



Обзор

Цитотоксическая активность макрофагов и ее роль в патогенезе опухолей

Ковалева О.В.¹ • Подлесная П.А.¹ • Грачев А.Н.¹

Ковалева Ольга Владимировна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.
Тел.: +7 (903) 764 42 18.
E-mail: ovkovaeva@gmail.com

Подлесная Полина Алексеевна – лаборант-исследователь лаборатории биологии стромальных клеток опухолей Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>.
E-mail: polina.pod@yandex.ru

Грачев Алексей Николаевич – д-р биол. наук, заведующий лабораторией биологии стромальных клеток опухолей Научно-исследовательского института канцерогенеза¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>.
E-mail: alexei.gratchev@gmail.com

Центральную роль в уничтожении опухолевых клеток играют макрофаги, натуральные киллеры и Т-клетки. Цель данного обзора – определить современные взгляды на механизмы взаимодействия опухолевых клеток и опухолевой стромы, приводящие как к формированию популяции макрофагов, неспособных к эффективной противоопухолевой активности, так и к отбору опухолевых клеток, устойчивых к цитотоксичности макрофагов.

Макрофаги – весьма разносторонние клетки, способные не только стимулировать воспалительную реакцию (макрофаги 1-го типа – M1), но и подавлять ее (макрофаги 2-го типа – M2). Макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO), считаются основным регулятором противоопухолевого иммунного ответа и, как правило, обладают противовоспалительными свойствами, то есть относятся к типу M2. Опухолевые клетки способны влиять на макрофаги, «перепрограммируя» их на выполнение иммуносупрессорной функции. MAO также стимулируют ангиогенез и перестройку внеклеточного матрикса, необходимую для метастазирования.

В последнее время появляется все больше работ, в которых описаны MAO смешанного фенотипа, обладающие характеристиками как M2, так и M1. Для M1 характерна продукция провоспалительных цитокинов, активных форм кислорода, бактерицидная и цитотоксическая активность. M1 могут уничтожать опухолевые клетки

прямым или косвенным способом, путем привлечения других клеток. Несмотря на то что механизмы прямой цитотоксической активности достаточно вариативны, их эффективность в значительной степени зависит от свойств конкретной опухоли. Цитотоксическая активность макрофагов является мощным фактором, сдерживающим инициацию и прогрессию опухоли, однако в ряде случаев ее недостаточно для контроля опухолевого процесса. Активация цитотоксической активности MAO лежит в основе одной из стратегий использования макрофагов при лечении онкологических заболеваний. Понимание механизмов цитотоксической активности макрофагов и особенностей ее проявления в условиях опухолевого окружения критически важно для повышения эффективности существующих методов лечения онкологических заболеваний и разработки перспективных методов иммунотерапии опухолей.

Ключевые слова: макрофаг, иммунитет, цитокин, опухоль

Для цитирования: Ковалева ОВ, Подлесная ПА, Грачев АН. Цитотоксическая активность макрофагов и ее роль в патогенезе опухолей. Альманах клинической медицины. 2022;50. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-008.

Поступила 21.03.2022; доработана 28.03.2022; принята к публикации 04.04.2022; опубликована онлайн 05.04.2022

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

Современные методы лечения злокачественных опухолей часто включают различные подходы к стимуляции противоопухолевой активности иммунной системы [1]. Так, лекарственные препараты на основе моноклональных антител активируют антителозависимый клеточный фагоцитоз. Использование стимуляторов классической активации макрофагов, в том числе бактериальных продуктов, основано на

антителонезависимой цитотоксичности макрофагов. При этом, несмотря на успехи данных методов лечения, остается неясным, почему в большом количестве случаев развивается устойчивость опухолей к терапии. Это может быть вызвано развитием устойчивости опухолевых клеток к противоопухолевой активности макрофагов, а также формированием толерантного фенотипа макрофагов, не обладающих достаточной цитотоксичностью.



В этой связи целью нашего обзора стало изучение механизмов взаимодействия опухолевых клеток и опухолевой стромы, приводящих как к формированию популяции макрофагов, неспособных к эффективной противоопухолевой активности, так и к отбору опухолевых клеток, устойчивых к цитотоксичности макрофагов. Поиск источников проводился в базах данных и поисковых системах PubMed, Medline, Scopus, Web of Science, eLibrary.ru, Google Scholar, также были использованы материалы сайта Всемирной организации здравоохранения. В обзор преимущественно включались статьи, написанные за последние 20 лет.

Микроокружение опухоли

Опухолевая строма является неотъемлемой частью опухоли, в значительной степени влияющей на ее характеристики. Опухолевая строма представлена Т- и В-клетками, макрофагами и дендритными клетками, супрессорными миелоидными клетками, естественными киллерами (NK-клетки), а также фолликулярными дендритными клетками и фибробластами. В опухоли эти клетки выполняют различные функции. Дендритные клетки, CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоциты, NK-клетки относятся к цитотоксическим и подавляют прогрессию опухоли. Напротив, регуляторные Т-клетки (Treg) способствуют опухолевой прогрессии. Супрессорные миелоидные клетки также увеличивают злокачественность опухоли путем подавления активности NK-клеток и цитотоксических Т-клеток, активации Treg-клеток, а также поддержания ангиогенеза и метастазирования. Макрофаги, приобретающие противовоспалительный фенотип под воздействием цитокинов, производимых опухолевыми и стромальными клетками, выполняют регуляторную функцию, а именно обеспечивают иммуносупрессию, стимулируют пролиферацию опухолевых клеток, стимулируют ангиогенез и метастазирование [2–4].

