

ЭКСПРЕССИЯ МРНК В ОПУХОЛИ ПОЧКИ
MRNA EXPRESSION IN RENAL TUMOR

**ЭКСПРЕССИЯ МРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* В
ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ БОЛЬНЫХ СВЕТЛОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ
ПОЧКИ**

Амоев З. В. ¹,
Алясова А. В. ²,
Новиков Д. В. ³,
Школа О. О. ³,
Селиванова С. Г. ⁴,
Калугин А. В. ³,
Новиков В. В. ^{3,4}

¹ Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России

² Сеченовский университет

³ Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского

⁴ Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора

ЭКСПРЕССИЯ МРНК В ОПУХОЛИ ПОЧКИ
MRNA EXPRESSION IN RENAL TUMOR

**EXPRESSION OF MRNA CD16A, CD16B, ICAM1, CD38, FOXP3 IN
TUMOR TISSUE OF PATIENTS WITH CLEAR CELL RENAL CELL
CARCINOMA**

Amoev Z. V. ^a,
Alyasova A. V. ^b,
Novikov D. V. ^c,
Shkola O. O. ^c,
Selivanova S. G. ^d,
Kalugin A. V. ^c,
Novikov V. V. ^{c, d}

^a Volga District Medical Center of the Federal Medical and Biological Agency of
Russia

^b Sechenov First Moscow State Medical University

^c National Research Nizhny Novgorod State University named after N.I.
Lobachevsky

^d Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology named
after Academician I.N. Blokhina of Rospotrebnadzor

Резюме

Введение. Диагностика рака почки представляет значительные трудности, поскольку симптомы заболевания могут появляться только в запущенной стадии. Все большее внимание уделяется поиску маркеров, позволяющих быстро и эффективно диагностировать опухоль, прогнозировать течение заболевания, в числе которых можно рассматривать определение в опухолевой ткани экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) генов, регулирующих иммунный ответ. Цель исследования: оценить экспрессию мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* в опухолевой ткани больных светлоклеточным раком почки. **Материал и методы.** Под наблюдением находилось 400 больных в возрасте 45-68 лет с гистологически подтвержденным светлоклеточным почечноклеточным раком. В 73% случаев (292/400) была выявлена I-II стадия заболевания. Большинству пациентов была выполнена радикальная нефрэктомия (279/400 – 69,8%). Преобладали опухоли G2 – 57,3% наблюдений (229/400). Перед выполнением исследования все пациенты подписали информированное согласие. Образцы опухолевой ткани в объеме 3 мм³ забирали в день выполнения хирургического вмешательства. В полученных образцах в реальном режиме времени с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией определяли уровень мРНК. В качестве гена домашнего хозяйства использовали ген убиквитин-лигазы С (UBC), он же применялся в качестве положительного контроля. Уровень мРНК рассчитывали в относительных единицах. Статистическую обработку результатов проводили с помощью программ Statistica v.10.0 и MS Excel 2010. **Результаты.** Наиболее часто в опухолевой ткани была выявлена экспрессия мРНК *CD16A* (100%), мРНК *CD38* (93,3%, 280/300), мРНК *CD16B* (92%, 276/300), реже всего – мРНК *FOXP3* (56%, 168/300). Частота детектирования мРНК *ICAM1* – 84,7% (254/300). При оценке выявляемости мРНК тестируемых генов у больных с разными размерами первичного очага в ткани почки по системе TNM, разными стадиями заболевания, прогнозом, степенью злокачественности опухоли и разным исходом заболевания обнаруженные различия детекции сохранялись. Частота детекции мРНК *FoxP3* возрастала у лиц с IV стадией распространенности опухолевого процесса, но оставалась ниже частоты детекции мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*. **Выводы.** В опухолях больных светлоклеточным раком почки была выявлена высокая частота детекции мРНК *CD16A*, *CD16B*, *CD38* и низкая экспрессия мРНК *FoxP3* независимо от ряда клинических и морфологических предикторов прогноза заболевания.

Ключевые слова: мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3*, светлоклеточный рак почки.

Abstract

Introduction. Diagnosis of kidney cancer presents significant difficulties, since symptoms of the disease may appear only at an advanced stage. Increasing attention is paid to the search for markers that allow for rapid and effective tumor diagnosis and disease prognosis, including the determination of expression of messenger ribonucleic acid (mRNA) of genes regulating the immune response. The aim of the study was to evaluate the expression of *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* mRNA in tumors of patients with clear cell renal cell carcinoma. **Material and methods.** The study included 400 patients aged 45-68 years with histologically confirmed clear cell renal cell carcinoma, mainly stage I-II (73%, 292/400), G2 – 57.3% of observations (229/400). Most patients underwent radical nephrectomy (279/400 – 69.8%). All patients signed an informed consent before the study. Tumor tissue samples (3 mm³) were collected on the day of surgery. The mRNA level was determined in the obtained samples in real time using reverse transcription-polymerase chain reaction and calculated in relative units. The ubiquitin ligase C (UBC) gene was used as a housekeeping gene and as a positive control. Statistical processing of the results was performed using Statistica v.10.0 and MS Excel 2010. **Results.** The most frequently detected mRNA expression in the tumor tissue was CD16A (100%), CD38 mRNA (93.3%, 280/300), CD16B mRNA (92%, 276/300), and the least frequently detected mRNA was FOXP3 (56%, 168/300). The detection frequency of ICAM1 mRNA was 84.7% (254/300). When assessing the detection of gene mRNA in patients with different sizes of the primary lesion according to the TNM system, different stages of the disease, prognosis, degree of tumor malignancy and different outcomes of the disease, the detected differences in detection persisted. The frequency of FoxP3 mRNA detection increased in patients with stage IV tumors, but remained lower than the frequency of CD16A, CD16B, ICAM1, CD38 mRNA detection. **Conclusions.** In tumors of patients with clear cell renal cell carcinoma, a high frequency of CD16A, CD16B, CD38 mRNA detection and low expression of FoxP3 mRNA were detected regardless of a number of clinical and morphological predictors of disease prognosis.

