

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СИСТЕМНОГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНО-ОПЕРАБЕЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И РАКОМ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА

А.И. Черткова, Т.Н. Заботина, В.Т. Циклаури, Е.Н. Захарова, Д.В. Табаков, А.А. Борунова, Э.К. Шоуа, И.А. Задеренко, И.К. Воротников, А.М. Мудунов, З.Г. Кадагидзе

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

Контакты: Татьяна Николаевна Заботина tatzabotina@yandex.ru

Введение. Возраст — это важный клинико-патологический фактор у онкологических пациентов. Злокачественные опухоли чаще развиваются у лиц старшего возраста, но заболевание у них протекает менее агрессивно, чем у молодых пациентов. По мнению различных авторов, влияние возраста на развитие опухолей в значительной степени обусловлено возрастными особенностями иммунной системы.

Цель исследования — определение взаимосвязи показателей системного противоопухолевого иммунного ответа и возраста больных первично-операбельным раком молочной железы (ПО РМЖ) и раком слизистой оболочки полости рта (РСОПР).

Материалы и методы. В исследование были включены больные со всеми подтипами ПО РМЖ ($n = 145$) и больные РСОПР ($n = 29$). Проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови с использованием широкой панели моноклональных антител к маркерам клеток адаптивного и врожденного иммунитета.

Результаты. У больных ПО РМЖ 40 лет и старше до лечения процент активированных $CD25^+$ -лимфоцитов, $CD4^+CD25^+$ - и $CD3^+CD4^+$ -Т-клеток, NKT-клеток, активированных $HLA-DR^+$ -лимфоцитов, включая активированные $CD3^+HLA-DR^+$ -Т-клетки, был статистически значимо выше, чем у больных моложе 40 лет. У пациенток этой группы наблюдалось повышение по сравнению с контрольной группой процента цитотоксических Т-лимфоцитов $CD8^+CD11b^+CD28^-$, снижение числа «наивных» лимфоцитов ($CD4^+CD62L^+$ и $CD8^+CD11b^+CD28^+$), а также тенденция к снижению $CD4^+CD25^+CD127^-$ - T_{reg} на фоне увеличения числа $CD4^+CD25^+$ -Т-клеток. У больных РСОПР выявлены увеличение с возрастом количества клеток некоторых популяций эффекторного звена иммунитета и снижение числа лимфоцитов-супрессоров.

Заключение. Полученные результаты позволяют предположить, что возрастные различия в состоянии системного противоопухолевого иммунного ответа вносят свой вклад в более благоприятное течение РМЖ и некоторых других злокачественных новообразований у лиц старшего возраста. Очевидно, что особенности возрастных различий в иммунном ответе на опухоль необходимо учитывать при назначении системной терапии, включая иммунотерапию.

Ключевые слова: первично-операбельный рак молочной железы, рак слизистой оболочки полости рта, возраст, субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови

DOI: 10.17650/1726-9784-2019-19-1-81-88



AGE-RELATED FEATURES OF SYSTEMIC ANTITUMOR IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS WITH PRIMARY OPERABLE BREAST CANCER AND CANCER OF THE ORAL MUCOSA

A.I. Chertkova, T.N. Zabolina, V.T. Tsiklauri, E.N. Zakharova, D.V. Tabakov, A.A. Borunova, E.K. Shoua, I.A. Zaderenko, I.K. Vorotnikov, A.M. Mudunov, Z.G. Kadagidze

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

Introduction. Age is considered as an important clinical and pathological factor in cancer patients. Malignant tumors are more likely to develop in older people, but the disease is less aggressive than in young patients. According to various authors, the influence of age on the development of tumors largely depends on the age-related features of the immune system.

The aim of the present study was to determine the relationship of indicators of systemic antitumor immune response with the age of patients with primary operable breast cancer and cancer of the oral mucosa.

Materials and methods. The study included patients with all subtypes of primary-operable breast cancer ($n = 145$) and patients with cancer of the oral mucosa ($n = 29$). Immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes was performed using a wide panel of monoclonal antibodies to markers of adaptive and innate immunity cells.

Results. In elder patients (40 years and older) with primary-operable breast cancer, the percentage of activated $CD25^+$ lymphocytes and $CD4^+CD25^+$ and $CD3^+CD4^+$ T cells, NKT cells, activated $HLA-DR^+$ lymphocytes, including activated $CD3^+HLA-DR^+$ T cells before treatment, was statistically significantly higher than in patients younger than 40 years. Patients of this group showed increase of $CD8^+CD11b^+CD28^-$ CTLs and a decrease in the number of naive lymphocytes ($CD4^+CD62L^+$ and $CD8^+CD11b^-CD28^+$) in comparison with control percentage, and the downward trend in $CD4^+CD25^+CD127^-T_{reg}$, with increased numbers of $CD4^+CD25^+$ T cells. In patients with cancer of the oral mucosa, an increase in the number of cells of some populations of the immune effector link and a decrease in the number of suppressor lymphocytes were revealed with age.

