

СВЯЗЬ ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ИММУНИТЕТА С ВОЗРАСТОМ И ЭКСПРЕССИЕЙ ГОРМОНАЛЬНЫХ РЕЦЕПТОРОВ У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНО ОПЕРАБЕЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т.Н. Заботина¹, А.И. Черткова¹, О.В. Короткова¹, А.А. Борунова¹, Е.Н. Захарова¹, Д.В. Табаков¹, Е.Г. Славина¹, Ш.Г. Хакимова², И.К. Воротников¹, З.Г. Кадагидзе¹

¹ ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России,

² ФГБУ МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, Москва, Россия

Цель исследования. Определить взаимосвязь содержания клеток основных эффекторных и регуляторных популяций лимфоцитов ПК врожденного и адаптивного иммунитета с возрастом и уровнем экспрессии РЭ и РП у больных ПО РМЖ.

Материалы и методы. Проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови пациенток с первично операбельным РМЖ (ПО РМЖ) на пятипараметровом проточном цитофлуориметре.

Результаты. У больных ПО РМЖ до лечения обнаружены отклонения субпопуляционного состава лимфоцитов ПК от контроля. Количество клеток адаптивного и врожденного иммунитета было различным у больных младше 40 лет и больных в возрасте 40 лет и старше. Субпопуляционный состав лимфоцитов ПК был различным у пациенток с РЭ/РП — положительным и РЭ/РП — отрицательным статусом.

Заключение. Полученные результаты указывают на существование зависимости показателей системного иммунного ответа у больных ПО РМЖ с возрастом пациенток и экспрессией рецепторов эстрогенов и прогестерона на опухолевых клетках.

Ключевые слова. ПО РМЖ, иммунофенотипирование, лимфоциты ПК, возраст пациенток, РЭ/РП-статус.

THE RELATIONSHIP BETWEEN IMMUNE PARAMETERS AND AGE AND EXPRESSION OF HORMONE RECEPTORS IN PATIENTS WITH PRIMARY OPERABLE BREAST CANCER

T.N. Zabolina¹, A.I. Chertkova¹, O.V. Korotkova¹, A.A. Borunova¹, E.N. Zakharova¹, D.V. Tabakov¹, E.G. Slavina¹, Sh.G. Khakimova², I.K. Vorotnikov¹, Z.G. Kadagidze¹

¹ Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

² Federal State Budgetary Institution P.A. Gertsen Moscow Scientific Research Institute of Oncology — Branch of Federal State Budgetary Institution «National Medical Research Center of Radiology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, Russia

Objective of the study is to determine the relationship between the contents of the cells of effector and regulatory lymphocyte populations of peripheral blood of innate and adaptive immunity and age and the level of expression of estrogen and progesterone receptors (ER and PgR) in patients with primary operable breast cancer.

Materials and Methods. Immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes of patients with primary operable breast cancer was performed on five-parameter fluorescence-based flow cytometer.

Results. Deviations in composition of lymphocyte subpopulation of peripheral blood from the control criteria were revealed in patients with primary operable breast cancer before the treatment. The number of cells of adaptive and innate immunity was different in patients younger than 40 years old and patients 40 years of age and older. Composition of lymphocyte subpopulations of peripheral blood was different in patients with estrogen receptors/progesterone receptors (ER/PgR) — positive and estrogen receptors/progesterone receptors (ER/PgR) — negative status.

Conclusion. *The results obtained in the study indicate the existing dependence of systemic immune response indicators in patients with primary operable breast cancer on patient age and expression of estrogen and progesterone receptors on tumor cells.*

Keywords: *primary operable breast cancer, breast cancer, immunophenotyping, lymphocytes of peripheral blood, patient age, estrogen receptors/progesterone receptors (ER/PgR)-status/*

Введение

Рак молочной железы (РМЖ) — наиболее распространенная форма злокачественных новообразований у женщин. В зависимости от экспрессии рецепторов эстрогенов (РЭ) и прогестерона (РП), HER2 и уровня пролиферативной активности опухолевых клеток (Ki — 67%) выделяют 5 подтипов РМЖ, которые различаются как по характеру течения заболевания, так и по ответу на лечение [1]. Экспрессия на опухолевых клетках РЭ и РП является благоприятным, а их отсутствие — неблагоприятным прогностическим фактором [2]. Установлено, что при РМЖ фактором риска является возраст. У женщин старше 40 лет риск развития РМЖ значительно выше, чем у более молодых пациентов, однако молодой возраст (< 40 лет) в момент постановки диагноза ассоциируется с более агрессивным течением заболевания [3]. Одним из важнейших факторов, способных контролировать опухолевый рост и влиять на клиническую эффективность различных видов противоопухолевой терапии, является иммунная система [4, 5, 6]. При различных нозологических вариантах рака, включая РМЖ, показано благоприятное прогностическое значение высокой инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами, и значительное число клинических исследований направлено на определение прогностической значимости лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TILs) [7]. Однако растущая опухоль может инициировать не только локальный, но и системный иммунный ответ. По данным С. Rentzsch и соавт., у части больных РМЖ в периферической крови (ПК) еще до начала лечения обнаруживаются опухолеспецифические Т-лимфоциты [8]. Циркулирующие клетки адаптивного (Т-лимфоциты) и врожденного (NK- и NKT-клетки) иммунитета, наряду с TILs, могут иметь прогностическое значение при РМЖ [9, 10]. В настоящее время взаимосвязь между исходным состоянием системного иммунитета и клинико-патологическими характеристиками РМЖ остается недостаточно изученной

