

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПРОДУКЦИИ ЦИТОКИНОВ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ КРОВИ И ОПУХОЛИ В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ БОЛЬНЫХ ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**Кунц Т.А.¹, Михайлова Е.С.^{1,2}, Маринкин И.О.¹, Вараксин Н.А.³,
Аутеншлюс А.И.^{1,2}**

¹ ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

³ АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, Россия

Резюме. Известно, что существует взаимосвязь между возрастом пациента и патогенезом злокачественных новообразований, который сопряжен со способностью клеток опухоли и ее микроокружения секретировать цитокины, играющие значительную роль в канцерогенезе. Целью исследования явился сравнительный анализ продукции цитокинов клетками периферической крови и опухоли при воздействии на них поликлональных активаторов (ПА) при инвазивном протоковом раке молочной железы в различных возрастных группах больных. Материалом исследования служили образцы периферической крови и опухоли 54 женщин с инвазивным протоковым раком, являющимся по гистологическому типу аденокарциномой. Пациенты были разделены на группы по возрасту: I гр. – 40–60 лет, II гр. – 61 и более. В группе I метастазы в лимфатических узлах на момент исследования были выявлены у 13 пациентов из 31 (42%), в отличие от группы II, где количество пациентов с метастазами составило всего 3 человека из 23 (10%). Определение критерия Фишера показало достоверные различия между встречаемостью на момент исследования лимфоузлов с метастазами в зависимости от возраста пациентов ($p = 0,034$). В обеих возрастных группах пациентов отмечалось повышение концентрации IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1ra, G-CSF, GM-CSF и VEGF в супернатанте клеток опухоли и ее микроокружения по сравнению с продукцией цитокинов клетками крови, что свидетельствовало о высокой функциональной активности новообразования в совокупности с его микроокружением. Добавление ПА в среду культивирования приводило к повышению концентраций IL-2, IL-10, IL-17, IL-1ra, TNF α и IFN γ в супернатанте клеток крови, что свидетельствовало об их высоком потенциале в отношении их секреции. В группе пациентов в возрасте 40–60 лет индекс влияния ПА на продукцию IFN γ в несколько раз превышал аналогичный показатель у больных в возрасте 61 и более лет. Повышение ИВПА на продукцию практически всех цитокинов в супернатанте крови по сравнению с показателями супернатанта опухоли можно объяснить изначально высокими уровнями спонтанной продукции цитокинов опухолью и ее микроокружением, обеспечивающими злокачественную прогрессию, поэтому действие ПА на опухоль не приводило к такому же эффекту, как при действии на иммунокомпетентные клетки крови. Единственным цитокином, к продукции которого клетки

Адрес для переписки:

Кунц Татьяна Анатольевна
ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
630091, Россия, г. Новосибирск, Красный пр., 52.
Тел./факс: 8 (383) 226-35-60.
E-mail: tkunts@ngs.ru

Address for correspondence:

Kunts Tatyana A.
Novosibirsk State Medical University
630091, Russian Federation, Novosibirsk, Krasny ave, 52.
Phone/Fax: 7 (383) 226-35-60.
E-mail: tkunts@ngs.ru

Образец цитирования:

Т.А. Кунц, Е.С. Михайлова, И.О. Маринкин, Н.А. Вараксин, А.И. Аутеншлюс «Сравнительная оценка продукции цитокинов иммунокомпетентными клетками крови и опухоли в различных возрастных группах больных инвазивным протоковым раком молочной железы» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 5. С. 567-576.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-567-576

© Кунц Т.А. и соавт., 2017

For citation:

T.A. Kunts, E.S. Mikhaylova, I.O. Marinkin, N.A. Varaksin, A.I. Autenshlyus "Comparative analysis of cytokine production by blood immunocompetent cells and tumor in different age groups of patients with invasive ductal carcinoma", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 5, pp. 567-576.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-567-576

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-567-576

опухоли и микроокружения сохраняли высокий потенциал, был IL-18, что подтверждает его важную роль в канцерогенезе. На основании полученных данных о влиянии поликлональных активаторов на цитокинпродуцирующую функцию клеток опухоли и крови можно прийти к выводу о том, что постоянно циркулирующие иммунокомпетентные клетки, обладая высокой способностью к секреции цитокинов, являются тем резервом, который обеспечивает опухолевую прогрессию.

Ключевые слова: цитокины, супернатант, поликлональные активаторы, рак молочной железы

COMPARATIVE ANALYSIS OF CYTOKINE PRODUCTION BY BLOOD IMMUNOCOMPETENT CELLS AND TUMOR IN DIFFERENT AGE GROUPS OF PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA

Kunts T.A.^a, Mikhaylova E.S.^{a, b}, Marinkin I.O.^a, Varaksin N.A.^c, Autenshlyus A.I.^{a, b}

^a Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

^b Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

^c JSC "Vector-Best", Novosibirsk Region, Russian Federation

Abstract. It is known that a relationship exists between patient's age and pathogenesis of malignant tumors associated with ability of tumor and its microenvironment to secrete cytokines that may play an important role in carcinogenesis. The aim of present study was a comparative analysis of cytokine production by peripheral blood cells and tumor samples when exposed to polyclonal activators (PA) in patients of different age groups with invasive ductal carcinoma. Peripheral blood samples of 54 women with invasive ductal carcinoma were under study. The patients were divided into the following groups: I, 40-60 years old; II, 61 year and older. Metastases into lymph nodes were revealed at the moment of study in 13 patients (42%) from group I. By contrast, only 3 of 23 (10%) patients with metastases were revealed in group II. Fisher's ratio test showed significant differences between occurrence of metastases in lymph nodes, and patient age ($p = 0.034$). In both groups of patients, there was an increase of IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1ra, G-CSF, GM-CSF and VEGF concentrations in tumor supernates and its microenvironment, when compared with the production of cytokines by blood cells, thus indicating to high functional activity of tumor together with its microenvironment. Effect of PA led to increase of IL-2, IL-10, IL-17, IL-1 β , IL-1ra, TNF α and IFN γ concentrations in blood cells supernatant which suggested their high ability to produce cytokines. In the group of patients who were 40-60 years old, the stimulatory index of PA (SIPA) for IFN γ production was several times higher than similar index in patients aged 61 years or more. Increase of SIPA for all cytokines in blood cells supernates, in comparison to SIPA of tumor supernates, could be explained by initially high levels of spontaneous cytokine production by the tumor and its microenvironment that are able to promote tumor growth. Therefore, effect of PA upon tumor tissue was not so expressed as its effect upon immunocompetent blood cells. Both tumor and microenvironment maintained high ability of IL-18 production, thus confirming its important role in carcinogenesis. In summary, these findings suggest that circulating immunocompetent cells may serve as an additional factor providing tumor progression, due to their high ability to secrete cytokines.

