

УДК: 616.65-006.6:[091.8+071]

Яковцова И. И., Ткаченко П. В., Ивахно И. В.

ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОКЛЕТОЧНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ В ТУМОРОГЕНЕЗЕ И ПРОГНОЗЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Харьковская медицинская академия последипломного образования

(г. Харьков)

pasha1987tkachenko@gmail.com

Данная работа является фрагментом научно-исследовательской работы Харьковской медицинской академии последипломного образования МОЗ Украины «Нанотехнологии в химиотерапии злокачественных опухолей у взрослых и детей», № государственной регистрации 0113U000972 (2013-2017 г.).

Вступление. Хроническое воспаление является основным фактором патогенеза порядка 20% раков, среди которых рак толстой кишки у больных неспецифическим язвенным колитом, рак печени при гепатите С и В, лимфома желудка, вызванная *Helicobacter pylori*. Хроническое воспаление может быть вовлечено в развитие и прогрессию рака предстательной железы (РПЖ), с другой стороны иммунноклеточная инфильтрация может носить защитный характер и являться прогностическим признаком менее агрессивного клинического поведения опухолей [3,9].

Влияние воспалительных процессов на прогрессию РПЖ осуществляется через генерацию активных форм кислорода, что вызывает повреждение ДНК и мутагенез, через продукцию провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, CCL-5, CCL-2, Stat3 и пр.) и факторов роста (HIF-1 α , RANK, TGF- β , VEGF, TNF и пр.), активирующих паракринным путем различные сигнальные пути, вызывающие пролиферацию и анти-апоптоз, миграцию и инвазию раковых клеток, угнетение противоопухолевого иммунного ответа, резистентность к химиотерапии и андроген-депривационной терапии, эпителиально-мезенхимальную и нейроэндокринную трансформацию (ЭМТ и НЭТ) [6,14].

В целом, научные работы позволяют утверждать, что воспалительная инфильтрация при РПЖ коррелирует с более агрессивным клиническим их поведением [1]. Однако, сведения отдельных авторов противоречивы [13,15] и остается неясным, является ли воспаление причиной и фактором, влияющим на биологическое поведение РПЖ, или следствием прогрессии рака [14].

Целью исследования явилось изучение особенностей иммунноклеточной инфильтрации доброкачественной патологии и РПЖ для определения прогностического значения воспалительных реакций и механизмов его вовлечения на туморогенез и опухолевую прогрессию.

Объект и методы исследования. Материалом послужили микропрепараты, изготовленные по стандартной методике с окраской Г+Э, 8 случаев но-

дулярной гиперплазии предстательной железы (ПЖ) (НГПЖ), 8 случаев простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН) и 40 случаев РПЖ. Средний возраст пациентов с НГПЖ составил $67,7 \pm 9,1$ лет, пациентов с ПИН – $69,0 \pm 6,9$ лет, с РПЖ – $69,5 \pm 7,9$ лет. Средний уровень простат специфического антигена (ПСА) крови у пациентов с НГПЖ, ПИН и РПЖ составил $5,6 \pm 3,9$ нг/мл, $7,4 \pm 5,4$ нг/мл и $19,1 \pm 28,2$ нг/мл соответственно.

Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием моноклональных антител фирмы DAKO к CD3, CD4, CD8 – маркерам Т-лимфоцитов, CD20 – В-лимфоцитов, CD68 – макрофагов, Ki-67 – маркеру пролиферативной активности, рецептору андрогенов (РА), TGF- β (трансформирующему фактору роста β), VEGF (фактору роста эндотелия сосудов), CD34 – маркеру эндотелия сосудов, Е-кадгерину – маркеру межклеточной адгезии эпителия, виментину – межклеточному филаменту и маркеру мезенхимальных клеток, p63 – маркеру базальных клеток ацинусов.

Степень мононуклеарной инфильтрации распределяли на слабую – наличие единичных клеток, умеренную – участки сливного характера инфильтрата без формирования лимфоидных фолликулов и без деструкции тканей и выраженную – с лимфоидными фолликулами или диффузной инфильтрацией [11]. «Высокая» степень инфильтрации считалась при выраженной и умеренной ее степени, «низкая» – при слабой и ее отсутствии. Программой для морфометрических исследований послужила ImageJ. Подсчет иммунокомпетентных клеток проводили на микрофотографиях, выполненных при увеличении микроскопа $\times 400$, что составляет площадь $5,7 \times 10^4$ мкм² (0,057 мм²). Из 170 клеток инфильтрата в участках наибольшей их концентрации – «hot spot» рассчитывали число Т-, В-лимфоцитов и макрофагов. Учитывалась инфильтрация в строме и эпителии, в участках опухоли и на ее поверхности.

