

ИНТЕРФЕРОНЫ АЛЬФА И ГАММА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМИ ОПУХОЛЯМИ КОСТЕЙ

И.В. Бабкина, Н.Е. Кушлинский, Ю.Н. Соловьев, О.И. Костылева, Г.Н. Мачак, М.Д. Алиев
Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, г. Москва

Ключевые слова: интерферон- α , интерферон- γ , сыворотка, опухоли костей

Содержание ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей и пациентов с доброкачественными новообразованиями костей было достоверно выше, чем с пограничными и злокачественными опухолями. Не выявлено достоверных различий в уровнях ИФН- α в сыворотке крови больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями костей. У практически здоровых людей выявлена обратная корреляция между возрастом и содержанием ИФН- α в сыворотке крови, а при опухолях костей взаимосвязи между возрастом пациентов и содержанием ИФН- γ и ИФН- α не выявлено. Содержание ИФН- γ и ИФН- α при саркомах костей не зависело от гистологического строения новообразования. У пациентов с метастазами и с локализованной формой заболевания уровни ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови достоверно не различались. Достоверных различий в содержании ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови больных с учетом максимального размера первичной опухоли не выявлено. Корреляционный анализ показал наличие прямой корреляционной зависимости между содержанием ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей с максимальными показателями при генерализации опухолевого процесса.

Интерфероны (ИФН) относят к цитокинам с широким спектром биологического действия. К наиболее важным функциям ИФН относят: способность оказывать противовирусный эффект [13], ингибировать гемопоэз [8, 10], модулировать иммунный и воспалительный ответ [5], регулировать пролиферацию и дифференцировку клеток [3, 12]. Участие ИФН в этих процессах осуществляется путем стимуляции транскрипции генов, кодирующих различные белки.

С учетом антигенных и физико-химических характеристик, способа индукции, эффективности и механизмов действия ИФН подразделяются на два типа: ИФН I типа (лейкоцитарный — ИФН- α ; фибробластический — ИФН- β) и ИФН II типа (иммунный — ИФН- γ), который продуцируется Т-клетками и натуральными киллерами в ответ на чужеродные антигены или митогены [14]. Известны также ИФН- ω и ИФН- τ .

Показано, что механизмы ингибирования ИФН роста клеток и формирования их устойчивости к вирусным инфекциям различны. Регуляция роста клеток осуществляется под действием ИФН I типа путем цитостатического действия или влиянием на индукцию

апоптоза. Механизмы цитостатического и проапоптотического эффектов ИФН I типа различны [9].

Показано, что клетки гигантоклеточной опухоли кости, опухоли Юинга и остеосаркомы в эксперименте способны продуцировать ИФН [3, 6, 7, 9]. Так, например, в 4 линиях клеток остеосаркомы ИФН- γ способствовал усилению Fas-зависимого апоптоза путем увеличения экспрессии рецепторов Fas и каспазы-8. На основании полученных результатов предполагают, что комбинированная иммунотерапия с ИФН- γ и моноклональными антителами к Fas или цитотоксическими Т-лимфоцитами к Fas-лиганду может быть использована в качестве дополнения к основным методам лечения остеосаркомы [4]. Представлены также данные о том, что активированные ИФН моноциты вызывают гибель опухолевых клеток линии остеосаркомы человека (HOS) [1].

Показано, что ИФН- γ стимулирует апоптоз линии клеток остеосаркомы человека (HOS), экспрессирующих S100A4 — кальций, связывающий белок, потенцирующий развитие метастазов, обладающий способностью индуцировать ангиогенез и стимулировать передвижение опухолевых клеток [7]. ИФН- γ способен ингибировать экспрессию S100A4 [2].

Представлены также клинические исследования ИФН у больных опухолями костей. Так, в одном из них приведены данные о применении ИФН- α в качестве дополнения к комплексной адъювантной терапии остеосаркомы [11].

Адрес для корреспонденции

Кушлинский Н.Е.
E-mail: biochimia@mtv-net.ru

Цель настоящего исследования — сравнительный анализ содержания ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови больных первичными новообразованиями костей и практически здоровых людей соответствующего возраста для выявления возможной их взаимосвязи с гистологическим строением новообразований и прогнозом заболевания.

Методика исследования

Обследовали 138 больных опухолями костей (мужчин — 77, женщин — 61) в возрасте от 14 до 30 лет: доброкачественные — 11, пограничные (гигантоклеточная опухоль кости) — 22, злокачественные — 105 (остеосаркома — 44, хондросаркома — 24, опухоль Юинга — 27, злокачественная фиброзная гистиоцитома кости — 7, хордома — 3).

Группу контроля составили 14 практически здоровых людей (мужчин — 8, женщин — 6) соответствующего возраста. У всех больных диагноз установлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли.

