

© 2023 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.  
Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).  
TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 26: 1-17, 2023.  
<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2023.533>

## Interferón-gamma: vías de señalización y sus implicaciones en el cáncer

Sayra Ximena Zamora-Salas<sup>1</sup>, María Lucero Robles-Villarruel<sup>1</sup>,  
Marina Macías-Silva<sup>2</sup>, María E. Álvarez-Sánchez<sup>1</sup> y Ángeles C. Tecalco-Cruz<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Ciencias Genómicas, Universidad Autónoma de la Ciudad de México, Av. San Lorenzo #290, Col. Del Valle, Alcaldía Benito Juárez 03100, Ciudad de México, México. <sup>2</sup>Instituto de Fisiología Celular, Ciudad Universitaria, Circuito Exterior s/n, Alcaldía Coyoacán 04510, Ciudad de México, México.

E-mail: \*angeles.tecalco@uacm.edu.mx

### RESUMEN

Los interferones son una familia de proteínas involucradas en actividades antivirales, inmunomoduladoras y antiinflamatorias. En los últimos años, su estudio se ha incrementado en el contexto del cáncer, y uno de los hallazgos más importantes es que son parte del microambiente de los tumores. El interferón-gamma (IFN- $\gamma$ ) es uno de los miembros de la familia de los interferones y tiene funciones protumorales o antitumorales dependiendo del tipo de cáncer y del microambiente tumoral. En esta revisión se discuten los elementos de la vía de transducción de señales canónica del IFN- $\gamma$  y sus implicaciones en el desarrollo de las neoplasias malignas. Los estudios sugieren que los elementos de la vía activada por el IFN- $\gamma$  podrían ser útiles como biomarcadores y/o como blanco de terapias para el cáncer.

**Palabras clave:** interferón, IFN- $\gamma$ , transducción de señales, cáncer.

### Interferon-gamma: signaling pathways and their implications in cancer

### ABSTRACT

Interferons constitute a family of proteins involved in antiviral, immunomodulatory, and antiinflammatory activities. In the last years, the study of interferons in the cancer context has increased, and one of the most important findings is that interferons are part of the tumor microenvironment. The interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) is one of the members of the interferons family and has protumoral and antitumoral functions depending on the type of cancer and tumoral microenvironment. In this review, we discussed the elements of the canonical transduction pathway of IFN- $\gamma$  and their implications for the study of malign neoplasms. Studies suggest that the elements of the pathway activated by IFN- $\gamma$  could be useful as biomarkers and/or therapy targets against cancer.

**Key words:** interferon, IFN- $\gamma$ , signal transduction, cancer.

**INTRODUCCIÓN**

Los interferones (IFN) son citocinas que inicialmente fueron descritas como agentes secretados por las células infectadas por un virus inactivo y que *interfieren* con la amplificación de un nuevo virus activo (Isaacs & Lindenmann, 1957). Los IFN conforman tres grupos que se encuentran relacionados por sus secuencias, estructuras y función (Figura 1).

Los IFN de tipo I son un gran grupo de citocinas relacionadas estructural y genéticamente reconocidas por modular la respuesta inmune innata ante infecciones principalmente virales y por tener actividades antiproliferativas, entre otras. Al grupo lo constituyen: 13 subtipos de IFN- $\alpha$ , el IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$  e IFN- $\omega$ . Este tipo de IFN cuenta con receptores expresados en la mayoría de los tipos celulares del organismo y formados por las subunidades IFNAR1 (del inglés, *Interferon Alpha Receptor 1*) e IFNAR2 (del inglés, *Interferon Alfa Receptor 2*).

En esta vía de señalización, participan las cinasas TYK2 (del inglés, *Tyrosine-Kinase 2*) y JAK1 (del inglés, *Janus-Activated Kinases 1*), que activan al complejo proteico ISGF3 (del inglés, *Interferon Stimulated Gene Factor 3*) integrado por STAT1 (del inglés, *Signal Transducer and Activator of Transcription 1*), STAT2 (del inglés, *Signal Transducer and Activator of Transcription 2*) e IRF9 (del inglés, *Interferon Regulatory Factor 9*) que al translocarse al núcleo, funciona como un factor de transcripción e induce a un gran número de ISGs (del inglés, *Interferon Stimulated Genes*) (Tabla I) (Cho & Kelsall, 2014; Kim & Shin, 2021).

El grupo del IFN tipo II cuenta con sólo un miembro, el IFN-gamma (IFN- $\gamma$ ), reconocido por su actividad en la inmunidad innata y adaptativa. Es secretado principalmente por las células NK (del inglés, *Natural Killer*), las células T CD4+ y CD8+. El IFN- $\gamma$  señaliza a través de un receptor heterotetramérico que tiene dos receptores IFNGR1 (del inglés, *Interferon Gamma*

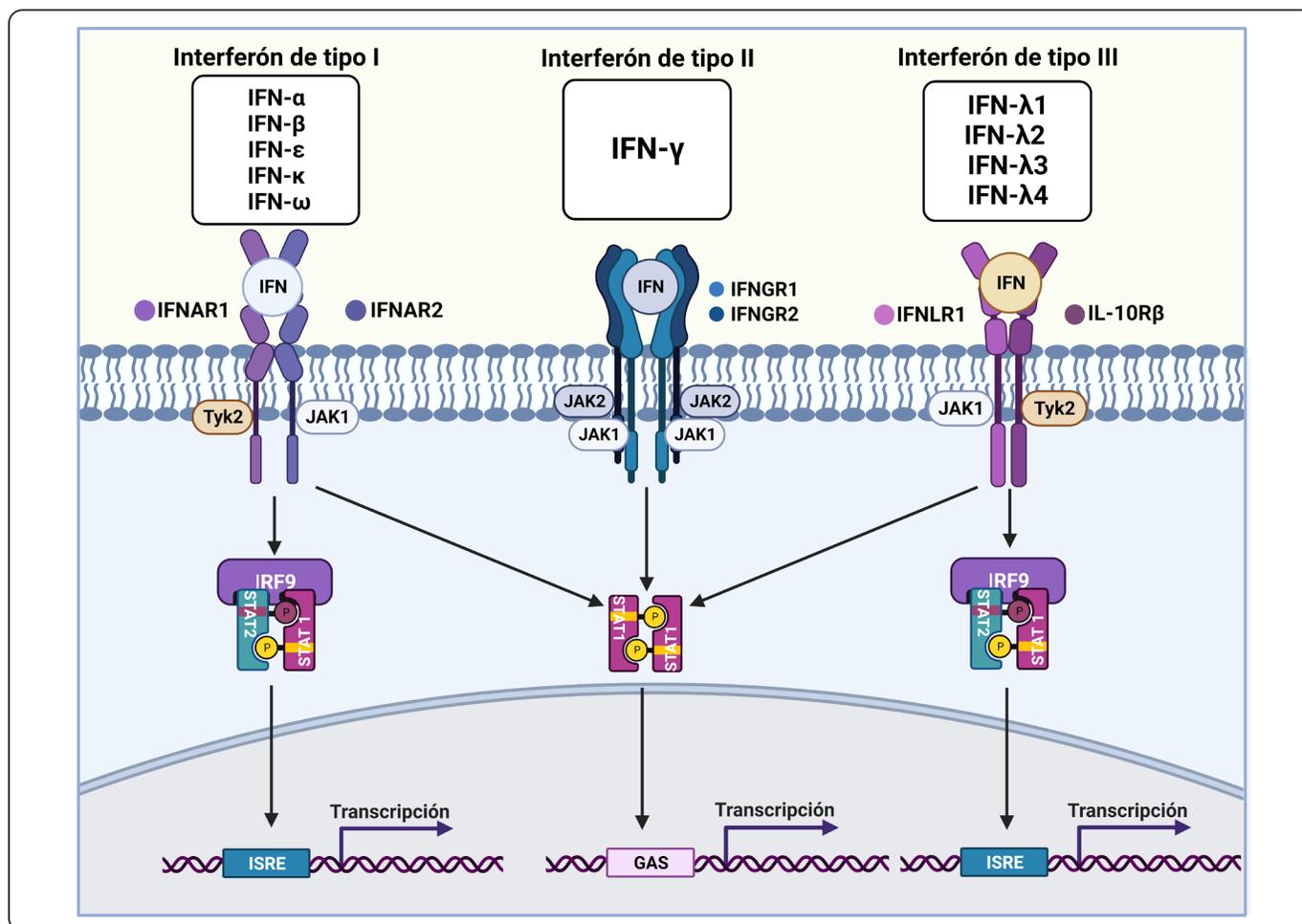


Figura 1. Los interferones son citocinas que conforman tres grupos que se encuentran relacionados entre sí por su estructura y función. Existen al menos 17 subtipos de interferones tipo I, un solo interferón de tipo II y 4 subtipos de interferón tipo III. Las tres familias de interferones comparten elementos como las cinasas JAK y factores de transcripción como STAT1 e IRF1. Aunque algunos genes son modulados en común por los interferones, existen genes blanco específicos para cada tipo de interferón. Creado con BioRender.com.

**Tabla I. Generalidades de las vías canónicas de las diferentes familias de interferones.**

Familia	Miembros	Participantes de la vía canónica				Referencias
		Complejo receptor	Cinasas	Principal factor regulador	Principal factor de transcripción	
I	IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\epsilon$ , IFN- $\kappa$ , IFN- $\omega$	IFNAR1 e IFNAR2	TYK2 y JAK1	IRF9	ISGF3: STAT1/STAT2 /IRF9	(Cho & Kelsall, 2014; Kim & Shin, 2021)
II	IFN- $\gamma$	IFNGR1 e IFNGR2	JAK2 y JAK2	IRF1	STAT1/STAT1	(Jorgovanovic <i>et al.</i> , 2020)
III	IFN- $\lambda$ 1 (IL-29), IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B), IFN- $\lambda$ 4	IFNLR1/IL28R $\alpha$ e IL10R $\beta$ /IL10R2	TYK2 y JAK1	IRF9	ISGF3: STAT1/STAT2/IRF9	(Eslam & George, 2016; Kim & Shin, 2021; Lazear <i>et al.</i> , 2019)

Receptor 1) y dos receptores, más, IFNGR2 (del inglés, *Interferon Gamma Receptor 2*). Con la unión del IFN- $\gamma$  a su receptor, se activa la cascada de señalización en las que se incluye a las cinasas JAK1 y JAK2 con la subsecuente activación del complejo GAF (del inglés, *Gamma-Interferon Activated Factor*) formado por el dímero del factor transcripcional STAT1:STAT1 (Tabla I) (Jorgovanovic, Song, Wang & Zhang, 2020).

Finalmente, el grupo del IFN tipo III que está estructuralmente relacionado con IL-10 (del inglés, *Interleukin-10*) lo integran el IFN- $\lambda$ 1 (IL-29), el IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A), el IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) y el IFN- $\lambda$ 4. Estos IFN son secretados por cualquier tipo celular, principalmente ante una infección viral y su vía de señalización inicia con la participación de un receptor heterodimérico (IFNLR) en el que está el IFNLR1 (del inglés, *Interferon Lambda Receptor 1*), también conocido como IL28R $\alpha$ , así como el IL10R $\beta$  (del inglés, *Interleukin 10 Receptor beta*). De la misma forma que sucede con los IFN I, posterior a la unión de los IFN III a su receptor se activan las cinasas TYK2 y JAK, para conducir a la formación del complejo transcripcional ISGF3 (Tabla I) (Kim & Shin, 2021; Lazear, Schoggins & Diamond, 2019).

Por lo tanto, los interferones son citocinas poderosas en la inducción de las respuestas inmunes y ampliamente investigados por su actividad antiviral; sin embargo, recientemente se ha observado que tienen un efecto inmunomodulador en condiciones patológicas como en el cáncer. En este trabajo nos centramos en describir las acciones del IFN- $\gamma$  y sus implicaciones en esta enfermedad.

