

DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-40-46



Прогностическая значимость экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях пищевода

О.В. Ковалева, М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, П.А. Подлесная, В.В. Мочальникова, А.Н. Грачев

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

Контакты: Ольга Владимировна Ковалева ovkovaleva@gmail.com

Введение. Рак пищевода находится на 6-м месте по показателям смертности среди злокачественных новообразований. Для понимания молекулярных механизмов его прогрессии необходимо изучать не только непосредственно опухолевые клетки, но и клетки микроокружения опухоли. В данной работе мы исследовали макрофаги, ассоциированные с опухолью, и их различные фенотипы, используя мембранный белок, индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа (indoleamine 2,3-dioxygenase-1, IDO1) в качестве маркера макрофагов 1-го типа и сквенджер-рецептор макрофагов (CD204) в качестве маркера макрофагов 2-го типа.

Цель работы – исследование экспрессии IDO1 и CD204 в опухолях плоскоклеточного рака пищевода и оценка ее прогностической значимости.

Материалы и методы. В исследование были включены образцы опухолей, полученные от 48 больных плоскоклеточным раком пищевода. С помощью иммуногистохимического исследования проведена оценка экспрессии CD204 и IDO1. Анализ выживаемости осуществляли путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера. Сравнение достоверности различий проводили при помощи логарифмического рангового критерия. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. Экспрессия CD204 была обнаружена в макрофагах стромы в 100 % исследуемых образцов и не обнаружена в опухолевых клетках. Было выявлено, что при раке пищевода IDO1 экспрессируется как в стромальных клетках (92 % образцов), так и в опухолевых (44 % образцов). Для CD204 в стромальных и IDO1 в опухолевых клетках не наблюдалось ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками больных. Для IDO1 в строме опухоли выявлена ассоциация со стадией заболевания ($p = 0,0450$) и наличием регионарных метастазов ($p = 0,0279$). Анализ показателей выживаемости продемонстрировал, что CD204+ является маркером благоприятного прогноза рака пищевода (отношение рисков 0,455, $p = 0,0419$).

Заключение. В проведенном исследовании было показано, что экспрессия IDO1 в строме опухоли ассоциирована с более благоприятными клинико-морфологическими характеристиками пациентов. Также выявлено, что повышенное содержание в строме опухоли CD204+ макрофагов служит показателем хорошего прогноза для больных раком пищевода.

Ключевые слова: макрофаг, рак пищевода, воспаление, прогноз

Для цитирования: Ковалева О.В., Рашидова М.А., Самойлова Д.В. и др. Прогностическая значимость экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях пищевода. Успехи молекулярной онкологии 2021;8(2):40–6. DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-40-46.

Prognostic significance of CD204 and IDO1 expression in esophageal tumors

O. V. Kovaleva, M. A. Rashidova, V. V. Mochalnikova, D. V. Samoilova, P. A. Podlesnaya, A. N. Gratchev

N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Contacts: Olga Vladimirovna Kovaleva ovkovaleva@gmail.com

Introduction. Cancer of the esophagus ranks sixth in mortality among malignant neoplastic diseases. To understand the molecular mechanisms of its progression, it is necessary to study not only tumor cells directly, but also cells of the microenvironment. In this work, we studied tumor-associated macrophages and their different phenotypes using membrane protein, indoleamine 2,3-dioxygenase-1 (IDO1) as a marker for type 1 macrophages and macrophage scavenger receptor (CD204) as a marker for type 2 macrophages.

The objective of this work was to study the expression of IDO1 and CD204 in tumors of squamous cell carcinoma of the esophagus and to assess its prognostic value.

Materials and methods. The study included tumor samples obtained from 48 patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. The expression of CD204 and IDO1 was assessed by immunohistochemistry. Survival analysis

was carried out by constructing survival curves using the Kaplan–Meier method. Comparison of the significance of differences was performed using the logarithmic rank test. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. We analyzed the expression of CD204 and IDO1 in esophageal squamous cell carcinoma tumors. Expression of CD204 was detected in stromal macrophages in 100 % of cases and was not detected in tumor cells. We have shown that in esophageal cancer, IDO1 is expressed in both stromal and tumor cells. In tumor cells, the expression of IDO1 was found in 44 % of the samples, in stromal cells, IDO1 was expressed in 92 % of cases. No association with clinical and morphological characteristics was observed for CD204 in stromal cells and IDO1 in tumor cells. For IDO1 expressed in stromal cells, an association with the stage of the disease ($p = 0.0450$) and the presence of regional metastases ($p = 0.0279$) was observed. Survival analysis showed that CD204 is a marker of a favorable prognosis for esophageal cancer (hazard ratio 0.455, $p = 0.0419$).

