

СОПОСТАВЛЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ Т-КЛЕТОЧНОГО ЗВЕНА ИММУНИТЕТА И СОДЕРЖАНИЯ АНТИГЕНА ПЛОСКОКЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ПАЦИЕНТОК С МЕСТНОРАСПРОСТРАНЕННЫМИ ФОРМАМИ РАКА ШЕЙКИ МАТКИ

Батурина И.Л., Орнер И.Ю., Абрамовских О.С.,
Телешева Л.Ф., Жаров А.В., Никушкина К.В.

ГОУ ВПО «Челябинская государственная медицинская академия» Росздрава, НИИ иммунологии, лаборатория иммунодефицитных состояний, г. Челябинск

Резюме. Оценка уровня экспрессии антигена плоскоклеточной карциномы у больных с местнораспространенными формами рака шейки матки в настоящее время имеет большое значение для определения распространенности опухолевого процесса, динамики течения и мониторинга проведенной терапии. Угнетение противоопухолевого иммунитета в совокупности с исходно повышенным уровнем SCC наблюдалось у всех пациенток до лечения. Результаты корреляционного анализа позволили прийти к выводу, что повышенный уровень экспрессии SCC связан с низким уровнем факторов противоопухолевого иммунитета только у больных с отрицательной динамикой течения процесса через 1 год после проведенной терапии. Тогда как у пациенток с положительным терапевтическим эффектом через 1 год после лечения наблюдалось повышение факторов противоопухолевой защиты при достоверно сниженном уровне SCC по сравнению с таковым до лечения.

Ключевые слова: SCC, Т-клеточный иммунитет, рак шейки матки.

Baturina I.L., Orner I.Yu., Abramovskikh O.S., Telesheva L.F., Zharov A.V., Nikushkina K.V.

RELATIONSHIP BETWEEN T CELL IMMUNITY PARAMETERS AND SMOOTH-CELL CARCINOMA ANTIGEN (SCCA) CONTENTS IN BLOOD SERUM FROM THE PATIENTS WITH LOCAL DISSEMINATED FORMS OF UTERINE CERVIX CANCER

Abstract. Uterine cervical cancer is among the main items of modern oncology. Determination of SCCA levels in blood serum of women with locally disseminated forms of uterine cervical cancer has a great significance for estimation the extent of lesions, tumor progression patterns, as well as treatment monitoring. During our study, we have determined that, before starting a specific treatment, all the patients with locally disseminated forms of cervical cancer had high serum levels of SCCA, along with suppressed anti-tumor immunity. Interestingly, high SCCA levels in blood serum proved to correlate with a decrease in anti-tumor immunity factors in those patients who showed a negative dynamics of tumor progression within one year after the therapy was performed. Meanwhile, the patients with positive post-treatment dynamics exhibited a significant decrease of SCCA levels over a year after therapy, as compared with appropriate pre-treatment values, accompanied by increase in anti-tumor immunity markers in these cases. (*Med. Immunol.*, vol. 12, N 4-5, pp 387-392)

Адрес для переписки:

Батурина И.Л.

Челябинск, ул. Художника Русакова, 7б, кв. 71.

Тел.: (351) 727-63-36.

E-mail: shulyakov242@mail.ru

Keywords: SCC, Tcell immunity, cervical cancer.

Введение

Рак шейки матки (РШМ) занимает второе место в мире среди всех злокачественных новообразований женских половых органов и третье — в онкологической заболеваемости у женщин (после рака молочной железы и рака толстой кишки) [1, 2].

В последние годы в литературе появились данные, посвященные биологическим свойствам опухольассоциированного маркера SCCA (squamous cell carcinoma antigen), его использованию в оценке степени распространенности опухоли и эффективности проводимой терапии РШМ [1, 4, 14, 15, 18, 19].