Keywords: mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3*, clear cell renal cell carcinoma.

1 Введение

Почечноклеточный рак (ПКР) – одно из сложно диагностируемых заболеваний почки, симптомы которого появляются только при большой распространенности опухоли [10]. Нередко (до 50% случаев) ПКР является случайной находкой при выполнении ультразвукового исследования, компьютерной или магнитно-резонансной томографии, но эти методы не позволяют надежно дифференцировать доброкачественные или злокачественные новообразования. Исследование ткани опухоли в послеоперационном периоде или после выполнения биопсии позволяет установить диагноз заболевания. В последние годы все больше внимания уделяется поиску маркеров позволяющих быстро и эффективно диагностировать опухоль, прогнозировать течение заболевания, в качестве которых, в том числе, можно рассматривать определение в опухолевой ткани мРНК генов, регулирующих иммунный ответ. Однако в доступной литературе имеется небольшое количество исследований, проведенных на опухолевой ткани у больных ПКР.

Цель исследования: оценить экспрессию мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* в опухолевой ткани больных светлоклеточным раком почки

2 Материал и методы

Под наблюдением находилось 400 больных в возрасте 45-68 лет с гистологически подтвержденным светлоклеточного ПКР. Для обследования пациентов применялись стандартные лабораторно-инструментальные исследования. Пациенты, включенные в исследование, впервые поступили в стационар и не получали ранее противоопухолевого лечения. Согласно классификации TNM (8-е издание, 2017) I стадия заболевания была установлена в 46,3% случаев (185 человек), II – 26,7% (107 больных), III – 19,5% (78 больных), IV – 7,5% (30 пациентов). У большинства пациентов имел место благоприятный (200 наблюдений - 50%) или промежуточный (190 – 47,5%) прогноз заболевания по классификации IMDC (2009). Больным была выполнена радикальная нефрэктомия (279 случаев – 69,8 %), резекция почки (121 случай – 30,3%), тромбэктомия из нижней полой вены или правого предсердия (163 случаев – 40,8 %). По данным послеоперационного морфологического исследования размер опухоли был оценен как pT1 у 185 человек (46,3%), pT2 – у 111 (27,8%), pT3 – у 98 (24,4%), pT4– у 6 больных (1,5%). В соответствии с рекомендациями ВОЗ/Международной ассоциации урологических патологов (2016) степень злокачественности опухоли оценивалась по четырехступенчатой градирующей системе (Grade 1-4). Опухоли, оцененные как G1, были выявлены у 45 человек (11,3%), G2 – у 229 (57,3%), G3 – у 105 (26,3%), G4 – у 17 пациентов (4,3%). Перед выполнением исследования все пациенты подписали информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом Приволжского окружного медицинского центра ФМБА России. Исследование проводилось согласно этическим принципам, установленным Хельсинской декларацией (принятой в июне 1964 г., Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2013 г.,

45 Форталеза, Бразилия) и Федеральному закону от 05.07.1996 №86-ФЗ (ред. 37
46 от 19.07.2011) «О государственном регулировании в области генно-
47 инженерной деятельности».

48 Образцы опухолевой ткани в объеме 3 мм³ забирали в день выполнения
49 хирургического вмешательства и помещали их в физиологический раствор.

50 В полученных образцах в реальном режиме времени с помощью
51 полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией определяли уровень
52 экспрессии матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК) в соответствии с
53 предложенным ранее методом [5]. Для выделения тотальной РНК
54 использовался набор «РНК-Экстрэн» («Синтол», Россия) согласно
55 рекомендациям производителя. Оценивалось содержание матричной РНК
56 (мРНК) *CD16A*, *CD16B*, *FoxP3*, *CD38*, *ICAM1*. Выбор мРНК тестируемых генов
57 был обусловлен тем, что *CD16* участвует в реализации противоопухолевого
58 иммунного ответа, *CD38*, *ICAM1* – в межклеточных взаимодействиях
59 иммунокомпетентных клеток, а *FoxP3* – в отрицательной регуляции
60 иммунного ответа, что позволяет выявить некоторые особенности
61 функционирования иммунной системы у больных раком почки. В качестве
62 гена домашнего хозяйства использовали ген убиквитин-лигазы С (UBC), он же
63 применялся в качестве положительного контроля. Уровень мРНК
64 рассчитывали в относительных единицах методом $\Delta\Delta Ct$ с учетом
65 эффективности реакции, которая определялась методом последовательных
66 разбавлений, относительно генов домашнего хозяйства по формуле $2\Delta Ct$.

