

Интерферон – от молекулы до лекарства

Эта история началась в 1956 г., когда швейцарский вирусолог Дж. Линденманн приехал на постдокторат в лондонский Национальный институт медицинских исследований. Он собирался продолжить свои исследования по интерференции вирусов. Интерференция вирусов была известна давно: еще в 1935 г. М. Хоскинс (очевидно, одним из первых) обнаружил, что обезьяна, зараженная нейротропным штаммом вируса желтой лихорадки, непосредственно после этого приобретает резистентность к висцеральнотропному штамму вируса. Хоскинс считал, что это явление вызвано конкуренцией вирусов, которую он назвал интерференцией (с англ. interference – помеха, столкновение). Сам Линденманн уже провел в этой области исследование совместно с Музер. Эритроциты кролика инкубировали с инактивированным вирусом гриппа, а затем добавляли живой вирус и наблюдали подавление его размножения.

В такой и подобных системах, которые использовали разные авторы, механизм явления обнаружить не удавалось, как и выделить его действующее начало. Для его выяснения Линденманн собирался изучить интерференцию по отношению к вирусу полиомиелита, «звезде» тогдашней вирусологии. Однако эритроциты оказались нечувствительными к этому вирусу. И тут исследователю повезло – он случайно познакомился с А. Айзексом, который в 1950–52 гг. в серии работ показал, что инактивированный вирус гриппа, помещенный на

хориоаллантаисную оболочку куриного эмбриона, препятствует размножению живого вируса на этом же участке оболочки.

Линденманн и Айзекс решили использовать модель последнего, но изменили методику исследования: после контакта оболочки с инактивированным вирусом гриппа нанесли культуральную жидкость на свежую оболочку, к которой затем добавили живой вирус. Выяснилось, что в этой жидкости содержится активное начало, которое препятствует размножению живого вируса. Это действующее начало было названо ими на лабораторном жаргоне «интерфероном». Здесь уместно заметить, что в 1960 г. Линденманн впервые описал явление обратной интерференции, когда инфицированные клетки живым вирусом подавляют продукцию интерферона (ИФ) в ответ на инактивированный вирус. Айзекс умер в 1967 г., а Линденманн отпраздновал в 2004 г. свое 80-летие. Их открытие не было отмечено ни одной из престижных премий.

В дальнейшем было установлено, что ИФ является важнейшим эволюционным достоянием позвоночных (начиная с рыб), он образуется в ответ на вирусную инфекцию или введение в организм множества других естественных или синтетических соединений, так называемых индукторов ИФ. По определению, принятому в 1980 г. Международным комитетом по номенклатуре ИФ, – это белки, которые проявляют неспецифическую противовирусную активность, по меньшей мере, в клетках того

вида животных, из которых они получены, и воздействуют на клеточный метаболизм, включая синтез РНК и белка.

Вначале ИФ разделяли на «классическое» (или ИФ I типа) и иммунные – II типа. Затем ИФ I типа разделили на лейкоцитарные (в настоящее время ИФ- α) и фибробластные (ИФ- β). Это разделение сейчас потеряло смысл, поскольку все три типа ИФ продуцируются естественными клетками-киллерами, Т-лимфоцитами, дендритными клетками и макрофагами, а ИФ- γ представлен на клетках неиммунного ряда (фибробластах и эритроидных клетках). Итак, по современным представлениям семейство ИФ состоит из двух классов I и II, а также ИФ-подобных молекул. В свою очередь, ИФ класса I включают ИФ- α , - β , - δ , - ϵ , - κ , - τ , - ω , - ξ ; к классу II относится ИФ- γ , а ИФ-подобными факторами (или ИФ III типа) являются интерлейкины (ИЛ) ИЛ-28А [ИФ- $(\lambda 2)$], ИЛ-28В $(\lambda 3)$ и ИЛ-29 $(\lambda 1)$ и лимитин. ИФ- α включает 12 разновидностей. Трофобластный ИФ- τ является исключением из всех видов ИФ I типа, поскольку не индуцируется вирусами, а продуцируется в эмбриональной трофоэктодерме лишь на определенном периоде беременности. Кроме этого, у мышей был выявлен подобный гомолог ИФ I типа – лимитин, который имел на 30 % гомологичное сходство по аминокислотному составу с ИФ.