Conclusion. This study has shown that the expression of IDO1 in the tumor stroma is associated with more favorable clinical characteristics. It has also been shown that an increased content of CD204+ macrophages is a marker of a good prognosis for esophageal cancer.

Key words: macrophage, esophageal cancer, inflammation, prognosis

For citation: Kovaleva O.V., Rashidova M.A., Mochalnikova V.V. et al. Prognostic significance of CD204 and IDO1 expression in esophageal tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(2):40–6. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2021-8-2-40-46.

ВВЕДЕНИЕ

Рак пищевода находится на 6-м месте по смертности среди злокачественных новообразований. Около 70 % больных умирают в течение года после постановки диагноза, поскольку в большинстве случаев заболевание выявляется уже на поздних стадиях. Существуют 2 основных подтипа рака пищевода: плоскоклеточная карцинома пищевода и аденокарцинома пищевода. Каждый из них имеет свои факторы риска и патологические особенности. На долю плоскоклеточной карциномы пищевода приходится до 90 % случаев рака пищевода во всем мире. Несмотря на последние достижения в диагностике и терапии злокачественных новообразований, прогноз при данном заболевании остается неблагоприятным.

Для понимания молекулярных механизмов развития рака пищевода необходимо обращать внимание не только непосредственно на опухолевые клетки, но и на клетки микроокружения опухоли. Ускользание опухоли от иммунологического надзора имеет решающее значение для ее прогрессии. Опухолевые клетки могут подавлять иммунный ответ за счет привлечения различных популяций иммунокомпетентных клеток. Более глубокое понимание механизма взаимодействия опухолевых клеток со своим микроокружением может открыть новое направление развития терапевтических и диагностических стратегий. В данной работе особое внимание уделено такой клеточной популяции, как макрофаги, ассоциированные с опухолью. В исследовании в качестве маркера макрофага 1-го типа был использован индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа (indoleamine 2,3-dioxygenase-1, IDO1), а в качестве маркера макрофага 2-го типа — мембранный белок, скавенджер-рецептор макрофагов (CD204).

Индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа — это фермент, участвующий в метаболизме триптофана с образованием *N*-формилкинуренина. Гиперэкспрессия IDO1 вызывает дефицит триптофана в опухоли, что

приводит к супрессии Т-эффекторных клеток, привлечению регуляторных Т-клеток и, как следствие, к подавлению противоопухолевого иммунного ответа. Экспрессия IDO1 обнаруживается и в нормальных тканях (например в плаценте, легких, тонком и толстом кишечнике, селезенке, печени, почках, желудке и мозге) и участвует в антимикробном и противоопухолевом ответе, регуляции иммунного ответа и антиоксидантной защите. Кроме того, под действием интерферона гамма (IFN γ) IDO1 может оказаться в эпителиальных клетках, фибробластах, клетках эндотелия и гладких мышц, а также в опухолевых клетках [1–3].

Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о наличии корреляции экспрессии IDO1 с прогнозом заболевания. Так, было показано, что экспрессия IDO1 является маркером плохого прогноза для рака молочной железы [4], шейки матки [5], эндометрия [6], мочевого пузыря [7], мультиформной глиобластомы [8] и меланомы [9]. На примере новообразований легкого было показано, что IDO1 больше обнаруживается в опухолевых клетках, чем в стро-ме [10].

CD204 является трансмембранным рецептором, который относится к семейству скавенджер-рецепторов класса А типа 1 и участвует в метаболизме липидов, атерогенезе, подавлении провоспалительного ответа, опосредованного Toll-подобным рецептором 4 [11]. Известно, что CD204+ макрофаги ассоциированы с агрессивным поведением опухолей для многих нозологий и зачастую коррелируют с плохим прогнозом [12, 13]. Однако M. Rakaee и соавт. показали, что большое содержание CD204+ и CD68+ макрофагов может являться независимым благоприятным прогностическим фактором при немелкоклеточном раке легкого [14].