[11, 12]. В связи с этим исследование субпопуляционного состава лимфоцитов ПК больных первично операбельным РМЖ (ПО РМЖ) до лечения и установление их взаимосвязи с клинико-патологическими характеристиками опухоли является актуальным.

Цель исследования. Определить взаимосвязь содержания клеток основных эффекторных и регуляторных популяций лимфоцитов ПК врожденного и адаптивного иммунитета с возрастом и уровнем экспрессии РЭ и РП у больных ПО РМЖ.

Характеристика пациентов и методов исследования

В исследование были включены больные (n = 68) со всеми подтипами ПО РМЖ. Медиана возраста составила 55,5 года (от 24 до 76 лет). Контролем (К) служили практически здоровые женщины (n = 39). Все пациентки дали информированное согласие на проведение иммунологического обследования. Проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов ПК на пятипараметровом проточном цитофлуориметре аналитического типа FACS Calibur производства компании Becton Dickinson (США). Лимфоциты выделяли по параметрам светорассеяния и экспрессии CD45. Для определения процентного содержания клеток адаптивного и врожденного иммунитета в составе лимфоцитов ПК проводилось двух-, трех- и четырехцветное окрашивание клеток с использованием панели моноклональных антител (BD Biosciences, Becton Coulter) к поверхностным маркерам лимфоцитов: CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD28, CD11b, HLA-DR, CD19, CD25, CD127 и внутриклеточному антигену перфорину (Perforin). Цитотоксический потенциал (ЦТП) CD16⁺- и CD8⁺- лимфоцитов оценивался как процент Perforin-позитивных клеток в составе соответствующей популяции. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы «Статистика 7,0». Результаты представлены

в виде медианы (Me) и квартилей (25 и 75% процентиля). Характер распределения показателей определяли с помощью критериев Шапиро-Уилка или Колмогорова и Смирнова. Для оценки статистической значимости различия показателей использовали непараметрический двусторонний U-критерий Манна-Уитни. Связь между показателями устанавливали с помощью корреляционного анализа Спирмена: результаты представлены в виде коэффициента корреляции (ρ) и 95% доверительного интервала (95% ДИ). 95% ДИ для коэффициентов корреляции рассчитывали с помощью программы Excel в соответствии с рекомендациями А. Бююль и П. Цёфель [13]. Уровень статистической значимости был принят равным 0,05.

Результаты

Изучение состояния иммунитета у больных ПО РМЖ

Полученные результаты представлены в табл. 1. У пациенток отмечалось статистически значимое снижение по сравнению с нормой процента $CD3^+$ Т-клеток и их популяций: $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, а также Т-клеток, экспрессирующих маркер поздней активации ($CD3^+HLA-DR^+$) и активированных $CD8^+CD38^+$ лимфоцитов. В то же время количество клеток врожденного иммунитета: NK-клеток, экспрессирующих маркер $CD8$ ($CD3^-CD8^+$); $CD3^+CD16^+CD56^+$ NKT-клеток, в том числе клеток $CD8^+$ -позитивной популяции ($CD3^+CD8^+CD16^+$) в их составе, было повышено по сравнению с контролем. Наблюдалось также повышение процента $CD8^+$ клеток, экспрессирующих перфорин, а также цитотоксического потенциала $CD16^+$ и $CD8^+$ лимфоцитов. В составе $CD8^+$ лимфоцитов ПК основной процент составляли клетки-эффекторы ($CD8^+CD11^+CD28^-$), количество которых превышало контрольные значения, а процент наивных ($CD8^+CD11b^-CD28^+$) Т-лимфоцитов был снижен. Количество $CD8^+$ клеток-супрессоров ($CD8^+CD11b^-CD28^-$) не отличалось от нормы, а количество регуляторных $CD4^+$ ($CD4^+CD25^+CD127^-$) Т-лимфоцитов было ниже, чем в контроле. Общее количество лимфоцитов, экспрессирующих маркер ранней активации $CD25$ в группе больных РМЖ, превышало контрольные значения, в то время как процент

активированных $CD4^+CD25^+$ Т-клеток был в пределах нормы. Остальные показатели не отличались от контроля (табл. 1).

