© Коллектив авторов, 2021

Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Заботина Т.Н., Гордеева О.О., Борунова А.А.,
Шоуа Э.К., Захарова Е.Н., Табаков Д.В.

Взаимосвязь маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов с эффективностью неоадьювантной химиотерапии больных трижды негативным раком молочной железы

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 115478, г. Москва, Российская Федерация

Резюме

Введение. Определение надежных предиктивных и прогностических биомаркеров имеет существенное значение как для оценки клинического течения онкологического заболевания, так и для разработки адекватных методов лечения.

Цель исследования – определение взаимосвязи CD3⁺CD19⁺- и CD3⁺CD4⁺-Т-клеток, CD3⁺CD19⁺-В-клеток, активированных CD25⁺-, CD4⁺CD25⁺-, HLA-DR⁺-, CD3⁺HLA-DR⁺-, CD3⁺HLA-DR⁺-клеток и CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-лимфоцитов периферической крови (ПК) с непосредственными и отдаленными результатами неоадьювантной химиотерапии (НАХТ) паклитакселом и цисплатином пациенток со II–III стадиями трижды негативного рака молочной железы (ТН РМЖ).

Материал и методы. В исследование были включены 76 пациенток в возрасте от 26 до 76 лет. Период наблюдения составил 66,9 мес. С помощью многопараметрового цитометрического анализа определяли исходное количество лимфоцитов ПК. Исследовалась его взаимосвязь со стадией заболевания, степенью лечебного патоморфоза опухоли (ЛПО), прогрессированием заболевания, общей (ОВ) и безрецидивной выживаемостью (БРВ) пациенток.

Результаты. Повышение исходного количества CD25⁺- и CD4⁺CD25⁺-лимфоцитов ассоциировалось с увеличением, а HLA-DR⁺- и CD3⁺HLA-DR⁺-клеток – с уменьшением БРВ и ОВ пациенток по сравнению с пациентками, у которых эти показатели были снижены. Повышение исходного количества HLA-DR⁺- и CD3⁺HLA-DR⁺-клеток также ассоциировалось с более поздними стадиями заболевания, а повышение процента CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов сочеталось с низкой степенью ЛПО.

Заключение. Популяции CD25⁺- и CD4⁺CD25⁺-лимфоцитов ПК являются возможными положительными предиктивными факторами у пациенток с ТН РМЖ, получающих НАХТ цисплатином и паклитакселом. Можно предположить, что у больных со II–III стадиями ТН РМЖ, имеющих до лечения «повышенное» количество HLA-DR⁺- и CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов, НАХТ паклитакселом и цисплатином будет менее эффективна, чем у больных со снижением исходного числа этих клеток.

Ключевые слова: трижды негативный рак молочной железы; популяции лимфоцитов периферической крови; неоадьювантная химиотерапия; стадия заболевания; степень лечебного патоморфоза опухоли; прогрессирование заболевания; безрецидивная выживаемость; общая выживаемость

Статья получена 20.02.2021. Принята в печать 16.03.2021.

Для цитирования: Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Заботина Т.Н., Гордеева О.О., Борунова А.А., Шоуа Э.К., Захарова Е.Н., Табаков Д.В. Взаимосвязь маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов с эффективностью неоадьювантной химиотерапии больных трижды негативным раком молочной железы. Иммунология. 2021; 42 (2): 112–124. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-112-124>

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках темы НИР № ААА-А-А19-119022090028-6.

Конфликт интересов. Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Иммунология ■ Том 42 ■ № 2 ■ 2021

Для корреспонденции
Кадагидзе Заира Григорьевна –
доктор медицинских наук, профессор,
ведущий научный сотрудник
лаборатории клинической
иммунологии
ФГБУ «НМИЦ онкологии
им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России,
Москва, Российская Федерация
E-mail: kad-zaira@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0002-0058-098>

Kadagidze Z.G., Chertkova A.I., Zabolina T.N., Gordeeva O.O., Borunova A.A.,
Shoua E.K., Zakharova E.N., Tabakov D.V.

The relationship of markers of early and late lymphocytes activation with the efficiency of neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer patients

«N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Russian Federation

Abstract

Introduction. Determination of reliable predictive and prognostic biomarkers is essential, both for assessing the clinical course of cancer and for the development of adequate treatment methods.

The aim of the study is to determine the relationship between CD3⁺CD19⁻ and CD3⁺CD4⁺-T-cells, CD3⁺CD19⁺-B-cells, activated CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺-cells and CD16⁺CD56⁺Perforin⁺ peripheral blood lymphocytes (PBL) with immediate and long term results of neoadjuvant chemotherapy (NACT) with paclitaxel and cisplatin in patients with TN BC.

Material and methods. The study included 76 patients aged 26 to 76 years. The observation period was 66.9 months. Using multivariate cytometric analysis, the relationship between the initial (before chemotherapy) amount of CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD19⁺, CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-lymphocytes stage of disease, degree of therapeutic pathomorphosis (TP), disease progression, overall (OS) and relapse-free survival (DFS) of patients was investigated.

Results. An increase in the initial number of CD25⁺ и CD4⁺CD25⁺-lymphocytes was associated with an increase, and HLA-DR⁺ and CD3⁺HLA-DR⁺-cells with a decrease in DFS and OS in patients compared with patients in whom these parameters were reduced. An increase in the initial number of HLA-DR⁺ and CD3⁺HLA-DR⁺-cells was associated with later stages of the disease, and an increase in the percentage of CD3⁺HLA-DR⁺-lymphocytes was combined with a low level of TP.

Conclusion. Populations of CD25⁺ и CD4⁺CD25⁺-PBLs may be possible positive predictive factors in patients with TN BC receiving NACT with cisplatin and paclitaxel. It can be assumed that NACT with paclitaxel and cisplatin will be less effective in patients with stage II–III breast cancer who have an «increased» number of HLA-DR⁺ and CD3⁺HLA-DR⁺-lymphocytes before treatment than in patients with a decrease in the initial number of these cells.

Keywords: triple negative breast cancer; subsets of peripheral blood lymphocytes; neoadjuvant chemotherapy; stage of the disease, degree of therapeutic pathomorphosis of the tumor; disease progression, disease-free survival; overall survival

Received 20.02.2021. Accepted 16.03.2021.

For citation: Kadagidze Z.G., Chertkova A.I., Zabolina T.N., Gordeeva O.O., Borunova A.A., Shoua E.K., Zakharova E.N., Tabakov D.V. The relationship of markers of early and late lymphocytes activation with the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy in patients with triple negative breast cancer with the efficiency of neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer patients. *Immunologiya*. 2021; 42 (2): 112–24. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2021-42-2-112-124> (in Russian)

Funding. The study was performed with the financial support of the Ministry of Health of Russian Federation in the framework of research N AAA-A-19-119022090028-6.