Цель данной работы — исследование экспрессии IDO1 и CD204 в опухолях плоскоклеточного рака пищевода (ППР) и их прогностической значимости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 48 больных ПРП (36 мужчин и 12 женщин), проходивших обследование и лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина Минздрава России. Средний возраст пациентов составил 61 год (43–79 лет). Все процедуры, выполненные в ходе исследования с участием людей, соответствуют стандартам этического комитета организации, Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого пациента получено информированное добровольное согласие на участие в исследовании. Клинический диагноз у всех больных подтвержден данными морфологического исследования опухоли (согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019)). Выборка включала 10 образцов высокодифференцированного, 28 образцов умеренно дифференцированного и 10 образцов низкодифференцированного рака пищевода. К моменту хирургического вмешательства у 23 пациентов были регионарные метастазы. Сбор данных о выживаемости проводился до декабря 2019 г. Медиана выживаемости составила 40 мес (от 2 до 152 мес) от момента операции до последнего контакта с пациентами. Данные о выживаемости собраны для 37 пациентов, из которых 23 (62,0 %) умерли, а 14 (38,0 %) были живы в период наблюдения. Детальная характеристика исследуемой выборки больных ПРП представлена в табл. 1.

Иммуногистохимическое исследование выполнено по стандартной методике на срезах опухолевой ткани. Для демаскировки антигена использовали Tris-EDTA буфер pH 9.0 («ПраймБиоМед», Москва). Первичные антитела к CD204 (HPA000272; Sigma, США; разведение 1: 2000) и IDO1 (clone D5J4E; Cell Signaling Technology, США; разведение 1: 200) инкубировали в течение 60 мин. Мы использовали универсальную двухкомпонентную систему детекции PrimeVision, козы антитела к IgG мыши/кролика, пероксидазе хрена (HRP) («ПраймБиоМед», Москва) согласно инструкции производителя.

Результаты анализа общей экспрессии CD204 и IDO1 в строме опухоли выражали в баллах исходя из количества антигенпозитивных клеток в поле зрения при увеличении $\times 400$ (0 – < 1 %; 1 – < 10 %; 2–11 – 50 %; 3 – > 50 %). Для дальнейшей оценки результатов образцы были объединены в группы: с низкой экспрессией (0–1 балл) и с высокой экспрессией (2–3 балла) для IDO1 в строме и с низкой экспрессией (1–2 балла) и с высокой экспрессией (3 балла) для CD204. Для анализа прогностической значимости экспрессии IDO1 в опухолевых клетках образцы также были разделены на группы: с ее наличием или с ее отсутствием.

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием GraphPad Prizm v. 9.

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики больных плоскоклеточным раком пищевода

Table 1. Clinical and morphological characteristics of patients with esophageal squamous cell carcinoma

Показатель Parameter	Число пациентов, абс. (%) Number of patients, abs. (%)
Возраст, лет: Age, years:	
<60	26 (54)
>60	22 (46)
Пол: Gender:	
мужской male	36 (75)
женский female	12 (25)
Стадия: Stage:	
I–II	25 (52)
III–IV	23 (48)
Наличие регионарных метастазов Nodal status	
N–	25 (52)
N+	23 (48)
Дифференцировка: Differentiation:	
G1/2	38 (79)
G3	10 (21)

При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей применяли непараметрический критерий Манна–Уитни. Анализ показателей выживаемости проводили путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера. Сравнение достоверности различий выполняли при помощи логарифмического рангового критерия. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Экспрессия CD204 и IDO1 в опухолях пищевода.

Мы провели анализ экспрессии CD204 и IDO1 в опухолях ПРП. Экспрессия CD204 обнаруживалась в макрофагах стромы в 100 % исследованных образцов. В опухолевых клетках она не наблюдалась. Также мы показали, что при раке пищевода IDO1 экспрессируется как в стромальных клетках, так и в опухолевых. В опухолевых клетках экспрессия IDO1 обнаруживалась в 44 % образцов (21 случай из 48). В стромальных клетках IDO1 экспрессировался в подавляющем большинстве случаев (в 44 из 48). Далее мы провели анализ ассоциации экспрессии исследуемых маркеров с клинико-морфологическими характеристиками пациентов. Полученные данные представлены на рис. 1.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что для экспрессии CD204 в строме опухоли и IDO1 в опухолевых клетках не наблюдается ассоциации