Термин «макрофаги» впервые был употреблен И.И. Мечниковым в 1882 г. при описании фагоцитоза. Макрофаги занимают центральное место в иммунном ответе, осуществляя первичную реакцию на патоген, а также принимают участие в формировании усиленного антигенспецифического ответа, активируя Т-клетки путем процессинга и презентации им антигена, а затем участвуют в эффекторных механизмах, вызывая воспаление, уничтожая микроорганизмы и опухолевые клетки.

Последние исследования показали, что макрофаги представляют собой гетерогенную

популяцию клеток, регулирующих гомеостатические и патологические процессы [5–7]. Фенотипически функциональная гетерогенность макрофагов определяется как тканевым микроокружением, так и природой активационных стимулов. Соответственно Th1/Th2 дихотомии иммунного ответа выделяют два типа активации макрофагов: M1 – провоспалительную, или классическую, и M2 – противовоспалительную, или альтернативную. Взаимодействие макрофагов с агентами воспаления, такими как патоген-ассоциированные микробные структуры или провоспалительные цитокины (например, IFN γ), приводит к провоспалительной (классической) активации этих клеток (M1), которая сопровождается производством провоспалительных цитокинов, реактивных форм кислорода, окиси азота и др. В совокупности такая активация макрофагов запускает воспалительный процесс и иммунный ответ Th1-типа. Альтернативно активированные макрофаги (M2), напротив, выступают супрессорами иммунного ответа. Поляризацию макрофагов в тип M2 стимулируют интерлейкины 4 и 13 и др. [8].

Макрофаги, ассоциированные с опухолью

Из циркулирующих моноцитов, привлеченных в зону роста злокачественного новообразования, образуются макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO). Большинство моноцитов, которые превращаются в MAO, рекрутируются при помощи хемокинов CCL2 (MCP-1) и CCL5 (RANTES) [9, 10]. Биологический эффект CCL2 для опухолевого роста имеет дозозависимый характер: низкий уровень его экспрессии опухолевыми клетками ассоциируется с опухолевой прогрессией, а высокий – с регрессией, вероятно, обусловленной миграцией в зону роста опухоли макрофагов M1-фенотипа [11]. CCL5 производится Т-клетками, а также некоторыми опухолевыми клетками. Этот хемокин не только стимулирует миграцию моноцитов, но и активирует продукцию ими ряда аттрактантов клеток миелоидного происхождения, таких как CCL2, CCL3 (MCP-1 α), CCL4 (MCP-1 β) и CXCL8 (IL8) [12, 13].

Функции макрофагов в зоне роста опухоли чрезвычайно разнообразны. Первоочередной и единственной функцией MAO длительное время считалось непосредственное цитотоксическое действие по отношению к опухолевым клеткам, а также фагоцитоз апоптотических клеток и клеточного дэбриса. Сегодня понятие о функциях MAO значительно расширилось. Известно, что рекрутированные моноциты в зоне роста опухоли способны



формировать две функционально различные популяции: M1 (участвуют в активации противоопухолевого иммунитета) и M2 (способствуют прогрессии опухоли) [14–16]. При этом доминирующей популяцией являются M2, обеспечивающие локальное подавление противоопухолевого иммунитета. Повышенное количество MAO в строме опухоли практически всегда коррелирует с плохим прогнозом заболевания [6, 17–19].

Формирование и состав микроокружения контролируют цитокины, секретируемые опухолевыми клетками. Помимо упомянутых ранее CCL2 и CCL5 важную роль в формировании популяции MAO играет VEGF. Концентрация VEGF в зоне роста злокачественного новообразования коррелирует с количеством MAO в строме. Этот цитокин также стимулирует миграцию циркулирующих моноцитов в зону опухолевого роста и опосредует возврат миелоидных клеток в лимфатические узлы в местах опухолевой неоваскуляризации, вызывая продукцию CXCL12, хемокина, способствующего пролиферации и миграции опухолевых клеток [20]. В местах опухолевой неоваскуляризации эндотелиальные клетки сосудов продуцируют изоформы гормона эндотелина: ET-1, ET-2 и ET-3. Данные белки также обладают хемоаттрактантной активностью в отношении моноцитов и нейтрофилов. ET-2 опосредует миграцию макрофагов к опухоли, локализацию их в зоне гипоксии и активацию в этих клетках белков, способствующих опухолевой прогрессии, например, матриксных металлопротеиназ (MMP)-2 и -9 [21].

Факторы, производимые опухолевыми клетками, не только регулируют размер популяции MAO, но и определяют их иммуносупрессорный фенотип. Толерогенными и иммуносупрессивными свойствами обладают такие цитокины и ростовые факторы, как IL-10, PGE₂, TGF-β1, IL-4, IL-6. Они способствуют поляризации макрофагов в M2-фенотип, который характеризуется пониженной продукцией TNF-α и IL-12. Для M2 типичны низкий уровень цитотоксической активности, пониженная экспрессия MHC класса II и CD80, необходимых для презентации антигенов, повышенная фагоцитарная и эндотоксическая активность [22–25]. Такие макрофаги приобретают способность к усиленному синтезу биологически активных медиаторов, которые способствуют опухолевой прогрессии. При взаимодействии с M2 в опухолевых клетках усиливается экспрессия большого количества генов, среди которых гены, вовлеченные в процессы ангиогенеза и лимфангиогенеза, адгезии

и протеолиза, клеточного роста и регуляции клеточного цикла (IL-6, IL-7R, IL-8, ICAM-1, MMP-1, MMP-9, VEGF-A, VEGF-C и др.), а также некоторые гены, функции которых в настоящее время неизвестны [26, 27]. M2 способствуют формированию опухолевой устойчивости путем продукции MMP-7, которая расщепляет Fas-лиганды на соседних опухолевых клетках, делая их таким образом не только резистентными к химиотерапевтическим агентам, например, доксорубину, но также нечувствительными к цитотоксическому действию естественных киллеров и T-лимфоцитов [26, 28, 29].