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

Введение

Огромное значение в исследовании механизмов противоопухолевого иммунного ответа сыграли открытие и характеристика различных субпопуляций иммунных клеток, обладающих цитотоксической или

супрессорной активностью. Показано, что соотношение между ними является определяющим в развитии как аутоиммунных заболеваний, так и злокачественных новообразований [1]. В то же время остается до конца неясным значение тех или иных субпопуляций

For correspondence
Zaira G. Kadagidze – MD, PhD,
Professor, Leader Researcher
of Clinical Immunology Laboratory
of the «N.N. Blokhin NMRCO»
of the MOH of Russia,
Moscow, Russian Federation
E-mail: kad-zaira@yandex.ru
<http://orcid.org/0000-0002-0058-098>

для оценки клинического течения и исхода заболевания, а иммунофенотипирование иммунных клеток периферической крови или инфильтрирующих опухолевую ткань до сих пор не используется в качестве прогностического инструмента в повседневной клинической практике [2]. Легкодоступным источником иммунных клеток является периферическая кровь. Результаты ряда клинических исследований, использовавших различные методы мониторинга системного иммунитета при разных вариантах опухолей, указывают на перспективность использования периферических иммунных биомаркеров в качестве потенциальных предиктивных и прогностических факторов [3]. Установление таких факторов может иметь существенное значение как для оценки клинического течения заболевания, так и для разработки адекватных, в том числе иммунотерапевтических, методов лечения [2, 4–6]. Это особенно важно для тех вариантов опухолей, при которых надежные прогностические биомаркеры не установлены и клиническое течение которых трудно предсказать, в том числе трижды негативного рака молочной железы (ТН РМЖ) [7].

Целью настоящей работы явилось определение взаимосвязи CD3⁺CD19⁻ и CD3⁺CD4⁺-Т-клеток, CD3⁻CD19⁺-В-клеток, активированных CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁻HLA-DR⁺-лимфоцитов и CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-клеток периферической крови с непосредственными и отдаленными результатами неoadъювантной химиотерапии (НАХТ) паклитакселем и цисплатином пациенток со II и III стадиями ТН РМЖ.

Задачи работы

1. Исследовать взаимосвязь исходного количества CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁻CD19⁺, CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3⁻HLA-DR⁺ и CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-лимфоцитов с безрецидивной (БРВ) и общей выживаемостью (ОВ) пациенток.

2. Исследовать взаимосвязь CD3⁺CD19⁻, CD3⁺CD4⁺, CD3⁻CD19⁺, CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺ и CD3⁻HLA-DR⁺ и CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-

популяций лимфоцитов со стадией заболевания, степенью лечебного патоморфоза опухоли, прогрессированием заболевания.

Материал и методы

Характеристика пациенток. В исследование были включены пациентки со II–III стадиями ТН РМЖ ($n = 76$), находившиеся на лечении в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Все пациентки дали информированное согласие на проведение иммунологического обследования. Медиана возраста пациенток составила 50 лет (от 26 до 76 лет). Все пациентки до оперативного вмешательства получали НАХТ: от 4 до 6 курсов химиотерапии (паклитаксел 80 мг/м² 1-й, 8-й, 15-й дни + цисплатин 75 мг/м², 1-й день, цикл 28 дней). Период наблюдения составил 66,9 мес. После оперативного вмешательства проводилась оценка степени лечебного патоморфоза опухоли по Г.А. Лавниковой: I степень – > 50 % опухолевой паренхимы сохранено; II степень – сохранено 20–50 % опухолевой паренхимы, III степень – до 20 % паренхимы опухоли сохранилось в виде отдельных очагов; IV степень – полное отсутствие опухолевой паренхимы. Данные о прогрессировании заболевания (ПЗ) были получены для 72 пациенток, а о выживаемости – для 71 пациентки в связи с переходом 5 женщин на лечение в другие учреждения, их дальнейшая судьба неизвестна. Данные о степени ЛПО были получены для 61 пациентки.

Иммунологическое исследование. Кровь для исследования брали непосредственно перед началом химиотерапии. С помощью многопараметрового цитометрического анализа на пятипараметровом проточном цитофлуориметре аналитического типа FACSCalibur («Becton Dickinson», США), у всех пациенток в периферической крови (ПК) определяли процентное содержание Т-клеток (CD3⁺CD19⁻ и CD3⁺CD4⁺), активированных Т-клеток (CD4⁺CD25⁺, CD3⁺HLA-DR⁺), В-клеток (CD3⁻CD19⁺) активированных CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁻HLA-DR⁺-лимфоцитов и CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-НК-клеток. Исходное количество CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-лимфоцитов определяли у 44 пациенток. Лимфоциты выделяли по параметрам светорассеяния и экспрессии маркера CD45. Двух-, трехцветное окрашивание клеток моноклональными антителами, конъюгированными с FITC, PE, PC5 («Сорбент» Россия; «Bekman Coulter», США), использовали для определения поверхностных и внутриклеточных (перфорин) маркеров лимфоцитов. Исходный уровень иммунологического показателя (для каждой популяции клеток) у конкретной пациентки определялся по отношению к значению медианы этого показателя у всей группы пациенток в целом как повышенный $\geq Me_{(n)}$ или сниженный $< Me_{(n)}$ (табл. 1).

Статистический анализ данных проводили с помощью пакета статистических программ «Статистика 7» («StatSoft», США). Оценивался характер распределения переменных во всех исследованных группах больных с помощью критерия Колмогорова–Смирнова (для $n > 50$) и Шапиро–Уилка (для $n < 50$). Так как распределение по-

Таблица 1. Медианы показателей лимфоцитов периферической крови пациенток с трижды негативным раком молочной железы, использованные для определения повышенного или сниженного количества клеток у конкретной пациентки

Популяции лимфоцитов	Медианы показателей, $Me_{(n)}$, %
CD3 ⁺ CD19 ⁻	76,0
CD3 ⁻ CD19 ⁺	6,4
CD3 ⁺ CD4 ⁺	44,0
CD25 ⁺	9,6
CD4 ⁺ CD25 ⁺	6,4
HLA-DR ⁺	13,0
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	5,8
CD3 ⁻ HLA-DR ⁺	6,3
CD16 ⁺ CD56 ⁺ Perforin ⁺	11,7

Рис. 1. Взаимосвязь безрецидивной (А, В, Д) и общей (Б, Г, Е) выживаемости пациенток с трижды негативным раком молочной железы с количеством HLA-DR⁺ (А, Б); CD3⁺HLA-DR⁺ (В, Г) и CD3-HLA-DR⁺ (Д, Е) лимфоцитов до начала химиотерапии
Здесь и на рисунках 2, 3: о – нецензурированные, + – цензурированные данные; синяя линия – процент лимфоцитов $\geq Me_{(n)}$; красная линия – процент лимфоцитов $< Me_{(n)}$; L-R – логранговый критерий, WCX – критерий Гехана–Бреслоу–Вилкоксона; медианы безрецидивной и общей выживаемости в обеих группах не достигнуты.

казателей практически во всех сравниваемых группах отличалось от нормального, данные представлены в виде медианы (Me) и квартилей (25 % и 75 % процентиля). Основная гипотеза настоящего исследования состояла в том, что исходный уровень изученных показателей клеточного иммунитета имеет значение для безрецидивной (БРВ) и общей выживаемости (ОВ) пациенток со II и III стадиями ТН РМЖ, получавших НАХТ цисплатином и паклитакселом. Для оценки показателей выживаемости был использован метод Каплана–Майера. Цензурированные данные на кривых общей и безрецидивной выживаемости включали данные пациенток, которые на момент окончания исследования были живы или не имели рецидива заболевания. Нецензурированные данные включали показатели умерших пациенток или пациенток с рецидивом заболевания. Проверка нулевой статистической гипотезы (H_0) об отсутствии различия между показателями выживаемости у больных 2 сравниваемых групп (с повышенным и сниженным исходным уровнем иммунологического показателя) и альтернативной гипотезы (H_1) о наличии такого различия проводилась с использованием критериев Гехана–Бреслоу–Вилкоксона (WCH) и логрангового критерия ($L-R$). WCH наиболее эффективен для распознавания ранних, а $L-R$ – для распознавания поздних различий в вероятностях выживания. Для определения различий в частоте случаев ПЗ заболевания, а также в частоте поздних стадий заболевания между группами с повышенным и сниженным уровнем иммунологического показателя использовали критерий χ^2 и двусторонний точный критерий Фишера ($Ftest$). Проверка нулевой статистической гипотезы (H_0) об отсутствии различий в исходном количестве клеток у пациенток с разной степенью лечебного патоморфоза опухоли («IV» – «I–III»); прогрессированием заболевания: «да» – «нет» и выживаемостью: «жива» – «умерла», проводились с использованием двустороннего критерия Вилкоксона–Манна–Уитни (U). Отсутствие или наличие корреляционной взаимосвязи между показателями устанавливали с помощью непараметрического корреляционного анализа Спирмена: определяли коэффициент корреляции ρ и 95 % доверительный интервал ρ (95 % ДИ). 95 % ДИ для ρ рассчитывали по соответствующей формуле [8] в программе Excel. Уровень значимости во всех исследованиях был принят равным 0,05. При $p > 0,05$ нулевая гипотеза об отсутствии различий между сравниваемыми группами не отклонялась. При $p < 0,05$ нулевая гипотеза отклонялась и принималась альтернативная гипотеза (H_1) – различия между группами существуют и являются статистически значимыми.

