироваться в ОАМ; на последнем этапе их дифференцировки повышается уровень экспрессии рецептора интегрин *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1), но терминальная дифференцировка зависит от регулятора транскрипции Notch сигналинга, RBPJ [34]. D. Laoui et al. (2011) выделили

несколько субпопуляций ОАМ при раке молочной железы, описав их маркеры и функции [35].

Установлено, что при гепатоцеллюлярной карциноме ОАМ продуцируют высокие уровни хемокина IL-8, одного из индукторов эпителиально-мезенхимального перехода как необходимого ключевого события для отдаленного метастазирования и клеточную миграцию через сигнальный путь JAK2/STAT3 [36]. Эти данные указывают на то, что транскрипционный фактор STAT3 имеет прямое отношение к опухолевой прогрессии и может рассматриваться в качестве молекулы-мишени в противоопухолевой терапии.

Как уже отмечено, макрофаги поддерживают многие важные процессы, обеспечивающие прогрессирование опухолей, включая ангиогенез, инвазию опухолевых клеток, подвижность и интравазацию, а также метастазирование. При этом большое значение имеет стимулирование экстравазации опухолевых клеток и поддержание их устойчивого роста во вторичных очагах. Каждый из этих процессов регулируется различными субпопуляциями макрофагов [6]. Эти данные вместе с экспериментальными исследованиями, демонстрирующими ингибирование опухолевой прогрессии и метастазирования путем истощения популяции макрофагов, подтверждают, что взаимодействие опухолевых клеток с иммунной системой играет существенную роль для приобретения ими агрессивного фенотипа. Следовательно, функционал этих клеток может выступать в роли важной терапевтической мишени для лечения опухолей. Переключение направления дифференцировки макрофагов с фенотипа М2 на М1 было предложено в качестве терапевтического подхода для лечения злокачественных новообразований [4].

Колонистимулирующий фактор 1 (CSF-1) является хемоаттрактантом и основным регулятором функций большинства популяций макрофагов разного происхождения [37]. Высокая концентрация CSF-1 в опухолях ассоциирована с плохим прогнозом [6, 38]. Вместе с этими клиническими наблюдениями показано, что генетический нокаут CSF-1 приводит к замедлению инициирования прогрессирования (РМЖ, рак поджелудочной железы) и метастазирования (РМЖ), которое связано с отсутствием ОАМ. Генетический нокаут CSF-1, использование нейтрализующих антител, низкомолекулярных ингибиторов или антисмысловых РНК для ингибирования CSF-1R сигналинга уменьшает агрессивность ксенотрансплантатов опухолей, что ассоциировано с отсутствием ОАМ [6, 39, 40]. Сосудистый фактор *vascular endothelial growth factor A* (VEGFA) при-

влекает клетки-предшественницы макрофагов, которые затем дифференцируются в ОАМ (макрофаги M2) под влиянием IL-4 [41]. Удаление этих макрофагов ингибирует рост, ангиогенез и инвазию опухоли [41].

Макрофаги оказывают супрессорное действие на противоопухолевые эффекторы иммунной системы, в частности цитотоксические Т-лимфоциты. Моноциты и макрофаги могут сами экспрессировать молекулы семейства ингибирующих рецепторов LILRB leukocyte immunoglobulin-like receptors (LIT-2 и LIT-4), связывание которых с молекулой главного комплекса гистосовместимости HLA-G приводит к приобретению ими иммуносупрессорного фенотипа посредством секреции IL-10 и TGF- $\beta$ 1 [42].

В дополнение к молекулам главного комплекса гистосовместимости, макрофаги экспрессируют лиганды ингибирующих рецепторов – белок программируемой гибели клеток 1 (programming death, PD-1) и антиген цитотоксических Т-лимфоцитов 4 (cytotoxic T-lymphocyte antigen, CTLA-4). Эти ингибирующие лиганды обычно высоко экспрессированы в активированных иммунных эффекторных клетках: Т-, В- и НКТ-клетках, макрофагах, дендритных клетках как часть иммунного ответа, контролирующего его интенсивность и уровень воспалительного процесса (так называемые контрольные точки – check-point – иммунной системы). Активация PD-1 и CTLA-4 их лигандами (PD-L1, PD-L2 и B7-1 [CD80], B7-2 [CD86] соответственно) напрямую ингибирует T-cell receptor (TCR) и B-cell receptor (BCR) сигналинг, цитотоксические функции Т-клеток и их активацию [43]. PD-L1 и L2 регулируются в ОАМ и супрессорных клетках миелоидного происхождения (MDSC) [44]. Оказалось, что механизм действия уже внедренных в практику ингибиторов контрольных точек – моноклональных антител, снимающих иммуносупрессию (например, ипилимумаб – антитела против CTLA-4), – вовлекает макрофаги, экспрессирующие Fc $\gamma$ -рецептор, и инициирует прямую антителозависимую цитотоксичность макрофагов против Т-регуляторных клеток с иммуносупрессорной активностью (Treg) [45]. Тестирование макрофагов может послужить основой для разработки показаний к применению антител против контрольных точек, отсутствие которых в настоящее время приводит к клинической и экономической неэффективности этих препаратов.

Трансформирующий фактор роста (TGF)  $\beta$  и IL-10, продуцируемые макрофагами, ингибируют цитотоксические Т-лимфоциты, Th1 и Th2 CD4+ Т-клетки [46, 47].

ОАМ секретируют множество цитокинов, хемокинов и ферментов, которые прямо или косвенно могут подавлять эффекторные функции CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> Т-клеток путем рекрутирования естественных Т-регуляторов (nTreg) в опухолевое микроокружение, а также за счет индукции регуляторной фракции CD4<sup>+</sup> лимфоцитов (iTreg) и поддержания их выживаемости. Хемокиновые рецепторы CCR4, CCR5, CCR6 и CCR10, которые экспрессируются клетками nTreg, участвуют в их миграции в опухолевое микроокружение [48]. Клетки-супрессоры миелоидного происхождения (M-MDSCs) обладают более выраженным иммуносупрессивным потенциалом, чем гранулоциты, и распознаются как F4/80<sup>+</sup> (маркер, экспрессируемый также на воспалительных моноцитах) [49].