Keywords: cytokines, supernatant, polyclonal activators, breast cancer

Введение

Цитокины, в силу своих свойств, способны прямо или косвенно влиять на дифференцировку и апоптоз опухолевых клеток, стимулировать ангиогенез, тем самым обеспечивая рост и прогрессию опухоли [10, 21, 23]. Являясь центральными регуляторами иммунного гомеостаза, цитокины, продуцируемые иммунокомпетентными клетками, связаны с процессами, протекающими локально в самом злокачественном новообразовании. Состав микроокружения опухоли

достаточно разнообразен: хотя основная часть и представлена иммунокомпетентными клетками, помимо них в него входят эндотелиальные клетки, фибробласты, фиброциты, незрелые дендритные, тучные клетки, которые также являются продуцентами цитокинов [5]. Известно, что возраст пациентов сопряжен с характером течения опухолевого процесса, в частности с метастазированием, как это было показано при раке молочной железы [2, 29].

Целью настоящего исследования явился сравнительный анализ продукции цитокинов

клетками периферической крови, опухоли ее микроокружения при воздействии на них поликлональных активаторов при инвазивном протоковом раке молочной железы в различных возрастных группах больных.

Материалы и методы

Материалом исследования служили образцы периферической крови и опухоли 54 женщин с инвазивным протоковым раком, являющимся по гистологическому типу аденокарциномой. Пациенты были разделены на группы по возрасту: I гр. – 40-60 лет, II гр. – 61 и более. В группе I метастазы в лимфатических узлах на момент исследования были выявлены у 13 пациентов из 31 (42%), в отличие от группы II, где количество пациентов с метастазами составило всего 3 человека из 23 (10%). Определение критерия Фишера показало достоверные различия между встречаемостью на момент исследования лимфоузлов с метастазами в зависимости от возраста пациентов ($p = 0,034$).

Для оценки цитокинпродуцирующего потенциала ИКК крови, а также опухоли и ее микроокружения применяли комплекс поликлональных активаторов (ПА), состоящий из фитогемагглю-

тиниана в концентрации 4 мкг/мл, конканавалина А в концентрации 4 мкг/мл и липополисахарида в концентрации 2 мкг/мл. В исследовании использовали стандартизованный набор реагентов «Цитокин-стимул-бест» производства АО «Вектор-Бест». Одну часть клеток крови пациента инкубировали в питательной среде DMEM-F12 (для определения спонтанной продукции), а другую – в таком же объеме среды при 37 °C в течение 24 ч с комплексом ПА для определения индуцированной им продукции цитокинов, после чего клетки осаждали центрифугированием при 2000 об/мин, 15 мин, получали супернатант, в котором проводили определение концентрации цитокинов [3].

Биоптаты опухолей объемом 8 мм³, полученные методом трепанобиопсии, помещали в 2 флакона, в одном из которых находилась только питательная среда DMEM-F12 (спонтанная продукция), а в другом – раствор ПА в таком же объеме среды (продукция, индуцированная ПА) и инкубировали при 37 °C в течение 72 ч. Для получения супернатанта опухоль извлекали, а оставшиеся клетки осаждали центрифугированием при 2000 об/мин, 15 мин, после чего в супернатанте с помощью иммуноферментного анализа определяли концентрацию IL-2, IL-6, IL-8,

ТАБЛИЦА 1. СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ В ВОЗРАСТЕ 40-60 ЛЕТ

TABLE 1. SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD CELLS AND TUMOR IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AGED 40-60 YEARS

Цитокин Cytokine	Концентрация в супернатанте, пг/мл Concentration the supernatant, pg/ml	
	Периферическая кровь Peripheral blood n = 31	Опухоль и ее микроокружение Tumor and microenvironment n = 31
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})
IL-2	2,00 (2,00; 2,00); p = 0,001	2,00 (2,00; 3,30)
IL-6	182,30 (111,00; 643,40); p = 0,0001	52440,00 (36300,00; 69740,00)
IL-8	675,00 (355,00; 2820,00); p = 0,0001	25000,00 (15840,00; 45460,00)
IL-10	2,20 (1,00; 5,80); p = 0,0001	11,20 (5,40; 18,30)
IL-17	2,00 (2,00; 2,00); p = 0,0001	2,20 (2,00; 5,20)
IL-18	24,60 (17,90; 30,40); p = 0,0001	108,70 (41,20; 251,30)
IL-1β	52,90 (15,60; 111,40)	49,60 (20,40; 86,00)
IL-1ra	644,40 (494,90; 936,10); p = 0,0001	9600,00 (1659,10; 36365,00)
TNFα	11,80 (5,70; 21,40)	10,50 (7,70; 22,60)
IFNγ	2,00 (2,00; 2,00); p = 0,0001	9,30 (7,20; 23,20)
G-CSF	13,10 (5,50; 42,50); p = 0,0001	2000,00 (606,70; 2850,50)
GM-CSF	3,80 (2,00; 9,40); p = 0,0001	43,00 (22,00; 79,50)
VEGF	53,80 (25,40; 89,30); p = 0,0001	2951,20 (2242,00; 4607,40)
MCP-1	3107,10 (1171,00; 7255,90)	3840,30 (1495,20; 10516,00)