Результаты

Результаты сравнения групп с повышенными и сниженными исходными уровнями иммунологического показателя по выживаемости показали, что повышенное до химиотерапии количество HLA-DR⁺-лимфоцитов ассоциировалось с уменьшением БРВ пациенток (рис. 1А) и ОВ (рис. 1Б) по сравнению с пациентками, у которых число этих клеток было ниже $Me_{(n)}$. Снижение ОВ отмечалось и при повышении исходного числа CD3-HLA-DR⁺-лимфоцитов (рис. 1Е).

Хотя различие по БРВ для CD3-HLA-DR⁺-клеток не было статистически значимым, отмечалась тенденция к неблагоприятному значению «повышенного» уровня этих клеток и для БРВ. Так, например, через 24 мес наблюдения 33 из 40 (82,5 %) пациенток с повышенным уровнем этих клеток имели ПЗ, в то время как среди пациенток с количеством этих клеток $< Me_{(n)}$ ПЗ зафиксировано только у 18 из 32 пациенток (56,2 %); $p = 0,020$ ($Ftest$). Процент CD3-HLA-DR⁺-лимфоцитов был также статистически значимо выше у пациенток с I–III степенью ЛПО по сравнению с пациентками с высокой степенью (IV): 7,7 % (5,6–8,9 %) и 5,7 % (3,8–7,1 %), соответственно, $p = 0,013$ (U). Отмечалась также слабая статистически значимая отрицательная корреляция между исходным уровнем этих клеток и степенью ЛПО: ρ (95 % ДИ) = -0,317 (-0,066 и -0,530), $p = 0,013$. Была обнаружена связь исходного уровня HLA-DR⁺-лимфоцитов и CD3⁺HLA-DR⁺-Т-клеток со стадией заболевания. Среди пациенток, у которых до лечения процент HLA-DR⁺- и CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов был $\geq Me_{(n)}$, число пациенток с более поздними стадиями заболевания (IIIb и IIIc) было статистически значимо выше, чем среди пациенток со сниженным количеством этих клеток: для HLA-DR⁺-клеток – 26 из 40 (65 %) и 15 из 36 (41,7 %), соответственно, $p = 0,042$ (χ^2); для CD3⁺HLA-DR⁺-клеток – 27 из 40 (67,5 %) и 14 из 36 (38,9 %), соответственно, $p = 0,012$ (χ^2). Связь между повышенным количеством клеток данных популяций лимфоцитов с более поздними стадиями заболевания в определенной степени подтверждается и наличием слабой статистически значимой положительной корреляции между стадией заболевания и числом HLA-DR⁺-клеток [ρ (95 % ДИ) = 0,242 (0,014–0,446); $p = 0,035$] и числом CD3⁺HLA-DR⁺-клеток [ρ (95 % ДИ) = 0,252 (0,024–0,455); $p = 0,028$]. Исходное количество HLA-DR⁺-, CD3-HLA-DR⁺-клеток было также выше у умерших пациенток по сравнению с живыми пациентками (табл. 2). Была обнаружена статистически значимая положительная корреляция процентного содержания как HLA-DR⁺-,

Таблица 2. Взаимосвязь исходного содержания HLA-DR⁺-, CD3-HLA-DR⁺-, CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-лимфоцитов периферической крови с выживаемостью пациенток с трижды негативным раком молочной железы

Популяции лимфоцитов	Количество клеток: Me % (квартили %)		
	умерли ($n = 14$)	живы ($n = 57$)	p (U)
HLA-DR ⁺	13,5 (12,9–16,5)	10,9 (8,5–15,9)	0,025
CD3-HLA-DR ⁺	7,0 (6,4–10,2)	5,8 (4,2–7,7)	0,016
CD16 ⁺ CD56 ⁺ Perforin ⁺	24,7 (14,9–28,6) ($n = 7$)	11,4 (7,7–17,0) ($n = 37$)	0,007

Рис. 2. Взаимосвязь безрецидивной (А, В, Д) и общей (Б, Г, Е) выживаемости пациенток с трижды негативным раком молочной железы с процентным содержанием CD25⁺- (А, Б); CD4⁺CD25⁺- (В, Г); CD16⁺CD56⁺ Perforin⁺- (Д, Е) лимфоцитов до начала химиотерапии

так и CD3-HLA-DR⁺-клеток с В-клетками: слабая корреляция в случае HLA-DR⁺-клеток [ρ (95 % ДИ) = 0,370 (0,152–0,553); $p=0,001$] и высокая в случае CD3-HLA-DR⁺-клеток [ρ (95 % ДИ) = 0,713 (0,577–0,810); $p=0,000$]. Статистически значимой корреляции процентного содержания HLA-DR⁺- и CD3-HLA-DR⁺-клеток с другими популяциями лимфоцитов не выявлено.

Повышенное содержание CD25⁺-лимфоцитов ($\geq 9,6$ %) и CD4⁺CD25⁺-лимфоцитов ($\geq 6,4$ %) ассоциировалось с увеличением как БРВ (рис. 2А, В), так и ОВ (рис. 2Б, Г) пациенток по сравнению с пациентками, у которых содержание этих клеток было $< Me_{(n)}$.

Исходный уровень CD3⁺CD19⁺- (рис. 3А, Б), CD3⁺CD4⁺- (рис. 3В, Г), CD3⁺CD19⁺- (рис. 3Д, Е), CD3⁺HLA-DR⁺- (рис. 1В, Г), CD16⁺CD56⁺Perforin⁺- (рис. 2Д, Е) популяций лимфоцитов не имел статистически значимого влияния на ОВ и БРВ пациенток с ТН РМЖ, и нулевая гипотеза об отсутствии различий между группами не была отвергнута.

Таким образом, при проверке нулевой статистической гипотезы (H_0) об отсутствии различия между БРВ и ОВ пациенток с повышенными $\geq Me_{(n)}$ и сниженными $< Me_{(n)}$ исходными уровнями иммунологического показателя, нулевая статистическая гипотеза была отвергнута для 3 популяций лимфоцитов – HLA-DR⁺, CD25⁺ и CD4⁺CD25⁺ – в случае БРВ и 4 популяций лимфоцитов – HLA-DR⁺, CD3-HLA-DR⁺, CD25⁺ и CD4⁺CD25⁺ – в случае ОВ и принята альтернативная гипотеза H_1 о существовании различия, что подтверждается результатами WCX- и L-R-тестов (во всех случаях $p < 0,05$).