Помимо подавления противоопухолевого иммунитета MAO отводится ключевая роль в стимуляции ангиогенеза в опухоли. В литературе существует определение MAO (M2) как макрофагов ангиогенного фенотипа благодаря их способности секретировать молекулы, способствующие ангиогенезу, такие как VEGF, FGF, эндотелин, IL-17, IL-23 или TGF-β [21]. MAO производят различные проангиогенные и лимфангиогенные ростовые факторы, цитокины и протеазы (таблица) [30–33].

Несмотря на доминирующий M2-фенотип, популяция MAO также содержит некоторое количество макрофагов фенотипа M1 или смешанного фенотипа M1/M2. Считается, что этот тип макрофагов обладает цитотоксической и противоопухолевой активностью [24]. Однако их количество, как правило, недостаточно для того, чтобы эффективно ограничивать опухолевый рост.

Цитотоксическая активность макрофагов

Макрофаги способны спонтанно уничтожать опухолевые клетки, однако их цитотоксичность может быть значительно увеличена посредством соответствующей активации в процессе дифференцировки из моноцитов. Основными активаторами цитотоксической активности макрофагов традиционно считаются бактериальный липополисахарид (LPS), мурамиловый дипептид (MDP) и INFγ. Активаторами также могут выступать синтетические аналоги 2-мезофосфотидилхолина, микоплазма, GM-CSF, M-CSF, глюкозамингликаны, фибронектины. Элиминация неопластических клеток осуществляется посредством цитотоксического действия макрофагов, в результате которого в опухолевых клетках запускается процесс апоптоза или некроза [34].

Механизм цитотоксичности макрофагов в полной мере не изучен. Считается, что этот процесс может как зависеть от непосредственного контакта с опухолевыми клетками, так



Ангиогенные медиаторы, секретируемые опухоль-ассоциированными макрофагами

Фактор	Участие в процессе ангиогенеза
VEGF	Усиливает проницаемость эндотелия, стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток и тормозит их апоптоз
bFGF	Индукцирует экспрессию VEGF и его рецепторов, действует синергично с VEGF
Ангиопоэтин-2	В присутствии VEGF дестабилизирует стенку существующего кровеносного сосуда, делая его более чувствительным к индукции VEGF-опосредованного ветвления
Гепараназа	Способствует ангиогенезу, как непосредственно (стимулируя инвазию эндотелиальных клеток), так и опосредованно, вызывая высвобождение bFGF из комплекса с гепарансульфатом
IL-8	Индукцирует пролиферацию эндотелиальных клеток
MMPs	Принимают участие в деградации внеклеточного матрикса и базальной мембраны существующего сосудистого ложа, способствуют высвобождению проангиогенных медиаторов, ассоциированных с внеклеточным матриксом
IL-1 β	Усиливает образование VEGF, HGF, TNF- α
TNF- α	Усиливает экспрессию VEGF, bFGF, IL-8 и их рецепторов
M-CSF	Усиливает образование VEGF, IL-8, хемоаттрактантов моноцитов
MCP-1	Усиливает образование VEGF, IL-8, TNF- α , хемоаттрактантов моноцитов
MIF	Усиливает образование TNF- α , IL-1 β , CXC-хемокинов
PAF	Усиливает образование TNF- α , IL-1 β , VEGF, bFGF
TGF- β	Усиливает экспрессию VEGF, bFGF, IL-8, TNF- α , IL-1 β , хемоаттрактантов моноцитов
HB-EGF	Усиливает образование VEGF и MMPs
DGF	Стимулирует рекрутинг и миграцию макрофагов

и проходить посредством продуцируемых макрофагами хемокинов. Контакт-зависимый механизм, в свою очередь, подразделяется на антителозависимый (ADCC) и антителонезависимый.

Механизм ADCC признан ключевым механизмом уничтожения опухолевых клеток. Цитотоксическая активность макрофагов в этом случае зависит от В-клеток, которые производят антитела, связывающиеся с опухолевыми клетками. Макрофаги распознают трансформированные клетки, покрытые антителами, и связываются с ними через Fc-рецептор, расположенный на мембране макрофагов. Антителозависимый механизм может быть усилен цитокинами IL-2, IL-15, IL-18, IL-21 [35, 36]. Показано, что IL-15 значительно повышал терапевтический эффект препаратов моноклональных антител (анти-CD20 и анти-CD52) в случаях лимфомы и Т-клеточного лейкоза [37]. Данный эффект был обусловлен усилением ADCC в контексте макрофагов и NK-клеток.

Антителонезависимый механизм практически не описан в научной литературе. Известно, что данный процесс требует праймирования цитокинами, такими как INF γ , и/или бактериальными продуктами – липополисахаридом, мурамиловым дипептидом и форболовым эфиром [38]. Для некоторых опухолей данный процесс может протекать без опсонизации. Так, установлено, что лимфоидные новообразования и нейробластомы чувствительны к цитотоксической активности макрофагов, полученных из моноцитов посредством макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) [39].