ТАБЛИЦА 2. СПОНТАННАЯ ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ В ВОЗРАСТЕ 61-77 ЛЕТ

TABLE 2. SPONTANEOUS CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD CELLS AND TUMOR IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AGED 61-77 YEARS

Цитокин Cytokine	Концентрация в супернатанте, пг/мл Concentration the supernatant, pg/ml	
	Периферическая кровь Peripheral blood n = 23	Опухоль и ее микроокружение Tumor and microenvironment n = 23
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})
IL-2	2,00 (2,00; 2,00)	2,00 (2,00; 2,70)
IL-6	140,00 (33,20; 657,40); p = 0,0001	41040,00 (21820,00; 46980,00)
IL-8	520,00 (265,00; 1875,00); p = 0,0001	24800,00 (10400,00; 28860,00)
IL-10	4,10 (1,70; 6,50); p = 0,002	11,30 (4,80; 17,50)
IL-17	2,00 (1,00; 2,00); p = 0,001	2,30 (2,00; 8,10)
IL-18	27,40 (21,70; 34,20); p = 0,0001	76,90 (47,50; 203,70)
IL-1β	40,00 (12,90; 98,00)	34,10 (19,90; 61,50)
IL-1ra	533,50 (447,60; 1159,90); p = 0,0001	8820,00 (3105,00; 15855,00)
TNFα	10,90 (2,80; 25,90)	12,80 (4,70; 22,80)
IFNγ	2,00 (2,00; 2,00); p = 0,0001	11,40 (6,90; 18,00)
G-CSF	12,90 (2,00; 39,70); p = 0,0001	2767,50 (621,00; 2947,50)
GM-CSF	2,00 (2,00; 7,10); p = 0,0001	21,20 (9,80; 60,50)
VEGF	45,40 (28,70; 76,60); p = 0,0001	2164,40 (1346,60; 3243,00)
MCP-1	2119,00 (1211,00; 6601,30)	2296,00 (1138,00; 7504,00)

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АКТИВАТОРОВ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ

ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОВОКОВЫМ РАКОМ В ВОЗРАСТЕ 40-60 ЛЕТ

TABLE 3. POLYCLONAL ACTIVATORS EFFECT ON CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD CELLS AND TUMOR IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AGED 40-60 YEARS

Цитокин Cytokine	Концентрация в супернатанте, пг/мл Concentration the supernatant, pg/ml	
	Периферическая кровь Peripheral blood n = 31	Опухоль и ее микроокружение Tumor and microenvironment n = 31
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})
IL-2	19,00 (11,80; 32,60); p = 0,0001	6,60 (3,00; 9,50)
IL-6	12750,00 (9700,00; 16300,00); p = 0,0001	110000,00 (60750,00; 165100,00)
IL-8	16550,00 (12300,00; 25950,00); p = 0,0001	41350,00 (22900,00; 75850,00)
IL-10	93,80 (62,40; 123,60); p = 0,0001	13,50 (4,00; 32,30)
IL-17	53,20 (24,30; 120,40); p = 0,0001	6,50 (3,10; 14,00)
IL-18	32,10 (25,10; 38,90); p = 0,0001	226,60 (101,00; 404,30)
IL-1β	1290,00 (935,00; 1815,00); p = 0,0001	600,00 (390,00; 855,00)
IL-1ra	8146,00 (6176,60; 12254,50); p = 0,0001	16779,70 (10755,00; 38225,00)
TNFα	813,10 (614,00; 1280,00); p = 0,0001	38,60 (17,70; 81,40)
IFNγ	1191,50 (488,70; 1511,20); p = 0,0001	36,50 (10,50; 64,50)
G-CSF	855,00 (536,6; 1037,20); p = 0,0001	2845,00 (1275,00; 2906,00)
GM-CSF	91,70 (48,20; 122,40); p = 0,019	125,60 (64,70; 243,70)
VEGF	106,00 (74,20; 163,10); p = 0,0001	1664,40 (864,80; 3392,00)
MCP-1	4633,60 (2849,00; 5863,90)	2742,00 (1896,00; 12756,00)

ТАБЛИЦА 4. ВЛИЯНИЕ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АКТИВАТОРОВ НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОКОВЫМ РАКОМ В ВОЗРАСТЕ 61-77 ЛЕТ
TABLE 4. POLYCLONAL ACTIVATORS EFFECT ON CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD CELLS AND TUMOR IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AGED 61-77 YEARS

Цитокин Cytokine	Концентрация в супернатанте, пг/мл Concentration the supernatant, pg/ml	
	Периферическая кровь Peripheral blood n = 23	Опухоль и ее микроокружение Tumor and microenvironment n = 23
	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)
IL-2	15,10 (7,00; 32,00); p = 0,0001	3,90 (2,00; 12,00)
IL-6	11100,00 (8200,00; 18950,00); p = 0,0001	85900,00 (25550,00; 136350,00)
IL-8	15050,00 (11900,00; 19200,00)	38700,00 (10550,00; 57850,00)
IL-10	92,70 (56,00; 138,10); p = 0,0001	13,20 (3,60; 118,20)
IL-17	41,60 (18,90; 89,00); p = 0,0001	4,30 (2,00; 16,00)
IL-18	35,20 (27,20; 39,30); p = 0,0001	289,40 (86,90; 468,30)
IL-1 β	1490,00 (1060,00; 3560,00); p = 0,0001	510,00 (265,00; 935,00)
IL-1ra	8600,00 (5071,40; 9365,50); p = 0,0001	16148,90 (11435,00; 27060,00)
TNF α	1174,00 (658,00; 1366,00); p = 0,0001	43,70 (14,80; 90,10)
IFN γ	619,30 (310,70; 1224,90); p = 0,0001	12,30 (8,30; 28,70)
G-CSF	760,60 (704,20; 1006,00); p = 0,0001	2832,50 (1333,00; 3485,50)
GM-CSF	63,70 (37,70; 129,30)	133,10 (53,50; 215,20)
VEGF	118,40 (84,20; 208,40); p = 0,0001	1810,80 (1034,60; 2398,00)
MCP-1	3820,00 (2735,00; 4236,00)	3357,00 (739,20; 10521,00)

