

Научная статья

УДК 616-006.04

Роль нейтрофилов в прогнозе развития рака и возможные точки для терапевтических вмешательств

Анна Константиновна Голубцова[✉], Евгения Борисовна Кантышева,
Анастасия Владимировна Новосёлова, Михаил Владимирович Попугайло

Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург, Россия

[✉]golubtsova.ak@mail.ru

Аннотация. В обзоре рассмотрена сложная роль нейтрофилов в патогенезе раковых заболеваний. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и соотношение нейтрофилов к лимфоцитам может указывать на степень злокачественности опухоли и иметь большое прогностическое значение. Нейтрофилы, а также воздействие на их метаболические пути являются перспективным направлением в иммунотерапии рака.

Ключевые слова: нейтрофилы, рак, внеклеточные ловушки, биомаркеры, терапия онкологических заболеваний

Для цитирования: Роль нейтрофилов в прогнозе развития рака и возможные точки для терапевтических вмешательств / А. К. Голубцова, Е. Б. Кантышева, А. В. Новосёлова, М. В. Попугайло // Вестник УГМУ. 2022. № 3–4. С. 8–14.

Original article

The Role of Neutrophils in Cancer Prognosis and Possible Points for Therapeutic Interventions

Anna K. Golubtsova[✉], Evgeniya B. Kantysheva,
Anastasia V. Novoselova, Mikhail V. Popugaylo

Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russia

✉ golubtsova.ak@mail.ru

Abstract. This review examines the complex role of neutrophils in the pathogenesis of cancer. Neutrophil extracellular traps and the ratio of neutrophils to lymphocytes may indicate the degree of malignancy of the tumor and have great prognostic value. Neutrophils, as well as the impact on their metabolic pathways, are a promising direction in cancer immunotherapy.

Keywords: neutrophils, cancer, extracellular traps, biomarkers, cancer therapy

For citation: Golubtsova AK, Kantysheva EB, Novoselova AV, Popugaylo MV. The role of neutrophils in cancer prognosis and possible points for therapeutic interventions. Bulletin of USMU. 2022;(3–4):8–14. Russian.

Введение. Нейтрофилы являются наиболее распространенными циркулирующими лейкоцитами, на их долю приходится 50–70 % клеток крови. Эти клетки представляют собой первую линию защиты от инфекций, поэтому они быстро поступают из кровотока в место повреждения, где уничтожают патогены путем фагоцитоза, дегрануляции и высвобождения внеклеточных ловушек (NETs) [1].

Также нейтрофилы являются существенной частью микроокружения опухоли, при этом показано, что они способны как стимулировать рост опухолей и способствовать их метастазированию, так и подавлять его. В связи с противоречивой ролью нейтрофилов в патогенезе развития раковых опухолей необходимо учитывать возможные влияния этих клеток при планировании лечения [2].

Цель работы — оценить роль нейтрофилов в прогнозе развития онкологических заболеваний и в эффективности их лечения.

Нейтрофилы как маркеры онкологических заболеваний. Полученная в последние годы информация о функциях нейтрофилов формирует новое понимание их роли в физиологии и патологии. Одним из практических выходов из этого являются предложения использовать полученные сведения для диагностики патологических процессов. Это может улучшить качество диагностики и повлиять на эффективность проводимой терапии.

Биомаркеры NETs. В частности, была показана клиническая полезность определения биомаркеров NETs в слюне, сыворотке крови и опухолевой ткани в качестве потенциальной прогностической и терапевтической мишени у пациентов с плоскоклеточным раком полости рта: в супернатантах, полученных после инкубации нейтрофилов у пациентов, страдающих заболеванием, было установлено увеличение концентрации циркулирующих фрагментов свободной ДНК, которые образуют каркас NETs [3].