В ответ на стимуляцию липополисахаридом макрофаги производят набор воспалительных цитокинов и медиаторов, таких как IL-1, -6, -8, -10, TNF- α , INF γ , простагландины, лейкотриены, факторы активации тромбоцитов и др. Это связано с тем, что липополисахарид активирует транскрипционный фактор NF- κ B, в результате чего запускается экспрессия ряда генов иммунного ответа. Полагают также, что это связано с наличием специфических факторов транскрипции, например, PU.1 и C/EBP, которые располагаются в области энхансеров перед генами цитокинов и связываются со стимулирующими факторами транскрипции, запуская экспрессию генов [40].

Основным медиатором формирования макрофагальной цитотоксичности считается интерферон гамма (INF γ). Его связывание с транскрипционным фактором STAT1 запускает транскрипцию более чем в двухсот генах (так называемые гены ISG – Interferon-Stimulated Genes). В результате в разы повышается экспрессия генов воспалительных медиаторов, продуцируемых макрофагами [41]. Среди них в основном гены, связанные с воспалением, такие как GM-CSF, IL-12p40, TNF- α и IL-6.

Активация STAT1 также ингибирует секрецию IL-10, который снижает цитотоксическую активность макрофагов путем подавления IL-1 и TNF- α .

MDP способен восстанавливать противоопухолевую активность макрофагов в условиях подавления иммунного ответа прогрессирующими опухолями. MDP распознается цитоплазматическим рецептором NOD2. В результате их взаимодействия активируется провоспалительный фактор транскрипции NF- κ B, что ведет к запуску продукции таких провоспалительных цитокинов, как IL-1, IL-2, IL-6, IL-12, фактор некроза опухоли – TNF- α , GM-CSF, а также ряда хемокинов IL-8, MIP1, RANTES и эотоксина, белков острой фазы, молекул адгезии и индуцируемых



эффektorных ферментов (например, iNOS, COX-2) [42, 43].

Было показано, что MDP повышает секрецию оксида азота путем стимуляции образования индуцируемой NO-синтазы в макрофагах. Оксид азота – один из центральных цитотоксических факторов макрофагов. Индуцируемая NO-синтаза в несколько сотен раз повышает количество синтезируемого оксида азота по сравнению с результатом функционирования конститутивной NO-синтазы. Результатом реакции NO с супероксидным радикалом является пероксинитрит – мощный стимулятор апоптоза. Пероксинитрит ингибирует ферменты митохондрий, ДНК-полимеразы, характеризуется генотоксическим действием [44].

Форболовый эфир PMA (форбол-12-мири-стат-13-ацетат) индуцирует дифференциацию моноцитов в макрофаги. В лабораторных условиях PMA вызывает адгезию моноцитов на поверхности стекла путем активации киназ (протеинкиназы C, АМРК и Syk). Форболовый эфир стимулирует цитотоксичность макрофагов путем повышения экспрессии генов Toll-подобных рецепторов (TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9), ряда цитоплазматических хеликаз (RIG1, MDA5) и фактора транскрипции NF-κB. Под действием PMA в моноцитах возрастает продукция воспалительных цитокинов (большое количество IL-1β и TNF-α и небольшие количества IL-10). Наблюдалась также активация сигнального пути RhoA/ROCK в макрофагах, обработанных форболовым эфиром [45, 46].

Макрофаги в противоопухолевой терапии

Тот факт, что макрофаги играют важнейшую роль в опухолевой прогрессии и могут составлять до 50% массы опухоли, позволяет считать их перспективной мишенью для противоопухолевой терапии. В настоящее время активно исследуются три основные стратегии лечения онкологических заболеваний, направленные на MAO: ингибирование инфильтрации опухолей моноцитами/макрофагами, активация функций MAO, характерных для M1, и селективная элиминация MAO [47].

Учитывая, что MAO происходят в основном из циркулирующих моноцитов, ингибиторы миелоидных хемоаттрактантов представляют интерес для терапевтической практики. Так, использование ингибиторов CCL2 и CSF-1 способствует опухолевой регрессии и повышает эффективность системной терапии при раке яичников, предстательной железы и молочной железы [48–52].

Реполяризация MAO в провоспалительный M1-фенотип – наиболее динамично развива-

ющаяся стратегия. Отчасти это обусловлено синергетическим действием с иммунопрепаратами, представленными ингибиторами контрольных точек [53, 54]. В качестве агентов, способствующих возврату цитотоксического потенциала MAO, наибольший интерес представляют антитела к CD47, CD40, агонисты TLR, ингибиторы HDAC и PI3Kγ [55–57]. Anti-CD47 позволяют ингибировать защитный сигнал опухолевых клеток «не ешь меня», выраженный в гиперэкспрессии CD47 на поверхности злокачественных клеток. Данная стратегия показала эффективность в отношении опухолей различных локализаций. Терапевтический эффект антител против CD40 опосредован повышением экспрессии MHC на поверхности макрофагов и продукции провоспалительных цитокинов. Данные агенты показали высокую противоопухолевую активность в случаях рака поджелудочной железы, в особенности в комбинации с анти-PD-1 [58].