SCCA является стадиоспецифичным маркером, его уровень зависит от объема опухолевых масс [7, 13]. При карциноме «in situ» процент позитивных случаев SCCA диагностируется в 2,5-5,3 % наблюдений, тогда как при II стадии и III стадии РШМ — в 70-89% наблюдений [4]. После окончания курса лучевой терапии у 98% больных с полной ремиссией отмечено снижение уровня SCCA [10, 13]. Более медленные темпы снижения SCCA в процессе проведения лучевой или химиолучевой терапии могут быть связаны с постепенной репродуктивной гибелью опухолевых клеток-продуцентов SCCA [1].

Доказано участие SCCA в процессах клеточной адгезии. Усиление экспрессии данного антигена, обеспечивает мобильность опухолевых клеток посредством ослабления контактов между клетками эндотелия и их контакта с внеклеточным матриксом, что позволяет отнести SCCA к семейству молекул клеточной адгезии [9, 11, 12]. В этом случае, повышение содержания SCCA в сыворотке крови у онкологических больных может быть одним из факторов, способствующих метастазированию. SCCA относится к семейству серпинов - ингибиторам сериновых протеиназ, которые принимают участие в регуляции и осуществлении апоптоза [6, 11, 15, 18, 19, 21]. Ряд авторов предполагает, что в здоровом организме SCCA вовлечен в регуляцию ороговения нормального многослойного плоского эпителия, а в пораженных клетках является активатором опухоли [1, 9, 12, 18, 20]. Повышение продукции этого белка связывают с изменением иммунологической реактивности организма.

Цель работы — сопоставить показатели Т-клеточного звена иммунитета и уровень антигена плоскоклеточной карциномы в сыворотке крови у пациенток с местнораспространенными формами рака шейки матки (МРШМ).

Материалы и методы

В НИИ иммунологии Челябинской государственной медицинской академии и Челябинском окружном клиническом онкологическом диспансере (ЧОКОД) г. Челябинска за период 2007-2008 г. проведено комплексное обследование 80 женщин с местнораспространенными формами РШМ — IIa, IIb, IIIa, IIIb стадии (T2N0M0, T2N1M0, T3N0M0, T3N1M0, T4N1M0) в возрасте от 18 до 55 лет. Диагноз МРШМ, был выставлен врачами-онкогинекологами ЧОКОД. Всем пациенткам было проведено химио-лучевое лечение. Дистанционная гамма-терапия проводилась на аппаратах «Луч» или «Рокус-АМ», внутрисполостная гамма-терапия — на аппарате «АГАТ-ВУ». Для химиотерапии использовались следующие препараты: цисплатин, 5-фторурацил, ломустин. Контрольную группу составили 20 условно-здоровых женщин в возрасте от 18 до 45 лет. Для оценки уровня содержания SCCA в сыворотке крови использовали тест — систему Can.Ag.[®] EIA-Fudjirebio Diagnostics inc., Sweden. Определение порогового значения оптической плотности производили методом ИФА на анализаторе «Adaltis Italia», WBProc., Personal LAB, Италия. Норма SCCA (N = 0,5-1,5 мкг/л). Исследование общего иммунитета включало: определение в периферической крови абсолютного числа лейкоцитов, абсолютного и относительного числа нейтрофилов, моноцитов и лимфоцитов. Субпопуляции лимфоцитов определяли по методике иммунофенотипирования лимфоцитов в модификации Сибириака С. В. и соавт. (1997) с использованием моноклональных антител серии ИКО (НПЦ «МедБиоСпектр», Москва): анти-CD3, анти-CD4, анти-CD8, анти-CD10, анти-CD11b, анти-CD16, анти-CD20, анти-CD25, анти-CD34, анти-CD56, анти-CD95, анти-CD HLA-DR.

Все вышеперечисленные исследования проводились пациенткам с МРШМ до лечения и через 12 месяцев после проведенной терапии. Динамика течения заболевания после лечения оценивалась клиническими, гистологическими и инструментальными методами исследования. Анализ состояния иммунной системы проводился дифференцированно в двух группах больных, ретроспективно в зависимости от динамики течения данного заболевания: группу А составили 40 пациенток с МРШМ и положительной динамикой течения процесса, в которую вошли подгруппа А1 — до лечения и подгруппа А2 — через 12 месяцев после лечения. Группу В — 40 больных с МРШМ, отрицательной динамикой течения опухолевого процесса, которую составили подгруппы — В1 и В2, соответственно.