Группами исследования явились НГПЖ, ПИН и РПЖ; РПЖ с суммой Глисона (СГ) 6, 7 (3+4), 7 (4+3), 8 и 9–10 – по 8 случаев; РПЖ слабого риска (ПСА до 10 нг/мл, сT1-2a, СГ 6) – 4 случая, промежуточного риска (ПСА 10–20 нг/мл, или сT2b, или СГ 7) – 10 случаев, высокого риска (ПСА более 20, или сT2c, или СГ 8–10) – 26 случаев.

Статистическое исследование проводили с использованием программы STATISTICA 6.0. Взаимос-

Взаимосвязь абсолютного числа макрофагов, Т- и В-лимфоцитов при доброкачественной патологии и раке ПЖ

Иммунокомпетентные клетки патология ПЖ	Макрофаги (CD68+)	Т-лимфоциты (CD3+)	В-лимфоциты (CD20+)
НГПЖ	9±1,1*	107,8±3,5	53,1±3,2
ПИН	12,6±1,2*	108±2,6	49,3±2,7
РПЖ	18,6±0,8	105,8±0,6	45,5±1,0
РПЖ слабого риска	13,2±1,9	111±2,2	45,5±3,5
промежуточного	14,8±1,3	109±1,7	46,3±2,1
высокого	21,5±1,9*	103±3,1	45,0±2,7

Примечание: * – наличие статистически значимого различия между группами исследования по числу иммунокомпетентных клеток (p<0,05).

вязь между признаками оценивали методом χ -квадрат Пирсона и с расчетом показателя корреляции r Спирмана. Для установления различия между группами применяли методы Манна-Уитни, t-критерий Стьюдента. Статистически значимым считался уровень достоверности p<0,05.

Результаты исследования и их обсуждение. Инфильтрация иммунокомпетентными клетками при НГПЖ, ПИН и РПЖ наблюдалась в 87,5%, 100% и 100% соответственно, ее наличие и степень выраженности не отличалась между группами исследования, не зависела от СГ и риска рецидивирования ($\chi^2=2,6$, p>0,05 и $\chi^2=0,6$, p>0,05).

Степень выраженности инфильтрации на поверхности РПЖ была несколько больше, чем на его периферии, располагалась у зон опухолевой инвазии, не зависела от СГ и принадлежности к группам риска.

В составе инфильтрата РПЖ присутствуют Т-лимфоциты (CD3+), среди которых Т-хелперы (CD4+), частично представленные регуляторными Т-лимфоцитами (Foxp3+), Т-киллеры (CD8+), натуральные киллеры (CD56+), В-лимфоциты (CD20+), макрофаги (CD68+), дендритные клетки (CD204+, CD83+), тучные клетки (CD117+), в некоторых случаях – малое число эозинофилов, плазматических клеток, нейтрофильных лейкоцитов [9,17].

В составе иммуноклеточного инфильтрата как доброкачественной, так и злокачественной патологии ПЖ преобладали Т-лимфоциты, которые составляли от 53% до 85% от общего его числа. Большинство лимфоцитов экспрессировали Ki-67, что определяет их активное состояние и участие в формировании микроокружения опухоли. При подсчете Т-, В- лимфоцитов и макрофагов в поле зрения микроскопа (Ч400) в участках наибольшей инфильтрации различия между НГПЖ, ПИН и РПЖ выявлено лишь в числе макрофагов, которые в среднем составили 9±1,1, 12,6±1,1 и 18,6±0,8 соответственно (p<0,05, p<0,001, p<0,001). Нарастало также число макрофагов в РПЖ по мере роста СГ: при СГ 6 – 13,3±4,4, СГ 7 (4+3) – 19,1±2,5 (p<0,05), СГ 9–10 – 24,2±4,8 (p<0,001 и p<0,03 соответственно). В группе высокого риска число макрофагов было наибольшее – 21,5±4,7, что превышает число макрофагов в группах слабого и промежуточного риска (p<0,03 и p<0,001 соответственно) (**табл.**). При НГПЖ и ПИН макрофаги инфильтрировали строму, при ПИН отмечено расположение макрофагов и лимфоцитов у базальной мембраны в участках частичной утраты экспрессии эпителиальными клетками ацинусов маркера p63. В РПЖ 85%±3,8 макрофагов локализовались в строме и 15%±5,1 в эпителии. Отмечена выраженная ассоциация между числом интраэпителиальных макрофагов и принадлежности рака к группе высокого риска (p<0,0001) и СГ 9-10 (p<0,0001), а при учете лишь макрофагов стромы, различий между их числом и группами риска и СГ РПЖ отсутствовало. Также интраэпителиальная локализация отмечена CD8+ лимфоцитов.

В-лимфоциты (CD20+) инфильтрировали лишь строму и присутствовали в составе лимфоидных фолликулов. Выявлена тенденция в снижении абсолютного и относительного числа CD20+ лимфоцитов в ПИН (28,6%±9,1 от числа клеток инфильтрата) по сравнению с НГПЖ (31,2%±7,4) и РПЖ (26,8%±5,4), а также в группе высокого риска (25,4%±2,6).

