Оригинальное исследование
УДК 616-006.6-091
http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-2-9

ИММУНОФЕНОТИПИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ИНТРАТУМОРОЗНОГО ИНФИЛЬТРАТА У ПАЦИЕНТОК С РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Казим Алиевич Алиев[1], Татьяна Павловна Макалиш[2], Эльвина Рефатовна Асанова[3], Евгения Юрьевна Зяблицкая[4]✉

[1-4]Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С.И. Георгиевского, Симферополь, Россия
[1]kazimaliev1986@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3911-1245
[2]gemini_m@list.ru, https://orcid.org/0000-0003-1884-2620
[3]elyabiolog@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-0409-3297
[4]✉evgu79@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8216-4196

Аннотация. Расширение представлений о роли опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток при раке молочной железы (РМЖ) является важным этапом на пути понимания взаимодействия опухоли и иммунной системы, что может внести вклад в совершенствование подходов иммунотерапии. Цель настоящего исследования – оценка иммунофенотипического разнообразия интратуморозного инфильтрата при РМЖ на фоне различных терапевтических стратегий. В исследование включено 68 пациенток, которые были разделены на три группы: I группа (n=23) – пациентки с РМЖ, которым не проводилась неоадъювантная химиотерапия (НХТ); II группа (n=25) – пациентки с РМЖ, прошедших от 1 до 12 курсов неоадъювантной химиотерапии. Контрольную группу составили женщины с фиброаденомой (n=20). Проведено морфологическое исследование фрагментов тканей первичного очага опухоли с прилежащей условно здоровой тканью молочной железы, полученной в ходе оперативного лечения. Методом иммуногистохимии (ИГХ) оценивали экспрессию маркеров CD4+, CD8+, CD20+, CD68+, CD163+. Применение НХТ при инвазивном протоковом РМЖ увеличивает степень инфильтрации опухоли лимфоцитами, смещая соотношение различных их популяций в сторону увеличения числа CD20+ В-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов, при одновременном снижении количества CD4+ клеток. При этом указанная динамика изменения фенотипической картины достигает максимальной выраженности в зоне демаркации. Участки ткани, прилежащие к опухоли, у пациенток с протоковой карциномой характеризуются снижением числа макрофагальных клеток, наряду с увеличение количества CD4+ Т-клеток по отношению к фрагментам здоровых тканей пациенток группы контроля.

Ключевые слова: рак молочной железы, неоадъювантная химиотерапия, лимфоциты, микроокружение опухоли, опухолевый инфильтрат

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России государственного задания No FZEG-2023-0009 «Изучение гетерогенности микроокружения опухоли как фактора ее агрессивности и резистентности к терапии».

Для цитирования: Иммунофенотипическое разнообразие интратуморозного инфильтрата у пациенток с раком молочной железы / К.А. Алиев, Т.П. Макалиш, Э.Р. Асанова и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2025. – № 2. – С. 50-58. http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-2-9.

IMMUNOPHENOTYPIC DIVERSITY OF INTRATUMOROUS INFILTRATE IN PATIENTS WITH BREAST CANCER

Kazim A. Aliev[1], Tatyana P. Makalish[2], Elvina R. Asanova[3], Evgenia Yu. Ziablitskaia[4]✉

[1-4]Labor Red Banner Order Medical Institute named after S.I. Georgievsky, Simferopol, Russia
[1]kazimaliev1986@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3911-1245
[2]gemini_m@list.ru, https://orcid.org/0000-0003-1884-2620
[3]elyabiolog@yandex.ru, https://orcid.org/0009-0001-0409-3297
[4]✉evgu79@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-8216-4196

Abstract. Expanding our understanding of the role of tumor-infiltrating immune cells in breast cancer is an important step towards understanding the interaction between the tumor and the immune system, which can contribute to improving immunotherapy approaches. The goal of this study is to assess the immunophenotypic diversity of intratumoral infiltrate in breast cancer at the background of various therapeutic strategies. The study included 68 patients, who were divided into three groups: Group I (n=23) – patients with breast cancer who did not receive neoadjuvant chemotherapy; Group II (n=25) – patients with breast cancer who underwent from 1 to 12 courses of neoadjuvant chemotherapy. The control group consisted of patients with fibroadenoma (n=20). A morphological study of tissue fragments from the primary tumor site with adjacent conditionally healthy breast tissue obtained during surgical treatment was carried out. The expression of CD4+, CD8+, CD20+, CD68+, CD163+ markers was assessed using immunohistochemistry. The use of neoadjuvant chemotherapy for invasive ductal breast cancer increases the degree of tumor infiltration by lymphocytes, shifting the ratio of their various populations towards an increase in the number of CD20+ B lymphocytes and CD8+ T lymphocytes, while simultaneously reducing the number of CD4+ cells. In this case, the indicated dynamics of changes in the phenotypic picture reaches its maximum severity in the demarcation zone. Areas of tissue adjacent to the tumor in patients with ductal carcinoma are characterized by a decrease in the number of macrophage cells, along with an increase in the number of CD4+ T cells in relation to fragments of healthy tissue from patients in the control group.

Keywords: breast cancer, chemotherapy, lymphocytes, tumor microenvironment, tumor infiltrate

Funding. The study was financially supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation under State Assignment No FZEG-2023-0009«Study of the heterogeneity of the tumor microenvironment as a factor in its aggressiveness and resistance to therapy».

For citation: Immunophenotypic diversity of intratumorous infiltrate in patients with breast cancer / K.A. Aliev, T.P. Makalish, E.R. Asanova, et al. // Far Eastern medical journal. – 2025. – № 2. – P. 50-58. http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2025-2-9.

