

ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЕ И АКТИВАЦИОННЫЕ МАРКЕРЫ ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ В ДИНАМИКЕ ОПУХОЛЕВОЙ ПРОГРЕССИИ

Антонеева И.И.

Ульяновский государственный университет, кафедра лучевой диагностики, лучевой терапии и онкологии, г. Ульяновск

Резюме. На лимфоцитах больных раком яичников, в репродуктивном периоде и в постменопаузе, находящихся в I-IV клинических стадиях (по FIGO), изучены особенности экспрессии дифференцировочных (CD3, CD4, CD8, CD16) и активационных (CD25, CD71, CD95 и HLA-DR) маркеров. Установлена на фоне практически неизменного общего количества лейкоцитов нарастающая в динамике опухолевой прогрессии лимфопения, более выраженная у больных в постменопаузе. При этом наряду с уменьшением количества CD3⁺ и CD4⁺ клеток количество CD8⁺ клеток достоверно нарастало уже на ранних стадиях заболевания. Экспрессия CD16⁺ повышена на поздних стадиях и была достоверно выше у больных в постменопаузе. Содержание CD25⁺ лимфоцитов повышено на всех клинических стадиях и достоверно не отличалось в репродуктивном периоде и в постменопаузе. Число CD95⁺ лимфоцитов повышено, и у больных с III-IV стадией заболевания этот показатель был максимальным. Количество CD71⁺ клеток было повышенным на всех стадиях заболевания и было достоверно выше у больных в репродуктивном периоде, чем в постменопаузе. Экспрессия молекул HLA-DR усиливалась на лимфоцитах больных уже на начальных стадиях опухоли и достоверно снижалась на IV клинической стадии заболевания. Таким образом, больные раком яичников в репродуктивном периоде и в постменопаузе на различных стадиях опухолевого роста характеризуются различным, динамично изменяющимся фенотипом лимфоцитов периферической крови.

Ключевые слова: рак яичников, маркеры, лимфоциты, прогрессия.

Antoneeva I.I.

DIFFERENTIATION- AND ACTIVATION-ASSOCIATED MARKERS OF PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN THE PATIENTS WITH OVARIAN CANCER IN THE COURSE OF TUMOR PROGRESSION

Expression features of markers associated with differentiation (CD3, CD4, CD8, CD16) and activation (CD25, CD71, CD95 and HLA-DR) were studied on lymphocytes from patients of reproductive and postmenopausal age with ovarian cancer (FIGO clinical stages I to IV). Absolute lymphopenia, which was more pronounced in postmenopause, was found to be increased in the course of tumor progression. Moreover, the numbers of CD8⁺ cells significantly increased since early stages of disease, along with decreased amounts of CD3⁺ and CD4⁺ cells. CD16 expression was elevated at later stages, being sufficiently higher in postmenopausal patients. CD25 cell scores was increased at all clinical stages, and did not significantly differ in reproductive vs menopausal age. CD95⁺ cell number was increased, and it proved to be maximal at stage III-IV of the disease. The numbers of CD71⁺ cells was increased at all clinical stages of disease, being significantly higher in reproductive period, as compared with menopause. Expression of HLA-DR molecules on lymphocytes was enhanced at early stages of disease followed by significant decrease at stage IV of disease. Hence, phenotypic features of lymphocytes from the patients

Адрес для переписки:

432001, г. Ульяновск, ул. Крымова, 63, корп. 2, кв. 403.
Тел.: 8 (8422) 38-82-62 (раб.); 44-86-88 (дом.).
E-mail: Naum-53@yandex.ru

with ovarian cancer exhibit dynamic variability at different stages of tumor growth, being also dependent on reproductive vs. postmenopausal period. (*Med. Immunol.*, 2007, vol. 9, N 6, pp 649-652)

Показано, что прогрессирующая неоплазма может изменять функции лимфоцитов крови (ЛФ) [3]. В то же время у больных с различными локализациями опухолей выявляются различные фенотипы ЛФ [1]. Считается общепризнанным, что опухолевый процесс в яичниках сопровождается изменениями как в клеточном, так и в гуморальном звеньях иммунитета [2]. Однако роль иммунной системы в динамике опухолевой прогрессии при раке яичников (РЯ) представляется спорной.

Целью исследования была оценка количества ЛФ периферической крови больных РЯ, несущих дифференцировочные и активационные маркеры, на различных клинических стадиях заболевания.