У 116 пациентов удалось определить размер первичной опухоли, в связи с чем они были разделены на 2 группы. В первую группу включили 69 больных с максимальным размером опухоли ≤ 10 см, во вторую — 47 больных с максимальным размером опухоли > 10 см. Определение концентрации ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови проводили до начала специфического лечения с использованием реактивов фирмы «Bender MedSystems» (Австрия) и автоматического ридера «Elx 800» («Biotek Instruments Inc.», США).

Результаты исследования

ИФН- α и ИФН- γ обнаружили в сыворотке крови всех обследованных практически здоровых людей и больных опухолями костей.

Среднее содержание ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей было достоверно выше, чем у больных, и составило $30,7 \pm 3,9$ пг/мл (медиана — 29,4) (табл. 1), чем у больных опухолями костей ($23,0 \pm 0,8$ пг/мл; медиана — 20,8; $p=0,009$). Среднее содержание ИФН- γ в сыворотке крови больных доброкачественными новообразованиями костей достоверно не отличалось от этого показателя у практически здоровых людей ($31,1 \pm 3,9$ пг/мл; медиана — 29,0), но было достоверно выше, чем у больных пограничными ($18,1 \pm 1,6$ пг/мл; медиана — 15,2; $p=0,001$) и злокачественными опухолями костей ($23,2 \pm 0,8$ пг/мл; медиана — 21,2; $p=0,01$).

В сыворотке крови практически здоровых мужчин уровни ИФН- γ были достоверно ниже ($23,9 \pm 3,8$ пг/мл; медиана — 23,9), чем у женщин ($39,7 \pm 6,3$ пг/мл; медиана — 44,3; $p=0,045$). Кроме того, выявлена обратная корреляционная зависимость между возрастом и содержанием ИФН- γ в сыворотке крови ($r=-0,66$) ($p=0,011$).

У больных опухолями костей достоверных различий в содержании ИФН- γ в сыворотке крови с учетом пола не выявили. У мужчин уровень ИФН- γ равнялся $22,3 \pm 1,1$ пг/мл (медиана — 20,8), у женщин — $24,0 \pm 1,2$ пг/мл (медиана — 21,2; $p=0,28$). Корреляционной взаимосвязи между возрастом больных опухолями костей и исходным содержанием ИФН- γ не обнаружили.

Анализ уровней ИФН- γ в сыворотке крови пациентов с саркомами костей с учетом их гистологического строения показал, что наибольшие показатели цитокина отмечены у больных хордомой, а самые низкие — при периостальной остеосаркоме, статистически различия не достоверны.

Клиническое течение остеосаркомы зависит от ее морфологического строения, поэтому в отдельные подгруппы были выделены пациенты с типичной остеосаркомой (34), периостальной (4) и паростальной остеосаркомой (6). При типичной остеосаркоме средние значения ИФН- γ составили $23,1 \pm 1,8$ пг/мл, при периостальной остеосаркоме — $21,1 \pm 3,4$ пг/мл, при паростальной остеосаркоме — $22,7 \pm 2,4$ пг/мл, при хондросаркоме — $21,2 \pm 0,85$ пг/мл, при опухоли Юинга — $23,7 \pm 1,8$ пг/мл, при злокачественной фиброзной гистиоцитоме кости — $27,5 \pm 3,9$ пг/мл, при хордоме — $31,7 \pm 2,7$ пг/мл.

У 21 больного саркомой кости в первый год наблюдения выявлены метастазы. При сравнительном анализе уровней ИФН- γ в сыворотке крови у пациентов с метастазами и без таковых показатели цитокина достоверно не различались ($22,6 \pm 2,6$ и $23,1 \pm 0,8$ пг/мл соответственно).

Достоверных различий в содержании ИФН- γ в сыворотке крови общей группы больных опухолями костей с учетом максимального размера первичной опухоли также не выявлено.

ИФН- α определен у 72 больных (мужчин — 44, женщин — 28) и у 5 практически здоровых людей (мужчин — 3, женщин — 2). Отмечена тенденция к более высоким средним уровням ИФН- α в сыворотке крови практически здоровых людей ($63,5 \pm 7,1$ пг/мл) по сравнению с больными опухолями костей ($51,6 \pm 2,4$ пг/мл) (таблица). Среднее содержание ИФН- α в сыворотке крови больных доброкачественными новообразованиями костей составило $42,2 \pm 3,2$ пг/мл, пограничными опухолями — $46,5 \pm 2,5$ пг/мл, саркомами костей — $53,3 \pm 2,9$ пг/мл. Достоверных различий в уровнях ИФН- α в сыворотке крови между вышеуказанными группами не выявлено.