67 Для устранения погрешности, вносимой дозаторами при смешивании
68 микрообъемов, общую смесь готовили из расчета на одну пробу больше, чем
69 необходимо. Первичная структура используемых праймеров и зондов
70 представлена в таблице 1. Олигонуклеотиды синтезировали в ЗАО «Синтол»
71 (Россия).

72 Статистическую обработку результатов проводили с помощью
73 программ Statistica v.10.0 и MS Excel 2010. Для оценки встречаемости мРНК
74 исследуемых генов рассчитывали относительные частоты их выявления. Для
75 анализа различий относительных частот обнаружения мРНК в группах
76 использовали двусторонний (двухходовый) тест критерия сравнения
77 пропорций. Для анализа различий абсолютных частот детекции мРНК в
78 группах применяли критерий χ^2 по Пирсону или двусторонний тест точного
79 критерия Фишера. Доверительный интервал выбирали равным 0,95. Различия
80 считали статистически значимыми при уровне статистической значимости
81 $p < 0,05$.

82 **3 Результаты**

83 Исследование частоты выявления мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*,
84 *FOXP3* в образцах опухоли показало, что мРНК тестируемых генов
85 детектировались с различной частотой. Наиболее часто в опухолевой ткани
86 были выявлены мРНК *CD16A* (100%), мРНК *CD38* (93,3%, 280/300), мРНК
87 *CD16B* (92%, 276/300), реже всего – мРНК *FOXP3* (56%, 168/300). Частота
88 детектирования мРНК *ICAM1* – 84,7% (254/300).

89 Проведен анализ детектирования мРНК тестируемых генов у лиц с
90 разными стадиями ПКР (таблица 2). Следует отметить, что независимо от
91 стадии заболевания наиболее часто была выявлена мРНК *CD16A* (100%
92 наблюдений в каждой стадии), следующим по частоте встречаемости во всех
93 стадиях была мРНК *CD38* (88,5-100% случаев) и третьей, наиболее часто
94 детектируемой мРНК, оказалась мРНК *CD16B* (75,6–100% наблюдений). Реже
95 всего во всех стадиях заболевания встречалась мРНК *FOXP3* (42,2–63,3%
96 случаев)

97 Частота детекции мРНК *ICAM1* уменьшалась со II стадии
98 заболевания. У больных III стадией ПКР имело место снижение ($p<0,05$), по
99 сравнению с I стадией, экспрессии мРНК *CD16B* (в 1,3 раза). Кроме того,
100 статистически значимо уменьшалась выявляемость мРНК *CD38* и мРНК
101 *ICAM1*. У больных с IV стадией ПКР, напротив, возрастала ($p<0,05$) частота
102 детектирования мРНК *CD16B*, *CD38*, *FOXP3* (в 1,5 раза), причем мРНК
103 *CD16B*, *CD38* были обнаружены во всех образцах удаленных опухолей.

104 Проведен индивидуальный анализ экспрессии мРНК генов у лиц
105 с разной стадией заболевания. В подгруппе больных с III стадией ПКР в 3,5
106 раза повышалась ($p<0,05$) доля лиц с отсутствием экспрессии мРНК одного
107 тестированного гена. В 1,8 раза ($p<0,05$) чаще имело место отсутствие
108 детекции мРНК 2 генов, в 2,7 раза – мРНК 3 генов, в 2,8 раза – мРНК 5 и более
109 генов, особенно мРНК *FOXP3*. Среди пациентов с IV стадией значительно
110 реже (в 4,3 раза, $p<0,05$), чем в I стадии, встречались лица с отсутствием
111 детекции 2 мРНК тестированных генов, отсутствие экспрессии мРНК 5 и более
112 тестированных генов в этой подгруппе не наблюдалось.

113 Индивидуальный анализ детектирования мРНК генов у лиц с разной
114 стадией заболевания представлен в таблице 3.

115 К III стадии заболевания снижалось число лиц у которых отсутствовала
116 экспрессия мРНК 1-3 тестированных генов, одновременно. В этой группе
117 увеличивалась также доля больных с отсутствием экспрессии мРНК 5 генов и
118 более.

119 Оценка выявляемости мРНК генов у больных с разными размерами
120 первичного очага в ткани почки по системе TNM (таблица 4), показала
121 сходные закономерности – наиболее частое детектирование мРНК *CD16A*,
122 *CD16B*, *CD38*, независимо от классификации первичного очага по системе
123 TNM, причем мРНК *CD16A* детектировалась у всех пациентов.

124 При достижении опухолью размера pT2 имело место возрастание
125 ($p<0,05$) частоты детекции мРНК *CD38* и мРНК *FOXP3* (в 1,4 раза). У больных
126 с опухолями pT3 отмечено снижение выявляемости мРНК *CD16B*, *CD38* на
127 фоне повышения частоты детекции мРНК *FOXP3* (в 1,3 раза). У лиц, опухоли
128 которых были расценены как pT4, частота экспрессии мРНК *CD38* и мРНК
129 *FOXP3* возрастала в 1,6 раза.