Определение взаимосвязи субпопуляционного состава лимфоцитов ПК с возрастом пациенток и экспрессией РЭ и РП

Медиана возраста включенных в исследование пациенток с ПО РМЖ составила 55,5 года. Статистически значимые результаты, полученные при сравнении субпопуляционного состава лимфоцитов у пациенток двух возрастных групп (группа «А» — в возрасте младше 40 лет и группа «В» — в возрасте 40 лет и старше), представлены в табл. 2. У пациенток в группе «А» по сравнению с пациентками группы «В» был снижен процент $CD3^+CD4^+$ Т-клеток; лимфоцитов, экспрессирующих активационные маркеры HLA-DR и $CD25$, включая $CD4^+CD25^+$ Т-клетки, а процент активированных $CD8^+CD38^+$ лимфоцитов повышен. У пациенток группы «А» отмечалось также снижение ЦТП $CD16^+$ лимфоцитов. Корреляционный анализ выявил слабую положительную ассоциацию возраста пациенток с ЦТП $CD16^+$ лимфоцитов [ρ (95% ДИ) = 0,330 (от 0,095 до 0,530); $n = 68$; $p = 0,004$] и отрицательную — с процентом $CD8^+CD38^+$ лимфоцитов [ρ (95% ДИ) = -0,344 (от -0,111 до -0,541); $n = 68$; $p = 0,007$]. Следует отметить также, что уровень пролиферативной активности опухолевых клеток Ki-67% у молодых пациенток более чем в 2 раза превышал значение этого показателя у больных старшего возраста (табл. 1). С увеличением возраста данный показатель снижался [ρ (95% ДИ) = -0,435 (от -0,215 до -0,613); $p = 0,000$; $n = 68$].

Исследование состояния системного иммунитета у пациенток ПО РМЖ до лечения в зависимости от РЭ/РП-статуса выявило значительные различия субпопуляционного состава ПК между больными с РЭ/РП — положительным (группа «С») и РЭ/РП — отрицательным статусом (группа «D») (табл. 3). У пациенток группы «D» подавляющее число изученных показателей не отличалось от контроля. В то же время у пациенток в группе «С» отклонения от нормы были значительно более выражены. У больных этой группы отмечалось снижение процента Т-клеток и их популяций ($CD3^+$, $CD3^+CD4^+$, $CD3^+CD8^+$, $CD8^+CD11b^+$

CD28⁺) и активированных CD3⁺HLA-DR⁺ и CD8⁺CD38⁺ Т-клеток. В то же время количество CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ Т-клеток-эффекторов в составе CD8⁺ лимфоцитов, НКТ-клеток, NK-клеток, экспрессирующих маркер CD8 (CD3⁺CD8⁺), активированных CD25⁺ клеток у них было повышено. У больных обеих групп наблюдалось повышение процента CD8⁺Perforin⁺ лимфоцитов, ЦТП CD16⁺ и ЦТП CD8⁺ лимфоцитов и процента НКТ-клеток, экспрессирующих маркер CD8. И в группе «С», и в группе »D» количество регуляторных CD4⁺CD25⁺CD127⁺ Т-клеток было снижено

по сравнению с контролем, а количество регуляторных CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ Т-клеток было в пределах нормы.

Обсуждение

Установление прогностической значимости лимфоидных популяций при РМЖ осложняется существованием различных вариантов этой формы опухоли, различающихся по характеру течения заболевания и ответу на проводимое лечение. Выявление взаимосвязи между основными клинико-патологическими характеристиками опухоли и субпопуляционным составом

Таблица 1

Особенности субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных первично операбельным РМЖ до лечения

Показатель	Периферическая кровь, n = 68	Контроль, n = 39	P
	Me (квартили)		
CD3 ⁺ %	71,7(58,5–76,7)	75,0(70,9–80,0)	0,015 ↓
CD3 ⁺ CD4 ⁺ %	34,0(26,6–44,0)	41(36,4–51,2)	0,001 ↓
CD3 ⁺ CD8 ⁺ %	21,2(13,6–28,8)	28,7(24,6–31,9)	0,000 ↓
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ %	3,8(2,0–7,2)	5,2(4,0–8,7)	0,015 ↓
HLA-DR ⁺ %	12,1(8,3–17,6)	13,5(10,7–18,6)	0,216
CD3 ⁺ CD19 ⁺ %	5,5(3,5–8,2)	5,1(3,5–6,9)	0,604
CD4 ⁺ CD25 ⁺ %	9,2(5,6–18,2)	8,8(6,5–12,5)	0,725
CD4/CD8	1,0(0,73–1,53)	1,19(0,93–1,48)	0,259
CD25 ⁺ %	16,7(12,4–24,0)	12,2(9,3–17,2)	0,006 ↑
CD8 ⁺ CD38 ⁺ %	6,4(4,7–10,5)	11,2(7,3–18,4)	0,001 ↓
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ %	17,0(11,1–25,0)	16,0(11,5–21,3)	0,379
CD3 ⁺ CD8 ⁺ %	10,5(6,7–16,0)	8,0(5,6–11,2)	0,009 ↑
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺ %	11,6(7,0–16,5)	8,7(4,74–13,5)	0,024 ↑
CD3 ⁺ CD8 ⁺ 16 ⁺ %	7,8(4,7–13,6)	3,1(2,2–5,1)	0,006 ↓
CD16 ⁺ Perforin ⁺ %	16,8(14,6–23,0)	17,1(12,9–21,7)	0,204
ЦТП CD16 ⁺ %	95,4(92,6–96,9)	91,5(82,5–95,8)	0,001 ↑
CD8 ⁺ Perforin ⁺ %	17,1(12,4–22,7)	12,4(8,9–18,1)	0,008 ↑
ЦТП CD8 ⁺ %	53,4(42,5–66,4)	40(28,5–46,9)	0,000 ↑
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁺ %	7,2(6,0–8,8)	9,4(7,7–10,2)	0,001 ↓
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺ %	65,7(52,2–74,2)	57,1(48,4–63,1)	0,045 ↑
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺ %	5,2(2,8–6,0)	4,0(3,1–4,3)	0,162
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺ %	7,2(4,5–10,9)	7,9(5,1–8,6)	0,928
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺ %	19,9(13,8–31,3)	23,9(26,0–35,4)	0,018 ↓