Хотя исходное количество CD3⁺CD19⁺-Т-клеток статистически значимо не влияло на БРВ и ОВ, число пациенток с ПЗ в группе пациенток с повышенным процентным содержанием этих клеток был в 1,57 раз ниже, чем у пациенток со сниженным показателем: 10 из 38 (26,3 %) и 14 из 34 (41,2 %) соответственно. Что касается ОВ, то к концу наблюдения в группе пациенток с содержанием CD3⁺CD19⁺-Т-лимфоцитов $\geq Me_{(n)}$ умерли 4 из 37 (10,8 %) пациенток, а в группе пациенток с «пониженным» показателем – 10 из 34 (29,4 %); $p=0,047$ (*Fexact p, one-tailed* – односторонний точный критерий Фишера).

Характер кривых выживаемости пациенток с различным исходным процентным содержанием CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-лимфоцитов, напротив, указывает на выраженную тенденцию к снижению как БРВ, так и ОВ при повышении данного показателя $\geq Me_{(n)}$ до начала химиотерапии (рис. 2Д, Е). У пациенток с исходно повышенным содержанием этих клеток медиана БРВ составила 32,5 мес, а медиана ОВ – 37,2 мес. У пациенток со сниженным уровнем CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-лимфоцитов медианы БРВ и ОВ не были достигнуты. К тому же процентное содержание CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-клеток до лечения у пациенток с ПЗ ($n=12$) было статистически значимо выше, чем в группе без признаков ПЗ ($n=30$): 21,8 % (12,7–26,3 %) и 11,2 % (7,6–15,2 %), соответственно, $p=0,009$ (*U*). Количество пациенток с ПЗ в группе с по-

вышенным показателем в 2,2 раза превышало число пациенток с ПЗ в группе со значениями показателя $< Me_{(n)}$: 9 из 23 (39,1 %) и 3 из 17 (17,6 %), соответственно. Исходное количество CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-клеток также было статистически значимо ниже у живых пациенток по сравнению с умершими (табл. 2).

Обсуждение

Основным показателем эффективности противоопухолевой терапии является увеличение продолжительности жизни больных злокачественными новообразованиями. Иммунная система постоянно контролирует опухолевый рост [10]. В этом контроле участвуют практически все популяции иммунных клеток, которые могут как положительно, так и отрицательно влиять на клинический исход заболевания [11]. Определенные субпопуляции лимфоцитов как локального, так и системного иммунитета могут выступать в качестве прогностических и предиктивных факторов и использоваться как для оценки клинического течения заболевания, так и для разработки адекватных методов лечения [2]. Так, К. Wang и соавт. установили, что наиболее значимым предиктором благоприятного клинического исхода заболевания у пациенток с РМЖ, включая ТН РМЖ, получавших химиотерапию, оказался уровень CD8⁺-лимфоцитов в опухолевой ткани [12]. По данным М. Oshi и соавт., высокое содержание CD8⁺- и CD4⁺-Т-клеток памяти в составе лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, ассоциировалось с увеличением продолжительности жизни больных ТН РМЖ [13]. Результаты ряда клинических исследований указывают на перспективность использования в качестве потенциальных предиктивных и прогностических факторов не только лимфоциты, инфильтрирующие опухоль, но и иммунные клетки периферической крови [3]. Несомненно, выявление иммунных маркеров системного иммунитета, которые могут быть использованы в клинике, особенно в случае опухолей, при которых такие маркеры пока не установлены, является актуальной задачей онкоиммунологии. Целью настоящей работы было определение взаимосвязи CD3⁺CD19⁺- и CD3⁺CD4⁺-Т-клеток, CD3⁺CD19⁺-В-клеток, активированных CD25⁺, CD4⁺CD25⁺, HLA-DR⁺, CD3⁺HLA-DR⁺, CD3-HLA-DR⁺-лимфоцитов и CD16⁺CD56⁺Perforin⁺-НК-клеток ПК с непосредственными и отдаленными результатами НАХТ паклитакселом и цисплатином больных ТН РМЖ. Полученные результаты показали, что повышенное до химиотерапии количество HLA-DR⁺-лимфоцитов ассоциировалось с уменьшением БРВ и ОВ пациенток по сравнению с пациентками, у которых число этих клеток было ниже $Me_{(n)}$. Повышение содержания HLA-DR⁺-лимфоцитов было характерно главным образом для пациенток с поздними стадиями заболевания (IIIb и IIIc) и у умерших пациенток по сравнению с живыми. Известно, что молекула HLA-DR является одним из антигенов главного комплекса тканевой совместимости класса II. Эти молекулы участвуют в презентации чужеродных антигенов и играют важную роль

Рис. 3. Взаимосвязь безрецидивной (А, В, Д) и общей (Б, Г, Е) выживаемости пациенток с трижды негативным раком молочной железы с содержанием CD3⁺CD19⁻ (А, Б); CD3⁺CD4⁺ (В, Г) и CD3⁻CD19⁺-лимфоцитов (Д, Е) до начала неоадьювантной химиотерапии. Медианы БРВ и ОВ в обеих группах не достигнуты

в иммунном ответе. HLA-DR характеризуется как маркер поздней и длительной активации клеток. Увеличение его экспрессии на лимфоцитах может наблюдаться при многих заболеваниях, сопровождающихся хроническим воспалением, в том числе при злокачественных новообразованиях [14]. Однако предиктивное и прогностическое значение этого маркера при онкологических заболеваниях остается не до конца ясным. Н. Nakamura и соавт. [15] продемонстрировали негативное значение HLA-DR⁺-лимфоцитов у больных с плоскоклеточной и мелкоклеточной карциномой легких: увеличение в периферической крови количества HLA-DR⁺-клеток до начала лечения ассоциировалось с неблагоприятным прогнозом заболевания. В исследованиях М.В. Yacushyn и соавт. [16] у выживших больных РМЖ отмечалось значительное снижение процента CD20-HLA-DR⁺-лимфоцитов ПК после лечения циклофосфамидом. Пациентки, у которых после лечения наблюдалось более значительное снижение числа этих клеток в ПК, имели преимущественно выживаемости по сравнению с теми, у которых это снижение было выражено в меньшей степени. Основное число исследований посвящено HLA-DR⁺-Т-клеткам. Неблагоприятное влияние этих клеток на течение заболевания продемонстрировали L. Váróczy и соавт. [17]. Они обнаружили, что уровень CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов у пациентов с неходжкинской лимфомой до лечения был повышен по сравнению со здоровыми участниками группы сравнения (10,63 против 2,97 %, $p < 0,001$). После полихимиотерапии количество этих клеток у больных неходжкинской лимфомой снизилось, однако у пациентов, у которых рецидив произошел в течение 1 года, доля CD3⁺HLA-DR⁺-клеток была значительно выше, чем у тех, кто оставался в ремиссии (9,55 против 20,62 %, $p < 0,001$). В нашем исследовании исходный уровень активированных CD3⁺HLA-DR⁺-Т-клеток статистически значимо не влиял ни на БРВ, ни на ОВ больных ТН РМЖ, однако было обнаружено, что повышенное число этих клеток было характерно для пациенток с более поздними стадиями заболевания. В то же время повышенный исходный уровень CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов ассоциировался со статистически значимым уменьшением ОВ пациенток, а также с выраженной тенденцией к сокращению БРВ. Так, через 24 мес наблюдения 33 из 40 (82,5 %) пациенток с повышенным уровнем этих клеток имели ПЗ, а среди пациенток с уровнем этих клеток $< Me_{(n)}$ ПЗ зафиксировано у 18 из 32 женщин (56,2 %); различие было статистически значимым. Была выявлена также ассоциация исходно повышенного уровня CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов с более низкой степенью ЛПО, а также уровень этих клеток был выше у умерших пациенток по сравнению с живыми. Так как в настоящем исследовании статистически значимая положительная корреляция как HLA-DR⁺-, так и CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов была обнаружена только с В-клетками, можно предположить, что неблагоприятное значение циркулирующих HLA-DR⁺- и CD3⁺HLA-DR⁺-лимфоцитов в значительной степени было обусловлено В-клетками, экспрессирующими