ТАБЛИЦА 5. ИНДЕКСЫ ВЛИЯНИЯ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АКТИВАТОРОВ (ИВПА) НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОКОВЫМ РАКОМ В ВОЗРАСТЕ 40-60 ЛЕТ
TABLE 5. STIMULATION INDEXES OF POLYCLONAL ACTIVATORS (SIPA) ON CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD CELLS AND TUMOR IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AGED 40-60 YEARS

Цитокин Cytokine	Концентрация в супернатанте, пг/мл Concentration the supernatant, pg/ml	
	Периферическая кровь Peripheral blood n = 31	Опухоль и ее микроокружение Tumor and microenvironment n = 31
	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)	Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)
IL-2	9,50 (5,90; 16,30); p = 0,0001	2,40 (1,00; 4,35)
IL-6	60,80 (18,10; 119,70); p = 0,0001	2,32 (1,61; 2,75)
IL-8	24,10 (5,20; 61,30); p = 0,0001	1,63 (1,04; 2,53)
IL-10	38,40 (16,60; 78,80); p = 0,0001	1,27 (0,92; 2,14)
IL-17	36,70 (12,20; 60,20); p = 0,0001	1,50 (0,87; 6,15)
IL-18	1,30 (1,11; 1,50); p = 0,019	1,85 (1,12; 2,81)
IL-1 β	22,70 (13,10; 76,60); p = 0,013	12,22 (6,19; 37,34)
IL-1ra	12,80 (8,50; 16,43); p = 0,0001	1,54 (0,97; 4,77)
TNF α	62,70 (28,90; 123,80); p = 0,0001	4,08 (1,97; 8,61)
IFN γ	477,80 (137,30; 720,90); p = 0,0001	1,70 (0,85; 3,07)
G-CSF	51,40 (17,50; 132,70); p = 0,0001	1,47 (0,99; 2,08)
GM-CSF	17,60 (7,70; 25,50); p = 0,0001	2,60 (1,39; 7,94)
VEGF	2,20 (1,70; 3,09); p = 0,0001	0,50 (0,40; 0,90)
MCP-1	1,26 (0,50; 2,70)	1,10 (0,50; 2,00)

ТАБЛИЦА 6. ИНДЕКСЫ ВЛИЯНИЯ ПОЛИКЛОНАЛЬНЫХ АКТИВАТОРОВ (ИВПА) НА ПРОДУКЦИЮ ЦИТОКИНОВ КЛЕТКАМИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ И ОПУХОЛИ У БОЛЬНЫХ С ИНВАЗИВНЫМ ПРОТОКОВЫМ РАКОМ В ВОЗРАСТЕ 61-77 ЛЕТ

TABLE 6. STIMULATION INDEXES OF POLYCLONAL ACTIVATORS (SIPA) ON CYTOKINE PRODUCTION BY PERIPHERAL BLOOD CELLS AND TUMOR IN PATIENTS WITH INVASIVE DUCTAL CARCINOMA AGED 61-77 YEARS

Цитокин Cytokine	Концентрация в супернатанте, пг/мл Concentration the supernatant, pg/ml	
	Периферическая кровь Peripheral blood n = 23	Опухоль и ее микроокружение Tumor and microenvironment n = 23
	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})	Me (Q _{0,25} -Q _{0,75})
IL-2	6,40 (3,50; 11,40); p = 0,0001	1,12 (1,00; 4,55)
IL-6	51,49 (20,81; 301,80); p = 0,0001	1,88 (1,00; 3,01)
IL-8	27,30 (11,30; 49,17); p = 0,0001	1,67 (0,89; 2,51)
IL-10	34,98 (15,90; 48,90); p = 0,0001	1,69 (0,60; 5,42)
IL-17	22,60 (10,80; 44,10); p = 0,0001	1,00 (0,71; 1,70)
IL-18	1,23 (1,10; 1,35); p = 0,006	2,31 (1,23; 3,40)
IL-1β	39,08 (26,40; 176,90); p = 0,002	12,66 (5,00; 42,17)
IL-1ra	11,85 (8,20; 14,80); p = 0,0001	2,10 (1,14; 3,25)
TNFα	27,30 (2,96; 160,90); p = 0,0001	2,29 (1,42; 7,07)
IFNγ	133,20 (0,36; 395,50); p = 0,030	0,66 (0,44; 2,75)
G-CSF	68,50 (20,10; 369,30); p = 0,0001	1,06 (0,95; 2,39)
GM-CSF	13,00 (6,10; 31,90); p = 0,0001	4,00 (2,23; 8,11)
VEGF	3,00 (2,10; 3,90); p = 0,0001	0,85 (0,40; 1,20)
MCP-1	1,31 (0,50; 3,32)	1,10 (0,51; 2,35)

IL-10, IL-17, IL-18, IL-1β, IL-1ra, TNFα, IFNγ, G-CSF (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор), GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор), VEGF (фактор роста эндотелия сосудов), MCP-1 (моноцитарный хемотаксический протеин-1) с использованием наборов реагентов производства АО «Вектор-Бест».

ИВПА на продукцию цитокинов ИКК крови, а также опухолью и ее микроокружением высчитывали по формуле: ИВПА = А/Б, где А — уровень стимулированной поликлональными активаторами продукции цитокина, Б — уровень спонтанной продукции цитокина.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием непараметрического критерия Манна–Уитни. Показатели выражали в виде медианы — Ме, нижнего и верхнего процентилей (Q_{0,25}-Q_{0,75}), рассчитывали коэффициент ранговой корреляции Спирмена (r) и его достоверность (p). Для определения достоверности различий между встречаемостью лимфоузлов, пораженных метастазами (%) на момент исследования, в исследуемых возрастных группах использовали критерий Фишера (φ).

