

Влияние локального иммунитета на прогноз рака желудка

Г.Г. Хакимова[✉], А.А. Трякин, Т.Н. Заботина, А.А. Борунова, О.А. Малихова, Ф.М. Джураев, И.Н. Перегородиев, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия
✉hgg_doc@mail.ru

Аннотация

Цель. Изучить состояние локального иммунитета у больных аденокарциномой желудка.

Материалы и методы. С 2017 по 2018 г. в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» 45 ранее нелеченных больных аденокарциномой желудка (25 – с I–III стадиями, 20 – с IV стадией) получили хирургическое/комбинированное лечение или химиотерапию, соответственно. Забор опухолевой ткани осуществлялся перед началом лечения. Методом проточной цитометрии оценивалось процентное содержание степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TIL); Т-клеток (CD3+CD19-TIL); В-клеток (CD3-CD19+TIL); NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL); эффекторных клеток CD16 (CD16+Perforin+TIL) и CD8 (CD8+Perforin+TIL) и их цитотоксического потенциала – active CD16TIL и active CD8TIL; субпопуляций регуляторных Т-клеток – NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL), регуляторных клеток CD4 (CD4+CD25+CD127-TIL) и CD8 (CD8+CD11b-CD28-TIL). Проведена оценка прогностической значимости иммунных клеток для общей выживаемости (ОВ) и выживаемости без прогрессирования (ВБП).

Результаты. Фактором благоприятного прогноза в отношении ВБП у пациентов с локальными и местно-распространенными формами рака желудка явилось повышение числа CD3-CD19+TIL (отношение рисков – ОР 0,862, 95% доверительный интервал – ДИ 0,782–0,957, $p=0,005$), а неблагоприятного прогноза – повышение NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL); ОР 1,382, 95% ДИ 1,087–1,758, $p=0,008$. Отмечено негативное влияние относительного содержания NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL) и NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) на ОВ пациентов с метастатическим раком желудка (ОР 1,249, 95% ДИ 0,997–1,564, $p=0,053$ и ОР 1,127, 95% ДИ 1,025–1,239, $p=0,013$). В то же время увеличение процентного содержания инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TIL) и увеличение возраста больных (ОР 1,005, 95% ДИ 1,002–1,008, $p=0,003$ и ОР 1,098, 95% ДИ 1,031–1,170, $p=0,004$) – снижают показатель ВБП у пациентов с метастатическим раком желудка.

Вывод. Показатели локального иммунитета могут служить дополнительными прогностическими факторами при раке желудка.

Ключевые слова: аденокарцинома желудка, локальный иммунитет, субпопуляции лимфоцитов.

Для цитирования: Хакимова Г.Г., Трякин А.А., Заботина Т.Н. и др. Влияние локального иммунитета на прогноз рака желудка. Современная Онкология. 2020; 22 (1): 36–41. DOI: 10.26442/18151434.2020.1.200049

Original Article

The effect of local immunity on gastric cancer prognosis

Gulnoz G. Khakimova[✉], Alexey A. Tryakin, Tatyana N. Zabolina, Anna A. Borunova, Olga A. Malikhova, Farruh M. Juraev, Ivan N. Peregorodiev, Elena N. Zaharova, Dmitriy V. Tabakov

Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

✉hgg_doc@mail.ru

Abstract

Aim. To study the state of local immunity in patients with gastric adenocarcinoma.

Materials and methods. From 2017 to 2018, 45 previously untreated patients with gastric adenocarcinoma (25 with stage I–III, 20 with stage IV) received surgical/combined treatment or chemotherapy, respectively, at the Blokhin Scientific Research Center of Oncology. Tumor tissue was taken before treatment. By using flow cytometry there were evaluated the percentage of tumor tissue infiltration by lymphocytes (CD45+CD14-TIL); T cells (CD3+CD19-TIL); B cells (CD3-CD19+TIL); NK cell (CD3-CD16+CD56+TIL); effector cells CD16 (CD16+Perforin+TIL) and CD8 (CD8+Perforin+TIL) with their cytotoxic potential – active CD16TIL and active CD8TIL; subpopulations of regulatory T cells – NKT cells (CD3+CD16+CD56+TIL), regulatory cells CD4 (CD4+CD25+CD127-TIL) and CD8 (CD8+CD11b-CD28-TIL). The prognostic value of immune cells for overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) was assessed.