Т-хелперы (CD4+) локализовались исключительно в строме и парафолликулярных зонах. Выявлена тенденция роста отношения абсолютного и относительного числа CD4+ лимфоцитов при ПИН (37,7%±10 от числа клеток инфильтрата) по сравнению с НГПЖ (36,9%±11) и РПЖ (39,3%±11), высокого риска и соответственно роста отношения CD4+ к CD3+ лимфоцитов – 0,58±0,1 при НГПЖ и ПИН, 0,63±0,09 при РПЖ, 0,7±0,1 в группе высокого риска, а также отношения CD4+ к CD8+ лимфоцитов – 1,39±0,8 при НГПЖ, 1,48±0,5 при ПИН, 1,82±0,5 при РПЖ и 1,98±0,5 в РПЖ высокого риска.

Известно влияние Т-хелперов 2 типа (CD4+ Th2) на рост опухоли через ингибирование активности эффекторных Т-клеток, ведущее к нивелированию противоопухолевого иммунного ответа [6], а повышение инфильтрации РПЖ регуляторными Т-лимфоцитами (Treg), составляющими 10-15% CD4+ клеток [12], ведет к стимуляции выработки опухолью хемокинов и прогрессии рака [1]. В РПЖ доминирует Th2/Treg лимфоцитарный профиль, который является прогностическим критерием неблагоприятного прогноза [9], а повышение числа CD4+ клеток ассоциируется с неблагоприятным прогнозом пациентов после радикальной простатэктомии [10]. В-лимфоциты вместе с дендритическими клетками могут участвовать в антигенпрезентирующей функции [16], их инфильтрация больше в опухоли, чем в окружающих тканях [18]. Однако, число В-лимфоцитов РПЖ не влияет на его клиническое поведение [4,16].

При сравнении выраженности иммуноклеточной инфильтрации с уровнем экспрессии эпителием и стромой НГПЖ, ПИН и РПЖ следующих исследованных маркеров: PA, p63, TGF- β , VEGF, Е-кадгерина, виментина, MMP-9, – зависимости по каждому из них не выявлено. Однако, при сравнении участков РПЖ с наибольшей иммуноклеточной инфильтрации периферии опухоли («hot spot») с участками отсутствия или слабой инфильтрации выявлено возрастание уровня экспрессии CD34 (p<0,01), стромального

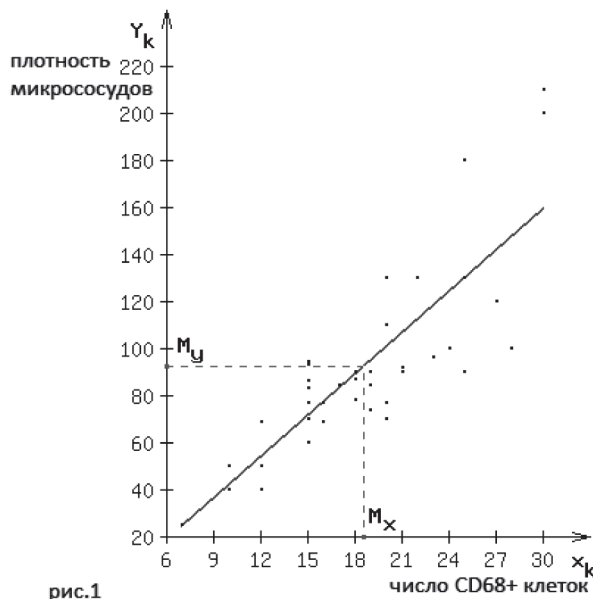


рис.1

Графики линии регрессии демонстрируют корреляцию между числом макрофагов и ПМС ($p < 0,01$) – рис. 1, экспрессии рецепторов андрогена ($p < 0,01$) – рис. 2, экспрессии Е-кадгерина ($p < 0,05$) – рис. 3.

VEGF ($p < 0,01$), TGF- β ($p < 0,05$) эпителием и снижение экспрессии PA эпителием ($p < 0,01$), сохранение экспрессии PA стромы тех же зон опухоли.

Более выраженная зависимость возрастания экспрессии CD34 ($p < 0,01$), VEGF ($p < 0,01$), а также ассоциация возрастания экспрессии TGF- β ($p < 0,01$) и виментина эпителием ($p < 0,01$), снижение или утрата экспрессии Е-кадгерина ($p < 0,05$) и PA эпителием ($p < 0,01$), но не стромой, – наблюдалась при учете абсолютного числа макрофагов в зонах наибольшей иммуноклеточной инфильтрации (рис. 1-3). При учете уровня экспрессии маркеров во всей опухоли и числом макрофагов в участках «hot spot» – зависимости не наблюдалось. Макрофаги характеризовались преимущественно выраженной экспрессией PA и MMP-9.