Уничтожение MAO, в основном, достигается путем применения антител к CSF-1R и токсических для макрофагов бисфосфонатов. Терапия с применением anti-CSF-1R способствует ингибированию рекрутирования моноцитов в опухолевую строму и элиминации существующих MAO. Применение данного терапевтического агента блокировало прогрессирование глиомы, рака шейки матки и молочной железы, лимфомы [59–61]. Бисфосфонаты, которые доставляются в очаг опухоли, как правило, в виде липосом, вызывают элиминацию макрофагов путем расщепления их мембран фосфолипазами [62]. На мышинной модели меланомы было показано, что липосомы, содержащие клодронат, ингибировали рост опухоли на 55% по сравнению с необработанным контролем, предотвращая при этом хемиааттракцию новых моноцитов из кровотока [63]. Большинство исследований с участием клодронатных липосом и других бисфосфонатов для истощения MAO было проведено на мышах. Несколько проведенных клинических испытаний имели противоречивые результаты, указывающие на необходимость оптимизации данной терапии [64].

Генетическая нестабильность опухолевых клеток способствует формированию фенотипа, устойчивого к цитотоксической активности макрофагов. Резистентность опухоли – центральная проблема противоопухолевой терапии. Понимание механизмов цитотоксической активности макрофагов позволит повысить эффективность существующих методов лечения



онкологических заболеваний и разработать перспективные методы иммунотерапии опухолей.

Заключение

Макрофаги, благодаря своей гетерогенности и функциональной пластичности, представляют

собой многообещающую мишень для противоопухолевой терапии. Однако недостаточное понимание механизмов активации цитотоксической активности макрофагов, а также фиксации их в состоянии фенотипа M1 ограничивает возможности разработки новых терапевтических подходов. ©

Дополнительная информация

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта № 20-015-00479.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Участие авторов

О.В. Ковалева – написание текста; П.А. Подлесная – сбор материала, анализ данных; А.Н. Грачев – концепция статьи, редактирование текста. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией, согласны нести ответственность за все аспекты работы и гарантируют, что ими надлежащим образом были рассмотрены и решены вопросы, связанные с точностью и добросовестностью всех частей работы.

Литература / References

1. Моисеенко ВМ, ред. Злокачественные опухоли (спецвыпуск журнала): Практические рекомендации Российского общества клинической онкологии. Лекарственное лечение злокачественных опухолей М.: Российское общество клинической онкологии; 2020. 656 с. [Moiseenko VM, editor. Malignant tumors (Supplement): practical guidance of Russian Society of Clinical Oncology. Drug therapy of malignant tumors. Moscow: Russian Society of Clinical Oncology; 2020. 656 p. Russian.]
2. Bingle L, Brown NJ, Lewis CE. The role of tumour-associated macrophages in tumour progression: implications for new anticancer therapies. *J Pathol.* 2002;196(3):254–265. doi: 10.1002/path.1027.
3. Brigati C, Noonan DM, Albini A, Benelli R. Tumors and inflammatory infiltrates: friends or foes? *Clin Exp Metastasis.* 2002;19(3):247–258. doi: 10.1023/a:1015587423262.
4. Leek RD, Harris AL. Tumor-associated macrophages in breast cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* 2002;7(2):177–189. doi: 10.1023/a:1020304003704.
5. Gratchev A. TGF- β signalling in tumour associated macrophages. *Immunobiology.* 2017;222(1):75–81. doi: 10.1016/j.imbio.2015.11.016.
6. Kovaleva OV, SamoiloVA DV, Shitova MS, Gratchev A. Tumor Associated Macrophages in Kidney Cancer. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2016;2016:9307549. doi: 10.1155/2016/9307549.
7. Mantovani A, Locati M. Tumor-associated macrophages as a paradigm of macrophage plasticity, diversity, and polarization: lessons and open questions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013;33(7):1478–1483. doi: 10.1161/ATVBAHA.113.300168.
8. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. M-1/M-2 macrophages and the Th1/Th2 paradigm. *J Immunol.* 2000;164(12):6166–6173. doi: 10.4049/jimmunol.164.12.6166.
9. Navratilova Z. Polymorphisms in CCL2&CCL5 chemokines/chemokine receptors genes and their association with diseases. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2006;150(2):191–204. doi: 10.5507/bp.2006.028.
10. Ben-Baruch A. The multifaceted roles of chemokines in malignancy. *Cancer Metastasis Rev.* 2006;25(3):357–371. doi: 10.1007/s10555-006-9003-5.
11. Nesbit M, Schaidler H, Miller TH, Herlyn M. Low-level monocyte chemoattractant protein-1 stimulation of monocytes leads to tumor formation in nontumorigenic melanoma cells. *J Immunol.* 2001;166(11):6483–6490. doi: 10.4049/jimmunol.166.11.6483.
12. Raman D, Baugher PJ, Thu YM, Richmond A. Role of chemokines in tumor growth. *Cancer Lett.* 2007;256(2):137–165. doi: 10.1016/j.canlet.2007.05.013.
13. Ali S, Lazennec G. Chemokines: novel targets for breast cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2007;26(3–4):401–420. doi: 10.1007/s10555-007-9073-z.
14. Espey MG. Tumor macrophage redox and effector mechanisms associated with hypoxia. *Free Radic Biol Med.* 2006;41(11):1621–1628. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2006.08.026.
15. Knowles HJ, Harris AL. Macrophages and the hypoxic tumour microenvironment. *Front Biosci.* 2007;12:4298–4314. doi: 10.2741/2389.
16. Porta C, Subhra Kumar B, Larghi P, Rubino L, Mancino A, Sica A. Tumor promotion by tumor-associated macrophages. *Adv Exp Med Biol.* 2007;604:67–86. doi: 10.1007/978-0-387-69116-9_5.
17. Kovaleva OV, Rashidova MA, SamoiloVA DV, Podlesnaya PA, Mochalnikova VV, Gratchev A. Immunosuppressive Phenotype of Esophagus Tumors Stroma. *Anal Cell Pathol (Amst).* 2020;2020:5424780. doi: 10.1155/2020/5424780.
18. Zhang Y, Cheng S, Zhang M, Zhen L, Pang D, Zhang Q, Li Z. High-infiltration of tumor-associated macrophages predicts unfavorable clinical outcome for node-negative breast cancer. *PLoS One.* 2013;8(9):e76147. doi: 10.1371/journal.pone.0076147.
19. Yang L, Wang F, Wang L, Huang L, Wang J, Zhang B, Zhang Y. CD163⁺ tumor-associated macrophage is a prognostic biomarker and is associated with therapeutic effect on malignant pleural effusion of lung cancer patients. *Oncotarget.* 2015;6(12):10592–10603. doi: 10.18632/oncotarget.3547.
20. Jiang YP, Wu XH, Xing HY, Du XY. Role of CXCL12 in metastasis of human ovarian cancer. *Chin Med J (Engl).* 2007;120(14):1251–1255.
21. Lamagna C, Aurrand-Lions M, Imhof BA. Dual role of macrophages in tumor growth and angiogenesis. *J Leukoc Biol.* 2006;80(4):705–713. doi: 10.1189/jlb.1105656.
22. Pistoia V, Morandi F, Wang X, Ferrone S. Soluble HLA-G: Are they clinically relevant? *Semin Cancer Biol.* 2007;17(6):469–479. doi: 10.1016/j.semcancer.2007.07.004.
23. Gratchev A, Kzhyshkowska J, Utikal J, Goerdts S. Interleukin-4 and dexamethasone counter-regulate extracellular matrix remodelling and phagocytosis in type-2 macrophages. *Scand J Immunol.* 2005;61(1):10–17. doi: 10.1111/j.0300-9475.2005.01524.x.
24. Gratchev A, Schledzewski K, Guillot P, Goerdts S. Alternatively activated antigen-presenting cells: molecular repertoire, immune regulation, and healing. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol.* 2001;14(5):272–279. doi: 10.1159/000056357.
25. Politz O, Gratchev A, McCourt PA, Schledzewski K, Guillot P, Johansson S, Svineng G, Franke P, Kannicht C, Kzhyshkowska J, Longati P, Velten FW, Johansson S, Goerdts S. Stabilin-1 and -2 constitute a novel family of fas-