130 Проанализирована частота выявляемости мРНК тестируемых генов у
131 больных с опухолями разной степени злокачественности (таблица 5).

132 По мере повышения степени злокачественности новообразования
133 наблюдалось снижение выявляемости мРНК *ICAM1* в 1,7 раза ($p < 0,05$). Кроме
134 того, обращало внимание статистически значимое снижение частоты детекции
135 мРНК *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* у больных с опухолями G3 по сравнению
136 с опухолями G1.

137 Проведен анализ частоты встречаемости мРНК тестируемых генов у
138 лиц с различным прогнозом заболевания. Чаще всего во всех подгруппах
139 выявлялась мРНК *CD16A*, *CD16B*, *CD38*. Обращало внимание, что в группе
140 лиц с неблагоприятным прогнозом возрастала ($p < 0,05$) частота встречаемости
141 мРНК *FoxP3* (в 1,8 раза), по сравнению с подгруппой с благоприятным
142 прогнозом (таблица 6), но в 1,3 раза снижалась частота детекции мРНК
143 *ICAM1*.

144 Выполнена оценка исходной частоты детекции мРНК тестируемых
145 генов у больных с наличием или отсутствием прогрессии заболевания в
146 течение 3 лет после выполнения оперативного вмешательства (таблица 7).

147 Следует отметить, что у лиц, не имевших прогрессии заболевания в
148 течение периода наблюдения, мРНК большинства тестируемых генов были
149 детектированы значительно чаще, чем в группе, имевшей прогрессию
150 опухоли. Для мРНК *CD16B* это различие составило 1,2 раза, для мРНК *ICAM1* –
151 1,4, для мРНК *FoxP3* – 2,1.

152 Нами также были определены и проанализированы уровни мРНК
153 тестируемых генов в опухолевой ткани. Результаты исследования мРНК
154 *CD16A* и *CD16B* представлены нами ранее [1], остальные данные будут
155 изложены в последующих публикациях.

156 Обсуждение. Проведенные исследования показали, что в опухолевых
157 очагах ПКР чаще всего детектировались мРНК *CD16A*, *CD16B* и *CD38*.
158 Выявляемость перечисленных мРНК оставалась наиболее высокой в каждой
159 подгруппе независимо от стадии заболевания, размера первичной опухоли,
160 степени злокачественности новообразования, прогноза, безпрогрессивного
161 течения или прогрессии ПКР.

162 Известно, что *CD16A* участвует в реализации антителозависимой
163 клеточной цитотоксичности, направленной на опухолевые и
164 вирусинфицированные клетки [6,11]. Молекула *CD16B* (FCGR3B) является
165 молекулярным маркером нейтрофилов, экспрессируется на низком уровне на
166 базофилах и выявляется на эозинофилах после индукции интерфероном γ .
167 Роль молекул *CD16B* в воспалительной реакции остается малоизученной,
168 однако нетоз нейтрофилов может быть индуцирован через *CD16B* и Mac-1 [8].
169 Нейтрофилы, циркулирующие в периферической крови и
170 опухолеассоциированные нейтрофилы с высоким уровнем экспрессии *CD16B*
171 способны оказывать проопухолевое действие путем супрессии Т-клеточной
172 пролиферации через механизм, связанный с остановкой клеточного цикла, но
173 не индукцией апоптоза [7].

174 *CD38* – трансмембранный гликопротеин, который участвует в передаче
175 сигналов пролиферации и дифференцировки Т- и В-лимфоцитов, регуляции

176 иммунного ответа, процессах адгезии и клеточного метаболизма. Можно
177 предположить, что увеличение уровня мРНК *CD38* направлено, как и
178 возрастание количества мРНК *CD16A*, на оптимизацию иммунного ответа
179 больных ПКР в условиях опухолевого роста. Активация гена *CD38* ранее
180 выявлена в экспериментах с клетками рака толстого кишечника (линии
181 HR8348 и НСТ116) [2].

182 Реже всего удавалось выявить в образцах опухоли ПКР мРНК *FOXP3*.
183 *FOXP3* является главным регулирующим геном для развития и
184 функционирования Т-регуляторных клеток (Treg), а также наиболее точным
185 маркером для их идентификации. У больных светлоклеточным ПКР белок
186 *FOXP3* участвует в формировании иммуносупрессивного опухолевого
187 микроокружения (ТМЕ), а, возможно, и в прогрессировании опухоли
188 посредством прямого воздействия на пролиферацию и миграцию
189 злокачественных клеток [4]. Повышение уровня *FOXP3* является фактором
190 негативного прогноза заболевания. Однако по данным *N.H.Chakiryan et al*
191 (2022) *мутантные фенотипы опухолей почек* могут способствовать
192 значительному снижению уровней *FOXP3*⁺ Т-клеток в ядре опухоли, строме и
193 интерфейсе опухоль-строма [3]