Деление макрофагов на две разные по функциям субпопуляции, как оказалось, не отражает действительной сложности картины, наблюдающейся в опухоли. Результаты исследования экспрессионного профиля разных субпопуляций макрофагов в разных контекстах опухолевого микроокружения показали наличие целого ряда отличных друг от друга субпопуляций макрофагов, обладающих различными функциональными свойствами. Существование определенного подтипа ОАМ обусловлено взаимодействием макрофагов с факторами, секретируемыми опухолевым микроокружением, что приводит к транскрипционной перестройке генного профиля ОАМ. ОАМ являются высокопластичными клетками и способны переключаться между подтипами в зависимости от специфических сигналов и стимулов внутри опухоли. Ангиогенезпрототирующие макрофаги вырабатывают трансформирующий фактор роста (TGF)  $\beta$ , сосудистые эндотелиальные факторы роста (VEGF-A), (VEGF-C), PDGF. Макрофаги, способствующие метастазированию, секретируют TGF- $\beta$ , катепсин В, матричную металлопротеиназу 9 (MMP9), антимикробный пептид LL-37, фактор некроза опухоли (TNF)  $\alpha$ . Макрофаги, оказывающие иммуносупрессорное действие, продуцируют другой спектр цитокинов: индуцибельную синтазу оксида азота (iNOS), аргиназу 1, индол-2,3-диоксигеназу (IDO), IL-10, TGF- $\beta$ , B7-H1, H3, H4. Выявлена субпопуляция макрофагов, поддерживающих раковые стволовые клетки, для них характерна экспрессия LL-37 и ISG-15 [50].

## МАКРОФАГИ И МЕТАСТАЗИРОВАНИЕ

В развитых странах мира 95% случаев смерти от солидных опухолей обусловлены метастазированием. Моноциты и макрофаги являются

необходимыми компонентами метастазирования, которые стимулируют неоангиогенез, экстравазацию клеток, их выживание и создают условия для устойчивого роста метастатических клеток в отдаленных сайтах [51]. Специфическое микроокружение в метастатических нишах состоит из макрофагов, эндотелиальных, мезенхимальных клеток-предшественниц, способствующих пролиферации опухолевых клеток и формированию макрометастазов. Макрофаги также участвуют в образовании метастатических ниш в первичной опухоли, которые хорошо распознаются при гистологическом исследовании и указывают на высокий метастатический потенциал опухоли, в частности при раке молочной железы у человека [52].

Ингибирование сигнального пути хемокинового рецептора CCR2 на макрофагах блокирует экстравазацию опухолевых клеток и ингибирует метастазирование [53]. Моноциты во вторичном сайте дифференцируются в CCR2<sup>+</sup>VEGFR1<sup>+</sup>Ly6C-F4/80<sup>+</sup> ассоциированные с метастазами макрофаги (ММ). Удаление или ингибирование функции ММ популяции с использованием генетических и химических манипуляций препятствует метастазированию и росту вторичного опухолевого очага [53, 54]. Миелоидные клетки также способствуют обратному мезенхимально-эпителиальному переходу циркулирующих клеток опухоли, который необходим для заселения метастатической ниши опухолевыми клетками, и стимулируют их пролиферацию путем ингибирования TGF- $\beta$  сигналинга в эпителиальных метастатических клетках [55].

Российские исследователи В.М. Перельмутер и В.Н. Манских высказали гипотезу о возможности образования более раннего звена метастазирования – так называемых прениш, которые еще не заселены опухолевыми клетками [56]. Прениша может формироваться в органах, богатых органоспецифическими макрофагами (легкие, печень, мозг и т.д.), где эндотелий имеет врожденную способность к интенсивному рекрутированию миелоидных клеток-предшественниц макрофагов, особенно в процессе воспаления, при этом создаются условия «почвы» для привлечения опухолевых клеток и развития макрометастазов. Полагают, что введение понятия «прениша» позволяет ликвидировать затруднения в создании концепции метастатических ниш, главным образом в связи с феноменом избирательной локализации метастазов в определенных органах (печень, легкие, костный мозг), сформулировать ряд предсказаний для эксперимен-

тальной проверки и указать путь для возможной профилактики метастазирования у части онкологических больных [56].

## МАКРОФАГИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Химиотерапия рассматривается в качестве направляющего фактора клонального разнообразия опухоли и обеспечивает условия для вовлечения иммунной системы в цитотоксическую реакцию на опухолевые клетки. Эти условия создаются при использовании противоопухолевых препаратов, способных повреждать структуру ДНК опухолевых клеток, что приводит к иммуногенной гибели клеток опухоли за счет экспрессии на опухолевых клетках неоантигенов, возникающих при повреждении клеточной ДНК. К числу наиболее известных и широко используемых в настоящее время препаратов такого рода относятся cyclophosphamide, doxorubicin, epirubicin, idarubicin, mitoxantrone, oxaliplatin, bortezomib, а также радиотерапия [57].

В последние годы экспериментально выявлены и теоретически обоснованы феномены вовлечения иммунной системы в реализацию противоопухолевого эффекта цитостатической терапии при участии механизмов врожденного и адаптивного иммунитета. 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. Транзиторная системная лимфопения влечет за собой восстановление противоопухолевой активности вновь пришедших в циркуляцию лимфоцитов, еще не подвергшихся негативному влиянию опухолевых супрессорных факторов.

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. Однако нередки случаи, когда клетки иммунной системы могут

модифицировать эффективность химиотерапии в направлении опухолевой прогрессии. Ниже представлены данные о разном влиянии макрофагов на эффективность химиотерапии [58] (таблица).