- ciclin-like hyaluronan receptor homologues. *Biochem J.* 2002;362(Pt 1):155–164. doi: 10.1042/0264-6021:3620155.
26. Lewis CE, Pollard JW. Distinct role of macrophages in different tumor microenvironments. *Cancer Res.* 2006;66(2):605–612. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-4005.
27. Mellor AL, Munn DH. Creating immune privilege: active local suppression that benefits friends, but protects foes. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(1):74–80. doi: 10.1038/nri2233.
28. Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother.* 2004;53(3):153–159. doi: 10.1007/s00262-003-0474-8.
29. Zhang L, Fang B. Mechanisms of resistance to TRAIL-induced apoptosis in cancer. *Cancer Gene Ther.* 2005;12(3):228–237. doi: 10.1038/sj.cgt.7700792.
30. Crowther M, Brown NJ, Bishop ET, Lewis CE. Microenvironmental influence on macrophage regulation of angiogenesis in wounds and malignant tumors. *J Leukoc Biol.* 2001;70(4):478–490.
31. Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;282(5):C947–970. doi: 10.1152/ajpcell.00389.2001.
32. Indraccolo S, Stievano L, Minuzzo S, Tosello V, Esposito G, Piovani E, Zamarchi R, Chieco-Bianchi L, Amadori A. Interruption of tumor dormancy by a transient angiogenic burst within the tumor microenvironment. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103(11):4216–4221. doi: 10.1073/pnas.0506200103.
33. Naumov GN, Bender E, Zurakowski D, Kang SY, Sampson D, Flynn E, Watnick RS, Straume O, Akslen LA, Folkman J, Almog N. A model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype. *J Natl Cancer Inst.* 2006;98(5):316–325. doi: 10.1093/jnci/djj068.
34. Burke B, Lewis CE, editors. *The Macrophage.* Oxford: Oxford University Press; 2002.
35. Ochoa MC, Minute L, Rodriguez I, Garasa S, Perez-Ruiz E, Inogés S, Melero I, Berraondo P. Antibody-dependent cell cytotoxicity: immunotherapy strategies enhancing effector NK cells. *Immunol Cell Biol.* 2017;95(4):347–355. doi: 10.1038/icb.2017.6.
36. Li B, Xu L, Tao F, Xie K, Wu Z, Li Y, Li J, Chen K, Pi C, Mendelsohn A, Larrick JW, Gu H, Fang J. Simultaneous exposure to FcγR and FcαR on monocytes and macrophages enhances antitumor activity in vivo. *Oncotarget.* 2017;8(24):39356–39366. doi: 10.18632/oncotarget.17000.
37. Zhang M, Wen B, Anton OM, Yao Z, Dubois S, Ju W, Sato N, DiLillo DJ, Bamford RN, Ravetch JV, Waldmann TA. IL-15 enhanced antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by NK cells and macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2018;115(46):E10915–E10924. doi: 10.1073/pnas.1811615115.
38. Drysdale BE, Agarwal S, Shin HS. Macrophage-mediated tumoricidal activity: mechanisms of activation and cytotoxicity. *Prog Allergy.* 1988;40:111–161.
39. Munn DH, Cheung NK. Antibody-independent phagocytosis of tumor cells by human monocyte-derived macrophages cultured in recombinant macrophage colony-stimulating factor. *Cancer Immunol Immunother.* 1995;41(1):46–52. doi: 10.1007/BF01788959.
40. Barozzi I, Simonatto M, Bonifacio S, Yang L, Rohs R, Ghisletti S, Natoli G. Coregulation of transcription factor binding and nucleosome occupancy through DNA features of mammalian enhancers. *Mol Cell.* 2014;54(5):844–857. doi: 10.1016/j.molcel.2014.04.006.
41. Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon-gamma. *Annu Rev Immunol.* 1997;15:749–795. doi: 10.1146/annurev.immunol.15.1.749.
42. Uslu R, Bonavida B. Involvement of the mitochondrial respiratory chain in the synergy achieved by treatment of human ovarian carcinoma cell lines with both tumor necrosis factor-alpha and cis-diamminedichloroplatinum. *Cancer.* 1996;77(4):725–732.
43. Willems MM, Zom GG, Meeuwenoord N, Khan S, Ossendorp F, Overkleef HS, van der Marel GA, Filippov DV, Codée JD. Lipophilic Muramyl Dipeptide-Antigen Conjugates as Immunostimulating Agents. *Chem Med Chem.* 2016;11(2):190–198. doi: 10.1002/cmdc.201500196.
