УДК 618.11-006.6-008.8:612.-17.1

ВЛИЯНИЕ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ И ОРГАННОГО ОКРУЖЕНИЯ НА ФАКТОРЫ ЛОКАЛЬНОГО ИММУНИТЕТА ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА И ТОЛСТОЙ КИШКИ

Кит О.И., Златник Е.Ю., Никипелова Е.А., Новикова И.А., Геворкян Ю.А.

ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, e-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru)

Изучали субпопуляционный состав лимфоцитов при раке желудка и толстой кишки в ткани опухоли, перитуморальной зоны и линии резекции. Установлен ряд различий, более выраженных в зависимости от тканевого окружения, чем от гистологического типа опухоли. Аденокарцинома желудка отличается от аденокарциномы толстой кишки меньшим количеством CD3+CD8+ и большим NK-клеток в опухоли; перитуморальная область содержит меньше В-лимфоцитов и больше NK-клеток, а образцы ткани линии резекции - больше CD3+CD4+ и меньше NK-клеток. Факторы локального иммунитета при опухолях желудка различного гистотипа имеют меньше различий, чем при опухолях одинакового гистотипа, развивающихся в разных органах (желудке и толстой кишке).

Ключевые слова: рак желудка, толстой кишки, субпопуляции лимфоцитов.

EFFECT OF HISTOLOGIC STRUCTURE AND ORGAN MICROENVIRONMENT ON LOCAL IMMUNE FACTORS IN PATIENTS WITH GASTRIC AND GUT CANCER

Kit O.I., Zlatnik E.Yu., Nikipelova E.A., Novikova I.A., Gevorkian Yu.A.

The Russian Federation Ministry of Health, Rostov Cancer Research Institute FGBU, Rostov-on-Don, e-mail: elena-zlatnik@mail.ru, rnioi@list.ru

Lymphocytes` subset analysis in tissues of patients with gastric and gut cancer in tumor, peritumoral area and resection line was studied. The difference depending more upon the tissue microenvironment than upon histologic structure was noted. Gastric adenocarcinoma contains more NK-cells and less amount of CD3+CD8+ than the gut one; also more NK-cells and less amount of B-lymphocytes were observed in peritumoral area; the samples of resection line tissue contained less amount of NK-cells and more of CD3+CD4+ lymphocytes. Factors of local cellular immunity in gastric tumors with different histologic structure are of less variety than in tumors of the same histostructure developing in different organs (stomach and gut).

Keywords: stomach cancer, colon cancer, lymphocyte subpopulations.

Введение

Взаимоотношения опухоли и организма-опухоленосителя реализуются на организменном, органном, межклеточном, молекулярном уровнях. Важнейшим звеном этих взаимодействий является иммунная система с врожденными и адаптивными факторами, находящимися как в периферической крови, так и в опухолевой ткани. При исследовании противоопухолевого иммунитета обычно изучают общие (системные) клеточные и гуморальные факторы, определяемые в крови, что с учетом рециркуляции лимфоцитов [6, 7] представляется оправданным, но недостаточным, поскольку решающим для элиминации антигена является эффекторное звено, находящееся в очаге [2, 13]. Несмотря на то, что феномен инфильтрации опухоли иммунокомпетентными клетками давно известен, в современной литературе их роль расценивается неоднозначно, т.к. они благодаря продукции цитокинов и факторов роста могут способствовать не только ее регрессии, но и росту и метастазированию [1, 8, 11, 14].

По-видимому, состав иммунокомпетентных клеток, присутствующих в опухоли, формируется в результате влияния как самой опухоли, так и ее окружения [1, 2]. Ранее нами были показаны различия лимфоцитарного микроокружения для опухолей толстой кишки: доброкачественных (полипов) и злокачественных (рака) [3, 15], а также для первичных и метастатических опухолей печени [4]. Соседствующая с опухолью перитуморальная область может не только влиять на развитие опухоли, но и в свою очередь подвергаться ее влиянию, приобретая сходство с самой опухолью по метаболическим особенностям [5], что делает ее перспективным объектом и для иммунологического исследования. Факторы клеточного иммунитета, потенциально препятствующие или способствующие развитию опухоли и находящиеся в различных немалигнизированных тканях, также недостаточно исследованы. Так, если довольно подробно изучен состав иммунокомпетентных клеток толстой кишки в норме и при различных заболеваниях [6, 7, 13], то при-

сутствии в ткани и опухолях желудка некоторых лимфоцитарных субпопуляций имеются только единичные сообщения [10].