Results. A favorable prognosis factor for progression-free survival in patients with local and locally advanced forms of gastric cancer was an increase in the number of CD3-CD19+TIL (HR 0.862, 95% CI 0.782–0.957, $p=0.005$), and an unfavorable prognosis was an increase in NK cells (CD3-CD16+CD56+TIL); HR 1.382, 95% CI 1.087–1.758, $p=0.008$. The negative effect of the relative content of NK cells (CD3-CD16+CD56+TIL) and NKT cells (CD3+CD16+CD56+TIL) on OS of patients with metastatic gastric cancer noted (HR 1.249, 95% CI 0.997–1.564, $p=0.053$; HR 1.127, 95% CI 1.025–1.239, $p=0.013$). At the same time, an increase in the percentage of tumor tissue infiltration by lymphocytes (CD45+CD14-TIL) and an increase in the age of patients (HR 1.005, 95% CI 1.002–1.008, $p=0.003$; HR 1.098, 95% CI 1.031–1.170, $p=0.004$) reduce the incidence of PFS in patients with metastatic gastric carcinoma.

Conclusion. Indices of local immunity can serve as additional prognostic factors for gastric carcinoma.

Key words: gastric adenocarcinoma, local immunity, subpopulations of lymphocytes.

For citation: Khakimova G.G., Tryakin A.A., Zabolina T.N. et al. The effect of local immunity on gastric cancer prognosis. Journal of Modern Oncology. 2020; 22 (1): 36–41. DOI: 10.26442/18151434.2020.1.200049

Введение

Рак желудка (РЖ) занимает 5-е место среди онкологических заболеваний (1 313 000 случаев) и является 3-й причиной смертности от рака (819 000 случаев смерти) в мире [1]. В настоящее время уже не вызывает сомнения, что злокачественная опухоль – это динамическая система, которую следует рассматривать в комплексе со всеми морфологическими составляющими, формирующими ее микроокружение: клетки стромы, клетки системы иммунитета, кровеносные, лимфатические сосуды и экстрацеллюлярный матрикс [1, 2]. Клетки иммунной системы, инфильтрирующие опухоль, в последнее время являются объектом активного изучения [3–5]. Им отводится ключевая роль в концепции «противоопухолевого иммунитета». Многообразие субпопуляции этих клеток, продуктов их синтеза и путей взаимодействия может объяснять их возможное диаметрально противоположное действие: от механизмов противоопухолевой защиты до стимуляции канцерогенеза. В нашей работе основной акцент сделан на изучение интратуморальных клеток и клеток эффекторного звена иммунной системы. Роль естественных киллеров в опухоли довольно широко изучена [6–9]. Инфильтрация опухоли цитотоксическими Т-лимфоцитами в настоящее время является одним из ключевых факторов прогнозирования течения опухолевого процесса, а также рассматривается в качестве предиктора эффективности иммунотерапии [10]. Целью данной работы явилось изучение структуры опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes – TIL) у пациентов с аденокарциномой желудка и оценка их прогностической значимости.

Материалы и методы

В проспективное исследование включены больные РЖ, проходившие лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в период с 2017 по 2018 г. Основные критерии включения пациентов в исследование: возраст пациентов старше 18 лет; морфологическая верификация опухоли – аденокарцинома желудка. Основные критерии исключения пациентов из исследования: наличие в анамнезе воспалительных заболеваний за последние 3 мес; поддерживающая антибактериальная и иммуномодулирующая терапия на момент включения в исследование. Лечение проводилось согласно существующим стандартам (I–II, III стадия – хирургическое или комбинированное лечение; IV стадия – лекарственная терапия).

До начала лечения всем пациентам проведен стандартный комплекс обследований: физикальный осмотр, клинический и биохимический анализ крови, компьютерная томография с целью уточнения распространенности опухолевого процесса. Все пациенты имели удовлетворительный общий статус, определенный по шкале ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) – 0–1 балл.

Лабораторные методы

Анализ показателей локального иммунитета осуществлялся методом проточной цитометрии с целью определения степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TIL); Т-клеток (CD3+CD19-TIL); В-клеток (CD3-CD19+TIL); NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL); эффекторных клеток CD16 (CD16+Perforin+TIL), CD8 (CD8+Perforin+TIL) и их цитотоксического потенциала – active CD16TIL и active CD8TIL; субпопуляций регуляторных Т-клеток – NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL), регуляторных клеток CD4 (CD4+CD25+CD127-TIL) и регуляторных клеток CD8 (CD8+CD11b-CD28-TIL).

Проточно-цитометрический анализ

Структуру субпопуляций иммунокомпетентных клеток оценивали по связыванию с моноклональными антителами различной специфичности методом многопараметрового количественного анализа на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences). Для каждого образца анализировали не менее 500–5000 клеток в CD45+ гейте. Использовали DotPlot-анализ цитограмм с коммерческим программным обеспечением BD CellQuest PRO software (BD Biosciences).

Дальнейшую обработку FSC-файлов первичных цитометрических данных проводили с использованием программного пакета WinMDI, версия 2.8.

Статистическая обработка результатов

Статистическая обработка материала и расчеты показателей проведены с использованием статистического пакета программ Statistica for Windows v.10 и SPSS v21. Достоверность различий между количественными показателями вычисляли по критерию t Стьюдента для нормально распределенных величин или по непараметрическим критериям Манна–Уитни и Вилкоксона. Для сравнения качественных параметров применяли точный критерий Фишера и χ^2 . Различия считали значимыми при $p < 0,05$ (95% точности). Степень взаимосвязи параметров оценивали с помощью корреляционного анализа по Спирмену.