44. Namba K, Yamamura E, Nitani H, Otani T, Azuma I. Romurtide, a synthetic muramyl dipeptide derivative, promotes megakaryocytopoiesis through stimulation of cytokine production in nonhuman primates with myelosuppression. *Vaccine.* 1997;15(4):405–413. doi: 10.1016/s0264-410x(96)00193-4.
45. Yang L, Dai F, Tang L, Le Y, Yao W. Macrophage differentiation induced by PMA is mediated by activation of RhoA/ROCK signaling. *J Toxicol Sci.* 2017;42(6):763–771. doi: 10.2131/jts.42.763.
46. Daigneault M, Preston JA, Marriott HM, Whyte MK, Dockrell DH. The identification of markers of macrophage differentiation in PMA-stimulated THP-1 cells and monocyte-derived macrophages. *PLoS One.* 2010;5(1):e8668. doi: 10.1371/journal.pone.0008668.
47. Cassetta L, Pollard JW. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2018;17(12):887–904. doi: 10.1038/nrd.2018.169.
48. Moisan F, Francisco EB, Brozovic A, Duran GE, Wang YC, Chaturvedi S, Seetharam S, Snyder LA, Doshi P, Sikic BI. Enhancement of paclitaxel and carboplatin therapies by CCL2 blockade in ovarian cancers. *Mol Oncol.* 2014;8(7):1231–1239. doi: 10.1016/j.molonc.2014.03.016.
49. Guerriero JL. Macrophages: The Road Less Traveled, Changing Anticancer Therapy. *Trends Mol Med.* 2018;24(5):472–489. doi: 10.1016/j.molmed.2018.03.006.
50. Bonapace L, Coissieux MM, Wyckoff J, Mertz KD, Varga Z, Junt T, Bentires-Alj M. Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. *Nature.* 2014;515(7525):130–133. doi: 10.1038/nature13862.
51. Loberg RD, Ying C, Craig M, Yan L, Snyder LA, Pienta KJ. CCL2 as an important mediator of prostate cancer growth in vivo through the regulation of macrophage infiltration. *Neoplasia.* 2007;9(7):556–562. doi: 10.1593/neo.07307.
52. Loberg RD, Ying C, Craig M, Day LL, Sargent E, Neeley C, Wojno K, Snyder LA, Yan L, Pienta KJ. Targeting CCL2 with systemic delivery of neutralizing antibodies induces prostate cancer tumor regression in vivo. *Cancer Res.* 2007;67(19):9417–9424. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1286.
53. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature.* 2013;496(7446):445–455. doi: 10.1038/nature12034.
54. Kowal J, Kornete M, Joyce JA. Re-education of macrophages as a therapeutic strategy in cancer. *Immunotherapy.* 2019;11(8):677–689. doi: 10.2217/imt-2018-0156.
55. Lin F, Xiong M, Hao W, Song Y, Liu R, Yang Y, Yuan X, Fan D, Zhang Y, Hao M, Ye Z, Lu Y, Zhang Y, Wang J, Xiong D. A Novel Blockade CD47 Antibody With Therapeutic Potential for Cancer. *Front Oncol.* 2021;10:615534. doi: 10.3389/fonc.2020.615534.
56. Khalil M, Vonderheide RH. Anti-CD40 agonist antibodies: preclinical and clinical experience. *Update Cancer Ther.* 2007;2(2):61–65. doi: 10.1016/j.uct.2007.06.001.
57. Kaczanowska S, Joseph AM, Davila E. TLR agonists: our best frenemy in cancer immunotherapy. *J Leukoc Biol.* 2013;93(6):847–863. doi: 10.1189/jlb.1012501.
58. Ma HS, Poudel B, Torres ER, Sidhom JW, Robinson TM, Christmas B, Scott B, Cruz K, Woolman S, Wall VZ, Armstrong T, Jaffee EM. A CD40 Agonist and PD-1 Antagonist Antibody Reprogram the Microenvironment of Nonimmunogenic Tumors to Allow T-cell-Mediated Anticancer Activity. *Cancer Immunol Res.* 2019;7(3):428–442. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0061.
59. Yan D, Kowal J, Akkari L, Schuhmacher AJ, Huse JT, West BL, Joyce JA. Inhibition of colony stimulating factor-1 receptor abrogates microenvironment-mediated therapeutic resistance in gliomas. *Oncogene.* 2017;36(43):6049–6058. doi: 10.1038/onc.2017.261.
60. Tap WD, Wainberg ZA, Anthony SP, Ibrahim PN, Zhang C, Healey JH, Chmielowski B, Staddon AP, Cohn AL, Shapiro GI, Keedy VL,