Итак, изучение особенностей локального иммунитета и его изменений при развитии злокачественных опухолей представляет собой важную, но недостаточно проясненную проблему, значимую для понимания их патогенеза, а также возможного прогноза и лечения.

Целью работы является выявление влияния гистологического строения опухоли и особенностей ее органного окружения на факторы локального клеточного иммунитета у больных раком желудка и толстой кишки.

Материалы и методы

В исследование были включены 48 больных с местно-распространенным (III стадия) раком желудка (РЖ) и толстой кишки (РТК), у которых первым этапом лечения выполнялась операция. У 18 больных (возраст 36 - 76 лет) были диагностированы первичные спорадические аденокарциномы толстого кишечника, у 30 (возраст 38 - 68 лет) - рак желудка, из них у 18 при гистологическом исследовании была выявлена аденокарцинома, у 9 перстневидноклеточный рак (ПКР), у 3 недифференцированный рак (НДР). В ходе оперативных вмешательств проводили удаление опухолевого очага с дальнейшим исследованием ткани опухоли, а также визуально неизмененных участков ткани на расстоянии 1-3 см (перитуморальная зона) и 7-10 см (линия резекции) от края опухоли. Полученные образцы ex temporae гомогенизировали в среде 199. Иммунофенотипирование лимфоцитов периферической крови и образцов тканей, проводили с помощью панели моноклональных антител T-B-NK (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56), методом проточной цитофлюориметрии на цитофлюориметре FacsCanto II BD. Статистическую обработку результатов выполняли с использованием параметрических и непараметрических методов (t-критерия Стьюдента, z-критерия знаков, критерия Уилкоксона).

Результаты и обсуждение

Результаты представлены в табл. 1-3 и на рис. 1. В периферической крови по изученным иммунологическим показателям больных РТК и РЖ различий не отмечено (рис. 1).

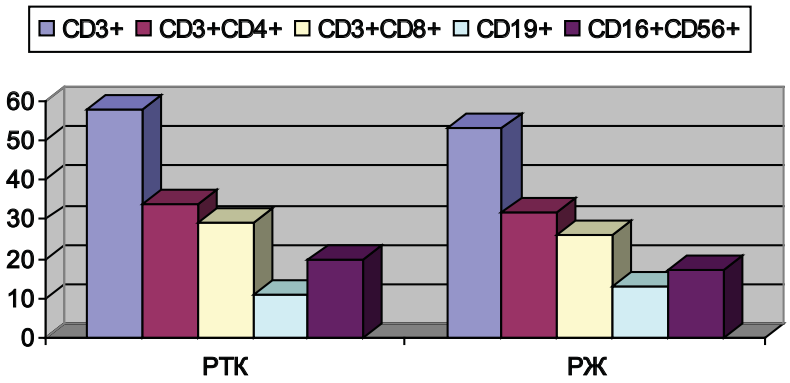

Рис. 1. Субпопуляции лимфоцитов периферической крови больных аденокарциномой толстой кишки и желудка
РТК – рак толстой кишки; РЖ – рак желудка

Таблица 1

Субпопуляции лимфоцитов тканей больных аденокарциномой толстой кишки и желудка

Опухоли	Образцы тканей	Субпопуляции лимфоцитов, %				
		CD3+	CD3+CD4+	CD3+CD8+	CD19+	CD16+/56+
РТК (n=18)	Опухоль	61,2± 3,5 ** ■	33,0± 3,0* **	26,9± 4,5■	24,1± 5,2**	12,4± 3,5■
	Перитумо-ральная зона	47,6± 5,1	21,4± 3,8	21,0± 5,1	43,64± 7,6■	10,8± 3,0■
	Линия резекции	49,0± 7,5	21,4± 4,1■	26,5± 6,6	35,8± 5,3	13,9± 4,9
РЖ (n=18)	Опухоль	48,0± 1,73* ** ■	36,3± 1,8**	10,1± 1,4* ** ■	29,8± 1,2* ** ■	21,2± 1,0*■
	Перитуморальная зона	57,9± 1,93	28,2± 1,4	27,4± 1,2	16,8± 1,07*■	23,2± 3,85*■
	Линия резекции	62,7± 2,2	35,3± 1,67** ■	23,6± 1,27	21,4± 1,87**■	8,22± 1,0**

Примечание * - статистически достоверные отличия от линии резекции; ** - статистически достоверные отличия от перитуморальной зоны; ■- статистически достоверные различия между РТК и РЖ (P<0,05)