лимфоцитов ПК, предпринятое в данной работе, может внести определенный вклад в изучение этой проблемы. Исследование исходного состояния системного иммунитета показало, что еще до начала лечения у больных ПО РМЖ наблюдались значительные отклонения субпопуляционного состава лимфоцитов ПК от контроля, то есть реакция иммунной системы на опухоль определялась уже на ранних стадиях заболевания. Было обнаружено снижение показателей Т-клеточного звена иммунитета: CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺, активированных CD3⁺HLA-DR⁺ Т-лимфоцитов, и повышение количества клеток врожденного иммунитета: CD3⁻CD8⁺ NK-клеток (общее число CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK-клеток не отличалось от нормы); CD3⁺CD16⁺CD56⁺ NKT-клеток и CD8⁺ клеток в их составе. ЦТП как CD16⁺, так и CD8⁺ популяций у пациенток был выше, чем в контроле, что указывает на повышение способности лимфоцитов-эффекторов к перфорин-зависимому цитолизу. По данным различных авторов, в опухолевой ткани РМЖ основная популяция лимфоцитов представлена Т-клетками. NK-клетки в опухоли являются минорной популяцией, в то время как в периферической крови они присутствуют в достаточном количестве [14, 15]. В проведенном дополнительно исследовании мы также обнаружили,

что наибольший процент среди лимфоцитов опухолевого микроокружения у той же группы пациенток с ПО РМЖ составляли Т-лимфоциты (Me 89%), а процент NK-клеток был минимальным (Me 1%). Предполагается, что такое различие в количестве NK-клеток в опухолевой ткани и в периферической крови может быть связано с тем, что основной функцией естественных киллеров является предупреждение процесса метастазирования [16]. В экспериментальных исследованиях была продемонстрирована и антиметастатическая активность NKT-клеток [17]. В дополнительном исследовании мы обнаружили также, что процент регуляторных CD4⁺ (CD4⁺CD25⁺CD127⁺) Т-клеток в ПК был ниже, чем в контроле, и ниже, чем в опухолевой ткани (в опухоли Me 12%). В составе CD8⁺ лимфоцитов ПК максимальный процент составляли Т-клетки-эффекторы (CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Me 65,7%), а количество регуляторных — супрессорных (CD8⁺CD11b⁻CD28⁻ Me 7,2%) лимфоцитов не отличалось от контроля. В то же время в опухолевой ткани среди CD8⁺ лимфоцитов преимущественной популяцией были клетки-супрессоры (Me 53%), а количество клеток-эффекторов было около 10%. Полученные результаты, возможно, объясняются перераспределением определенных популяций лимфоцитов между опухолью и ПК.

Таблица 2

Основные различия в субпопуляционном составе лимфоцитов периферической крови больных первично операбельным РМЖ в зависимости от возраста

