

Иммуногистохимическая характеристика иммуноклеточного микроокружения плоскоклеточного рака лёгкого

М. М. Баударбекова, А. В. Калмыкова

Запорожский государственный медицинский университет, Украина

Ключевые слова:

опухоль лёгкого, немелкоклеточный рак лёгкого, плоскоклеточный рак, иммуногистохимия.

Патология. – 2017. – Т. 14, № 2(40). – С. 136–141

DOI: 10.14739/2310-1237.2017.2.109266

E-mail: Baudarbekova@gmail.com

Тумор-ассоциированные иммуноциты оказывают влияние на выживаемость опухолевых клеток, процессы пролиферации и апоптоза, а также принимают участие в реализации метастатического каскада.

Цель работы – изучение иммуногистохимических особенностей клеточного микроокружения неметастатического и метастатического плоскоклеточного рака лёгкого (ПРЛ).

Материалы и методы. Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое исследование операционного материала 20 больных ПРЛ 38–64 лет: I группу исследования составили 10 больных ПРЛ без метастазов в регионарных лимфатических узлах (РЛУ), II группу – 10 больных ПРЛ с метастазами в РЛУ.

Результаты. Выявлено, что для перитуморозных отделов стромы ПРЛ характерна максимальная плотность распределения (ПР) CD4+ и CD8+ лимфоцитов. Более того, были выявлены статистически значимые различия между показателями ПР CD4+ лимфоцитов в строме ПРЛ случаев I и II группы: 401,2 (344,6; 511,3) vs. 622,4 (587,2; 793,9) кл/мм² в перитуморозных зонах стромы; 298,0 (246,1; 350,1) vs. 484,8 (479,3; 690,6) кл/мм² в интертуморозных зонах стромы. Максимальная ПР CD20+ лимфоцитов в ПРЛ случаев I группы выявляется в перитуморозных зонах стромы, случаев II группы – в интертуморозных зонах стромы, в то время как максимальная ПР р1с+ плазмоцитов наблюдается в интертуморозных зонах стромы. Максимальная ПР CD68+ макрофагов характерна для перитуморозных зон стромы ПРЛ. При этом имеются статистически значимые различия между ПР CD68+ макрофагов в интертуморозных зонах стромы ПРЛ случаев I и II групп: 259,5 (193,0; 325,2) vs. 507,1 (390,2; 617,8) кл/мм².

Выводы. ПРЛ без метастазов в РЛУ характеризуется наличием преимущественно CD4+, CD8+ лимфоцитов и CD68+ макрофагов в перитуморозных зонах стромы, а также CD20+ лимфоцитов и р1с+ плазмоцитов в интертуморозных зонах опухолевой стромы. ПРЛ с метастазами в РЛУ отличается преобладанием CD20+ лимфоцитов в перитуморозных зонах стромы, а также значимо большей плотностью распределения CD4+ лимфоцитов в пери- и интертуморозных зонах стромы, а CD68+ макрофагов – в интертуморозных зонах опухолевой стромы.

Ключові слова:

пухлини легень, недрібноклітинна карцинома легень, плоскоклітинна карцинома, імуногістохімія.

Патологія. – 2017. – Т. 14, № 2(40). – С. 136–141

Імуногістохімічна характеристика імуноклітинного мікрооточення плоскоклітинного раку легень

М. М. Баударбекова, А. В. Калмыкова

Тумор-асоційовані імуноцити здатні впливати на виживаність пухлинних клітин, процеси проліферації та апоптозу, також імуноцити беруть участь у реалізації метастатичного каскаду.

Мета роботи – вивчення особливостей мікрооточення плоскоклітинного раку легень (ПРЛ).

Матеріали та методи. Виконали патоморфологічне та імуногістохімічне дослідження операційного матеріалу 20 пацієнтів (38–64 років), які лікувалися в Запорізькому обласному клінічному онкологічному диспансері з приводу ПРЛ: I групу дослідження становили 10 пацієнтів без метастазів у регіональних лімфатичних вузлах (РЛВ), II групу – 10 пацієнтів із метастазами у РЛВ.

Результати. Виявили, що для перитуморозних відділів стромы ПРЛ характерна максимальна щільність розподілення (ЩР) CD4+ і CD8+ лімфоцитів. До того ж були виявлені статистично значущі відмінності між показниками ЩР CD4+ лімфоцитів у стромі ПРЛ випадків I та II груп: 401,2 (344,6; 511,3) vs. 622,4 (587,2; 793,9) кл/мм² у перитуморозних ділянках стромы, 298,0 (246,1; 350,1) vs. 484,8 (479,3; 690,6) кл/мм² в інтертуморозних ділянках стромы. Максимальна ЩР CD20+ лімфоцитів у ПРЛ випадків I групи виявляється в перитуморозних ділянках стромы, випадків II групи – в інтертуморозних ділянках стромы, водночас як максимальна ЩР р1с+ плазмоцитів є в інтертуморозних ділянках стромы. Максимальна ЩР CD68+ макрофагів характерна для перитуморозних ділянок стромы ПРЛ. При цьому наявні статистично значущі відмінності між ЩР CD68+ макрофагів в інтертуморозних ділянках стромы ПРЛ випадків I та II груп: 259,5 (193,0; 325,2) vs. 507,1 (390,2; 617,8) кл/мм².