маркер поздней активации HLA-DR. Исследованию роли В-клеток в противоопухолевом иммунитете посвящено значительное число исследований. Были идентифицированы популяции регуляторных В-клеток, которые способны подавлять активность и врожденного, и адаптивного противоопухолевого иммунного ответа [18]. С другой стороны, HLA-DR⁺-В-лимфоциты могут выполнять функцию антиген-презентирующих клеток. Однако, по данным N. Bertho и соавт. [19], сигналы, генерируемые через HLA-DR во время презентации антигена, могут вызывать гибель зрелых антиген-презентирующих клеток и активированных В-лимфоцитов. По мнению авторов, апоптоз, индуцированный HLA-DR, представляет собой механизм подавления иммунного ответа [19]. Что касается общего числа В-клеток, мы не обнаружили влияния их исходного уровня на прогрессирование заболевания и выживаемость пациенток.

Нельзя исключить, что в негативное значение HLA-DR⁺- и CD3⁺HLA-DR⁺-популяций лимфоцитов определенный вклад вносят и HLA-DR⁺-НК-клетки. Ранее мы обнаружили у пациенток с ТН РМЖ неблагоприятное значение повышенного исходного уровня НК-клеток как для БРВ, так и для ОВ [9]. Неблагоприятное прогностическое значение повышенного уровня CD3⁺CD16⁺CD56⁺-НК-клеток ПК было обнаружено также в работе Y.Y. Chen и соавт. [20] у больных раком желудка. В представленной работе исследовались НК-клетки, экспрессирующие перфорин (CD16⁺CD56⁺Perforin⁺). Была обнаружена тенденция к снижению как БРВ, так и ОВ у больных, которые до лечения имели повышенный уровень этих лимфоцитов. На это указывает характер кривых выживания: у больных с исходно повышенным уровнем этих клеток медиана БРВ составила 32,5 мес, а медиана ОВ – 37,2 мес. У пациенток со сниженным уровнем таких лимфоцитов медианы БРВ и ОВ не были достигнуты. На взаимосвязь этих клеток с неблагоприятным течением заболевания указывает и более высокий их уровень у пациенток с ПЗ по сравнению с пациентками без ПЗ, а также у умерших пациенток по сравнению с живыми. НК-клетки – основная популяция цитотоксических лимфоцитов врожденного иммунитета, принимающая активное участие в противоопухолевом иммунном ответе. В то же время установлено, что помимо прямого цитотоксического действия на клетки-мишени, НК-клетки могут проявлять иммунорегуляторные свойства и способны не только стимулировать, но и подавлять активность CD4⁺- и CD8⁺-Т-клеток, используя перфорин-зависимый, цитокин-зависимый, включая рецептор-опосредованный (рецепторы 2B4, NKG2D и NKP46) механизмы супрессии [21–25]. Повышенный уровень HLA-DR-экспрессирующих НК-клеток в ПК был обнаружен при многих патологических состояниях, сопровождающихся воспалением, включая онкологические заболевания [26].

Ранее мы выявили положительное значение исходного повышения количества лимфоцитов, экспресси-

рующих маркер ранней активации CD25, у 42 больных ТН РМЖ: в качестве точки отсчета в этом исследовании использовалось значение медианы показателя в группе сравнения (здоровые женщины) [27]. В настоящей работе в качестве точки отсчета использовалось значение медианы показателя ($Me_{(n)}$) у пациенток, и благоприятное значение этих клеток в данном исследовании было еще более значимым. Наблюдалось статистически значимое увеличение и БРВ, и ОВ у пациенток с повышенным уровнем CD25⁺-лимфоцитов до лечения.

Хорошо известно, что ключевыми участниками противоопухолевого иммунного ответа являются CD4⁺-Т-лимфоциты. Они способны воздействовать на опухолевые клетки различными способами: или прямо элиминировать их, используя механизмы цитолиза, или опосредованно, модулируя опухолевое микроокружение. CD4⁺-Т-клетки играют центральную роль в иницировании и поддержке противоопухолевых иммунных ответов, обеспечивают эффективное функционирование цитотоксических CD8⁺-Т-клеток [28]. Уровень CD4⁺-Т-клеток в ПК в ряде случаев может выступать как независимый прогностический фактор при злокачественных новообразованиях. Y. Gu и соавт. [29] продемонстрировали, что низкое абсолютное количество CD4⁺-Т-лимфоцитов в ПК предсказывает плохой прогноз у пациентов с впервые диагностированной множественной миеломой. По данным O. Trédan и соавт. [30] и J. Péron и соавт. [31] исходное снижение количества CD4⁺-Т-клеток коррелирует с прогрессированием заболевания и с уменьшением общей выживаемости больных лимфомой, метастатическим РМЖ, саркомой и другими вариантами опухолей. В настоящем исследовании исходное количество CD3⁺CD4⁺-Т-клеток не имело значения ни для БРВ, ни для ОВ, в то же время повышение уровня активированных CD4⁺CD25⁺-Т-лимфоцитов $\geq Me_{(n)}$ ассоциировалось со статистически значимым увеличением как БРВ, так и ОВ больных ТН РМЖ. Позитивное значение увеличения числа активированных CD4⁺CD25⁺-Т-лимфоцитов вполне закономерно, так как экспрессия α -цепи рецептора (CD25) указывает на формирование на поверхности Т-клеток высокоаффинного рецептора интерлейкина-2, который играет ключевую роль в запуске пролиферации и дифференцировки Т-лимфоцитов в ответ на актива-

ционные сигналы, т. е. в формировании эффективного противоопухолевого иммунного ответа [32, 33]. Хорошо известно, что популяция CD4⁺CD25⁺-Т-лимфоцитов является гетерогенной и включает не только клетки-эффекторы, но и регуляторные CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺CD127^{low}-Т-лимфоциты (Трег). Показано, что прогностическое значение уровня этих клеток при РМЖ различное и может быть как негативным, так и, в некоторых случаях, позитивным [34]. У пациенток в данном исследовании не отмечалось значимого повышения уровня Трег в ПК: медиана составила 1,32 % (0,58–1,50%). К тому же в дополнительном исследовании мы не обнаружили статистически значимого влияния Трег на БРВ и ОВ пациенток, включенных в исследование. Таким образом, благоприятное для выживаемости пациенток повышение числа CD4⁺CD25⁺-Т-лимфоцитов, скорее всего, было обусловлено пролиферирующими активированными CD4⁺-Т-клетками-эффекторами [28].

Заключение

Повышенные уровни CD25⁺- и CD4⁺CD25⁺-лимфоцитов в ПК являются положительными предиктивными факторами у пациенток с ТН РМЖ (II–III стадии), получающих НАХТ цисплатином и паклитакселом. Повышенное до лечения содержание HLA-DR⁺- и CD3-HLA-DR⁺-лимфоцитов ассоциировалось с неблагоприятным вариантом развития заболевания у данной группы больных. Показано, что у пациенток со II–III стадиями ТН РМЖ, имеющих до лечения повышенные уровни HLA-DR⁺- и CD3-HLA-DR⁺-лимфоцитов, НАХТ паклитакселом и цисплатином была менее эффективна, чем у пациенток с исходно сниженным числом таких клеток.

