

*В.Е. Чешук
Е.В. Ковальчук
Н.М. Бережная*

*Национальный медицинский
университет
им. А.А. Богомольца*

*Институт экспериментальной
патологии, онкологии и
радиобиологии
им. Р.Е. Кавецкого
НАН Украины, Киев, Украина*

ВЛИЯНИЕ ИНТЕРЛЕЙКИНА-2 И СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ НА РОСТ ЭКСПЛАНТАТОВ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Резюме. *Исследован характер роста эксплантатов рака молочной железы в диффузионных камерах в среде с гормональными препаратами и/или рекомбинантным интерлейкином-2 (ИЛ-2). Показана возможность более выраженного угнетения роста опухолевых эксплантатов при совместном воздействии ИЛ-2 и гормональных препаратов.*

Ключевые слова: *рак молочной железы, эксплантаты опухоли, культивирование, диффузионные камеры, гормональные препараты, рекомбинантный ИЛ-2.*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время одной из важнейших проблем медикаментозного лечения больных со злокачественными новообразованиями является проблема развития резистентности опухолевых клеток к применяемым лекарственным препаратам. Одним из возможных путей решения этой проблемы может стать включение в комплексное лечение методов иммунотерапии (ИТ). Сказанное в полной мере относится и к лечению больных раком молочной железы (РМЖ).

Клетки РМЖ экспрессируют рецепторы к различным гормонам, что обеспечивает паракринные и аутокринные (в случаях продуцирования клетками РМЖ и самих гормонов) механизмы роста опухоли [1]. Для блокирования таких механизмов в современном комплексном лечении больных РМЖ важное место занимает гормонотерапия. В последнее время главной задачей гормонотерапии считают угнетение образования эстрогенов в организме различными методами, в частности путем применения антиэстрогенов, которые связываются с рецепторами к ним на клетках опухоли [2].

В настоящее время в комплексном лечении больных РМЖ наряду с химио- и гормонотерапией значительное внимание уделяют также ИТ. К числу применяемых методов относятся вакцинотерапия, адоптивная ИТ, использование моноклональных антител, цитокинов (лимфокинов), неспецифическая ИТ [3–5, 10].

Известно, что в регуляции основных иммунных процессов важная роль принадлежит различным цитокинам, в частности интерлейкину-2 (ИЛ-2). Последний является плюрипотентным лимфокином, который вследствие аффинного связывания с соответствующими рецепторами воздействует на различные клетки иммунной системы: субпопуляции Т- и В-лимфоцитов, большие гранулоциты, эозинофильные гранулоциты,

дендритные клетки, макрофаги и др. [6]. Изучение роли ИЛ-2 в опухолевом процессе показало, что рецепторы к ИЛ-2 могут экспрессировать и клетки множества опухолей; кроме того, в ряде случаев опухолевые клетки либо продуцируют этот лимфокин, либо одновременно экспрессируют и рецепторы к ИЛ-2, и сам лиганд [7]. Клетки РМЖ не являются исключением [8]. При изучении действия ИЛ-2 на рост опухолевых эксплантатов было установлено, что оно проявляется по-разному: в одних случаях рост угнетается; в других — стимулируется, а в третьих — не изменяется [6, 9]. Неоднозначны также данные о влиянии на рост эксплантатов лимфокиноактивированных киллеров (ЛАК). Исследования по определению влияния ИЛ-2 на рост эксплантатов РМЖ до настоящего времени не проводились.