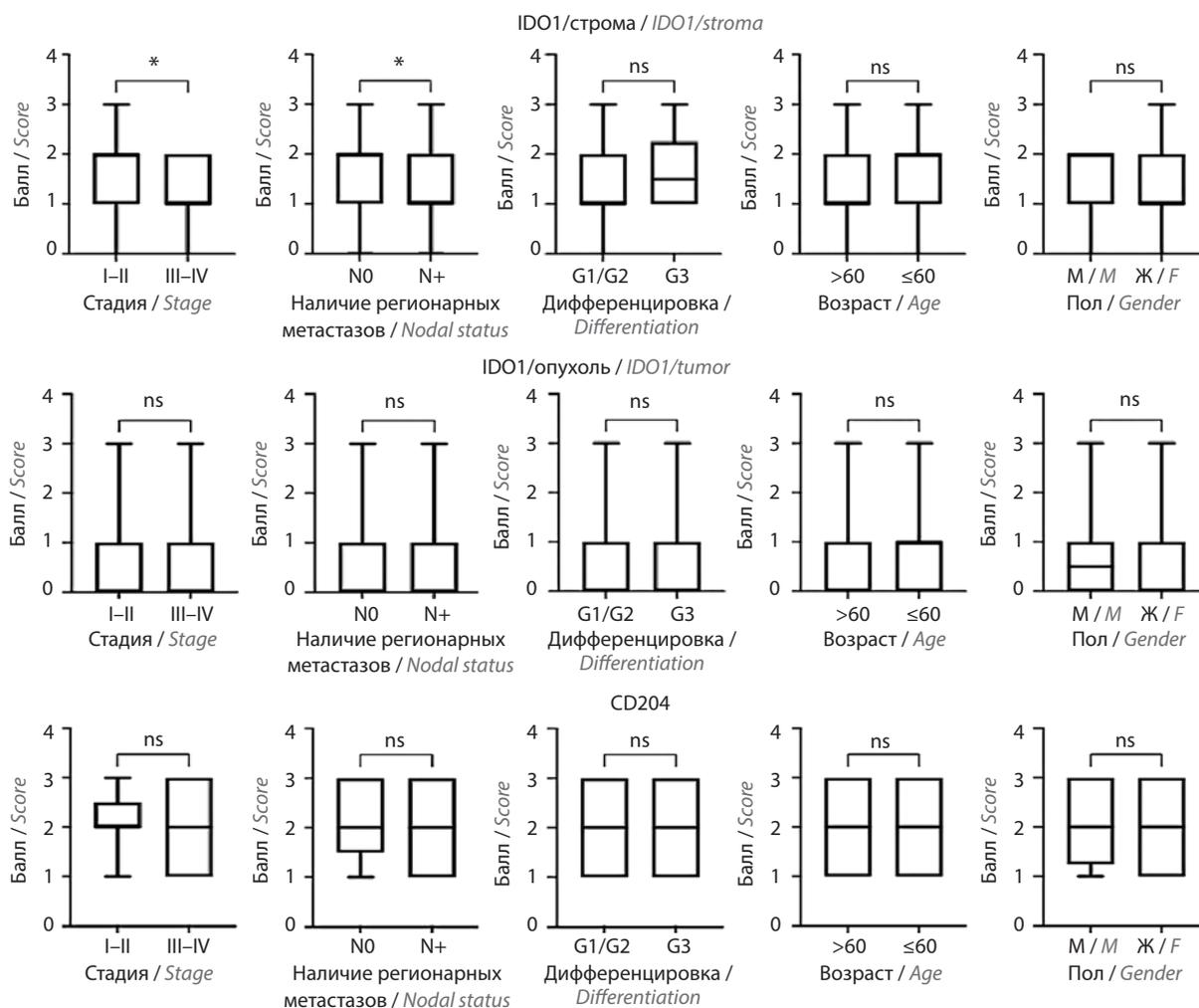


Рис. 1. Анализ ассоциации экспрессии CD204 и IDO1 с клинико-морфологическими характеристиками пациентов. *Статистически значимо
 Fig. 1. Analysis of the association of CD204 and IDO1 expression with clinical and morphological characteristics of patients . *Statistically significant

с клинико-морфологическими характеристиками пациентов, а для экспрессии IDO1 в строме опухоли выявлена ассоциация со стадией заболевания ($p = 0,0450$) и наличием регионарных метастазов ($p = 0,0279$). На более ранних стадиях и при отсутствии метастазов в лимфатических узлах обнаружено более высокое содержание IDO1+ макрофагов в опухолевой строме.