ИФ вырабатывается практически у всех позвоночных животных. Его главными индукторами являются вирусы. К другим естественным или патологическим индукторам относятся продукты микробной клетки и активированных соматических клеток (цитокины).

Продукция ИФ- α/β начинается на ранних стадиях врожденного иммунного ответа и этот вид ИФ считают ведущим фактором в дальнейшем развитии врожденного и приобретенного иммунного ответов. Его основная роль заключается в индукции престоимляции иммунной системы, что

обеспечивает выработку и регуляцию других медиаторов, включая цитокины. В частности, базальное содержание ИФ- α/β необходимо для выработки ИФ- γ , а также регулирует продукцию множества других воспалительных и противовоспалительных цитокинов.

ИФ- α/β вырабатывается при стимуляции микробами. Он обладает сильной противовирусной активностью, выраженными иммунорегуляторными свойствами, обеспечивает естественный иммунитет к невирусным патогенам. Все ИФ этого типа являются мономерами и имеют общий рецептор ИФ- α/β -R, состоящий из субъединиц AR-1 и AR-2.

Сигнальная система ИФ I типа включает фосфорилирование Janus киназ (Jak1, Tyk2) с последующей активацией передатчиков сигналов и активаторов транскрипции STAT1 и STAT2, а также STAT3, STAT4 и STAT5. Это приводит к индукции генов, которые несут усилители с ИФ-стимулированными элементами ответной реакции (с англ. ISRE –stimulated response elements). Одним из генов, которые усиливают ответ на этот тип ИФ, является ИФ-регулирующий фактор-7 (ИФ-7), который переключает транскрипцию нескольких генов и составляет аутокринный путь выработки ИФ I типа. В экспрессии ИФ важнейшее значение имеют Толл-подобные рецепторы.

ИФ- γ играет критическую роль в развитии и регуляции иммунного ответа – при повышенной чувствительности замедленного типа, трансплантационных реакциях и воспалении. Он вырабатывается исключительно цитотоксическими и Th1 Т-клетками, а также естественными киллерами. ИФ- γ -индуцирующий фактор (ИЛ-18) усиливает экспрессию и продукцию ИФ- γ клетками миеломоноцитарной линии человека. Этот ИФ проявляет антивирусную и антипролиферативную активность, стимулирует макрофаги и регулирует экспрессию различных хемокинов, адгезивных молекул и рецепторов клетки.

В основе антипролиферативного действия ИФ лежат несколько механизмов: 1) ИФ могут непосредственно угнетать рост опухолей; 2) под влиянием ИФ происходит активация цитотоксических Т-лимфоцитов, клеток-киллеров и макрофагов, которые лизируют опухолевые клетки; 3) ИФ усиливают экспрессию онкогенов на поверхности опухолевых клеток, что повышает их распознавание и лизис специфическими цитотоксическими Т-лимфоцитами; 4) ИФ стимулируют продукцию специфических антител, которые влияют на рост опухолей.

ИФ выходит из клетки-продуцента и действует на другие клетки, которые несут особые для него рецепторы. Невосприимчивость клеток к заражению вирусом зависит от подавления синтеза вирусных белков любого вируса и под действием ИФ развивается в первые часы после заражения, составляя первую (до противовирусных антител) линию защиты. Это действие распространяется не только на соседние, но и на отдаленные клетки после контакта с ИФ, поступившим из клетки-продуцента в кровь. Ферменты и ингибиторы, синтез которых индуцирован ИФ, блокируют начало трансляции чужеродной генетической информации, разрушают молекулы информационных РНК. Взаимодействуя с клетками иммунной системы, они стимулируют фагоцитоз, активность клеток-киллеров (которые убивают инфекционные агенты и злокачественные клетки) и развитие иммунного ответа (через усиление представления антигена, в котором участвует главный комплекс совместимости тканей МНС и через непосредственное воздействие на В-лимфоциты, что стимулирует образование антител).

В то же время избыточная продукция ИФ (главным образом ИФ- γ) может вызывать аутоиммунные заболевания за счет их способности стимулировать хемокины и адгезивные молекулы, от которых зависит интенсивность воспалительной реакции,

которая в случае инфекционных и злокачественных поражений может играть защитную роль, но при избыточном воспалении приводит к повреждению собственных тканей. Функционально активный ИФ- γ обнаружен в очагах поражений при дискоидной, подострой и системной красной волчанке и при атопическом дерматите. При системной красной волчанке иммунные комплексы стимулируют образование ИФ- α , повышенные содержания которого в сыворотке и высокая экспрессия генов коррелируют с тяжестью процесса.