Основные оцениваемые параметры

Основными конечными точками в данном исследовании были общая выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП). ОВ определяли как время от момента постановки диагноза РЖ до момента смерти пациента от любой причины либо до даты последнего контакта с больным. ВБП определяли как время от начала лечения заболевания до времени регистрации роста имеющихся проявлений болезни либо появления новых метастатических очагов. Показатели выживаемости рассчитывали из реальных данных о длительности жизни каждого больного на момент завершения исследования с использованием методики Каплана–Мейера. Сравнение кривых выживаемости – с использованием log-rank-теста.

Результаты исследования Характеристика пациентов

В исследование было включено 45 пациентов с РЖ – 19 (42,2%) мужчин и 26 (57,8%) женщин. Возраст пациентов варьировал от 37 до 80 лет (средний возраст $60,9 \pm 10,9$ года, медиана 62 года). 25 (55,6%) пациентов с локализованным РЖ получили на первом этапе хирургическое лечение [из них 16 (64%) пациентов получали адьювантную терапию] и 20 (44,4%) пациентов с IV стадией получили химиотерапию (2-я группа) в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» в 2017–2018 гг. Среднее время наблюдения за больными составило $16,4 \pm 6,2$ мес (от 0,7 до 23,6 мес, медиана 18,5 мес). Из 20 (44,4%) пациентов с IV стадией заболевания метастатическое поражение представлено асцитом у 10 больных; метастазами в легких – 2; метастазами в печень – 5; у 3 – диссеминация затрагивала несколько областей (печень, легкие, висцеральные и забрюшинные лимфатические узлы).

Исследование клеточного состава опухолевой ткани

Полученные результаты представлены в таблице.

При оценке иммунофенотипа TIL относительно таких клинических факторов, как возраст, пол, стадия заболевания, степень дифференцировки (G) и тип Lauren у 45 пациентов с РЖ выявлена сильная сила корреляции между увеличением стадии заболевания и снижением степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TIL), $R=0,74$.

При этом при подгрупповом анализе было показано, что медиана процентного содержания TIL (CD45+CD14-TIL) достоверно выше у пациентов с I–III стадиями заболевания по сравнению с мРЖ – 6,8% vs 3,4% ($p=0,000$). Напротив, медиана процентного содержания NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL) повышается по мере увеличения стадии заболевания с 3,2% в 1-й группе до 6,9% во 2-й группе ($p=0,019$). Медиана Т-клеток с фенотипом CD3+CD19-TIL имела тенденцию к повышению у пациентов 2-й группы по сравнению с 1-й группой – 86,3% vs 76,6%, однако различия достоверно не значимы.

Медиана процентного содержания В-клеток (CD3-CD19+TIL) между группами достоверно не различалась. Анализ цитотоксического потенциала клеток-эффекторов показал, что медиана процентного содержания эффекторных

Показатели локального иммунитета у больных раком желудка Indices of local immunity in patients with gastric cancer					
Показатель	Хирургическая группа (I)		Химиотерапевтическая группа (II)		p
	Медиана	Квартили	Медиана	Квартили	
CD45+CD14-TIL	6,8	1,9–14,0	3,4	1,9–10,5	0,000
CD3+ CD19-TIL	76,6	65,3–85,9	86,3	72,2–89,9	0,112
CD3-CD19+TIL	6,0	1,6–25,6	4,2	1,7–17,7	0,343
CD3-CD16+CD56+TIL	3,2	1,4–5,2	6,9	3,2–9,8	0,019
CD3+CD4+TIL	37,4	27,8–49,6	37,0	26,6–55,6	0,954
CD3+CD8+TIL	30,6	22,4–43,2	39,0	27,2–54,7	0,204
CD16+Perforin+TIL	0,5	0,0–1,2	4,3	1,9–6,0	0,000
active CD16TIL	17,9	0,0–30,8	42,3	15,3–56,3	0,181
CD8+Perforin+TIL	1,8	0,7–3,1	7,7	3,0–28,6	0,002
active CD8TIL	4,6	2,6–9,2	16,7	5,7–65,1	0,034
CD3+CD16+CD56+TIL	5,1	2,3–7,5	11,2	6,1–13,8	0,000
CD4+CD25+CD127-TIL	15,4	6,6–20,9	9,7	4,7–16,2	0,228
CD8+CD11b-CD28-TIL	53,8	43,2–60,3	41,9	33,3–69,6	0,262

Рис. 1. Однофакторный регрессионный анализ зависимости ОВ (а), ВБП (б) от показателей локального иммунитета у 1-й группы больных РЖ по Коксу.
Fig. 1. One-way Cox regression analysis of the relationship between overall survival – OS (a), progression-free survival – PFS (b) and local immunity indices in the 1st group of patients with gastric cancer (GC).