Полученные результаты исследований были подвергнуты статистической обработке с использованием пакета прикладных программ «Statistica for windows 6.0» с вычислением средней арифметической и ее стандартной ошибки ($M \pm m$). О достоверности различий показателей сравниваемых групп судили по критерию Стьюдента (t). Различия считали значимыми только при $p < 0,05$. Взаимосвязи изучались с помощью корреляционного анализа с расчетом коэффициента корреляции Спирмана (r).

Результаты и обсуждение

При обследовании пациенток было установлено, что исходно повышенный уровень SCCA наблюдался в подгруппах А1 и В1 по сравнению с группой контроля, причем достоверных различий уровней SCCA между данными подгруппами установлено не было (табл. 1). Достоверное снижение данного показателя отмечалось через 12 месяцев после лечения в подгруппе пациенток с МРШМ, положительной динамикой течения по сравнению с таковым как до лечения, так и с уровнем SCCA в подгруппе пациентов с отрицательной динамикой течения через 12 месяцев после лечения. У больных МРШМ с отрицательным терапевтическим эффектом через 12 месяцев после лечения уровень SCCA не претерпел существенных изменений и был близок к значению данного показателя до лечения (подгруппа В1).

При иммунологическом обследовании установлено, что у всех пациенток с МРШМ до лечения по сравнению с контрольной группой наблюдались следующие изменения иммунологических параметров: повышение общего количества лейкоцитов сыворотки крови, снижение абсолютного количества $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD95^+$ позитивных клеток ($p \leq 0,05$). И только в подгруппе больных МРШМ с отрицательной динамикой течения процесса (В1) отмечалось достоверное повышение абсолютного количества $CD10^+$ ($p = 0,0001$), $CD11b^+$ лимфоцитов ($p = 0,038$) по сравнению с аналогичными показателями как группы условно-здоровых, так и подгруппы пациентов с положительной динамикой течения РШМ (подгруппа А1).

При исследовании иммунологических показателей в динамике у пациентов МРШМ с положительным терапевтическим эффектом (группа А), установлено достоверное снижение общего количества лейкоцитов ($p = 0,005$) при одновременном повышении относительного ($p = 0,0002$) и абсолютного ($p = 0,009$) количества лимфоцитов. При оценке субпопуляционного состава лимфоцитов в подгруппе А2 нами выявлено достоверное повышение абсолютного количества практически всех кластеров дифференцировки $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD25^+$, $CD56^+$, $CD95^+$, $CD\ HLA-DR$, $CD4^+/CD8^+$ ($p < 0,05$) и тенденция к снижению абсолютного количества $CD11b$ -позитивных клеток по сравнению с подгруппой пациентов до лечения (А1).

ТАБЛИЦА 1. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ОНКОМАРКЕРА SCCA В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЖЕНЩИН С МРШМ ($M \pm m$)

Показатели	Группы				
	Условно здоровые	Женщины с МРФ РШМ			
		Положительная динамика А		Отрицательная динамика В	
		до лечения	12 месяцев после лечения	до лечения	12 месяцев после лечения
$K (n = 20)$	$A1 (n = 28)$	$A2 (n = 20)$	$B1 (n = 20)$	$B2 (n = 12)$	
SCC (мкг/л)	$0,52 \pm 0,04$	$2,03 \pm 0,23$ $p_{K-A1} = 0,00004$ $p_{A1-A2} = 0,002$	$0,96 \pm 0,02$ $p_{A2-B2} = 0,04$	$2,25 \pm 0,57$ $p_{K-B1} = 0,0005$	$2,04 \pm 3,01$

Примечание. p – достоверность различий сравниваемых групп.

p_{K-A1} – достоверность различий показателей группы больных МРШМ до лечения с положительной динамикой (подгр. А1) с таковыми контрольной группы (К);

p_{K-B1} – достоверность различий показателей группы больных МРШМ до лечения с отрицательной динамикой (подгр. В1) с таковыми контрольной группы (К);

p_{A1-A2} – достоверность различий показателей между группами больных МРШМ с положительной динамикой до лечения (подгр. А1) и через 12 месяцев после лечения (подгр. А2);

p_{A2-B2} – достоверность различий показателей между группами больных МРШМ с положительной динамикой (подгр. А2) и отрицательной динамикой (подгр. В2) через 12 месяцев после лечения.