Висновки. ПРЛ без метастазів у РЛВ характеризується переважним розподілом CD4+, CD8+ лімфоцитів і CD68+ макрофагів у перитуморозних ділянках стромы, а також CD20+ лімфоцитів і р1с+ плазмоцитів в інтертуморозних ділянках пухлинної стромы. ПРЛ із метастазами у РЛВ відрізняється переважанням CD20+ лімфоцитів у перитуморозних ділянках стромы, а також значущо більшими показниками ЩР CD4+ лімфоцитів у пери- та інтертуморозних ділянках стромы, CD68+ макрофагів – в інтертуморозних ділянках пухлинної стромы.

Immunohistochemical Characteristic of the Microenvironment in Squamous Cell Lung Cancer

М. М. Baudardekova, A. V. Kalmykova

Tumor-associated immunocytes can influence the survival of tumor cells, the processes of proliferation and apoptosis, these immunocytes also participate in the metastatic cascade.

Aim. The purpose of this study was to estimate the features of the squamous cell lung cancer (SCLC) microenvironment using the immunohistochemical technique.

Materials and methods. Pathomorphological and immunohistochemical studies of the surgical material from 20 patients, which were treated in ZRCOD because of SCLC, were conducted: 10 patients with SCLC without metastases in the regional lymph nodes (RLN) formed the I group and 10 patients with SCLC with metastases in the RLN formed the II group.

Results. It was revealed, that the maximums of the distribution density (DD) of CD4+ and CD8+ lymphocytes are typical for the peritumorous sections of the SCLC stroma. Moreover, the statistically significant differences between the CD4+ lymphocytes DD in the stroma of the I and the II groups cases were found: 401.2 (344.6, 511.3) vs. 622.4 (587.2, 793.9) cells/mm² in the peritumorous zones of the stroma; 298.0 (246.1, 350.1) vs. 484.8 (479.3, 690.6) cells/mm² in the intertumorous zones of the stroma. The maximum of the CD20+ lymphocytes DD in the I group cases was revealed in the peritumorous zones of the stroma, in the II group cases – in the intertumorous zones of the stroma, while the maximum of the plasmocytes DD was observed in the intertumorous zones of the stroma. The maximum of the macrophages DD is typical for the peritumorous zones of the stroma. Moreover, there are statistically significant differences between the macrophages DD in the intertumorous zones of the stroma in the I and the II groups cases: 259.5 (193.0, 325.2) vs. 507.1 (390.2; 617.8) cells/mm².

Conclusion. SCLC without metastasis in the RLN is characterized by the predominant distribution of CD4+, CD8+ lymphocytes and CD68+ macrophages in the peritumorous zones of the stroma, as well as CD20+ lymphocytes and plasmocytes in the intertumorous zones of the tumor stroma. SCLC with metastases in the RLN differs by the predominance of CD20+ lymphocytes in the peritumorous zones of the stroma, as well as the significantly higher values of CD4+ lymphocytes in the peri- and intertumorous zones of the stroma, CD68+ macrophages in the intertumorous zones of the tumor stroma.

Key words:

lung neoplasms, non-small cell lung carcinoma, squamous cell carcinoma, immuno-histochemistry.

Pathologia

2017; 14 (2), 136–141

Рак лёгкого (РЛ) является самым распространённым злокачественным новообразованием у мужчин во всём мире, при этом наибольшие показатели заболеваемости характерны для стран Центральной и Восточной Европы [1]. Согласно данным Национального канцер-реестра Украины, рак трахеи, бронха и лёгкого устойчиво занимает первое место в рейтингах заболеваемости и смертности мужчин от злокачественных новообразований [2].

Вероятность заболевания существенно возрастает при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды, способствующих развитию хронического воспаления в лёгких (курение, профессиональные вредности и другие) [3,4]. Особый интерес в настоящее время вызывает изучение особенностей опухолевого микроокружения РЛ, одним из основных компонентов которого является воспалительно-клеточный инфильтрат. В составе последнего: CD3+ Т-лимфоциты, CD4+ Т-хелперы, цитотоксические CD8+ Т-клетки, CD20+ В-клетки, р1с+ плазматические клетки, активированные MUM1+ В-клетки, CD68+ макрофаги, CD117+ тучные клетки. CD11с+ мононуклеары, PD1+ миелоидные клетки и нейтрофильные гранулоциты (myeloperoxidase+) [5]. Иммуноциты составляют отдельное звено онкогенеза и, формируя опухолевое микроокружение, реализуют новые функции. Доказано, что тунор-ассоциированные иммуноциты оказывают влияние на выживаемость опухолевых клеток, процессы пролиферации и апоптоза, также принимают участие в реализации метастатического каскада [6].