Показатель	< 40 лет n = 6 (8,8%)	≥ 40 лет n = 62 (91,2%)	Контроль	P
	Me (квартили)			
	1	2	3	
Ki-67%	80,0(28,0–90,0)	30,0(18,0–50,0)		P1,2 = 0,020
CD3 ⁺ CD4 ⁺ %	19,7(17,5–25,3)	35,1(29,5–44,6)	41,0(36,4–51,2)	P1,2 = 0,019
CD8 ⁺ %	42,9(34,5–49,4)	32,7(27–40,6)	35,4(30,6–41,7)	P1,2 = 0,021
HLA-DR ⁺ %	8,4(7,2–9,8)	12,7(8,5–18,9)	13,5(10,7–18,6)	P1,2 = 0,049
CD8 ⁺ CD38 ⁺ %	11,2(8,5–18,6)	6,2(4,6–9,8)	11,2(7,3–18,4)	P1,2 = 0,038
CD25 ⁺ %	8,8(7,7–10,5)	16,8(12,8–25,6)	12,2(9,3–17,2)	P1,2 = 0,004
CD4 ⁺ CD25 ⁺ %	4,3(2,2–6,4)	9,7(6,9–18,4)	8,8(6,5–12,5)	P1,2 = 0,006
CD4/CD8	0,46(0,38–0,62)	1,1(0,78–1,63)	1,19(0,93–1,48)	P1,2 = 0,004
ЦТП CD16 ⁺ %	91,5(89,9–93,7)	95,6(92,7–97,2)	91,5(82,5–95,8)	P1,2 = 0,041

В настоящее время установлено, что при РМЖ возраст является фактором риска, и молодой возраст (< 40 лет) в момент постановки диагноза ассоциируется с более агрессивным течением этой формы рака, по сравнению с пациентками старшего возраста [3, 18]. В настоящем исследовании было обнаружено,

что у больных < 40 лет, по сравнению с больными ≥ 40 лет, в ПК был значительно снижен процент CD3⁺CD4⁺ Т-клеток и, как следствие этого, иммунорегуляторный индекс CD4/CD8, процент активированных HLA-DR⁺ и CD25⁺ лимфоцитов (включая CD4⁺CD25⁺ Т-клетки) и ЦТП CD16⁺ лимфоцитов. Отмечалось также

Таблица 3

Основные отклонения субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови от контроля у больных с позитивным и негативным статусом рецепторов эстрогенов и прогестерона*

Показатель (популяции лимфоцитов), %	РЭ/РП ⁺ [РЭ ⁺ РП ⁺ n = 43, РЭ ⁺ РП ⁻ n = 1, РЭ ⁻ РП ⁺ n = 12] n = 56	РЭ/РП ⁺ n = 12	Контроль n = 39	P
	Me (квартили)			
	1	2	3	
CD3 ⁺	71,4(58,4–76,5)	73,1(59,3–79,6)	75(70,9–80,0)	1,3 = 0,011 2,3 = 0,397
CD3 ⁺ CD4 ⁺	33,6(28,4–42,4)	40,2(20,8–49,2)	41(36,4–51,2)	1,3 = 0,001 2,3 = 0,247
CD3 ⁺ CD8 ⁺	19,3(12,4–27,0)	25,8(22,1–33,3)	28,7(24,6–31,9)	1,3 = 0,000 2,3 = 0,503
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	3,6(2,0–7,2)	4,2(1,9–6,9)	5,2(4,0–8,7)	1,3 = 0,021 2,3 = 0,115
CD25 ⁺	16,5(12,6–23,7)	19,3(11,6–26,8)	12,2(9,3–17,2)	1,3 = 0,009 2,3 = 0,089
CD8 ⁺ CD38 ⁺	6,2(4,5–10,4)	9,0(6,–15,3)	11,2(7,3–18,4)	1,3 = 0,000 2,3 = 0,537
CD3 ⁺ CD8 ⁺	10,6(7,0–16,5)	8,2(5,5–13,1)	8,0(5,6–11,2)	1,3 = 0,003 2,3 = 0,701
CD3 ⁺ CD16 ⁺ 56 ⁺	11,9(6,1–17,4)	11,6(8,1–15,8)	8,7(4,7–13,5)	1,3 = 0,043 2,3 = 0,073
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺	7,8(4,2–13,0)	8,4(5,0–13,6)	3,1(2,2–5,1)	1,3 = 0,009 2,3 = 0,012
ЦТП CD16 ⁺	95,4(92,1–96,8)	96,7(93,9–97,8)	91,5(82,5–95,8)	1,3 = 0,002 2,3 = 0,004
CD8 ⁺ Perforin ⁺	16,2(11,2–21,4)	21,6(16,2–26,0)	12,4(8,9–18,1)	1,3 = 0,038 2,3 = 0,004
ЦТП CD8 ⁺	49,9(42,4–66,1)	61,0(48,3–76,6)	40,0(28,5–46,9)	1,3 = 0,000 2,3 = 0,000
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁺	7,7(5,8–8,9)	6,9(6,2–7,7)	9,4(7,7–10,2)	1,3 = 0,004 2,3 = 0,001
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	65,7(55,4–73,4)	59,6(44,8–75,6)	57,1(48,4–63,1)	1,3 = 0,024 2,3 = 0,648
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	19,9(15,1–28,7)	20,6(10,8–39,6)	23,9(26,0–35,1)	1,3 = 0,009 2,3 = 0,427

* В таблице представлены показатели, которые в одной или обеих группах статистически значимо отличаются от контроля.