Таким образом, показано вовлечение макрофагов в туморогенез, рост и прогрессию РПЖ, связь со снижением его дифференцировки и высоким риском рецидивирования. Известно, что макрофаги осуществляют свое влияние на опухоль через сигнальные пути M1, M2, AR-CCL4-pSTAT3, NF- κ B. M1 путь с участием interferon- γ , ряда провоспалительных цитокинов (IL1B, IL6, IL12 и TNF) и хемокинов (CCL5, CCL7, CXCL9, CXCL10 и CXCL16) направлен против опухолевой активности через антигенпрезентирующую функцию макрофагов и привлечением Т-хелперов 1 (Th1), цитотоксических Т-лимфоцитов [1,9,16]. M2 путь, встречающийся при хроническом воспалении в заживающих ранах, с явлениями фагоцитоза, иммуносупрессии и участия в механизмах ускользания опухолевых клеток от иммунного надзора через иммуносупрессорные цитокины (TGFB, IL10, IL-3, IL-4) и хемокины (CCL17, CCL22, CCL24CCL2, CSF-1, VEGF, COX-2), привлекает и активирует Т-хелперы 2 и регуляторные Т-лимфоциты, которые ингибируют активность цитотоксических лимфоцитов, оказыва-

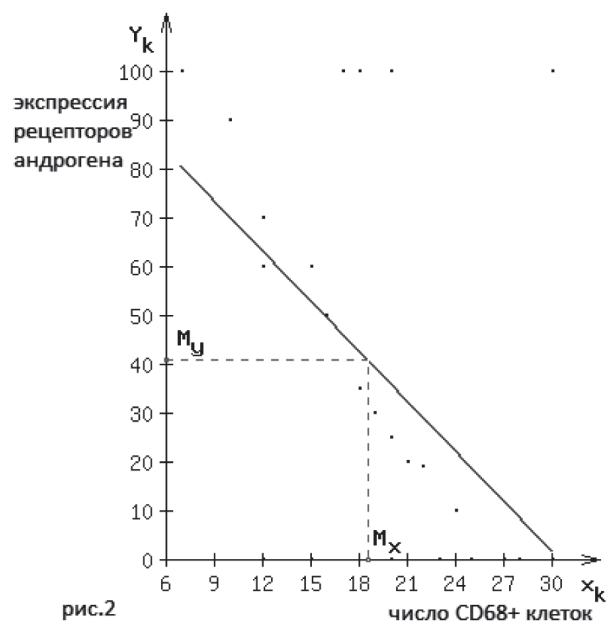


рис.2

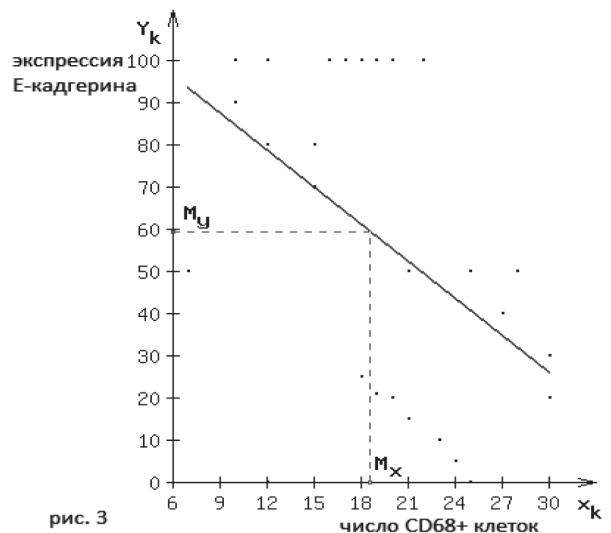


рис. 3

ет влияние на клеточную пролиферацию, ангиогенез, ремодулирование стромы, иммуносупрессию [1,9]. В РПЖ преобладают M2 макрофаги, что объясняет их влияние на прогрессию рака, в отличие от раков некоторых других локализаций, например колоректального, где преобладают M1 макрофаги с их защитной противоопухолевой ролью [9]. Другой сигнальный путь гормонозависимый, связанный с влиянием андрогенов. Макрофаги через AR-CCL4-pSTAT3 сигнальный путь индуцируют туморогенез и прогрессию РПЖ с процессами ЭМТ [7], а супрессия андроген/AR-сигнального пути в макрофагах и раковых клетках вызывает ингибирование роста РПЖ. В андроген-резистентных РПЖ возможна активация сигнального пути CCL2/CCR2-pSTAT3, вызывающего процессы ЭМТ с метастазированием [5].

Ключевым фактором роста, участвующим в процессах ЭМТ является TGF- β , экспрессия которого ассоциируется с воспалением в ПЖ. TGF- β регулирует пролиферацию и дифференцировку клеток стромы и является контролирующим фактором влияния ан-

дрогенов на рост ПЖ [2]. TGF- β регулирует экспрессию IL-8 [8], который коррелирует с уровнем MMP опухоли и влияет на метастазирование РПЖ [3]. В данной работе показана взаимосвязь повышения в очагах иммунноклеточной и макрофагальной инфильтрации уровня экспрессии TGF- β , появление виментина и снижение Е-кадгерина, что является свидетельствами ЭМТ раковых клеток.