Согласно современным эпидемиологическим данным, рак молочной железы (РМЖ) сохраняет ведущие позиции в структуре онкологических заболеваний у женского населения и остается первой по значимости причиной смерти от злокачественных новообразований у данной категории пациентов [1]. По мнению специалистов, к числу основных факторов, обуславливающих высокую летальность от РМЖ, относятся прогрессирование заболевания, а также недостаточная эффективность проводимых лечебных мероприятий [2]. Благодаря успехам в сфере молекулярной онкологии, за последние десятилетия были значительно расширены представления о гетерогенности и патогенетическом многообразии РМЖ. Так, стало возможным заключить, что именно биологические характеристики злокачественных новообразований молочной железы могут определять степень агрессивности опухоли, а также оказывать влияние на эффективность выбранного режима терапии и долгосрочный прогноз [3].

На сегодняшний день химиотерапия продолжает рассматриваться как «терапия выбора» для многих пациенток с РМЖ. Так, около 64,5 % женщин с данным диагнозом нуждаются в проведении химиотерапии либо в самостоятельном, либо в неоадъювантном/адъювантном режиме [4]. Открытым остается вопрос о прогнозе эффективности выбранной терапевтической стратегии в случае с каждым конкретным пациентом. Установлено, что эффективность применяемых препаратов во многих случаях зависит не только от их прямого цитостатического и/или цитотоксического действия на опухолевые клетки, но и от способности модулировать их взаимодействие с микроокружением и воздействовать на противоопухолевый иммунный ответ. Именно введение химиотерапевтических агентов может оказать решающее значение в отношении фенотипических перестроек иммунного профиля опухоли [5].

Основное значение в регуляции канцерогенеза отводят моноцитарно-макрофагальному и Т-лимфоцитарному звеньям иммунитета. Указанные компоненты иммунного ответа характеризуются гетерогенностью, что связано со значительным популяционным разнообразием клеток и вариабельностью их функционального потенциала. Известно, что в зависимости от молекулярных характеристик иммуноциты могут проявлять как противоопухолевую активность, так и подавлять противоопухолевую защиту, способствуя прогрессии злокачественного новообразования [6]. В настоящее время накоплен целый пул исследований, связанных с изучением особенностей и определением прогностической значимости различных популяций иммунокомпетентных клеток, инфильтрирующих опухоль. При этом, существующие на текущий момент научные данные, характеризуются фрагментарностью и значительной противоречивостью, что указывает на необходимость продолжения проведения углубленных исследований в рамках указанной тематики. В большинстве исследований изучение инфильтрации иммунными клетками выполняется без учета субпопуляционного состава, хотя это может иметь большое значение, поскольку позволит стратифицировать больных в разные группы с различным клиническим исходом.

Целью настоящего исследования явилась оценка иммунофенотипического разнообразия интратуморозного инфильтрата при РМЖ на фоне различных терапевтических стратегий.

Материалы и методы

В исследование включено 68 пациенток: 48 – с верифицированным РМЖ (средний возраст – 65,0±5,0 лет), и 20 пациенток сопоставимого возраста с фиброаденомой, наблюдавшихся на базе Клинического медицинского многопрофильного центра Святителя Луки, ООО «Генезис» и ГБУЗ РК «Крымский республиканский онкологический клинический диспансер имени В.М. Ефетова», г. Симферополь.

Согласно дизайну исследования все обследуемые пациентки были разделены на три группы: I группа (n=23) – пациентки с РМЖ, которым не проводилась неоадъювантная химиотерапия (НХТ); II группа (n=25) – пациентки с РМЖ, прошедших от 1 до 12 курсов НХТ; контрольная группа (n=20) – пациентки с фиброаденомой.

В неоадъювантном режиме пациенткам II группы проводилась химиотерапия по схеме:

Доцетаксел 75-100 мг/м² в 1-й день + трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в 1-й день + пертузумаб 420 мг (нагрузочная доза 840 мг) в 1-й день; цикл 21 день (sh0070);

Гемцитабин 1 000 мг/м² в 1-й, 8-й дни + цисплатин 75 мг/м² в 1-й день + трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в 1-й день; цикл 21 день (sh0306.1);

Метотрексат 30-40 мг/м² в 1-й день; цикл 7 дней (sh0582);

Паклитаксел 90 мг/м² в/в в 1-й, 8-й, 15-й дни + бевацизумаб 15 мг/кг в/в в 1-й день; цикл 21 день (sh1032; sh1032.1);

Трастузумаб эмтанзин 3,6 мг/кг в 1-й день; цикл 21 день (sh0181);

Трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в 1-й день + пертузумаб 420 мг (нагрузочная доза 840 мг) в 1-й день; цикл 21 день (sh0533);

Паклитаксел 80 мг/м² в 1-й, 8-й, 15-й дни + трастузумаб 6 мг/кг (нагрузочная доза 8 мг/кг) в 1-й день + пертузумаб 420 мг (нагрузочная доза 840 мг) в 1-й день; цикл 21 день (sh0576.1).

Проведение работы одобрено локальным этическим комитетом Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Все процедуры с вовлечением больных были проведены в соответствии с Протоколом Хельсинской декларации по правам человека (1964 г.). Все больные подписывали информированное согласие на участие в исследовании.

Исследовательская часть работы проведена на оборудовании центра коллективного пользования оборудованием «Молекулярная биология» Центральной научно-исследовательской лаборатории Ордена Трудового Красного Знамени Медицинского института им. С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

В ходе работы проводили морфологическое исследование фрагментов тканей первичного очага опухоли с прилежащей условно здоровой тканью молочной железы, полученной в ходе оперативного лечения. Кусочки ткани после фиксации, обезвоживания и стандартной проводки, заливали в парафиновые блоки (FFPE) согласно инструкциям производителей рекомендованного гистологического оборудования. Для иммунофенотипирования из FFPE блоков изготавливали срезы толщиной 4 мкм, помещали на высокоадгезивные стекла и окрашивали в автоматическом иммуногистостейнере открытого типа Bond-MAX (Leica Biosystems Melbourne Pty Ltd, Австралия). Протокол окрашивания включал депарафинизацию, высокотемпературную демаскировку, блокировку эндогенной пероксидазы, инкубацию с первичным антителом, инкубацию со вторичным антителом, меченым полимером, инкубацию с третичным анитетлом, меченым пероксидазой хрена, контрокрашивание ядер гематоксилином.