Conclusion. The results suggest that age-related differences in the state of systemic antitumor immune response contribute to a more favorable course of breast cancer and some other malignancies in older persons. It is obvious that the features of age differences in the immune response to the tumor should be taken into account when prescribing systemic therapy, including immunotherapy.

Key words: primary operable breast cancer, cancer of the oral mucosa, age, subpopulation of peripheral blood lymphocytes

Введение

Возраст человека влияет на частоту возникновения злокачественных опухолей, а также на характер течения заболевания и переносимость системной противоопухолевой терапии, поэтому рассматривается как важный клинико-патологический фактор у онкологических больных. Известно, что с увеличением возраста растет частота заболеваний. Так, рак молочной железы (РМЖ) у женщин старше 40 лет возникает гораздо чаще, чем у более молодых [1]. Раком полости рта, по данным многоцентрового исследования, также чаще всего болеют люди в возрасте 50–80 лет (81,26 %), хотя нередко опухоли возникают и у тех, кто моложе [2]. В то же время у лиц старшего возраста отмечается менее агрессивное течение опухолевого процесса, чем у молодых пациентов. По мнению многих авторов, влияние возраста на развитие опухолей в значительной степени зависит от возрастных особенностей иммунной системы — одного из важнейших факторов, контролирующих опухолевый рост и влияющих на клиническую эффективность различных видов противоопухолевой терапии [3–7]. Иммунная система реагирует на опухолевый рост как на локальном, так и на системном уровне, и циркулирующие иммунные клетки наряду с лимфоцитами, инфильтрирующими опухоль, имеют прогностическое значение [8, 9]. Безусловно, опухолевый рост модулирует иммунный ответ на чужеродные и аутоантигены, это касается как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Однако возрастные различия иммунного ответа, по-видимому, сохраняются. В настоящее время взаимосвязь между исходным состоянием (до лечения) системного иммунитета и возрастом пациентов при РМЖ и раке слизистой оболочки полости рта (РСОПР) остается недостаточно изученной. По этой причине изучение субпопуляционного состава периферической крови (ПК) у больных первично-операбельным РМЖ (ПО РМЖ) и РСОПР разных возрастных групп до лечения является актуальным, а полученные результаты могут послужить основой для дифференцированного подхода к назначению системного противоопухолевого

лечения с учетом различий в иммунном ответе на опухоль у больных разного возраста.

Цель исследования — определение взаимосвязи показателей системного иммунного ответа на опухолевый рост и возраста больных ПО РМЖ и РСОПР.

Задачи исследования — проведение сравнительного исследования субпопуляционного состава лимфоцитов ПК больных ПО РМЖ и здоровых доноров 2 возрастных групп (моложе 40 лет и 40 лет и старше); определение характера взаимосвязи субпопуляционного состава лимфоцитов ПК с возрастом у больных РСОПР.

Материалы и методы

В исследование были включены больные со всеми подтипами ПО РМЖ ($n = 145$). Медиана возраста составила 54 года (от 18 лет до 81 года): моложе 40 лет — 10 пациенток (1-я группа), 40 лет и старше — 135 пациенток (2-я группа). В группы контроля вошли практически здоровые женщины ($n = 39$) до 40 лет (группа А) и 40 лет и старше (группа Б).

Рак слизистой оболочки полости рта. В исследование были включены 29 человек (14 женщин и 15 мужчин). У 18 пациентов был диагностирован рак языка, у 9 — РСОПР и у 2 — первично-множественное злокачественное образование. Медиана возраста пациентов составила 43,5 года (от 15 до 84 лет). В контрольной группе были здоровые доноры соответствующего пола и возраста ($n = 77$; от 18 до 71 года). Все пациенты дали информированное согласие на проведение иммунологического обследования. Все исследования проводили до начала лечения. Для определения состояния системного иммунитета проводилось иммунофенотипирование лимфоцитов ПК на 5-параметровом проточном цитофлуориметре аналитического типа FACSCalibur (BD Biosciences, США). Лимфоциты выделяли по параметрам светорассеяния и экспрессии CD45. Определяли процентное содержание клеток адаптивного и врожденного иммунитета в составе лимфоцитов ПК путем 2-, 3- и 4-цветного окрашивания 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 оценивали как процент Perforin-положительных клеток в составе соответствующей популяции. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы Statistica 7,0. Характер распределения показателей определяли с помощью критериев Шапиро–Уилка или Колмогорова–Смирнова. Результаты представлены в виде медианы (Me) и квартилей (25-й и 75-й процентиля). 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. Бююля и П. Цёфеля [10]. Уровень статистической значимости учитывали при $p = 0,05$.