Несмотря на то, что в настоящее время ИЛ-2-терапия достаточно широко применяется при лечении больных с различными солидными опухолями, опыт ее использования при лечении больных РМЖ сравнительно невелик. При анализе результатов применения ИЛ-2 отмечена частичная регрессия опухолей только у 20% больных. Более эффективным было применение ЛАК, а также ИЛ-2 вместе с химиогормонотерапией [3]. Некоторые исследователи выявили усиление эффекта терапии тамоксифеном при его сочетанном использовании с интерфероном гамма или ИЛ-2, особенно при лечении больных с гормонорезистентными опухолями [11]. Механизм такого действия можно объяснить способностью некоторых цитокинов модулировать гормональную активность, рецепторный статус клеток РМЖ и их ответ на действие гормонов. Показано, в частности, что ИЛ-1 может вызывать транскрипционную активацию альфа-эстрогеновых рецепторов в клетках РМЖ [12].

Цель работы — изучить влияние ИЛ-2 на рост эксплантатов РМЖ при культивировании их в диф-

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

фузионных камерах с добавлением гормональных препаратов (эстрогена или синтетического прогестина) в зависимости от экспрессии рецепторов эстрогенов (РЭ), рецепторов прогестерона (РП) и белка HER-2/neu на опухолевых клетках.

ОБЪЕКТ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали характер роста эксплантатов опухоли 8 больных РМЖ I—II стадии. Возраст больных — от 45 до 74 лет. Устанавливали гистологическую структуру и степень дифференцировки опухоли, а также определяли РЭ, РП и белок HER-2/neu в опухолевой ткани [13]. Характеристика больных и исследованных опухолей представлена в табл. 1.

Характеристика обследованных больных

Номер эксплантата	Возраст больных (лет)	Гистологическая структура опухоли	Степень дифференцировки опухоли	Стадия	РЭ (%)	РП (%)	HER-2/neu
23	52	Инфильтрирующий дольково-протоковый рак	G2	T2N0M0	0	0	*
24	72	Инфильтрирующий дольковый рак	G1,2	T1N0M0	*	*	*
25	61	Инфильтрирующий дольковый рак	G2	T1N1M0	20	0	*
26	53	Инфильтрирующий протоковый рак	G1,2	T1N0M0	5	10	++
27	45	Инфильтрирующий протоковый рак	G2	T2N0M0	60	60	—
28	56	Инфильтрирующий протоковый рак	G2	T1N0M0	70	60	—
29	74	Инфильтрирующий протоковый рак	G2	T2N1M0	20	69	—
30	45	Инфильтрирующий протоковый рак	G1	T2N0M0	20	0	—

* Исследование не проводилось.

Морфологические исследования показали, что в 5 случаях диагностирован инфильтрирующий протоковый рак, в 2 — дольковый и в 1 — дольково-протоковый. Во всех случаях до хирургического вмешательства (секторальная резекция молочной железы) лучевую, химио- и гормонотерапию не проводили.

Фрагменты опухолевой ткани культивировали в диффузионных камерах, как описано ранее [13, 14]. В культуральную среду добавляли этинилэстрадиол (ЭЭ) или медроксипрогестерон (МП) и рекомбинантный ИЛ-2 («Биотех», Россия). Контролем служили эксплантаты, культивируемые без добавления каких-либо препаратов. Оценку результатов культивирования тканевых эксплантатов проводили по обнаружению сфероидов, а также по морфологической 9-балльной системе оценки роста опухолевых эксплантатов *in vitro* [15].

Использовали следующие варианты культивирования в диффузионных камерах: контроль роста эксплантатов; культивирование с использованием: ЭЭ в дозе 0,001 мг/кг (производили перерасчет клинической дозы препарата [16] на 2 мл культуральной среды — 0,000025 мг); МП в дозе 10 мг/кг — 0,2 мг в 2 мл культуральной среды; ИЛ-2 в дозе 200 Ед/мл; ЭЭ и ИЛ-2 в аналогичных дозах; МП и ИЛ-2 в аналогичных дозах.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении анализа особенностей роста эксплантатов РМЖ в диффузионных камерах в различных условиях культивирования отмечено, что они по-разному реагируют на добавление гормональных препаратов и/или ИЛ-2 (табл. 2). Так, в 3 случаях (эксплантаты 24, 25, 26) не наблюдали изменений ха-

рактера роста по сравнению с контролем как под влиянием ЭЭ или МП, так и под действием ИЛ-2, а также при культивировании с одновременным добавлением ЭЭ или МП и ИЛ-2. Следует отметить, что эти эксплантаты характеризовались низким уровнем роста (1 балл) и в контрольных образцах. Уровень экспрессии рецепторов гормонов был низким (в эксплантате 25 РП вообще не были выявлены). Экспрессия HER-2/neu была исследована лишь в эксплантате 26 (уровень ++).