Вклад авторов

Обзор публикаций по теме статьи, обсуждение и научное редактирование рукописи – Кадагидзе З.Г.; анализ и интерпретация данных, написание текста рукописи – Черткова А.И.; разработка плана исследования, написание текста рукописи – Заботина Т.Н.; сбор клинических данных для анализа – Гордеева О.О.; анализ данных, обработка рисунков – Борунова А.А.; получение данных для анализа – Шоуа Э.К.; получение данных для анализа – Захарова Е.Н.; получение данных для анализа, перевод – Табаков Д.В.

Литература

1. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И. Иммунная система и рак. Практическая онкология. 2016; 17 (2): 62–73.
2. Schnell A., Schmidl Ch., 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. Biomedicines. 2018; 6 (1): 25. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines6010025>
3. Nixon A.B., Schalper K.A., Jacobs I. Potluri Sh., Wang I-M., Fleener C. Peripheral immune-based biomarkers in cancer immunotherapy: can we realize their predictive potential? J. Immunother. Cancer. 2019; 7: 325. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0799-2>
4. Yi M., Jiao D., Xu H., Liu Q., Zhao W., Han X., Wu K. Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors. Mol. Cancer. 2018; 17 (1): 129. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0864-3>
5. He Q., Li G., Ji X., Ma L., Wang X., Li Y., Fan Ch. 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: <https://doi.org/10.1177/1010428317697571>
6. Dermani F.K., Samadi P., Rahmani G., Kohlan A.K., Najafi R. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: Potential target for cancer therapy. J. Cell. Physiol. 2019; 234 (2): 1313–25. Epub 2018 Sep 7. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.27172>
7. Ali A.M., Ansari J.A.K., El-Aziz N.M.A., Abozeed W.N., Warith A.M.A., Alsaleh K. Triple negative breast cancer: a tale of two

decades anticancer agents. *Med. Chem.* 2017; 17 (4): 491–99. DOI: <https://doi.org/10.2174/1871520616666160725112335>

8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ Statistica. Москва: Медиа Сфера, 2003: 194–5.

9. Заботина Т.Н., Черткова А.И., Кадагидзе З.Г., Гордеева О.О., Шоуа Э.К., Жукова Л.Н., Ганьшина И.П., Мещеряков А.А. Популяция CD8⁺-лимфоцитов периферической крови и ее значение для непосредственных и отдаленных результатов лечения больных трижды негативным раком молочной железы. *Иммунология.* 2020; 41 (4): 326–36. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-326-336>

10. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors. The first theories. *Oncotarget.* 2017; 8 (4): 7175–80. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12739>

11. Ostroumov D., Fekete-Drimusz N., Saborowski M., Kühnel F., Woller N. CD4 and CD8 T lymphocyte interplay in controlling tumor growth. *Cell. Mol. Life Sci.* 2018; 75 (4): 689–713. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2686-7>

12. Wang K., Xu J., Zhang T., Xue D. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer predict the response to chemotherapy and survival outcome: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2016; 7 (28): 44 288–98. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9988>

13. Oshi M., Asaoka M., Tokumaru Y., Yan L., Matsuyama R., Ishikawa T., Endo I., Takabe K. CD8 T cell score as a prognostic biomarker for triple negative breast cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (18): 6968. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21186968>

14. Caruso A., Licenziati S., Corulli M., Canaris A.D., De Francesco M.A., Fiorentini S., Peroni L., Fallacara F., Dima F., Balsari A., Turano A. Flow cytometric analysis of activation markers on stimulated T cells and their correlation with cell proliferation. *Cytometry.* 1997; 27 (1): 71–6. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0320\(19970101\)27:1<71::aid-cyto9>3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0320(19970101)27:1<71::aid-cyto9>3.0.co;2-o)

15. Nakamura H., Saji H., Ogata A., Hosaka M., Hagiwara M., Kawasaki N., Konaka C., Kato H. Immunologic parameters as significant prognostic factors in lung cancer Lung Cancer. 2002; 37 (2): 161–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0169-5002\(02\)00100-9](https://doi.org/10.1016/s0169-5002(02)00100-9)

16. Yacyshyn M.B., Poppema S., Berg A., MacLean G.D., Reddish M.A., Meikle A., Longenecker B.M. CD69⁺ and HLA-DR⁺ activation antigens on peripheral blood lymphocyte populations in metastatic breast and ovarian cancer patients: correlations with survival following active specific immunotherapy. *Int. J. Cancer.* 1995; 61 (4): 470–4. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.2910610407>

17. Váróczy L., Gergely L., Miltényi Z. Aleksza M., Illés A. Can CD3⁺/HLA-DR⁺ activated T cells predict the prognosis of non-Hodgkin's lymphoma patients? *Immunol. Lett.* 2005; 97 (1): 155–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.10.005>

18. Schwartz M., Zhang Y., Rosenblatt J.D. B cell regulation of the anti-tumor response and role in carcinogenesis. *J. Immunother. Cancer.* 2016; 4: 40. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40425-016-0145-x>

19. Bertho N., Drénou B., Laupeze B., Berre C.L., Amiot L., Grosset J.M., Fardel O., Charron D., Mooney N., Fauchet R. HLA-DR-mediated apoptosis susceptibility discriminates differentiation stages of dendritic/monocytic APC. *J. Immunol.* 2000; 164 (5): 2379–85. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.5.2379>

20. Chen Y.Y., Feng Y., Mao Q.S., Ma P., Liu J.Z., Lu W., Liu Y.F., Chen X., Hu Y.L., Xue W.J. Diagnostic and prognostic value of the peripheral natural killer cell levels in gastric cancer. *Exp. Ther. Med.* 2020; 20 (4): 3816–22. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9101>

21. Neo S.Y., Yang Y., Record J., Ma R., Chen X., Chen Z., Tobin N.P., Blake E., Seitz C., Thomas R., Wagner A.K., Andersson J., de Boniface J., Bergh J., Murray S., Alici E., Childs R., Johansson M., Westerberg L.S., Haglund F., Hartman J., Lundqvist A. CD73 immune checkpoint defines regulatory NK cells within the tumor microenvi-

ronment. *J. Clin. Invest.* 2020; 130 (3): 1185–98. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI128895>

22. Chen T., Zhang T., Liu C., Wang C., Ding S., Shao Z., Fu R. NK cells suppress CD8(+) T cell immunity via NKG2D in severe aplastic anemia. *Cell. Immunol.* 2019; 335: 6–14. Epub 2018 Oct 12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.10.004>

23. Crouse J., Xu H.C., Lang P.A., Oxenius A. NK cells regulating T cell responses: mechanisms and outcome. *Trends Immunol.* 2015; 36 (1): 49–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.11.001>

24. Morandi F., Horenstein A.L., Chillemi A., Quarona V., Chiesa S., Imperatori A., Zanellato S., Mortara L., Gattorno M., Pistoia V., Malavasi F. CD56brightCD16⁺ NK cells produce adenosine through a CD38-mediated pathway and act as regulatory cells inhibiting autologous CD4⁺ T cell proliferation. *J. Immunol.* 2015; 195 (3): 965–72. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500591>

25. Pallmer K., Barnstorf I., Baumann N.S., Borsia M., Jonjic S., Oxenius A. NK cells negatively regulate CD8 T cells via natural cytotoxicity receptor (NCR) 1 during LCMV infection. *PLoS Pathog.* 2019; 15 (4): e1007725. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007725>