Результаты исследования

В табл. 1 представлены результаты, полученные при сравнении субпопуляционного состава лимфоцитов ПК пациенток с ПО РМЖ 2 возрастных групп между собой и с женщинами соответствующего возраста из контрольной группы (в таблицу включены только субпопуляции лимфоцитов, в которых наблюдались статистически значимые различия). Изменения субпопуляционного состава лимфоцитов ПК, связанные с возрастом, были обнаружены и у пациенток с ПО РМЖ, и у лиц контрольной группы, однако они были в большинстве случаев различны и касались не всех популяций лимфоцитов. Совпадение наблюдалось только для 2 популяций: клеток, экспрессирующих активационный маркер CD25, и активированных CD4⁺CD25⁺-Т-клеток. Процент активированных CD25⁺-лимфоцитов, включая CD4⁺CD25⁺-популяцию, был статистически значимо выше у больных 2-й группы. Подобное возрастное различие этих показателей было обнаружено и в контрольной группе, в которой повышение возраста сопровождалось также статистически значимым увеличением ЦТП как CD16⁺-, так и CD8⁺-лимфоцитов. У пациентов эти различия отсутствовали. Возрастные различия у больных ПО РМЖ были обнаружены для следующих популяций лимфоцитов: процент CD3⁺CD4⁺- и активированных CD3⁺HLA-DR-Т-клеток, общее число активированных лимфоцитов HLA-DR⁺, процент НКТ-клеток и величина соотношения CD4/CD8 были статистически значимо выше у больных старшего возраста, а процент «наивных» и клеток памя-

ти CD4⁺CD62L⁺ — у более молодых женщин. При изучении отклонений иммунологических показателей больных ПО РМЖ от контрольных значений отмечено как их сходство, так и различие между группами пациенток разного возраста. Статистически значимое снижение общего числа CD3⁺-Т-клеток и CD3⁺CD4⁺-Т-клеток наблюдалось у больных обеих групп, однако в случае CD3⁺CD4⁺-Т-лимфоцитов снижение было более выраженным в 1-й группе ($p_{1-2} = 0,000$). Статистически значимое снижение числа CD3⁺CD8⁺-Т-лимфоцитов по сравнению с контрольной группой наблюдалось у пациенток 2-й группы. Количество CD8⁺CD28⁻-лимфоцитов было выше нормы у пациенток обеих возрастных групп. Кроме того, отмечено некоторое различие в отклонении от контрольных показателей в процентном содержании CD8⁺Perforin⁺-лимфоцитов у больных моложе 40 лет и 40 лет и старше. У лиц младше 40 лет процент этих клеток статистически значимо превышал контрольные значения, однако различия между 2 возрастными группами пациенток отсутствовали. Что касается клеток врожденного иммунитета, то процент НК-клеток, экспрессирующих CD8 (CD3⁻CD16⁺ и CD8⁺CD16⁺), был статистически значимо выше в обеих группах по сравнению с контрольной. Процент НКТ-клеток у пациенток 40 лет и старше был статистически значимо выше не только по сравнению с более молодыми женщинами, но и превышал контрольные значения. У пациенток моложе 40 лет процент CD16⁺Perforin⁺-клеток и их ЦТП были выше контрольных показателей, но различий со значениями 2-й группы не было. Следует отметить, что, хотя процент активированных HLA-DR⁺-лимфоцитов в обеих группах не отличался от данных контрольной группы, в 1-й, как было указано ранее, их количество было статистически значимо ниже, чем во 2-й. Такого различия между возрастными показателями в контрольной группе не наблюдалось. Количество регуляторных CD4⁺CD25⁺CD127⁻-Т-клеток было ниже, чем у здоровых, только у лиц старшей группы, хотя различия между группами отсутствовали.

Результаты, полученные при определении характера взаимосвязи субпопуляционного состава лимфоцитов ПК и возраста у больных РСОР, представлены в табл. 2.

В контрольной группе с увеличением возраста незначительно повышался процент CD8⁺CD28⁻-лимфоцитов и ЦТП CD8⁺-клеток и снижалось количество НК-клеток. В то же время у пациентов с возрастом изменялось значительно большее число показателей. Отмечена средняя положительная корреляция с ЦТП CD8⁺-клеток и процентом CD16⁺Perforin⁺-НК-клеток, а также слабая положительная корреляция с CD16⁺-, CD11b⁺-лимфоцитами и цитотоксическими Т-лимфоцитами CD8⁺CD11b⁺CD28⁻.

Таблица 1. Субпопуляционный состав лимфоцитов периферической крови больных первично-операбельным раком молочной железы 2 возрастных групп

Table 1. Subpopulation composition of peripheral blood lymphocytes in patients primary operable breast cancer of two age groups