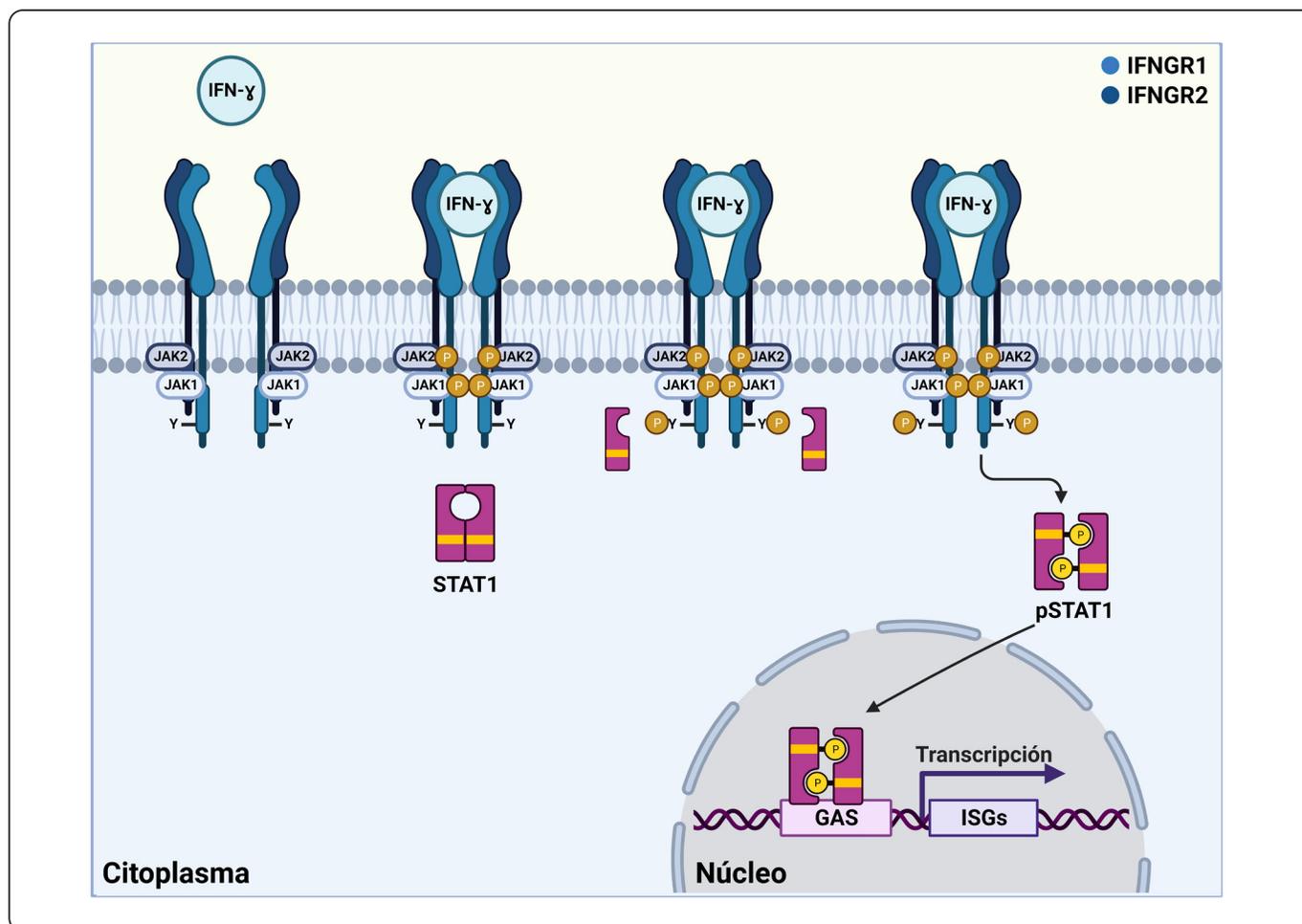
### VÍA DE SEÑALIZACIÓN DEL IFN- $\gamma$

El IFN- $\gamma$  es producido principalmente por las células NK, los linfocitos T  $\gamma\delta$ , los linfocitos T CD4+ y los CD8+, además de fuentes adicionales como los linfocitos B y las células

presentadoras de antígenos como lo son: los macrófagos, los monocitos y las células dendríticas (Burke & Young, 2019). Esta citocina da lugar a una serie de respuestas en las células macrófagos, las células T CD4+ y en las células cancerosas, que son inducidas por la cascada de señalizaciones activadas por el IFN- $\gamma$  (Figura 2).

La vía de señalización, como se menciona en líneas anteriores, es activada por el IFN- $\gamma$ , descrita inicialmente por Darnell y colaboradores en 1994, y también conocida como vía JAK-STAT, ya que las proteínas efectoras protagonistas son las cinasas JAK1/2 y el factor de transcripción STAT1 (Darnell, Kerr & Stark, 1994). Esta vía inicia con la unión del IFN- $\gamma$  a su receptor transmembranal, formado por dos subunidades IFNGR1 y dos subunidades, más, IFNGR2 y es a través de sus dominios intracelulares que se encuentran asociados con las cinasas JAK1 y JAK2, respectivamente (Marsters, Pennica, Bach, Scheiber & Ashkenazi, 1995). Con este evento, JAK1/2 son activadas por la transfosforilación y a su vez fosforilan a las subunidades del receptor, lo que genera en él un par de sitios de acoplamiento para STAT1; subsecuentemente, STAT1 es activado mediante la fosforilación por las enzimas JAK1/2, lo que permite su homodimerización y su consecuente translocación al núcleo para unirse a los promotores de genes específicos, que en conjunto son clasificados como *ISGs* (Tabla II) (Bach, Aguet & Schreiber, 1997). Una vez finalizada la cascada de señalización, la subunidad IFNGR1 en complejo con el IFN- $\gamma$  se internaliza, pero solo el IFN- $\gamma$  es degradado, ya que la subunidad IFNGR1 se almacena hasta su posterior reciclaje hacia la membrana celular (van de Vosse & van Dissel, 2017).

La estimulación por el IFN- $\gamma$  cobra especial relevancia al conducir a la activación de los *ISGs* que modulan diferentes respuestas celulares, como la proliferación celular, la apoptosis, la respuesta inmune y la migración, entre otros, también posibilita



**Figura 2.** La vía de señalización canónica del IFN- $\gamma$  comienza con su complejo receptor formado por IFNGR1 e IFNGR2 que en sus dominios intracelulares se encuentran asociados con JAK1 y JAK2, respectivamente. La unión del IFN- $\gamma$  con su receptor, permite la activación por transfosforilación de JAK1/2, la fosforilación de los dominios internos del receptor por las proteínas JAK, y el reclutamiento de STAT1 para, a su vez, ser fosforilado y activado. STAT1 fosforilado se homodimeriza y se transloca al núcleo para iniciar la transcripción de los genes con secuencias GAS en sus regiones promotoras. Creado con BioRender.com.

estimular a las firmas de *ISGs* específicas del tipo celular y/o estado patológico (p. ej. cáncer) (Alspach, Lussier & Schreiber, 2019; Schroder, Hertzog, Ravasi & Hume, 2004).

### RECEPTORES PARA EL IFN- $\gamma$

El complejo receptor para el IFN- $\gamma$  es un miembro del grupo de receptores para las citocinas tipo II que se expresa en todas las células, con la excepción de los eritrocitos maduros. Este receptor está compuesto por dos subunidades IFNGR1 o cadenas  $\alpha$  que se manifiestan estables en los tipos celulares mencionados, y por dos subunidades IFNGR2 o cadenas  $\beta$  que se expresan de forma controlada y son determinantes para la señalización del IFN- $\gamma$  (Figura 3A) (Alspach *et al.*, 2019; Burke & Young, 2019).

Contrario al modelo descrito por Bach y colaboradores en el año 1996, en el que las subunidades del receptor para el IFN- $\gamma$  se asocian sólo ante la presencia y unión con el IFN- $\gamma$ ; en el año

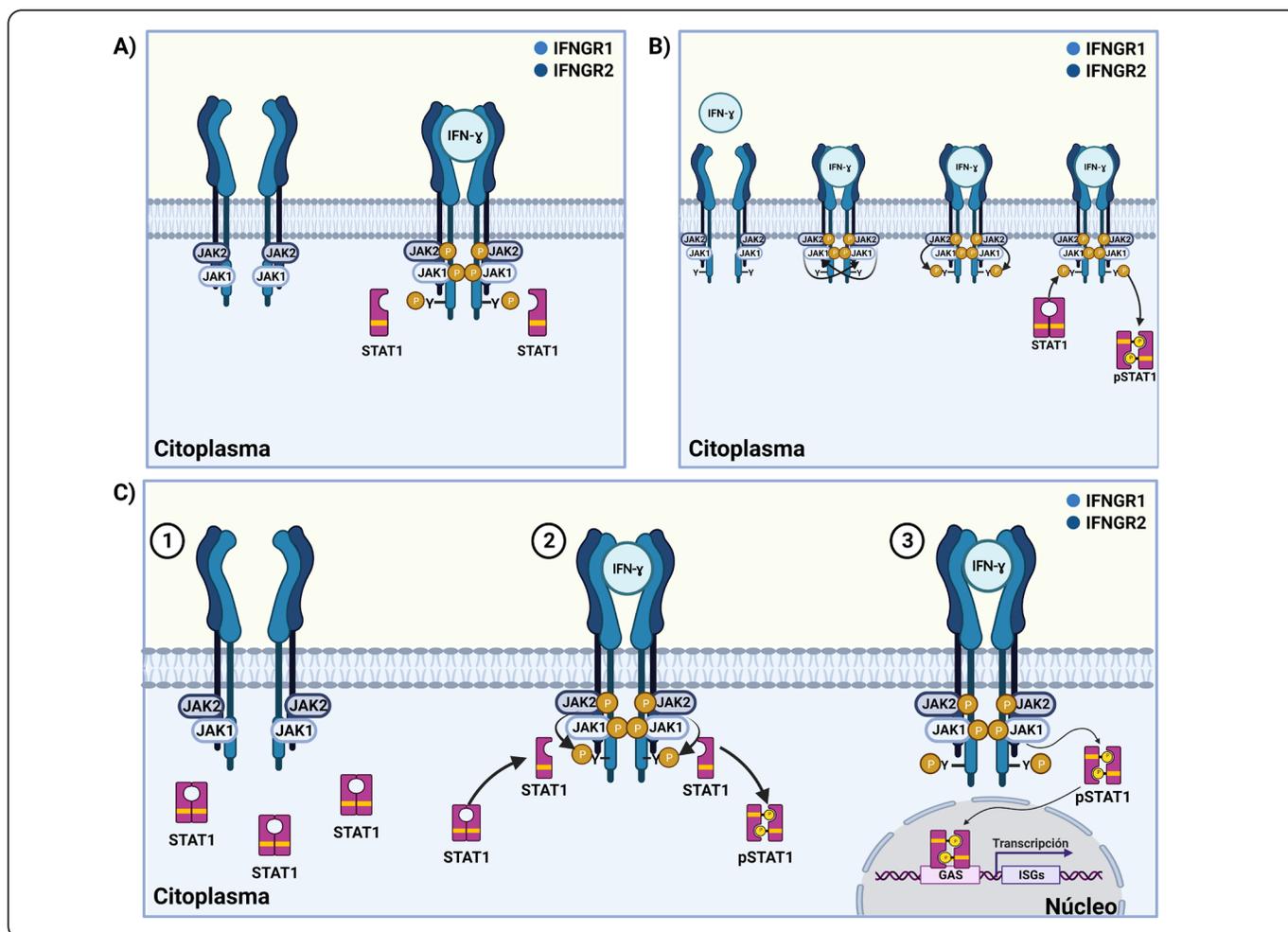
2002, la aplicación de la microscopía confocal acoplada a la técnica de FRET (del inglés, *Fluorescence Resonance Energy Transfer*) permitió demostrar que el complejo receptor IFNGR se encuentra ya ensamblado, previo a la estimulación con el IFN- $\gamma$ , y de él depende el correcto acoplamiento de JAK1 al IFNGR1 (Bach *et al.*, 1996; Krause *et al.*, 2002, 2006).

La proteína IFNGR1 se encarga de fortalecer la afinidad con las subunidades IFNGR2 y con el ligando durante la unión (Bach *et al.*, 1997). En lo que la IFNGR2 se ocupa de incrementar la afinidad del receptor por el ligando y de transducir la señal a los dominios intracelulares dentro del complejo receptor para activar a las JAKs (Marsters *et al.*, 1995).