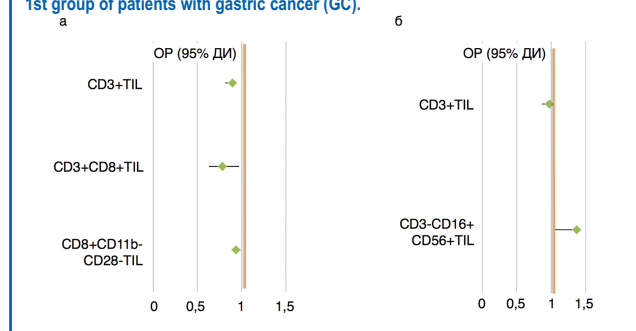
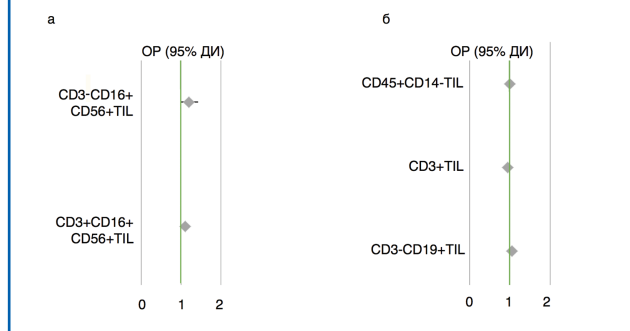


Рис. 2. Однофакторный регрессионный анализ зависимости ОВ, ВБП от показателей локального иммунитета у 2-й группы больных РЖ по Коксу.
Fig. 2. One-way Cox regression analysis of the relationship between OS, PFS and local immunity indices in the 2nd group of patients with GC.



CD16 (CD16+Perforin+TIL) достоверно выше у пациентов с мРЖ по сравнению с пациентами с локальными и местно-распространенными формами РЖ 4,3–0,5%, ($p=0,000$). Аналогичную тенденцию имела и функциональная активность эффекторных CD16 клеток (active CD16-TIL), 42,3–17,9%, однако значения достоверно не значимы. Схожая закономерность выявлена и для клеток-эффекторов CD8 (CD8+Perforin+TIL), где значения функциональной активности CD8 клеток также были значимыми, 7,7–1,8% ($p=0,002$), 16,7–4,6% ($p=0,034$). При анализе субпопуляций регуляторных Т-клеток опухолевой ткани достоверно значимыми явилось лишь высокое содержание НКТ-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) при метастатическом раке желудка (мРЖ) по сравнению с I–III стадиями заболевания, 11,2–5,1% ($p=0,000$).

Прогностическое значение локального иммунитета

Среднее время наблюдения за больными составило 16,4±6,2 мес (от 0,7 до 23,6 мес, медиана 18,5 мес). За этот период умерли 28,9% (13/45) больных, в том числе 12% (3/25) в 1-й группе и 50% (10/20) – во 2-й ($p=0,007$). Прогрессирование заболевания зарегистрировано у 29 (64,4%) пациентов: у 9 (36%) в 1-й группе и у 20 (100%) пациентов 2-й группы. Общая 1-летняя выживаемость пациентов 1-й группы составила 92,0±5,4%; 2-й группы – 70,0±10,2%. 1-летняя ВБП для 1 и 2-й групп составила 64,0±9,6 и 10,0±6,7%, соответственно.

Для определения независимых прогностических признаков, влияющих на ВБП и ОВ, нами был выполнен последовательный регрессионный анализ Кокса. В него были включены все переменные из однофакторного анализа с уровнем $p<0,05$.

По результатам исследования при выполнении подгруппового анализа у пациентов с ранним и местно-распростра-