Прогностическая значимость CD204 и IDO1. Для определения прогностической значимости экспрессии CD204 и IDO1 для пациентов с ПРП мы проанализировали показатели выживаемости путем построения кривых дожития по методу Каплана–Майера и сравнения достоверности различий при помощи логарифмического рангового критерия. Результаты представлены в табл. 2.

Мы показали, что повышенное содержание CD204+ макрофагов в опухоли достоверно ассоциировано с лучшей выживаемостью пациентов. Экспрессия IDO1 и CD204 в образцах плоскоклеточного рака пищевода и прогностическая значимость этих маркеров представлены на рис. 2.

Согласно данным, представленным на рис. 2, CD204 является благоприятным прогностическим

Таблица 2. Статистический анализ прогностической значимости CD204 и IDO1 для пациентов с плоскоклеточным раком пищевода
 Table 2. Statistical analysis of the prognostic significance of CD204 and IDO1 in patients with esophageal squamous cell carcinoma

Показатель Parameter	Однофакторный анализ Univariate analysis		
	Отноше- ние рисков Hazard ratio	95 % доверитель- ный интервал 95 % confidence interval	<i>p</i>
IDO1/stroma (высокий/низкий) IDO1/stroma (high/low)	0,7344	(0,3350– 1,610)	0,4341
IDO1/опухоль (высокий/низкий) IDO1/tumor (high/low)	0,5824	(0,2659– 1,276)	0,1755
CD204/stroma (высокий/низкий) CD204/stroma (high/low)	0,455	(0,2072– 0,9989)	0,0419*

*Статистически значимо.
 *Statistically significant.