Неоадьювантная химиотерапия (НАХТ) является традиционным предоперационным лечением для многих типов опухолей, включая РМЖ [59]. Однако рецидивы опухоли после такого лечения встречаются достаточно часто [60]. Исследования показали, что миелоидные клетки, в особенности ОАМ, как правило, аккумулируются в опухолях после химиотерапии либо после радиотерапии и вносят вклад в рецидивирование опухоли [61, 62]. Сопутствующие механизмы включают индуци-

рованную макрофагами супрессию Т-клеточного иммунитета, поддержание выживаемости опухолевых клеток и активацию ревазуляризации опухоли [62]. Усиление химиотерапевтического ответа путем удаления макрофагов при различных условиях дает основания для испытаний комбинированных подходов терапии. Химиотерапевтический препарат трабектедин оказывает цитотоксическое действие на моноциты и макрофаги, в эксперименте показана его противоопухолевая активность [63]. Антиангиогенная терапия в сочетании с удалением макрофагов блокирует метастазирование экспериментальных опухолей [64], что открывает перспективы комбинированного воздействия.

Т а б л и ц а

Взаимодействие макрофагов и химиотерапии: проопухолевое или противоопухолевое действие	
Механизм	Препарат
<i>Проопухолевое действие</i>	
Ошибка репарации тканей	Доксорубин
M2-подобная проопухолевая поляризация	Платина
Увеличение продукции CSF-1 и CCL2, M2-подобная проопухолевая поляризация, подавление CD8 <sup>+</sup> Т-клеточного противоопухолевого ответа	Паклитаксел
Ограничение адаптивного иммунитета	Гемцитабин+ 5-фторурацил
Хемопротекция опухолевых стволовых клеток макрофагами	
<i>Противоопухолевое действие</i>	
Рекрутирование миелоидных клеток, дифференцировка антигенпрезентирующих клеток и активация иммунного ответа	Доксорубин
Иммуногенная гибель опухолевых клеток	Доксорубин
Противоопухолевая M1-подобная поляризация макрофагов	СрG Anti-CSF-1R
Удаление супрессорных клеток миелоидного происхождения (myeloid-derived suppressor cells, MDSC)	Доксорубин Гемцитабин
Сокращение числа ОАМ	Трабектедин Anti-CSF-1 Anti-CCL2 и другие антитела к хемокинам
Антителозависимая цитотоксичность против опухолевых клеток или ингибция Т-регуляторных клеток	Anti-CD20 Anti-CTLA4

В то же время другими авторами было показано, что некоторые химиотерапевтические агенты, такие как доксорубин и циклофосфамид, активируют макрофаги для поддержания противоопухолевого ответа в моделях РМЖ и лейкемии [65]. Получены данные о том, что при аденокарциноме пищевода химиотерапия влияет на структуру распределения и фенотип ОАМ и может изменять характер связи макрофагов с определяющими клиническое течение параметрами, такими как лимфогенное метастазирование. Важно отметить, что химиотерапия индуцирует перераспределение и привлечение новых макрофагальных субпопуляций в опухо-

левую ткань [62, 66]. Однако пока не получены данные, объясняющие биологическую сущность корреляции субпопуляций макрофагов с клиническим течением заболевания после химиотерапии, в частности при РМЖ. Это связано с двумя принципиально важными феноменами, которые практически никогда не принимаются во внимание исследователями при построении корреляций макрофагальной инфильтрации и клинического течения: внутриопухолевой гетерогенностью (паренхиматозный компонент) и существенной гетерогенностью адаптивного опухолевого микроокружения (стромально-воспалительный компонент).

## МАКРОФАГИ И ГЕТЕРОГЕННОСТЬ МИКРООКРУЖЕНИЯ

Внутриопухолевая гетерогенность – недавно охарактеризованный биологический феномен как результат клональной эволюции опухоли в естественных условиях или при химиотерапии, вносит решающий вклад в формирование стромально-воспалительного микроокружения. В совместных исследованиях сотрудников НИИ онкологии Томского НИМЦ показаны различия характера распределения и фенотипического состава клеток воспалительного инфильтрата вокруг разных морфологических структур опухоли молочной железы. Морфологические структуры на основании их генетической и экспрессионной разнородности, установленной авторами, рассматриваются как функционально обособленные популяции опухолевых клеток, обладающих разным метастатическим потенциалом, в обеспечение которого очевидно могут вносить вклад и компоненты микроокружения [67–70].

Высокая пластичность макрофагов обеспечивает возможность их функционального программирования под влиянием факторов микроокружения. Необходимо принимать во внимание гетерогенность микроокружения, а, следовательно, его разный макрофаг-полярирующий потенциал.

Нами проведены исследования характера распределения и состава макрофагальной инфильтрации в различных компартментах опухоли молочной железы. Оценивали наличие цитоплазматической экспрессии CD68 и стабилина 1 (stabilin 1) в клетках воспалительного инфильтрата в разных сегментах опухоли молочной железы: 1) в участках с нежнволокнистой стромой; 2) в участках с грубоволокнистой стромой; 3) в областях с так называемым максимальным стромально-паренхиматозным взаимодействием, где отдельные опухолевые клетки, короткие тяжи и группы опухолевых клеток располагались в нежнволокнистой строме; 4) среди паренхиматозных элементов; 5) в просветах протоковых опухолевых структур [71].

Рецептор CD68 присущ практически всем популяциям макрофагов, участвует в фагоцитарной активности тканевых макрофагов, во внутриклеточном лизосомальном метаболизме, внеклеточных взаимодействиях «клетка – клетка» и «клетка – патоген», связывается с лектинами и селектинами, что позволяет макрофагу оставаться в определенном участке ткани [27, 32, 71, 72]. Молекула стабилина экспрессируется на

альтернативно активированных макрофагах M2, осуществляет клиренс, участвует в ангиогенезе, хоминге лимфоцитов, адгезии клеток [37, 71, 72].

Важными маркерами макрофагов рассматриваются хитиназо-подобные белки (ХПБ), которые продуцируются несколькими типами клеток и сочетают в себе свойства цитокинов и факторов роста [73, 74]. Уровень циркулирующих ХПБ возрастает при воспалительных заболеваниях и различных видах опухолей [75, 76]. Способность ХПБ действовать в качестве факторов роста и индуцировать пролиферацию и миграцию клеток-мишеней делает их привлекательными объектами для противоопухолевой терапии. Хитиназо-подобные белки YKL-39, YKL-40, SI-CLP (chitinase-like proteins, содержат Glyco\_18-домен) не обладают ферментативной активностью. Недавно идентифицированный взаимодействующий со стабилином 1 хитиназо-подобный протеин SI-CLP (связанный со стабилином 1 CLP), как оказалось, сверхэкспрессирован в альтернативно активированных макрофагах и секретируется с участием лизосом [77]. ХПБ – новый класс секретируемых лектинов, которые сочетают в себе свойства цитокинов и факторов роста и опосредуют межклеточные взаимодействия, являются маркерами хронического воспаления и связанных с ним патологических процессов.