Оценивалась экспрессия опухоль-инфильтрирующих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, CD20+В-лимфоцитов, CD68+ и CD163+ макрофагов. Перечень первичных антител для выявления кластеров дифференцировки лимфоцитов в ткани опухоли и прилежащих к ней участках включал: CD4 (clone 4B12, Leica), CD8 (clone YN00246m, Elabscience, 1:200), CD20 (clone L26, Leica, 1:100), CD68 (clone 125212, Abcam, 1:100), CD163 (clone 182422, Abcam, 1:100). Окрашенные препараты сканировали на сканере гистопрепаратов Aperio CS2 (Leica Biosystems, США). При оценке окрашивания подсчитывали количество позитивно окрашенных клеток в поле зрения при увеличении в 40 раз в строме опухоли, в зоне демаркации и в строме прилежащей условно здоровой ткани. Отдельно учитывали области лимфоидных узелков в зоне демаркации при наличии таковых.

Статистический анализ выполнялся при использовании статистического пакета Statistica 6.0 (Stat Soft Inc., США). Нормальность распределения переменных оценена с использованием критерия Шапиро–Уилка. Поскольку распределение отличалось от нормального и предполагало дискретные данные, при использовании методов описательной статистики высчитывали медиану (Me) и межквартильный разброс (Q1;Q3). Выявление отличий между группами проводили методами Манна-Уитни с попарным сравнением и методом Краскела-Уоллиса путем сравнения нескольких независимых выборок. Направление и тесноту взаимосвязи между показателями оценивали с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Различия считались значимыми при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Морфологическая характеристика пациенток с верифицированным РМЖ представлена в таблице 1. Гистологически все опухоли были представлены протоковой карциномой in situ.

Таблица 1 – Морфологическая характеристика обследуемых пациенток с РМЖ, абс/ (%)

Параметры	I группа (n=23) абс. (%)	II группа (n=25) абс. (%)
Размер опухоли (T по TNM)		
T1	2 (8,7)	5 (20,0)
T2	18 (78,3)*	11 (44,0)
T3	1 (4,3)	4 (16,0)
Tx	2 (8,7)	5 (20,0)
Наличие регионарных метастазов (N по TNM)		
N0	6 (26,1)	5 (20,0)
N1	9 (39,1)	10 (40,0)
N2	7 (30,4)	8 (32,0)
N3	1 (4,4)	2 (8,0)
Стадия заболевания		
II A	8 (34,8)	5 (20,0)
II B	7 (30,4)	9 (36,0)
III A	7 (30,4)	9 (36,0)
III C	1 (4,4)	2 (8,0)
Степень злокачественности (G)		
G2	3 (13,0)	7 (28,0)
G3	20 (87,0)	18 (72,0)
Экспрессия рецепторов к эстрогенам (ER)		
ER (+)	6 (26,1)	6 (24,0)
ER (–)	17 (73,9)	19 (76,0)
Экспрессия рецепторов к прогестерону (PR)		
PR (+)	5 (78,3)	9 (36,0)
PR (–)	18 (21,7)	16 (64,0)
Рецепторы HER2		
HER2 (+)	6 (26,1)	6 (24,0)
HER2 (–)	17 (73,9)	19 (76,0)

Примечание. * p<0,05 при сравнении I и II групп.

Таким образом, пациентки I и II групп были сопоставимы по исходным морфологическим характеристикам. Достоверно более высокая частота встречаемости опухолей T2 в группе I (p=0,02) не оказывала влияние на дельнейшие результаты текущего исследования.

В ходе ИГХ исследования образцов ткани молочной железы в разрезе трех групп были получены следующие результаты (табл. 2).

Лимфоидная инфильтрация опухоли в биологическом материале пациенток I группы составила 5,5 % от общей площади стромы опухоли, в то время как площадь инфильтрата во II группе достигала 13 %.

Во всех анализируемых образцах, в том числе здоровой ткани, присутствовали клетки макрофагальной линии, идентифицируемые методом ИГХ с помощью антител к CD68 (рис. 1). В группе контроля их количество составило в среднем 5 клеток на поле зрения. В опухолевой ткани, а также в участках зоны демаркации и условно здоровой ткани за границами опухоли количество макрофагов было значимо меньше (1-2 клетки в поле зрения) (p=0,03).

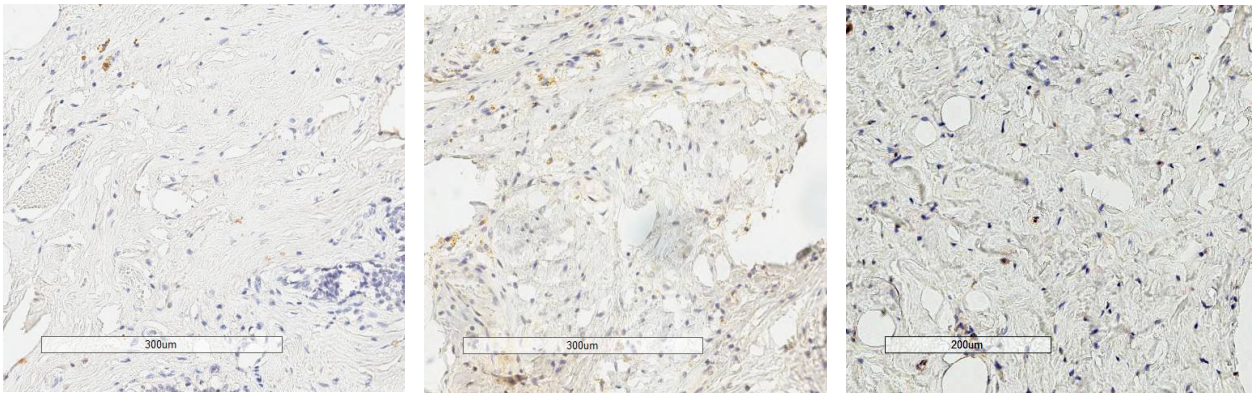
Таблица 2 – Степень инфильтрации и популяционный состав иммунных клеток в образцах ткани, Me [Q1; Q3]