Результаты

Определение спонтанной продукции цитокинов выявило достоверное повышение концентрации IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1ra, IFNγ, G-CSF, GM-CSF и VEGF в супернатанте клеток опухоли и ее микроокружения по сравнению с супернатантом клеток периферической крови как в I, так и во II группе больных (табл. 1, 2).

После инкубации с ПА отмечалось повышение концентрации IL-2, IL-10, IL-17, IL-1β, TNFα, IFNγ и снижение концентрации IL-6, IL-8, IL-18, IL-1ra, G-CSF, GM-CSF и VEGF в супернатанте клеток периферической крови по сравнению с супернатантом клеток опухоли у больных I группы (табл. 3). В группе II отмечены аналогичные различия по указанным выше концентрациям цитокинов в супернатанте клеток крови за исключением IL-8 и GM-CSF (табл. 4).

Анализ ИВПА на цитокинпродуцирующий потенциал клеток показал, что в обеих возрастных группах его значения относительно супернатанта клеток крови были достоверно выше для всех исследуемых цитокинов по сравнению с ИВПА относительно супернатанта опухоли и ее микроокружения, за исключением IL-18 и белка

МСП-1. ИВПА на продукцию IL-18 иммунокомпетентными клетками крови был снижен по сравнению с аналогичным показателем супернатанта опухоли и ее микроокружения (табл. 5 и 6).

Сравнение продукции цитокинов клетками периферической крови у пациентов разных возрастных групп выявило достоверные различия ИВПА на продукцию IFN γ : группа I – Me = 477,80 ($Q_{0,25}$ = 137,30, $Q_{0,75}$ = 720,90), группа II – Me = 133,20 ($Q_{0,25}$ = 0,36, $Q_{0,75}$ = 395,50); p = 0,008; на продукцию VEGF: группа I – Me = 2,20 ($Q_{0,25}$ = 1,70, $Q_{0,75}$ = 3,09), группа II – Me = 3,00 ($Q_{0,25}$ = 2,10, $Q_{0,75}$ = 3,90); p = 0,047.

При сравнении продукции цитокинов опухолью и ее микроокружением у пациентов разных возрастных групп отмечались достоверные различия в спонтанной продукции IL-6: группа I – Me = 52440,00 ($Q_{0,25}$ = 36300,00, $Q_{0,75}$ = 69740,00), группа II – Me = 41040,00 ($Q_{0,25}$ = 21820,00, $Q_{0,75}$ = 46980,00); p = 0,037 и продукции VEGF: группа I – Me = 2951,20 ($Q_{0,25}$ = 2242,00, $Q_{0,75}$ = 4607,40), группа II – Me = 2164,40 ($Q_{0,25}$ = 1346,60, $Q_{0,75}$ = 3243,00); p = 0,007. Влияние ПА в этих группах привело к различиям в концентрациях IFN γ : группа I – Me = 36,50 ($Q_{0,25}$ = 10,50, $Q_{0,75}$ = 64,50), группа II – Me = 12,30 ($Q_{0,25}$ = 8,30, $Q_{0,75}$ = 28,70); p = 0,035, что отражалось и в различии ИВПА на продукцию IFN γ : группа I – Me = 1,70 ($Q_{0,25}$ = 0,85, $Q_{0,75}$ = 3,07), группа II – Me = 0,66 ($Q_{0,25}$ = 0,44, $Q_{0,75}$ = 2,75); p = 0,012.

Обсуждение

Известно, что опухоль и клетки, входящие в состав ее микроокружения, способны продуцировать широкий спектр цитокинов и факторов роста, которые формируют среду, наиболее благоприятную для ее прогрессии [10, 21, 23, 25]. В первую очередь, их действие, так или иначе, направлено на ангиогенез, обеспечивающий трофику новообразования и поддержание его жизнедеятельности. В обеих возрастных группах пациентов отмечалось повышение концентрации IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IL-18, IL-1ra, G-CSF, GM-CSF и VEGF в супернатанте клеток опухоли и ее микроокружения, что свидетельствовало о высокой функциональной активности новообразования в совокупности с его микроокружением и способствовало формированию новых кровеносных сосудов, что, естественно, повышало вероятность метастазирования. Хотя самой опухолью, помимо ее микроокружения, продуцируются не все из вышеуказанных цитокинов, а только IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-18 и VEGF [4].

Ангиогенез в очаге опухолевого роста обеспечивается фактором VEGF, продукция кото-

рого стимулируется прямо или косвенно действием других цитокинов, в частности IL-6 и GM-CSF [14]. IL-6 является провоспалительным цитокином, продуцируется моноцитами, макрофагами, фибробластами, эндотелиальными клетками, Т- и В-лимфоцитами. IL-6 способен стимулировать пролиферативную активность клеток злокачественного новообразования, их инвазию, метастазирование и обеспечивать ангиогенез [12, 18, 21, 27]. При РМЖ это было показано на примере белка Онкостатина М, принадлежащего семейству IL-6 и продуцируемого опухоль-ассоциированными нейтрофилами и макрофагами, которые наиболее часто обнаруживаются в опухолевых инфильтратах при различных видах рака [26]. Сигнал на нейтрофилы поступает от фактора роста GM-CSF, который выступает в роли активатора, нейтрофилы синтезируют Онкостатин М и сохраняют его в гранулах. Клеточные контакты между нейтрофилами и опухолевыми клетками способствуют его выбросу, он связывается с рецептором на опухолевых клетках, увеличивая их подвижность, секрецию VEGF и повышая инвазивность опухоли. Таким образом, нейтрофилы, являясь источником Онкостатина М, индуцируют прогрессию и метастазирование опухоли [26, 28]. Полученные достоверные различия между встречаемостью лимфоузлов с метастазами в разных возрастных группах предполагают более интенсивный рост опухоли и повышение вероятности метастазирования у пациентов в возрасте 40-60 лет (определение критерия Фишера показало (p = 0,034), что согласуется с данными о достоверном повышении концентраций IL-6 и VEGF при их спонтанной продукции в I группе пациентов по сравнению с группой II.