Субпопуляции лим- фоцитов перифери- ческой крови Subpopulation of peripheral blood lymphocytes	Пациенты с ПО РМЖ Patients primary operable breast cancer		p_{1-2}	Контрольная группа Control group		p_{3-4}	p_{1-A}	p_{2-B}
	1-я группа (<40 лет; $n = 10$) Group 1 (<40 years old; $n = 10$)	2-я группа (≥ 40 лет; $n = 135$) Group 2 (≥ 40 years old; $n = 135$)		Группа А (<40 лет; $n = 16$) Group A (<40 years old; $n = 16$)	Группа Б (≥ 40 лет; $n = 21$) Group B (≥ 40 years old; $n = 21$)			
	Ме (квартили) Me (quartiles)			Ме (квартили) Me (quartiles)				
CD3 ⁺	62,6 (48,6; 65,3)	70,5 (58,0; 77,0)		73,4 (66,0; 81,2)	75,0 (71,4; 80,0)		0,023	0,015
CD3 ⁺ CD4 ⁺	22,9 (17,5; 26,5)	35,3 (29,5; 43,7)	0,000	41,0 (34,2; 44,0)	40,9 (38,7; 51,8)		0,001	0,002
CD3 ⁺ CD8 ⁺	23,3 (19,4; 31,9)	23,4 (16,0; 30,5)		29,7 (26,5; 31,6)	28,7 (24,6; 31,9)		0,097	0,036
CD3 ⁻ CD8 ⁺	16,8 (13,2; 18,3)	11,0 (6,8; 15,5)		6,8 (5,0; 11,0)	8,0 (5,9; 9,0)		0,002	0,009
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	3,6 (1,0; 4,9)	5,4 (3,3; 9,9)	0,016	4,7 (3,6; 5,6)	7,2 (5,0; 9,2)		0,097	0,359
HLA-DR	9,6 (8,3; 12,4)	14,4 (10,6; 19,9)	0,006	12,6 (9,9; 16,7)	15,4 (12,1; 18,6)		0,135	0,901
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	9,2 (4,9; 11,0)	13,1 (8,3; 19,2)	0,045	9,0 (5,2; 14,3)	6,4 (5,0; 13,0)		0,979	0,003
CD8 ⁺ CD28 ⁻	21,8 (11,3; 26,6)	18,3 (12,6; 23,3)		9,7 (6,4; 12,5)	12,8 (8,0; 19,5)		0,003	0,036
CD4 ⁻ CD62L ⁺	27,9 (26,0; 32,2)	22,9 (17,2; 28,0)	0,022	30,9 (25,4; 43,5)	28,1 (16,7; 40,0)		0,421	0,151
CD4 ⁺ CD25 ⁺	4,7 (2,2; 8,8)	9,2 (5,9; 13,8)	0,007	7,4 (5,3; 10,3)	10,2 (7,8; 16,7)	0,029	0,149	0,321
CD25 ⁺	9,6 (7,7; 12,8)	15,6 (10,7; 21,5)	0,032	10,1 (5,3; 13,4)	14,6 (10,8; 19,6)	0,015	0,816	0,992
CD8 ⁺ CD16 ⁺	13,3 (8,1; 19,8)	11,1 (6,8; 15,2)		5,9 (3,7; 8,5)	7,9 (4,9; 10,4)		0,002	0,040
CD16 ⁺ Perforin ⁺	24,3 (15,1; 27,3)	17,7 (14,2; 23,9)		14,0 (11,8; 18,4)	18,7 (12,9; 22,2)		0,021	0,634
ЦТП CD16 CTP CD16	91,5 (89,5; 93,7)	91,7 (84,3; 96,0)		82,5 (77,5; 88,7)	93,8 (88,4; 96,6)	0,015	0,018	0,436
CD8 ⁺ Perforin ⁺	17,7 (15,8; 22,4)	17,5 (12,6; 22,1)		10,7 (8,4; 16,6)	13,9 (9,3; 18,4)		0,009	0,126
ЦТП CD8 CTP CD8	48,1 (36,7; 55,3)	53,2 (43,4; 63,9)		32,1 (25,7; 44,8)	42,2 (38,3; 53,3)	0,029	0,013	0,007
CD4/CD8	0,56 (0,38; 0,76)	0,98 (0,71; 1,37)	0,001	1,2 (0,87; 1,39)	1,2 (0,95; 1,59)		0,001	0,082
CD11b ⁺	29,5 (19,0; 40,3)	34,8 (25,8; 45,9)		30,2 (27,3; 35,2)	24,2 (17,5; 34,6)		0,738	0,001
CD50 ⁺	95,8 (92,4; 97,2)	97,0 (95,1; 98,4)		98,6 (98,0; 99,0)	95,4 (93,6; 98,5)	0,000	0,005	0,366
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	7,7 (6,8; 8,9)	7,2 (5,9; 8,8)		9,0 (7,7; 10,6)	9,6 (7,1; 10,1)		0,079	0,021
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	60,9 (51,3; 73,0)	67,1 (52,3; 74,9)		60,2 (48,8; 86,0)	54,9 (48,4; 63,1)		1,000	0,035
CD8 ⁺ CD11b ⁻ CD28 ⁺	22,9 (17,1; 25,2)	19,7 (13,4; 30,0)		28,5 (7,3; 32,5)	30,1 (27,1; 35,4)		0,905	0,021

Примечание. ПО РМЖ — первично-операбельный рак молочной железы; ЦТП — цитотоксический потенциал.