Группы	Степень инфильтрации опухоли иммунными клетками, %	ИГХ маркеры	Кол-во клеток в строме опухоли	Кол-во клеток в зоне демаркации	Кол-во клеток в здоровой строме
I группа (n=23)	5,6 [3,2; 7,8]	CD68+	3 [1; 5]	1 [0; 3]	2 [1; 3] #
		CD163+	9 [6; 17]	9 [7; 17]	5 [4; 7]
		CD20+	3 [2; 13]	9 [7; 12] *	4 [3; 5]
		CD4+	4 [2; 6]	45 [31; 88,5]*	5 [3; 7]#
		CD8+	4 [2; 6,5]	21,5 [8,5; 69,5]*	3 [2; 4]
II группа (n=25)	13,0 [1,8;20,0]	CD68+	1 [0; 2]	2 [1; 4]	2 [1; 3]#
		CD163+	7 [5; 29]	13 [7; 16]	5 [4; 8]
		CD20+	2 [1; 19]	28 [5; 44]	3 [2; 5]
		CD4+	3 [2; 14]	20,5 [14; 33]	7 [4; 10]#
		CD8+	5,5 [3; 31]	149 [9; 232]	3 [2; 6]
Контрольная группа (n=20)	0	CD68+	0	0	5,5 [4; 6]
		CD163+	0	0	4,5 [3; 7]
		CD20+	0	0	4 [3; 7]
		CD4+	0	0	2 [1; 3]
		CD8+	0	0	3 [2; 4]

Примечание. * p<0,05 при сравнении I и II групп, # p<0,05 при сравнении I группы и группы контроля.

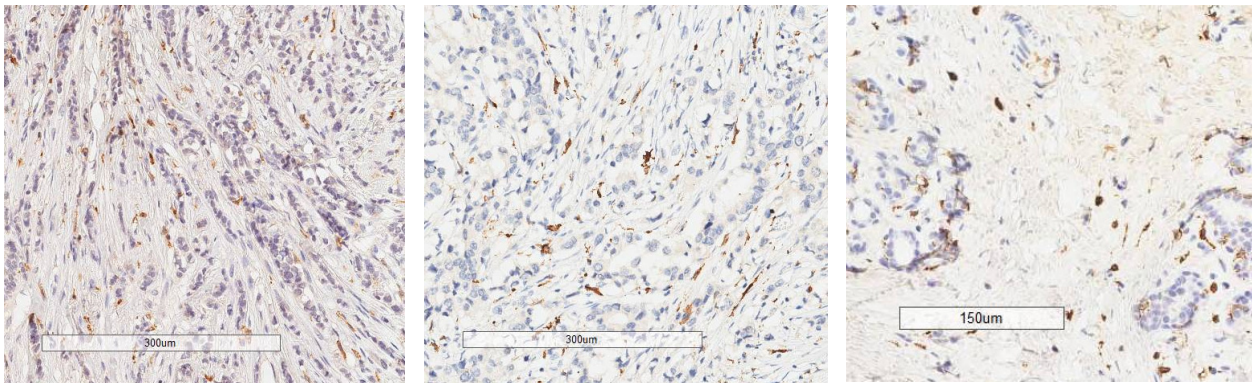
Количество CD163-позитивных макрофагов в здоровой ткани во всех группах также составило в среднем 5 клеток на поле зрения. В строме опухоли и зоне демаркации образцов группы II данный показатель был достоверно выше по сравнению с участками здоровой ткани (p=0,015). При этом сохранялась тенденция преобладания числа CD163+ окрашенных клеток в строме опухолевой ткани образцов группы I и в зоне демаркации группы II, при этом не достигающая статистической значимости (рис. 2).

Степень инфильтрации В-лимфоцитов (CD20+) в здоровой ткани пациенток I и II групп редко превышало 5 клеток на поле зрения. В строме опухоли не зависимо от проводимой химиотерапии количество указанных клеток было существенно ниже, а вот в зоне демаркации в лимфоидных скоплениях число клеток было статистически значимо выше у пациенток группы II (p=0,001) (рис. 3).



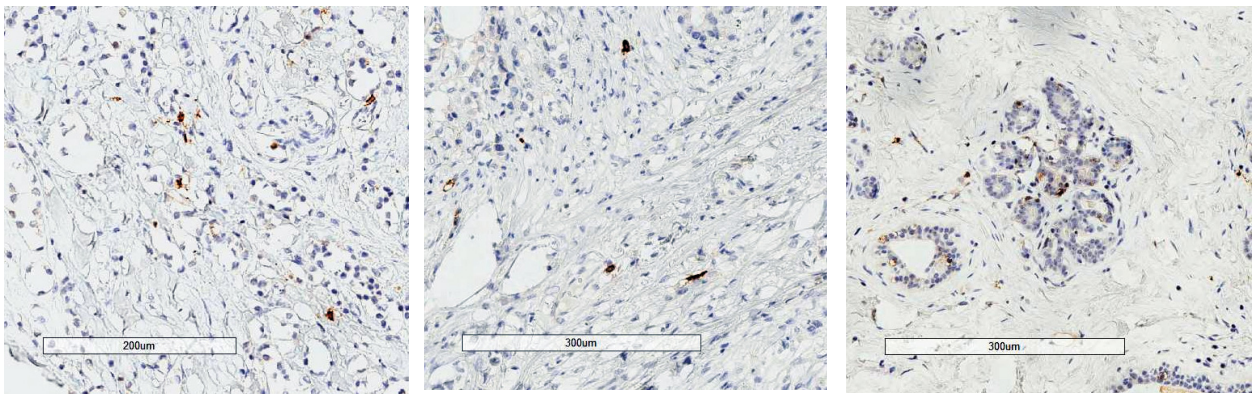
А Б В

Рис. 1. Фрагменты протоковой карциномой in situ и нормальной ткани молочной железы, ИГХ реакция с CD68: А – I группа, увеличение ×300; Б – II группа, увеличение ×300; В – контрольная группа, увеличение ×200