При динамическом наблюдении пациенток МРШМ с отрицательной динамикой течения процесса, в подгруппе В2 отмечалось достоверное повышение палочкоядерных нейтрофилов ($p = 0,05$), снижение относительного ($p = 0,0004$) и абсолютного ($p = 0,02$) количества лимфоцитов и абсолютного количества клеток, готовых к апоптозу ($CD95^+$) ($p = 0,001$), а также тенденция к снижению абсолютного количества $CD8^+$, $CD16^+$, $CD56^+$, $CD\ HLA-DR$ лимфоцитов по сравнению с подгруппой пациентов до лечения (В1).

Выраженные различия иммунного статуса наблюдались нами при сравнении показателей через 12 месяцев после лечения у пациенток МРШМ в зависимости от динамики течения процесса. В подгруппе больных МРШМ с положительным терапевтическим эффектом (А2) нами выявлено достоверное повышение количества эозинофилов ($p = 0,04$), относительного ($p = 0,04$) и абсолютного ($p = 0,04$) количества лимфоцитов, абсолютного количества $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD16^+$, $CD20^+$, $CD25^+$, $CD95^+$, $CD\ HLA-DR$ ($p < 0,05$), повышение соотношения $CD4^+/CD8^+$ ($p = 0,001$) при тенденции к снижению относительного количества $CD10^+$, $CD11v^+$ лимфоцитов по сравнению с группой пациентов с отрицательной динамикой течения заболевания (подгруппа В2).

С целью изучения взаимосвязей уровня SCCA с показателями Т-клеточного звена иммунитета был проведен непараметрический корреляционный анализ по Spearman. При оценке взаимосвязей у пациенток с МРШМ до лечения было установлено, что корреляционные взаимосвязи регистрировались только в группе больных с положительным терапевтическим эффектом (4 связи), где уровень SCCA коррелировал с общим количеством лейкоцитов крови ($r = 0,37$), относительным ($r = 0,47$) и абсолютным количеством нейтрофилов ($r = 0,40$) и абсолютным количеством лимфоцитов ($r = 0,35$). Тогда как, в группе пациенток МРШМ с отрицательной динамикой течения процесса корреляционных взаимосвязей выявлено не было. Иная картина наблюдалась нами при оценке взаимосвязей у пациенток с МРШМ через 12 месяцев после лечения. Так в группе больных с положительным терапевтическим эффектом корреляционных взаимосвязей обнаружено не было, тогда как в группе с отрицательной динамикой течения процесса, отмечалось появление отрицательных корреляционных связей (6 связей) SCCA с относительным количеством лимфоцитов ($r = -0,82$), $CD3^+$ ($r = -0,77$), $CD4^+$ ($r = -0,85$), $CD8^+$ ($r = -0,76$), $CD95^+$ ($r = -0,79$) и положительная корреляцион-

ная взаимосвязь с относительным количеством нейтрофилов ($r = 0,70$).

Таким образом, у всех пациенток с МРШМ до лечения, уровень SCCA в сыворотке крови был одинаково повышенным, а иммунологические показатели свидетельствовали о достоверном угнетении Т-клеточного звена иммунитета и, в частности, факторов противоопухолевого иммунитета – Т-хелперов($CD4^+$), цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD8^+$), натуральных киллеров (NK-клеток) [8, 16, 17, 22]. Полученные результаты согласуются с данными литературы о том, что возникновение неопластического процесса более вероятно на фоне подавления иммунной реактивности организма и, как следствие, повышения уровня SCCA [3, 4, 5, 6, 7].