Note. CTP — cytotoxic potential.

В то же время с увеличением возраста снижался (отрицательная корреляция) процент CD8⁺CD-11b⁺CD28⁺- и CD4⁺CD25⁺CD127⁻-лимфоцитов.

Обсуждение

Возраст человека — это важный клиничко-патологический фактор, влияющий на частоту возникнове-

ния злокачественных опухолей, а также на характер течения заболевания и переносимость системной противоопухолевой терапии. Так, РМЖ у женщин старше 40 лет возникает значительно чаще, чем у более молодых женщин [11]. Раком полости рта, по данным многоцентрового исследования, также чаще всего болеют люди в возрасте 50–80 лет (81,26 %),

Таблица 2. Связь показателей системного иммунитета с возрастом у больных раком слизистой оболочки полости рта

Table 2. The relationship of systemic immunity with age in patients with cancer of the oral mucosa

Субпопуляции лимфоцитов периферической крови, % Subpopulation of peripheral blood lymphocytes, %	Пациенты с РСОПР (n = 29) Patients with cancer of the oral mucosa (n = 29)			Контрольная группа (n = 77) Control group (n = 77)		
	ρ	95 % ДИ 95 % CI	p	ρ	95 % ДИ 95 % CI	p
CD3-CD16 ⁺ CD56 ⁺	0,236	−0,160; 0,567	0,216	−0,233	−0,437; −0,006	0,043
CD8 ⁺ CD28 [−]	−0,333	−0,634; −0,056	0,077	0,233	0,006; 0,437	0,044
ЦТП CD8 ⁺ CTP CD8 ⁺	0,507	0,309; 0,663	0,005	0,281	0,063; 0,484	0,019
CD16 ⁺ -Perforin ⁺	0,508	0,306; 0,666	0,004	−0,234	−0,438; −0,074	0,053
CD16 ⁺	0,467	0,256; 0,635	0,011	−0,228	−0,433; −0,000	0,059
CD11b ⁺	0,399	0,177; 0,582	0,032	−0,103	−0,323; 0,127	0,387
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 [−]	0,397	0,134; 0,608	0,033	−0,094	−0,315; 0,136	0,512
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	−0,536	−0,708; −0,303	0,003	−0,011	−0,238; 0,217	0,936
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 [−]	−0,397	−0,581; −0,175	0,033	−0,061	−0,284; 0,169	0,615

Примечание. РСОПР — рак слизистой оболочки полости рта; ЦТП — цитотоксический потенциал; ρ — коэффициент корреляции Спирмена; ДИ — доверительный интервал.

Note. CTP — cytotoxic potential; ρ — Spearman correlation coefficient; CI — confidence interval.

значительно реже случаи заболевания наблюдаются в более молодом возрасте [2]. С другой стороны, у лиц старшего возраста заболевание протекает менее агрессивно. В связи с этим оценка возрастных факторов у онкологических пациентов в настоящее время приобретает все большее значение. По мнению ряда авторов, различия в характере течения опухолевого процесса у лиц разного возраста в значительной степени зависят от возрастных особенностей иммунной системы [3, 4, 12]. Доказано, что иммунная система способна контролировать все этапы опухолевого роста: возникновение, рост и развитие, кроме того, она оказывает влияние на клиническую эффективность различных видов противоопухолевой терапии [5–7]. В ответ на опухолевый рост генерируется как системный, так и локальный иммунный ответ, и прогностическое значение имеют и лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, и циркулирующие иммунные клетки [8, 9, 13–17]. В настоящее время взаимосвязь между исходным состоянием системного иммунитета (субпопуляционный состав лимфоцитов ПК) и возрастом больных при злокачественных новообразованиях остается недостаточно изученной. В связи с этим исследование особенностей системного иммунного ответа на опухоль у больных ПО РМЖ и РСОПР разных возрастных групп, проведенное в настоящей работе, является актуальным, и очень важно его учитывать при назначении системного, в том числе иммунотерапевтического, противоопухолевого лечения больным разного возраста.

Безусловно, опухолевый рост модулирует системный иммунный ответ и может вызывать значительные изменения субпопуляционного состава лимфоцитов. Однако возрастные различия сохраняются, причем они могут существенно отличаться от изменений, характерных для здоровых лиц. Полученные в данной работе результаты показали, что субпопуляционный состав лимфоцитов ПК в определенной степени зависит от возраста и у здоровых женщин, и у больных ПО РМЖ. Но возрастные особенности системного иммунного ответа у онкологических больных отличаются от таковых у здоровых доноров (см. табл. 1 и 2). Основные совпадения с контрольной группой касались 3 клеточных популяций. При увеличении возраста и у здоровых доноров, и у больных ПО РМЖ повышалось количество CD25⁺-лимфоцитов и CD4⁺CD25⁺-Т-клеток, а число регуляторных CD4⁺CD25⁺CD127[−]-Т-клеток (T_{reg}) в составе CD4⁺CD25⁺-популяции оставалось на одном уровне. Таким образом, процент CD4⁺CD25⁺-Т-лимфоцитов с возрастом и в контрольной группе, и у больных пациенток повышался, скорее всего, за счет эффекторных активированных CD4⁺-Т-лимфоцитов.