повышение процента $CD8^+$ лимфоцитов, экспрессирующих маркер $CD38$. Ранее мы обнаружили, что уменьшение до лечения по сравнению с контролем количества $CD3^+CD4^+$ Т-клеток ассоциировалось со снижением общей и безрецидивной выживаемости, а снижение процента активированных $CD25^+$ лимфоцитов — с увеличением вероятности прогрессирования заболевания у пациенток с трижды-негативным РМЖ [19]. Уменьшение процента НК-клеток, играющих важную роль в контроле опухолевой прогрессии, и уменьшение их ЦТП может являться неблагоприятным фактором у пациенток моложе 40 лет [20]. В экспериментальных исследованиях было обнаружено, что высокая экспрессия $CD38$ на $CD8^+$ Т-клетках может приводить к их дисфункции [21]. К тому же повышенная экспрессия $CD38$ была продемонстрирована на регуляторных $CD8^+$ лимфоцитах и на регуляторных НК-клетках [22, 23, 24]. Однако, поскольку в нашем исследовании количество больных младше 40 лет было очень небольшим ($n = 6$), требуются дальнейшие исследования, включающие значительно большее число наблюдений, что поможет определить значимость количественного состава лимфоцитов ПК у пациенток с ПО РМЖ разного возраста.

Благоприятным прогностическим фактором при РМЖ является экспрессия на опухолевых клетках рецепторов эстрогенов и прогестерона, в то время как отсутствие их экспрессии рассматривается как неблагоприятный фактор прогноза [2]. В исследованиях различных авторов было продемонстрировано, что уровень лимфоцитарной инфильтрации опухоли и прогностическое значение эффекторных и регуляторных популяций иммунокомпетентных клеток в составе TILs может различаться при разных подтипах РМЖ и зависеть от наличия или отсутствия экспрессии РЭ и РП [25, 26, 27]. В настоящем исследовании было показано, что отклонения показателей системного иммунитета были значительно более выражены у пациенток с положительным РЭ/РП-статусом (группа «С»), чем у больных в РЭ/РП-негативной группе (группа «D»). Это может указывать на способность иммунной системы больных, опухолевые клетки которых экспрессируют рецепторы гормонов, более активно отвечать

на растущую опухоль, чем у РЭ/РП-негативных пациентов. К тому же в составе $CD8^+$ Т-клеток в РЭ/РП+ группе наиболее значимой популяцией являлись Т-клетки-эффекторы ($CD8^+CD11b^+CD28^+$), процент которых превышал контрольные значения, в отличие от группы «D», в которой количество этих клеток не отличалось от нормы. У пациенток группы «С» отмечалось также повышение процента лимфоцитов, экспрессирующих маркер ранней активации $CD25$ (б-цепи рецептора IL-2, играющего ключевую роль в иммунном ответе), а также клеток врожденного иммунитета (НКТ-клеток и $CD8$ -позитивных естественных киллеров) и снижение процента $CD8^+CD38^+$ Т-клеток. Снижение у больных этой группы процента Т-клеток и их популяций может быть связано, как указывалось выше, с перераспределением клеток адаптивного иммунитета в опухолевую ткань. Отклонения показателей от контроля в РЭ/РП-негативной группе касались только процента перфоринпозитивных $CD8^+$ клеток, $CD8^+$ НКТ-клеток, ЦТП $CD8^+$ и ЦТП $CD16^+$. Значения этих показателей превышали норму у больных обеих групп, указывая на повышение значимости перфоринзависимой цитотоксичности. Других отличий от нормы в группе «D» не наблюдалось. Что касается $CD4^+$ регуляторных лимфоцитов, то их количество в ПК было снижено по сравнению с контролем в обеих группах («С», «D»). Обнаруженные в данной работе различия в субпопуляционном составе лимфоцитов ПК между группами пациенток с различным рецепторным статусом указывают на существование связи показателей системного иммунного ответа на опухоль с основными клинико-патологическими характеристиками РМЖ.

Заключение

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что характер течения и эффективность лечения больных РМЖ зависят как от клинико-патологических характеристик опухоли и возраста пациенток, так и в значительной степени от исходного состояния иммунной системы организма и ее ответа на проводимое лечение. Взаимодействие опухоли и иммунной системы происходит как на локальном, так и на системном уровне.