В ряде исследований было показано, что увеличение количества Т-лимфоцитов в опухоли, а также в перитуморозной строме ассоциировано с лучшим прогнозом для пациентов с меланомой, раком молочной железы, предстательной железы, головы и шеи [7]. G. A. Vanat et al. (2015) установили, что количество CD4+, CD8+, CD20+ лимфоцитов, а также CD68+ макрофагов и CD117+ тучных клеток в ткани РЛ значительно превышает таковое в нормальных лёгких, что связано с реализацией противоопухолевого ответа системой иммунного надзора [5]. Вопрос о значении

особенностей распределения иммунокомпетентных клеток в РЛ всё ещё остаётся открытым [8].

Цель работы

Охарактеризовать иммуногистохимическими методиками особенности иммуноцитарного микроокружения неметастатического плоскоклеточного рака лёгкого и рака с метастазами в регионарных лимфатических узлах.

Материалы и методы исследования

Проведено патоморфологическое и иммуногистохимическое (ИГХ) исследование операционного материала 20 больных плоскоклеточным раком лёгкого (ПРЛ). Пациенты были разделены на две группы: I группу сформировали 10 больных ПРЛ без метастазов в регионарных лимфатических узлах (РЛУ) (pT₁₋₂N₀M₀G₁₋₃), II группу – 10 больных ПРЛ с метастазами в РЛУ (pT₁₋₂N₁₋₂M₀G₁₋₃). Критериями исключения служило наличие отдалённых метастазов, а также прорастание опухоли в смежные органы.

Микроскопические особенности ПРЛ и иммуноклеточной инфильтрации опухолевой стромы оценивали в микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. ИГХ-исследование проводилось с использованием моноклональных мышинных антител CD4, Clone MT310 (ДАКО, Дания), CD8 T-Cell, Clone C8/144B (ДАКО, Дания), CD20, Clone L26 (ДАКО, Дания), Plasma Cell Ab-1 Plas, Clone LIV3G11 (NeoMarkers, США), CD68 Macrophage, Clone PG-M1 (ДАКО, Дания), а также системы визуализации DAKO EnVision+ System с диаминобензидином (ДАКО, Дания).

Проведён количественный анализ распределения иммуноцитов в трёх зонах ПРЛ: в опухолевых комплексах, в перитуморозной и интертуморозной зоне опухолевой стромы. Разделение стромы опухоли на перитуморозную и интертуморозную зоны основано на литературных данных, согласно которым иммунные реакции более выражены в участках стромы, непосредственно прилежащих к опухолевым комплексам [7].

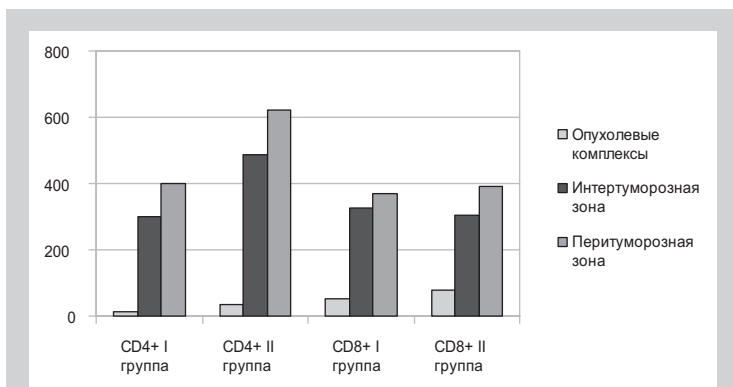


Рис. 1. Медианы плотности распределения CD4+ и CD8+ лимфоцитов в опухолевых комплексах, интертуморозной и перитуморозной зонах стромы плоскоклеточного рака лёгкого (I группа – неметастатический рак, II группа – рак с метастазами в регионарных лимфоузлах).

Перитуморозную зону толщиной 25 мкм составили участки стромы, располагающиеся по периметру опухолевых комплексов, а оставшиеся участки стромы составили интертуморозную зону. Срезы микропрепаратов фотографировали цифровой фотокамерой Canon EOS 1000D (Japan) в микроскопе AxioPlan 2 (Carl Zeiss, ФРГ) при увеличении в 200 раз; в каждом случае фотографировали 5 репрезентативных полей зрения. С целью проведения подсчётов был использован пакет Photoshop CC (2014), инструмент counter, исходя из известного размера эритроцита (7 мкм); программой Photoshop CC определялась площадь, равная квадратному миллиметру. Затем рассчитывалась плотность распределения иммуноцитов на квадратный миллиметр как количество клеток на данной площади.

Статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере с использованием пакетов анализа Excel Microsoft Office 2013 и Statistica for Windows 6.0 (StatSoft Inc., лицензия № АХХR712D833214FAN5). Плотность распределения (ПР) иммуноцитов рассчитывали на квадратный миллиметр. Вычисляли медиану (Me), нижний и верхний квартили (Q_1 ; Q_3), сравнение проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Разница между полученными данными расценивалась как статистически значимая при значении $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При микроскопическом исследовании ПРЛ установлено, что опухоль состоит преимущественно из полей атипичных клеток с признаками плоскоклеточной дифференцировки. Десмопластическая строма ПРЛ представлена грубоволокнистой соединительной тканью с выраженной иммуноклеточной инфильтрацией. Проведённое ИГХ исследование показало, что клеточное микроокружение опухоли формируют CD4+ Т-лимфоциты, CD8+ Т-лимфоциты, CD20+ В-лимфоциты, p1c+ плазмциты и CD68+ макрофаги. Большинство иммунокомпетентных клеток распределено в опухолевой строме диффузно, за исключением CD20+ лимфоцитов, отличающихся тенденцией к формированию лимфоидных фолликулов. ИГХ-исследование позволило провести количественную оценку

иммуноклеточного инфильтрата: оценить плотность распределения (ПР) иммуноцитов в отдельных зонах ПРЛ, а также сравнить показатели распределения в неметастатическом и метастатическом ПРЛ.

Показатель медианы ПР CD4+ Т-лимфоцитов варьировал в широком диапазоне в зависимости от зоны опухоли. Медиана ПР CD4+ лимфоцитов в опухолевых комплексах неметастатического ПРЛ составила 13,5 (2,0; 26,9) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 34,8 (0,0; 52,3) кл/мм². Аналогичный показатель существенно отличался в строме опухоли: в интертуморозной зоне неметастатического ПРЛ медиана ПР CD4+ Т-лимфоцитов составила 298,0 (246,1; 350,1) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 484,8 (479,3; 690,6) кл/мм²; в перитуморозной зоне неметастатического ПРЛ – 401,2 (344,6; 511,3) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 622,4 (587,2; 793,9) кл/мм². Таким образом, выявлено, что наименьшая ПР CD4+ Т-лимфоцитов имеет место в опухолевых комплексах ПРЛ, а наибольшая – в перитуморозной зоне стромы опухоли (рис. 1). При использовании непараметрического U-критерия Манна–Уитни выявлены статистически значимые различия между медианами ПР CD4+ лимфоцитов в разных зонах стромы ПРЛ: для интертуморозной зоны U-критерий составил 16,0 ($p = 0,011$), для перитуморозной зоны – 17,0 ($p = 0,014$). Таким образом, установлено, что ПРЛ с метастазами в РЛУ характеризуется большей ПР CD4+ Т-лимфоцитов в строме в сравнении с ПРЛ без метастазов в РЛУ.

Выявлена аналогичная закономерность распределения CD8+ Т-лимфоцитов в опухолевых комплексах и в строме ПРЛ: минимальная ПР CD8+ лимфоцитов имеет место в опухолевых комплексах, а максимальная ПР – в перитуморозной зоне стромы опухоли (рис. 1). Медиана ПР CD8+ лимфоцитов в опухолевых комплексах неметастатического ПРЛ составила 52,7 (36,0; 126,9) кл/мм², а в ПРЛ с метастазами в РЛУ – 77,0 (38,2; 110,7) кл/мм². Медиана ПР CD8+ лимфоцитов в интертуморозной зоне стромы неметастатического ПРЛ составила 327,0 (294,9; 400,9) кл/мм², а в ПРЛ с метастазами в РЛУ – 302,3 (193,8; 490,0) кл/мм². Медиана ПР CD8+ лимфоцитов в перитуморозной зоне неметастатического ПРЛ составила 371,5 (283,7; 437,5) кл/мм², в ПРЛ с метастазами в РЛУ – 391,123 (270,1; 452,9) кл/мм². Несмотря на то, что имеется тенденция к увеличению показателей ПР CD8+ Т-лимфоцитов в ПРЛ с метастатическим поражением РЛУ, статистически значимых различий между вышеназванными показателями ПР CD8+ Т-лимфоцитов в обеих исследованных группах не выявлено (U-критерий для опухолевых комплексов ПРЛ составил 43,0 ($p = 0,623$), для интертуморозной и перитуморозной зон стромы ПРЛ – 49,0 ($p = 0,970$)).

Известно, что CD4+ Т-лимфоциты играют важную роль в реализации противоопухолевого иммунного ответа: они активируют цитотоксические CD8+ клетки, а также ингибируют ангиогенез в опухоли [8]. CD8+ Т-лимфоциты, в свою очередь, в ответ на распознавание опухолеассоциированных антигенов вырабатывают цитотоксические медиаторы, воздействующие непосредственно на опухолевые комплексы [8]. Показатель ПР CD8+ лимфоцитов в опухолевых

комплексах значительно превысил таковой для других исследованных иммуноцитов, что объясняется особенностями функций этой популяции лимфоцитов. Однако, несмотря на значительное количество CD4+ и CD8+ иммуноцитов в опухолевом микроокружении, следует учесть возможность модификации их свойств. В ряде исследований было показано, что с прогрессированием РЛ возрастает интенсивность иммуноклеточной инфильтрации [5]. Вероятно, опухолеассоциированные цитокины также оказывают влияние на Т-лимфоциты, угнетая их противоопухолевые свойства. Допускается приобретение иммуноцитами новых свойств, способствующих опухолевой прогрессии [9].