У женщин МРШМ с положительной динамикой течения процесса, через 12 месяцев после лечения (подгруппа А2), уровень SCCA в сыворотке крови снижался до нормального уровня, а в Т-клеточном звене иммунитета произошло повышение активности показателей противоопухолевой защиты и снижение $CD10^+$, $CD11v^+$ лимфоцитов, в отличие от аналогичных показателей у пациенток с отрицательной динамикой течения процесса. Отсутствие взаимосвязи SCCA с показателями Т-клеточного иммунитета у женщин подгруппы А2, по нашему мнению, может быть связано с нормализацией уровня SCCA в данной группе пациентов. В совокупности, нормализация уровня SCCA, повышение активности показателей Т – клеточного иммунитета, снижение $CD10^+$, $CD11v^+$ лимфоцитов является хорошим прогностическим фактором и может быть использовано для оценки эффективности проведенного лечения.

Достоверное повышение $CD10^+$, $CD11v^+$ количества лимфоцитов у пациенток МРШМ до лечения с отрицательной динамикой течения процесса является плохим прогностическим фактором течения данного заболевания. Известно, что повышение $CD10^+$ лимфоцитов отражает раковый потенциал трансформированных клеток, а повышение $CD11v^+$ лимфоцитов свидетельствует об увеличении опухолевых масс и повышенной угрозе метастазирования [3, 5, 6, 7].

При наблюдении пациенток с отрицательной динамикой течения процесса, через 12 месяцев после проведенной терапии, отмечался повышенный уровень SCCA, приближающийся к таковому до лечения, а в Т-клеточном звене иммунитета наблюдалось снижение $CD95^+$ лимфоцитов. Этот факт, подтверждается литературными данными о том, что ключевым моментом опухолевой прогрессии является угнетение апоптоза, а он-

комаркер SCCA непосредственно связан с механизмом его ингибирования [3, 4, 5, 6, 7, 8]. Наше исследование, также, продемонстрировало связь повышенного уровня SCCA с угнетением активности показателей противоопухолевой защиты. Повышение уровня SCCA и угнетение активности показателей Т-клеточного звена иммунитета после окончания курса лечения может свидетельствовать о наличии остаточной опухоли и ранней неизлеченности МРШМ, а нормализация уровня SCCA и повышение активности Т-клеточного звена иммунитета – о большей вероятности длительного безрецидивного периода [1].

Таким образом, определение уровня онкомаркера SCCA в совокупности с показателями Т-клеточного звена иммунитета имеет значение не только для диагностики МРШМ, но и мониторинга проведенной противоопухолевой терапии с целью прогноза течения данного заболевания и доклинического выявления рецидивов МРШМ.