194 При анализе выявляемости мРНК тестируемых генов в зависимости от
195 стадии заболевания обращало внимание снижение детекции большинства
196 мРНК у лиц с III стадией ПКР. При индивидуальном анализе оказалось, что у
197 больных этой группы имеют место более частое отсутствие детекции генов,
198 чем в начальных стадиях ПКР или при метастатическом процессе. Сходные
199 изменения детекции мРНК генов имели место у больных с опухолями рТЗ, а
200 также у лиц с опухолями G3. Однако в прогностически неблагоприятных
201 случаях наблюдалось возрастание в опухолевой ткани частоты детекции
202 мРНК *FoxP3*. Снижение выявляемости мРНК свидетельствовало о том, что в
203 опухоли и ее микроокружении уменьшалось число клеток, для которого было
204 характерно наличие определенных мРНК. Возможной причиной могло
205 являться изменение лимфоидной инфильтрации опухоли, в том числе
206 изменение соотношения отдельных популяций лимфоцитов в ТМЕ. По
207 данным *Y. Yue et al (2022)*, *существуют определенные различия лимфоидной*
208 *инфильтрации первичной опухоли и метастазов ПКР [12]. Возможно,*
209 *изменения лимфоидной инфильтрации играют определенную роль в*
210 *патогенезе ПКР. Подтверждением этого предположения являются различия*
211 *в детекции мРНК у больных с наличием прогрессии заболевания в течение*
212 *трех лет после операции и лиц, не имевших дальнейшего развития*
213 *опухолевого процесса. В группе с прогрессией ПКР чаще наблюдалась потеря*
214 *детекции мРНК большинства тестируемых генов, что свидетельствовало о*
215 *более значительном нарушении регуляции иммунного ответа, приводящем к*
216 *дальнейшему опухолевому росту.*

217 Частота детекции мРНК *ISAM1* занимала промежуточное положение.
218 *ISAM-1* – мембранный гликопротеин, который экспрессируется клетками
219 иммунной системы – Т-лимфоцитами и моноцитами, а также рядом других

220 клеток (фибробластами, кератиноцитами, эндотелиальными и
221 эпителиальными клетками) и вовлечён в клеточные адгезивные контакты, а
222 также в процессы адгезии между клеткой и межклеточным матриксом,
223 клеточной сигнализации и иммунном ответе. Взаимодействие между ICAM-1
224 и его лигандом адгезии опухолевых клеток к сосудистому эндотелию и их
225 последующему метастазированию [9]. Повышенная экспрессия ICAM-1
226 может отражать активацию противоопухолевого иммунитета и делает
227 опухолевые клетки более чувствительными к лимфоцитарно-
228 опосредованному лизису. Вероятно, снижение выявляемости мРНК *ICAM1*
229 при неблагоприятном прогнозе заболевания свидетельствует о глубоком
230 нарушении иммунного ответа у пациентов в этой подгруппе.

231 Таким образом, выявлена сигнатура трех генов (*CD16A*, *CD16B*, *CD38*),
232 мРНК которые с высокой частотой детектируются в разных подгруппах
233 больных светлоклеточным раком почки. Кроме того, у больных ПКР имеет
234 место низкая экспрессия мРНК *FoxP3*, однако в группе с опухолями высокой
235 степени злокачественности частота детекции мРНК *FoxP3* возрастает.

ТАБЛИЦЫ

Таблица 1. Олигонуклеотиды, использованные для определения уровней мРНК исследуемых генов

Table 1. Oligonucleotides used to determine mRNA levels of the genes studied

Структура олигонуклеотидов Structure of oligonucleotides		
Ген Gene	Олигонуклеотид Oligonucleotide	Первичная структура (5'–3') Primary structure
<i>CD16A</i>	FAB	GCTCTGCTACTTCTAGTTTCA
	RA	CACTGTCCTTCTCGAGCACC
	FAB Z	ROX- CTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTA- BHQ-2
<i>CD16B</i>	FAB	GCTCTGCTACTTCTAGTTTCA
	RB	CACTGTCCTTCTCAAGCACG
	FAB Z	ROX- CTGTGGTGTTCCTGGAGCCTCAATGGTA- BHQ-2
<i>ICAM-1</i>	ICAM F	GAGCTTCGTGTCCTGTATGG
	ICAM R	CTCATACCGGGGGGAGAGCA
	ICAM Z	ROX- CCCATTGCCCGAGCTCAAGTGTCTAAAGGA- BHQ-2
<i>CD38</i>	CD38 FZ	ATGAGACATGTAGACTGCCA
	CD38 RZ	CCAAAGAAGAATCTTGTTGC
	CD38 Z	ROX- AAACATCCTTGCAACATTACTGAAGAAGAC- BHQ-2
<i>Foxp3</i>	FOXP3 F	GAGAAGCTGAGTGCCATGCA
	FOXP3 R	GGAGCCCTTGTCGGATGAT
	FOXP3 Z	FAM-TGCCATTTTCCCAGCCAGGTGG-BHQ-1
UBC	UBC F	GCACAGCTAGTTCCGTCGCA
	UBC R	TGCATTGTCAAGTGACGAT
	UBC Z	CY5- ATTTGGGTTCGCAGTTCTTGTTTGTGGAT- BHQ-2

Таблица 2. Частота обнаружения мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *TNF*, *CD38*, *FOXP3* в ткани опухолей больных с разными стадиями заболевания

Table 2. Frequency of detection of mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* in tumor tissue of patients with different stages of the disease.