В отличие от крови, при исследовании образцов тканей были установлены статистически достоверные различия в зависимости от локализации аденокарциномы (табл. 1). Так, в ткани опухоли толстой кишки содержится больше Т-лимфоцитов, чем в опухолевой ткани желудка, и это различие связано с низким содержанием в последней CD3+CD8+ клеток. При этом в ткани аденокарциномы желудка оказалось в 2 раза более высокое содержание NK-клеток по сравнению с аденокарциномой толстой кишки. В перитуморальной зоне также обнаружен ряд различий, а именно, в образцах опухолей толстой кишки отмечено более высокое содержание В-лимфоцитов и более низкое – NK-клеток. Линия резекции, характеризующая немалигнизированную ткань органа, также имеет различия по содержанию в ней лимфоцитарных субпопуляций: в ткани желудка выявлено статистически достоверно более высокое количество CD3+CD4+ клеток и более низкое В-лимфоцитов по сравнению с тканью толстой кишки.

Результаты, характеризующие факторы локального иммунитета при опухоли одного органа, но с различным гистологическим строением, представлены на примере аденокарциномы в сравнении с перстневидноклеточным и недифференцированным раком желудка в табл. 2. Данные по ПКР и НДР были суммированы, т.к. для этих опухолей характерно сходное и в целом более неблагоприятное клиническое течение, чем для аденокарциномы.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, в ткани опухоли статистически достоверные различия наблюдались только по одному параметру: уровню зрелых Т-лимфоцитов (CD3+), который был выше при аденокарциноме, чем при ПКР и НДР. Состав лимфоцитов перитуморальной области не имел статистически достоверных различий, однако они были обнаружены в ткани, взятой по линии резекции: при аденокарциноме по сравнению с ПКР/НДР уровень CD3+ клеток был выше, по-видимому, за счет CD3+CD8+ лимфоцитов.

Сравнительная характеристика состава лимфоцитов, содержащихся в исследованных образцах тканей, представлена в табл. 3

Сопоставляя приведенные в табл. 3 различия состава лимфоцитов при опухолях различного гистотипа в одном органе и опухолях одного гистотипа в разных органах, можно отметить превалирующее значение органного окружения, по-видимому, обеспечивающего особенности формирования локальных иммунных реакций с преобладанием тех или иных лимфоцитарных субпопуляций.

Итак, установлены различия содержания факторов локального клеточного имму-

Таблица 2

Субпопуляции лимфоцитов в образцах тканей желудка при различном гистотипе опухоли

Показатель, %	Группы больных					
	Аденокарцинома (n=18)			ПКР, НДР (n=12)		
	опухоль	перитуморальная зона	линия резекции	опухоль	перитуморальная зона	линия резекции
CD3+	48,0±1,7*	57,9±1,9	62,7±2,2*	42,9±1,5*	55,2±0,6	56,9±1,0*
CD3+CD4+	36,3±0,8	28,2±1,4	35,3±1,7	35,3±0,6	25,3±1,4	39,0±1,8
CD3+CD8+	10,1±0,4	27,4±1,2	23,6±1,2*	8,7±0,8	27,8±1,7	16,6±1,2*
CD19+	29,8±1,2	16,8±1,1	28,0±1,3	29,6±0,7	17,5±1,6	30,1±0,9
CD16+CD56+	21,2±1,0	21,4±1,9	8,3±1,0	23,2±2,1	24,9±1,6	10,6±1,4

Примечание. * - статистически достоверные отличия в зависимости от гистотипа (P<0,05)

Таблица 3

Количество статистически достоверных различий между содержанием субпопуляций лимфоцитов в образцах тканей

Образцы тканей	РЖ и РТК аденокарцинома	РЖ аденокарцинома и ПРК/НДР
Опухоль	3 (CD3+, CD3+CD8+, CD16+CD56+)	1 (CD3+)
Перитуморальная зона	2 (CD19+, CD16+CD56+)	0
Линия резекции	2 (CD19+, CD3+CD4+)	2 (CD3+, CD3+CD8+)

нитета, присутствующих в микроокружении аденокарциномы при ее развитии в разных органах желудочно-кишечного тракта. Аденокарцинома желудка характеризуется преобладанием в ней цитотоксических лимфоцитов, ответственных за врожденный иммунитет (NK), над участвующими в реакциях адаптивного иммунитета (CD3+CD8+). Интересно, что в перитуморальной зоне и в ткани линии резекции при аденокарциноме желудка количество CD3+CD8+ клеток существенно выше, чем в опухолевом очаге, и это также отличает ее от микроокружения опухоли того же гистотипа в толстой кишке. Противоположная ситуация наблюдается по NK и B-лимфоцитам: количество NK, одинаковое в непораженной ткани толстой кишки и желудка, при РЖ концентрируется в перитуморальной зоне и в опухоли. Напротив, содержание B-клеток в неизмененной ткани толстой кишки и ее перитуморальной области выше, чем в ткани самой опухоли, что соответствует представлениям о развитом B-клеточном звене иммунитета именно в толстой кишке, имеющей высокую антигенную нагрузку [6, 7].