Согласно полученным нами результатам, CD68<sup>+</sup>-клетки (макрофаги) детектировались в нежнволокнистой строме с наибольшей частотой, в то время как в участках грубоволокнистой стромы они встречались втрое реже. Конфокальная микроскопия идентифицировала три типа внутриопухолевых макрофагов: CD68<sup>+</sup>/stabilin-1<sup>-</sup>; CD68<sup>+</sup>/stabilin-1<sup>+</sup> (более половины всех случаев); CD68<sup>-</sup>/stabilin-1<sup>+</sup>, что указывает на гетерогенность субпопуляций макрофагов в опухоли.

Состояние лимфатической системы – наиболее важный прогностический фактор для пациентов, получавших НАХТ [78]. Нами обосновано, что НАХТ при РМЖ изменяет ассоциацию пространственно-разграниченных субпопуляций ОАМ с лимфогенным метастазированием. В частности было показано, что после НАХТ CD68<sup>+</sup>, но не стабилин-позитивные макрофаги, среди паренхиматозных элементов обратно коррелируют с лимфогенным метастазированием. Однако в участках с грубоволокнистой стромой как CD68<sup>+</sup>, так и стабилин-1-позитивные макрофаги положительно коррелируют с количеством лимфатических узлов, вовлеченных в метастазирование. Содержание CD68-позитивных макрофагов



в грубоволокнистой строме коррелировало с эффективностью НАХТ. Отмечено, что увеличение количества CD68<sup>+</sup> ОАМ в протоковых структурах оказывает протективный эффект в отношении лимфогенного метастазирования [71, 72]. Все эти данные указывают на то, что функция ОАМ у больных после предоперационной терапии зависит от места их локализации и соответственно влияния локального микроокружения, которое играет существенную роль в направлении поляризации макрофагов в проопухолевый или противоопухолевый фенотип [72]. Подобные данные были получены A. Casazza et al. (2013), которые показали, что локализация ОАМ в нормоксической области опухоли по сравнению с их инфильтрацией гипоксического ареала может быть использована в качестве терапии, направленной на изменение проопухолевого фенотипа макрофагов с достижением противоопухолевого эффекта [79].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Важным выводом феномена опухолевой гетерогенности является то, что внутри опухоли клетки различны по биологическим свойствам, к ним не может быть применима одинаковая терапия. Всякий агент, направленный на какой-либо один механизм-мишень и удаляющий клетки данного фенотипа, приводит к экспансии резистентных к нему клонов и прогрессированию опухоли, сводя эффективность воздействия к нулю. Новые подходы видят цель противоопухолевого лечения не в элиминации каждой опухолевой клетки, а в остановке их пролиферации и поддержании равновесия между резистентными и чувствительными клонами, обеспечении условий для дремлющего состояния опухоли [8].

В этом аспекте трудно переоценить значимость микроокружения опухоли, состоящего из стромально-воспалительных компонентов, открывающего возможности функционального перепрограммирования патогенетически значимых его представителей, в числе которых первоочередной мишенью рассматриваются макрофаги, обладающие высоким пластическим потенциалом и широчайшим спектром регуляторной активности наряду со способностью к прямому цитотоксическому действию на опухолевые клетки.

Функциональная «переориентировка» макрофагов в противоопухолевый фенотип запускает каскад событий, приводящих к нарушению экосистемы, способствующей опухолевому росту, в результате чего прекращается пролиферация клеток опухоли, блокируется их метастатиче-

ский потенциал и могут быть созданы условия для достижения своеобразного паритета между опухолью и организмом хозяина, приводящие к остановке прогрессии заболевания.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом Российского научного фонда №14-15-00350.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Nowell P.C. The clonal evolution of tumor cell populations // *Science*. 1976; 194 (4260): 23–28. DOI: 10.1126/science.959840.
2. Greaves M., Maley C.C. Clonal evolution in cancer // *Nature*. 2012; 481 (7381): 306–313. DOI: 10.1038/nature10762.
3. Bhatia S., Frangioni J.V., Hoffman R.M., Iafrate A.J., Polyak K. The challenges posed by cancer heterogeneity // *Nat. Biotechnol.* 2012; 30 (7): 604–610. DOI: 10.1038/nbt.2294.
4. Mantovani A., Germano G., Marchesi F., Locatelli M., Biswas S.K. Cancer-promoted tumor-associated macrophages: new vistas and open questions // *Eur. J. Immunol.* 2011; 41 (9): 2522–2525. DOI:10.1002/eji.201141894.
5. Pollard J.W. Tumour-educated macrophages promote tumour progression and metastasis // *Nature Reviews Cancer*. 2004; 4: 71–78. DOI: 10.1038/nrc1256.
6. Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis // *Cell*. 2010; 141: 39–51. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.014.
7. Ferlay J., Shin H.R., Bray F., Forman D., Mathers C., Parkin D.M. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 // *Int. J. Cancer*. 2010; 127 (12): 2893–2917. DOI: 10.1002/ijc.25516.
8. 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. DOI: 10.1111/eva.12021.
9. 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.
10. Напалков Н.П. Рак и демографический переход // *Вопросы онкологии*. 2004; 50 (2): 127–144.
11. Napalkov N.P. Rak i demographicheskii perekhod [Cancer and demographic transition] // *Voprosy onkologii*. 2004; 50 (2): 127–144 (in Russian).
12. Кжышкова Ю.Г., Митрофанова И.В., Завьялова М.В., Слонимская Е.М., Чердынцева Н.В. Опухолеассоциированные макрофаги. М.: Наука, 2017: 224.

