

ИММУНОФЕНОТИП ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНО-ОПЕРАБЕЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Т.Н. Заботина, О.В. Короткова, Ш.Г. Хакимова, А.А. Борунова, Д.В. Табаков,
И.К. Воротников, З.Г. Кадагидзе

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва,
Каширское шоссе, 24

Контакты: Татьяна Николаевна Заботина tatzabotina@yandex.ru

Цель исследования – изучение субпопуляционной структуры лимфоцитов периферической крови первичных больных раком молочной железы.

Материалы и методы. С помощью многопараметрового проточно-цитометрического анализа исследовали периферическую кровь 70 первичных больных раком молочной железы и 39 здоровых женщин. Использовали моноклональные антитела к антигенам CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD19, CD45.

Результаты. Статистически достоверное нарушение линейной структуры лимфоцитов – T-клеток с фенотипом CD45⁺/CD3⁺/CD19⁻, B-лимфоцитов с фенотипом CD45⁺/CD3⁻/CD19⁺ и NK-лимфоцитов с фенотипом CD45⁺/CD3⁻/CD16⁺56⁺ – выявляется только при анализе индивидуальных иммунограмм, но не при анализе всей группы больных раком молочной железы.

Заключение. На основе анализа частоты встречаемости нарушений среди больных раком молочной железы с низкими показателями соотношения CD4/CD8 определены 4 различных варианта нарушений.

Ключевые слова: иммунологический фенотип лимфоцитов, проточная цитометрия, рак молочной железы

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-4-37-39

IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES OF PATIENTS WITH PRIMARY OPERABLE BREAST CANCER

T. N. Zabolina, O. V. Korotkova, Sh. G. Hakimova, A. A. Borunova, D. V. Tabakov, I. K. Vorotnikov, Z. G. Kadagidze

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

Objective. The investigation is devoted to study subpopulation structure of lymphocytes from peripheral blood of patients, suffering from breast cancer.

Materials and methods. Peripheral blood of 70 patients with breast cancer and 39 healthy women was analyzed using the flow cytometry method with monoclonal antibodies to CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD19, CD45 antigens.

Results. Statistically significant disturbance of linear structure of lymphocytes (T-cells CD45⁺/CD3⁺/CD19⁻; B-cells CD45⁺/CD3⁻/CD19⁺; NK-cells CD45⁺/CD3⁻/CD16⁺56⁺) detected only in the analysis of individual immunograms, but not in analysis of whole group of breast cancer patients.

Conclusion. Based on analysis of frequency of occurrence of disturbances of cancer breast patients with low values of ratio CD4/CD8, it was detected 4 different variants of disturbance.

Key words: Immunological phenotype of lymphocytes, flow cytometry, breast cancer

Введение

В связи с активным внедрением в клиническую практику иммунологических подходов при лечении онкологических больных актуальным является поиск иммунологических нарушений в структуре иммунокомпетентных клеток, включая линейную структуру лимфоцитов и их T-клеточного звена [1, 2].

Материалы и методы

Изучалась субпопуляционная структура лимфоцитов периферической крови 70 первичных больных раком молочной железы (РМЖ) до проведения хирургического этапа лечения. В качестве контрольной группы исследовали 39 образцов периферической крови здоровых женщин аналогичного возраста.

Для многопараметрового проточно-цитометрического анализа поверхностных антигенов использовали коммерческие моноклональные антитела (Beckman Coulter, BD Biosciences), конъюгированные FITC, PE, PE-Cy5, APC к антигенам CD3, CD4, CD8, CD16, CD56, CD19, CD45.

Результаты и обсуждение

На 1-м этапе проведено изучение линейной структуры клеточного звена иммунитета 70 первичных больных РМЖ в сравнении с 39 здоровыми лицами. Как известно, основным пулом лимфоцитов являются Т-клетки с фенотипом $CD45^+CD3^+CD19^-$, в норме на их долю приходится в среднем 75 %. В целом по группе различий в уровне содержания зрелых Т-лимфоцитов в периферической крови больных РМЖ и здоровых лиц не выявлено: $72,3 \pm 3,4$ и $75,0 \pm 0,6$ % соответственно. Однако диапазон значений при этом сильно варьировал – от 22,1 до 92,0 %, что послужило основанием для детального анализа данного показателя. Оказалось, что с низким содержанием $CD45^+CD3^+CD19^-$ Т-клеток в исследуемой группе больных было 17 (24,3 %) из 70 пациенток, уровень антигенположительных клеток в этой подгруппе составил $46,5 \pm 1,1$ %. С высокими показателями $CD45^+CD3^+CD19^-$ Т-клеток выявлено 13 (18,6 %) из 70 больных РМЖ, при этом средний уровень антигенположительных клеток в этой подгруппе составил $84,7 \pm 1,4$ %.

Второй значимой по количеству линейной популяцией лимфоцитов являются НК-клетки с фенотипом $CD45^+/CD3^-/CD16^+56^+$. В норме на их долю приходится не более 25 % среди всех лимфоидных клеток. Нами не выявлено различий в содержании линейной популяции НК-лимфоцитов в периферической крови больных РМЖ в целом по группе и у здоровых лиц: $16,8 \pm 1,2$ и $16,0 \pm 0,9$ % соответственно. Следует заметить, что диапазон значений также сильно варьировал и составил от 3,3 до 61,2 %. Высокие значения содержания НК-лимфоцитов выявлены у 17 (24,3 %) из 70 больных РМЖ, а уровень антигенположительных клеток в этой подгруппе составил $33,5 \pm 2,1$ %, что более чем в 2 раза превышает показатели донорской группы. Низкие показатели уровня НК-лимфоцитов периферической крови отмечены у 14 (20 %) из 70 пациенток с РМЖ, при этом уровень антигенположительных клеток в этой подгруппе составил лишь $6,5 \pm 0,1$ %.