Повышение процента активированных CD25⁺-лимфоцитов и CD4⁺CD25⁺-Т-клеток, обнаруженное у больных во 2-й группе, по-видимому, является благоприятным фактором при РМЖ. Известно, что молекула CD25 — α -цепь рецептора интерлейкина 2 — играет ключевую роль в запуске пролиферативного ответа и дифференцировки Т-лимфоцитов [18]. Ранее

мы обнаружили, что исходное снижение количества $CD25^{+}$ - и $CD4^{+}CD25^{+}$ -Т-клеток ассоциировалось с увеличением вероятности прогрессирования заболевания у больных трижды негативным РМЖ [17]. У больных 40 лет и старше количество $CD3^{+}CD4^{+}$ -Т- и NKT-клеток также было статистически значимо выше, чем у более молодых пациенток. $CD4^{+}$ -Т-клетки играют важнейшую роль в противоопухолевом иммунном ответе. По данным ряда авторов, исходное количество $CD4^{+}$ -клеток в ПК при различных злокачественных опухолях ассоциируется с благоприятным прогнозом заболевания [19, 20]. Было выявлено, что повышенное до лечения количество $CD3^{+}CD4^{+}$ -Т-клеток ПК ассоциировалось с увеличением общей и безрецидивной выживаемости больных трижды негативным РМЖ [21]. NKT-клетки могут оказывать как отрицательное, так и положительное влияние на противоопухолевый иммунный ответ [22]. В наших исследованиях у больных трижды негативным РМЖ повышение количества NKT-клеток в ПК до лечения ассоциировалось со снижением вероятности прогрессирования заболевания [17]. На увеличение активности системного иммунитета у больных 40 лет и старше указывает и обнаруженное только у них повышение по сравнению с показателями контрольной группы процента цитотоксических Т-лимфоцитов $CD8^{+}CD11b^{+}CD28^{-}$, а также снижение числа «наивных» лимфоцитов ($CD4^{+}CD62L^{+}$ и $CD8^{+}CD11b^{-}CD28^{+}$). Благоприятными факторами у больных 2-й группы оказались тенденция к снижению $CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$ -Т_{рег} на фоне увеличения числа $CD4^{+}CD25^{+}$ -Т-клеток и повышение количества активированных $CD3^{+}HLA-DR^{+}$ -Т-лимфоцитов и других $HLA-DR^{+}$ -клеток. $HLA-DR^{+}$ является маркером поздней активации лимфоцитов, в частности Т-клеток, а увеличение в ПК числа лимфоцитов, экспрессирующих этот маркер, может являться одним из показателей продолжительной активации системного противоопухолевого иммунного ответа [11]. В то же время у более молодых пациенток отмечалось только повышение по сравнению с контрольной группой процента $CD16^{+}Perforin^{+}$ -NK-клеток, их ЦТП, а также процента $CD8^{+}Perforin^{+}$ -лимфоцитов. Таким образом, обнаруженные различия в субпопуляционном составе лимфоцитов ПК у больных разных возрастных групп позволили предположить, что системный иммунный ответ у пациенток 40 лет и старше (2-я группа) значительно более выражен, чем у больных моложе 40 лет.

Это предположение в определенной степени подтверждается результатами, полученными у больных РСОПР (см. табл. 2). У обследованной группы пациентов повышение возраста ассоциировалось с увеличением количества клеток эффекторных популяций лимфоцитов ПК: $CD16^{+}$ и $CD16^{+}Perforin^{+}$ -NK-клеток, $CD11b$ -экспрессирующих лимфоцитов (эта молекула экспрессируется на клетках-эффекторах с высокой цитотоксической активностью) и цитотоксических $CD8^{+}CD11b^{+}CD28^{-}$ -Т-клеток, а также с увеличением ЦТП $CD8^{+}$ -лимфоцитов [23, 24]. С другой стороны, возраст пациентов отрицательно коррелировал с количеством $CD8^{+}CD11b^{+}CD28^{+}$ -Т-клеток («наивные»/клетки памяти) и супрессорных $CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$ -Т-клеток (см. табл. 2). Можно предположить, что повышение значимости эффекторного звена иммунитета у больных старшего возраста в определенной степени связано со снижением активности клеток-супрессоров. В настоящее время причины возрастных различий в состоянии системного противоопухолевого иммунного ответа до конца не ясны, однако можно предположить, что они вносят свой вклад в более благоприятное течение РМЖ и некоторых других злокачественных новообразований у лиц старшего возраста.