- Kzhyshkowska J.G., Mitrofanova I.V., Zavyalova M.V., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V. Opucholeassocirovannye makrofagi [Tumor-associated macrophages]. Moscow: Nauka Publ.: 224.
12. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation // *Cell*. 2011; 144: 646–674. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
  13. Loeb L.A. Human cancers express mutator phenotypes: origin, consequences and targeting // *Nat. Rev. Cancer*. 2011; 11 (6): 450–57. DOI: 10.1038/nrc3063.
  14. Weisenberger D.J., Siegmund K.D., Campan M., Young J., Long T.I., Faasse M.A. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer // *Nat. Genet.* 2006; 38 (7): 787–793. DOI: 10.1038/ng1834.
  15. Gatenby R.A., Silva A.S., Gillies R.J., Frieden B.R. Adaptive Therapy // *Cancer Res.* 2009; 69 (11): 4894–4903. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3658.
  16. Galon J., Mlecnik B., Bindea G., Angell H.K., Berger A., Lagorce C. Towards the introduction of the 'Immunoscore' in the classification of malignant tumours // *J. Pathol.* 2014; 232 (2): 199–209. DOI: 10.1002/path.4287.
  17. Gilbert L.A., Hemann M.T. DNA damage-mediated induction of a chemoresistant niche // *Cell*. 2010; 143 (3): 355–366. DOI: 10.1016/j.cell.2010.09.043.
  18. Yang J., Li X., Liu X., Liu Y. The role of tumor-associated macrophages in breast carcinoma invasion and metastasis // *Int. J. Clin. Exp. Patol.* 2015; 8 (6): 6656–6664.
  19. 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. DOI: 10.1186/bcr2912.
  20. Pollard J.W. 2008. Macrophages define the invasive microenvironment in breast cancer // *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84 (3): 623–630. DOI: 10.1189/jlb.1107762.
  21. Correia A.L., Bissell M.J. The tumor microenvironment is a dominant force in multidrug resistance // *Drug. Resist. Updat.* 2012; 15 (0): 39–49. DOI: 10.1016/j.drug.2012.01.006.
  22. 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. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.017.
  23. 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. DOI: 10.1007/s10549-011-1766-x.
  24. 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. DOI: 10.1038/nm.2328.
  25. Bissell M.J., Radisky D. Putting tumours in context // *Nat. Rev. Cancer*. 2001; 1 (1): 46–54. DOI: 10.1038/35094059.
  26. Noy R., Pollard J.W. Tumor-associated macrophages: from mechanisms to therapy // *Immunity*. 2014; 41: 49–61. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.010.
  27. Riabov V., Gudima A., Wang N., Mickley A., Orekhov A., Kzhyshkowska J., Role of tumor associated macrophages in tumor angiogenesis and lymphangiogenesis // *Front. Physiol.* 2014; 5: 75. DOI: 10.3389/fphys.2014.00075.
  28. Obeid E., Nanda R., Fu Y.X., Olopade O.I. The role of tumor-associated macrophages in breast cancer progression // *Int. J. Oncol.* 2013; 43 (1): 5–12. DOI: 10.3892/ijo.2013.1938.
  29. Tsou C.L., Peters W., Si Y., Slaymaker S., Aslanian A.M., Weisberg S.P., Mack M., Charo I.F. Critical roles for CCR2 and MCP-3 in monocyte mobilization from bone marrow and recruitment to inflammatory sites // *J. Clin. Invest.* 2007; 117 (4): 902–909. DOI: 10.1172/JCI29919.
  30. Allavena P., Sica A., Garlanda C., Mantovani A. The yin-yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance // *Immunol. Rev.* 2008; 222: 155–161. DOI:10.1111/j.1600-065X.2008.00607.x.
  31. Mills C.D., Kincaid K., Alt J.M., Heilman M.J., Hill A.M. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm // *J. Immunol.* 2000; 164 (12): 6166–6173.
  32. Murray P.J., Allen J.E., Biswas S.K., Fisher E.A., Gilroy D.W., Goerdt S., Gordon S., Hamilton J.A., Ivashkiv L.B., Lawrence T. Macrophage activation and polarization: nomenclature and experimental guidelines // *Immunity*. 2014; 41: 14–20. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.06.008.
  33. Wang R., Zhang J., Chen S., Lu M., Luo X., Yao S. et al. Tumor-associated macrophages provide a suitable microenvironment for non-small lung cancer invasion and progression // *Lung Cancer*. 2011; 74 (2): 188–196. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.04.009.
  34. Franklin R.A., Liao W., Sarkar A., Kim M.V., Bivona M.R., Liu K., Pamer E.G., Li M.O. The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages // *Science*. 2014; 344 (6186): 921–925. DOI: 10.1126/science.1252510.
  35. Laoui D., Movahedi K., Van Overmeire E., Van den Bossche J., Schouppe E., Mommer C., Nikolaou A., Morias Y., De Baetselier P., Van Ginderachter J.A. Tumor-associated macrophages in breast cancer: distinct subsets, distinct functions // *Int. J. Dev. Biol.* 2011; 55: 861–867. DOI: 10.1387/ijdb.113371dl.
  36. Fu X.T., Dai Z., Song K., Zhang Z.J., Zhou Z.J., Zhou S.L., Zhao Y.M., Xiao Y.S., Sun Q.M., Ding Z.B., Fan J. Macrophage-secreted IL-8 induces epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma cells by activating the JAK2/STAT3/Snail pathway // *Int. J. Oncol.* 2015; 46 (2): 587–596. DOI: 10.3892/ijo.2014.2761.
  37. Chitu V., Stanley E.R. Colony-stimulating factor-1 in immunity and inflammation // *Curr. Opin. Immunol.* 2006; 18 (1): 39–48. DOI: 10.1016/j.coi.2005.11.006.
  38. Smith H.O., Stephens N.D., Qualls C.R., Fligelman T., Wang T., Lin C.Y., Burton E., Griffith J.K., Pollard J.W. The clinical significance of inflammatory cytokines in primary cell culture in endometrial carcinoma // *Mol. Oncol.* 2013; 7: 41–54. DOI: 10.1016/j.molonc.2012.07.002.