Posterior a la unión del IFN- $\gamma$ , las subunidades del receptor se reorientan para asociarse fuertemente y acercarse a las cinasas JAK1/2, con las que se encuentran unidas en sus dominios

**Tabla II. Descripción de las proteínas participantes en la vía de señalización canónica del IFN- $\gamma$ .**

Proteínas	Gen codificante	Cromosomas de localización	Proteínas	Dominios importantes	Referencias
IFNGR1	<i>IFNGR1</i>	6q23.3	90 kDa, 472 aa	-Dos dominios similares a Ig Fibronectina tipo III de unión a IFN- $\gamma$ -Dominio intracelular de unión a JAK1 -Sitios de acoplamiento para STAT1	(Bach <i>et al.</i> , 1997; van de Vosse & van Dissel, 2017)
IFNGR2	<i>IFNGR2</i>	21q22.1	37.8 kDa, 337 aa	-Dominio intracelular de unión a JAK2	(Bach <i>et al.</i> , 1996, 1997; Uniprot, 1994a)
JAK1	<i>JAK1</i>	1p31.3	130 kDa, 1142 aa	-FERM (de unión a receptores de citocinas) -Cinasa carboxilo terminal (de fosforilar tirosinas)	(Haan <i>et al.</i> , 2001; Uniprot, 1991; Wilks <i>et al.</i> , 1991)
JAK2	<i>JAK2</i>	9p24.1	130.6 kDa, 1132 aa	-FERM (de unión a receptores de citocinas) -Cinasa carboxilo terminal (de fosforilar tirosinas)	(Haan <i>et al.</i> , 2001; Uniprot, 1998; Wilks <i>et al.</i> , 1991)
STAT1	<i>STAT1</i>	2q32.2	92 kDa, 750 aa	-DBD (Dominio de unión a DNA) -TAD (dominio de activación transcripcional) -SH2 (de unión a IFNGR1)	(Alspach <i>et al.</i> , 2019; Mao <i>et al.</i> , 2005; Uniprot, 1995)
IRF1	<i>IRF1</i>	qq31.1	36.5 kDa, 325 aa	-DBD (Dominio de unión a DNA) -IAD2 (dominio de unión con otras proteínas)	(Alsamman & El-Masry, 2018; Uniprot, 1989)
PDL1	<i>CD274 / PDCDL1</i>	9p24.1	33.27 kDa, 290 aa	Similar a Ig-V y Similar a Ig-C de interacción con PD-1.	(Jiang <i>et al.</i> , 2019; Litak <i>et al.</i> , 2019; Sun <i>et al.</i> , 2018; Uniprot, 2005)
SHP2	<i>PTPN11</i>	12q24.13	68 kDa, 593 aa	-SH2 (de interacción con fosfotirosina) -Proteína tirosina-fosfatasa (de eliminación de fosforilaciones en tirosinas)	(Kolli, Zito, Mossink, Wiemer y Bennett, 2004; Uniprot, 1994b)
SOCS1	<i>SOCS1</i>	16p13.13	23.5 kDa, 211 aa	-SH2 (de interacción con fosfotirosina) -Caja SOCS (para reclutamiento de Cullina 5)	(Liau <i>et al.</i> , 2018; Uniprot, 2002b)
PIAS1	<i>PIAS1</i>	15q23	71.8 kDa, 651 aa	-SAP (de unión a secuencias ricas en AT) -PINIT (de andamiaje (scaffold) para la conjugación de SUMO) -RING (de interacción con UBC9 para sumoilación de lisinas)	(Chen <i>et al.</i> , 2021; Liao <i>et al.</i> , 2000; Uniprot, 2002a)



**Figura 3.** Esquematación de los participantes de la vía del IFN- $\gamma$ . A) Activación del complejo receptor del IFN- $\gamma$ . Izquierda: complejo receptor de IFN- $\gamma$  en su estado inactivo. Derecha: JAK1/2 generan un sitio de acoplamiento específico para las proteínas STAT1. B) Activación y función de las cinasas JAK1 y JAK2. JAK1/2 se encuentran constitutivamente unidas a IFNGR1/2, ante la unión con el IFN- $\gamma$ , JAK1/2 se activan por transfosforilación y a su vez fosforilan a IFNGR1, creando un sitio de unión específico para STAT1 que, al unirse, también es fosforilado y activado por JAK1/2. C) Activación y función de STAT1. 1: STAT1 en su estado inactivo en el citoplasma. 2: STAT1 en proceso de activación por acción de JAK1/2. 3: STAT1 se transloca al núcleo y se une a secuencias GAS. Creado con BioRender.com.

intracelulares, con el fin de activarse mutuamente mediante la transfosforilación (Tabla II) (Bach *et al.*, 1997). El desarrollo adecuado de este evento molecular determina la exitosa inducción de ISGs a través de la vía de una señalización canónica del IFN- $\gamma$ . Se ha demostrado que el silenciamiento de la expresión de las subunidades receptoras IFNGR2 permite la unión del IFN- $\gamma$  a las subunidades de la IFNGR1, pero impide la activación de la vía de señalización (Christie *et al.*, 2020). Por otro lado, la deficiencia de la IFNGR1 evita la unión del IFN- $\gamma$  a su complejo receptor y en consecuencia, reduce la respuesta celular provocada por el IFN- $\gamma$  (Okada *et al.*, 2007).

### JAK1/2

Las cinasas JAK1 y JAK2 son enzimas que forman un centro de regulación a nivel citoplasmático que es clave en la respuesta

celular impulsada por el IFN- $\gamma$  (Figura 3B). Estas enzimas forman parte de la familia de las cinasas de tirosina JAKs en la que están JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2, además todos sus miembros presentan amplios patrones de expresión celular, a excepción de JAK3 que está restringida en los leucocitos. Las cinasas JAK se vinculan con los dominios ricos en prolina box1/box2 de los receptores de las citocinas a través de sus dominios FERM (por el inglés, *Four point one, Ezrin, Radixin, Moesin*) que median esta interacción, por lo que son de gran importancia en la respuesta celular estimulada por las citocinas de tipo II (Schindler, Levy & Decker, 2007; Schroder *et al.*, 2004).

JAK1 y JAK2 se encuentran asociadas en su forma inactiva a los dominios intracelulares del IFNGR1 e IFNGR2, respectivamente. Además, en el complejo receptor del IFN- $\gamma$

estas cinasas son esenciales, específicamente, en el acoplamiento de JAK1 a través de su dominio FERM con los dominios ricos en prolina de la IFNGR1. Este acoplamiento es requerido para la asociación de la IFNGR1 con la IFNGR2 en un estado previo a la estimulación con el IFN- $\gamma$ . Una vez que en la célula el IFN- $\gamma$  se une a su receptor, IFNGR1 e IFNGR2 se reorientan y favorecen el acercamiento de JAK1 y JAK2, lo que las habilita para activarse una a la otra por transfosforilación. Una vez activas, JAK1 y JAK2 fosforilan al IFNGR1 en su residuo Y440, generando sitios de acoplamiento específicos para STAT1 (Tabla II) (Bach *et al.*, 1997; Krause *et al.*, 2006).

## STAT1

STAT1 es una proteína clave en la cascada de señalización del IFN- $\gamma$ , ya que, en su forma activa, es un factor de transcripción que lleva a la expresión de una firma de genes dependientes de la estimulación por el IFN- $\gamma$  (Figura 3C). STAT1 forma parte de una gran familia de factores de transcripción junto con STAT2, STAT3, STAT4, STAT5 y STAT6, que contienen entre 750 a 900 aminoácidos y en su estructura poseen dominios funcionales bien conservados, a excepción del dominio TAD (del inglés, *Transcriptional Activation Domain*) que varía en gran medida entre los miembros de esta familia, siendo el dominio que les permite asociarse diferencialmente con proteínas reguladoras transcripcionales (Schindler *et al.*, 2007; Schroder *et al.*, 2004).

En su estado inactivo, la STAT1 forma un complejo homodimérico con orientación paralela en el citoplasma; sin embargo, ante la fosforilación del residuo Y440 del receptor de la IFNGR1 por acción de JAK1/2, se generan sitios de acoplamiento específicos a los que se recluta el complejo inactivo del dímero STAT1:STAT1 a través de su dominio SH2 (del inglés, *Src Homology 2*). Con su asociación a la IFNGR1, el dímero STAT1:STAT1 es activado, a través de cuatro pasos: en el primero la STAT1 es fosforilada por JAK1/2 en su residuo Y701, cuya modificación conduce al segundo paso que implica: su reorientación en forma antiparalela, en la que el dominio SH2 de cada proteína STAT1 se une al residuo pY701 de la otra proteína. En el tercer paso, el complejo pSTAT1:pSTAT1 se desacopla del receptor de la IFNGR1, para una última fosforilación en su residuo S727, con la que se completa el proceso de activación (Wen, Zhong & Darnell, 1995). El complejo pSTAT1:pSTAT1 se transloca al núcleo en donde a través de su dominio DBD (del inglés, *DNA Binding Domain*) se une a secuencias consenso en el DNA llamadas GAS (del inglés, *Gama Activated Sequences*), localizadas en las regiones promotoras de un gran número de genes denominados *ISGs* (Tabla II). (Jorgovanovic *et al.*, 2020; Schindler *et al.*, 2007).

El dominio TAD es un participante de gran relevancia en los procesos funcionales de la STAT1. Este es el dominio clave para su asociación con proteínas coactivadoras, con función de acetil transferasas de histonas, que favorecen la actividad

transcripcional, como p300, CBP (del inglés, *cAMP-responsive-element-binding protein*) y MCM5 (del inglés, *Minichromosomal Maintenance deficient 5*). Además, TAD se encuentra implicado en otros eventos como la translocación citoplasma – núcleo de STAT1, así como un factor transcripcional, donde coopera con el dominio DBD ante la presencia de secuencias GAS repetidas en tándem (Jorgovanovic *et al.*, 2020; Schindler *et al.*, 2007).

## GENES ESTIMULADOS POR EL IFN- $\gamma$ (*ISG*)

Como resultado de la cascada de señalización originada por el IFN- $\gamma$ , el factor de transcripción STAT1 es translocado al núcleo en donde se une a las secuencias GAS en las regiones promotoras de genes específicos llamados *ISGs*, mediante las secuencias consenso TTTCCNGGAAA (Tabla II). La firma de genes ocasionada por la estimulación con el IFN- $\gamma$  es característica de cada tipo celular y del estado patológico o inflamatorio que presente y se activa en un periodo de 15 a 30 min una vez recibido el estímulo. Como ejemplo de los genes blanco de STAT1 se encuentran *TNF* (del inglés, *Tumor Necrosis Factor*), *CXCL11* (del inglés, *C-X-C Motif Chemokine Ligand 11*), *FCGR1A* (del inglés, *Fc Gamma Receptor 1A*) e *IRF1* (del inglés, *Interferon Regulatory Factor 1*) (Bach *et al.*, 1997; van de Vosse & van Dissel, 2017).

IRF1 es un factor de transcripción con una función antitumoral, por ser proapoptótico en algunos tipos de células; sin embargo, también se muestra protumoral en algunos contextos celulares (Alsamman & El-Masry, 2018; Jung *et al.*, 2022). Se encarga de favorecer la transcripción de otro grupo de genes caracterizados por presentar la secuencia consenso ISRE (del inglés, *interferon stimulated response elements*): AGTTTCNNTTTCNC/T. IRF1 cuenta con un amplio rango de acción, facilita el reclutamiento de la RNA polimerasa II hacia los promotores de los *ISGs* y la unión a regiones potenciadoras o *enhancers* para impulsar la formación tridimensional de asas en el DNA que facilitan el acceso de las enzimas hacia las regiones promotoras de los *ISGs*; además existe una cooperatividad entre STAT1 e IRF1 en la transcripción de *ISGs* inducidos por el IFN- $\gamma$  (Abou El Hassan *et al.*, 2017).

Dentro de los genes que son estimulados por el IRF1, se encuentra *CD274*, un gen de gran importancia en la respuesta inmune que codifica para la proteína transmembranal PD-L1 (del inglés, *Programed Death Ligand 1*) (Shao *et al.*, 2019). Esta proteína es expresada por las células presentadoras de antígenos, los linfocitos B, las células parenquimatosas y las células neoplásicas. Su actividad depende de PD-1 (del inglés, *Programmed Cell Death Protein 1*), un receptor presente en las células T. El reconocimiento de PD-L1 por PD-1 inhibe la actividad citotóxica de los linfocitos, lo que le confiere a esta proteína un gran peso como factor inmunomodulador debido a la intervención del IFN- $\gamma$  (Litak, Mazurek, Grochowski, Kamieniak & Rolinski, 2019).

Existe un gran número de genes que son impulsados por el IFN- $\gamma$ , tanto de manera dependiente de la STAT1 como dependiente del IRF1 o coregulados por ambos factores de transcripción. El repertorio de genes ha sido tan amplio que ha permitido su uso como posibles biomarcadores para el diagnóstico y el pronóstico de diferentes estados patológicos; como ejemplo de ello se encuentran diferentes tipos de cáncer, como el melanoma, en el que fue identificada una firma de 9 genes coexpresados de manera dependiente del IFN- $\gamma$  que directamente está relacionada con la infiltración de células T CD8+ e inversamente con un buen pronóstico ante la inmunoterapia (Yan, Lu, Yan & Wang, 2021).