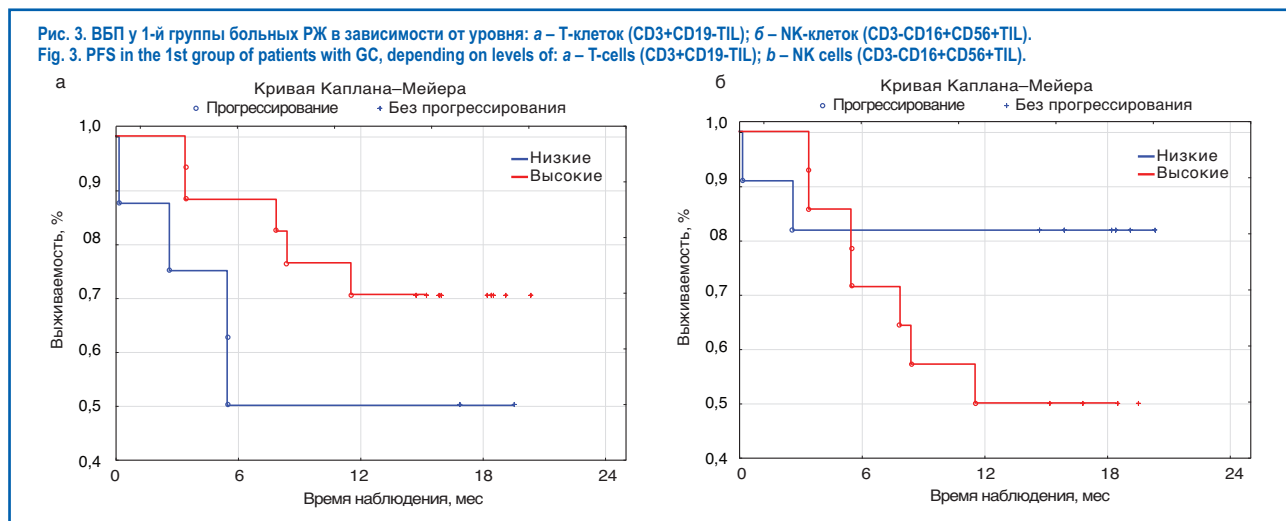
ненным РЖ (1-я группа) обнаружена взаимосвязь процентного содержания цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+TIL), отношении рисков (ОР) 0,782, 95% доверительный интервал (ДИ) 0,631–0,970, $p=0,026$, регуляторных CD8-клеток (CD8+CD11b-CD28-TIL), ОР 0,935, 95% ДИ 0,885–0,989, $p=0,018$, с ОВ, а НК-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL), ОР 1,195, 95% ДИ 1,042–1,369, $p=0,011$, – с ВБП, и Т-клеток (CD3+CD19-TIL) – с ОВ и ВБП (ОР 0,894, 95% ДИ 0,813–0,983, $p=0,021$ и ОР 0,915, 95% ДИ 0,862–0,971, $p=0,003$, соответственно (рис. 1).

Для пациентов с мРЖ (2-я группа) отмечено влияние НК-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL), ОР 1,202, 95% ДИ 1,011–1,429, $p=0,037$; НКТ-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL), ОР 1,112, 95% ДИ 1,012–1,221, $p=0,027$ – на ОВ; степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TIL), ОР 1,003, 95% ДИ 1,000–1,006, $p=0,041$, Т-клеток (CD3+CD19-TIL), ОР 0,952, 95% ДИ 0,908–0,998, $p=0,041$, В-клеток (CD3-CD19+TIL), ОР 1,058, 95% ДИ 1,001–1,117, $p=0,045$ – на ВБП (рис. 2).

Выполнение многофакторного регрессионного анализа по Коксу для ОВ 1-й группы не позволило построить значимую математическую модель с независимыми факторами. Однако многофакторный регрессионный анализ по Коксу для ВБП ($\chi^2=19,5$, $p=0,00001$) показал, что увеличение относительного содержания Т-клеток (CD3+CD19-TIL) является благоприятным фактором прогноза у больных с ранним и местно-распространенным РЖ (ОР 0,862, 95% ДИ 0,782–0,957, $p=0,005$). И, напротив, повышение НК-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL) ухудшает показатель ВБП (ОР 1,382, 95% ДИ 1,087–1,758, $p=0,008$).

С помощью ROC-кривых найдены пороговые значения, соответствующие оптимальному соотношению чувствительности и специфичности в определении вероятности

Рис. 3. ВБП у 1-й группы больных РЖ в зависимости от уровня: а – Т-клеток (CD3+CD19-TIL); б – NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL).
Fig. 3. PFS in the 1st group of patients with GC, depending on levels of: а – T-cells (CD3+CD19-TIL); б – NK cells (CD3-CD16+CD56+TIL).



прогрессирования. Для Т-клеток (CD3+CD19-TIL) пороговое значение составило 70%, для NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL) – 3% (рис. 3).

Различия между кривыми статистически незначимы (log-rank test) ввиду небольшого объема групп сравнения, однако видно, что высокие показатели (5/17 – 29,4%) Т-клеток (CD3+CD19-TIL) снижают вероятность прогрессирования и, следовательно, улучшают показатели ВБП, а высокие значения (7/14 – 50,0%) NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL) – ухудшают ВБП.

Аналогичным образом исследовалась зависимость ОВ и ВБП от показателей локального иммунитета у больных РЖ 2-й группы. У пациентов 2-й группы выполнение многофакторного регрессионного анализа по Коксу для ОВ позволило построить значимую математическую модель ($\chi^2=9,553$, $p=0,008$), где увеличение процентного содержания NK-клеток (CD3-CD16+CD56+TIL) и NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) является неблагоприятными факторами прогноза для ОВ больных мРЖ (ОР 1,249, 95% ДИ 0,997–1,564, $p=0,053$, и ОР 1,127, 95% ДИ 1,025–1,239, $p=0,013$, соответственно).