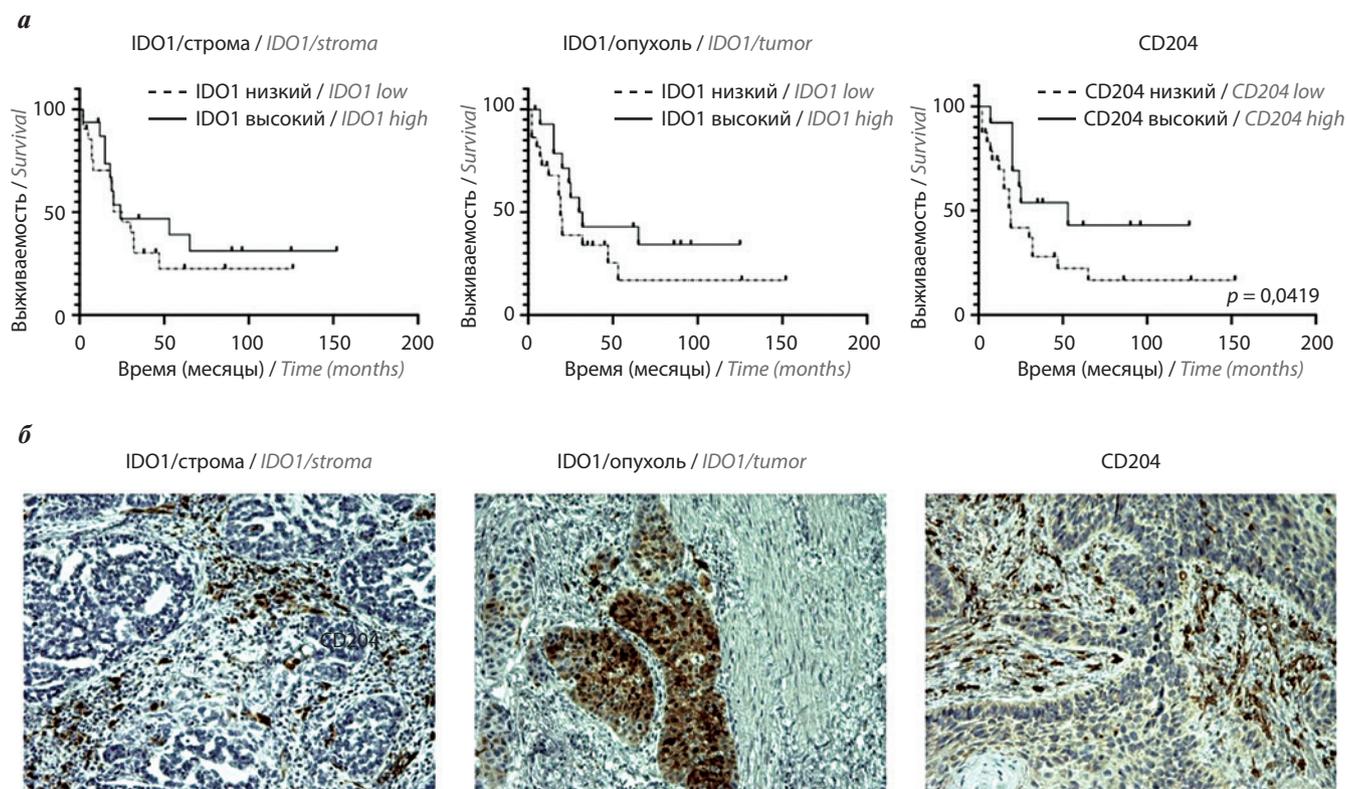


Рис. 2. Экспрессия IDO1 и CD204 в образцах плоскоклеточного рака пищевода: а – прогностическая значимость IDO1 и CD204 при плоскоклеточном раке пищевода; б – пример иммуногистохимического окрашивания антителами к IDO1 и CD204

Fig. 2. Expression of IDO1 and CD204 in esophageal squamous cell carcinoma samples: а – prognostic significance of IDO1 and CD204 in squamous cell carcinoma of the esophagus; б – an example of immunohistochemical staining with anti-IDO1 and anti-CD204 antibodies

маркером рака пищевода, экспрессия IDO1 в строме прогностической значимости не имеет, а экспрессия IDO1 в опухолевых клетках свидетельствует о тенденции к благоприятному прогнозу.

ОБСУЖДЕНИЕ

Корреляция повышенного количества макрофагов, ассоциированных с опухолью с неблагоприятным прогнозом, показана для многих типов солидных новообразований [15, 16]. Однако для опухолей органов желудочно-кишечного тракта четкая корреляция с плохим прогнозом отсутствует, а зачастую (как в случае колоректального рака) наблюдается и обратная корреляция. Для рака пищевода прогностическая роль количества и фенотипа макрофагов, ассоциированных с опухолью, остается противоречивой. Ранее мы показали, что в случае данной нозологии высокое содержание CD163+ макрофагов служит маркером хорошего прогноза, в то время как количество CD206+ макрофагов не является прогностически значимым показателем [17]. Этот факт представляет интерес, поскольку как CD163, так и CD206 являются маркерами макрофагов 2-го типа. Именно поэтому изучение дополнительных маркеров макрофагов, ассоциированных с опухолью, и их прогностической значимости очень актуально, особенно в отношении новообразований пищевода. В ходе исследования мы проанализировали

содержание CD204+ и IDO1+ клеток в образцах ПРП. На 1-м этапе работы изучена ассоциация количества CD204+ клеток с клинико-морфологическими характеристиками (стадией заболевания, дифференцировкой опухоли, наличием регионарных метастазов и др.) пациентов. Было выявлено отсутствие данных ассоциаций. Однако анализ прогностической значимости CD204+ макрофагов показал, что их количество коррелирует с благоприятным прогнозом ПРП (отношение рисков 0,455, $p = 0,0419$). Данное отличие этого вида новообразований от опухолей других локализаций может быть результатом наличия в органах желудочно-кишечного тракта в целом и в пищеводе в частности резидентных бактерий, обеспечивающих активацию макрофагов 1-го типа, для которых характерно наличие цитотоксической активности.