Singh AS, Puzanov I, Kwak EL, Wagner AJ, Von Hoff DD, Weiss GJ, Ramanathan RK, Zhang J, Habets G, Zhang Y, Burton EA, Visor G, Sanftner L, Severson P, Nguyen H, Kim MJ, Marimuthu A, Tsang G, Shellooe R, Gee C, West BL, Hirth P, Nolop K, van de Rijn M, Hsu HH, Peterfy C, Lin PS, Tong-Starksen S, Bollag G. Structure-Guided Blockade of CSF1R Kinase in Tenosynovial Giant-Cell Tumor. *N Engl J Med*. 2015;373(5):428–437. doi: 10.1056/NEJMoa1411366.

61. Strachan DC, Ruffell B, Oei Y, Bissell MJ, Cousens LM, Pryer N, Daniel D. CSF1R inhibition delays cervical and mammary tumor growth in murine models by attenuating the turnover of tumor-associated macrophages and enhancing infiltration by CD8⁺ T cells. *Oncoimmunology*. 2013;2(12):e26968. doi: 10.4161/onci.26968.

62. Van Rooijen N, Sanders A. Liposome mediated depletion of macrophages: mechanism of action, preparation of liposomes and applications. *J Immunol Methods*. 1994;174(1–2):83–93. doi: 10.1016/0022-1759(94)90012-4.

63. Banciu M, Metselaar JM, Schiffelers RM, Storm G. Antitumor activity of liposomal prednisolone phosphate depends on the presence of functional tumor-associated macrophages in tumor tissue. *Neoplasia*. 2008;10(2):108–117. doi: 10.1593/neo.07913.

64. De Rosa G, Misso G, Salzano G, Caraglia M. Bisphosphonates and cancer: what opportunities from nanotechnology? *J Drug Deliv*. 2013;2013:637976. doi: 10.1155/2013/637976.

Macrophage cytotoxic activity and its role in the tumor pathogenesis

O.V. Kovaleva¹ • P.A. Podlesnaya¹ • A.N. Gratchev¹

Macrophages, natural killers and T cells play the central role in tumor cells destruction. The purpose of this review is to summarize the state-of-the-art perspectives of the interplay between tumor cells and tumor stroma leading both to the formation of a macrophage population incapable of effective antitumor activity and to the selection of tumor cells resistant to macrophage cytotoxicity. Macrophages are highly versatile cells that can both stimulate the inflammatory response (type 1 macrophages, M1) and suppress it (type 2 macrophages, M2). Tumor-associated macrophages (TAMs) are considered the main regulator of the antitumor immune response and usually have anti-inflammatory properties, that is, they belong to M2 type. Tumor cells are able to affect macrophages, "reprogramming" them to perform an immunosuppressive function. In addition, TAMs stimulate angiogenesis and remodelling of the extracellular matrix necessary for metastasis. Recently, more and more studies have been published describing a mixed TAMs phenotype with characteristics of both M2 and M1. M1 is characterized by production of pro-inflammatory cytokines, reactive oxygen species, bactericidal and cytotoxic activity. M1 can destroy tumor cells both directly

and indirectly by attracting other cells. Despite the mechanisms of direct cytotoxic activity are quite variable, their effectiveness is largely dependent on the properties of a particular tumor. The cytotoxic activity of macrophages is a powerful factor that inhibits tumor initiation and progression. However, in some cases, it is not sufficient to control the tumor process. Activation of the cytotoxic activity of TAMs is one of the strategies to use macrophages for cancer treatment. Understanding the mechanisms of macrophage cytotoxic activity and specific patterns of its manifestation in a tumor environment is of critical importance for better effectiveness of existing cancer treatments and development of promising methods for tumor immunotherapy.

Key words: macrophage, immunity, cytokine, tumor

For citation: Kovaleva OV, Podlesnaya PA, Gratchev AN. Macrophage cytotoxic activity and its role in the tumor pathogenesis. *Almanac of Clinical Medicine*. 2022;50. doi: 10.18786/2072-0505-2022-50-008.

Received 21 March 2022; revised 28 March 2022; accepted 4 April 2022; published online 5 April 2022

Olga V. Kovaleva – PhD (in Biol.), Senior Research Fellow, Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes, Research Institute of Carcinogenesis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>
✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (903) 764 42 18.
E-mail: ovkovaleva@gmail.com

Polina A. Podlesnaya – Research Assistant, Laboratory of Tumor Stromal Cells Biology, Research Institute of Carcinogenesis¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>.
E-mail: polina.pod@yandex.ru

Alexei N. Gratchev – Doctor of Biol. Sci., Head of Laboratory of Tumor Stromal Cells Biology¹; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>.
E-mail: alexei.gratchev@gmail.com

Funding

The paper has been prepared under financial support from the Russian Foundation for Basic Research grant for the research project No. 20-015-00479.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests.

Authors' contributions

O.V. Kovaleva, text writing; P.A. Podlesnaya, data collection and analysis; A.N. Gratchev, the paper concept, text editing. All the authors have read and approved the final version of the manuscript before submission, agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work have been appropriately investigated and resolved.

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation