

ОСОБЕННОСТИ СУБПОПУЛЯЦИОННОГО СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ ПРИ КОМБИНИРОВАННОМ ЛЕЧЕНИИ С ВКЛЮЧЕНИЕМ АДОПТИВНОЙ ИММУНОТЕРАПИИ

Е.В. Абакушина, Ю.В. Маризина, Г.С. Неприна, Д.В. Кудрявцев,
И.А. Пасова, Н.В. Селиванова

*ФГБУ «Медицинский радиологический научный центр» Минздрава России, г. Обнинск
249036, Калужская область, г. Обнинск, ул. Королева, 4, e-mail: abakushina@mail.ru*

В практической иммунологии клеточный иммунитет принято оценивать по дифференцировочным антигенам или CD-маркерам. Обычно для оценки состава клеточного звена иммунитета используется панель маркеров из 6–8 показателей. В данном исследовании оценивали не только субпопуляционный состав Т-, В-, NK-, NKT-лимфоцитов, но и маркеры активации (HLA-DR, CD25, CD38, CD69, CD314) методом проточной цитофлуориметрии. Показано, что для 20 пациентов с диссеминированным раком толстой кишки характерно повышение относительного и абсолютного содержания Трег-лимфоцитов и NK-клеток, а также альфа-цепи рецептора IL-2 (CD25) на лимфоцитах. У 30 больных метастатической меланомой кожи также выявлено повышенное содержание CD25⁺ клеток и Трег-лимфоцитов. При сравнительном анализе экспрессии маркеров активации на лимфоцитах было отмечено, что у больных раком толстой кишки повышено содержание активированных CD314⁺, CD69⁺NK-клеток, а у пациентов с меланомой наблюдалось увеличение количества активированных CD95⁺ и CD38⁺T-лимфоцитов. Данную панель маркеров можно использовать для мониторинга иммунного статуса онкологических больных на этапах лечения.

Ключевые слова: фенотип лимфоцитов, маркеры активации, меланома, рак прямой кишки, проточная цитофлуориметрия.

CHARACTERISTICS OF LYMPHOCYTE SUBPOPULATION COMPOSITION IN CANCER PATIENTS UNDERGOING COMBINED MODALITY TREATMENT INCLUDING ADAPTIVE IMMUNOTHERAPY

E.V. Abakushina, Yu.V. Marizina, G.S. Neprina, D.V. Kudryavtsev, I.A. Pasova, N.V. Selivanova

Medical Radiological Research Center, Obninsk

4, Korolyeva Street, 249036-Obninsk, Kaluga region, Russia, e-mail: abakushina@mail.ru

Currently, cellular immunity can be estimated using the cluster of differentiation antigens or CD-markers. The panel of CD-markers including 6-8 parameters is usually used for assessment of cellular immunity. In our study we assessed not only subpopulations of T-, B-, NK-, NKT-lymphocytes, but also expression of activation markers (HLA-DR, CD25, CD38, CD69, CD314) using flow cytometry. The increase in the relative and absolute numbers of Treg-lymphocytes and NK-cells as well as the alpha chain of the IL-2 receptor on CD25 lymphocytes was observed in 20 patients with disseminated gastric and colorectal cancer. The percentage of CD25⁺-cells and Treg-lymphocytes was also increased in 30 patients with skin melanoma. By comparing the expression of lymphocyte activation markers in the two groups of patients, it was shown that patients with gastric and colorectal cancer had the increased percentage of activated CD314⁺, CD69⁺ NK-cells and patients with skin melanoma had the elevated level of activated CD95⁺ and CD38⁺T-lymphocytes. This panel of markers can be used for monitoring immune response to immunotherapy for cancer.

Key words: phenotype of lymphocytes, activation markers, skin melanoma, gastric and colorectal cancer, flow cytometry.

В настоящее время злокачественные новообразования толстой кишки и меланома вышли на лидирующие позиции по заболеваемости во всем мире, в том числе и в Российской Федерации [7]. Достоверно показано, что иммунная система способна распознавать злокачественные клетки и реагировать на такое распознавание активацией и последующими каскадами иммунных реакций [1]. Одним из последствий активации сигнальных каскадов в лимфоцитах является выработка цитокинов и проявление цитотоксических свойств, направленных на элиминацию трансформирован-

ных клеток [5]. Особое внимание стоит уделить NK-клеткам (natural killer cells), которые обладают противоопухолевой цитотоксической активностью и способны без предварительной иммунизации лизировать чужеродные и собственные измененные клетки [2, 15]. При различных онкологических заболеваниях сниженное количество и активность NK-клеток могут служить прогностическим критерием метастазирования, плохого ответа на лечение и уменьшения показателей общей выживаемости [13]. Резкое увеличение количества NK-клеток и повышение их функциональной активности обычно

связывают с лимфопролиферативным синдромом или вирусными гепатитами [2]. Также к цитолизу злокачественных клеток способны цитотоксические Т-лимфоциты (CTL) и НКТ-клетки (natural killer T-cells). Однако негативное воздействие на противоопухолевый иммунный ответ могут оказывать регуляторные Т-клетки (Treg) с фенотипом CD4⁺CD25^{bright}, которые подавляют его, тем самым способствуя опухолевой прогрессии [6]. В практике лабораторий, осуществляющих фенотипирование лимфоцитов, наиболее широко проводится оценка субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток, иногда определяют экспрессию молекул HLA-DR на Т-клетках [10, 11]. Очевидно, что этих показателей недостаточно для комплексной оценки противоопухолевого звена клеточного иммунитета.

При определении функциональной активности лимфоцитов, особенно при воздействии иммунотропных лекарственных средств (химиотерапия, иммунотерапия), целесообразно оценивать экспрессию поверхностных маркеров активации как на всех лимфоцитах, так и на отдельных субпопуляциях. Для этой цели можно изучать маркеры ранней (CD38, CD69) и более поздней (CD25, HLA-DR) активации лимфоцитов [8]. Молекула CD38 – мембранный гликопротеин, экспрессируется на активированных Т-, В-, НК-клетках, модулирует межклеточные взаимодействия и является переносчиком трансмембранных сигналов. Клетки с высоким уровнем экспрессии CD38 проявляют низкую пролиферативную активность, но обладают высоким потенциалом в отношении продукции интерлейкина-2 (IL-2) и интерферона-гамма (IFN- γ) [16]. Молекула CD38 представлена также на поверхности клеток в период их пролиферации и дифференцировки. Рецептор CD69 не экспрессируется на покоящихся лимфоцитах периферической крови, но появляется после активации лимфоцитов в течение 1–2 часов после антигенной стимуляции, имеет прямое отношение к активации генов, ответственных за синтез IL-2. Выявлено, что Т-клетки с высокой экспрессией молекулы CD69 способствуют опухолевой прогрессии [8]. Сигналы, поступающие с рецептора активированных CD69⁺лимфоцитов, вызывают увеличение продукции IL-2 и экспрессию рецепторов к нему на иммунокомпетентных CD25⁺клетках [12]. Молекула CD25 представляет собой α -цепь рецептора IL-2, которая появляется только при активации клетки. CD25 экспрессируют

различные типы клеток периферической крови: CD4⁺, CD8⁺, НК-, НКТ-, В-клетки и моноциты. CD25⁺лимфоциты в норме могут составлять до 18 % от общей популяции лимфоцитов [10, 11]. Повышение экспрессии молекул HLA-DR на клеточной мембране является одним из маркеров поздней и длительной активации клеток [8]. Это происходит в ответ на выработку цитокинов активированными иммунокомпетентными клетками [14]. Одним из поверхностных маркеров активированных НК-клеток является трансмембранный гликопротеин или естественный рецептор цитотоксичности NKG2D (CD314), который принадлежит к лектиноподобным рецепторам и необходим для проведения сигнала внутрь клетки, а также повышения функциональной активности киллеров [2]. Помимо НК-клеток, рецептор NKG2D определяется на некоторых $\gamma\delta$ Т-лимфоцитах и является костимулирующей молекулой для CD8-позитивных Т-лимфоцитов. Однако на сегодняшний день неизвестны точные механизмы активации и супрессии противоопухолевого иммунного ответа. Поэтому изучение закономерностей функционирования субпопуляций лимфоцитов, механизмов их активации и фенотипических маркеров позволит дополнить наше представление о роли иммунной системы в канцерогенезе. Таким образом, для наиболее полной характеристики клеточного звена противоопухолевого иммунитета необходимо определять не только субпопуляции эффекторных и супрессорных лимфоцитов, но также оценивать их активационную способность по поверхностной экспрессии соответствующих CD-маркеров.

Целью исследования явилось изучение реакции иммунной системы больных раком толстой кишки и меланомой на комбинированное лечение.

Материал и методы

В исследование включены 82 пациента с гистологически подтвержденным диагнозом, подписавшие информированное согласие. Всем больным проводилось хирургическое лечение с лучевой и/или химиотерапией на базе МРНЦ им. А.Ф. Цыба. В первую группу были включены 47 пациентов с диссеминированным раком толстой кишки (РТК) T₂₋₃N₁₋₂M₀₋₁ стадии, в возрасте 40–57 лет. Во вторую группу вошли 35 больных метастатической меланомой кожи IIIС(N₃) – IV стадии, в возрасте – 31–85 лет. В качестве группы сравнения исполь-

зовали результаты фенотипирования лимфоцитов практически здоровых людей [10].

На этапах лечения перед проведением курса химиотерапии производили забор крови из локтевой вены. Периферические мононуклеары выделяли по стандартной методике на градиенте плотности и культивировали в концентрации $1-2 \times 10^6$ кл/мл на протяжении 7–8 дней в полной питательной среде X-Vivo20 (Lonza, США) с 250 ед/мл IL-2 (ронколейкин, Биотех, Россия) и 50 нг/мл IL-15 (ImmunoTools, Германия) в CO_2 -инкубаторе при 37°C . На 3, 5 и 7-й день культивирования собирали необходимое количество клеток для иммунотерапии. На фоне химиотерапии проводили адоптивную иммунотерапию активированными лимфоцитами 12 больным РТК и 28 пациентам с меланомой. Субпопуляционный состав лимфоцитов и маркеры активации оценивали у всех больных до лечения и через 1 мес после адоптивной иммунотерапии в сочетании с химиотерапией. Анализ иммунологических показателей проводили в сравнении с клинической оценкой эффективности лечения (стабилизация, прогрессирование, регрессия) у 28 больных меланомой.

Для фенотипирования лимфоцитов использовали гепаринизированную периферическую кровь больных данных групп и флуоресцентно меченные антитела к CD3, CD4, CD8, CD16, CD20, CD25, HLA-DR, CD38, CD56, CD69, CD95 (Beckman Coulter, Франция) и CD314 (eBioScience, США). В работе оценивали фенотип В-, Т-, НКТ-, НК-лимфоцитов периферической крови и маркеры активации (HLA-DR, CD38, CD69, CD314, CD25). Для выделения области лимфоцитов использовали антитела к CD45. Иммунофлуоресцентное окрашивание проводили в фосфатном буферном солевом растворе с pH 7,2 (PBS), содержащем 1 % эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и 0,02 % NaN_3 , в течение 30 мин при 4°C , с последующей двукратной отмывкой PBS путем центрифугирования. Цитометрические измерения проводили на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США). Анализировали не менее 10 000 событий в секторе живых клеток в экспериментах по анализу экспрессии поверхностных маркеров. Обработку полученных результатов проводили с помощью программы CellQuest.

Статистический анализ данных проводили с помощью программ Microsoft Excel 2003 и Statsoft

Statistica 6.0. Данные представляли как среднее по группе. Для сравнения показателей фенотипа лимфоцитов двух групп пациентов использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Субпопуляционный состав лимфоцитов и экспрессия маркеров активации были оценены до начала и через 1 мес после комбинированного лечения у 47 пациентов с диссеминированным раком толстой кишки и у 35 больных с метастатической меланомой кожи. У больных меланомой отмечено повышение абсолютного содержания Treg-клеток ($\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{bright}}$) в 50 % случаев, всех активированных HLA-DR⁺лимфоцитов – в 33 % и экспрессии α -цепи рецептора IL-2 (CD25) – в 42 % наблюдений, что подтверждает данные, ранее полученные нами на меньшем количестве больных [3, 4, 9]. Относительное содержание основных субпопуляций В-, Т- и НК-лимфоцитов находилось в пределах референсных значений. Однако отмечалось некоторое снижение абсолютного уровня В-лимфоцитов. У больных меланомой экспрессия активирующего рецептора NKG2D (CD314) на всех лимфоцитах составила 42,3 %, а на НК-клетках – 12,64 % (таблица). Таким образом, в среднем 82 % НК-клеток несут на поверхности рецептор NKG2D, 37 % – антиген CD69. Экспрессия специализированного рецептора CD95, запускающего апоптоз, выявлена на 43,65 % Т-лимфоцитов у больных меланомой и на 36,2 % Т-лимфоцитов у больных РТК, что свидетельствует об активации большинства лимфоцитов и возможном окончании процесса их дифференцировки, а также о повышенной чувствительности данных лимфоцитов к FasL-индуцированному апоптозу [8]. На основе полученных данных можно сделать вывод о том, что для большей части больных с метастатической меланомой характерно повышенное содержание Treg, CD25^+ лимфоцитов и HLA-DR⁺Т-лимфоцитов.

В периферической крови больных РТК до иммунотерапии отмечалось снижение относительного числа В-лимфоцитов в 31 % случаев. У 56 % больных наблюдалось повышение абсолютного и у 81 % – относительного содержания Treg-клеток ($\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{bright}}$). Возможно, что эти изменения связаны с увеличением иммуносупрессивного воздействия Treg-клеток у больных с диссеми-

Таблица

Фенотипическая картина лимфоцитов и маркеров активации в сравниваемых группах больных

Фенотип лимфоцитов	Группа больных с диссеминированным раком толстой кишки (n=20)		Группа больных с диссеминированной меланомой (n=30)	
	%	×10 ⁹ кл/л	%	×10 ⁹ кл/л
Лимфоциты	28,48 ± 10,5	1,97 ± 0,82	29,82 ± 13,96	1,88 ± 1,02
В-лимфоциты (CD20)	6,97 ± 3,99	0,14 ± 0,10	7,29 ± 2,76	0,14 ± 0,10
Т-лимфоциты (CD3)	68,35 ± 10,65	1,35 ± 0,59	75,23 ± 9,04*	1,43 ± 0,86
Т хелперы (CD4 ⁺ CD3 ⁺)	41,58 ± 9,01	0,81 ± 0,38	43,97 ± 12,26	0,84 ± 0,60
Treg (CD4 ⁺ CD25 ^{bright})	6,62 ± 3,84	0,12 ± 0,07	6,89 ± 4,29	0,12 ± 0,08
CTL (CD3 ⁺ CD8 ⁺)	27,31 ± 8,62	0,54 ± 0,28	31,42 ± 11,23	0,59 ± 0,36
NKT-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD3 ⁺)	2,54 ± 2,41	0,05 ± 0,05	3,07 ± 2,44	0,06 ± 0,05
NK-клетки (CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD3 ⁻)	20,65 ± 10,08	0,41 ± 0,26	14,15 ± 7,71*	0,26 ± 0,17*
Активированные Т-лимфоциты (CD3 ⁺ HLA-DR ⁺)	10,28 ± 5,54	0,20 ± 0,15	11,48 ± 7,23	0,20 ± 0,13
Активированные лимфоциты (HLA-DR)	19,8 ± 7,29	0,38 ± 0,23	19,26 ± 8,14	0,33 ± 0,18
Альфа-цепь рецептора IL-2 (CD25)	8,58 ± 5,03	0,16 ± 0,10	9,04 ± 5,5	0,16 ± 0,11
CD314 (NKG2D)	49,16 ± 11,74	0,97 ± 0,49	42,47 ± 11,75*	0,81 ± 0,41
CD314 ⁺ NK-клетки	18,58 ± 9,93	0,36 ± 0,24	11,6 ± 7,47*	0,22 ± 0,16*
CD38 ⁺ T-клетки	10,31 ± 6,62	0,23 ± 0,25	19,07 ± 14,49*	0,38 ± 0,38
CD38	32,45 ± 11,83	0,66 ± 0,50	35,06 ± 16,17	0,68 ± 0,48
CD69	21,13 ± 10,87	0,36 ± 0,22	14,18 ± 10,91*	0,26 ± 0,24
CD69 ⁺ NK-клетки	8,94 ± 5,04	0,16 ± 0,16	5,21 ± 4,11*	0,10 ± 0,09
CD95 (Fas/APO-1)	46,0 ± 16,35	0,80 ± 0,59	53,21 ± 21,86	0,77 ± 0,42
CD95 ⁺ T-клетки	36,2 ± 11,07	0,62 ± 0,41	43,67 ± 17,61	0,64 ± 0,34