К маркерам макрофагов 1-го типа относится IDO1 – фермент, основной функцией которого является деградация триптофана с образованием *N*-формилкинуренина, а далее – целого ряда продуктов, оказывающих существенное влияние на функционирование иммунной системы. Активированный фермент IDO1, производимый опухолевыми клетками, снижает уровень триптофана в микроокружении опухоли, что оказывает внутриопухолевое иммуносупрессорное действие. Основными иммуносупрессорными механизмами влияния IDO1 на опухоль являются снижение ее

инфильтрации цитотоксическими Т-клетками и повышение количества регуляторных Т-клеток [18]. Индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназа также способствует поляризации макрофагов в макрофаги 1-го типа. Они секретируют медиаторы воспаления, такие как фактор некроза опухоли (TNF α) и индуцибельная синтаза оксида азота (iNOS). Эти провоспалительные факторы образуют воспалительное микроокружение, способствуют трансформации неполяризованных макрофагов в макрофаги 1-го типа, тем самым образуя защитный провоспалительный механизм с положительной обратной связью. Таким образом, роль IDO1 в опухоли достаточно противоречива, что подтверждается его неоднозначным прогностическим значением [19, 20]. В нашем исследовании не была показана статистически значимая прогностическая роль экспрессии IDO1 в опухолевых клетках, наблюдалась лишь тенденция к благоприятному прогнозу ($p = 0,120$). Однако в ходе анализа экспрессии IDO1 в стромальных клетках были выявлены статистически значимые ассоциации с клинико-морфологическими характе-

ристиками больных. Известно, что IDO1 в строме экспрессируется в основном макрофагами [21]. Мы показали, что на более ранних стадиях заболевания и при отсутствии метастазов в лимфатических узлах наблюдалось более высокое содержание IDO1+ макрофагов в опухолевой строме. Эти результаты свидетельствуют о том, что на ранних стадиях развития опухоли ее уход из-под иммунного надзора достигнут не полностью, в ней наблюдаются активные провоспалительные макрофаги, количество которых снижается при прогрессировании заболевания.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе исследования была оценена прогностическая значимость маркеров макрофагов CD204 и IDO1 в образцах ППП. Мы показали, что CD204 является маркером хорошего прогноза данной патологии, что свидетельствует о неоднозначной прогностической роли макрофагов, ассоциированных с опухолью, в новообразованиях желудочно-кишечного тракта.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Grohmann U., Fallarino F., Puccetti P. Tolerance, DCs and tryptophan: much ado about IDO. *Trends Immunol* 2003;24(5):242–8. DOI: 10.1016/s1471-4906(03)00072-3.
- King N.J., Thomas S.R. Molecules in focus: indoleamine 2,3-dioxygenase. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39(12):2167–72. DOI: 10.1016/j.biocel.2007.01.004.
- Takikawa O. Biochemical and medical aspects of the indoleamine 2,3-dioxygenase-initiated L-tryptophan metabolism. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;338(1):12–9. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.09.032.
- Chen J.Y., Li C.F., Kuo C.C. et al. Cancer/stroma interplay via cyclooxygenase-2 and indoleamine 2,3-dioxygenase promotes breast cancer progression. *Breast Cancer Res* 2014;16(4):410. DOI: 10.1186/s13058-014-0410-1.
- Heeren A.M., van Dijk I., Berry D. et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase expression pattern in the tumor microenvironment predicts clinical outcome in early stage cervical cancer. *Front Immunol* 2018;9:1598. DOI: 10.3389/fimmu.2018.01598.
- Ino K., Yamamoto E., Shibata K. et al. Inverse correlation between tumoral indoleamine 2,3-dioxygenase expression and tumor-infiltrating lymphocytes in endometrial cancer: its association with disease progression and survival. *Clin Cancer Res* 2008;14(8):2310–7. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4144.
- Inaba T., Ino K., Kajiyama H. et al. Role of the immunosuppressive enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in the progression of ovarian carcinoma. *Gynecol Oncol* 2009;115(2):185–92. DOI: 10.1016/j.ygyno.2009.07.015.
- Wainwright D.A., Balyasnikova I.V., Chang A.L. et al. IDO expression in brain tumors increases the recruitment of regulatory T cells and negatively impacts survival. *Clin Cancer Res* 2012;18(22):6110–21. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2130.
- Chevolet I., Speeckaert R., Schreuer M. et al. Characterization of the *in vivo* immune network of IDO, tryptophan metabolism, PD-L1, and CTLA-4 in circulating immune cells in melanoma. *Oncoimmunology* 2015;4(3):e982382. DOI: 10.4161/2162402X.2014.982382.
- Schalper K.A., Carvajal-Hausdorf D., McLaughlin J. et al. Differential expression and significance of PD-L1, IDO-1, and B7-H4 in human lung cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(2):370–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0150.
- Ohnishi K., Komohara Y., Fujiwara Y. et al. Suppression of TLR4-mediated inflammatory response by macrophage class A scavenger receptor (CD204). *Biochem Biophys Res Commun* 2011;411(3):516–22. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.161.
- Sun Y., Xu S. Tumor-associated CD204-positive macrophage is a prognostic marker in clinical stage I lung adenocarcinoma. *Biomed Res Int* 2018;2018:8459193. DOI: 10.1155/2018/8459193.
- Qiu X., Chen D., Liu Y. et al. Relationship between stromal cells and tumor spread through air spaces in lung adenocarcinoma. *Thorac Cancer* 2019;10(2):256–67. DOI: 10.1111/1759-7714.12945.
- Rakae M., Busund L.R., Jamaly S. et al. Prognostic value of macrophage phenotypes in resectable non-small cell lung cancer assessed by multiplex immunohistochemistry. *Neoplasia* 2019;21(3):282–93. DOI: 10.1016/j.neo.2019.01.005.
- Lu C.F., Huang C.S., Tjiu J.W. et al. Infiltrating macrophage count: a significant predictor for the progression and prognosis of oral squamous cell carcinomas in Taiwan. *Head Neck* 2010;32(1):18–25. DOI: 10.1002/hed.21138.
- Helm O., Held-Feindt J., Grage-Griebenow E. et al. Tumor-associated macrophages exhibit pro- and anti-inflammatory properties by which they impact on pancreatic tumorigenesis. *Int J Cancer* 2014;135(4):843–61. DOI: 10.1002/ijc.28736.
- Kovaleva O.V., Rashidova M.A., Samoilova D.V. et al. Immunosuppressive phenotype of esophagus tumors stroma. *Anal Cell Pathol (Amst)*