Огромную роль иммунная система играет в предотвращении или ограничении процесса метастазирования. Именно развитие метастатического поражения организма в огромном числе случаев является основной причиной гибели онкологических пациентов, в связи с чем изучение системного иммунитета, в частности субпопуляционного состава лимфоцитов ПК, является не менее значимым, чем изучение лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль. Полученные в настоящем исследовании результаты подтверждают, что исследование лимфоцитов ПК при РМЖ является достаточно информатив-

ным, а обнаруженная взаимосвязь субпопуляционного состава лимфоцитов ПК с возрастом и РЭ/РП-статусом подтверждает необходимость исследовать прогностическую значимость лимфоидных популяций ПК при РМЖ в зависимости от возраста и клинико-патологических характеристик опухоли. Это поможет в определении наиболее значимых для прогноза заболевания лимфоидных популяций при каждом подтипе РМЖ, что будет способствовать выбору оптимальной стратегии лечения и в решении вопроса о целесообразности включения иммунотерапии в стандартную схему лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Perou C.M., Surlie T., Eisen M.B., van de Rijn M. et al. Molecular portraits of human breast tumours // *Nature*. — 2000; 406(6797):747–52. DOI:10.1038/35021093.
2. Sotiriou C., Neo S.Y., McShane L.M., Korn E.L. et al. Breast cancer classification and prognosis based on gene expression profiles from a population-based study. *Proc.Natl.Acad.Sci.* 2003;100(18): 10393–8. DOI:10.1073/pnas.1732912100.
3. Kataoka A., Iwamoto T., Tokunaga E., Tomotaki A. et al. Young adult breast cancer patients have a poor prognosis independent of prognostic clinicopathological factors: a study from the Japanese Breast Cancer Registry // *Breast Cancer Res Treat.* — 2016;160(1):163–172. DOI:10.1007/s10549-016-3984-8.
4. Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle // *Immunity*. — 2013 Jul 25;39(1):1–10. doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.012. PMID:23890059.
5. Kepp O., Senovilla L., Kroemer G. Immunogenic cell death inducers as anticancer agents. *Oncotarget*. — 2014; 5(14): 5190–5191. DOI:10.18632/oncotarget.2266.
6. Muraro E., Furlan C., Avanzo M., Martorelli D. et al. Local high-dose radiotherapy induces systemic immunomodulating effects of potential therapeutic relevance in oligometastatic breast cancer // *Front Immunol.* — 2017;8:1476. doi: 10.3389/fimmu.2017.01476.
7. Burugu S., Asleh-Aburaya K., Nielsen T.O. Immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: detection, characterization and clinical implication // *Breast Cancer*. — 2017; 24(1):3–15. doi: 10.1007/s12282-016-0698-z.
8. Rentzsch C., Kayser S., Stumm S., Watermann I. et al. Evaluation of pre-existent immunity in patients with primary breast cancer: molecular and cellular assays to quantify antigen-specific T lymphocytes in peripheral blood mononuclear cells // *Clin Cancer Res*. — 2003;9(12):4376–4386. PMID: 14555509.
9. Standish L.J., Sweet E.S., Novack J., Wenner C.A. et al. Breast cancer and the immune system // *Soc. Integr. Oncol.* — 2008;6(4):158–68. PMID:PMC2845458.
10. Péguillet I., Milder M., Louis D., Vincent-Salomon A. et al. High numbers of differentiated effector CD4 T cells are found in patients with cancer and correlate with clinical response after neoadjuvant therapy of breast cancer // *Cancer Res*. — 2014;74(8):2204–16. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-2269.
11. Stovgaard E.S., Nielsen D., Hogdall E., Balslev E. Triple negative breast cancer — prognostic role of immune-related factors: a systematic review // *Acta Oncol.* — 2018;57(1):74–82. doi: 10.1080/0284186X.2017.1400180.
12. Mohammed Z.M., Going J.J., Edwards J., McMillan D.C. The role of the tumour inflammatory cell infiltrate in predicting recurrence and survival in patients with primary operable breast cancer // *Cancer Treat. Rev.* — 2012; 38(8): 943–955. doi: 10.1016/j.ctrv.2012.04.011. PMID:22651904.
13. Бююль А., Цёфель П. SPSS: Искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. Пер. с нем. — СПб.: ООО «ДиаСофтЮП», 2005. — 608 с.
14. Ruffell B., Au A., Rugo H.S., Esserman L.J. et al. Leukocyte composition of human breast cancer // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* — 2012; 109: 2796–7801. doi: 10.1073/pnas.1104303108.
15. Albertsson P.A. et al. NK cells and the tumour microenvironment: implications for NK-cell function and anti-tumour activity // *Trends Immunol.* — 2003;24(11): 603–609.
16. Gorelik, E., Wiltrout, R.H., Okumura, K., Habu S. Role of NK cells in the control of metastatic spread and growth of tumor cells in mice // *Int J Cancer*. — 1982;30(1):107–12.