Материалом исследования служили ЛФ периферической крови 200 больных РЯ (в I-IV клинических стадиях по FIGO) и 81 практически здоровой женщины, находящихся в репродуктивном периоде и в постменопаузе. Моноклональные клетки получали из стабилизированной гепарином венозной крови, на градиенте плотности фиколл-верографин (1,077 г/мл). Кровь брали при первичном обследовании больных до начала терапии. Субпопуляционный состав ЛФ исследовали с использованием моноклональных антител к молекулам CD3, CD4, CD8, CD16, CD25, CD71, CD95 и HLA-DR (Институт иммунологии Минздравсоцразвития РФ, фирма «Сорбент») методом непрямой иммуофлуоресценции. Проводили положительный и отрицательный контроль. В положительном контроле почти все клетки экспрессировали общелейкоцитарный маркер CD45. Оценивали флуоресценцию не менее чем 200

клеток. Контроль неспецифического связывания меченой сыворотки составлял не более 3%.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

В результате выполненных исследований установлено, что общее количество лейкоцитов у больных РЯ на всех клинических стадиях заболевания достоверно не отличается от такового у здоровых, при этом соответствующие показатели у обследованных в постменопаузе были достоверно выше, чем в репродуктивном периоде.

При анализе экспрессии поверхностных маркеров ЛФ по стадиям заболевания обнаружено, что на фоне уменьшения количества ЛФ происходит снижение количества Т-лимфоцитов (CD3) и их субпопуляции (CD4) при одновременном увеличении CD8-клеток у больных РЯ по сравнению с контрольной группой. Существенно возрас- тала и экспрессия CD16. Указанные изменения количества ЛФ, несущих дифференцировочные маркеры наблюдались как у пациентов в репродуктивном периоде, так и в постменопаузе и нарастали в динамике опухолевого роста (табл. 1).

Данные литературы относительно фенотипа ЛФ при злокачественных опухолях яичников достаточно противоречивы. Если авторы в большинстве своем указывают на лимфоцитопению и снижение CD3 и CD4, то относительно изменения количества CD8⁺ и CD16⁺ клеток единого мнения не существует, хотя количество именно ЛФ с этими дифференцировочными маркерами в существенной мере будет определять выбор иммунотерапии на различных стадиях опухолевого процесса.

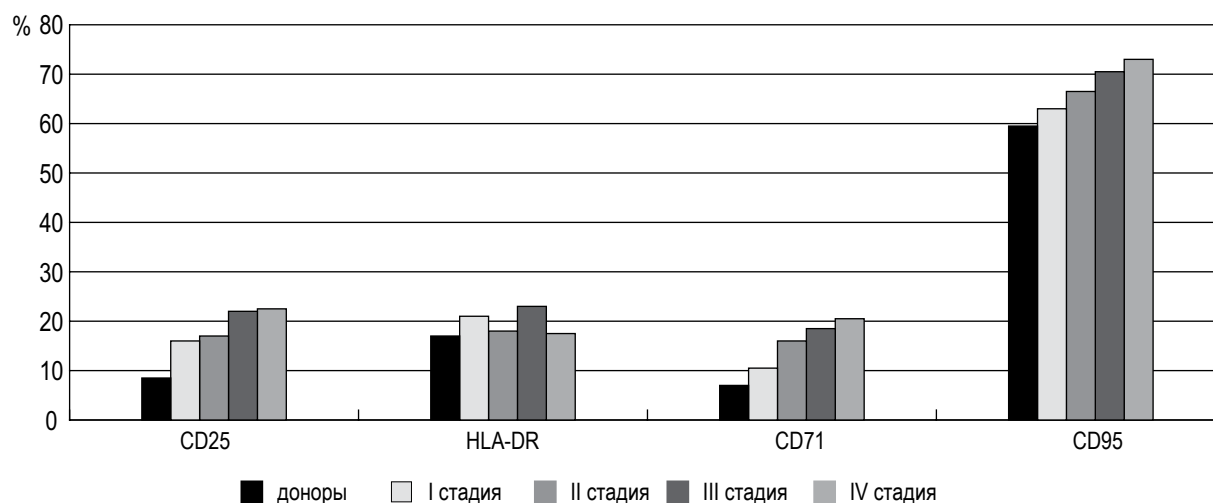


Рисунок 1. Количество лимфоцитов периферической крови, несущих активационные маркеры, у больных РЯ в репродуктивном периоде

Динамика изменения количества ЛФ, несущих активационные маркеры у больных РЯ в репродуктивном периоде и в постменопаузе представлена на рисунках 1 и 2.