А Б В

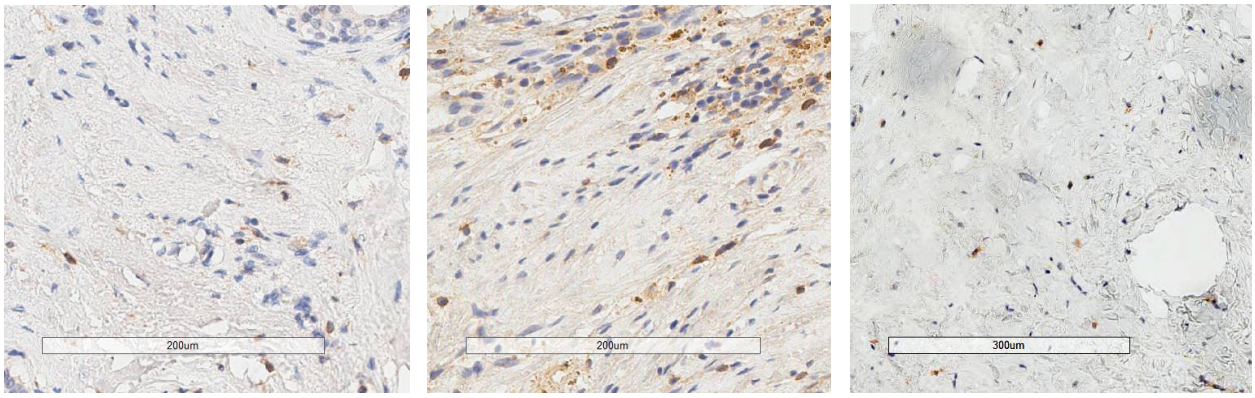
Рис. 2. Фрагменты протоковой карциномой in situ и нормальной ткани молочной железы, ИГХ реакция с CD163: А – I группа, увеличение ×300; Б – II группа, увеличение ×300; В – контрольная группа, увеличение ×150



А Б В

Рис. 3. Фрагменты протоковой карциномой in situ и нормальной ткани молочной железы, ИГХ реакция с CD20: А – I группа, увеличение ×200; Б – II группа, увеличение ×300; В – контрольная группа, увеличение ×300

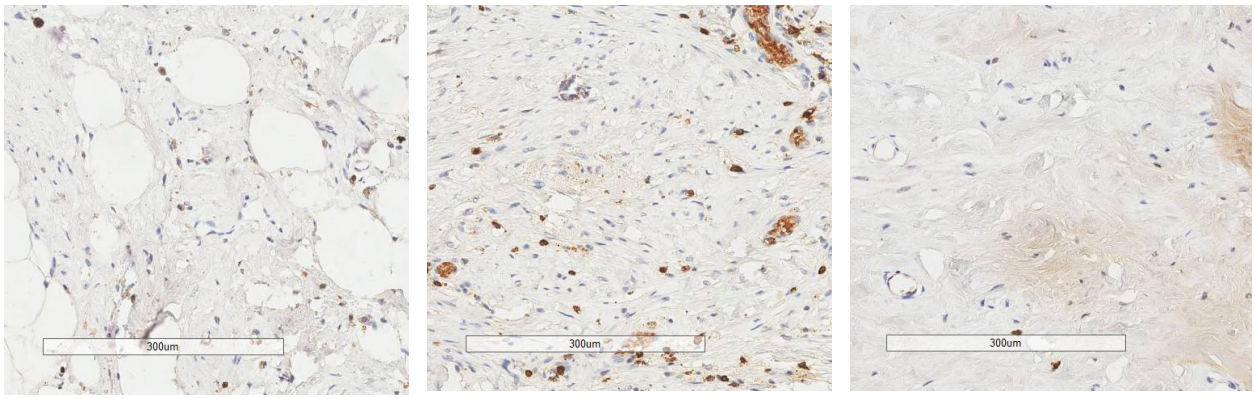
В образцах пациенток обеих групп с верифицированным РМЖ установлено равное количество клеток популяции CD4+ Т-лимфоцитов в строме ткани, в среднем составляющее 3 клетки в поле зрении как для образцов I группы, так и II группы. Наибольшее число CD4+ клеток детектируется в лимфоидных узелках, сформированных в демаркационной зоне. Примечательно, что в этом компартменте число указанных Т-клеток, было достоверно выше в I группе пациенток, не получавших химиотерапевтические препараты ($p<0,001$). Выраженность инфильтрации клеток, экспрессирующих CD4+, в строме здоровой ткани не зависит от схемы терапии, но демонстрирует достоверно более высокие значения в группах пациенток с РМЖ по сравнению с аналогичными показателями в образцах пациенток контрольной группы ($p=0,02$) (рис. 4).