Выводы

1. Выраженность иммунноклеточной инфильтрации не влияет на туморогенез и не зависит от СГ и принадлежности к группам риска. На поверхности РПЖ имеется тенденция к более выраженной иммунноклеточной инфильтрации, преимущественно в зонах инвазии.

2. Абсолютное число макрофагов является критерием прогноза РПЖ и возрастает в ПИН по сравнению с НГПЖ ($p < 0,05$), в РПЖ по сравнению с ПИН ($p < 0,001$), наибольшее в группе высокого риска ($p < 0,001$). При ПИН выраженная макрофагальная инфильтрация наблюдалась вблизи ацинусов с частичной утратой экспрессии р63. В РПЖ наибольшая ассоциация повышения числа макрофагов в зависимости от СГ и принадлежности к группам риска была за счет эпителиальной их локализации ($p < 0,0001$ и $p < 0,0001$ соответственно).

3. Не выявлено зависимости в уровне инфильтрации CD20+, CD3+, CD4+, CD8+ лимфоцитов между доброкачественной патологией ПЖ, РПЖ и группами риска, однако в РПЖ и группе высокого риска отмечена тенденция снижения относительного числа CD20+-лимфоцитов, роста отношения CD3+/CD20+ и CD4+/CD3+, а также появление внутриэпителиальной локализации CD8+ лимфоцитов.

4. В очагах наибольшей иммунноклеточной инфильтрации РПЖ показано возрастание экспрессии VEGF, TGF- β , снижение экспрессии PA эпителием, большая ПМС.

5. Макрофаги вовлечены в процессы неоваскуляризации, опухолевой прогрессии и ЭМТ. Абсолютное число макрофагов в зонах наибольшей иммунноклеточной инфильтрации ассоциируется с повышением ПМС, экспрессии VEGF, TGF- β , появлением виментина и снижением Е-кадгерина и PA эпителием, сохранением и повышением экспрессии PA и MMP-9 в макрофагах.

Перспективы дальнейших исследований.

Дальнейшее исследование значения микроокружения РПЖ, а именно иммунных клеточных реакций, неоангиогенеза, соединительнотканного компонента на молекулярно-биологическом уровне даст возможность более точному прогнозу РПЖ и выбору адекватной лечебной тактики.

Литература

1. Božo Kruljlin Inflammation in Prostatic Hyperplasia and Carcinoma – Basic Scientific Approach / Božo Kruljlin, Davor Tomas, Tihana Džombeta [et al.] // *Frontiers in Oncology*. – 2017. – Vol. 7, Article 77. – 7 p.
2. Descazeaud A. Transforming growth factor β -receptor II protein expression in benign prostatic hyperplasia is associated with prostate volume and inflammation / A. Descazeaud, N. Weinbreck, G. Robert [et al.] // *BJU Int*. – 2011. – Vol. 108. – P. 23-28.
3. Elkahwaji J.E. The role of inflammatory mediators in the development of prostatic hyperplasia and prostate cancer / J.E. Elkahwaji // *Research and Reports in Urology*. – 2013. – Vol. 5 – P. 1-10.
4. Flammiger A. Intratumoral T but not B lymphocytes are related to clinical outcome in prostate cancer / A. Flammiger, F. Bayer, A. Cirugeda-Kuhnert [et al.] // *APMIS*. – 2012. – Vol. 120. – P. 901-908.
5. Izumi Kouji Androgen receptor and immune inflammation in benign prostatic hyperplasia and prostate cancer / Kouji Izumi, Lei Li, Chawnschang Chang // *Clin. Investig. (Lond.)*. – 2014. – 4 (10). – P. 935-949.
6. Jinlu Dai Immune mediators in the tumor microenvironment of prostate cancer / Jinlu Dai, Yi Lu, Hernan Roca [et al.] // *Chin. J. Cancer*. – 2017. – 36:29. – 8 p.
7. Lei-Ya Fang Infiltrating macrophages promote prostate tumorigenesis via modulating androgen receptor-mediated CCL4-STAT3 signaling / Lei-Ya Fang, Kouji Izumi, Kuo-Pao Lai [et al.] // *Cancer Res*. – 2013. – 73 (18).
8. Lu S. Characterization of TGF- β -regulated interleukin-8 expression in human prostate cancer cells / S. Lu, Z. Dong // *Prostate*. – 2006. – 66 (9). – P. 996-1004.
9. Lundholm M. Secreted Factors from Colorectal and Prostate Cancer Cells Skew the Immune Response in Opposite Directions / M. Lundholm, C. Hdggluif, M.L. Wikberg // *Scientific RepoRts*. – 2015. – 5:15651. – 12 p.
10. McArdle P.A. The relationship between T-lymphocyte subset infiltration and survival in patients with prostate cancer / P.A. McArdle, K. Canna, D.C. McMillan [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2004. – Vol. 91. – P. 541-543.
11. Nickel J.C. Consensus development of a histopathological classification system for chronic prostatic inflammation / J.C. Nickel, L.D. True, L.N. Krieger [et al.] // *BJU Int*. – 2001. – Vol. 87. – P. 797-805.
12. Philippe O.G. Immunooncology of human prostate cancer: phenotypical characterization and study of the tumor-derived, androgen-regulated immunosuppressive microenvironment / O.G. Philippe, J.C. Labbй, A.M. Mes-Masson [et al.]. – Mars, 2010. – 248 p.
13. Prahara Y. Association between tumor-associated macrophages and microvessel density on prostate cancer progression / Y. Prahara, Z.H. Ahmad, D. Raden // *Prostate international*. – 2015. – Vol. 3, Is. 3. – P. 93-98.
14. Strasner A. Immune infiltration and prostate cancer / A. Strasner, M. Karin // *Frontiers in Oncology*. – 2015. – Vol. 5, Article 128. – 10 p.
15. Shimura S. Reduced Infiltration of tumor-associated macrophages in human prostate cancer: association with cancer progression / S. Shimura, G. Yang, S. Ebara [et al.] // *Cancer Res*. – 2000. – Vol. 60. – P. 5857-5861.
16. Tucker Jo A. Immunotherapy: Shifting the Balance of Cell-Mediated Immunity and Suppression in Human Prostate Cancer / Jo A. Tucker, C. Jochems, J.L. Gulley [et al.] // *Cancers*. – 2012. – Vol. 4. – P. 1333-1348.
17. Vykhovanets E.V. IL-17 Expression by macrophages is associated with proliferative inflammatory atrophy lesions in prostate cancer patients / E.V. Vykhovanets, G.T. MacLennan, O.V. Vykhovanets, S. Gupta // *Int. J. Clin. Exp. Pathol*. – 2011. – 4 (6). – P. 552-565.
18. Woo J.R. Tumor infiltrating B-cells are increased in prostate cancer tissue / J.R. Woo, M.A. Liss, M.T. Muldong [et al.] // *Journal of Translational Medicine*. – 2014. – 12:30. – 9 p.