Литературные данные, описывающие особенности распределения CD4+ и CD8+ иммуноцитов в ПРЛ, варьируют, однако согласуются с полученными нами данными по общему принципу: количество иммуноцитов в строме опухоли значительно превышает таковое в опухолевых комплексах [5,8]. Большой показатель ПР иммуноцитов в опухолевой строме, в сравнении с аналогичным показателем для опухолевых комплексов, свидетельствует о большей активности противоопухолевых цитокинов в стромальном компоненте опухоли. Полученные данные подтверждают информацию о том, что клеточные элементы опухолевого микроокружения взаимодействуют с собственно опухолевыми клетками.

Исследование CD20+ В-лимфоцитов в ПРЛ показало, что минимальная ПР этих клеток характерна для опухолевых комплексов, а максимальная ПР – для опухолевой стромы (рис. 2). Медиана ПР CD20+ лимфоцитов в опухолевых комплексах нематастатического ПРЛ составила 2,7 (0,000; 6,7) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 1,4 (0,0; 35,7) кл/мм². Медиана ПР CD20+ лимфоцитов в разных зонах стромы ПРЛ составила: в интертуморозной зоне нематастатического ПРЛ – 359,136 (53,8; 678,8) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 168,2 (84,9; 299,1) кл/мм²; в перитуморозной зоне нематастатического ПРЛ – 129,2 (0,0; 444,8) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 186,3 (0,0; 330,4) кл/мм². Примечательно, что медиана ПР CD20+ В-лимфоцитов в интертуморозной зоне стромы ПРЛ без метастазов в РЛУ значительно превышает таковую в ПРЛ с метастазами в РЛУ. Однако при статистическом анализе значимой разницы между полученными показателями ПР в двух группах исследования выявлено не было (U-критерий для опухолевых комплексов составил 46,5 (p = 0,809), для интертуморозной зоны – 34,0 (p = 0,241), для перитуморозной зоны – 48,5 (p = 0,939)).

Установлено, что plc+ плазмциты выявляются в строме ПРЛ, а также в опухолевых комплексах ПРЛ с метастазами в РЛУ. В ПРЛ без метастазов в РЛУ плазмцитарная инфильтрация опухолевых комплексов не выявляется. Примечательно также, что максимальные показатели ПР плазмцитов характерны для интертуморозной зоны стромы ПРЛ (рис. 2). Медиана ПР plc+ клеток в опухолевых комплексах ПРЛ с метастазами в РЛУ составила 15,1 (2,8; 25,5) кл/мм². Медиана ПР plc+ плазмцитов в опухолевой строме составила: в интертуморозной зоне нематастатического ПРЛ – 572,609 (443,331; 760,336) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 907,2 (409,9; 1362,0) кл/мм²; в перитуморозной зоне

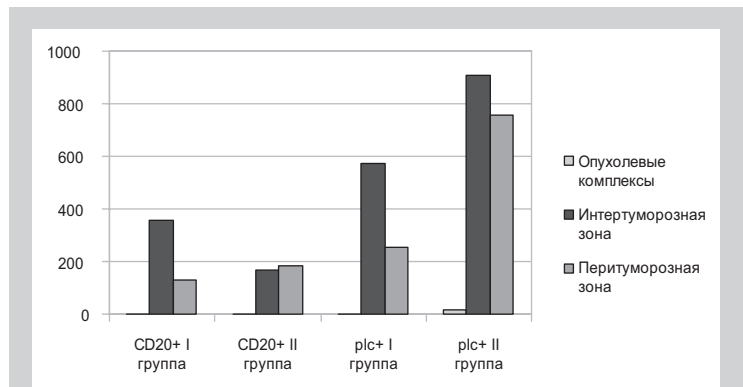


Рис. 2. Медианы плотности распределения CD20+ лимфоцитов и plc+ плазмцитов в опухолевых комплексах, интертуморозной и перитуморозной зонах стромы плоскоклеточного рака лёгкого (I группа – нематастатический рак, II группа – рак с метастазами в регионарных лимфоузлах).

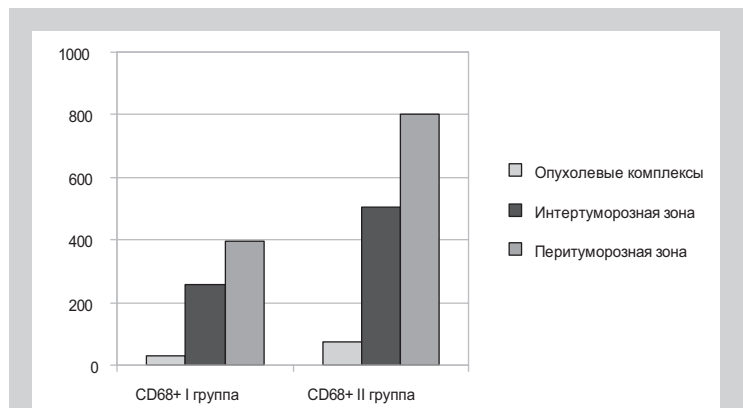


Рис. 3. Медианы плотности распределения CD68+ макрофагов в опухолевых комплексах, интертуморозной и перитуморозной зонах стромы плоскоклеточного рака лёгкого (I группа – нематастатический рак, II группа – рак с метастазами в регионарных лимфоузлах).