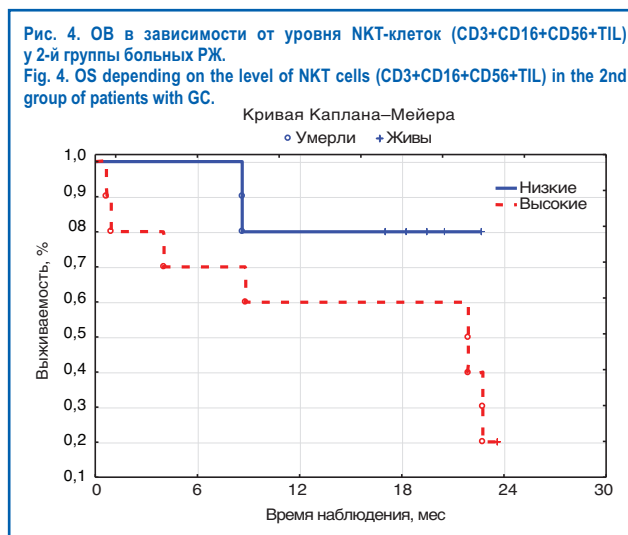
С помощью ROC-кривых найдено пороговое значение только для NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) – 11%, соответствующее оптимальному соотношению чувствительности и специфичности в определении вероятности умереть (рис. 4).

Различия между кривыми были также статистически незначимы. Для ВБП увеличение процентного содержания инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами (CD45+CD14-TIL) и увеличение возраста больных мРЖ являются факторами неблагоприятного прогноза (ОР 1,005, 95% ДИ 1,002–1,008, $p=0,003$, и ОР 1,098, 95% ДИ 1,031–1,170, $p=0,004$, соответственно).

Обсуждение

Развитие рака является сложным процессом, зависящим от взаимодействия отдельных клеток в опухоли, микроокружения и иммунной системы, которые могут как стимулировать, так и подавлять рост и инвазию опухоли [11]. ТИЛ действуют как главные детерминанты иммунного ответа человека на опухолевые клетки. Считается, что степень инфильтрации ТИЛ связана с контролем роста и метастазирования рака, а также с прогнозированием ответа на химиотерапию и лучевую терапию. Тем не менее, результаты исследований по изучению ТИЛ при злокачественных опухолях молочной железы, пищевода и легких противоречивы [12–14]. В частности, из-за небольшого объема выборки и исследования различных подгрупп Т-клеток прогностическая роль ТИЛ при РЖ еще не была полностью определена. Однако в метаанализе 2017 г. с включением более 30 исследований было выявлено, что повышение относительного содержания Т-клеток (CD3+CD19-TIL) увеличивает ОВ (ОР 0,52, 95% ДИ 0,43–0,63, $p=0,001$) [11]. Аналогичные результаты получены и в нашем исследовании. Медиана высо-

Рис. 4. ОВ в зависимости от уровня NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) у 2-й группы больных РЖ.
Fig. 4. OS depending on the level of NKT cells (CD3+CD16+CD56+TIL) in the 2nd group of patients with GC.



кого процентного содержания Т-клеток (CD3+CD19-TIL) коррелировала с ОВ и ВБП в обеих группах. При этом при выполнении многофакторного анализа по Коксу выявлена корреляция между уровнем Т-клеток (CD3+CD19-TIL) с увеличением ВБП у пациентов с ранними и местно-распространенными формами РЖ (ОР 0,862, 95% ДИ 0,782–0,957, $p=0,005$). При однофакторном исследовании отмечено влияние цитотоксических CD8 Т-лимфоцитов на показатель ОВ у пациентов 1-й группы (ОР 0,782, 95% ДИ 0,631–0,970, $p=0,026$). Данные подтверждаются работами J. Lu и соавт., исследовавших роль цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3+CD8+TIL) у пациентов с РЖ после адъювантной химиотерапии, где высокий уровень цитотоксических лимфоцитов CD8 уменьшал риск прогрессирования (ОР 0,37, 95% ДИ 0,23–0,57, $p=0,001$) [15].

В настоящее время ключевую роль в уклонении от иммунного надзора отводят регуляторным Т-клеткам.