Содержание ИФ- γ особенно велико в макрофагах легких с высокой экспрессией адгезивной молекулы CD11b. Усиленная стимуляция естественного иммунитета, преимущественно за счет гиперактивации макрофагов, сопровождается подавлением адаптивного ответа в виде снижения уровня общей популяции лимфоцитов и субпопуляции клеток-хелперов CD4. В принципе малые концентрации ИФ- γ (в противоположность высоким дозам) способны подавить расселение В-лимфоцитов, исключая их из очагов присутствия антигена, а также ингибируют расселение интактных Т-лимфоцитов и Т-лимфоцитов-хелперов Th2, подавляя воспаление на модели астмы. С другой стороны, способность ИФ- γ стимулировать экспрессию различных хемокинов и адгезивных молекул придает антиген-специфическим Т-клеткам свойство преодолевать тормозящие «стоп-сигналы», естественно возникающие в процессе миграции, что позволяет этим клеткам мигрировать в очаги воспаления и усиливает патологический процесс.

Содержание ИФ- α в крови, тканевых жидкостях или лимфоцитах может быть повышено при ВИЧ-инфекции, красной волчанке, ИФ- β – при ревматоидном артрите, а ИФ- γ (иммунного ИФ) – при вирусном гепатите В (увеличивается при выздоровлении), бронхиальной астме (повышение под действием вирусов отягощает процесс) и

других заболеваниях. Считают, что усиление продукции этого ИФ препятствует развитию злокачественных новообразований.

Анализ литературы и собственных данных показал, что нарушения системы ИФ при инфекционных заболеваниях и, в частности, при сепсисе является побудительным мотивом к иммунокоррекции. Экспериментальное и клиническое изучение лейкоинферона проводили в трех крупных центрах – Институте микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАНУ, Киев (Спивак, Трещинский), Институте микробиологии и иммунологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва (Зуева, Кузнецов) и Институте хирургии им. А.В. Вишневского РАМН, Москва (Карлов, Белоцкий). Был получен первый опыт применения лейкоинферона в клинике механической травмы, осложненной раневой инфекцией и сепсисом, а также при обширных термических поражениях. ИФ- α вводили внутримышечно в дозе 10^4 МЕ, как правило, в комплексе с иммуноглобулинами для внутривенного применения (сандоглобулин, пентаглобин) и препаратами тимуса (Т-активин). Показаниями для интерферонотерапии был высокий уровень спонтанной продукции реактивных метаболитов кислорода (РМК) ПМН периферической крови, для серотерапии – снижение функции В-лимфоцитов, а для препарата тимуса – подавление функции Т-клеток. У большинства больных была выполнена радикальная операция на первичном очаге и проводилась направленная антимикробная и детоксицирующая терапия. Иммунологическое обследование пациентов ежедневно или через день позволило проводить лабораторную оценку эффективности интерферонотерапии. При снижении уровня РМК или в случае резистентности к ИФ препарат отменяли. Комплексное лечение на фоне радикального хирургического вмешательства и с применением иммунологического мониторинга показало высокую клиническую эффективность –

снижение летальности и осложнений.

Дальнейшие исследования показали, что для раневой инфекции/сепсиса и ожоговой болезни высокий уровень РМК является одним из главных лабораторных признаков гиперактивации системы защиты, что, в свою очередь, создает стрессорную ситуацию. В этом случае именно ИФ- α (помимо санации первичного очага) выступает как антистрессор. Монотерапия с его помощью снижала летальность при экспериментальном стафилококковом сепсисе и септическом шоке.

Применение таких малых доз ИФ- α давали выраженный иммуномодулирующий эффект (т.е. подавление повышенной реакции и стимуляция пониженной) в течение трех дней, причем отсутствие действия препарата после одного-двух введений свидетельствовало либо о неадекватности основного лечения (операция на первичном очаге или антибиотикотерапия), либо о рефрактерности пациента к ИФ. Нативный препарат ИФ- α действовал гораздо мягче и радикальнее, чем рекомбинантные формы препарата.