Еще одним цитокином, также оказывающим стимулирующее действие на ангиогенез, является IL-8, который реализует этот эффект не прямо, а через действие протеинкиназ, повышающих выживаемость опухолевых клеток, усиливающих их пролиферацию и миграцию, способствуя инвазивности опухоли [6, 12, 30]. К цитокинам, косвенно регулирующим продукцию факторов, принимающих участие в формировании сосудистой сети опухоли, относится и IL-17, который является провоспалительным и, к тому же, стимулирует синтез такого важного медиатора как TNF α [15]. Особая роль в стимуляции опухолевой прогрессии принадлежит IL-18, действие которого направлено на поддержание ангиогенеза, инвазии и метастазирования за счет увеличения миграции эндотелиальных клеток и опухолевых клеток вследствие экспрессии молекул адгезии на эндотелии сосудов и непосредственной активации протеинкиназы MAPK в опухолевых клетках

[34]. IL-18 повышает продукцию VEGF и тромбоспондина-1 [11], усиливает синтез матриксных металлопротеиназ клетками злокачественного новообразования и его микроокружения [20], а также стимулирует пролиферацию клеток неоплазмы и синтез в них эндогенных кислородных радикалов, вызывающих экспрессию FasL, что приводит к Fas-опосредованному апоптозу иммунокомпетентных клеток, контактирующих со злокачественным новообразованием [24].

Наряду с факторами, способствующими канцерогенезу, клетками опухоли и ее микроокружения продуцируются цитокины, обладающие противоопухолевым эффектом, в частности IL-10 и IFN γ [7, 9], повышение концентраций которых отмечалось в супернатанте опухоли у больных обеих групп. IFN γ также ингибирует продукцию IL-8 [6]. Что касается IL-1ra, относящегося к противовоспалительным цитокинам, повышение его концентрации может быть маркером степени выраженности воспалительной реакции при раке [8]. Не исключено, что повышенная секреция IL-1ra позволяет неоплазме поддерживать воспаление на уровне, необходимом ей для создания оптимальных условий жизнедеятельности, а также ингибировать чрезмерно выраженную воспалительную реакцию, которая может привести к повышенной деструкции опухолевой ткани [32]. Регуляторное воздействие IL-1ra на ангиогенез было продемонстрировано через ингибирование продукции VEGF [17, 22]. Таким образом, наблюдаемое нами повышение концентрации цитокинов при их спонтанной продукции опухолью и ее микроокружением связано с обеспечением роста и метастазирования новообразования и отражает сложные взаимосвязи между цитокинами с проопухолевым и противоопухолевым действием.

Добавление ПА в среду культивирования приводило к повышению концентраций IL-2, IL-10, IL-17, IL-1 β , IL-1ra, TNF α и IFN γ в супернатанте иммунокомпетентных клеток крови, что свидетельствовало об их высоком цитокинпродуцирующем потенциале. IL-2, являясь регуляторным цитокином, способен увеличивать продукцию IL-10 NK-клетками периферической крови [31], а также стимулировать синтез IL-10 и IL-17 Т-регуляторными клетками [13, 33], что объясняет повышение концентрации цитокинов этой группы в супернатанте клеток крови. В ранее проведенных исследованиях было показано, что чем выше продукция IL-2 и IFN γ , цитоки-

нов, стимулирующих цитотоксическую активность иммунокомпетентных клеток, тем ниже содержание Ki67-позитивных клеток в опухоли, показатель, отражающий их пролиферативную активность и сопряженный с большей тяжестью опухолевой прогрессии [1]. Наибольшие различия в концентрациях IFN γ при воздействии ПА были получены в супернатанте клеток крови обеих групп пациентов, при этом у больных в возрасте 40-60 лет ИВПА на его продукцию был в несколько раз выше аналогичного показателя больных в возрасте 61 и более лет. Следовательно, противоопухолевый потенциал лимфоцитов в микроокружении опухоли не реализован, о чем свидетельствовало различие в спонтанной продукции IFN γ в группах с различной встречаемостью лимфоузлов, пораженных метастазами.

Повышение ИВПА на продукцию практически всех цитокинов в супернатанте крови по сравнению с показателями супернатанта опухоли можно также объяснить изначально высокими уровнями спонтанной продукции цитокинов опухолью и ее микроокружением, обеспечивающими злокачественную прогрессию [16, 19], поэтому действие ПА на опухоль не приводило к такому же эффекту, как при действии на ИКК крови. Единственным цитокином, к продукции которого клетки опухоли и микроокружения сохраняли высокий потенциал, был IL-18, что подтверждает его важную роль в канцерогенезе.

Таким образом, опухоль и клетки ее микроокружения вырабатывают широкий спектр цитокинов и факторов роста, о чем свидетельствовали высокие уровни их спонтанной продукции. Цитокины, обладающие разнонаправленными эффектами, объединены в единую сеть межклеточных взаимодействий, которые прямо или при помощи посредников стимулируют ангиогенез, направленный на обеспечение трофики растущего новообразования, усиливают пролиферативную активность опухолевых клеток, их инвазию и метастазирование. На основании данных о влиянии поликлональных активаторов на цитокинпродуцирующую функцию клеток опухоли и крови можно прийти к выводу о том, что постоянно циркулирующие иммунокомпетентные клетки, обладая высокой способностью к секреции исследованных цитокинов, являются тем резервом, который обеспечивает опухолевую прогрессию.

Список литературы / References

1. Аутеншлюс А.И., Соснина А.В., Великая Н.В., Фурсов С.А., Михайлова Е.С., Исакова Н.Б., Морозов Д.В., Лыков А.П., Вараксин Н.А. Оценка цитокинпродуцирующей функции клеток крови и пролиферативной активности опухолевых клеток при раке толстой кишки // Российский аллергологический журнал, 2011. № 4. С. 34-35. [Autenshlyus A.I., Sosnina A.V., Velikaya N.V., Fursov S.A., Mikhailova E.S., Isakova N.B., Morozov D.V., Lykov A.P., Varaksin N.A. Evaluation of the cytokine-producing function of blood cells and proliferative activity of tumor cells in colorectal cancer // Russian Journal of Allergology, 2011. No. 4. P. 34-35.]