Список литературы

1. Алешкова О.И. Лучевые и молекулярно-биологические критерии оценки эффективности неoadъювантной химиотерапии местнораспространенного рака шейки матки (IIВ-IIIВ стадий) // Вестн. РНЦРР МЗ РФ. – 2006. – № 7.
2. Воробьева Л.И., Федоренко З.П., Жилка Н.Я. Стан організації онкогінекологічної допомоги населенню України // Матер XI з'їзду онкологів України. – Судак, 2006. – № 7. – С. 36.
3. Гадецкая Н.А., Андреева Л.Ю., Тупицын Н.Н. Клеточные показатели специфического гуморального иммунного ответа на антиген Лес у больных раком молочной железы // Аллергология и иммунология в педиатрии: материалы междунар. конгр. «Иммунитет и болезни: от теории к терапии». – 2005. – Т. 6, № 5. – С. 169.
4. Дубовецкая О.Б. Диагностический алгоритм использования серологического опухолевого маркера SCC у больных раком шейки матки: Дис. ... канд. мед. наук. – М., 2005. – 144 с.
5. Евстигнеева Л.А., Бахидзе Е.В., Семиглазов В.В. Иммунологический статус у больных карциномой *in situ* и инвазивным раком шейки матки // Материалы V съезда онкологов и радиологов СНГ (Ташкент, 14-16 мая 2008 г.). – Ташкент, 2008. – С. 93.
6. Рожкова Е.Б. Рак щитовидной железы: прогнозирование выживаемости и рецидивирования с помощью определения онкомаркеров и прогностического индекса // Тезисы работ участников открытого российского конкурса на лучшую научную работу студентов 2004 года по разделу «медицинские науки». – М., 2005. – С. 8-9.
7. Algarra I., Garcia-Lora A., Cabrera T. The selection of tumor variants with altered expression of classical and nonclassical MHC class I molecules: implications for tumor immune escape // *Cancer Immunology and Immunotherapy*. – 2004. – Vol. 53. – P. 904-910.
8. Berg M., Wingender G., Djandji D. Cross-presentation of antigens from apoptotic tumor cells by liver sinusoidal endothelial cells leads to tumor-specific CD8⁺T cell tolerance // *Europ. J. Immunol.* – 2006. – Vol. 36. – P. 2960-2970.
9. Borrás G., Molina R., Xercavins J. SCC antigen in cervical cancer // *Eur. Gynaecol. Oncol.* – 1999. – Vol. 13, № 5. – P. 414-418.
10. Cataltepe S., Luke C., Silverman G. TD-10 SCC antigen workshop // *Tumor Biol.* – 2002. – Vol. 23. – P. 17.
11. Davelaar E.M., van de Lande J., von Mensdorff-Pouilly S. A combination of serum tumor markers identifies highrisk patients with early-stage squamous cervical cancer // *Tumour. Biol.* – 2008. – Vol. 29, № 1. – P. 9-17.
12. Fontana X., Lagrange J., Francois E. Assesment of SCC antigen as a marker of epidermoid carcinoma of the anal canal // *Dis-Colon-Recrum.* – 1991. – Vol. 34, №2. – P. 126-131.
13. Kato H. Expression and function of SCC antigen // *Anticancer Res.* – 1996. - Vol. 16, № 48. – P. 2149-2153.
14. Koch T., Eiffert H., Spindler M. Relevance of the new tumor marker SCC for the diagnosis and follow-up control of squamous epithelial carcinoma of the head and neck // *HNO.* – 1999. – Vol. 37, № 11. – P. 454-459.
15. Makrantonakis P., Pectasides D., Aggrouidakis C. SCC in squamous cell cancer of head and neck // *Am-J-Clin-Oncol.* – 1999. – Vol. 22, № 6. – P. 542-549.
16. Martin G.S. Cell signaling and cancer // *Cancer Cell.* – 2003. – Vol. 4. – P. 167-174.
17. Martinez F.O., Gordon S., Locati M., Mantovani A. Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 177. – P. 7303-7311.
18. Ogino I., Nakayama H., Okamoto N. The role of pretreatment squamous cell carcinoma antigen level in locally advanced squamous cell carcinoma of the uterine cervix treated by radiotherapy // *Int. J. Gynecol. Cancer.* – 2006. – Vol. 16, № 3. – P. 1094-1100.
19. Roijer E., Kosinska U., Andersson J. Rearrangement of SCC antigen genes // *Tumor Biol.* – 1998. – Vol. 1. – P. 84.

20. Sanchez-de-Cos-Escuin J., Lopez-Parra S., Desdier-Vicente C. Diagnostic utility of CEA, NSE and SCC antigen in malignant pleural effusion // An-Med-Interna. — 1996. — Vol. 13, № 8. — P. 369-373.

21. Suminami Y., Kishi F., Sekiguchi K., Kato H. Squamous cell carcinoma antigen is a new member of the serine protease inhibitors // Biochem Biophys Res Commun. — 1991. — Vol. 181, № 1. — P. 51-58.

22. Thomas D.A., Massague J. TGF-beta directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance // Cancer Cell. — 2005. — Vol. 8. — P. 369-380.

поступила в редакцию 25.03.2010

отправлена на доработку 10.04.2010

принята к печати 15.06.2010