Заключение

Оценка биологического возраста онкологических пациентов приобретает все большее значение, поскольку с годами иммунная система человека претерпевает определенные изменения. Опухолевый рост модулирует иммунный ответ на чужеродные и аутоантигены, и хотя возрастные различия в состоянии иммунной системы сохраняются, они могут существенно отходить от нормы. Это касается как врожденного, так и адаптивного иммунитета. Безусловно, проблема взаимосвязи возраста и противоопухолевого иммунного ответа, а также характера течения опухолевого процесса требует дальнейших исследований как системного, так и местного иммунитета у лиц разного возраста. Очевидно, что особенности возрастных различий в иммунном ответе на опухоль следует учитывать при назначении системной терапии, в том числе иммунотерапии. В связи с этим проведенное в настоящем исследовании изучение особенностей системного иммунного ответа на опухоль у больных РМЖ и РСОПР разных возрастных групп может внести определенный вклад в повышение эффективности и безопасности системного лечения онкологических пациентов.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Kataoka A., Iwamoto T., Tokunaga E. 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):163–72. DOI: 10.1007/s10549-016-3984-8.
- Dhanuthai K., Rojanawatsirivej S., Thosaporn W. et al. Oral cancer: a multicenter study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2018;23(1):23–9. DOI: 10.4317/medoral.21999.
- Stervbo U., Meier S., Mälzer J.N. et al. Effects of aging on human leukocytes (part I): immunophenotyping of innate immune cells. *Age (Dordr)* 2015;37(5):92. DOI: 10.1007/s11357-015-9828-3.
- Stervbo U., Bozzetti C., Baron U. et al. Effects of aging on human leukocytes (part II): immunophenotyping of adaptive immune B and T cell subsets. *Age (Dordr)* 2015;37(5):93. DOI: 10.1007/s11357-015-9829-2.
- Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013;39(1):1–10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
- Kepp O., Senovilla L., Kroemer G. Immunogenic cell death inducers as anticancer agents. *Oncotarget* 2014;5(14):5190–1. DOI: 10.18632/oncotarget.2266.
- Muraro E., Furlan C., Avanzo M. 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.
- Standish L.J., Sweet E.S., Novack J. et al. Breast cancer and the immune system. *J Soc Integr Oncol* 2008;6(4):158–68.
- Péguillet I., Milder M., Louis D. 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.
- Бююль А., Цёфель П. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей. СПб.: ДиаСофтЮП, 2005. 608 с. [Buul A., Cefel P. SPSS: art of information processing. Analysis of statistical data and recovery of hidden patterns. St. Petersburg: Diasoftyup, 2005. 608 p. (In Russ.)].
- Melichar B., Toušková M., Dvořák J. et al. The peripheral blood leukocyte phenotype in patients with breast cancer: effect of doxorubicin/paclitaxel combination chemotherapy. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2001;23(2):163–73. DOI: 10.1081/IPH-100103857.
- Gravekamp C., Chandra D. Aging and cancer vaccines. *Crit Rev Oncog* 2013;18(6):585–95. DOI: 10.1615/critrevoncog.2013010588.
- Schnell A., Schmid C., Herr W., Siska P.J. The peripheral and intratumoral immune cell landscape in cancer patients: a proxy for tumor biology and a tool for outcome prediction. *Biomedicine* 2018;6(1):25. DOI: 10.3390/biomedicine6010025.
- He Q., Li G., Ji X. et al. Impact of the immune cell population in peripheral blood on response and survival in patients receiving neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer. *Tumour Biol* 2017;39(5):1010428317697571. DOI: 10.1177/1010428317697571.
- Spitzer M.H., Carmi Y., Reticker-Flynn N.E. et al. Systemic immunity is required for effective cancer Immunotherapy. *Cell* 2017;168(3):487–502.e15. DOI: 10.1016/j.cell.2016.12.022.
- Cheng H., Luo G., Lu Y. et al. The combination of systemic inflammation-based marker NLR and circulating regulatory T cells predicts the prognosis of resectable pancreatic cancer patients. *Pancreatology* 2016;16(6):1080–4. DOI: 10.1016/j.pan.2016.09.007.
- Черткова А.И., Славина Е.Г., Шоуа Э.К. и др. Основные параметры клеточного иммунитета у больных раком молочной железы с тройным негативным фенотипом: связь с эффективностью химиотерапии. *Медицинская иммунология* 2018;20(5):667–80. DOI: 10.15789/1563-0625-2018-5-667-680. [Chertkova A.I., Slavina E.G., Shoua E.K. et al. The main parameters of cellular immunity in patients with breast cancer with triple negative phenotype: relationship with the effectiveness of chemotherapy. *Meditinskaya immunologiya = Medical Immunology* 2018;20(5):667–80. (In Russ.)].
- Benczik M., Gaffen S.L. The interleukin (IL)-2 family cytokines: survival and proliferation signaling pathways in T lymphocytes. *Immunol Invest* 2004;33(2):109–42. DOI: 10.1081/IMM-120030732.
- Trédan O., Manuel M., Clapisson G. et al. Patients with metastatic breast cancer leading to CD4⁺ T cell lymphopenia have poor outcome. *Eur J Cancer* 2013;49(7):1673–82. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.028.
- Péron J., Cropet C., Trédan O. et al. CD4 lymphopenia to identify end-of-life metastatic cancer patients. *Eur J Cancer* 2013;49(5):1080–9. DOI: 10.1016/j.ejca.2012.11.003.
- Черткова А.И., Славина Е.Г., Окружнова М.А. и др. Эффекторные и регуляторные Т-лимфоциты периферической крови больных раком молочной железы с тройным негативным фенотипом: связь с клиническим эффектом химиотерапии. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина* 2016;27(2):89–97. [Chertkova A.I., Slavina E.G., Okruzhnova M.A. et al. Effector and regulatory T-lymphocytes of peripheral blood of breast cancer patients with triple negative phenotype: relationship with the clinical effect of chemotherapy. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina = Journal of N.N. Blokhin RCRC* 2016;27(2):89–97. (In Russ.)].
- Terabe M., Berzofsky J.A. The role of NKT cells in tumor immunity. *Adv Cancer Res* 2008;101:277–348. DOI: 10.1016/S0065-230X(08)00408-9.
- McFarland H.I., Nahill S.R., Maciaszek J.W., Welsh R.M. CD11b (Mac-1): a marker for CD8⁺ cytotoxic T cell activation and memory in virus infection. *J Immunol* 1992;149(4):1326–33.
- Fu B., Tian Z., Wei H. Subsets of human natural killer cells and their regulatory effects. *Immunology* 2014;141(4):483–9. DOI: 10.1111/imm.12224.