Содержание CD25 ЛФ у пациенток и в репродуктивном периоде и в постменопаузе на всех стадиях заболевания было существенно выше, чем у здоровых. При этом наиболее высокие показатели количества CD25-клеток наблюдались на поздних стадиях опухолевого процесса.

Аналогичная динамика имела место и для других активационных маркеров.

Так количество CD71 и CD95 ЛФ у больных РЯ был существенно и достоверно повышено по сравнению с контролем уже на начальных клинических стадиях заболевания и продолжал нарастать в динамике опухолевой прогрессии.

В то же время количество ЛФ, несущих HLA-DR-маркеры у больных РЯ характеризовалась волнообразными изменениями: существенно и достоверно повышенное уже на I клинической стадии заболевания количество HLA-DR-клеток незначительно снижалось ко II стадии; затем вновь достоверно возрастало на III клинической стадии с тем, чтобы на IV стадии снизиться практически до показателей контрольной группы.

В литературе описана подобная динамика у целого ряда больных со злокачественными опухолями различной локализации [1]. Известно, что в норме HLA-DR экспрессируются на поверхности В-лимфоцитов и на активированных Т-лимфоцитах. Таким образом, увеличение количества HLA-DR клеток у больных РЯ может быть связано как с увеличением количества В-клеток, что не подтверждается данными литературы, так и с активацией Т-лимфоцитов, что, по мнению ряда авторов, [1] может быть связано с активным метастазированием на III клинической стадии заболевания.

С процессами развития и роста опухоли может быть связано и увеличение количества CD25 клеток. Подобная динамика описана также у больных раком желудка [7]. Существует мнение, что у онкологических больных увеличена субпопуляция Т-регуляторных клеток с фенотипом CD4⁺CD25⁺. Количество этих клеток-супрессоров, подавляющих пролиферацию CD4⁺CD25⁻ клеток, возрастает по мере прогрессирования опухоли [4].

Увеличение CD95⁺ лимфоцитов по мере возрастания стадии заболевания свидетельствует об усилении апоптоза лимфоидных клеток периферической крови, что является показателем иммуносупрессии и подтверждается работами, установившими у онкологических больных активацию каспазы Т-лимфоцитов крови [5].

Увеличение количества CD71 ЛФ периферической крови больных РЯ может свидетель-

ТАБЛИЦА 1. КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК, НЕСУЩИХ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫЕ МАРКЕРЫ НА ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЯ

Показатель	Репродуктивный период						Постменопауза				
	Всего ЛФ x 10 ⁹ /л	CD3 x 10 ⁹ /л	CD4 x 10 ⁹ /л	CD8 x 10 ⁹ /л	CD16 x 10 ⁹ /л		Всего ЛФ x 10 ⁹ /л	CD3 x 10 ⁹ /л	CD4 x 10 ⁹ /л	CD8 x 10 ⁹ /л	CD16 x 10 ⁹ /л
Доноры	2,73±0,01	1,75±0,02	1,10±0,02	0,43±0,03	0,44±0,03	Лейкоциты = 6,9±0,03 x 10 ⁹ /л; n = 63	2,67±0,03	1,64±0,01	1,03±0,01	0,38±0,03	0,48±0,03
I стадия	2,03±0,04*	1,30±0,01*	0,81±0,02*	0,53±0,02*	0,35±0,02*	Лейкоциты = 6,0±0,07 x 10 ⁹ /л; n = 19	1,99±0,02*	1,16±0,01*	0,62±0,01*	0,48±0,01*	0,39±0,02*
II стадия	2,06±0,05*	1,26±0,01*	0,65±0,01*	0,52±0,01*	0,39±0,02	Лейкоциты = 6,3±0,07 x 10 ⁹ /л; n = 29	2,04±0,06*	1,22±0,01	0,67±0,01*	0,47±0,01*	0,44±0,03
III стадия	2,01±0,02*	1,13±0,02*	0,59±0,01*	0,48±0,03*	0,46±0,02	Лейкоциты = 6,15±0,04 x 10 ⁹ /л; n = 40	1,93±0,02*	1,03±0,01*	0,58±0,01*	0,41±0,02*	0,47±0,02
IV стадия	2,07±0,06*	1,09±0,01*	0,62±0,02*	0,48±0,03*	0,40±0,02	Лейкоциты = 7,1±0,06 x 10 ⁹ /л; n = 14	1,94±0,06*	0,99±0,01*	0,55±0,01*	0,40±0,01*	0,44±0,02

Примечание: * – данные, достоверно отличающиеся от контрольных.