- 2020;2020:5424780.
DOI: 10.1155/2020/5424780.
18. Wu H., Gong J., Liu Y. Indoleamine 2,3-dioxygenase regulation of immune response (Review). *Mol Med Rep* 2018;17(4):4867–73.
DOI: 10.3892/mmr.2018.8537.
19. Astigiano S., Morandi B., Costa R. et al. Eosinophil granulocytes account for indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated immune escape in human non-small cell lung cancer. *Neoplasia* 2005;7(4):390–6.
DOI: 10.1593/neo.04658.
20. Zhang M.L., Kem M., Mooradian M.J. et al. Differential expression of PD-L1 and IDO1 in association with the immune microenvironment in resected lung adenocarcinomas. *Mod Pathol* 2019;32(4):511–23.
DOI: 10.1038/s41379-018-0160-1.
21. Zhao Q., Kuang D.M., Wu Y. et al. Activated CD69+ T cells foster immune privilege by regulating IDO expression in tumor-associated macrophages. *J Immunol* 2012;188(3):1117–24.
DOI: 10.4049/jimmunol.1100164.

Вклад авторов

О.В. Ковалева: анализ данных литературы, статистическая обработка данных, написание текста статьи;
М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, П.А. Подлесная: получение экспериментальных данных;
В.В. Мочальникова: подбор материала для исследования, получение экспериментальных данных;
А.Н. Грачев: формирование концепции исследования, написание текста статьи.

Authors' contribution

O.V. Kovaleva: analysis of literature data, statistical data processing, article writing;
M.A. Rashidova, D.V. Samoilova, P.A. Podlesnaya: obtaining experimental data;
V.V. Mochalnikova: selection of material for research, obtaining experimental data;
A.N. Gratchev: developing the research design; article writing.

ORCID авторов / ORCID of authors

О.В. Ковалева / O.V. Kovaleva: <https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>
М.А. Рашидова / M.A. Rashidova: <https://orcid.org/0000-0002-3267-4232>
Д.В. Самойлова / D.V. Samoilova: <https://orcid.org/0000-0001-5639-0835>
П.А. Подлесная / P.A. Podlesnaya: <https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>
В.В. Мочальникова / V.V. Mochalnikova: <https://orcid.org/0000-0001-5275-7134>
А.Н. Грачев / A.N. Gratchev: <https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование выполнено при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 18-29-09069).

Financing. The study was performed with the support of Russian Foundation for Basic Research (grant No. 18-29-09069).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. All patients gave written informed consent to participate in the study.