А Б В

Рис. 4. Фрагменты протоковой карциномой in situ и нормальной ткани молочной железы, ИГХ реакция с CD4: А – I группа, увеличение ×200; Б – II группа, увеличение ×200; В – контрольная группа, увеличение ×300

Количество CD8+ Т-лимфоцитов имело значимые различия лишь в демаркационной зоне в группах пациенток с РМЖ. На фоне проведенной химиотерапии степень их инфильтрации в группе II была в 7 раз выше по сравнению с аналогичным показателем в I группе ($p<0,001$) (рис. 5).



А Б В

Рис. 5. Фрагменты протоковой карциномой in situ и нормальной ткани молочной железы, ИГХ реакция с CD8: А – I группа, увеличение ×300; Б – II группа, увеличение ×300; В – контрольная группа, увеличение ×300

При выполнении корреляционного анализа были выявлены следующие значимые связи: получена прямая корреляционная взаимосвязь числа $CD4^+$ клеток в лимфоидных узелках демаркационной зоны с количеством $CD20^+$ клеток в этих узелках ($r=0,742$), а также обратная зависимость количества $CD8^+$ в строме опухоли с выраженностью инфильтрации $CD163^+$ клеток в лимфоидных узелках демаркационной зоны ($r=-0,539$).

Многие исследователи сходятся во мнении о необходимости изучения биологических свойств опухоли каждой конкретной пациентки с РМЖ для выбора эффективной индивидуальной стратегии лечения. В связи с этим, на сегодняшний день все более актуальной становится разработка инновационных диагностических стратегий, учитывающих не только фенотип опухоли, но и особенности ее микроокружения, что влияет на качество противоопухолевого иммунного надзора [7].

Предпринятая в данной работе попытка изучения иммунофенотипического разнообразия интратуморозного лимфоидного инфильтрата при РМЖ на фоне различных терапевтических стратегий может послужить основой для установления прогностических и предиктивных иммунологических маркеров лечения данного онкологического заболевания.

Ранее было показано, что выраженная лимфоидная инфильтрация встречается у 45-75 % пациенток с РМЖ [8].

Согласно традиционным представлениям, ключевым эффекторным звеном в формировании противоопухолевого ответа выступают Т-лимфоциты (CD3+, CD4+, CD8+), распознающие антигенные детерминанты опухолевых клеток. Тем не менее, в составе интратуморального инфильтрата зачастую встречают до 20 % В-клеток (CD20+) и до 10 % макрофагов (CD68+, CD163+) от общего числа лимфоцитов в ткани опухоли [9].

Считается, что степень выраженности лимфоидной инфильтрация связана с повышением общей и безрецидивной выживаемости у пациентов онкологического профиля, при этом наибольшее значение в долгосрочном благоприятном прогнозе имеют Т-цитотоксические лимфоциты, несущие на своей

поверхности маркер CD8+ [10]. Противоопухолевый киллинговый эффект цитотоксических CD8+ Т-лимфоцитов реализуется с вовлечением рецептор- и грануло-зависимого механизмов. В первом случае происходит связывание проапоптогенных молекул (TNFα, FasL, TRAIL и др.), экспрессируемых цитотоксическими клетками, с соответствующими рецепторами на клетках опухоли. Второй, перфорин/гранзим-зависимый путь реализуется посредством дегрануляции и высвобождения из литических гранул цитолитических медиаторов, запускающих апоптотическую гибель опухолевых клеток. Тем не менее, существует ряд неразрешенных вопросов в отношении данный популяции клеток. Так, было показано, что повышенное содержание цитотоксических Т-клеток в строме опухоли ассоциируется с лучшей выживаемостью [11], тогда как другие авторы утверждают, что только перитуморальная инфильтрация коррелирует с выживаемостью больных [12]. Есть исследование, где указано, что активность CD8+ клеток увеличивается на фоне применения химиотерапии [13]. При этом имеются данные и об обратной зависимости: пациенты, с выраженной лимфоидной инфильтрацией опухоли, лучше «отвечают» на проводимую НХТ [8]. Наши данные указывают на значительное преобладание CD8+ клеток в зоне демаркации у обоих групп пациенток с протоковой карциномой in situ. При этом интересна тенденция к увеличению числа клеток в указанной локализации на фоне применения НХТ, что согласуется с результатами схожей работы [14].

В отношении популяции CD4+ клеток в литературе представлена обратная зависимости с показателями благоприятного прогноза и общей выживаемости пациенток с РМЖ. С одной стороны, CD4+ Т-лимфоциты обеспечивают цитокиновую активацию Т-цитотоксических клеток и В-лимфоцитов. При этом в отсутствии первых клетки CD4+ могут способствовать клеточной инвазии опухоли за счет усиления васкуляризации опухолевой ткани и увеличения проницаемости стенок сосудов под действием вырабатываемых цитокинов. Отечественными коллегами было показано, что при низкой степени инфильтрации (≤50 %) общая выживаемость пациенток с РМЖ составила 93 %, что является статистически благоприятным прогнозом [15]. В нашем исследовании общее число инфильтрата не превышало 20 %, а число CD4+ клеток в нем достигало не более не превышало 16 % как в случае применения химиотерапии, так и без нее. При этом наибольшее количество CD4+ клеток было характерно для зоны демаркации в I группе пациенток, не получавших химиотерапевтическое лечение. Сопоставляя полученные результаты с данными отечественных коллег [14], можно предположить, что участвующие в нашем исследовании пациентки I группы имеют благоприятный долгосрочный прогноз.