нематастатического ПРЛ – 252,3 (166,5; 414,7) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 754,2 (622,7; 928,6) кл/мм². При статистическом анализе значимой разницы между показателями ПР плазмцитов в разных зонах опухолевой стромы исследования не выявлено (U-критерий для интертуморозной зоны стромы – 5,0 (p = 0,470), для перитуморозной зоны стромы – 1,0 (p = 0,061)).

В-лимфоциты отвечают за реализацию гуморального звена иммунного ответа. При распознавании антигенных детерминант опухоли эти клетки активируются, пролиферируют и дифференцируются в лимфатических узлах в плазмциты, которые синтезируют антитела к распознанным антигенам [10]. Исследования, посвящённые роли В-лимфоцитов и плазмцитов в РЛ, немногочисленны. Известно, что количество этих клеток в ткани РЛ больше такового в нормальном лёгком [5]. M. Lohr et al. (2013), M. Fujimoto et al. (2013) обнаружили наличие корреляций между возрастанием количества В-клеток и плазмцитов в микроокружении ПРЛ и большими показателями выживаемости пациентов [11,12]. Вероятно, В-клеточный и плазмклеточный компоненты микроокружения обеспечивают реализацию противоопухолевого иммунного ответа в РЛ, не изменяя коренным образом своих свойств.

Выяснено, что ПР CD68+ макрофагов в стромальном компоненте ПРЛ значительно выше, чем в опухолевых комплексах. Отмечена тенденция к возрастанию ПР макрофагов в ПРЛ с метастазами в РЛУ (рис. 3). Медиана ПР CD68+ клеток в опухолевых комплексах нематастатического ПРЛ составила 29,7 (20,0; 35,2) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 74,8 (50,3; 181,9) кл/мм². Медиана ПР макрофагов в разных зонах стромы составила: в интертуморозной зоне нематастатического ПРЛ – 259,5 (193,0; 325,2) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 507,1 (390,2; 617,8) кл/мм²; в перитуморозной зоне нематастатического ПРЛ – 395,0 (285,0; 503,2) кл/мм², ПРЛ с метастазами в РЛУ – 802,2 (377,7; 979,1) кл/мм². Применение непараметрического U-критерия Манна-Уитни позволило выявить достоверные отличия между медианами ПР CD4+ макрофагов в интертуморозной строме нематастатического и метастатического ПРЛ: U-критерий составил 11,0 (p = 0,004). Таким образом, было выявлено, что ПРЛ с метастазами в РЛУ характеризуется большей ПР макрофагов в интертуморозной зоне стромы в сравнении с ПРЛ без метастазов в ПРЛ.

Тумор-ассоциированные макрофаги обладают двойственными свойствами, на основании чего они были разделены на две субпопуляции: M1 – макрофаги, эффекторные молекулы которых препятствуют росту опухоли (TNF α , активные формы кислорода и другие); M2 – макрофаги, продуцирующие матриксные металлопротеиназы, факторы ангиогенеза и иммуносупрессивные цитокины, способствующие опухолевой прогрессии [13]. В то же время R. Zaynagetdinov et al. [14] утверждают, что в условиях канцерогенеза обе субпопуляции макрофагов реализуют проопухолевый потенциал. G. A. Banat et al. (2015) установили: количество макрофагов в строме РЛ позитивно коррелирует с клинической стадией заболевания, что согласуется с полученными нами данными. Увеличение ПР макрофагов в строме ПРЛ с метастазами в РЛУ может свидетельствовать как об активации противоопухолевого иммунного ответа, так и о реализации макрофагами проопухолевых свойств.

Выводы

1. Плоскоклеточный рак лёгкого без метастазов в регионарных лимфатических узлах характеризуется преобладанием CD4+, CD8+ лимфоцитов и CD68+ макрофагов в перитуморозных зонах стромы опухоли, а также преобладанием CD20+ лимфоцитов и p1c+ плазмочитов в интертуморозных зонах опухолевой стромы.

2. Для плоскоклеточного рака лёгкого с метастазами в регионарных лимфатических узлах характерно преобладание CD4+, CD8+, CD20+ лимфоцитов и CD68+ макрофагов в перитуморозных зонах стромы опухоли, а p1c+ плазмочитов – в интертуморозных зонах опухолевой стромы.

3. Плоскоклеточный рак лёгкого с метастазами в регионарных лимфатических узлах отличается большей плотностью распределения CD4+ лимфоцитов в пери- и интертуморозных зонах опухолевой стромы [401,2 (344,6; 511,3) vs. 622,4 (587,2; 793,9) кл/мм²; 298,0 (246,1; 350,1) vs. 484,8 (479,3; 690,6) кл/мм²],

а также CD68+ макрофагов в интертуморозных зонах стромы опухоли [259,5 (193,0; 325,2) vs. 507,1 (390,2; 617,8) кл/мм²].