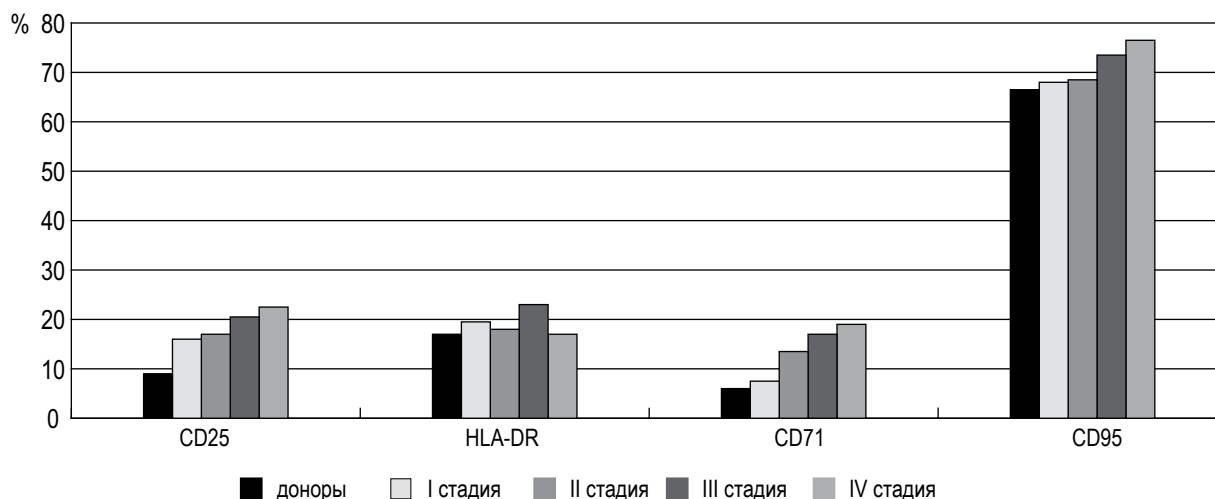


Рисунок 2. Количество лимфоцитов периферической крови, несущих активационные маркеры, у больных РЯ в постменопаузе

ствовать об активной пролиферации этих клеток иммунной системы. Количество $CD71^+$ клеток возрастало в процессе опухолевого роста, и это согласуется с данными литературы [6].

Таким образом, анализ полученных данных позволил установить, что у больных РЯ происходят значительные изменения количества ЛФ, несущих как дифференцировочные, так и активационные маркеры. Это, возможно, отражает состояние иммунной системы в процессе опухолевого роста и, видимо, должно учитываться при диагностике, мониторинге и разработке схем иммунотерапии у данной группы больных.

Список литературы

1. Олейник Е.К., Шibaев М.И., Олейник В.М. Маркеры активации лимфоцитов крови ($CD25$, $CD71$, $CD95$, $HLA-DR$) у онкологических больных // Гемат. и трансфуз. — 2006. — Т. 51, № 1. — С. 18-22.
2. Синельникова Т.И. Клинико-иммунологическая и гистологическая характеристика эпителиальных опухолей яичников: Автореф. дис. ... к.м.н. — М., 2004.
3. Botti C., Seregni E., Ferrari L., Martinetti A., Bombardieri E. Immunosuppressive factors: role

in cancer development and progression // Int. J. Biol. Markers. — 1998. — Vol. 13, № 2. — P. 51-69.

4. Sasada T., Kimura M., Yoshida Y., Kanai M., Takabayashi A. $CD4^+CD25^+$ regulatory T-cells in patients with gastrointestinal malignancies: possible involvement of regulatory T cells in disease progression // Cancer. — 2003. — Vol. 98, N 5. — P. 1089-1099.

5. Takahashi A., Kono K., Amemiya H., Iizuka H., Fujii H., Matsumoto Y. Elevated caspase-3 activity in peripheral blood T-cells coexists with increased degree of T-cell apoptosis and down-regulation of TCR zeta molecules in patients with gastric cancer // Clin Cancer Res. — 2001. — Vol. 7, № 1. — P. 74-80.

6. Uquell S., Uhling D., Pfohler C. Down-regulation of HLA class II and costimulatory $CD86/B7-2$ on circulating monocytes from melanoma patients // Cancer Immunol. Immunother. — 2004. — Vol. 53. — P. 551-559.

7. Wang X., Xu S., Lu G., Feng J., Zhou X., Zhu C. Clinical significance of examining IL-2R in peripheral blood lymphocytes of patients with gastric cancer // Chin. Med. J. — 2001. — Vol. 114, N 12. — P. 1320-1322.

поступила в редакцию 26.04.2007

принята к печати 15.06.2007