При саркомах костей наибольшее среднее содержание ИФН- α выявлено при типичной остеосаркоме, а наименьшее — при злокачественной фиброзной гистиоцитоме кости, различия были статистически недостоверны. Средние уровни ИФН- α при типичной остеосаркоме (11) составили $62,4 \pm 12,5$ пг/мл, при периостальной остеосаркоме (1) — 51,4 пг/мл,

при паростальной остеосаркоме (5) – $51,5 \pm 1,5$ пг/мл, при хондросаркоме (19) – $50,2 \pm 2,1$ пг/мл, при опухоли Юинга (16) – $54,3 \pm 5,2$ пг/мл, при злокачественной фиброзной гистиоцитоме кости (4) – $41,4 \pm 5,1$ пг/мл.

Не обнаружили достоверных различий в содержании ИФН- α в сыворотке крови с учетом пола больных опухолями костей: у мужчин – $53,7 \pm 3,7$ пг/мл (медиана – 48,7); у женщин – $48,2 \pm 1,9$ пг/мл (медиана – 46,6; $p=0,27$). Корреляционная связь между возрастом пациентов и содержанием ИФН- α в сыворотке крови также не выявлена.

У 9 больных злокачественными опухолями костей в период наблюдения были выявлены метастазы. При этом содержание ИФН- α у пациентов с метастазами было выше, чем у пациентов с локализованной формой заболевания, однако различия были статистически недостоверны и равнялись соответственно $63,0 \pm 15,2$ и $51,4 \pm 2,1$ пг/мл ($p=0,16$).

Достоверных различий в содержании ИФН- α в сыворотке крови общей группы больных с учетом максимального размера первичной опухоли не выявлено, корреляционной взаимосвязи между размером опухоли и уровнем ИФН- α также не обнаружили.

Корреляционный анализ выявил недостоверную положительную корреляционную связь между показателями ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей ($r=0,74$; $p>0,05$) и достоверную – в общей группе больных опухолями костей ($r=0,77$; $p<0,001$). Не обнаружено корреляционной связи между уровнями ИФН- α и ИФН- γ в сыворотке крови больных доброкачественными и пограничными опухолями костей, тогда как при злокачественных новообразованиях костей коэффициент корреляции составил $r=0,80$ ($p<0,001$), а у пациентов с метастазами он был максимальным и составил $r=0,91$ ($p<0,05$), у больных без метастазов $r=0,61$ ($p<0,05$).

Таким образом, среднее содержание ИФН- γ в сыворотке крови практически здоровых людей и пациентов с доброкачественными новообразованиями костей было достоверно выше, чем с пограничными и злокачественными опухолями. Не выявили достоверных различий в уровнях ИФН- α в сыворотке крови больных доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями костей. У практически здоровых людей выявлена обратная корреляция между возрастом и содержанием ИФН- α в сыворотке крови, а при опухолях костей взаимосвязи между возрастом пациентов и содержанием ИФН- γ и ИФН- α не выявлено. Содержание ИФН- γ и ИФН- α при саркомах костей не зависело от гистологического строения новообразования. У пациентов с метастазами и с локализованной формой заболевания уровни ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови достоверно не различались. Достоверных различий в содержании ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови больных с учетом максимального размера первичной опухоли не выявлено. Корреляционный анализ показал наличие прямой зависимости между содержанием ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови больных злокачественными опухолями костей с максимальными показателями при генерализации опухолевого процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baron S., Hernandez J., Bekisz J. et al. Clinical model: interferons activate human monocytes to an eradicated tumor cell level *in vitro*. J. Interferon Cytokine Res. 2007, v. 27, No. 2, p. 157-163.
2. Boye K., Andersen K., Tveito S. et al. Interferon-gamma-induced suppression of S100A4 transcription is mediated by the class II transactivator. Tumour Biol. 2007, v. 28, No. 1, p. 27-35.
3. Gimeno R., Lee C.K., Schindler C., Levy D.E. Stat1 and Stat2 but not Stat3 arbitrate contradictory growth signals elicited by alpha/beta interferon in T lymphocytes. Mol. Cell Biol. 2005, v. 13, p. 5456-5465.