### REGULACIÓN DE LA VÍA CANÓNICA DEL IFN- $\gamma$

La vía de señalización del IFN- $\gamma$  es de gran importancia en la modulación de las respuestas celulares vitales por la acción de sus factores de transcripción como la STAT1, que ante la estimulación por el IFN- $\gamma$  se acumula en el núcleo, por lo que es relevante mantener un estricto control sobre esta vía de señalización, para que posterior a la activación transcripcional, se alcance un estado homeostático de reposo, translocando de vuelta a la STAT1 al citoplasma (Figura 4) (Schindler *et al.*, 2007).

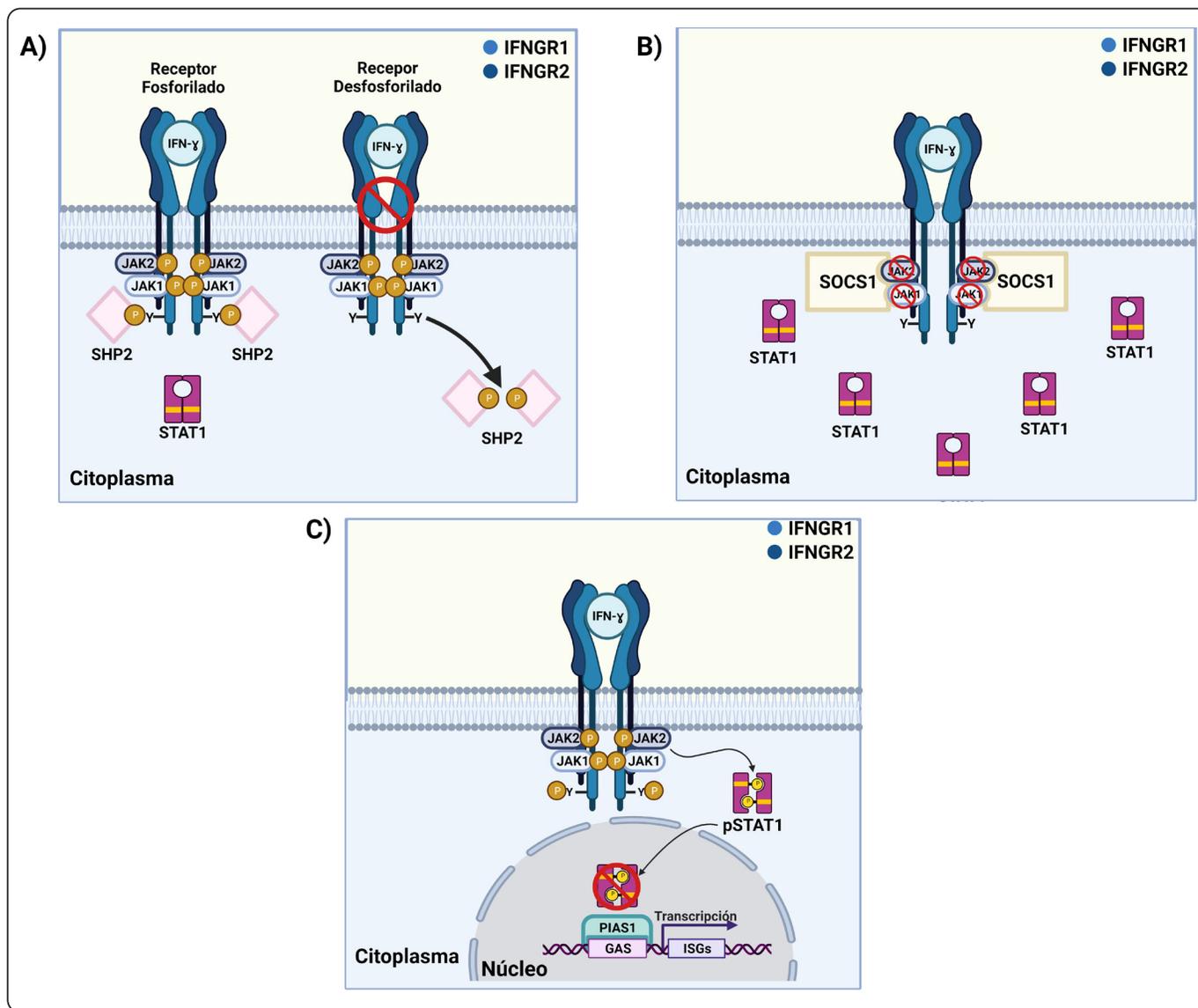


Figura 4. Elementos reguladores de la vía de señalización canónica del IFN- $\gamma$ . A) Regulación por la fosfatasa SHP2 que desfosforila las tirosinas Y440 de las subunidades del complejo receptor IFNGR y evita su interacción con STAT1. B) PIAS1 regula negativamente a pSTAT1 a nivel nuclear, bloqueando su unión al DNA y suprimiendo su función transcripcional sobre genes inducidos por el IFN- $\gamma$ . C) SOCS-1 se asocia con JAK1/2 interfiriendo con su actividad cinasa de tirosina e irrumpiendo en los eventos de señalización río abajo inducidos por el IFN- $\gamma$ . SOCS-1 está sujeta a un asa de regulación negativa inducida por el IFN- $\gamma$ . Creado con BioRender.com.

La vía de señalización cuenta con tres principales mecanismos de regulación negativa: la desfosforilación de sus componentes por acción de la fosfatasa SHP2 (del inglés, *Src homology 2 domain-containing phosphatase 2*), la supresión del señalamiento de las citocinas por SOCS1 (del inglés, *Suppressor of Cytokine Signaling-1*) y la inhibición de las proteínas activadas STAT por PIAS1 (del inglés, *Protein Inhibitors of Activated STAT*) (Alspach *et al.*, 2019).

La SHP2 es una PTP (del inglés, *protein tyrosine-phosphatase*) que se expresa ubicuamente, porta dos dominios SH2 repetidos en tándem que reconocen a los residuos de la tirosina fosforilados en otras proteínas, como las subunidades del complejo receptor IFNGR y median la interacción entre la SHP2 y el receptor. Esta interacción da paso a la desfosforilación de las tirosinas Y440 de las subunidades del receptor a través del dominio de la fosfatasa C-terminal, lo que regula negativamente a la vía de señalización por intervención del IFN- $\gamma$  en su nivel inicial (Figura 4A) (Xu & Qu, 2008).

Por otra parte, a nivel de las cinasas activadoras JAK1/2, existe un punto de control adicional que regula la homeostasis en esta vía de señalización. SOCS-1 es la proteína encargada de esta tarea, ya que se asocia con JAK1/2 a través de su dominio SH2, interfiriendo como una cinasa de tirosina e irrumpiendo en los eventos de una señalización río abajo suscitados por el IFN- $\gamma$ . Además, SOCS-1 porta un dominio C-terminal llamado caja SOCS que le permite unirse con el complejo adaptador Elongina BC, para reclutar a Cullina5, una proteína andamio o *scaffold* para la enzima E3-ligasa de ubiquitina que promueve la degradación de las proteínas a través de la ubiquitinación de intermediarios de la vía de señalización reclutados por los dominios SH2. En este nivel de regulación, es importante el hecho de que la proteína SOCS-1 es inducida por el IFN- $\gamma$ , lo que da lugar a un asa de autorregulación negativa (Figura 4B) (Debrincat *et al.*, 2007; Liao *et al.*, 2018).

Las proteínas PIAS son una familia de enzimas E3-ligasas de SUMO que son clave en distintas vías de transducción de señales. Cuentan con 5 dominios comunes entre los que destacan el dominio SAP (de las iniciales: *SAF-A/B*, *Acinus*, and *PIAS*) de unión a secuencias en el DNA ricas en AT y el dominio RING (dominio de dedo de zinc) que les permite interactuar con UBC9 (del inglés, *ubiquitin-conjugating enzyme 9*), lo que conduce a la sumoilación de los residuos de lisina de sus sustratos. Específicamente PIAS1, a través de su dominio C-terminal, regula negativamente a la STAT1 por la unión a su dominio N-terminal activo en el núcleo, y bloquea además su unión al DNA, suprime su función transcripcional, para modular la activación de los genes inducidos por el IFN- $\gamma$  (Tabla II) (Chen *et al.*, 2021; Liao, Fu & Shuai, 2000; Owen, Brockwell & Parker, 2019). Además, PIAS1 es también un regulador importante en distintas vías de señalización, ya que es capaz de asociarse con

otros factores de transcripción y coreguladores transcripcionales (Figura 4C) (Chen *et al.*, 2021)

### ACTIVIDAD DUAL DEL IFN- $\gamma$ EN EL CÁNCER

El IFN- $\gamma$  es una citocina de gran poder al presentar las respuestas celulares a través de la expresión génica que depende del tipo celular y del estado patológico. Particularmente en el cáncer, se ha demostrado una dualidad entre firmas génicas antitumorígenicas y protumorígenicas a causa del IFN- $\gamma$ , que parecen ser dependientes del tipo de tumor maligno. A continuación, se presentan algunas evidencias de las implicaciones antitumorales y protumorales asociadas a la señalización del IFN- $\gamma$ .

### FUNCIONES ANTITUMORALES DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DEL IFN- $\gamma$

**Sistema inmune.** El IFN- $\gamma$  es capaz de dar lugar a la expresión de genes necesarios para la producción de ROS (del inglés, *Reactive Oxygen Species*) y NO (del inglés, *Nitric Oxide*) en células PMN (del inglés, *Polymorphonuclear*), las cuales son componentes de la inmunidad innata. En neutrófilos, se ha observado que la producción del NO es dependiente de la concentración del IFN- $\gamma$ . Por lo tanto, el efecto antitumoral mediado por estas células depende de la concentración del NO (Yamashita, Uchida, Araki & Sando, 1997). Las células PMN estimuladas con el IFN- $\gamma$  son capaces de expresar señales de activación para los linfocitos T citotóxicos como moléculas del MHCII (del inglés, *Major Histocompatibility Complex type II*), CD80 y CD86, implicados en la defensa contra el tumor (Ellis & Beaman, 2004).

Además, se ha demostrado en modelos *in vivo* e *in vitro* de cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, que el tratamiento con el IFN- $\gamma$  regula positivamente la expresión de los genes del MHC-I para el procesamiento y presentación de los antígenos en el TME (del inglés, *Tumor microenvironment*), promoviendo el reconocimiento y la toxicidad de las células T, características de las que carece este tipo de cáncer (Korentzelos, Wells & Clark, 2022).

Por otra parte, las quimiocinas CXCL9, CXCL10 y CXCL11 contribuyen al reclutamiento de las células T efectoras en la zona del tejido amenazada. En este contexto, el IFN- $\gamma$  promueve el reclutamiento de los linfocitos T (Mauldin *et al.*, 2016). Además, la estimulación de los linfocitos T CD4<sup>+</sup> con el IFN- $\gamma$  los capacita para combatir a las células cancerosas y así evitar la angiogénesis en el tumor (Beatty & Paterson, 2001).

La diferenciación de los macrófagos por el IFN- $\gamma$  es otro mecanismo antitumoral efectivo en diferentes tipos de cáncer. En el TME, los TAM (del inglés, *Tumor-Associated Macrophages*), al recibir el estímulo del IFN- $\gamma$ , se transforman en TAM similares a M1, que secretan quimiocinas y proteínas para reclutar a las células T citotóxicas en contra de las células tumorales (Jorgovanovic *et al.*, 2020).

**Proliferación y muerte celular.** El IFN- $\gamma$  induce un efecto antiproliferativo a través de la STAT1, que se une a las secuencias GAS de la región promotora del gen codificante para p21, un inhibidor de las CDKs (del inglés, *Cyclin-dependent kinases*), reguladoras de la progresión del ciclo celular. De esta manera, la STAT1 es esencial en la regulación del ciclo y proliferación celular (Chin *et al.*, 1996).

Uno de los actores centrales de la respuesta a la muerte celular provocada por el IFN- $\gamma$  es el IRF1. En las células de cáncer de mama, se identificó un gran número de genes activados por este factor de transcripción, con los que se pudo determinar que la principal actividad antitumoral del IRF1 es la regulación de las vías de señalización de la muerte celular, lo que le permite inhibir el crecimiento celular en el cáncer (Rettino & Nicole, 2013). Además, destaca la aparición de la apoptosis a través de las caspasas como la caspasa 3, en respuesta a la intervención del IRF1, ya que reduce la expresión de Bcl2 (del inglés, *B cell lymphoma 1*) e incrementa la expresión de Bak (del inglés, *Bcl2 antagonist killer 1*), lo que conduce a la liberación del citocromo c de la mitocondria y al movimiento de la caspasa 3 y su sustrato PARP (del inglés, *Poly-ADP-ribose polymerase*) en una línea celular de leucemia (Zhou *et al.*, 2008). En células de NSCLC (del inglés, *Non-small cell lung cancer*), el tratamiento con altas dosis del IFN- $\gamma$  provoca que se active la caspasa 3 y la caspasa 7 (Song *et al.*, 2019). En el cáncer de próstata metastásico resistente a la castración, el tratamiento con el IFN- $\gamma$  redujo la expresión de la E-cadherina, lo que favoreció a la apoptosis a través de la caspasa 3 (Korentzelos *et al.*, 2022).