УДК: 616.65-006.6:[091.8+071]

ЗНАЧЕННЯ ІМУНОКЛІТИННОЇ ІНФІЛЬТРАЦІЇ В ТУМОРОГЕНЕЗІ ТА ПРОГНОЗІ РАКУ ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

Яковцова І. І., Ткаченко П. В., Івахно І. В.

Резюме. Запалення може брати участь в процесах туморогенезу, бути критерієм прогнозу раку і мішенню для протипухлинної терапії. Метою дослідження було вивчення особливостей іммуноклітинної інфільтрації раку передміхурової залози (РПЗ) для виявлення механізмів залучення запалення в канцерогенез і визначення його прогностичного значення.

Інфільтрація іммунокомпетентними клітинами при нодулярній гіперплазії передміхурової залози (НГПЗ), простатичної інтраепітеліальної неоплазії (ПІН) та РПЗ спостерігалася в 87,5%, 100% і 100% відповідно. Виразність іммуноклітинної інфільтрації не впливає на туморогенез і не залежить від суми Глісон (СГ) і приналежності до груп ризику. Ступінь вираженості інфільтрації на поверхні РПЗ була дещо більше, ніж на його периферії, розташовувалася у зоні інвазії раку, так само не залежала від СГ і приналежності до груп ризику.

У складі іммуноклітинного інфільтрату, як доброякісної, так і зляканої патології ПЗ, переважали Т-лімфоцити, які становили від 53% до 85% від загальної її кількості. Виявлено, що з досліджених клітин іммуноклітинного інфільтрату (CD68 +, CD20 +, CD3 +, CD4 +, CD8 +) лише макрофаги залучені у канцерогенез та формування агресивного фенотипу РПЗ, що здійснюється через процеси неоваскуляризації, ЕМТ і асоціюється з пухлинною прогресією. Абсолютне число CD68+ макрофагів в зонах найбільшої іммуноклітинної інфільтрації склало при НГПЗ, ПІН та РПЗ в середньому $9 \pm 1,1$, $12,6 \pm 1,1$ і $18,6 \pm 0,8$ відповідно, відмінності достовірні ($p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$). Наростання абсолютного числа макрофагів асоціювалося з РПЗ ($p < 0,05$), СГ 9-10 ($p < 0,05$), групою високого ризику ($p < 0,05$).

При порівнянні вираженості іммуноклітинної інфільтрації з рівнем експресії епітелію та строми НГПЗ, ПІН та РПЗ наступних досліджених маркерів: PA, P63, TGF- β , VEGF, E-кадгерінов, віментину, Ki-67, CD34 – залежно по кожному з них не виявлено. У РПЗ коефіцієнт кореляції по маркерами: VEGF, TGF- β , PA епітелію та строми, E-кадгерінов, віментину, ЩМС відповідно склало -0,02, -0,03, 0,01, 0,03, 0,018, -0, 18 відповідно ($p > 0,05$). Однак при порівнянні ділянок РПЗ з найбільшою іммуноклітинною інфільтрацією периферії пухлини (hot spot) з ділянками відсутності або слабкої інфільтрації виявлено зростання рівня експресії CD34 ($p < 0,01$), стромального VEGF ($p < 0,01$), TGF- β ($p < 0,05$) епітелієм і зниження експресії PA епітелієм ($p < 0,01$), збереження і тенденція зростання експресії PA строми тих же зон пухлини.