В настоящее время ИФ широко используются для лечения многих заболеваний. У больных туберкулезом легких естественный лейкоцитарный ИФ- α (лейкинферон) через 2–3 мес усиливал процесс детоксикации и высвобождения от патогена, разрешения инфильтрации, закрытия каверн и нормализацию продукции ИФ- γ , а также фактора некроза опухоли- α . Через 6 мес острый процесс купировался у 84 % пациентов.

При сальмонеллезе монотерапия ИФ- α нормализовала интерфероновый статус, подавляла продукцию фактора некроза опухоли- α , снижала летальность или приводила к полному выздоровлению и отсутствию носительства при сальмонеллезе в эксперименте и клинике.

Изучение различных методов лечения гепатита С показало, что комбинация пегилированного ИФ с рибавирином дает наилучший терапевтический и экономический эффект по сравнению с монотерапией ИФ

или его комбинацией с рибавирином. Эффект терапии пегилированным ИФ- α -2b в сочетании с рибавирином зависел от противовирусного ответа и был выражен только при элиминации вирусной РНК. Вирусологический и клинический эффект этого вида терапии хронического гепатита С коррелировал с повышенной продукцией ИФ- γ лимфоцитами CD8, стимулированными форболовым эфиром. В некоторых наблюдениях не обнаружено преимущества комбинации ИФ с рибавирином перед монотерапией в лечении, например хронического гепатита D.

Монотерапия хронического гепатита С ИФ- α -2a (3 или 6 МУ) в течение 12 мес дала клинические результаты соответственно у 75 и 87,5 %, а вирусологические – у 50 и 62,5 % вне зависимости от нормального или субнормального содержания сывороточной аланинтрансферазы. При генотипе 1 результаты применения высокой дозы были лучше.

Интерферонотерапия была предпринята у 390 ВИЧ-инфицированных пациентов с гепатитом С генотипа 4. Разные схемы терапии показали антивирусный эффект у 23,1 %: монотерапия ИФ – у 18,5 %, ИФ и рибавирин – у 16 %, и пегилированный ИФ и рибавирин – у 30,9 %. Этот ответ был выше у пациентов, инфицированных вирусом генотипов 2 или 3, чем 1 или 4. У большинства больных со смешанной инфекцией ВИЧ и острым гепатитом С наблюдали положительный эффект монотерапии ИФ, пегилированным ИФ и комбинации пегилированного ИФ с рибавирином. Подобная комбинация поддерживала вирус-специфический ответ ИФ- γ , который коррелировал с вирусологическим ответом.

При рассеянном склерозе используют различные препараты ИФ. Через 18 мес после начала лечения этого заболевания ИФ- β -1b у больных повышался уровень CD4, CD25, Т-супрессоров и значительно снижалось содержание цитотоксических

CD8 Т-клеток, клеток-киллеров, а также продукция ИФ- γ , что связывают с успехом терапии. Добавление пентоксифиллина эффекта не давало, тогда как комбинация ИФ- β с циклофосфамидом ослабляла локальные поражения и стабилизировала состояние пациентов на фоне отсутствия осложнений. ИФ- β -1a через 4 мес приводил к снижению атрофии мозга и далее эффект усиливался.

Лечение пациентов с высоким риском рецидивов после удаления меланомы кожи максимально переносимыми дозами ИФ- α приводило к уменьшению массы опухоли и снижению частоты рецидивов у 20 %. Применение у пациентов с меланомой в IV стадии ИФ- α в комбинации с аутовакциной, состоящей из белка теплового шока, и с GM-CSF не дало существенного клинического эффекта, но стимулировало опухолеспецифический ответ Т-лимфоцитов и клеток-киллеров. В целом реакция на адъювантное лечение меланомы и карциномы почек ИФ- α -2a была эффективной у 2–26 % пациентов, особенно при применении высоких доз препарата. Отмечено, что ИФ усиливают эффективность других методов лечения, а сами наиболее активны при уменьшении массы опухоли.

ИФ- α продлевает выживание и срок ремиссии у больных фолликулярной лимфомой, и эффект зависит от комбинации с химиотерапией в начале лечения и от дозы ИФ.