Функциональный потенциал В-клеточного звена в отношении опухолевого процесса по сравнению с Т-лимфоцитами изучен меньше. В то же время при злокачественных новообразованиях в ткани опухоли отмечается повышенное содержание инфильтрирующих опухоль В-лимфоцитов. Ряд ученых считают, что В-лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, выполняют защитную функцию [16], в то же время другие исследователи заявляют, что популяция В-клеток способна повышать агрессивность опухолевых клеток, приводя к ухудшению прогноза заболевания [17]. При определенных условиях В-лимфоциты, несущие на своей поверхности маркер CD20+, способны осуществлять функцию антигенпрезентирующих клеток, активируя как CD4+, так и CD8+ Т-клетки. Согласно данным литературы, число CD20+ в общем объеме инфильтрата как правило не превышает 20 % [9], при этом данная популяция клеток практически полностью отсутствует при протоковой инвазивной карциноме и в случае рецидивов и метастазов [18, 19]. В нашем исследовании доля CD20+ клеток в строме опухоли и участках здоровой ткани не отличалась у пациенток контрольной группы и пациенток с протоковой карциномой. При этом в зоне демаркации и в лимфоидных скоплениях число CD20+ клеток было статистически значимо выше у пациенток группы II, которым была проведена неоадъювантная химиотерапия.

Популяция макрофагальных клеток, привлеченных в зону роста злокачественной опухоли, отличается своей фенотипической и функциональной гетерогенностью. В рамках данной концепции ряд ученых выделяет классически (M1) и альтернативно (M2) активированные макрофаги [20]. Показано, что фенотип опухоль-ассоциированных макрофагов зависит от вида опухоли, стадии опухолевого процесса и микроокружения, и пока точно не раскрыт [21]. Полученные нами данные показали низкое содержание клеток, несущих как общемоноцитарный маркер CD68+, так и маркер М2-макрофагов – CD163+ как в строме опухоли, так и в демаркационной зоне. При этом обращает на себя внимание тенденция к уменьшению количество обоих популяций в интратуморальном инфильтрате, при одновременном незначительном увеличении в зоне демаркации хна фоне применения химиотерапии во II группе.

РМЖ характеризуется многообразием интратуморальных иммунных реакций, которые определяют клиническое течение заболевания и долгосрочный прогноз для пациентов.

Применение неоадъювантной химиотерапии при инвазивном протоковом РМЖ увеличивает степень инфильтрации опухоли лимфоцитами, смещая соотношение различных их популяций в сторону увеличения числа CD20+ В-лимфоцитов и CD8+ Т-лимфоцитов, при одновременном снижении количества CD4+ клеток. При этом указанная динамика изменения фенотипической картины достигает максимальной выраженности в зоне демаркации. Участки ткани, прилежащие к опухоли, у пациенток с протоковой карциномой характеризуются снижением числа макрофагальных клеток, наряду с увеличение количества CD4+ Т-клеток по отношению к фрагментам здоровых тканей пациенток группы контроля.

Расширение представлений о роли опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток при РМЖ является важным этапом на пути понимания взаимодействия опухоли и иммунной системы, что может внести вклад в совершенствование подходов иммунотерапии.

Список источников

1. Siegel R.L., Miller K.D., Wagle N.S., Jemal A. Cancer statistics, 2023 // CA Cancer J Clin. – 2023. – Vol. 73, № 1. – P. 17-48.
2. Carioli G., Malvezzi M., Rodriguez T., Bertuccio P., Negri E., La Vecchia C. Trends and predictions to 2020 in breast cancer mortality in Europe // Breast. – 2017. – Vol. 36. – P. 89-95.
3. Hanker A.B., Sudhan D.R., Arteaga C.L. Overcoming endocrine resistance in breast cancer // Cancer Cell 2020. – Vol. 37, № 4. – P. 496-513.
4. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries // CA Cancer J Clin. – 2021. – Vol. 71, № 3. – P. 209-249.
5. Emens L.A., Middleton G. The interplay of immunotherapy and chemotherapy: harnessing potential synergies // Cancer Immunol. Res. – 2015. – Vol. 3, № 5. – P. 436-443.
6. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И. Иммунная система и рак // Практическая онкология. – 2016. – Т. 17, № 2. – С. 62-73.
   Kadagidze Z.G., Chertkova A.I. Immunity and cancer // Practical Oncology. – 2016. – Vol. 17, № 2. – P. 62-73.
7. Denkert C., von Minckwitz G., Darb-Esfahani S., Lederer B., Heppner B.I., Weber K.E., Budczies J., Huober J., Klauschen F., Furlanetto J., Schmitt W.D., Blohmer J.U., Karn T., Pfitzner B.M., Kümmel S., Engels K., Schneeweiss A., Hartmann A., Noske A., Fasching P.A., Jackisch C., van Mackelenbergh M., Sinn P., Schem C., Hanusch C., Untch M., Loibl S. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy // Lancet Oncol. – 2018. – Vol. 19, № 1. – P. 40-50.
8. Крючков А.Н. Клинико-морфологическое значение спонтанных некрозов в раке молочной железы // Вопросы онкологии. – 2007. – Т. 53, № 2. – С. 229-234.
   Kryuchkov A.N. Clinical and morphological significance of spontaneous necrosis in breast cancer // Questions of Oncology. – 2007. – Vol. 53, № 2. – P. 229-234.
9. Стенина М.Б., Царева Е.В., Жаров А.А., Тюляндин С.А. Инфильтрирующие опухоль лимфоциты: биологическая суть и клиническое значение при раке молочной железы // Российский онкологический журнал. – 2016. – Т. 21, № 1–2. – С. 92-100.
   Stenina M.B., Tsareva E.V., Zharov A.A., Tyulyandin S.A. Tumor-infiltrating lymphocytes: biological essence and clinical significance in breast cancer // Russian Journal of Oncology. – 2016. – Vol. 21, № 1-2. – P. 92-100.
10. Шамилов Ф.А. Субпопуляции интратуморальных лимфоцитов при раке молочной железы // РМЖ. – 2012. – Т. 2. – С. 60.
    Shamilov F.A. Subpopulations of intratumoral lymphocytes in breast cancer // Oncology. – 2012. – Vol. 2. – P. 60.
11. Hornychova H., Melichar B., Tomsova M., Mergancova J., Urminska H., Ryska A. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast carcinoma // Cancer Invest. – 2008. – Vol. 26, № 10. – P. 1024-1031.
12. Kawai O., Ishii G., Kubota K., Murata Y., Naito Y., Mizuno T., Aokage K., Saijo N., Nishiwaki Y., Gemma A., Kudoh S., Ochiai A. Predominant infiltration of macrophages and CD8(+) T Cells in cancer nests is a significant predictor of survival in stage IV nonsmall cell lung cancer // Cancer. – 2008. – Vol. 113, № 6. – P. 1387-1395.
13. Onyema O.O., Decoster L., Njemini R., Forti L.N., Bautmans I., De Waele M., Mets T. Chemotherapy-induced changes and immunosenescence of CD8+ T-cells in patients with breast cancer // Anticancer Res. – 2015. – Vol. 35, № 3. – P. 1481-1489.
14. Целуйко А.И., Семиглазов В.Ф., Кудайбергенова А.Г. Артемьева А.С., Смирнова В.О., Аполлонова В.С., Донских Р.В. Некоторые аспекты противоопухолевого иммунитета при раке молочной железы // Эффективная фармакотерапия. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 6-14.
    Tseluiko A.I., Semiglazov V.F., Kudaibergenova A.G. Artemyeva A.S., Smirnova V.O., Apollonova V.S., Donskikh R.V. Some aspects of antitumor immunity in breast cancer // Effective pharmacotherapy. – 2021. – Vol. 17, № 2. – P. 6-14.
15. Палтуев Р.М., Кудайбергенова А.Г., Семиглазов В.Ф., Комяхов А.В., Целуйко А.И. Прогностические возможности CD4+ при раке молочной железы T1–2N0M0 // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2023. – Т. 19, № 2. – С. 89-93.