Соотношение нейтрофилов к лимфоцитам. Известно, что соотношение нейтрофилов и лимфоцитов играет важную роль как маркер определения злокачественности новообразования. Соотношение нейтрофилов и лимфоцитов (*англ.* Neutrophil to Lymphocyte Ratio, NLR) считалось показателем системного воспаления во многих современных клинических исследованиях, когда у пациентов не было явной инфекции. Между тем онкогенез тесно связан с воспалением, поскольку показано, что воспалительные клетки способствуют пролиферации раковых клеток, ангиогенезу и инвазии опухоли [4].

В настоящее время существует множество исследований, показывающих неблагоприятный прогноз у пациентов, имеющих высокие уровни этого соотношения. Так, предполагается, что высокое значение отношения нейтрофилов к лимфоцитам крови связано с худшими исходами онкологической выживаемости, например, при раке гортани [5], раке желудка [6], колоректальном раке II стадии [7]. Результаты определения NLR у пациентов с мышечно-инвазивным раком мочевого пузыря после радикальной цистэктомии показали, что увеличение NLR в послеоперационный период является потенциальным маркером раннего выявления рецидива [8].

Нейтрофилы как мишень для терапевтических вмешательств. Борьба с ранним ангиогенезом опухоли. Опухолевый ангиогенез является одним из наиболее важных этапов прогрессирования рака. Показано, что проангиогенные нейтрофилы в значительной степени способствуют метастазированию, что также делает эти клетки перспективной мишенью в борьбе с прогрессированием рака.

Установлено, что нейтрофилы поддерживают ангиогенез опухоли за счет высвобождения многочисленных проангиогенных факторов, таких как сосудистый эндотелиальный фактор роста (*англ.* Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF); фактор роста фибробластов 2 (*англ.* Fibroblast Growth Factor 2, FGF-2); онкостатин М; интерлейкин-17; матриксная металлопротеиназа (*англ.* Matrix metalloproteinase 9, MMP-9); белок, нейтрофильный медиатор ангиогенеза опухоли (Bv8); алармины S100A8/9, STAT3 (*англ.* Signal Transducer and Activator of Transcription 3 — сигнальный белок и активатор транскрипции из семейства белков STAT, который у человека кодируется геном STAT3; STAT3 является одним из белков-посредников, обеспечивающих ответ клетки на сигналы, поступающие через рецепторы интерлейкинов и факторов роста) и NETs. Выявление других возможных проангиогенных факторов могло бы усилить успешность терапии рака [9].

Самые первые исследования антиангиогенной терапии были сосредоточены на блокировании передачи сигналов VEGF/VEGFR с помощью специфических моноклональных антител. В настоящее время бевацизумаб и рамцизумаб являются основными препаратами для подавления ангиогенеза при раке. Однако выяснилось, что эти препараты оказались малоэффективными в клинических испытаниях из-за сформировавшейся резистентности опухоли

ли к ним. Влияние нейтрофилов на резистентность к анти-VEGF-терапии было продемонстрировано в исследовании К. Джун и др. (*англ.* K. Jung et. al.; 2017) [8], которые показали, что повышенная нейтрофильная инфильтрация после введения анти-VEGF-2 способствует ангиогенезу опухоли и снижает эффективность терапии. В этом исследовании было показано, что моноциты комплекса лимфоцитарного антигена 6, локус C10 (*англ.* Lymphocyte Antigen 6 Complex, Locus C10, Ly6C10), присутствующие в опухоли, облегчают рекрутирование Ly6G⁺ нейтрофилов после анти-VEGFR2-терапии посредством высвобождения CXCL5 (C-X-C Motif Chemokine 5). Интересно, что сочетание лечения, направленного против нейтрофилов, с антиангиогенной терапией путем введения анти-Ly6G-антитела ограничивает ангиогенез и поддерживает эффективность терапии против VEGFR2 [10].

Та же исследовательская группа продемонстрировала в другом исследовании, что антиангиогенное лечение увеличивает экспрессию CXCL12 в опухолях и приводит к рекрутированию CXCR4⁺ проангиогенных нейтрофилов. Блокада CXCR4 с помощью AMD3100 (плериксафор, является низкомолекулярным ингибитором CXCR4) ингибировала Ly6G⁺ инфильтрацию нейтрофилов в опухоль, что приводило к повышению эффективности анти-VEGF-терапии [11].