В 3 случаях (эксплантаты 27, 29 и 30, которые характеризовались достаточно активным ростом в контроле) наблюдали качественно одинаковые изменения: угнетение роста при изолированном воздей-

Таблица 1

ствия каждого из препаратов, а также при их сочетанном применении. При этом ростигибирующее действие гормональных препаратов в эксплантатах 27 и 29 (ткани которых характеризовались достаточно высоким уровнем РП и отсутствием HER-2/neu, но несколько отличались по экспрессии РЭ) было более выражено, чем в эксплантате 30 при низкой экспрессии РЭ и отсутствии РП и HER-2/neu. Влияние ИЛ-2 практически не зависело от рецепторного статуса опухолевой ткани. При сочетанном воздей-

Таблица 2

Результаты культивирования эксплантатов РМЖ

Номер эксплантата	Степень роста (баллы)					
	Контроль	ЭЭ	МП	ИЛ-2	ИЛ-2 + ЭЭ	ИЛ-2 + МП
23	2	1	2	4	1A	1A
24	1	1A	1	1A	1A	1A
25	1	1	1	1	1	1
26	1	1	1	1	1	1
27	5	1	1	2	1	1
28	2	1	1	3	2	1
29	5	2	2	1	1	3
30	6	4	4	2	2	2

ствия ЭЭ или МП и ИЛ-2 в эксплантате 30 наблюдали усиление ростигибирующего эффекта (в сравнении с изолированным применением ЭЭ или МП).

В 2 случаях (эксплантаты 23 и 28) изолированное действие ИЛ-2 стимулировало рост опухолевых клеток. Оба эксплантата характеризовались достаточно низким ростом в контроле (2 балла) и малым ответом на воздействие гормональных препаратов (несмотря на различия в уровнях РЭ и РП). При сочетанном воздействии ЭЭ или МП и ИЛ-2 ростигибирующий эффект ИЛ-2 нивелировался.

Полученные данные носят предварительный характер, но, безусловно, заслуживают внимания факты как усиления ростигибирующего эффекта при

сочетанном воздействии на эксплантаты РМЖ гормональных препаратов и ИЛ-2, так и стимуляции роста эксплантатов под влиянием ИЛ-2. Механизмы выявленных эффектов, а также их связь (зависимость?) с уровнем исследованных рецепторов в ткани РМЖ в настоящее время объяснить сложно, тем более что указанные эффекты наблюдали не у всех больных. Можно предположить, что потенцирование эффекта осуществляется путем влияния ИЛ-2 на чувствительность опухолевых клеток к гормональным препаратам, однако это требует дальнейшего изучения.

ВЫВОДЫ

1. Полученные результаты позволяют предположить целесообразность совместного применения ИЛ-2 с гормональными препаратами при лечении больных РМЖ, а также подтверждают перспективность дальнейших исследований в этом направлении.