мРНК mRNA	Стадии светлоклеточного рака почки Stages of clear cell renal cell carcinoma			
	I, n=185	II, n=107	III, n=78	IV, n= 30
<i>CD16A</i>	185 (100%)	107(100%)	78 (100%)	30 (100%)
<i>CD16B</i>	178 (96,2%)	87 (81,3%)*, p<0,0001	59 (75,6%)*, p<0,0001	30 (100%)*, p=0,048
<i>ICAM1</i>	160 (86,4%)	87 (81,3%)	59 (75,6%)*, p=0,039	23 (76,7%)
<i>CD38</i>	178 (96,2%)	95 (88,7%)	69 (88,5%)*, p=0,026	30 (100%)*, p=0,048
<i>FOXP3</i>	78 (42,2%)	55 (51,4%)	39 (50,0%)	19 (63,3 %)*, p=0,03

Примечания: *– различия статистически значимы по сравнению с I стадией (p<0,05)

Notes: *– differences are statistically significant compared to stage I (p<0.05)

Таблица 3. Отсутствие детекции мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* в ткани опухолей больных с разными стадиями заболевания

Table 3. Absence of detection of mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* in tumor tissue of patients with different stages of the disease

мРНК mRNA	Стадии светлоклеточного рака почки Stages of clear cell renal cell carcinoma			
	I, n=185	II, n=107	III, n=78	IV, n= 30
Отсутствие детекции мРНК 1 гена No detection of mRNA of 1 gene	50 (27,0%)	24 (22,4%)	6 (7,7%)*, p<0,0001	12 (40,0%)
Отсутствие детекции мРНК 2 генов No detection of mRNA of 2 genes	26 (14,1%)	16 (15,0%)	2 (2,6%)*, p=0,001	1 (3,3%)*, p=0,043
Отсутствие детекции мРНК 3 генов No detection of mRNA of 3 genes	38 (20,5%)	12 (11,2%)*, p=0,035	6 (7,7%)*, p=0,005	8 (26,7%)
Отсутствие детекции мРНК 5 генов и более No detection of mRNA of 5 genes and more	33 (17,9%)	20 (18,7%)	39 (50,0%)*, p<0,0001	0 (0%)*, p<0,0001
Все мРНК детектированы All mRNAs were detected	38 (20,5%)	35 (32,7%)*, p=0,023	25 (32,0%)	9 (30,0%)

Примечания: *– различия статистически значимы по сравнению с I стадией (p<0,05)

Notes: *– differences are statistically significant compared to stage I (p<0.05)

Таблица 4. Частота обнаружения мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* в ткани опухолей больных с разным размером новообразования по системе TNM

Table 4. Frequency of detection of mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* in tumor tissue of patients with different tumor sizes according to the TNM system

мРНК mRNA	Размер опухоли почки по системе TNM Kidney tumor size according to the TNM system			
	pT1, n=185	pT2, n=201	pT3, n=98	pT4, n= 6
<i>CD16A</i>	185 (100%)	201 (100%)	98 (100%)	6 (100%)
<i>CD16B</i>	178 (96,2%)	161 (80,0%)*, p<0,0001	86 (88%)*, p=0,01	6 (100%)
<i>ICAM1</i>	160 (86,4%)	161 (80,0%)	76 (78%)	4 (67%)
<i>CD38</i>	178 (96,2%)	201 (100%)*, p<0,0001	88 (90%)*, p=0,039	6 (100%)
<i>FOXP3</i>	78 (42,2%)	121 (60,2%)*, p<0,0001	55 (56%)*, p=0,026	4 (67%)*

Примечания: *– различия статистически значимы по сравнению с pT1 (p<0,05)

Notes: *– the differences are statistically significant compared to pT1 (p<0.05)

Таблица 5. Частота обнаружения мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* в ткани опухолей разной степени злокачественности

Table 5. Frequency of detection of mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* in tumor tissue of varying degrees of malignancy

мРНК mRNA	Степень злокачественности опухоли Degree of tumor malignancy		
	G1, n=45	G2, n=229	G3, n=109
<i>CD16A</i>	45 (100%)	229 (100%)	109 (100%)
<i>CD16B</i>	45 (100%)	219 (96%)*, p=0,01	76 (70%)*, p<0,0001
<i>ICAM1</i>	45 (100%)	200 (87%)*, p<0,0001	75 (69%)*, p<0,0001
<i>CD38</i>	45 (100%)	213 (93%)*, p=0,001	95 (87%)*, p<0,0001
<i>FoxP3</i>	33 (73%)	132 (58%)*, p=0,043	43 (39%)*, p<0,0001

Примечания: *– различия статистически значимы по сравнению с I степенью злокачественности (p<0,05)

Notes: *– differences are statistically significant compared to grade I malignancy (p<0.05)

Таблица 6. Частота обнаружения мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3*, в ткани опухолей больных с разным прогнозом заболевания

Table 6. Frequency of detection of mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* in tumor tissue of patients with different disease prognosis