26. Erokhina S.A., Streltsova M.A., Kanevskiy L.M., Grechikhina M.V., Sapozhnikov A.M., Kovalenko E.I. HLA-DR-expressing NK cells: Effective killers suspected for antigen presentation. *J. Leukoc. Biol.* 2021; 109 (2): 327–37. DOI: <https://doi.org/10.1002/JLB.3RU0420-668RR>

27. Черткова А.И., Славина Е.Г., Заботина Т.Н., Кадагидзе З.Г., Шоуа Э.К., Гордеева О.О., Колядина И.В., Жукова Л.Г., Ганьшина И.П., Мещеряков А.А. Взаимосвязь NKT-клеток и активированных CD25⁺ лимфоцитов периферической крови с продолжительностью безрецидивной и общей выживаемости больных трижды негативным раком молочной железы. *Сибирский онкологический журнал.* 2020; 19 (6): 66–72. DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-6-66-72>

28. Borst J., Ahrends T., Băbala N., Melief C.J.M., Kastenmüller W. CD4⁺ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2018; 18 (10): 635–47. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0044-0>

29. Gu Y., Jin Y., Ding J., Yujie W., Shi Q., Qu X., Zhao S., Li J., Lijuan C. Low absolute CD4⁺T cell counts in peripheral blood predict poor prognosis in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk. Lymphoma.* 2020; 61 (8): 1869–76. DOI: <https://doi.org/10.1080/10428194.2020.1751840>

30. Trédan O., Manuel M., Clapisson G., Bachelot T., Chabaud S., Bardin-dit-Courageot C., Rigal C., Biota C., Bajard A., Pasqual N., Blay J.Y., Caux C., Ménétrier-Caux C. Patients with metastatic breast cancer leading to CD4⁺ T cell lymphopenia have poor outcome. *Eur. J. Cancer.* 2013; 49 (7): 1673–82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.028>

31. Péron J., Cropet C., Tredan O., Bachelot T., Ray-Coquard I., Clapisson G., Chabaud S., Philip I., Borg C., Cassier P., Labidi Galy I., Sebban C., Perol D., Biron P., Caux C., Menetrier-Caux C., Blay J.Y. CD4 lymphopenia to identify end-of-life metastatic cancer patients. *Eur. J. Cancer.* 2013; 49 (5): 1080–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.003>

32. Ellery J.M., Nicholls P.J. Possible mechanism for the alpha subunit of the interleukin-2 receptor (CD25) to influence interleukin-2 receptor signal transduction. *Immunol. Cell Biol.* 2002; 80 (4): 351–7. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2002.01097.x>

33. 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: <https://doi.org/10.1081/imm-120030732>

34. De Leeuw R.J., Kost S.E., Kakal J.A., Nelson B.H. The prognostic value of FoxP3⁺ tumor-infiltrating lymphocytes in cancer: a critical review of the literature *Clin. Cancer Res.* 2012; 18 (11): 3022–9. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3216>

■ References

1. Kadagidze Z.G., Chertkova A.I. Immunity and cancer. *Prakticheskaya onkologiya.* 2016; 17 (2): 62–73. (in Russian)

2. Schnell A., Schmidl Ch., Herr W., Siska P.J. The peripheral and intratumoral immune cell landscape in cancer patients: a proxy for tu-

mor biology and a tool for outcome prediction. *Biomedicines.* 2018; 6 (1): 25. DOI: <https://doi.org/10.3390/biomedicines6010025>

3. Nixon A.B., Schalper K.A., Jacobs I., Potluri Sh., Wang I-M., Fleener C. Peripheral immune-based biomarkers in cancer immu-