Morozov D.V., Lykov A.P., Varaksin N.V. Estimation of cytokine-producing function of blood cells and proliferative activity of tumor cells in colon cancer. *Rossiyskiy allergologicheskiy zhurnal = Russian Allergological Journal*, 2011, no. 4, pp. 34-35. (In Russ.)]

2. Косенок В.К., Бельская Л.В., Массард Ж., Вьюшков Д.М. Статистические особенности заболеваемости раком молочной железы в Омской области // Вопросы онкологии, 2016. Т. 62, № 4. С. 410-415. [Kosenok V.K., Belskaya L.V., Massard Zh., Viyushkov D.M. Statistical features of breast cancer incidence in the Omsk region. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology*, 2016, Vol. 62, no. 4, pp. 410-415. (In Russ.)]

3. Кунц Т.А., Карпущина К.В., Михайлова Е.С., Маринкин И.О., Вараксин Н.А., Аутеншлюс А.И., Ляхович В.В. Влияние поликлональных активаторов на продукцию цитокинов клетками крови и злокачественных новообразований молочной железы // Доклады академии наук, 2016. Т. 466, № 1. С.117-119. [Kunts T.A., Marinkin I.O., Karpukhina K.V., Mikhaylova E.S., Autenshlyus A.I., Lyakhovich V.V., Varaksin N.A. Effect of polyclonal activators on cytokine production by blood cells and by malignant breast cancer cells. *Doklady akademii nauk = Reports of the Academy of Sciences*, 2016, Vol. 466, no. 1, pp. 117-119. (In Russ.)]

4. Соснина А.В., Великая Н.В., Вараксин Н.А., Гришаев М.П., Аутеншлюс А.И. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. Новосибирск, 2014. 128 с. [Sosnina A.V., Velikaya N.V., Varaksin N.A., Grishaev M.P., Autenshlyus A.I. the Role of cytokines in the pathogenesis of malignant tumors]. Novosibirsk, 2014. 128 p.

5. Blaylock R.L. Cancer microenvironment, inflammation and cancer stem cells: a hypothesis for a paradigm change and new targets in cancer control. *Surg. Neurol. Int.*, 2015, Vol. 6, p. 92.

6. Brat D.J., Bellail A.C., Van Meir E.G. The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. *Neuro-oncol.*, 2005, Vol. 7, no. 2, pp. 122-133.

7. Conti-Freitas L.C., Foss-Freitas M.C., Mamede R.C.M., Foss N.T. Interferon-gamma and interleukin-10 production by mononuclear cells from patients with advanced head and neck cancer. *Clinics*, 2012, Vol. 67, no. 6, pp. 587-590.

8. Dinarello C.A. Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood*, 2011, Vol. 117, no. 14, pp. 3720-3732.

9. Duluc D., Corvaisier M., Blanchard S., Catala L., Descamps P., Gamelin E., Ponsoda S., Delneste Y., Hebbat M., Jeannin P. Interferon-gamma reverses the immunosuppressive and protumoral properties and prevents the generation of human tumor-associated macrophages. *Int. J. Cancer*, 2009, Vol. 125, no. 2, pp. 367-373.

10. Eissa S.A., Zaki S.A., El-Maghraby S.M., Kadry D.Y. Importance of serum IL-18 and RANTES as markers for breast carcinoma progression. *J. Egypt Natl. Canc. Inst.*, 2005, no. 17, pp. 51-55.

11. Fabbi M., Carbotti G., Ferrini S. Context-dependent role of IL-18 in cancer biology and counter-regulation by IL-18BP. *J. Leukoc. Biol.*, 2015, no. 97, pp. 665-675.

12. Hartman Z.C., Poage G.M., den Hollander P., Tsimelzon A., Hill J., Panupinthu N., Zhang Y., Mazumdar A., Hilsenbeck S.G., Mills G.B., Brown P.H. Growth of triple-negative breast cancer cells relies upon coordinate autocrine expression of the proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8. *Cancer Res.*, 2013, no. 73, pp. 3470-3480.

13. Hedrich C.M., Rauen T., Apostolidis S.A., Grammatikos A.P., Rodriguez Rodriguez N., Ioannidis C., Kyttaris V.C., Crispin J.C., Tsokos G.C. Stat3 promotes IL-10 expression in lupus T cells through trans-activation and chromatin remodeling. *PNAS*, 2014, no. 111, pp. 13457-13462.

14. Huang S., Wu M., Shun C., Wang H., Lin M. Interleukin-6 increases vascular endothelial growth factor and angiogenesis in gastric carcinoma. *J. Biomed. Sci.*, 2004, no. 11, pp. 517-527.

15. Iyoda M., Shibata T., Kawaguchi M., Hizawa N., Yamaoka T., Kokubu F., Akizawa T. IL-17A and IL-17F stimulate chemokines via MAPK pathways (ERK1/2 and p38 but not JNK) in mouse cultured mesangial cells: synergy with TNF-alpha and IL-1beta. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2010, Vol. 298, no. 3, pp. F779-787.

16. Jain R.K., Fukumura D., Duda D.G. From the guest editors: role of tumor microenvironment in tumor progression and treatment response: A 30 Years' Journey. *Cancer Journal*, 2015, Vol. 21, no. 4, pp. 235-236.

17. Lindahl G., Saarinen N., Abrahamsson A., Dabrosin C. Tamoxifen, flaxseed, and the lignan enterolactone increase stroma- and cancer cell-derived IL-1Ra and decrease tumor angiogenesis in estrogen-dependent breast cancer. *Cancer Res.*, 2011. Vol. 71, no. 1, pp. 51-60.

18. Ma J., Ren Z., Ma Y., Xiao W. Targeted knockdown of EGR-1 inhibits IL-8 production and IL-8-mediated invasion of prostate cancer cells through suppressing EGR-1/NF-kappaB synergy. *J. Biol. Chem.*, 2009, Vol. 284, no. 50, pp. 34600-34606.