мРНК mRNA	Прогноз заболевания Disease prognosis		
	Благоприятный, Favorable, n=200	Промежуточный, Intermediate, n=190	Неблагоприятный, Adverse, n=10
<i>CD16A</i>	200 (100%)	190 (100%)	10 (100%)
<i>CD16B</i>	189 (95%)	168 (88%)*, p=0,03	10 (100%)
<i>ICAM1</i>	177 (89%)	149 (78%)*, p=0,007	6 (70%)*, p=0,038
<i>CD38</i>	191 (96%)	171 (90%)*, p=0,034	10 (100%)
<i>FoxP3</i>	114 (57%)	104 (55%)	10 (100%)*, p<0,0001

Примечания: *– различия статистически значимы по сравнению с подгруппой с благоприятным прогнозом (p<0,05)

Notes: *– differences are statistically significant compared to the subgroup with a favorable prognosis (p<0.05)

Таблица 7. Частота обнаружения мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* в ткани опухолей у больных с разным исходом заболевания

Table 7. Frequency of detection of mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FoxP3* in tumor tissue in patients with different disease outcomes

мРНК mRNA	Прогрессия, Progression, n=87	Не было прогрессии, There was no progression, n=317
<i>CD16A</i>	87 (100%)	317 (100%)
<i>CD16B</i>	68 (78,2%)	301 (95%)*, p<0,0001
<i>ICAM1</i>	57 (65,5%)	282 (89%)*, p<0,0001
<i>CD38</i>	79 (90,8%)	298 (94%)
<i>FoxP3</i>	26 (29,9%)	195 (61,5%)*, p<0,0001

Примечания: *– различия статистически значимы при сравнении групп между собой (p<0,05)

Notes: *– differences are statistically significant when comparing groups with each other (p<0.05)

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Амoeв Зураб Владимирович – кандидат медицинских наук, врач-онколог 2 урологического отделения;

адрес: Москва, ул. Большая Пироговская,6, кафедра онкологии, радиотерапии и пластической хирургии;

телефон: 89202524248;

e-mail: alyasovaav68@mail.ru

Amoev Zurab Vladimirovich - candidate of medical sciences, oncologist of the 2nd urological department;

telephone: 89202524248;

e-mail: alyasovaav68@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Алясова Анна Валерьевна, доктор медицинских наук, профессор, доцент кафедры онкологии, радиотерапии и пластической хирургии;

Alyasova Anna Valerievna, Doctor of Medical Sciences, Professor, Associate Professor of the Department of Oncology, Radiotherapy and Plastic Surgery;

Новиков Дмитрий Викторович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник;

Novikov Dmitry Viktorovich, candidate of biological sciences, Leading Researcher;

Школа О.О., инженер кафедры молекулярной биологии и иммунологии;

Shkola O.O., engineer of the Department of Molecular Biology and Immunology;

Селиванова С.Г., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник;

Selivanova S.G., Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher;

Калугин А.В., ассистент кафедры молекулярной биологии и иммунологии;

Kalugin A.V., assistant of the Department of Molecular Biology and Immunology;

Новиков Виктор Владимирович, доктор биологических наук, профессор кафедры молекулярной биологии и иммунологии³; ведущий научный сотрудник; зав. лабораторией иммунохимии;

Novikov Viktor Vladimirovich, Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Molecular Biology and Immunology³; Leading Researcher; Head of the Laboratory of Immunochemistry.

ЭКСПРЕССИЯ МРНК В ОПУХОЛИ ПОЧКИ
MRNA EXPRESSION IN RENAL TUMOR

Блок 3. Метаданные статьи

ЭКСПРЕССИЯ МРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* В
ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ БОЛЬНЫХ СВЕТЛОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ
ПОЧКИ

EXPRESSION OF MRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3* IN TUMOR
TISSUE OF PATIENTS WITH CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ЭКСПРЕССИЯ МРНК В ОПУХОЛИ ПОЧКИ

MRNA EXPRESSION IN RENAL TUMOR

Ключевые слова: мРНК *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3*,
светлоклеточный рак почки.

Keywords: mRNA *CD16A*, *CD16B*, *ICAM1*, *CD38*, *FOXP3*, clear cell renal cell
carcinoma.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 6,

Количество таблиц – 7,

Количество рисунков – 0.