Одной из причин инфильтрации нейтрофилами метастазов у пациентов с колоректальным раком при анти-VEGF-терапии предполагается развитие в них активного воспалительного процесса. С помощью иммуногистохимических методов окрашивания было продемонстрировано наличие CD177⁺ нейтрофилов в образцах метастаз колоректального рака. Комбинация традиционной антиангиогенной терапии (бевацизумаб) и нового соединения анти-VEGF/анти-Ang2 (BI-880) уменьшала инфильтрацию нейтрофилов, а также ангиогенез, рост опухоли и гипоксию ткани. Показано, что мыши с VEGF-резистентными колоректальными опухолями имеют повышенный уровень гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (*англ.* Granulocyte Colony-Stimulating Factor, G-CSF) в плазме, что приводит к сильной мобилизации нейтрофилов, их опухолевой инфильтрации и индукции экспрессии Vn8, что поддерживает опухолевый ангиогенез. Было также показано, что терапия против VEGF в сочетании с антителами против G-CSF или против Vn8 эффективно подавляет рост опухоли [10].

Запуск нейтрофил-опосредованного противоракового иммунитета. Известно, что галектин-9 (Gal-9) обладает прямой цитотоксической и опухолеселективной активностью по отношению к линиям раковых клеток различного происхождения. В исследовании Н. Устюновска Автенюк и др. (*англ.* N. Ustypanovska Avtenyuk et. al.) [12] показано, что Gal-9 вызывает выраженные изменения мембран в раковых клетках. В частности фосфатидилсерин быстро выводился наружу, а антифагоцитарный регулятор CD47 подавлялся в течение нескольких минут. В соответствии с этим обработка смешанных культур

нейтрофилов — опухолевых клеток Gal-9 запускала трогоцитоз, усиливала антителозависимый клеточный фагоцитоз раковых клеток и снижала адгезию раковых клеток в смешанных культурах лейкоцитов и раковых клеток. Помимо этого, при смешивании лейкоцитов с предварительно прикрепленными раковыми клетками была обнаружена заметная цитотоксичность, которая исчезала при истощении пула нейтрофилов. В совокупности лечение Gal-9 активировало опосредованный нейтрофилами противораковый иммунитет, что приводило к элиминации эпителиальных раковых клеток [12]. Эти исследования позволяют говорить о том, что использование Gal-9 является перспективным направлением в терапии рака.

Выводы. Нейтрофилы могут быть использованы в качестве маркера онкологического заболевания. Уже известны по меньшей мере два прогностически значимых параметра, позволяющих судить о злокачественности опухоли: соотношение нейтрофилов к лимфоцитам и наличие нейтрофильных внеклеточных ловушек в слюне, сыворотке крови и опухолевой ткани.

Опосредованный нейтрофилами опухолевый ангиогенез и метастазирование препятствуют достижению успеха в лечении многих видов рака. Тем не менее воздействия как на ангиогенез, так и на функции нейтрофилов при раке демонстрируют большой потенциал и являются перспективными направлениями в иммунотерапии рака.