Перспективы дальнейших исследований.

Большой интерес представляет выяснение роли M1 и M2 субпопуляций макрофагов в опухолевом микроокружении ПРЛ.

Финансирование. Работа выполнена в рамках госбюджетной НИР «Дослідження інвазивно-метастатичних властивостей пухлин і їх раннє прогнозування в біоптатах хворих» (0114U000967) 2014–2016, которая финансировалась МЗ Украины.

Funding. The research was carried out within the state budget scientific-research work “Research of invasive-metastatic properties of tumors and their early prognosis in biopsies of patients” (0114U000967), 2014–2016, funded by the Ministry of Health of Ukraine.

Список литературы

- [1] Torre L. Global Cancer Facts & Figures / L. Torre, R. Siegel, A. Jemal. – Atlanta: American Cancer Society, 2015. – 64 p.
- [2] Рак в Україні, 2015–2016 / З. П. Федоренко, Л. О. Гулак, Ю. Й. Михайлович та ін. // Бюлетень Національного канцер-реєстру України. – 2017. – №18. – С. 37.
- [3] Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis / E. A. Marshall, K. W. Ng, S. H. Kung et al. // *Molecular Cancer*. – 2016. – Vol. 15. – №1. – P. 67–74.
- [4] Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes differs depending on histological type and smoking habit in completely resected non-small-cell lung cancer / T. Kinoshita, R. Muramatsu, T. Fujita et al. // *Annals of Oncology*. – 2016. – Vol. 27. – №11. – P. 2117–2123.
- [5] Immune and Inflammatory Cell Composition of Human Lung Cancer Stroma / G. A. Banat, A. Tretny, S. S. Pullamsetti et al. // *PLOS one*. – 2015. – Vol. 10. – Issue. 9. – e0139073.
- [6] Tumor-associated immune factors are associated with recurrence and metastasis in non-small cell lung cancer / X. Yan, S. C. Jiao, G. Q. Zhang et al. // *Cancer Gene Therapy*. – 2017. – Vol. 24. – №2. – P. 57–63.
- [7] Lo Presti E. Tumor-Infiltrating $\gamma\delta$ T Lymphocytes: Pathogenic Role, Clinical Significance, and Differential Programming in the Tumor Microenvironment / E. Lo Presti, F. Dieli, S. Meraviglia // *Frontiers in Immunology*. – 2014. – Vol. 5. – P. 608–616.
- [8] Jackutéa J. Distribution of CD4+ and CD8+ T cells in tumor islets and stroma from patients with non-small cell lung cancer in association with COPD and smoking / J. Jackutéa, M. Žemaitisa, D. Pranysb // *Medicina*. – 2015. – №51. – P. 263–271.
- [9] Tumor-Induced CD8+ T-Cell Dysfunction in Lung Cancer Patients / H. Prado-Garcia, S. Romero-Garcia, D. Aguilar-Cazares et al. // *Journal of Immunology Research*. – 2012. – Vol. 2012. – P. 741741.
- [10] Nelson B. H. CD20+ B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes / B. H. Nelson // *The Journal of Immunology*. – 2010. – Vol. 185. – №9. – P. 4977–4982.
- [11] The prognostic relevance of tumour-infiltrating plasma cells and immunoglobulin kappa C indicates an important role of the humoral immune response in non-small cell lung cancer / M. Lohr, K. Edlund, J. Botting et al. // *Cancer Letters*. – 2013. – Vol. 333. – №2. – P. 222–228.
- [12] Stromal plasma cells expressing immunoglobulin G4 subclass in non-small cell lung cancer / M. Fujimoto, A. Yoshizawa, S. Sumiyoshi et al. // *Human Pathology*. – 2013. – Vol. 44. – №8. – P. 1569–1576.
- [13] The M1 form of tumor-associated macrophages in non-small cell lung cancer is positively associated with survival time / J. Ma, L. Liu, G. Che et al. // *BMC Cancer*. – 2010. – Vol. 10. – P. 112–120.
- [14] A critical role for macrophages in promotion of urethane-induced lung carcinogenesis / R. Zaynagetdinov, T. P. Sherrill, V. V. Polosukhin et al. // *The Journal of Immunology*. – 2011. – Vol. 187. – №11. – P. 5703–5711.

References

- [1] Torre, L., Siegel, R., & Jemal, A. (2015) Global Cancer Facts & Figures. Atlanta: American Cancer Society.
- [2] Fedorenko, Z. P., Hulak, L. O., Mykhailovych, Yu. I., Horokh, E. L., Ryzhov, A. U., Sumkina, O. V., & Kutsenko, L. B. (2017). Rak v Ukraini, 2015–2016 [Cancer in Ukraine, 2015–2016]. *Biulleten natsionalnoho kantser-reiestru Ukrainy*, 18, 37. [in Ukrainian].
- [3] Marshall, E. A., Ng, K. W., Kung, S. H., Conway, E. M., Martinez, V. D., Halvorsen, E. C., et al. (2016) Emerging roles of T helper 17 and regulatory T cells in lung cancer progression and metastasis. *Molecular Cancer*, 15(1), 67–74. doi: 10.1186/s12943-016-0551-1.