Заключение

Выявленные особенности локального иммунитета при раке желудка и толстой кишки могут быть связаны с явлением органоспецифичности, описанной I.J. Fidler (2002) [9] при характеристике различий активности опухолевых клеток в разных органах в зависимости от складывающихся в них условий (особенностей клеточного состава, цитокинового баланса, наличия или отсутствия биологически активных веществ медиаторной или гормональной природы, состояния экстрацеллюлярного матрикса, сосудистой сети, микрофлоры, генерации активных форм кислорода и пр.). Наши данные свидетельствуют о том, что органоспецифичность может проявляться не только в плане способности опухолевых клеток приживляться и экспрессировать гены, обеспечивающие их пролиферативный и метастатический потенциал [12], но и в отношении формирования определенного лимфоцитарного микроокружения опухоли с преобладанием факторов врожденного или адаптивного иммунитета.

Список литературы

1. Бережная Н.М., Чехун В.Ф. Иммунология злокачественного роста. – Киев.: Наукова Думка, 2005. – 792 с.

2. Бережная Н.М. Роль системы иммунитета в микроокружении опухоли. I. Клетки и цитокины – участники воспаления // Онкология. – 2009. – Т.11. – № 1. – С. 6-17.

3. Кит О.И., Шапошников А.В., Златник Е.Ю. и др. Местный клеточный иммунитет при аденокарциноме и полипах толстой кишки // Сибирское мед. обозрение. – 2012. – Т. 76. – №4. – С.11-16

4. Никипелова Е.А., Златник Е.Ю., Шапошников А.В. Цитотоксические субпопуляции лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль и перифокальную ткань, у больных с метастатическими поражениями печени // Мед. иммунология. – 2005. – Т.7. – № 2-3. – С 206-207.

5. Франциянц Е.М., Геворкян Ю.А., Комарова Е.Ф. и др. Активность свободно-радикального окисления в ткани первично-множественного рака толстой кишки // Фундаментальные исследования. – 2013. – №2. – С. 201-204.

6. Хаитов Р.М. Физиология иммунной системы. – М.: ВИНИТИ РАН, 2001. – 223 с.

7. Ярилин А.А. Основы иммунологии. – М.: Медицина, 1999. – 608 с.

8. Balkwill F. Cancer and the chemokine network // Nat. Res. Cancer 2004. v.4 №7. P. 540-550.

9. Fidler I.J. The organ microenvironvent and cancer metastasis // Differentiation. – 2002. – V. 70. – №9-10. – P.498-505.

10. Ichihara F., Kono K., Takahashi A. et al. Increased population of regulatory T-cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers // Clin. Cancer Res. – 2003. – V.9. – P. 4404-4408.

11. Lewis C.E., Pollard W.J. Distinct role of macrophages in different tumor microenvirontments // Cancer Res. – 2006. – № 66(2). – P. 605-612.

12. Nakamura T., Fidler I.J., Coombes K.R. Gene expression profile of metastatic human pancreatic cancer cells depends on the organ microenvironment // Cancer Research. – 2007. – V. 67. – №1. – P. 139-148.

13. Pages F. et al. Effector memory T cells, early metastasis, and survival in colorectal cancer / Pages F., Berger A., Camus M., Sanchez-Cabo F., Costes A., Molidor R., Mlecnik B., Kirilovsky A. Nilsson M., Damotte D., Meatchi T., Bruneval P., Cugnenc P.H., Trajanoski Z., Fridman W.H., Galon J. // N. Engl. J Med. – 2005. – Vol. 353. – P. 2654-2666.

14. Pollard J.W. Tumor-educated macrophages promote tumor progression and metastasis // Nat. Rev. Cancer. – 2004. – V.4. – №1. – P. 71-78.

15. Zlatnik E.Y., Nikipelova E.A., Shaposhnikov A.V. Immunologic microenvironment in colon tumor patients // Experimental oncology. Sept. – 2010. – V.32. Suppl. – P. 27.