02.09.2025

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядко в-ый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи или ее doi.
1	Алясова А.В., Амоев З.В., Школа О.О., Новиков Д.В., Селиванова С.Г., Новиков В.В. Матричные РНК генов <i>FCGR3A</i> и <i>FCGR3B</i> как мониторинговые маркеры течения светлоклеточного рака почки (пилотное исследование)// СТМ. – 2022. – Т. 14, N3. – С. 22–27.	Alyasova A.V., Amoev Z.V., Shkola O.O., Novikov D.V., Selivanova S.G., Novikov V.V. Messenger RNA of FCGR3A and FCGR3B genes as monitoring markers of clear cell renal adenocarcinoma (a pilot study). <i>STM</i> , 2022, Vol.14, no.3, pp. 22–27	https://www.stm-journal.ru/ru/numbers/2022/3/1782/pdf [https://doi.org/10.17691/stm2022.14.3.03]
2	Шумилова С.В., Перенков А.Д., Сахарнов Н.А., Новиков Д.В., Ексина К.И., Филатова Е.Н., Барышников А.Ю., Новиков В.В. Особенности экспрессии генов дифференцировочных молекул в клеточных линиях, полученных от больных раком толстого кишечника// Вестник Нижегородского университета имени Н.И. Лобачевского. –2012. –Т.3, N2. – С. 241–245	Shumilova S.V., Perenkov A.D., Sakharnov N.A., Novikov D.V., Eksina K.I., Filatova E.N., Baryshnikov A.Yu., Novikov V.V. Features of the expression of genes of differentiation molecules in cell lines obtained from patients with colon cancer. <i>Bulletin of the Nizhny Novgorod University named after N.I. Lobachevsky</i> , 2012, Vol.3, no.2, pp. 241–245	file:///C:/Users/ANNA/Downloads/osobennosti-ekspressii-genov-differentsirovochnyh-molekul-v-kletochnyh-liniyah-poluchennyh-ot-bolnyh-rakom-tolstogo-kishechnika-1.pdf

3	–	<p>Chakiryan N.H., Hajiran A., Kim Y., Aydin A.M., Zemp L., Katende E., Nguyen J., Fan W., Cheng C.H., Lopez-Blanco N., Chahoud J., Spiess P. E., Fournier M., Dhillon J., Wang L., Moran-Segura C., Mulé J., Du D., Yoder S. J., Berglund A., Teer J. K., Manley B. J. <i>Correlating Immune Cell Infiltration Patterns with Recurrent Somatic Mutations in Advanced Clear Cell Renal Cell Carcinoma. Eur. Urol. Focus, 2022, Vol.8, no.3, pp. 2784–2793.</i></p>	<p>https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33994165/ [https://doi.org/10.1016/j.euf.2021.04.014]</p>
4	–	<p>Chen J., Zhu C., He Y., Huang L., Wang W., Huang S. FOXP3 as a prognostic marker and therapeutic target in immunogenic cell death modulation for clear cell renal cell carcinoma. <i>Discov Oncol. 2025, Vol.16, p.102.</i></p>	<p>https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11782763/ [https://doi.org/10.1007/s12672-025-01831-w]</p>
5	–	<p>Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate–phenol–chloroform extraction: twenty-something years on. <i>Nat Protoc. 2006, Vol.1, no.2, pp. 581–585</i></p>	<p>https://www.nature.com/articles/nprot.2006.83 [https://doi.org/10.1038/nprot.2006.83]</p>
6	–	<p>Golay J., Valgardsdottir R., Musaraj G., Giupponi D., Spinelli O., Introna M. Human neutrophils express low levels of FcγRIIIA, which plays a role in PMN activation. <i>Blood, 2019, Vol.133, no.13, pp. 1395–405.</i></p>	<p>https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30655272/ [https://doi.org/10.1182/blood-2018-07-864538]</p>

7	–	Lecot P., Sarabi M., Abrantes M.P., Mussard J. , Koenderman L. , Caux C. , Bendriiss-Vermare N. , Michallet – M.-C. Neutrophil heterogeneity in cancer: from biology to therapies. <i>Front Immuno.</i> , 2019, Vol 10, p.2155.	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6764113/ [https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02155]
8	–	Millrud C.R., Kagedal A., Georén S. K., Winqvist O. , Uddman R. , Razavi R. , Munck-Wikland E. , Cardell L. O. NET-producing CD16high CD62Ldim neutrophils migrate to tumor sites and predict improved survival in patients with HNSCC. <i>Int. J. Cancer</i> , 2017, Vol.140, no.11, pp.2557–2567.	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28247912/ [https://doi.org/10.1002/ijc.30671]
9		Qiu Z., Wang Y., Zhang Z., Qin R., Peng Y., Tang W., Xi Y., Tian G., Zhang Y. Roles of intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) in colorectal cancer: expression, functions, prognosis, tumorigenesis, polymorphisms and therapeutic implications. <i>Front. Oncol.</i> , 2022, Vol.12, p.1052672.	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9728583/ [https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1052672]
10	–	Siegel R.L., Miller K.D., Jemal A. Cancer statistics, 2018. <i>CA Cancer J. Clin</i> , 2018, Vol.68, no.1, pp. 7–30	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29313949/ [https://doi.org/10.3322/caac.21442]
11	–	Wu J., Mishra H.K., Walcheck B. Role of ADAM17 as a regulatory checkpoint of CD16A in NK cells and as a potential target	https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6792391/

		for cancer immunotherapy. <i>J. Leukoc. Biol.</i> , 2019, Vol.105, no.6, pp. 1297–1303.	[https://doi.org/10.1002/JLB.2MR1218-501R]
12	–	Yue Y, Cai X, Lu C, Sechi L A, Solla P, Li S. Unraveling the prognostic significance and molecular characteristics of tumor-infiltrating B lymphocytes in clear cell renal cell carcinoma through a comprehensive bioinformatics analysis. <i>Front Immunol.</i> , 2023, Vol.14, p.1238312.	https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2023.1238312/full [https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1238312]