**Daño al DNA.** En el TME de diferentes tipos de tumor, se presenta una condición de estrés oxidativo por la producción de ROS mitocondriales e intracelulares, lo que da como resultado un mayor daño al DNA, así como inestabilidad genómica, favorece la malignidad, la invasión y la migración del tumor (Torrise *et al.*, 2022). Existen evidencias sobre el papel protector del IFN- $\gamma$  contra el daño al DNA inducido por ROS. En un estudio realizado con linfocitos obtenidos de pacientes con cáncer de pulmón, se observó que el suministro del IFN- $\gamma$  protegió contra el daño al DNA provocado por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e intervino en la maquinaria de reparación del DNA, como las PARP (Alhawamdeh *et al.*, 2021).

**Antimetastásico.** El IFN- $\gamma$  es una citocina muy importante en la actividad de los monocitos en el cáncer de pulmón, donde un tratamiento a corto plazo con esta citocina, al expandir a los monocitos, y a las células NK a través de IL-17, no se produjo la metástasis (Wang *et al.*, 2022). Además, se ha observado que la combinación del IFN- $\gamma$  con agentes quimioterapéuticos como el Paclitaxel, administrado a un modelo *in vivo* de cáncer de próstata metastásico, resistente a la castración, también impidió la aparición de la metástasis (Korentzelos *et al.*, 2022).

**Sensibilidad a las terapias.** La radioterapia es una estrategia para tratar el cáncer, y causar la apoptosis en las células cancerosas, lo que favorece la liberación de los antígenos tumorales y su procesamiento por parte de las APCs (del inglés, *Antigen Presenting Cells*), así como la estimulación de las células efectoras dentro de los ganglios linfáticos. Como resultado, estas células efectoras son capaces de infiltrarse en el tumor para ejercer su actividad citotóxica, contrarrestando así su crecimiento (Lugade *et al.*, 2005). La radioterapia además de inducir a la inflamación del tejido tratado en consecuencia se liberan las citocinas inflamatorias como el IFN- $\gamma$ . Al respecto, se ha reportado que el IFN- $\gamma$  incrementa los efectos antitumorales de la radioterapia en un modelo murino del adenocarcinoma. En este modelo, los linfocitos T CD8+ fueron los principales productores del IFN- $\gamma$  después de la radioterapia y como resultado, el IFN- $\gamma$  favoreció la actividad citolítica de los linfocitos T y la reducción del tumor (Gerber *et al.*, 2013).

#### **FUNCIONES PROTUMORALES DE LA VÍA DE SEÑALIZACIÓN DEL IFN- $\gamma$**

**Vías no canónicas activadas por el IFN- $\gamma$ .** Es importante mencionar que aunque la gran mayoría de los efectos celulares llevados a cabo por el IFN- $\gamma$  son a través de su vía canónica ya descrita y punto central de esta revisión, el IFN- $\gamma$  también puede activar vías de señalización no canónicas protagonizadas por STAT3, STAT5, NF- $\kappa$ B (del inglés, *Nuclear Factor  $\kappa$ B*), AP-1 (del inglés, *Activating Protein 1*), I-CAM (del inglés, *Intercellular Adhesion Molecule*), PI3K (del inglés, *Phosphoinositide 3-kinase*), MAPK (del inglés, *Mitogen Activated Protein Kinase*), Notch1 (del inglés, *Neurogenic locus notch homolog protein 1*) y ERK1/2 (del inglés, *Extracellular Regulated Kinases 1/2*). Las vías no canónicas del IFN- $\gamma$  son características del tipo celular y en el cáncer se asocian con la promoción y la supervivencia del tumor (Alspach *et al.*, 2019; Kursunel & Esendagli, 2016; Martin-Hijano & Sainz, 2020; Zaidi, 2019).

**Angiogénesis.** La angiogénesis es el conjunto de mecanismos moleculares que da lugar al surgimiento de nuevos vasos sanguíneos. En el cáncer este proceso es de gran importancia, ya que provee de nutrientes, oxígeno y circulación de los metabolitos, lo que da como resultado la progresión y la metástasis del tumor. Para que la angiogénesis se lleve a cabo, se requieren mecanismos de neovascularización como la vasculogénesis, la linfangiogénesis, la cooptación de vasos y el mimetismo vasculogénico (Balandeh *et al.*, 2021; Hernández-Romero, Guerra-Calderas, Salgado-Albarrán, Maldonado-Huerta & Soto-Reyes, 2019). El IFN- $\gamma$  forma parte del TME y es capaz de inducir a la expresión de la enzima IDO (del inglés, *Indoleamine 2,3-dioxygenase*). En un modelo murino de retinopatía y metástasis en el pulmón, se observó que el IFN- $\gamma$  interviene en la expresión de IDO, para promover la neovascularización y favorecer la metástasis en el pulmón (Mondal *et al.*, 2016).

**Escape inmune.** El IFN- $\gamma$ , a través de su vía de señalización canónica, favorece la evasión inmune del tumor al aumentar la expresión de las moléculas inhibitorias inmunes; ejemplo de ello, es la inducción de la expresión del PD-L1 por IRF1 en diferentes tipos de cáncer, que es de gran relevancia en la inmunidad tumoral, al ser parte del punto de control o *checkpoint* inmunitario PD-1/PD-L1. La unión de PD-L1 a su receptor PD-1 en las células T activadas, inhibe la inmunidad antitumoral al contrarrestar las señales de activación de las células T, protegiendo así a las células tumorales de la actividad citotóxica de estos linfocitos (Litak *et al.*, 2019; Lou, Jin, Dewei, Qureshi & Laijun, 2017; Shao *et al.*, 2019; Sun, Mezzadra & Schoumacher, 2018).

En los tumores sólidos, con frecuencia se incrementa la expresión de PD-L1, y es utilizado como uno de los mecanismos de escape inmune de más relevancia (Lei, Wang, Sun, Wang & Zhang, 2020; Mimura *et al.*, 2018). Un ejemplo de ello es en el caso de las células de cáncer gástrico que sobreexpresan a PD-L1 ante el tratamiento con el IFN- $\gamma$  de forma dependiente de la dosis (Imai *et al.*, 2020). Además, en el cáncer gástrico, se observó que el tratamiento con el IFN- $\gamma$  sobre las células cancerosas desreguló la actividad citotóxica de las células T; esta actividad fue recuperada con la aplicación de los anticuerpos anti-PD-L1, lo que indica que la sobreexpresión de PD-L1 inducida por el IFN- $\gamma$  es un factor determinante para la actividad antitumoral de los linfocitos T en el TME (Mimura *et al.*, 2018).

Otra molécula inhibitoria inmune que es inducida por acción del IFN- $\gamma$  es IDO, una enzima que forma parte de la vía de la quinurenina que cataliza el paso del catabolismo del triptófano para formar N-formil-quinurenina. Esta enzima se expresa en las células tumorales, los fibroblastos y las células inmunes infiltrantes en el TME. La enzima IDO contribuye a la formación de un TME inmunotolerante por la inducción de la apoptosis en las células T, detalle relacionado con un mal pronóstico en diferentes tipos de cáncer, como el cáncer colorrectal. En las células del glioblastoma se ha observado que el estímulo con el IFN- $\gamma$  favorece la superinducción de PD-L1 e IDO1, y un TME altamente inmunosupresor (Jung *et al.*, 2022). La arginasa es otra enzima que es importante en el escape inmune inducido por el IFN- $\gamma$ . Esta hidroliza la arginina en ornitina y urea y contribuye a las actividades inmunosupresoras de los macrófagos, células dendríticas y células MDSCs (del inglés, *Myeloid-Derived Suppressor Cells*) en el TME, ya que metaboliza nutrientes que son clave para la activación de las células T CD8<sup>+</sup> (Du, Frankel, Green & Zou, 2022).

**Viabilidad celular.** Como se mencionó previamente, en diferentes tipos de cáncer, se ha observado la alteración génica de los elementos de la vía JAK-STAT dependiente del IFN- $\gamma$  (Benci *et al.*, 2016). Bajo este escenario se da paso a la insensibilidad ante el IFN- $\gamma$  y a la evasión de señales antiproliferativas y proapoptóticas, entre otras. En los tumores

deficientes del receptor del IFN- $\gamma$  o de algún otro componente de su vía de señalización, se da la activación de las moléculas inhibitorias como SOCS1 y SHP2, entre otras, que da como resultado la insensibilidad al IFN- $\gamma$ . Además, en diferentes tipos de cáncer, por acción de esta citocina, se incrementa la expresión de las moléculas como CD38 y CD74 que contribuyen directamente a la supervivencia y a la proliferación de las células cancerosas (Kursunel & Esendagli, 2016). Además, IDO es capaz de inducir a la activación de la vía PI3K-AKT para promover la proliferación celular y resistencia a la apoptosis (Du *et al.*, 2022).

**Resistencia a las terapias.** La resistencia a la terapia con los inhibidores de *checkpoints* inmunitarios se acompaña frecuentemente de alteraciones en la vía JAK/STAT. De esta manera se han presentado líneas celulares cancerosas con pérdida de la función en JAK1 o JAK2 al carecer de los genes producidos por el IFN- $\gamma$ , aun después del estímulo con esta citocina (Alavi *et al.*, 2018; Angelicola *et al.*, 2021). Por lo tanto, la reducción de la sensibilidad al estímulo del IFN- $\gamma$  como consecuencia de las alteraciones génicas, resulta en la pérdida de la expresión de los genes relacionados con la señalización del IFN- $\gamma$  y con la amplificación de los genes de regulación negativa (Du *et al.*, 2022; Gao *et al.*, 2016).

A través del estudio de diferentes tumores, se observó que pacientes con resistencia a la inmunoterapia, presentan una pérdida de la función en el gen *APLNR* que codifica para el receptor de apolina. Esto condujo al descubrimiento de que la interacción de *APLNR* con JAK1 modula la respuesta al IFN- $\gamma$  en tumores y su pérdida de la función reduce la eficacia de las inmunoterapias como son la transferencia de las células o el bloqueo de *checkpoints* (Patel *et al.*, 2017).

**Metástasis e invasión.** Ante el desarrollo de un tumor, se crea un ambiente inmunosupresor que protege al tumor del ataque inmunitario y de esta manera se conduce al crecimiento y progresión del mismo, así como a la invasión y la metástasis, producto de una relación alterada entre el tumor y las células del estroma (Alshaker & Matalka, 2011). En un modelo de cáncer gástrico, se determinó que la sobreexpresión de PD-L1 inducida por el IFN- $\gamma$  se relaciona con un fenotipo de transición epitelio-mesénquima o EMT (del inglés, *Epithelial-Mesenchymal Transition*) (Mimura *et al.*, 2018). También se ha reportado que el IFN- $\gamma$  favorece la transformación a células troncales cancerosas o CSC (del inglés, *Cancer Stem Cells*), a través de la expresión del receptor CSC4 con potencial de invasión y migración (Chen *et al.*, 2011).

## DUALIDAD DE LA FUNCIÓN DEL IFN- $\gamma$ EN EL CÁNCER

Se han propuesto diversos factores que determinan el tipo de actividad pro o antitumorigénica que el IFN- $\gamma$  ejerce en los diferentes tipos de cáncer (Figura 5), a continuación, discutiremos algunos.