39. Wyckoff J.B., Wang Y., Lin E.Y., Li J.F., Goswami S., Stanley E.R., Segall J.E., Pollard J.W., Condeelis J. Direct visualization of macrophage-assisted tumor cell intravasation in mammary tumors // *Cancer. Res.* 2007; 67: 2649–2656. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1823.
40. Abraham D., Zins K., Sioud M. Lucas T., Schäfer R., Stanley E.R., Aharinejad S. Stromal cell-derived CSF-1 blockade prolongs xenograft survival of CSF-1-negative neuroblastoma // *Int. J. Cancer.* 2010; 126: 1339–1352. DOI: 10.1002/ijc.24859.
41. Linde N., Lederle W., Depner S., van Rooijen N., Gutschalk C.M., Mueller M.M. Vascular endothelial growth factor-induced skin carcinogenesis depends on recruitment and alternative activation of macrophages // *J. Pathol.* 2012; 227:17–28. DOI: 10.1002/path.3989.
42. Brown D., Trowsdale J., Allen R. The LILR family: modulators of innate and adaptive immune pathways in health and disease // *Tissue antigens.* 2004; 64: 215–225. DOI: 10.1111/j.0001-2815.2004.00290.x.
43. Loke P., Allison J.P. PD-L1 and PD-L2 are differentially regulated by Th1 and Th2 cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100: 5336–5341. DOI: 10.1073/pnas.0931259100.
44. Belai E.B., de Oliveira C.E., Gasparoto T.H., Ramos R.N., Torres S.A., Garlet G.P., Cavassani K.A., Silva J.S., Campanelli A.P. PD-1 blockage delays murine squamous cell carcinoma development // *Carcinogenesis.* 2014; 35: 424–431. DOI: 10.1093/carcin/bgt305.
45. Simpson T.R., Li F., Montalvo-Ortiz W., Sepulveda M.A., Bergerhoff K., Arce F., Roddie C., Henry J.Y., Yagita H., Wolchok J.D., Peggs K.S., Ravetch J.V., Allison J.P., Quezada S.A. Fc-dependent depletion of tumor-infiltrating regulatory T cells codefines the efficacy of anti-CTLA-4 therapy against melanoma // *J. Exp. Med.* 2013; 210: 1695–1710. DOI: 10.1084/jem.20130579.
46. Oh S.A., Li M.O. TGF- $\beta$ : guardian of T cell function // *J. Immunol.* 2013; 191 (8): 3973–3979. DOI: 10.4049/jimmunol.1301843.
47. Ng T.H., Britton G.J., Hill E.V., Verhagen J., Burton B.R., Wraith D.C. Regulation of adaptive immunity; the role of interleukin-10 // *Front. Immunol.* 2013; 4: 129. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00129.
48. Adeegbe D.O., Nishikawa H. Natural and induced T regulatory cells in cancer // *Frontiers in immunology.* 2013; 4: 190. DOI: 10.3389/fimmu.2013.00190.
49. Gabrilovich D.I., Ostrand-Rosenberg S., Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumors. Nature reviews // *Immunology.* 2012; 12: 253–268. DOI: 10.1038/nri3175.
50. Sainz J.B., Martín B., Tatari M., Heeschen C., Guerra S., ISG15 is a critical microenvironmental factor for pancreatic cancer stem cells // *Cancer Research.* 2014; 74 (24): 7309–7320, 2014. DOI: 10.18632/oncotarget.9383.
51. Joyce J.A., Pollard J.W. Microenvironmental regulation of metastasis // *Nature reviews. Cancer.* 2009; 9: 239–252. DOI: 10.1038/nrc2618.
52. Rohan T.E., Xue X., Lin H.M., D'Alfonso T.M., Ginter P.S., Oktay M.H., Robinson B.D., Ginsberg M., Gertler F.B., Glass A.G., Sparano J.A., Condeelis J.S., Jones J.G. Tumor microenvironment of metastasis and risk of distant metastasis of breast cancer // *J. Natl. Cancer Inst.* 2014; 106 (8): dju136. DOI: 10.1093/jnci/dju136.
53. Qian B.Z., Li J., Zhang H. et al. CCL2 recruits inflammatory monocytes to facilitate breast-tumour metastasis // *Nature.* 2011; 475 (7355): 222–5. DOI: 10.1038/nature10138.
54. Qian B., Deng Y., Im J.H., Muschel R.J., Zou Y., Li J., Lang R.A., Pollard J.W. A distinct macrophage population mediates metastatic breast cancer cell extravasation, establishment and growth // *PLoS one.* 2009; 4: e6562. DOI: 10.1371/journal.pone.0006562.
55. Gao D., Vahdat L.T., Wong S. Chang J.C., Mittal V. Microenvironmental regulation of epithelial-mesenchymal transitions in cancer // *Cancer. Res.* 2012; 72 (19): 4883–9. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1223.
56. 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 (1): 130–139.
- Perelmuter V.M., Manskih V.N. Prenisha kak otsutstvuyushchee zveno koncepcii metastaticheskikh nish, ob'yasnyayushchee izbiratelnoe metastazirovanie zlokachestvennykh opukholei i formu metastaticheskoi bolezni [Preniche as missing link of the metastatic niche concept explaining organ-preferential metastasis of malignant tumors and the type of metastatic disease] // *Biokhimiya – Biochemistry.* 2012; 77 (1): 130–139 (in Russia).
57. Zitvogel L., Galluzzi L., Smyth M.J., Kroemer G. Mechanism of action of conventional and targeted anticancer therapies: reinstating immunosurveillance // *Immunity.* 2013; 39 (1): 74–88. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.06.014.
58. 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. DOI:10.1038/cdd.2013.67.
59. Gampenrieder S.P., Rinnerthaler G., Greil R. Neoadjuvant chemotherapy and targeted therapy in breast cancer: past, present, and future // *J. Oncol.* 2013; 2013:732047. DOI: 10.1155/2013/732047.
60. Thompson A.M., Moulder-Thompson S.L. 2012. Neoadjuvant treatment of breast cancer // *Ann. Oncol.* 23 Suppl. 10, x231. DOI: 10.1093/annonc/mds324.
61. De Palma M., Lewis C.E. Cancer: Macrophages limit chemotherapy // *Nature.* 2011; 472 (7343): 303–304. DOI: 10.1038/472303a.
62. Hughes R., Qian B.Z., Rowan C., Muthana M., Keklikoglou I., Olson O.C., Tazzyman S., Danson S., Addison C., Clemons M., Gonzalez-Angulo A.M., Joyce J.A., De Palma M., Pollard J.W., Lewis C.E. Perivascular M2