Они представляют собой разновидность Т-лимфоцитов с иммунорегуляторной способностью, которые могут ингибировать пролиферацию и секрецию цитокинов эффекторными Т-лимфоцитами. Ряд исследований подтвердил, что регуляторные CD8 клетки с фенотипом CD8+CD11b-CD28-TIL и NKT-клетки с фенотипом CD3+CD16+CD56+TIL являются факторами неблагоприятного прогноза и коррелируют с прогрессированием заболевания при РЖ [16–18]. Например, анализ NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) ранее нелеченных пациентов с РЖ и контрольной группы выявил, что процентное содержание NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) в опухолях было значительно ниже, чем в неопухолевых тканях (18,10% vs 26,50%, $p<0,01$). Кроме этого, низкий уровень Т-регуляторных клеток прямо

пропорционален клинической стадии заболевания, включая размер опухоли, инвазию опухоли и отдаленные метастазы (TNM) [19]. Таким образом, эти данные позволяют предположить, что уменьшение количества Т-регуляторных клеток связано с прогрессированием опухоли и снижением ОВ пациентов с РЖ. Напротив, полученные результаты многофакторного анализа у пациентов с мРЖ показали, что увеличение относительного содержания NKT-клеток является фактором неблагоприятного прогноза для ОВ (ОР 1,127, 95% ДИ 1,025–1,239, $p=0,013$). Еще одним широко исследуемым показателем локального иммунитета являются NK-клетки (CD3–CD16+CD56+TIL). Считается, что естественная цитотоксичность, опосредованная NK-клетками, играет важную роль в ингибировании метастазирования опухолей, а снижение активности NK-клеток приводит к высокой частоте возникновения опухолей. Несмотря на убедительные данные экспериментальных исследований, роль NK-клеток в иммунологическом надзоре все еще плохо определена. В работе Н. Takeuchi и соавт. при исследовании 156 пациентов с РЖ II–III стадии выявлено, что 5-летняя ОВ была выше в группе больных, где процентное содержание их было выше (больше 25%), $p=0,05$ [20]. Согласно многофакторному анализу повышение уровня NK-клеток ухудшало ВВП у пациентов с ранними и местно-распространенными формами РЖ (ОР 1,382, 95% ДИ 1,087–1,758, $p=0,008$) и ОВ у пациентов с мРЖ (ОР 1,249, 95% ДИ 0,997–1,564, $p=0,053$). Эти данные показали, что активность NK-клеток может быть связана с объемом и распространением опухоли. Например, измерение предоперационной активности NK-клеток может иметь значение для прогноза пациентов с РЖ и для последующего клинического лечения. Таким образом, у больных с ранними

и местно-распространенными формами РЖ увеличение уровня Т-клеток (CD3+CD19–TIL) увеличивает ВВП, и, напротив, рост процентного содержания NK-клеток (CD3–CD16+CD56+TIL) является фактором неблагоприятного прогноза. Для пациентов с мРЖ с сохранением линейности соотношения основных иммунных клеток показатели локального иммунитета влияют как на ОВ, так и на ВВП. Увеличение процентного содержания NK-клеток (CD3–CD16+CD56+TIL) и NKT-клеток (CD3+CD16+CD56+TIL) снижает ОВ. В то же время с увеличением возраста пациентов и степени инфильтрации опухолевой ткани лимфоцитами увеличивается вероятность прогрессирования заболевания. Соответственно, субпопуляции иммунокомпетентных клеток локального иммунитета играют особую роль при РЖ и приводят к различным исходам у пациентов.

Выводы

Анализ опухоли-инфильтрирующих лимфоцитов показал, что этот агрессивный вид рака является весьма гетерогенным по данному признаку. Проведенный корреляционный анализ позволил выявить прогностическое значение показателей локального иммунитета. Дальнейшие исследования должны проанализировать возможную предиктивную роль показателей локального иммунитета у больных РЖ в отношении эффективности иммунотерапии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare that there is not conflict of interests.