- [4] Kinoshita, T., Muramatsu, R., Fujita, T., Nagumo, H., Sakurai, T., Noji, S., et al. (2016) Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes differs depending on histological type and smoking habit in completely resected non-small-cell lung cancer. *Annals of Oncology*, 27(11), 2117–2123. doi: 10.1093/annonc/mdw319.
- [5] Banat, G. A., Tretyn, A., Pullamsetti, S. S., Wilhelm, J., Weigert, A., Olesch, C., et al. (2015) Immune and Inflammatory Cell Composition of Human Lung Cancer Stroma. *PLoS one*, 10(9), e0139073. doi: 10.1371/journal.pone.0139073.
- [6] Yan, X., Jiao, S. C., Zhang, G. Q., Guan, Y., & Wang, J. L. (2017) Tumor-associated immune factors are associated with recurrence and metastasis in non-small cell lung cancer. *Cancer Gene Therapy*, 24(2), 57–63. doi: 10.1038/cgt.2016.40.
- [7] Lo Presti, E., Dieli, F., & Meraviglia, S. (2014) Tumor-Infiltrating $\gamma\delta$ T Lymphocytes: Pathogenic Role, Clinical Significance, and Differential Programming in the Tumor Microenvironment. *Frontiers in Immunology*, 5, 608–616. doi: 10.3389/fimmu.2014.00607.
- [8] Jackutėa, J., Žemaitis, M., & Pranysb, D. (2015) Distribution of CD4+ and CD8+ T cells in tumor islets and stroma from patients with non-small cell lung cancer in association with COPD and smoking. *Medicina*, 51(5), 263–271. doi: 10.1016/j.medici.2015.08.002.
- [9] Prado-García, H., Romero-García, S., Aguilar-Cazares, D., Meneeses-Flores, M., & Lopez-Gonzalez, J. S. (2012) Tumor-Induced CD8+ T-Cell Dysfunction in Lung Cancer Patients. *Journal of Immunology Research*, 2012, 741741. doi: 10.1155/2012/741741.
- [10] Nelson, B. H. (2010) CD20+ B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes. / Nelson. *The Journal of Immunology*, 185(9), 4977–4982. doi: 10.4049/jimmunol.1001323.
- [11] Lohr, M., Edlund, K., Botling, J., Hammad, S., Hellwig, B., Othman, A., et al. (2013) The prognostic relevance of tumour-infiltrating plasma cells and immunoglobulin kappa C indicates an important role of the humoral immune response in non-small cell lung cancer. *Cancer Letters*, 333(2), 222–228. doi: 10.1016/j.canlet.2013.01.036.
- [12] Fujimoto, M., Yoshizawa, A., Sumiyoshi, S., Sonobe, M., Kobayashi, M., Koyanagi, I., et al. (2013) Stromal plasma cells expressing immunoglobulin G4 subclass in non-small cell lung cancer. *Human Pathology*, 44(8), 1569–1576. doi: 10.1016/j.humpath.2013.01.002.
- [13] Ma, J., Liu, L., Che, G., Yu, N., Dai, F., & You, Z. (2010) The M1 form of tumor-associated macrophages in non-small cell lung cancer is positively associated with survival time. *BMC Cancer*, 10, 112–120. doi: 10.1186/1471-2407-10-112.
- [14] Zaynagetdinov, R., Sherrill, T. P., Polosukhin, V. V., Han, W., Ausborn, J. A., McLoed, A. G., et al. (2011) A critical role for macrophages in promotion of urethane-induced lung carcinogenesis. *The Journal of Immunology*, 187(11), 5703–5711. doi: 10.4049/jimmunol.1100558.

Сведения об авторах:

Баударбекова М. М., канд. мед. наук, доцент
каф. патологической анатомии и судебной медицины,
Запорожский государственный медицинский университет,
Украина.

Калмыкова А. В., магистр каф. патологической анатомии
и судебной медицины, Запорожский государственный
медицинский университет, Украина.

Відомості про авторів:

Баударбекова М. М., канд. мед. наук, доцент каф. патологічної
анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний
університет, Україна.

Калмыкова А. В., магистр каф. патологічної анатомії і судової
медицини, Запорізький державний медичний університет,
Україна.

Information about authors:

Vaudarbekova M. M., MD, PhD, Associate Professor
of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine,
Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kalmykova A. V., Master of the Department of Pathological
Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical
University, Ukraine.

Конфликт интересов: отсутствует.

Conflicts of Interest: authors have no conflict of interest to declare.

Надійшло до редакції / Received: 19.05.2017

Після доопрацювання / Revised: 30.05.2017

Прийнято до друку / Accepted: 06.06.2017