Примечания: * – различия между группами статистически значимы (p<0,05); жирным шрифтом выделены показатели, превышающие референсные значения; NKT-клетки – естественные киллерные Т-клетки (natural killer T-cells); Treg – регуляторные Т-клетки; Тх – клетки Т-хелперы; PBS – фосфатный буферный солевой раствор с рН7,2.

нированными формами рака. С другой стороны, более чем у 62 % пациентов было увеличено содержание NK-клеток. Доля всех активированных HLA-DR⁺лимфоцитов была повышена в половине случаев. Среднее количество CD25⁺лимфоцитов превышало референсные значения у 90 % пациентов. Наблюдалось повышение экспрессии CD69⁺ на всех лимфоцитах и на NK-клетках (p<0,05). Экспрессия активирующего рецептора NKG2D (CD314) была выявлена на 90 % NK-клеток, а рецептора CD69 – на 43 % NK-клеток (таблица). Полученные данные свидетельствуют о повышении экспрессии маркеров активации на NK-клетках. Однако, учитывая распространенность опухоле-

вого процесса у обследованных больных, можно предположить недостаточную эффективность данного пути противоопухолевой защиты.

Сопоставление результатов фенотипирования показало, что у больных раком толстой кишки отмечается не только увеличение содержания NK-клеток, но и активированных CD314⁺NK-клеток и CD69⁺NK-клеток (p<0,05). Экспрессию CD69 на NK-клетках в большей степени связывают с их цитотоксической функцией, тогда как пролиферативный потенциал этих клеток определяется высокой плотностью мембранных рецепторов к IL-2 (CD25) [12]. В свою очередь, группе больных меланомой более свойственно повышение количества лимфо-

цитов с фенотипом CD3⁺CD38⁺, CD38⁺, CD3⁺CD95⁺, CD95⁺ (таблица). На всех лимфоцитах за счет субпопуляции Т-клеток повышено содержание раннего активационного маркера CD38, который обеспечивает проводимость сигнала активации в Т-клетки, а также служит маркером зрелых клеток и как маркер апоптоза Fas (CD95) отражает степень зрелости и активности клеточного звена иммунитета [8]. Экспрессия CD95 на всех клетках и на Т-лимфоцитах у больных с меланомой также несколько выше аналогичных показателей у пациентов с РТК.

Следует отметить, что для большинства пациентов в обеих группах характерно повышение относительного и абсолютного содержания Трег-лимфоцитов и альфа-цепи рецептора IL-2 (CD25). Вероятно, данные изменения связаны с усилением пролиферативного ответа NK- и Т-лимфоцитов, возможно, через CD25 в ответ на выработку эндогенного IL-2 у больных [8]. Это обстоятельство в большей степени характеризует активацию Т-клеток у больных меланомой и NK-лимфоцитов у больных раком толстой кишки. Однако высокий уровень лимфоцитов-супрессоров и наличие злокачественного процесса свидетельствуют о неэффективности противоопухолевого иммунного ответа у данных больных и преобладании механизмов, позволяющих опухолевым клеткам ускользать из-под иммунного надзора.