У ділянках РПЗ поблизу іммуноклітинної інфільтрації периферії пухлини число CD68+ клітин асоціювалося з підвищенням ЩМС ($p < 0,05$), експресією VEGF ($p < 0,05$), TGF- β ($p < 0,05$), появою віментину ($p < 0,05$), зниженням E-кадгерінов ($p < 0,05$), збереженням і підвищенням експресії PA ($p > 0,05$) в макрофагах.

Не виявлено залежності в рівні інфільтрації CD20 +, CD3 +, CD4 +, CD8 + лімфоцитів між доброякісною патологією ПЗ, РПЗ і групами ризику, проте в РПЗ і групі високого ризику відзначена тенденція зниження відносного числа CD20 + -лімфоцитів, зростання відносини CD3 + / CD20 + і CD4 + / CD3 +, а також поява внутрішньоепітеліальної локалізації CD8 + лімфоцитів.

Ключові слова: рак передміхурової залози, запалення, іммуноклітинна інфільтрація.

УДК: 616.65-006.6:[091.8+071]

ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОКЛЕТОЧНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ В ТУМОРОГЕНЕЗЕ И ПРОГНОЗЕ РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Яковцова И. И., Ткаченко П. В., Ивахно И. В.

Резюме. Воспаление может участвовать в процессах туморогенеза, являются критерием прогноза рака и мишенью для противоопухолевой терапии. Целью исследования явилось изучение особенностей иммунноклеточной инфильтрации рака предстательной железы (РПЖ) для выявления механизмов вовлечения воспаления в канцерогенез и определения его прогностического значения.

Инфильтрация иммуннокомпетентными клетками при нодулярной гиперплазии предстательной железы (НГПЖ), простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН) и РПЖ наблюдалась в 87,5%, 100% и 100% соответственно. Выраженность иммунноклеточной инфильтрации не влияет на туморогенез и не зависит от суммы Глисона (СГ) и принадлежности к группам риска. Степень выраженности инфильтрации на поверхности РПЖ была несколько больше, чем на его периферии, располагалась у зон инвазии рака, так же не зависела от СГ и принадлежности к группам риска.

В составе иммунноклеточного инфильтрата, как доброкачественной, так и злокачественной патологии ПЖ, преобладали Т-лимфоциты, которые составляли от 53% до 85% от общего его числа. Виявлено, что из исследованных клеток иммунноклеточного инфильтрата (CD68+, CD20+, CD3+, CD4+, CD8+) лишь макрофаги вовлечены в канцерогенез и формирование агрессивного фенотипа РПЖ, что осуществляется через процессы неоваскуляризации, ЭМТ и ассоциируется с опухолевой прогрессией. Абсолютное число CD68+ макрофагов в зонах наибольшей иммунноклеточной инфильтрации составило при НГПЖ, ПИН и РПЖ в среднем $9 \pm 1,1$, $12,6 \pm 1,1$ и $18,6 \pm 0,8$ соответственно, различия достоверны ($p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$). Нарастание абсолютного числа макрофагов ассоциировалось с РПЖ ($p < 0,05$), СГ 9-10 ($p < 0,05$), группой высокого риска ($p < 0,05$).

При сравнении выраженности иммунноклеточной инфильтрации с уровнем экспрессии эпителием и стромой НГПЖ, ПИН и РПЖ следующих исследованных маркеров: PA, p63, TGF- β , VEGF, E-кадгерина, виментина,

Ki-67, CD34 – залежності по кожному з них не виявлено. В РПЖ коефіцієнт кореляції по маркерам: VEGF, TGF- β , PA епітелія і стромы, E-кадгерина, виментина, ПМС відповідно склав -0,02, -0,03, 0,01, 0,03, 0,018, -0,18 відповідно ($p > 0,05$). Однак при порівнянні ділячок РПЖ з найбільшою іммуноклеточною інфільтрацією периферії пухлики (hot spot) з ділянками відсутності або слабкої інфільтрації виявлено зростання рівня експресії CD34 ($p < 0,01$), стромального VEGF ($p < 0,01$), TGF- β ($p < 0,05$) епітелієм і зниження експресії PA епітелієм ($p < 0,01$), збереження і тенденція зростання експресії PA стромы тих же зон пухлики.

В ділянках РПЖ поблизу іммуноклеточної інфільтрації периферії пухлики кількість CD68+кліток асоціювалося з підвищенням ПМС ($p < 0,05$), експресією VEGF ($p < 0,05$), TGF- β ($p < 0,05$), появою виментина ($p < 0,05$), зниженням E-кадгерина ($p < 0,05$), збереженням і підвищенням експресії PA ($p > 0,05$) в макрофагах.