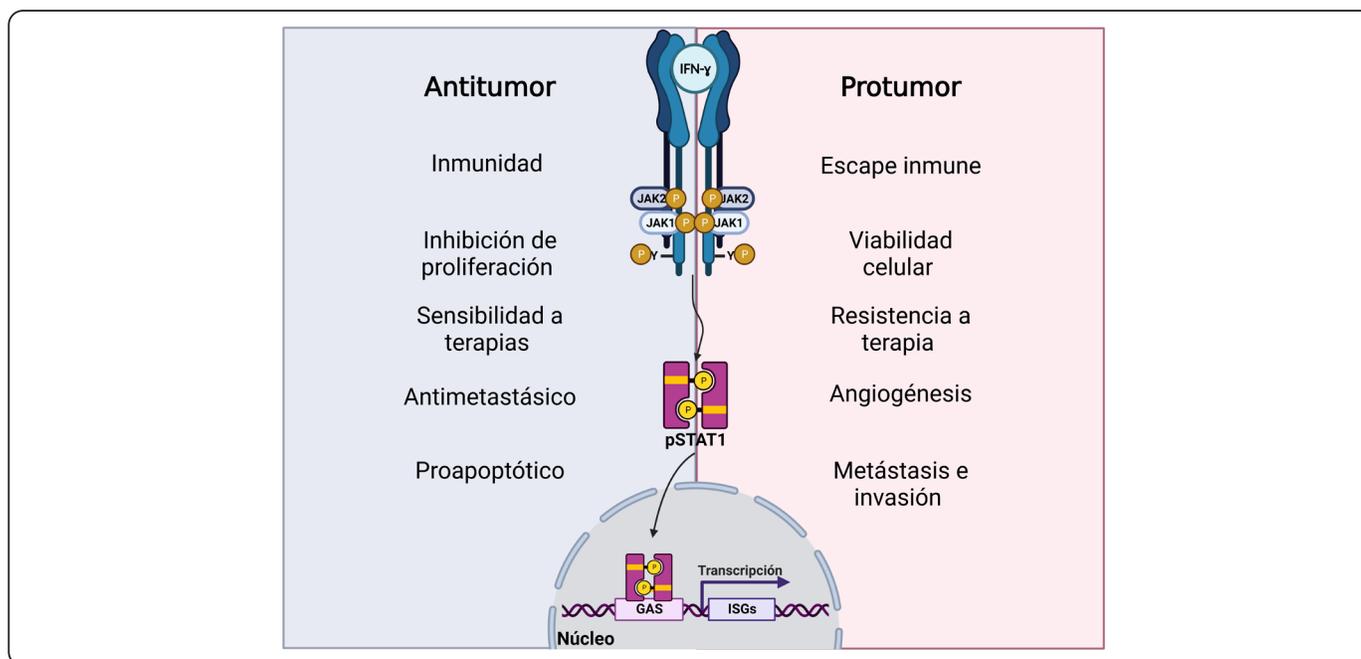


Figura 5. La vía canónica del IFN- $\gamma$  induce efectos protumorales y antitumorales en diferentes tipos de cáncer. Creado con BioRender.com.

**Genes estimulados por el IFN- $\gamma$ .** En algunas investigaciones se sostiene que la dualidad del papel del IFN- $\gamma$  en el cáncer se debe a la inducción de genes por la vía canónica o por la no canónica, en la que se activarán proteínas efectoras con blancos diferentes en cada caso (Tseng *et al.*, 2012). Por otra parte, un mismo gen que pertenece a la vía canónica del IFN- $\gamma$ , puede ejercer funciones duales en torno a sus niveles de expresión. STAT1 es un factor de transcripción importante, ya que regula la expresión de un amplio abanico de genes, incluyendo la IRF1. La sobreexpresión de la IRF1 se asocia con la inducción de señales apoptóticas en respuesta al IFN- $\gamma$ , pero, por el contrario, si se inhibe por acción del IRF2 que se une competitivamente a las secuencias ISRE de sus promotores blanco, el IFN- $\gamma$  activa señales proliferativas (Alhawamdeh *et al.*, 2021; Alsamman & El-Masry, 2018; Shao *et al.*, 2019).

**Dosis del ligando y tipo de cáncer.** Uno de los factores propuestos para la dualidad de la actividad del IFN- $\gamma$  es la concentración de esta citocina presente en el TME de diferentes tipos de cáncer (Jorgovanovic *et al.*, 2020). En NSCLC y en el cáncer de próstata, se ha reportado que concentraciones bajas del IFN- $\gamma$  favorecen la troncalidad de las células tumorales a través del eje ICAM1-PI3K-Akt-Notch1 y EMT (Lo *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2019). Por el contrario, dosis altas del IFN- $\gamma$  activan la vía JAK-STAT1-caspasa para que se efectúe la apoptosis en las células de NSCLC (Song *et al.*, 2019). Estos datos sugieren que la dosis del IFN- $\gamma$  podría determinar la activación de sus vías de señalización no canónicas o canónicas (Martin-Hijano & Sainz, 2020). Además, niveles endógenos bajos del IFN- $\gamma$  en el carcinoma esofágico de las células escamosas y en el carcinoma

hepatocelular se correlacionan de manera importante con un mal pronóstico, la metástasis en el cerebro, la quimiorresistencia y la expresión de los genes relacionados con la troncalidad y el EMT (Martin-Hijano & Sainz, 2020).

Por otra parte, en las células del glioblastoma, altas dosis del IFN- $\gamma$  (100 ng/ml) favorecen la superinducción de las moléculas inmunosupresoras como PD-L1 e IDO1 (Jung *et al.*, 2022). Por lo tanto, la dosis podría influir sobre las acciones pro o antitumorales del IFN- $\gamma$ , pero éstas al parecer dependen del contexto celular.

**Persistencia del estímulo del IFN- $\gamma$ .** En un modelo murino de melanoma, se reporta que la estimulación prolongada de (3 semanas) con el IFN- $\gamma$ , induce la sobreexpresión de PD-L1 y una resistencia a la terapia con bloqueadores de *checkpoints* inmunitarios. La estimulación prolongada con el IFN- $\gamma$  conduce a la presencia de los ISGs relacionados con la tumorigénesis (Benci *et al.*, 2016). Por otra parte, en un modelo murino de cáncer de pulmón metastásico, el tratamiento a corto plazo (2 días) con el IFN- $\gamma$  impulsa a la diferenciación de los monocitos a un fenotipo antimetastásico (Wang *et al.*, 2022). Estos datos sugieren que la exposición crónica al IFN- $\gamma$  en el TME podría promover el desarrollo del tumor.

### LA VÍA DEL IFN- $\gamma$ EN LA DETECCIÓN Y EN LOS TRATAMIENTOS CONTRA EL CÁNCER

Como se revisó anteriormente, el IFN- $\gamma$  es una potente citocina capaz de inducir respuestas tanto antitumorogénicas como protumorogénicas a través de los participantes de su vía de

señalización canónica. Lo anterior ha motivado el estudio de la vía de señalización del IFN- $\gamma$  por su potencial en la identificación de blancos terapéuticos y/o biomarcadores para distintos tipos de cáncer.

**Biomarcadores.** El IFN- $\gamma$  induce a la sobreexpresión del PD-L1 en células tumorales, promueve la evasión inmune por parte del tumor. Por lo anterior, se propuso la medición de los niveles del mRNA del IFN- $\gamma$  como un predictor de la respuesta y supervivencia, bajo tratamientos de bloqueo de *checkpoints* inmunitarios (Karachaliou *et al.*, 2018).

Los niveles de PD-L1 se incrementan en diferentes tumores malignos, por lo que es considerado como un potencial biomarcador (Lei *et al.*, 2020). Altos niveles de PD-L1 se asocian con un mal pronóstico y con una supervivencia más corta en los pacientes con diferentes tipos de cáncer (Hao *et al.*, 2020). Sin embargo, el aumento de la expresión de PD-L1 en el TME sugiere una buena respuesta a los tratamientos de bloqueo de *checkpoints* inmunitarios. Por lo tanto, la detección de altos niveles de PD-L1 puede ser una herramienta para la toma de decisiones en el suministro de fármacos de bloqueo del *checkpoint* inmunitario en el tratamiento contra el cáncer (Karachaliou *et al.*, 2018).

**Blancos terapéuticos.** El uso del IFN- $\gamma$  como agente terapéutico ha sido considerado como una estrategia terapéutica. Por ejemplo, la instilación del IFN- $\gamma$  en vesículas ha sido útil contra el cáncer recurrente, ya que logró incrementar los niveles de las células T, NK y linfocitos B en el carcinoma de vejiga. Además, en el cáncer de ovario se ha utilizado al IFN- $\gamma$  como terapia complementaria a la quimioterapia, lo que ha resultado ser sinérgico en la inhibición de la proliferación celular e impulsor de la apoptosis *in vitro*. También se ha recurrido a la liberación *in situ* del IFN- $\gamma$  con la ayuda de los plásmidos, los vectores y los liposomas, de los cuales, el liposoma ha presentado una excelente actividad dirigiéndose a las células dendríticas, elimina el tumor y favorece la supervivencia del modelo murino. Sin embargo, los intentos para su aplicación en el TME han fracasado por el desarrollo de un fenotipo de resistencia (Gocher, Workman & Vignali, 2022).

Los *checkpoints* inmunitarios como CTLA-4 (del inglés, *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*) y PD-L1, regulan la actividad de las células T y evitan respuestas autoinmunes bajo condiciones normales, pero como se ha comentado previamente, en el cáncer es una importante estrategia utilizada para evadir al sistema inmune (Chen *et al.*, 2019). Por esta razón, se han desarrollado anticuerpos monoclonales anti PD-L1 y anti CTLA-4, como terapia coadyuvante en pacientes quimioresistentes y en etapas avanzadas del cáncer (Chen, Liu, Qiu & Chen, 2019). Sin embargo, este tipo de inmunoterapia dirigida hacia los *checkpoints* inmunitarios ha presentado resultados variables en algunos tipos de cáncer y más investigaciones se están llevando

a cabo (Jorgovanovic *et al.*, 2020; Kursunel & Esendagli, 2016; Pearson *et al.*, 2020).

Por otro lado, como IDO favorece la angiogénesis en respuesta al IFN- $\gamma$ , es un blanco prometedor para el uso y aplicación de fármacos inhibitorios de IDO (Mondal *et al.*, 2016).

## CONCLUSIONES

El IFN- $\gamma$  es una citocina proinflamatoria que origina respuestas celulares en los macrófagos, los linfocitos T y las células cancerosas, a través de su vía canónica de señalización JAK-STAT. Esta vía está compuesta por diversos factores que requieren de un estricto control para su correcto funcionamiento.

Por la vía del IFN- $\gamma$  se modula la expresión de una firma de genes característica de cada tipo celular y de cada estado patológico, como el cáncer. Dentro de esta firma existe una dualidad en las acciones del IFN- $\gamma$ , al inducir genes con actividad antitumorigénica o protumorigénica. Los mayores acercamientos al origen de esta dicotomía se le adjudican a las dosis suministradas de IFN- $\gamma$ , a la persistencia del estímulo, a la vía por la que se activa su firma de genes (canónica o no canónica) o bien a la actividad de los genes que estén siendo activados.

Aún existe un amplio abanico de oportunidades para la investigación de los mecanismos moleculares de acción y regulación de la vía del IFN- $\gamma$ , así como para estudiar su influencia sobre las células cancerosas, con el fin de establecer nuevos biomarcadores y blancos terapéuticos contra distintos tipos de cáncer.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es apoyado por los Proyectos de investigación del Colegio de Ciencia y Tecnología, de la Universidad Autónoma de la Ciudad de México (UACM), con folio CCYT-2022-08. Sayra Ximena Zamora Salas es apoyada con una beca del CONACYT para sus estudios de Maestría en el Posgrado de Ciencias Genómicas de la UACM.