- macrophages stimulate tumor relapse after chemotherapy // *Cancer Res.* 2015; 75 (17): 3479–3491. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3587.
63. Germano G., Frapolli R., Belgiovine C., Anselmo A., Pesce S., Liguori M., Erba E., Ubaldi S., Zucchetti M., Pasqualini F. Role of macrophage targeting in the anti-tumor activity of trabectedin // *Cancer Cell.* 2013; 23: 249–262. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.01.008.
  64. Srivastava K., Hu J., Korn C., Savant S., Teichert M., Kapel S.S., Jugold M., Besemfelder E., Thomas M., Pasparakis M., Augustin H.G. Postsurgical adjuvant tumor therapy by combining anti-angiopoietin-2 and metronomic chemotherapy limits metastatic growth // *Cancer Cell.* 2014; 26: 880–895. DOI: 10.1016/j.ccr.2014.11.005.
  65. Mantovani A., Allavena P. The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages // *J. Exp. Med.* 2015; 212 (4): 435–445. DOI: 10.1084/jem.20150295.
  66. De Palma, M., Lewis C.E. 2013. Macrophage regulation of tumor responses to anticancer therapies // *Cancer Cell.* 23: 277–286. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.02.013.
  67. Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A., Gerashchenko T.S., Litviakov N.V., Skryabin N.A., Vtorushin S.V., Telegina N.S., Slonimskaya E.M., Cherdyntseva N.V., Perelmuter V.M. Phenotypic drift as a cause for intratumoral morphological heterogeneity of invasive ductal breast carcinoma not otherwise specified // *Biores. Open Access.* 2013; 2 (2): 148–54. DOI: 10.1089/biores.2012.0278.
  68. Tashireva L.A., Denisov E.V., Gerashchenko T.S., Pautova D.N., Buldakov M.A., Zavyalova M.V., Kzhyshkowska J., Cherdyntseva N.V., Perelmuter V.M. Intratumoral heterogeneity of macrophages and fibroblasts in breast cancer is associated with the morphological diversity of tumor cells and contributes to lymph node metastasis // *Immunobiology.* 2017; 222 (4): 631–640. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.11.012.
  69. Denisov E.V., Skryabin N.A., Gerashchenko T.S., Tashireva L.A., Wilhelm J., Buldakov M.A., Sleptcov A.A., Lebedev I.N., Vtorushin S.V., Zavyalova M.V., Cherdyntseva N.V., Perelmuter V.M. Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44+CD24- stemness // *Oncotarget.* 2017. DOI: 10.18632/oncotarget.18022.
  70. Gerashchenko T.S., Denisov E.V., Litviakov N.V., Zavyalova M.V., Vtorushin S.V., Tsyganov M.M., Perelmuter V.M., Cherdyntseva N.V. Intratumor heterogeneity: nature and biological significance // *Biochemistry (Mosc).* 2013; 78: 1201. DOI: 10.1134/S0006297913110011.
  71. Buldakov M., Zavyalova M., Krakhmal N., Telegina N., Vtorushin S., Mitrofanova I., Riabov V., Yin S., Song B., Cherdyntseva N., Kzhyshkowska J. 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; 222 (1): 31–38. DOI: 10.1016/j.imbio.2015.09.011.
  72. Mitrofanova I., Zavyalova M., Telegina N., Buldakov M., Riabov V., Cherdyntseva N., Kzhyshkowska J. Tumor-associated macrophages in human breast cancer parenchyma negatively correlate with lymphatic metastasis after neoadjuvant chemotherapy // *Immunobiology.* 2017; 222 (1): 101–109. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.08.001.
  73. Shao R., Hamel K., Petersen L., Cao Q.J., Arenas R.B., Bigelow C., Bentley B., Yan W. YKL-40, a secreted glycoprotein, promotes tumor angiogenesis // *Oncogene.* 2009; 28 (50): 4456–68. DOI: 10.1038/onc.2009.292.
  74. Kzhyshkowska J., Yin S., Liu T., Riabov V., Mitrofanova I. Role of chitinase-like proteins in cancer // *Biol. Chem.* 2016; 397 (3): 231–247. DOI: 10.1515/hsz-2015-0269.
  75. Kzhyshkowska J., Gratchev A., Goerdts S. Human chitinases and chitinase-like proteins as indicators for inflammation and cancer // *Biomark Insights.* 2007; 2: 128–246.
  76. Biggar R.J., Johansen J.S., Smedby K.E., Rostgaard K., Chang E.T., Adami H.O., Glimelius B., Molin D., Hamilton-Dutoit S., Melbye M., Hjalgrim H. Serum YKL-40 and interleukin 6 levels in Hodgkin lymphoma // *Clin. Cancer Res.* 2008; 14 (21): 6974–6978. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-1026.
  77. Kzhyshkowska J., Mamidi S., Gratchev A., Kremmer E., Schmuttmaier C., Krusell L., Haus G., Utikal J., Schledzewski K., Scholtze J., Goerdts S. Novel stabilin-1 interacting chitinase-like protein (SI-CLP) is up-regulated in alternatively activated macrophages and secreted via lysosomal pathway // *Blood.* 2006; 107: 3221–3228. DOI: 10.1182/blood-2005-07-2843.
  78. Faneyte I.F., Schrama J.G., Peterse J.L., Remijnse P.L., Rodenhuis S., van de Vijver M.J. Breast cancer response to neoadjuvant chemotherapy: predictive markers and relation with outcome // *Br. J. Cancer* 2003; 88 (3): 406–412. DOI: 10.1038/sj.bjc.6600749.
  79. Casazza A., Laoui D., Wenes M., Rizzolio S., Bassani N., Mambretti M., Deschoemaeker S., Van Ginderachter J.A., Tamagnone L., Mazzone M. Impeding macrophage entry into hypoxic tumor areas by Sema3A/Nrp1 signaling blockade inhibits angiogenesis and restores antitumor immunity // *Cancer Cell.* 2013; 24: 695–709. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ccr.2013.11.007>.