Таблица. ИФН- γ и ИФН- α в сыворотке крови больных первичными опухолями костей и практически здоровых людей

Обследованные группы	Количество	ИФН- α (пг/мл)		Количество	ИФН- γ (пг/мл)	
		Пределы колебаний	Медиана, среднее содержание		Пределы колебаний	Медиана, среднее содержание
Практически здоровые люди	5	44,5–88,0	62,6 $63,5 \pm 7,1$	14	9,7–52,9	29,4 $30,7 \pm 3,9^1$
Опухоли костей (общая группа)	72	27,9–181,3	47,3 $51,6 \pm 2,4$	13 8	9,7–68,3	20,8 $23,0 \pm 0,8^2$
Злокачественные	56	27,9–181,3	49,4 $53,3 \pm 2,9$	10	11,6–68,3	21,2 $23,2 \pm 0,8^3$
Пограничные (ГКО)	13	36,2–66,8	44,5 $46,5 \pm 2,5$	5 22	9,7–37,9	15,2 $18,1 \pm 1,6^4$
Доброкачественные	3	36,2–47,3	43,1 $42,2 \pm 3,2$	11	14,7–61,5	29,0 $31,1 \pm 3,9$

Примечание: $p_{1vs2}<0,05$; $p_{3vs5}<0,05$; $p_{4vs5}<0,05$.

4. Inaba H., Glibetic M., Buck S. et al. Interferon-gamma sensitizes osteosarcoma cells to Fas-induced apoptosis by up-regulating Fas receptors and caspase-8. *Pediatr. Blood Cancer*. 2004, v. 43, No. 7, p. 729-736.
5. Meda L., Gasperini S., Ceska M., Cassatella M.A. Modulation of proinflammatory cytokine release from human polymorphonuclear leukocytes by gamma interferon. *Cell Immunol*. 1994, v. 157, No. 2, p. 448-461.
6. Nishimura M., Yuasa K., Mori K. et al. Cytological properties of stromal cells derived from giant cell tumor of bone (GCTSC) which can induce osteoclast formation of human blood monocytes without cell to cell contact. *J. Orthop. Res*. 2005, v. 23, No. 5, p. 979-987.
7. Pedersen K.B., Andersen K., Fodstad O., Maelandsmo G.M. Sensitization of interferon-gamma induced apoptosis in human osteosarcoma cells by extracellular S100A4. *BMC Cancer*. 2004, No. 4, p. 52.
8. Salvi D., Kiyokawa H., Colamonici O.R. et al. Identification of an immunogenic EWS-FLI1-derived HLA-DR-restricted T helper cell epitope. *Pediatr. Hematol. Oncol*. 2005, v. 22, No. 4, p. 297-308.
9. Sandoval R., Xue J., Pilkinton M. et al. Different requirements for the cytostatic and apoptotic effects of type I interferons. Induction of apoptosis requires ARF but not p53 in osteosarcoma cell lines. *J. Biol. Chem*. 2004, v. 279, No. 31, p. 32275-32280.
10. Sato T., Onai N., Yoshihara H. et al. Interferon regulatory factor-2 protects quiescent hematopoietic stem cells from type I interferon-dependent exhaustion. *Nat. Med*. 2009, v. 15, No. 6, p. 696-700.
11. Strander H. Interferons and osteosarcoma. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2007, v. 18, No. 5-6, p. 373-380.
12. Wenner C.A., Güler M.L., Macatonia S.E. et al. Roles of IFN-gamma and IFN-alpha in IL-12-induced T helper cell-1 development. *J. Immunol*. 1996, v. 156, No. 4, p. 1442-1447.
13. Yamano Y., Araya N., Sato T. et al. Abnormally high levels of virus-infected IFN-gamma⁺ CCR4⁺ CD4⁺ CD25⁺ T cells in a retrovirus-associated neuroinflammatory disorder. *PLoS One*. 2009, v. 4, No. 8, E. 6517.
14. Young H.A., Hardy K.J. Role of interferon-gamma in immune cell regulation. *J. Leukoc. Biol*. 1995, v. 58, No. 4, p. 373-381.

Статья поступила 13.02.2011 г., принята к печати 13.04.2011 г.
Рекомендована к публикации Т.К. Харатишвили

INTERFERON α AND γ IN THE SERUM OF PRIMARY BONE TUMORS PATIENTS

Babkina I.V., Kushlinsky N.E., Soloviev Yu.N., Kostileva O.I., Machak G.N., Aliev M.D.
N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

Key words: interferon α , interferon γ , blood serum, bone tumors

Serum levels of interferon γ (IF- γ) in healthy donors and in patients with benign bone neoplasms were significantly high comparing to borderline and malignant bone tumors. No reliable distinguishes were found between serum levels of IF- α in patients with benign, borderline and malignant bone tumors. Invert correlation was shown between age and serum level of IF- α in healthy donors, on the contrary no correlations were observed between age and serum levels of IF- γ and of IF- α in patients with bone neoplasms. And also serum IF- γ and IF- α levels in patients with bone sarcomas are not dependant on the tumors histology and on the size of primary bone tumors. No correlations were found in the levels of IF- α and IF- γ in patients with localized and metastatic tumor processes. Direct correlation was found between IF- α and IF- γ serum levels in patients with malignant bone tumors in condition of maximal IF-concentrations in blood serum and advanced tumors.