Литература/References

1. Бережная Н.М. Взаимодействие клеток системы иммунитета с другими компонентами микроокружения. *Онкология*. 2009; 1 (2): 86–93. [Berezhnaya N.M. Vzaimodeistvie kletok sistemy immuniteta s drugimi komponentami mikrookruzheniya. *Onkologiya*. 2009; 1 (2): 86–93 (in Russian).]
2. Mantovani A et al. Tumor immunity: effector response to tumor and role of the microenvironment. *Lancet* 2008; 371 (9614): 771–83.
3. Тупицын Н.Н. Иммунофенотип рака молочной железы. В кн.: *Рак молочной железы*. Под ред. Н.Е. Кушлинского, С.М. Портного, К.П. Лактионова. М.: Издательство РАМН, 2005; с. 174–97. [Tupitsyn N.N. Immunofenotip raka molochnoi zhelezy. V kn.: *Rak molochnoi zhelezy*. Pod red. N.E. Kushlinskogo, S.M. Portnogo, K.P. Laktionova. Moscow: Izdatel'stvo RAMN, 2005; p. 174–97 (in Russian).]
4. Balch C, Riley L, Bae T et al. Patterns of human tumor infiltrating lymphocytes in 120 human cancers. *Arch Surg* 1990; 125 (2): 200–5.
5. Galon J, Pages F et al. Cancer classification using the immunoscore: a worldwide task force. *J Transl Med* 2012; 10: 205.
6. Ali HR, Provenzano E, Dawson SJ et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12,439 patients. *Ann Oncol* 2014; 25 (8): 1536–43.
7. Ladanyi A. Prognostic and predictive significance of immune cells infiltrating cutaneous melanoma. *Pigment Cell Melanoma Res* 2015. DOI: 10.1111/pcmr.12371
8. Sconocchia G et al. NK cells and T cells cooperate during the clinical course of colorectal cancer. *Oncoimmunology* 2014; 3 (8): e952197.
9. D'Angelo SP et al. Prevalence of tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in the soft tissue sarcoma microenvironment. *Hum Pathol* 2015; 46 (3): 357–65. DOI: 10.1016/j.humpath.2014.11.001
10. Djenidi F et al. CD8+CD103+ tumor-infiltrating lymphocytes are tumor-specific tissue-resident memory T cells and a prognostic factor for survival in lung cancer patients. *J Immunol* 2015; 194 (7): 3475–86. DOI: 10.4049/jimmunol.1402711
11. Xiao Zheng, Xing Song, Yingjie Shao et al. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: A meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8. 10.18632/oncotarget.18065.
12. Müller P, Rothschild SI, Arnold W et al. Metastatic spread in patients with non-small cell lung cancer is associated with a reduced density of tumor-infiltrating T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2016; 65: 1–1.
13. Kollmann D, Ignatova D, Jedamzik J et al. Expression of programmed cell death protein 1 by tumor-infiltrating lymphocytes and tumor cells is associated with advanced tumor stage in patients with esophageal adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol* 2017; 24: 2698–706.
14. Huszno J, Nożyńska EZ, Lange D et al. The association of tumor lymphocyte infiltration with clinicopathological factors and survival in breast cancer. *Pol J Patol* 2017; 68: 26–32.
15. Lu J, Xu Y, Wu Y et al. Tumor-infiltrating CD8+ T cells combined with tumor-associated CD68+ macrophages predict postoperative prognosis and adjuvant chemotherapy benefit in resected gastric cancer. *BMC Cancer* 2019; 920 (19).
16. Ebihara T, Sakai N, Koyama S. Suppression by sorted CD8+CD11b-cells from T-cell growth factor-activated peripheral blood lymphocytes on cytolytic activity against tumour in patients with gastric carcinoma. *Eur J of Cancer* 1991; 27 (12): 1654–7/
17. Hou J, Yu Z, Xiang R et al. Correlation between infiltration of FOXP3+ regulatory T cells and expression of B7-H1 in the tumor tissues of gastric cancer. *Exp Molecular Patol* 2014; 96 (3): 284–91.
18. Yuan X-L, Chen L, Li M-X et al. Elevated expression of Foxp3 in tumor-infiltrating Treg cells suppresses T-cell proliferation and contributes to gastric cancer progression in a COX-2-dependent manner. *Clin Immunol* 2010; 134 (3): 277–88.
19. Peng LS, Mao FY, Zhao YL et al. Altered phenotypic and functional characteristics of CD3+CD56+ NKT-like cells in human gastric cancer. *Oncotarget* 2016; 7 (34): 55222–30. DOI: 10.18632/oncotarget.10484
20. Hideya Takeuchi, Yōshibiko Maehara, Eriko Tokunaga et al. Prognostic Significance of Natural Killer Cell Activity in Patients With Gastric Carcinoma: A Multivariate Analysis. *Am J Gastroenterol* 2001; 96 (2): 574–8.

Информация об авторах / Information about the authors

Хакимова Гулноз Голибовна – аспирант онкологического отделения лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) №3 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: hgg_doc@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4970-5429>

Трякин Алексей Александрович – д-р мед. наук, гл. науч. сотр. онкологического отделения лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) №2 ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>

Заботина Татьяна Николаевна – д-р биол. наук, зав. отд. клинико-лабораторной диагностики, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>

Борунова Анна Анатольевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5874-5804>

Малихова Ольга Александровна – д-р мед. наук, проф., зав. эндоскопическим отделением ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина».

Джураев Фаррух Миржалолович – аспирант онкологического отделения лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое) №3, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина»

Перегородиев Иван Николаевич – канд. мед. наук, науч. сотр. отделения хирургических методов лечения №6 абдоминальной онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1852-4972>

Захарова Елена Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2790-6673>

Табаков Дмитрий Вячеславович – канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>

Gulnoz G. Khakimova – Graduate Student, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: hgg_doc@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4970-5429>

Alexey A. Tryakin – D. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>

Tatyana N. Zabolina – D. Sci. (Biol.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>

Anna A. Borunova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5874-5804>

Olga A. Malikhova – D. Sci. (Med.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology

Farruh M. Juraev – Graduate Student, Blokhin National Medical Research Center of Oncology

Ivan N. Peregorodiev – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1852-4972>

Elena N. Zaharova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2790-6673>

Dmitriy V. Tabakov – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>

Статья поступила в редакцию / The article received: 27.01.2020

Статья принята к печати / The article approved for publication: 06.03.2020