Поступила в редакцию 19.07.2017

Утверждена к печати 08.11.2017

Чердынцева Надежда Викторовна, д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. лабораторией молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН; вед. науч. сотрудник, лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Митрофанова Ирина Валерьевна, мл. науч. сотрудник, лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ; аспирант, Томский НИМЦ РАН, г. Томск.

Булдаков Михаил Александрович, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН; ст. науч. сотрудник, лаборатория трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, г. Томск.

Стахеева Марина Николаевна, д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, лаборатория молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН, г. Томск.

Патышева Марина Ренатовна, врач-лаборант, лаборатория молекулярной онкологии и иммунологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН, г. Томск.

Завьялова Марина Викторовна, д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотрудник, НИИ онкологии, Томский НИМЦ РАН; зав. кафедрой патологической анатомии, СибГМУ, г. Томск.

Кжышкowska Юлия Георгиевна, д-р биол. наук, профессор, зав. лабораторией трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины, НИ ТГУ, г. Томск; зав. отделом врожденного иммунитета и толерантности, Институт трансфузионной медицины и иммунологии, г. Маннхайм, Университет Гейдельберга, Германия.

(✉) Чердынцева Надежда Викторовна, e-mail: nvch@tnimc.ru.

УДК 615-006.04-097:612.017.1

DOI: 10.20538/1682-0363-2017-4-61-74

For citation: Cherdynitseva N.V., Mitrofanova I.V., Buldakov M.A., Stakheeva M.N., Patysheva M.R., Zavjalova M.V., Kzhyshkowska J.G. Macrophages and tumor progression: on the way to macrophage-specific therapy. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2017; 16 (4): 61–74.

## Macrophages and tumor progression: on the way to macrophage-specific therapy

**Cherdynitseva N.V.<sup>1,2</sup>, Mitrofanova I.V.<sup>1,2</sup>, Buldakov M.A.<sup>1,2</sup>, Stakheeva M.N.<sup>1</sup>, Patysheva M.R.<sup>1</sup>, Zavjalova M.V.<sup>1,4</sup>, Kzhyshkowska J.G.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMС) of the Russian Academy of Sciences (RAS) 5, Per. Kooperativny, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> National Research Tomsk State University (NR TSU) 36, Lenina Av., Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>3</sup> University of Heidelberg 1-3, Theodor-Kutzer-Ufer, Mannheim, 68167, Germany

<sup>4</sup> Siberian Medical State University 2, Moskov Tract, Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

According to the current paradigm proposed by Piter Novell [1], carcinogenesis is a process of clonal evolution in which consequent cycles of clonal selection in the adaptive tissue microenvironment give rise to tumors with a variety of genetic and other molecular changes determining the biological behavior of each individual tumor. Selection of clones with different properties provides heterogeneity of cancer cells within one tumor and thus results in a low effectiveness of chemotherapy.

On the average, only 40–60% of cancer patients respond to chemotherapy, and even in the case of complete regression, there is a high probability of tumor recurrence [2, 3]. Increasing the effectiveness of solid tumor therapy and reducing the possibility of recurrence requires not only the use of optimal individual schemes of therapy for each patient, but also the development of combined approaches aimed at both the destruction of tumor cells and antitumor programming of the microenvironment, where immune cells plays a prominent regulatory role. The key cells of the immune system that determine the relationship between tumor cells and the microenvironment, from early stages of tumor growth, including the regulation of neoangiogenesis,

and to terminal stage of dissemination of malignant process, are tumor-associated macrophages (TAM) [4–6]. Identification of the pathways responsible for the tumor-supporting function of macrophages makes it possible to develop therapeutic approaches combining chemotherapy with the macrophage blocking strategy. Inhibition of macrophage infiltration into tumor, their removal with anti-macrophagal agents, and switching off the function of the macrophage colony-stimulating factor can be the macrophage blocking tools. Approaches of simultaneous alteration of cancer stem cells and TAM to abolish chemoresistance and inhibit tumor progression are promising. Strategies for reprogramming of macrophages to switch off towards the antitumor phenotype are developing.

Thus, an extremely wide range of regulatory and effector activity and high functional plasticity of macrophages promise the development of macrophage-targeted therapeutic agents to modulate relationships between tumor and microenvironment to prevent the tumor progression.

**Key words:** tumor associated macrophages, metastasing, chemotherapy, tumor heterogeneity, chitinase like proteins, macrophage reprogramming.

Received July 19.2017

Accepted November 08.2017

**Cherdyntseva Nadezhda V.**, DBSc, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Molecular Oncology and Immunology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC of the RAS; Senior Researcher, Laboratory Translational Cellular and Molecular Biomedicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation.

**Mitrofanova Irina V.**, Junior Researcher, Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, NR TSU; Postgraduate Student, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC of the RAS, Tomsk, Russian Federation.

**Buldaikov Mikhail A.**, PhD, Molecular Oncology and Immunology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC of the RAS; Senior Researcher, Laboratory Translational Cellular and Molecular Biomedicine, NR TSU, Tomsk, Russian Federation.

**Stakheyeva Marina N.**, DM, Molecular Oncology and Immunology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC of the RAS, Tomsk, Russian Federation.

**Patysheva Marina R.**, Molecular Oncology and Immunology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC of the RAS, Tomsk, Russian Federation.

**Zavjalova Marina V.**, DM, Professor, Senior Researcher, Overall and Molecular Pathology Department, Cancer Research Institute, Tomsk NRMC of the RAS; Head of Pathological Anatomy Department, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Kzhyshkowska Julia G.**, DBSc, Professor, Head of the Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, NR TSU, Russian Federation; Head of Department of Innate Immunity and Tolerance, Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, University of Heidelberg, Mannheim, Germany.

(✉) **Cherdyntseva Nadezhda V.**, e-mail: nvch@tnimc.ru.