Применение ИФ- α в ранней хронической фазе миелолейкоза приводило к ремиссии у 60–80 % больных и иногда завершалось частичной или полной цитологической ремиссией за счет ИФ- α -2b-индуцированного усиления активности специфических Т-лимфоцитов или ДК. В последнем случае эффект ИФ потенцировался GM-CSF. При хроническом В-клеточном лимфолейкозе ИФ- α и ИЛ-2 генерировали *in vitro* лимфокинактивированные цитотоксические клетки и клетки-киллеры, к которым как в аутологичной, так и в аллогенной системе клетки опухоли были резистентны, что

можно отнести на счет дефектов их распознавания эффекторами по причине слабой экспрессии ICAM-1 и CD11a. Клетки опухоли оказались также резистентными к антителозависимой клеточной цитотоксичности, но чувствительными к комплемент-опосредованному лизису.

Введение естественных ИФ- α или - γ в ткань карциномы молочной железы сопровождалось: 1) подавлением митотической активности, усилением экспрессии антигена эпителия железы, адгезивной молекулы ICAM-1 и антигенов МНС II (HLA-DR) на клетках карциномы; 2) активацией макрофагов и дендритов с заметной экспрессией HLA-DR и HLA-A,B,C; 3) инфильтрацией дермы и опухоли активированными Т-лимфоцитами CD3, CD4, CD8; 4) вероятным вовлечением в процесс В-клеток и клеток-киллеров и 5) активацией эндотелия с усилением экспрессии ICAM-1 и HLA-DR, прокоагулянтной активности и проницаемости сосудов. Комбинация ИФв действовала сильнее, чем каждый из них в отдельности.

Среди осложнений интерферонотерапии отмечают:

- гриппоподобный синдром через 2–8 ч,
- сонливость, летаргию, анорексию,
- повышение проницаемости сосудов,
- обострение или проявление подлежащих расстройств, в том числе и иммунной системы, обострение или возникновение антитело-опосредованных аутоиммунных процессов (тиреоидит, системная красная волчанка, гематологические нарушения, инсулинзависимый диабет) или процессов, зависящих от клеточного иммунитета (воспалительные заболевания кожи, неврит, пневмонии, колит, гепатит, миастения). Эти осложнения почти целиком вызывает ИФ- α и редко ИФ- β и - γ ,
- цитопении,
- выработка нейтрализующих антител

примерно у 10–20 % пациентов – чаще всего к ИФ- α/β ,

- ИФ- α -индуцированные нейropsychические расстройства.

Резистентность к интерферону зависит от многих факторов:

- скорость размножения вируса (например, вируса гриппа) превышает скорость выработки ИФ;
- пегилированный ИФ- α в целом дает вирусологический эффект только у 50–60 % больных гепатитом С. Причиной резистентности считают способность вируса противодействовать ИФ за счет поверхностного белка (Е)₂, неструктурированного (NS)_{3/4A} белка и белка NS_{5A};
- антитела;
- выделение в кровотоке свободных рецепторов ИФ- α/β , которые связываются с ИФ и инактивируют их;
- наличие недавно выделенного ИФ-инактивирующего белка;
- продукция некоторыми злокачественными клетками простагландина E₂, который подавляет образование ИФ;
- высокий уровень фосфодиэстераз цАМФ, также вырабатываемых некоторыми злокачественными клетками, которые снижают уровень цАМФ – важного вторичного мессенджера синтеза ИФ.

В заключение можно повторить сказанное нами ранее.

Интерфероны являются вездесущими и нередко ключевыми факторами в защите от вирусных и бактериальных инфекций, аутоиммунных расстройств и злокачественных новообразований, а недостаточный уровень или избыток интерферонообразования часто играет фатальную роль в патологии. Большинство интерферозависимых патологических процессов можно предупредить или подавить интерферонотерапией, для которой существуют и должны использоваться конкретные иммунологические показания и лабораторные критерии.

рии эффективности.

Можно сказать, что интерфероны являются центральным механизмом воспаления и иммунного ответа. Перефразируя известное выражение, если бы интерферонов не было, их следовало бы выдумать. К

счастью, эта система реальна и осязаема. Понимание ее роли в указанных процессах, знание конкретной картины в совокупности с агонистами и антагонистами обещает несомненный дальнейший успех клинического применения.

*Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д.К.
Заболотного НАН Украины, Киев;
ун-т Бар-Илан, Рамат-Ган, Израиль*

*Материал поступил в
редакцию 03.01.2007*