Paltuev R.M., Kudaibergenova A.G., Semiglazov V.F., Komyakhov A.V., Tseluiko A.I. Prognostic capabilities of CD4+ in T1–2N0M0 breast cancer // Tumors of the Female Reproductive System. – 2023. – Vol. 19, № 2. – P. 89-93.

16. Schmidt M., Hellwig B., Hammad S., Othman A., Lohr M., Chen Z, Boehm D., Gebhard S., Petry I., Lebrecht A., Cadenas C., Marchan R., Stewart J.D., Solbach C., Holmberg L., Edlund K., Kultima H.G., Rody A., Berglund A., Lambe M., Isaksson A., Botling J., Karn T., Müller V., Gerhold-Ay A., Cotarelo C., Sebastian M., Kronenwett R., Bojar H., Lehr H.A., Sahin U., Koelbl H., Gehrmann M., Micke P., Rahnenführer J., Hengstler J.G. A comprehensive analysis of human gene expression profiles identifies stromal immuno- globulin kappa C as a compatible prognostic marker in human solid tumors // Clin Cancer Res. – 2012. – Vol. 18, № 9. – P. 2695-2703.
17. Zhou X., Su Y.X., Lao X.M., Liang Y.J., Liao G.Q. CD19 (+) IL-10 (+) regulatory B cells affect survival of tongue squamous cell carcinoma patients and induce resting CD4 (+) T cells to CD4 (+) Foxp3 (+) regulatory T cells // Oral Oncol. – 2016. – Vol. 53. – P. 27-35.
18. Вторушин С.В., Завьялова М.В., Телегина Н.С. Особенности состава воспалительного инфильтрата в первичной опухоли рака молочной железы при развитии локальных рецидивов и мультицентрическом росте // Сибирский онкологический журнал. – 2010. – № 1. – С. 31-32.
Vtorushin S.V., Zavyalova M.V., Telegina N.S. Features of the composition of the inflammatory infiltrate in the primary tumor of breast cancer during the development of local relapses and multicentric growth // Siberian Journal of Oncology. – 2010. – № 1. – P. 31-32.
19. Рябчиков Д.А., Чулкова С.В., Шамилов Ф.А., Чантурия Н.В., Желтиков С.Д., Тупицын Н.Н. Субпопуляции интратуморальных эффекторных клеток при раке молочной железы (обзор литературы и представление собственных данных) // Креативная хирургия и онкология. – 2021. – Т. 11, № 4. – С. 328-336.
Ryabchikov D.A., Chulkova S.V., Shamilov F.A., Chanturia N.V., Zheltikov S.D., Tupitsyn N.N. Subpopulations of intratumoral effector cells in breast cancer (literature review and presentation of own data) // Creative Surgery and Oncology. – 2021. – Vol. 11, № 4. – P. 328-336.
20. Locati M., Mantovani A., Sica A. Macrophage activation and polarization as an adaptive component of innate immunity. Adv Immunol. – 2013. – Vol. 120. – P. 163-184.
21. Зибиров Р.Ф., Мозеров С.А. Характеристика клеточного микроокружения опухоли // Онкология. Журнал им. П.А. Герцена. – 2018. – Т. 7, № 2. – С. 67-72.
Zibirov R.F., Mozerov S.A. Characterization of the tumor cell microenvironment // P.A. Herzen Journal of Oncology. – 2018. – Vol. 7, № 2. – P. 67-72.

Вклад авторов:
Алиев К.А. – идея, дизайн работы и сбор материала, написание части текста статьи;
Асанова Э.Р. – обработка материала, получение количественных данных;
Макалиш Т.П. – математическая обработка и написание части текста статьи;
Зяблицкая Е.Ю. – написание обсуждения и научное редактирование текста статьи.
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Contribution of the authors:
Aliev K.A. – idea, design of the work and collection of material, writing part of the text of the article;
Asanova E.R. – processing of material, obtaining quantitative data;
Makalish T.P. – mathematical processing and writing of part of the text of the article;
Ziablitskaia E.Yu. – writing a discussion and scientific editing of the article text.
The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 12.04.2025.
The article was accepted for publication 12.04.2025.