## REFERENCIAS

- Abou El Hassan, M., Huang, K., Eswara, M. B. K., Xu, Z., Yu, T., Aubry, A., Ni, Z., Livne-bar, I., Sangwan, M., Ahmad, M. & Bremner, R. (2017). Properties of STAT1 and IRF1 enhancers and the influence of SNPs. *BMC Molecular Biology*, **18(1)**, 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12867-017-0084-1>
- Alavi, S., Stewart, A. J., Kefford, R. F., Lim, S. Y., Shklovskaya, E. & Rizos, H. (2018). Interferon signaling is frequently downregulated in melanoma. *Frontiers in Immunology*, **9(1414)**. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01414>
- Alhawamdeh, M., Isreb, M., Aziz, A., Jacob, B. K., Anderson, D. & Najafzadeh, M. (2021). Interferon- $\gamma$  liposome: A new

- system to improve drug delivery in the treatment of lung cancer. *ERJ Open Research*, **7(2000555)**. <https://doi.org/10.1183/23120541.00555-2020>
- Alsamman, K. & El-Masry, O. S. (2018). Interferon regulatory factor 1 inactivation in human cancer. *Bioscience Reports*, **38(3)**, 1–14. <https://doi.org/10.1042/BSR20171672>
- Alshaker, H. A. & Matalka, K. Z. (2011). IFN- $\gamma$ , IL-17 and TGF- $\beta$  involvement in shaping the tumor microenvironment: The significance of modulating such cytokines in treating malignant solid tumors. *Cancer Cell International*, **11(1)**, 33. <https://doi.org/10.1186/1475-2867-11-33>
- Alsapach, E., Lussier, D. M. & Schreiber, R. D. (2019). Interferon  $\gamma$  and Its Important Roles in Promoting and Inhibiting Spontaneous and Therapeutic Cancer Immunity. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **11(3)**, a028480.
- Angelicola, S., Ruzzi, F., Landuzzi, L., Scalambra, L., Gelsomino, F., Ardizzoni, A., Nanni, P., Lollini, P. L. & Palladini, A. (2021). IFN- $\gamma$  and CD38 in hyperprogressive cancer development. *Cancers*, **13(2)**, 1–25. <https://doi.org/10.3390/cancers13020309>
- Bach, E. A., Aguet, M. & Schreiber, R. D. (1997). The IFN $\gamma$  receptor: A paradigm for cytokine receptor signaling. *Annual Review of Immunology*, **15**, 563–591. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.563>
- Bach, E. A., Tanner, J. W., Marsters, S., Ashkenazi, A., Aguet, M., Shaw, A. S. & Schreiber, R. D. (1996). Ligand-induced assembly and activation of the gamma interferon receptor in intact cells. *Molecular and Cellular Biology*, **16(6)**, 3214–3221. <https://doi.org/10.1128/mcb.16.6.3214>
- Balandeh, E., Mohammadshafie, K., Mahmoudi, Y., Hossein Pourhanifeh, M., Rajabi, A., Bahabadi, Z. R., Mohammadi, A. H., Rahimian, N., Hamblin, M. R. & Mirzaei, H. (2021). Roles of non-coding RNAs and angiogenesis in glioblastoma. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **9(716462)**, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.716462>
- Beatty, G. L. & Paterson, Y. (2001). IFN- $\gamma$ -dependent inhibition of tumor angiogenesis by tumor-infiltrating CD4 + T cells requires tumor responsiveness to IFN- $\gamma$ . *The Journal of Immunology*, **166(4)**, 2276–2282. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.166.4.2276>
- Benci, J. L., Xu, B., Qiu, Y., Wu, T. J., Dada, H., Twyman-Saint Victor, C., Cucolo, L., Lee, D. S. M., Pauken, K. E., Huang, A. C., Gangadhar, T. C., Amaravadi, R. K., Schuchter, L. M., Feldman, M. D., Ishwaran, H., Vonderheide, R. H., Maity, A., Wherry, E. J. & Minn, A. J. (2016). Tumor Interferon Signaling Regulates a Multigenic Resistance Program to Immune Checkpoint Blockade. *Cell*, **167(6)**, 1540-1554. [e12. https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.022](https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.022)
- Burke, J. D. & Young, H. A. (2019). IFN- $\gamma$ : A cytokine at the right time, is in the right place. *Seminars in Immunology*, **43(12)**, 101280. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2019.05.002>
- Chen, H. C., Chou, A. S. Bin, Liu, Y. C., Hsieh, C. H., Kang, C. C., Pang, S. T., Yeh, C. T., Liu, H. P. & Liao, S. K. (2011). Induction of metastatic cancer stem cells from the NK/LAK-resistant floating, but not adherent, subset of the UP-LN1 carcinoma cell line by IFN- $\gamma$ . *Laboratory Investigation*, **91(10)**, 1502–1513. <https://doi.org/10.1038/labinvest.2011.91>
- Chen, R. Q., Liu, F., Qiu, X. Y. & Chen, X. Q. (2019). The prognostic and therapeutic value of PD-L1 in glioma. *Frontiers in Pharmacology*, **9(1503)**. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01503>
- Chen, Z., Zhang, Y., Guan, Q., Zhang, H., Luo, J., Li, J., Wei, W., Xu, X., Liao, L., Wong, J. & Li, J. (2021). Linking nuclear matrix-localized PIAS1 to chromatin SUMOylation via direct binding of histones H3 and H2A.Z. *Journal of Biological Chemistry*, **279(4)**, 101200. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.101200>
- Chin, Y. E., Kitagawa, M., Su, W.-C. S., You, Z.-H., Iwamoto, Y. & Fu, X.-Y. (1996). Cell growth arrest and induction of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 WAF1/CIP1 Mediated by STAT1. *Science*, **272(5262)**, 719–722. <https://doi.org/10.1126/science.272.5262.719>
- Cho, H. & Kelsall, B. L. (2014). The role of type I interferons in intestinal infection, homeostasis and inflammation. *Immunol Rev.*, **260(1)**, 145–167.
- Christie, S. M., Ham, T. R., Gilmore, G. T., Toth, P. D., Leipzig, N. D., Leipzig, N. D. & Smith, A. W. (2020). Covalently immobilizing interferon- $\gamma$  drives filopodia production through specific receptor-ligand interactions independently of canonical downstream signaling. *Bioconjugate Chemistry*, **31(5)**, 1362–1369. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.0c00105>
- Darnell, J. E., Kerr, I. M. & Stark, G. R. (1994). Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to ifns and other extracellular signaling proteins. *Advancement Of Science*, **264(5164)**, 1415–1421.
- Debrincat, M. A., Zhang, J. G., Willson, T. A., Silke, J., Connolly, L. M., Simpson, R. J., Alexander, W. S., Nicola, N. A., Kile, B. T. & Hilton, D. J. (2007). Ankyrin repeat and suppressors of cytokine signaling box protein Asb-9 targets creatine kinase B for degradation. *Journal of Biological Chemistry*, **282(7)**, 4728–4737. <https://doi.org/10.1074/jbc.M609164200>
- Du, W., Frankel, T. L., Green, M. & Zou, W. (2022). IFN $\gamma$  signaling integrity in colorectal cancer immunity and immunotherapy. *Cellular and Molecular Immunology*, **19(1)**, 23–32. <https://doi.org/10.1038/s41423-021-00735-3>
- Ellis, T. N. & Beaman, B. L. (2004). Interferon-gamma activation of polymorphonuclear neutrophil function. *Immunology*, **112(1)**, 2–12. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01849.x>
- Eslam, M. & George, J. (2016). Targeting IFN- $\lambda$ : therapeutic implications. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, **20(12)**, 1425–1432. <https://doi.org/10.1080/14728222.2016.1241242>
- Gao, J., Shi, L. Z., Zhao, H., Chen, J., Xiong, L., He, Q.,

- Chen, T., Roszik, J., Bernatchez, C., Woodman, S. E., Chen, P. L., Hwu, P., Allison, J. P., Futreal, A., Wargo, J. A. & Sharma, P. (2016). Loss of IFN- $\gamma$  pathway genes in tumor cells as a mechanism of resistance to anti-CTLA-4 therapy. *Cell*, **167**(2), 397-404.e9. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.08.069>
- Gerber, S. A., Sedlacek, A. L., Cron, K. R., Murphy, S. P., Frelinger, J. G. & Lord, E. M. (2013). IFN- $\gamma$  mediates the antitumor effects of radiation therapy in a murine colon tumor. *American Journal of Pathology*, **182**(6), 2345–2354. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.02.041>
- Gocher, A. M., Workman, C. J. & Vignali, D. A. A. (2022). Interferon- $\gamma$ : teammate or opponent in the tumour microenvironment? *Nature Reviews Immunology*, **22**(3), 158–172. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00566-3>
- Haan, C., Is'Harc, H., Hermanns, H. M., Schmitz-Van de Leur, H., Kerr, I. M., Heinrich, P. C., Grötzinger, J. & Behrmann, I. (2001). Mapping of a Region within the N Terminus of Jak1 Involved in Cytokine Receptor Interaction. *Journal of Biological Chemistry*, **276**(40), 37451–37458. <https://doi.org/10.1074/jbc.M106135200>
- Hao, C., Chen, G., Zhao, H., Li, Y., Chen, J., Zhang, H., Li, S., Zhao, Y., Chen, F., Li, W. & Jiang, W. G. (2020). PD-L1 expression in glioblastoma, the clinical and prognostic significance: A systematic literature review and meta-analysis. *Frontiers in Oncology*, **10**(June), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.01015>
- Hernández-Romero, I. A., Guerra-Calderas, L., Salgado-Albarrán, M., Maldonado-Huerta, T. & Soto-Reyes, E. (2019). The regulatory roles of non-coding rnas in angiogenesis and neovascularization from an epigenetic perspective. *Frontiers in Oncology*, **9**(Oct), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.01091>
- Imai, Y., Chiba, T., Kondo, T., Kanzaki, H., Kanayama, K., Ao, J., Kojima, R., Kusakabe, Y., Nakamura, M., Saito, T., Nakagawa, R., Suzuki, E., Nakamoto, S., Muroyama, R., Tawada, A., Matsumura, T., Nakagawa, T., Kato, J., Kotani, A., Matsubara, H. & Kato, N. (2020). Interferon- $\gamma$  induced PD-L1 expression and soluble PD-L1 production in gastric cancer. *Oncology Letters*, **20**(3), 2161–2168. <https://doi.org/10.3892/ol.2020.11757>
- Isaacs, A. & Lindenmann, J. (1957). Virus interference. I. The interferon. *J. Proc. R. Soc. Lond.*, **12**; **147**(927), 258-267.
- Jiang, X., Wang, J., Deng, X., Xiong, F., Ge, J., Xiang, B., Wu, X., Ma, J., Zhou, M., Li, X., Li, Y., Li, G., Xiong, W., Guo, C. & Zeng, Z. (2019). Role of the tumor microenvironment in PD-L1/PD-1-mediated tumor immune escape. *Molecular Cancer*, **18**(1), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0928-4>
- Jorgovanovic, D., Song, M., Wang, L. & Zhang, Y. (2020). Roles of IFN- $\gamma$  in tumor progression and regression: a review. *Biomarker Research*, **8**(1), 49.
- Jung, M.-Y., Aibaidula, A., Brown, D. A., Himes, B. T., Cumba Garcia, L. M. & Parney, I. F. (2022). Superinduction of immunosuppressive glioblastoma extracellular vesicles by IFN- $\gamma$  through PD-L1 and IDO1. *Neuro-Oncology Advances*, 1–10. <https://doi.org/10.1093/oaajnl/vdac017>
- Karachaliou, N., Gonzalez-Cao, M., Crespo, G., Drozdowskyj, A., Aldeguer, E., Gimenez-Capitan, A., Teixido, C., Molina-Vila, M. A., Viteri, S., Gil, M. D. L. L., Algarra, S. M., Perez-Ruiz, E., Marquez-Rodas, I., Rodriguez-Abreu, D., Blanco, R., Puertolas, T., Royo, M. A. & Rosell, R. (2018). Interferon gamma, an important marker of response to immune checkpoint blockade in non-small cell lung cancer and melanoma patients. *Therapeutic Advances in Medical Oncology*, **10**. <https://doi.org/10.1177/1758834017749748>
- Kim, Y. M. & Shin, E. C. (2021). Type I and III interferon responses in SARS-CoV-2 infection. *Experimental and Molecular Medicine*, **53**(5), 750–760.
- Kolli, S., Zito, C. I., Mossink, M. H., Wiemer, E. A. C. & Bennett, A. M. (2004). The major vault protein is a novel substrate for the tyrosine phosphatase SHP-2 and scaffold protein in epidermal growth factor signaling. *Journal of Biological Chemistry*, **279**(28), 29374–29385. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313955200>
- Korentzelos, D., Wells, A. & Clark, A. M. (2022). Interferon- $\gamma$  increases sensitivity to chemotherapy and provides immunotherapy targets in models of metastatic castration-resistant prostate cancer. *Scientific Reports*, **12**(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-10724-9>
- Krause, C. D., Lavnikova, N., Xie, J., Mei, E., Mirochnitchenko, O. V., Jia, Y., Hochstrasser, R. M. & Pestka, S. (2006). Preassembly and ligand-induced restructuring of the chains of the IFN- $\gamma$  receptor complex: The roles of Jak kinases, Stat1 and the receptor chains. *Cell Research*, **16**(1), 55–69. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7310008>
- Krause, C. D., Mei, E., Xie, J., Jia, Y., Bopp, M. A., Hochstrasser, R. M. & Pestka, S. (2002). Seeing the light: preassembly and ligand-induced changes of the interferon gamma receptor complex in cells. *Molecular & Cellular Proteomics: MCP*, **1**(10), 805–815. <https://doi.org/10.1074/mcp.M200065-MCP200>
- Kursunel, M. A. & Esendagli, G. (2016). The untold story of IFN- $\gamma$  in cancer biology. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, **31**, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.07.005>
- Lazear, H. M., Schoggins, J. W. & Diamond, M. S. (2019). Shared and Distinct Functions of Type I and Type III Interferons. *Immunity*, **50**(4), 907–923.
- Lei, Q., Wang, D., Sun, K., Wang, L. & Zhang, Y. (2020). Resistance Mechanisms of Anti-PD1/PDL1 Therapy in Solid Tumors. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, **8**(July). <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00672>
- Liao, J., Fu, Y. & Shuai, K. (2000). Distinct roles of the NH2- and COOH-terminal domains of the protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription (STAT) 1 (PIAS1) in cytokine-induced PIAS1-Stat1 interaction. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the*