19. Man Y., Stojadinovic A., Mason J., Avital I., Bilchik A., Bruecher B., Protic M., Nissan A., Izadjoo M., Zhang X., Jewett A. Tumor-infiltrating immune cells promoting tumor invasion and metastasis: existing theories. *J. Cancer*, 2013, Vol. 4, no. 1, pp. 84-95.

20. Marco M., Fortin C., Fulop T. Membrane-type matrix metalloproteinases: key mediators of leukocyte function. *J. Leukoc. Biol.*, 2013, no. 94, pp. 237-246.

21. McClintock J.Y., Wagner E.M. Role of IL-6 in systemic angiogenesis of the lung. *J. Appl. Physiol.*, 2005, Vol. 99, no. 3, pp. 861-866.

22. Murakami Y., Watari K., Shibata T., Uba M., Ureshino H., Kawahara A., Abe H., Izumi H., Mukaida N., Kuwano M., Ono M. N-myc downstream-regulated gene 1 promotes tumor inflammatoryangiogenesis through JNK activation and autocrine loop of interleukin-1α by human gastric cancer cells. *J. Biol. Chem.*, 2013, no. 288, pp. 25025-25037.

23. Odenthal J., Takes R., Friedl P. Plasticity of tumor cell invasion: governance by growth factors andcytokines. *Carcinogenesis*, 2016, Vol. 37, pp. 1117-1128.

24. Park S., Cheon S., Cho D. The dual effects of interleukin-18 in tumor progression. *Cell. Mol. Immunol.*, 2007, Vol. 4, no. 5, pp. 329-335.
25. Picon-Ruiz M., Pan C., Drews-Elger K., Jang K., Besser A.H., Zhao D., Morata-Tarifa C., Kim M., Ince T.A., Azzam D.J., Wander S.A., Wang B., Ergonul B., Datar R.H., Cote R.J., Howard G.A., El-Ashry D., Torné-Poyatos P., Marchal J.A., Slingerland J.M. Interactions between adipocytes and breast cancer cells stimulate cytokine production and drive Src/Sox2/miR-302b-mediated malignant progression. *Cancer Res.*, 2016, no. 76, pp. 491-504.
26. Queen M.M., Ryan R.E., Holzer R.G., Keller-Peck C.R., Jorcyk C.L. Breast cancer cells stimulate neutrophils to produce oncostatin M: potential implications for tumor progression. *Cancer Res.*, 2005, no. 65, pp. 8896-8904.
27. Shida Y., Igawa T., Hakariya T., Sakai H., Kanetake H. p38MAPK activation is involved in androgen-independent proliferation of human prostate cancer cells by regulating IL-6 secretion. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2007, Vol. 353, no. 3, pp. 744-749.
28. Smith D.A., Kiba A., Zong Y., Witte O.N. Interleukin-6 and Oncostatin-M synergize with the PI3K/AKT Pathway to promote aggressive prostate malignancy in mouse and human tissues. *Mol. Cancer Res.*, 2013, no. 11, pp. 1159-1165.
29. Society A.C. Breast Cancer Facts and Figures 2013–2014. American Cancer Society, Inc., Atlanta, 2013. <https://old.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-042725.pdf>
30. Sun W., Liu D.B., Li W.W., Zhang L.L., Long G.X., Wang J.F., Mei Q., Hu G.Q. Interleukin-6 promotes the migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cell lines and upregulates the expression of MMP-2 and MMP-9. *Int. J. Oncol.*, 2014, no. 44, pp. 1551-1560.
31. Tarrio M.L., Lee S.-H., Fragoso M.F., Sun H.-W., Kanno Y., O'Shea J.J., Biron C.A. Proliferation conditions promote intrinsic changes in NK cells for an IL-10 response. *J. Immunol.*, 2014, no. 193, pp. 354-363.
32. Triozzi P.L., Aldrich W., Singh A. Effects of interleukin-1 receptor antagonist on tumor stroma in experimental uveal melanoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2011, Vol. 52, no. 8, pp. 5529-5535.
33. Tsuji-Takayama K., Suzuki M., Yamamoto M., Harashima A., Okochi A., Otani T., Inoue T., Sugimoto A., Toraya T., Takeuchi M., Yamasaki F., Nakamura S., Kibata M. The production of IL-10 by human regulatory T cells is enhanced by IL-2 through a STAT5-responsive intronic enhancer in the IL-10 locus. *J. Immunol.*, 2008, Vol. 181, no. 6, pp. 3897-3905.
34. Yang Y., Cheon S., Jung M.K., Song S.B., Kim D., Kim H.J., Park H., Bang S.I., Cho D. Interleukin-18 enhances breast cancer cell migration via down-regulation of claudin-12 and induction of the p38 MAPK pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2015, Vol. 459 (3), pp. 379-386.

Авторы:

Куниц Т.А. — к.б.н., старший научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Михайлова Е.С. — научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; старший научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

Маринкин И.О. — д.м.н., профессор, заведующий кафедрой, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Новосибирск, Россия

Вараксин Н.А. — заведующий лабораторией, АО «Вектор-Бест», Новосибирская область, Россия

Аутеншлюс А.И. — д.б.н., профессор, заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; главный научный сотрудник лаборатории метаболизма лекарств и фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Kunts T.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Mikhaylova E.S., Research Associate, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Senior Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Marinkin I.O., PhD, MD (Medicine), Professor, Head of Department, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

Varaksin N.A., Head of Laboratory, JSC "Vector-Best", Novosibirsk Region, Russian Federation

Autenshlyus A.I., PhD, MD (Biology), Professor, Head, Central Research Laboratory, Novosibirsk State Medical University; Chief Research Associate, Laboratory of Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 17.02.2017
Отправлена на доработку 22.02.2017
Принята к печати 02.05.2017

Received 17.02.2017
Revision received 22.02.2017
Accepted 02.05.2017