Третьей линейной популяцией в составе лимфоцитов являются В-клетки, на долю которых в норме приходится не более 5–9 %. В целом по группе нарушений в составе $CD45^+CD3^-CD19^+$ В-линейного звена клеточного иммунитета нами не обнаружено. Медиана показателей у больных РМЖ практически не отличалась от группы сравнения: $5,7 \pm 0,8$ и $5,1 \pm 0,1$ %

соответственно. Однако у 3 (4,3 %) из 70 пациенток количество В-лимфоцитов оказалось значительно выше нормы и составило 41,4; 28,0 и 13,0 % антигенположительных клеток, среднее значение – 27,5 %. Полученные данные согласуются с результатами, полученными ранее [3]. При персонализированном сопоставлении иммунограмм больных РМЖ с высокими и низкими показателями содержания линейных популяций лимфоцитов в периферической крови оказалось, что 13 (76,5 %) из 17 пациенток, имеющих низкие показатели $CD45^+CD3^+CD19^-$ Т-клеток, вошли в группу больных с высоким содержанием $CD45^+/CD3^-/CD16^+56^+$ НК-лимфоцитов. Напротив, среди 13 больных РМЖ с высоким содержанием $CD45^+CD3^+CD19^-$ Т-лимфоцитов у 10 (76,9 %) пациенток зафиксированы низкие показатели количества $CD45^+/CD3^-/CD16^+56^+$ НК-клеток. Также следует отметить, что все 3 пациентки из группы с высокими показателями уровня $CD45^+CD3^-CD19^+$ В-лимфоцитов имели сниженные показатели $CD45^+CD3^+CD19^-$ Т-лимфоцитов, при этом у 2 из них отмечено также низкое содержание $CD45^+/CD3^-/CD16^+56^+$ НК-клеток.

Важнейшим показателем состояния клеточного звена иммунной системы является анализ соотношения субпопуляций $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов в структуре Т-клеток. В исследуемой группе больных медиана данного показателя оказалась равна 1,0, что свидетельствует либо о низких показателях уровня $CD4^+$, либо, напротив, о повышенных значениях $CD8^+$ лимфоцитов.

Анализ частоты встречаемости нарушений соотношения $CD4/CD8$ выявил, что 37 (52,8 %) пациенток имеют показатели ниже среднего значения по группе – $0,69 \pm 0,1$, что свидетельствует о грубых нарушениях в структуре Т-клеточного звена иммунитета. У 6 (8,5 %) больных данный показатель оказался выше значений по группе – $3,3 \pm 0,1$, и лишь 27 (38,5 %) первичных больных РМЖ имели показатели соотношения $CD4/CD8$, соответствующие нормальным значениям.

Нами были определены 4 различных варианта нарушений соотношения $CD4/CD8$ среди больных с низким показателем, менее 1,0:

- 1-й вариант: норма $CD4$ vs $\uparrow CD8$ – 7 (18,9 %) больных;
- 2-й вариант: $\downarrow CD4$ vs норма $CD8$ – 13 (35,1 %) больных;
- 3-й вариант: $\downarrow CD4$ vs $\uparrow CD8$ – 15 (40,6 %) больных;
- 4-й вариант: $\downarrow CD4$ vs $\downarrow CD8$ – 2 (5,4 %) больных.

Следует заметить, что среди различных вариантов нарушений соотношения $CD4/CD8$ ни в одном случае не были зафиксированы высокие показатели уровня $CD4$ лимфоцитов, только норма или низкие значения. Однако популяция $CD8$ клеток у 22 (59,0 %) из 37 больных превышала нормальные значения, у 13

(35,1 %) больных соответствовала норме, и лишь у 2 (5,4 %) были выявлены низкие параметры.

Заключение

Таким образом, изучение структуры основных линейных популяций лимфоцитов (Т, В, NK) периферической крови в целом по группе из 70 первичных

больных РМЖ не показало статистически значимых различий по сравнению с группой доноров. Только индивидуальный анализ показателей клеточного звена иммунитета, основанный на содержании уровня Т-клеток, позволил выявить различные варианты линейных структурных иммунологических нарушений лимфоидных клеток первично-операбельных больных РМЖ.

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

1. Hadden J.W. The immunology and immunotherapy of breast cancer: An update. *Int J Immunopharmacol* 1999;21:79–101. PMID:10230872.
2. Yi Huang, Chunling Ma, Qunyuan Zhang et al. CD4⁺ and CD8⁺ T cells have opposing roles in breast cancer progression and outcome. *Oncotarget* 2015;6(19):17462–78. DOI: 10.18632/oncotarget.3958. PMID: 25968569.
3. Короткова О.В., Заботина Т.Н., Скотаренко Л.В. и др. Субпопуляции лимфоцитов периферической крови больных РМЖ. *Российский биотерапевтический журнал* 2011;10(3):95–8.