2. Включение ИЛ-2 в схемы комбинированного лечения больных РМЖ следует проводить с учетом результатов определения индивидуальной чувствительности опухоли к различным гормонам, ИЛ-2 и их сочетаниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Биология маркеров рака и беременности/Под ред ВБ Винницкого. Киев: Наук. думка, 1990. 252 с.
2. Santen RJ, Harvey HA. Use of aromatase inhibitors in breast carcinoma. *Endocrine-related cancer* 1999; (6): 75–92.
3. Sivanandham M, Wallack MK. Immunology, serum markers, and immunotherapy of mammary tumors: *Cancer of the Breast 4th ed*, Philadelphia. 1995: 581–94.
4. Fisher B, Costantino J, Redmond C, et al. A randomized clinical trial evaluating tamoxifen in the treatment of patients with node-negative breast cancer who have estrogen-receptor-positive tumors. *New Engl J of Medic* 1989; **320** (8): 479–84.
5. Slamon D, Leyland Jones B, Shak S, et al. Addition of Herceptin (humanized anti-HER-2 antibody) to first line chemotherapy for HER-2 overexpressing metastatic breast cancer (HER-2+/MBC) markedly increases anticancer activity: a randomized, multinational controlled phase III trial [Abstract 377]. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1998; (16): 377.
6. Бережная НМ, Горещкий БА. Интерлейкин-2 и злокачественные новообразования. Киев: Наук думка, 1992. 180 с.
7. Бережная НМ, Чехун ВФ. Система интерлейкинов и рак. К.: ДИА, 2000. 224 с.
8. Vaage J. Local and systemic effect during IL-2, therapy of mouse mammary tumors. *Cancer Res* 1987; **47** (12): 4295–6.
9. Бойченко ПК. Характер реагирования опухолевых эксплантатов человека на ИЛ-2 с учетом влияния продуктов культивирования опухолевых клеток на функциональную актив-

ность лимфоцитов периферической крови [Автореф дис ... канд мед наук] 1994. 16 с.

10. Macheledt JE, Buzdar AU, Hortobagyi GN, et al. Phase II evaluation of interferon added to tamoxifen in the treatment of metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment* 1991; **18** (3): 165–70.

11. Albertini MR, Gibson DFC, Robinson SP, et al. Preclinical model for breast cancer therapy utilizing tamoxifen and interleukin-2. *International Conference on Long-Term Antihormonal Therapy for Breast Cancer* 1991. 48.

12. Speirs V, Kerin MJ, Newton CJ, et al. Evidence for transcriptional activation of ER-Alpha by IL-1-Beta in breast cancer cells. *Int J of Oncol* 1999; **15** (6): 1251–4.

13. Чешук ВЕ, Захарьева ЛМ, Бережная НМ. Изучение чувствительности эксплантатов рака молочной железы к противоопухолевым препаратам. *Онкология* 2002; **4** (4): 263–7.

14. Якимович ЛВ, Бережная ЛМ, Семенова-Кобхарь РА и др. Использование метода диффузионных камер для выявления больных со злокачественными образованиями, подлежащих иммунотерапии рекомбинантным интерлейкином-2. *Информ письмо*. Киев, 1988. 10 с.

15. Бережная НМ, Ковальчук ЕВ, Денисевич ТВ и др. Сравнительная оценка особенностей влияния иммуномодуляторов различного происхождения на рост эксплантатов и изолированных опухолевых клеток человека и животных. *Эксперим онкол* 1996; **18** (3): 224–50.

16. Компендиум 1999/2000 — лекарственные препараты/ Под ред ВН Коваленко, АП Викторова. Киев: Морион, 1999. 1200 с.

EFFECT OF INTERLEUKIN 2 AND STEROID HORMONES ON THE GROWTH OF BREAST CANCER EXPLANTS

V.E. Cheshuk, E.V. Kovalchuk, N.M. Berezhnaya

Summary. The patterns of breast cancer explants' growth in diffuse cameras in media with hormone preparations and/or recombinant IL-2 were studied. The inhibition of tumor transplants' growth was shown to be more pronounced in case of combined administration of IL-2 and hormonal preparations.

Key Words: breast cancer, tumor explants, cultivation, diffuse cameras, hormonal preparations, recombinant IL-2.

Адрес для переписки:

Чешук В.Е.
03115, Киев, ул. Верховинная, 69
Киевская городская онкологическая больница,
кафедра онкологии Национального медицинского университета