Не виявлено залежності в рівні інфільтрації CD20+, CD3+, CD4+, CD8+ лімфоцитів між доброякісної патологією ПЖ, РПЖ і групами ризику, однак в РПЖ і групі високого ризику відзначена тенденція зниження відносного числа CD20+-лімфоцитів, зростання відношення CD3+/CD20+ і CD4+/CD3+, а також появу внутрієпітеліальної локалізації CD8+ лімфоцитів.

Ключові слова: рак передстатальної залози, запалення, іммуноклеточна інфільтрація.

UDC: 616.65-006.6:[091.8+071]

THE IMPORTANCE OF IMMUNOCYTOCELLULAR INFILTRATION IN TUMORIGENESIS AND PROSTATE CANCER PROGNOSIS

Yakovtcova I. I., Tkachenko P. V., Ivakhno I. V.

Abstract. Inflammation can participate in tumorigenesis processes and be a prognostic criterion of cancer and target for antitumor therapy. Purpose of the study is investigation of immunocellular infiltration of prostate cancer in order to identify mechanisms of inflammation in carcinogenesis and determination of its prognostic value.

Immunocompetent cells infiltration at nodular hyperplasia of the prostate, prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer was observed in 87,5%, 100% and 100% correspondingly. The intensity of immunocellular infiltration does not influence tumorigenesis and does not depend on Gleason grading system and risk group belonging. Degree of infiltration intensity on the surface of prostate cancer was slightly greater than on its periphery and was located in the zones of cancer invasion and also does not depend on Gleason grading system and risk group belonging.

The composition of immunocellular infiltration at both benign and malignant prostate pathology T-lymphocytes prevailed and ranged from 53% to 85% of its total number. It was revealed that among the investigated cells of immunocellular infiltration (CD68 +, CD20 +, CD3 +, CD4 +, CD8 +) only macrophages are involved in carcinogenesis and formation of prostate cancer aggressive phenotype, which is implemented through the processes of neovascularization, epithelial-mesenchymal transformation and is associated with tumor progression. The absolute number of CD68 + macrophages in the areas of greatest immunocellular infiltration at nodular hyperplasia of the prostate, prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer on the average was $9 \pm 1,1$, $12,6 \pm 1,1$ and $18,6 \pm 0,8$ with high reliability ($p < 0,05$, $p < 0,001$, $p < 0,001$) correspondingly. Increasing of absolute number of macrophages was associated with prostate cancer ($p < 0,05$), Gleason sum 9-10 ($p < 0,05$) and high-risk group ($p < 0,05$).

At comparison of immunocellular infiltration with the level of expression of epithelium and stroma of nodular hyperplasia of the prostate, prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer of the following markers were studied: PA, p63, TGF- β , VEGF, E-cadherin, vimentin, Ki-67, CD34 – correlation for each of them was not revealed. At prostate cancer correlation coefficient for markers: VEGF, TGF- β , cancer antigen of epithelium and stroma, E-cadherin, vimentin, micro vessels density was -0,02, -0,03, 0,01, 0,03, 0,018, -0,18, correspondingly ($p > 0,05$). However, at comparison the areas of prostate cancer with the greatest immunocellular infiltration on the periphery of the tumor (hot spot) with areas of absence or weak infiltration an increasing of CD34 level expression ($p < 0,01$) as well as stromal VEGF ($p < 0,01$), epithelial TGF- β ($p < 0,05$) were revealed and decreasing of cancer antigen expression by epithelium ($p < 0,01$), the preservation and growth tendency of cancer antigen expression in the stroma of the same tumor zones.

In the areas of prostate cancer near the immunocellular infiltration of tumor periphery the number of CD68+ cells was associated with increasing of micro vessels density ($p < 0,05$), VEGF expression ($p < 0,05$), TGF- β ($p < 0,05$), appearance of vimentin ($p < 0,05$), decreasing of E-cadherin ($p < 0,05$), preservation and increasing of cancer antigen expression ($p > 0,05$) in macrophages.

There was no correlation in infiltration level of CD20 +, CD3+, CD4+, CD8+ lymphocytes between the benign pathology of the prostate, the prostate cancer and the risk groups. However, in the prostate cancer and high-risk groups the tendency of relative number of CD20+ lymphocytes decreasing was revealed as well as CD3+/CD20+ and CD4+/CD3+ ratio increasing and intraepithelial localization of CD8+ lymphocytes appearance.

Prospects of further research. Further study of value of the prostate cancer microenvironment (immune cell reactions, neoangiogenesis, connective tissue component) on the molecular-biological level will give an opportunity for more accurate prognosis of prostate cancer and adequate therapeutic tactics selection.

Keywords: prostate cancer, inflammation, immunocellular infiltration.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 15.08.2017 року