17. *Gebremeskel S., Clattenburg D.R., Slauenwhite D., Lobert L., Johnston B.* Natural killer T cell activation overcomes immunosuppression to enhance clearance of postsurgical breast cancer metastasis in mice // *Oncoimmunology*. — 2015; 4(3):e995562. doi: 10.1080/2162402X.2014.995562.
18. *Chen H.L., Zhou M.Q., Tian W., Meng K.X., He H.F.* Effect of age on breast cancer patient prognoses: a population-based study using the SEER 18 Database // *PLoS One*. — 2016; 11(10):e0165409. doi: 10.1371/journal.pone.0165409.
19. *Черткова А.И., Славина Е.Г., Заботина Т.Н., Короткова О.В.* и др. Прогностические и предиктивные иммунологические маркеры эффективности лечения рака молочной железы // *Иммунология*. — 2017;38(2): 130–136. doi:http://dx.doi.org/10.18821/0206-4952-2017-38-2-130-136.
20. *Pahl J., Cerwenka A.* Tricking the balance: NK cells in anti-cancer immunity // *Immunobiology*. — 2017; 222(1):11–20. doi: 10.1016/j.imbio.2015.07.012.
21. *Philip M., Fairchild L., Sun L., Horste E.L.* et al. Chromatin states define tumour-specific T cell dysfunction and reprogramming // *Nature*. — 2017;545(7655):452–456. doi: 10.1038/nature22367.
22. *Bahri R., Bollinger A., Bollinger T., Orinska.Z., Bulfone-Paus S.* Ectonucleotidase CD38 demarcates regulatory, memory-like CD8+ T cells with IFN- γ -mediated suppressor activities // *PLoS One*. — 2012;7(9):e45234. doi: 10.1371/journal.pone.0045234.
23. *Krejci J., Casneuf T., Nijhof I.S., Verbist B.* et al. Daratumumab depletes CD38+ immune regulatory cells, promotes T-cell expansion, and skews T-cell repertoire in multiple myeloma // *Blood*. — 2016;128(3): 384–394. doi: 10.1182/blood-2015-12-687749.
24. *Morandi F., Horenstein A.L., Chillemi A., Quarona V.* et al. CD56brightCD162 NK cells produce adenosine through a CD38-mediated pathway and act as regulatory cells inhibiting autologous CD4+ T cell proliferation // *J. Immunol.* — 2015;195(3):965–72. doi: 10.4049/jimmunol.1500591.
25. *Carbognin L., Pilotto S., Nortilli R., Brunelli M.* et al. Predictive and prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes for early breast cancer according to disease subtypes: sensitivity analysis of randomized trials in adjuvant and neoadjuvant setting // *Oncologist*. — 2016; 21(3):283–291. doi: 10.1634/theoncologist.2015-0307.
26. *Baker K., Lachapelle J., Zlobec I., Bismar T.A.* et al. Prognostic significance of CD8(+) T lymphocytes in breast cancer depends upon both oestrogen receptor status and histological grade // *Histopathology*. — 2011; 58:1107–1116. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.03846.
27. *Chung Y.R., Kim H.J., Jang M.H., Park S.Y.* Prognostic value of tumor infiltrating lymphocyte subsets in breast cancer depends on hormone receptor status // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2017; 161(3):409–420. doi: 10.1007/s10549-016-4072-9.

АВТОРЫ

Заботина Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, заведующая централизованным клинико-лабораторным отделом НИИ КО им. акад. РАН и РАМН Н.Н. Трапезникова ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: tatzabotina@yandex.ru

Zabotina Tatiana N., PhD, head of the centralized clinical and laboratory Department of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: tatzabotina@yandex.ru

Черткова Антонина Ивановна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: antcher@gmail.com

Chertkova Antonina I., PhD, Senior Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: antcher@gmail.com

Короткова Ольга Витальевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: olgkorotkova@yandex.ru

Korotkova Olga V., PhD, Senior Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: olgkorotkova@yandex.ru

Борунова Анна Анатольевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: borunova-a@ya.ru

Borunova Anna A., PhD, Senior Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: borunova-a@ya.ru

Захарова Елена Николаевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: zakharovaen@yandex.ru

Zakharova Elena N., PhD, Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: zakharovaen@yandex.ru

Опухоли молочных желез

Табакон Дмитрий Вячеславович, научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: dtabakov91@mail.ru

Tabakov Dmitrii V., Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: dtabakov91@mail.ru

Славина Елена Григорьевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: elena.slavina@gmail.com

Slavina Elena G., PhD, Leading Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: elena.slavina@gmail.com

Хакимова Шахноз Голибовна, кандидат медицинских наук, стажер отделения реконструктивно-пластической хирургии молочной железы и кожи МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: shahnoz_hakimova@mail.ru

Hakimova Shahnoz G., PhD, probationer of FSBI P.A. Hertsen Moscow Oncology Research Center, Moscow 125284, 2nd Botkinsky drive 3, e-mail: shahnoz_hakimova@mail.ru

Воротников Игорь Константинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий хирургическим отделением № 5 (опухолей молочных желез) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: i.vorotnikov@mail.ru

Vorotnikov Igor K., PhD, Professor, Head of the Department of Surgery No. 5 (breast tumors) of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: elena.slavina@gmail.com

Кадагидзе Заира Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24, e-mail: kad-zaira@yandex.ru

Kadagidze Zaira G., PhD, professor, Leading Research Associate of FSBI «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 115478 Moscow, Kashirskoe shosse, 24, e-mail: kad-zaira@yandex.ru