- notherapy: can we realize their predictive potential? *J. Immunother. Cancer.* 2019; 7: 325. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40425-019-0799-2>
4. Yi M., Jiao D., Xu H., Liu Q., Zhao W., Han X., Wu K. Biomarkers for predicting efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitors. *Mol. Cancer.* 2018; 17 (1): 129. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12943-018-0864-3>
5. He Q., Li G., Ji X., Ma L., Wang X., Li Y., Fan Ch. 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: <https://doi.org/10.1177/1010428317697571>
6. Dermeni F.K., Samadi P., Rahmani G., Kohlan A.K., Najafi R. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: Potential target for cancer therapy. *J. Cell. Physiol.* 2019; 234 (2): 1313–25. Epub 2018 Sep 7. DOI: <https://doi.org/10.1002/jcp.27172>
7. Ali A.M., Ansari J.A.K., El-Aziz N.M.A., Abozeed W.N., Warith A.M.A., Alsaleh K. Triple negative breast cancer: a tale of two decades anticancer agents. *Med. Chem.* 2017; 17 (4): 491–99. DOI: <https://doi.org/10.2174/1871520616666160725112335>
8. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the Statistica application software package. Moscow: Media Sfera, 2003: 194–5. (in Russian)
9. Zabolina T.N., Chertkova A.I., Kadagidze Z.G., Borunova A.A., Shoua E.K., Gordeeva O.O., Meshcheryakov A.A. Peripheral blood CD8⁺-lymphocytes populations and its value for direct and outlying treatment results in triple negative breast cancer patients. *Immunologiya.* 2020; 41 (4): 326–36. DOI: <https://doi.org/10.33029/0206-4952-2020-41-3-326-336> (in Russian)
10. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors. The first theories. *Oncotarget.* 2017; 8 (4): 7175–80. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12739>
11. Ostroumov D., Fekete-Drimsuz N., Saborowski M., Kühnel F., Woller N. CD4 and CD8 T lymphocyte interplay in controlling tumor growth. *Cell. Mol. Life Sci.* 2018; 75 (4): 689–713. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2686-7>
12. Wang K., Xu J., Zhang T., Xue D. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer predict the response to chemotherapy and survival outcome: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2016; 7 (28): 44 288–98. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.9988>
13. Oshi M., Asaoka M., Tokumaru Y., Yan L., Matsuyama R., Ishikawa T., Endo I., Takabe K. CD8 T cell score as a prognostic biomarker for triple negative breast cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2020; 21 (18): 6968. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21186968>
14. Caruso A., Licenziati S., Corulli M., Canaris A.D., De Francesco M.A., Fiorentini S., Peroni L., Fallacara F., Dima F., Balsari A., Turano A. Flow cytometric analysis of activation markers on stimulated T cells and their correlation with cell proliferation. *Cytometry.* 1997; 27 (1): 71–6. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0320\(19970101\)27:1<71::aid-cyto9>3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0320(19970101)27:1<71::aid-cyto9>3.0.co;2-o)
15. Nakamura H., Saji H., Ogata A., Hosaka M., Hagiwara M., Kawasaki N., Konaka C., Kato H. Immunologic parameters as significant prognostic factors in lung cancer. *Lung Cancer.* 2002; 37 (2): 161–9. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0169-5002\(02\)00100-9](https://doi.org/10.1016/s0169-5002(02)00100-9)
16. Yacyshyn M.B., Poppema S., Berg A., MacLean G.D., Reddish M.A., Meikle A., Longenecker B.M. CD69⁺ and HLA-DR⁺ activation antigens on peripheral blood lymphocyte populations in metastatic breast and ovarian cancer patients: correlations with survival following active specific immunotherapy. *Int. J. Cancer.* 1995; 61 (4): 470–4. DOI: <https://doi.org/10.1002/ijc.2910610407>
17. Váróczy L., Gergely L., Miltényi Z., Aleksza M., Illés A. Can CD3⁺/HLA-DR⁺ activated T cells predict the prognosis of non-Hodgkin's lymphoma patients? *Immunol. Lett.* 2005; 97 (1): 155–7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.10.005>
18. Schwartz M., Zhang Y., Rosenblatt J.D. B cell regulation of the anti-tumor response and role in carcinogenesis. *J. Immunother. Cancer.* 2016; 4: 40. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40425-016-0145-x>
19. Bertho N., Drénou B., Laupeze B., Berre C.L., Amiot L., Grosset J.M., Fardel O., Charron D., Mooney N., Fauchet R. HLA-DR-mediated apoptosis susceptibility discriminates differentiation stages of dendritic/monocytic APC. *J. Immunol.* 2000; 164 (5): 2379–85. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.164.5.2379>
20. Chen Y.Y., Feng Y., Mao Q.S., Ma P., Liu J.Z., Lu W., Liu Y.F., Chen X., Hu Y.L., Xue W.J. Diagnostic and prognostic value of the peripheral natural killer cell levels in gastric cancer. *Exp. Ther. Med.* 2020; 20 (4): 3816–22. DOI: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9101>
21. Neo S.Y., Yang Y., Record J., Ma R., Chen X., Chen Z., Tobin N.P., Blake E., Seitz C., Thomas R., Wagner A.K., Andersson J., de Boniface J., Bergh J., Murray S., Alici E., Childs R., Johansson M., Westerberg L.S., Haglund F., Hartman J., Lundqvist A. CD73 immune checkpoint defines regulatory NK cells within the tumor microenvironment. *J. Clin. Invest.* 2020; 130 (3): 1185–98. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI128895>
22. Chen T., Zhang T., Liu C., Wang C., Ding S., Shao Z., Fu R. NK cells suppress CD8(+) T cell immunity via NKG2D in severe aplastic anemia. *Cell. Immunol.* 2019; 335: 6–14. Epub 2018 Oct 12. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.10.004>
23. Crouse J., Xu H.C., Lang P.A., Oxenius A. NK cells regulating T cell responses: mechanisms and outcome. *Trends Immunol.* 2015; 36 (1): 49–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.11.001>
24. Morandi F., Horenstein A.L., Chillemi A., Quarona V., Chiesa S., Imperatori A., Zanellato S., Mortara L., Gattorno M., Pistoia V., Malavasi F. CD56brightCD16⁺ NK cells produce adenosine through a CD38-mediated pathway and act as regulatory cells inhibiting autologous CD4⁺ T cell proliferation. *J. Immunol.* 2015; 195 (3): 965–72. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1500591>
25. Pallmer K., Barnstorf I., Baumann N.S., Borsia M., Jonjic S., Oxenius A. NK cells negatively regulate CD8 T cells via natural cytotoxicity receptor (NCR) 1 during LCMV infection. *PLoS Pathog.* 2019; 15 (4): e1007725. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007725>
26. Erokhina S.A., Streltsova M.A., Kanevskiy L.M., Grechikhina M.V., Sapozhnikov A.M., Kovalenko E.I. HLA-DR-expressing NK cells: Effective killers suspected for antigen presentation. *J. Leukoc. Biol.* 2021; 109 (2): 327–37. DOI: <https://doi.org/10.1002/JLB.3RU0420-668RR>
27. Chertkova A.I., Slavina E.G., Zabolina T.N., Kadagidze Z.G., Shoua E.K., Gordeeva O.O., Kolyadina I.V., Zhukova L.G., Ganshina I.P., Meshcheryakov A.A. Association of NKT- and activated CD25⁺ peripheral blood lymphocytes with disease free and overall survival of triple negative breast cancer patients. *Sibirskiy onkologicheskii zhurnal.* 2020; 19 (6): 66–72. DOI: <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2020-19-6-66-72> (in Russian)
28. Borst J., Ahrends T., Bąbala N., Melief C.J.M., Kastenmüller W. CD4⁺ T cell help in cancer immunology and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.* 2018; 18 (10): 635–47. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0044-0>
29. Gu Y., Jin Y., Ding J., Yujie W., Shi Q., Qu X., Zhao S., Li J., Lijuan C. Low absolute CD4⁺T cell counts in peripheral blood predict poor prognosis in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Leuk. Lymphoma.* 2020; 61 (8): 1869–76. DOI: <https://doi.org/10.1080/10428194.2020.1751840>
30. Trédan O., Manuel M., Clapisson G., Bachelot T., Chabaud S., Bardin-dit-Courageot C., Rigal C., Biota C., Bajard A., Pasqual N., Blay J.Y., Caux C., Ménétrier-Caux C. Patients with metastatic breast cancer leading to CD4⁺ T cell lymphopaenia have poor outcome. *Eur. J. Cancer.* 2013; 49 (7): 1673–82. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.028>
31. Péron J., Cropet C., Tredan O., Bachelot T., Ray-Coquard I., Clapisson G., Chabaud S., Philip I., Borg C., Cassier P., Labidi Galy I., Sebban C., Perol D., Biron P., Caux C., Menetrier-Caux C., Blay J.Y. CD4 lymphopenia to identify end-of-life metastatic cancer patients. *Eur. J. Cancer.* 2013; 49 (5): 1080–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.003>
32. Ellery J.M., Nicholls P.J. Possible mechanism for the alpha subunit of the interleukin-2 receptor (CD25) to influence interleukin-2 receptor signal transduction. *Immunol. Cell Biol.* 2002; 80 (4): 351–7. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2002.01097.x>
33. 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: <https://doi.org/10.1081/imm-120030732>
34. De Leeuw R.J., Kost S.E., Kakal J.A., Nelson B.H. The prognostic value of FoxP3⁺ tumor-infiltrating lymphocytes in cancer: a critical review of the literature. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18 (11): 3022–9. DOI: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-3216>

Сведения об авторах

Кадагидзе Заира Григорьевна – д-р мед. наук, проф., ведущ. науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: kad-zaira@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0058-098>

Черткова Антонина Ивановна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: antcher@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9146-5986>

Заботина Татьяна Николаевна – д-р биол. наук, зав. отделом клинико-лабораторной диагностики, и.о. зав. лабораторией клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: tatzabotina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>

Гордеева Ольга Олеговна – канд. мед. наук, врач-онколог отделения химиотерапии и комбинированного лечения злокачественных опухолей ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: helga.stolz@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8266-0218>

Борунова Анна Анатольевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: borunova-a@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1854-3455>

Шоуа Эсма Константиновна – врач-онколог лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: essfires@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3937-474X>

Захарова Елена Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: zakharovaen@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2790-667>

Табакон Дмитрий Владиславович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Российская Федерация
E-mail: dtabakov91@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>

Authors' information

Zaira G. Kadagidze – MD, PhD, Prof., Leader Researcher of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: kad-zaira@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-0058-098>

Antonina I. Chertkova – PhD, Senior Researcher of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: antcher@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-9146-5986>

Tatiana N. Zabolotina – Dr.Sci, PhD, Head of the Department Clinical and Laboratory Diagnostics, Deputy Head of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: tatzabolotina@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0001-7631-5699>

Olga O. Gordeeva – PhD, Physician-oncologist of Department of Chemotherapy and Combined Treatment of Malignant Tumors of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: helga.stolz@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-8266-0218>

Anna A. Borunova – PhD, Senior Researcher of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: borunova-a@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1854-3455>

Esma K. Shoua – Physician-oncologist of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: essfires@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-3937-474X>

Elena N. Zakharova – PhD, Researcher of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: zakharovaen@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-2790-667>

Dmitry V. Tabakov – PhD, Researcher of Clinical Immunology Laboratory of the «N.N. Blokhin NMRCO» of the MOH of Russia, Moscow, Russian Federation
E-mail: dtabakov91@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-1509-2206>