- United States of America*, **97(10)**, 5267–5272. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.10.5267>
- Liau, N. P. D., Laktyushin, A., Lucet, I. S., Murphy, J. M., Yao, S., Whitlock, E., Callaghan, K., Nicola, N. A., Kershaw, N. J. & Babon, J. J. (2018). The molecular basis of JAK/STAT inhibition by SOCS1. *Nature Communications*, **9(1)**, 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04013-1>
- Litak, J., Mazurek, M., Grochowski, C., Kamieniak, P. & Roliński, J. (2019). PD-L1/PD-1 Axis in Glioblastoma Multiforme. *International Journal of Molecular Sciences*, **20(21)**, 5347. <https://doi.org/10.3390/ijms20215347>
- Lo, U. G., Pong, R. C., Yang, D., Gandee, L., Dang, A., Lin, C. J., Santoyo, J., Hong, S., Sonavane, R., Huang, J., Tseng, S. F., Moro, L., Arbini, A. A., Kapur, P., Raj, G., He, D., Lai, C., Lin, H. & Hsieh, J. T. (2018). IFN- $\gamma$  induces epithelial-to-mesenchymal transition of cancer cells via a unique microRNA processing. *BioRxiv*, 1–60.
- Lou, Y., Shi, J., Guo, D., Qureshi, A. K. & Song, L. (2017). Function of PD-L1 in antitumor immunity of glioma cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, **24(4)**, 803–807. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.06.025>
- Lugade, A. A., Moran, J. P., Gerber, S. A., Rose, R. C., Frelinger, J. G. & Lord, E. M. (2005). Local Radiation Therapy of B16 Melanoma Tumors Increases the Generation of Tumor Antigen-Specific Effector Cells That Traffic to the Tumor. *The Journal of Immunology*, **174(12)**, 7516–7523. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.174.12.7516>
- Mao, X., Ren, Z., Parker, G. N., Sonderrmann, H., Pastorello, M. A., Wang, W., McMurray, J. S., Demeler, B., Darnell, J. E. & Chen, X. (2005). Structural bases of unphosphorylated STAT1 association and receptor binding. *Molecular Cell*, **17(6)**, 761–771. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.02.021>
- Marsters, S. A., Pennica, D., Bach, E., Schreiber, R. D. & Ashkenazi, A. (1995). Interferon  $\gamma$  signals via a high-affinity multisubunit receptor complex that contains two types of polypeptide chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **92(12)**, 5401–5405. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.12.5401>
- Martin-Hijano, L. & Sainz, B. (2020). The Interactions Between Cancer Stem Cells and the Innate Interferon Signaling Pathway. *Frontiers in Immunology*, **11(March)**, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00526>
- Mauldin, I. S., Wages, N. A., Stowman, A. M., Wang, E., Smolkin, M. E., Olson, W. C., Deacon, D. H., Smith, K. T., Galeassi, N. V., Chianese-Bullock, K. A., Dengel, L. T., Marincola, F. M., Petroni, G. R., Mullins, D. W. & Slingluff, C. L. (2016). Intratumoral interferon-gamma increases chemokine production but fails to increase T cell infiltration of human melanoma metastases. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, **65(10)**, 1189–1199. <https://doi.org/10.1007/s00262-016-1881-y>
- Mimura, K., Teh, J. L., Okayama, H., Shiraishi, K., Kua, L. F., Koh, V., Smoot, D. T., Ashktorab, H., Oike, T., Suzuki, Y., Fazreen, Z., Asuncion, B. R., Shabbir, A., Yong, W. P., So, J., Soong, R. & Kono, K. (2018). PD-L1 expression is mainly regulated by interferon gamma associated with JAK-STAT pathway in gastric cancer. *Cancer Science*, **109(1)**, 43–53. <https://doi.org/10.1111/cas.13424>
- Mondal, A., Smith, C., DuHadaway, J. B., Sutanto-Ward, E., Prendergast, G. C., Bravo-Nuevo, A. & Muller, A. J. (2016). IDO1 is an Integral Mediator of Inflammatory Neovascularization. *EBioMedicine*, **14**, 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.11.013>
- Okada, S., Ishikawa, N., Shirao, K., Kawaguchi, H., Tsumura, M., Ohno, Y., Yasunaga, S., Ohtsubo, M., Takihara, Y. & Kobayashi, M. (2007). The novel IFNGR1 mutation 774del4 produces a truncated form of interferon- $\gamma$  receptor 1 and has a dominant-negative effect on interferon- $\gamma$  signal transduction. *Journal of Medical Genetics*, **44(8)**, 485–491. <https://doi.org/10.1136/jmg.2007.049635>
- Owen, K. L., Brockwell, N. K. & Parker, B. S. (2019). JAK-STAT Signaling: A Double-Edged Sword of Immune Regulation and Cancer Progression. *Cancers*, **11(12)**, 2002. <https://doi.org/10.3390/cancers11122002>
- Patel, S. J., Sanjana, N. E., Kishton, R. J., Eidizadeh, A., Vodnala, S. K., Cam, M., Gartner, J. J., Jia, L., Steinberg, S. M., Yamamoto, T. N., Merchant, A. S., Mehta, G. U., Chichura, A., Shalem, O., Tran, E., Eil, R., Sukumar, M., Guijarro, E. P., Day, C. P., ... Restifo, N. P. (2017). Identification of essential genes for cancer immunotherapy. *Nature*, **548(7669)**, 537–542. <https://doi.org/10.1038/nature23477>
- Pearson, J. R. D., Cuzzubbo, S., McArthur, S., Durrant, L. G., Adhikaree, J., Tinsley, C. J., Pockley, A. G. & McArdle, S. E. B. (2020). Immune Escape in Glioblastoma Multiforme and the Adaptation of Immunotherapies for Treatment. *Frontiers in Immunology*, **11(October)**. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.582106>
- Rettino, A. & Nicole, M. C. (2013). Genome-wide Identification of IRF1 Binding Sites Reveals Extensive Occupancy at Cell Death Associated Genes. *Journal of Carcinogenesis & Mutagenesis*, **44(0)**. <https://doi.org/10.4172/2157-2518.S6-009>
- Schindler, C., Levy, D. E. & Decker, T. (2007). JAK-STAT signaling: From interferons to cytokines. *Journal of Biological Chemistry*, **282(28)**, 20059–20063. <https://doi.org/10.1074/jbc.R700016200>
- Schroder, K., Hertzog, P. J., Ravasi, T. & Hume, D. A. (2004). Interferon- $\gamma$ : an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*, **75(2)**, 163–189. <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>
- Shao, L., Hou, W., Scharping, N. E., Vendetti, F. P., Srivastava, R., Roy, C. N., Menk, A. V., Wang, Y., Chauvin, J., Karukonda, P., Thorne, S. H., Hornung, V., Zarour, H. M., Bakkenist, C. J., Delgoffe, G. M. & Sarkar, S. N. (2019). IRF1 Inhibits Antitumor Immunity through the Upregulation of PD-L1 in the Tumor Cell. *Cancer Immunology Research*, **7(8)**, 1258–1266. <https://doi.org/10.1158/2156-8474.CCR19-0000>

- org/10.1158/2326-6066.CIR-18-0711
- Song, M., Ping, Y., Zhang, K., Yang, L., Li, F., Zhang, C., Cheng, S., Yue, D., Maimela, N. R., Qu, J., Liu, S., Sun, T., Li, Z., Xia, J., Zhang, B., Wang, L. & Zhang, Y. (2019). Low-dose IFN $\gamma$  induces tumor cell stemness in tumor microenvironment of non-small cell lung cancer. *Cancer Research*, **79**(14), 3737–3748. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-19-0596>
- Sun, C., Mezzadra, R. & Schumacher, T. N. (2018). Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint. *Immunity*, **48**(3), 434–452. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.03.014>. Regulation
- Torrìsi, F., Alberghina, C., D'Aprile, S., Pavone, A. M., Longhitano, L., Giallongo, S., Tibullo, D., Di Rosa, M., Zappalà, A., Cammarata, F. P., Russo, G., Ippolito, M., Cuttone, G., Li Volti, G., Vicario, N. & Parenti, R. (2022). The Hallmarks of Glioblastoma: Heterogeneity, Intercellular Crosstalk and Molecular Signature of Invasiveness and Progression. *Biomedicines*, **10**(4), 806. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10040806>
- Tseng, P. C., Huang, W. C., Chen, C. L., Sheu, B. S., Shan, Y. S., Tsai, C. C., Wang, C. Y., Chen, S. O., Hsieh, C. Y. & Lin, C. F. (2012). Regulation of SHP2 by PTEN/AKT/GSK-3 $\beta$  signaling facilitates IFN- $\gamma$  resistance in hyperproliferating gastric cancer. *Immunobiology*, **217**(9), 926–934. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2012.01.001>
- Uniprot. (1989). *IRF1 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/P10914>
- Uniprot. (1991). *JAK1 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/P23458>
- Uniprot. (1994a). *IFNGR2 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/P38484>
- Uniprot. (1994b). *PTN11 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/Q06124>
- Uniprot. (1995). *STAT1 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/P42224>
- Uniprot. (1998). *JAK2 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/O60674>
- Uniprot. (2002a). *PIAS1 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/O75925>
- Uniprot. (2002b). *SOC31 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/O15524>
- Uniprot. (2005). *PD1L1 - Human*. UniProtKB/Swiss-Prot. <https://www.uniprot.org/uniprot/Q9NZQ7>
- van de Vosse, E. & van Dissel, J. T. (2017). IFN- $\gamma$ R1 defects: Mutation update and description of the IFNGR1 variation database. *Human Mutation*, **38**(10), 1286–1296. <https://doi.org/10.1002/humu.23302>
- Wang, R., Bao, W., Pal, M., Liu, Y., Yazdanbakhsh, K. & Zhong, H. (2022). Intermediate monocytes induced by IFN- $\gamma$  inhibit cancer metastasis by promoting NK cell activation through FOXO1 and interleukin-27. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, **10**(1), 1–12. <https://doi.org/10.1136/jitc-2021-003539>
- Wen, Z., Zhong, Z. & Darnell, J. E. (1995). Maximal activation of transcription by stat1 and stat3 requires both tyrosine and serine phosphorylation. *Cell*, **82**(2), 241–250. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90311-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90311-9)
- Wilks, A. F., Harpur, A. G., Kurban, R. R., Ralph, S. J., Zürcher, G. & Ziemiecki, A. (1991). Two novel protein-tyrosine kinases, each with a second phosphotransferase-related catalytic domain, define a new class of protein kinase. *Molecular and Cellular Biology*, **11**(4), 2057–2065. <https://doi.org/10.1128/mcb.11.4.2057>
- Xu, D. & Qu, C.-K. (2008). Protein tyrosine phosphatases in the JAK/STAT pathway. *Frontiers in Bioscience*, Volume **(13)**, 4925. <https://doi.org/10.2741/3051>
- Yamashita, T., Uchida, T., Araki, A. & Sendo, F. (1997). Nitric oxide is an effector molecule in inhibition of tumor cell growth by rIFN- $\gamma$ -activated rat neutrophils. *International Journal of Cancer*, **71**(2), 223–230. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(19970410\)71:2<223::AID-IJC17>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(19970410)71:2<223::AID-IJC17>3.0.CO;2-I)
- Yan, K., Lu, Y., Yan, Z. & Wang, Y. (2021). 9-Gene Signature Correlated With CD8+ T Cell Infiltration Activated by IFN- $\gamma$ : A Biomarker of Immune Checkpoint Therapy Response in Melanoma. *Frontiers in Immunology*, **12**(622563), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.622563>
- Zaidi, M. R. (2019). The Interferon-Gamma Paradox in Cancer. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, **39**(1), 30–38. <https://doi.org/10.1089/jir.2018.0087>
- Zhou, Y., Weyman, C. M., Liu, H., Almassan, A. & Zhou, A. (2008). IFN- $\gamma$  induces apoptosis in HL-60 cells through decreased Bcl-2 and increased Bak expression. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, **28**(2), 65–72. <https://doi.org/10.1089/jir.2007.0025>