Список источников

1. Targeting Metabolic Pathways of Myeloid Cells Improves Cancer Immunotherapy / J. Li, Ch. Bolyard, G. Xin, Z. Li // *Front. Cell Dev. Biol.* 2021. Vol. 9 (747863). P. 1–13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.747863>.
2. Kraus R. F., Gruber M. A. Neutrophils-From Bone Marrow to First-Line Defense of the Innate Immune System // *Front Immunol.* 2021. Vol. 12 (767175). P. 1–35. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.767175>.
3. NETs biomarkers in saliva and serum OSCC patients: One hypothesis, two conclusions / G. Marzena, D. Dziemianczyk-Pakie, W. Ratajczak-Wrona [et al.] // *Advances in Medical Sciences.* 2022. Vol. 67 (1). P. 45–54. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.advms.2021.12.004>.
4. Shehua Q., Golubnitschaja O., Zhan X. Chronic inflammation: key player and biomarker-set to predict and prevent cancer development and progression based on individualized patient profiles // *EPMA J.* 2019. Vol. 10 (4). P. 365–381. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13167-019-00194-x>.
5. Prognostic impact of neutrophils-to-lymphocytes ratio (NLR), PD-L1 expression, and tumor immune microenvironment in laryngeal cancer / L. Franz L. Alessandrini, E. Fasanaroc [et al.] // *Annals of Diagnostic Pathology.* 2021. Vol. 50. P. 50. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anndiag-path.2020.151657>.

6. The prognostic role of neutrophils to lymphocytes ratio and platelet count in gastric cancer: A meta-analysis / Z. Xin-Ji, L. Yong-Gang, S. Xiao-Jun [et al.] // *International Journal of Surgery*. 2015. Vol. 21. P. 84–91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2015.07.681>.
7. Neutrophils to lymphocytes ratio as a useful prognosticator for stage II colorectal cancer patients / N. Dimitriou, E. Felekouras, I. Karavokyros [et al.] // *BMC Cancer*. 2018. Vol. 18 (1). P. 1202. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12885-018-5042-x>.
8. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as a detection marker of tumor recurrence in patients with muscle-invasive bladder cancer after radical cystectomy/M. Yosuke, M. Miyake, K. Shimada [et al.] // *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*. 2016. Vol.34. P. 256–257. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2016.02.012>.
9. The Good, the Bad, and the Ugly: Neutrophils, Angiogenesis, and Cancer / I. Ozel, I. Duerig, M. Domnich [et al.] // *Cancers (Basel)*. 2022. Vol. 10 (66). P. 1–16. DOI: <https://doi.org/10.3390/cancers14030536>.
10. Ly6Clo monocytes drive immunosuppression and confer resistance to anti-VEGFR2 cancer therapy / K. Jung, T. Heishi, O. F. Khan [et al.] // *J Clin Invest*. 2017. Vol. 127 (8). P. 3039–3051. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI93182>.
11. Targeting CXCR4-dependent immunosuppressive Ly6Clow monocytes improves antiangiogenic therapy in colorectal cancer / K. Jung, T. Heishi, J. Inacio [et al.] // *PNAS*. 2017. Vol. 114 (39). P. 10455–10460. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1710754114>.
12. Galectin-9 Triggers Neutrophil-Mediated Anticancer Immunity / N. Ustyanovska Avtenyuk, G. Choukrani, E. Ammatuna [et al.] // *Biomedicines*. 2021. Vol. 10 (66). P. 10–16. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10010066>.

Сведения об авторах

Анна Константиновна Голубцова — студент кафедры патологической физиологии, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия). E-mail: golubtsova.ak@mail.ru.

Евгения Борисовна Кантышева — студент кафедры патологической физиологии, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия).

Анастасия Владимировна Новосёлова — студент кафедры патологической физиологии, Уральский государственный медицинский университет (Екатеринбург, Россия).

Михаил Владимирович Попугайло — кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры патологической физиологии, Уральский государственный ме-

дицинский университет (Екатеринбург, Россия). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4820-5964>.

Information about the authors

Anna K. Golubtsova – Student of Department of Pathologicalphysiology, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). E-mail: golubtsova.ak@mail.ru.

Evgeniya B. Kantysheva – Student of Department of Pathologicalphysiology, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia).

Anastasia V. Novoselova – Student of Department of Pathologicalphysiology, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia).

Mikhail V. Popugaylo – Candidate of Sciences (Medicine), Associate Professor, Associate Professor of Department of Pathologicalphysiology, Ural State Medical University (Ekaterinburg, Russia). ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4820-5964>.