Вклад авторов

А.И. Черткова: научная интерпретация данных, написание текста рукописи;
 Т.Н. Заботина: написание текста рукописи, научное редактирование статьи;
 В.Т. Циклаури, И.А. Задеренко: получение клинических данных и участие в их анализе, предоставление материалов исследования;
 Е.Н. Захарова, А.А. Борунова: анализ полученных данных;
 Д.В. Табаков: анализ полученных данных, перевод;
 Э.К. Шоуа: получение данных для анализа;
 И.К. Воротников, А.М. Мудунов: разработка дизайна исследования, утверждение окончательного варианта статьи, участие в анализе клинических данных и обсуждении рукописи;
 З.Г. Кадагидзе: обзор публикаций по теме статьи, обсуждение рукописи, редактирование статьи.

Author's contributions

A.I. Chertkova: scientific interpretation of data, writing the manuscript;
 T.N. Zabolina: writing the manuscript, scientific editing of an article;
 V.T. Tsiklauri, I.A. Zaderenko: obtaining clinical data and participating in their analysis, providing research materials;
 E.N. Zakharova, A.A. Borunova: analysis of the obtained data;
 D.V. Tabakov: analysis of the obtained data, translation;
 E.K. Shoua: obtaining data for analysis;
 I.K. Vorotnikov, A.M. Mudunov: developing the research design, approving final version of the article, analyzing clinical data, article discussion and editing;
 Z.G. Kadagidze: reviewing of publications of the article's theme, article discussion and editing.

ORCID авторов/ ORCID of authors

А.И. Черткова/A.I. Chertkova: <https://orcid.org/0000-0001-9146-5986>
 Т.Н. Заботина/T.N. Zabolina: <https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>
 В.Т. Циклаури/V.T. Tsiklauri: <https://orcid.org/0000-0002-3090-695X>
 Е.Н. Захарова/E.N. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0003-2790-6673>
 Д.В. Табаков/D.V. Tabakov: <https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>
 А.А. Борунова/A.A. Borunova: <https://orcid.org/0000-0002-1854-3455>
 Э.К. Шоуа/E.K. Shoua: <https://orcid.org/0000-0003-3937-474X>
 И.А. Задеренко/I.A. Zaderenko: <https://orcid.org/0000-0003-0183-4827>
 А.М. Мудунов/A.M. Mudunov: <https://orcid.org/0000-0002-0918-3857>
 З.Г. Кадагидзе/Z.G. Kadagidze: <https://orcid.org/0000-0002-0058-098>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполняется в рамках НИР по теме «Оптимизация панели молекулярных маркеров иммунокомпетентных клеток системного и локального иммунитета как средства выявления надежных прогностических и предиктивных факторов эффективности противоопухолевой терапии для персонализации лечения онкологических больных» (сроки исполнения: 01.01.2019–31.12.2021, руководитель – Т.Н. Заботина). АААА-А19-119022090028-6.

Financing. The study is carried out within the framework of research on the topic "Optimization of the panel of molecular markers of immunocompetent cells (ICCS) of systemic and local immunity as a means of identifying reliable prognostic and predictive factors of the effectiveness of anti-cancer therapy for personalization of treatment of cancer patients" (deadlines: 01.01.2019–31.12.2021, head – T.N. Zabolina). АААА-А19-119022090028-6.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 22.11.2019. Принята к публикации: 19.12.2019.

Article submitted: 22.11.2019. Accepted for publication: 19.12.2019.