Для мониторинга изменений иммунологических показателей была проведена оценка фенотипа лимфоцитов и маркеров активации через 1 мес после адоптивной иммунотерапии активированными лимфоцитами на фоне химиотерапии. У всех больных РТК сохранился исходно низкий уровень В-лимфоцитов и не изменилось содержание Трег-лимфоцитов. По сравнению с исходным уровнем экспрессии маркеров активации было выявлено увеличение CD25⁺, CD314⁺, CD38⁺, HLA-DR⁺ на всех лимфоцитах и CD38⁺ на Т-лимфоцитах. Отмечено значимое снижение в кровяном русле уровня Т-хелперов и активированных NK-клеток (CD16⁺CD314⁺), снижение соотношения CD4⁺/CD8⁺ [3, 4]. Возможно, это происходит за счет миграции NK-клеток из кровяного русла в органы мишени. С этим можно связать уменьшение относительного количества активированных NK-клеток (CD314⁺CD16⁺) ($p=0,05$), CD69⁺CD16⁺ и юных форм лимфоцитов (CD45⁺RA⁺) через 4 нед после иммунотерапии.

У больных меланомой сопроводительная иммунотерапия на фоне химиотерапии привела к снижению абсолютного содержания лимфоцитов крови, В- и Т-лимфоцитов, Т-хелперов, NK-клеток, CD314⁺-лимфоцитов, а также CD38⁺-лимфоцитов и незрелых Т-лимфоцитов (CD3⁺CD38⁺) ($p<0,05$) [9]. Однако наблюдались положительная динамика в увеличении относительного содержания NK-клеток, в среднем – до 32 %, CD69⁺-NK-клеток – до 21 % и значимое увеличение экспрессии HLA-DR на всех лимфоцитах ($p<0,05$).

Оценка эффективности комбинированного лечения у 28 больных метастатической меланомой проводилась через 6–12 мес. У 13 (46 %) пациентов достигнута ремиссия, у 6 (21,4 %) – наблюдалось прогрессирование основного заболевания, у 9 (32 %) больных зафиксирован летальный исход. У большинства пациентов с негативным исходом заболевания в исходной иммунограмме отмечалось увеличение Трег лимфоцитов и снижение маркера поздней активации HLA-DR на всех лимфоцитах и/или Т-клетках. Возможно, эти изменения, связаны с длительным иммуносупрессивным воздействием опухоли на организм пациентов. В результате лечения количество Трег у части больных нормализовалось, увеличилась экспрессия HLA-DR и процент NK-клеток. Однако данные изменения не были достаточными для стабилизации онкологического процесса. У части пациентов с ремиссией основного заболевания исходно наблюдался нормальный уровень Трег, повышенное содержание HLA-DR⁺ лимфоцитов и NK-клеток в периферической крови. Это может быть связано с некоторой хронической стимуляцией клеточного звена иммунитета у пациентов данной группы и меньшим супрессивным влиянием опухолевых клеток на иммунитет в целом.

Заключение

Несмотря на активное исследование особенностей клеточного иммунитета при онкологических заболеваниях, многие детали пока остаются недостаточно изученными, что диктует необходимость дальнейшего решения этой проблемы. Полученные результаты могут служить обоснованием для расширения общепринятой панели маркеров при фенотипировании лимфоцитов и оценки субпопуляционного состава лимфоцитов крови у онкологических больных до лечения и на этапах терапии. Предложен вариант расширенной панели антител с учетом добавления

активированных субпопуляций Т- и НК-клеток и иммуносупрессивных Трег-лимфоцитов. Обнаружение субпопуляций лимфоцитов-супрессоров с фенотипом CD3⁺CD25^{bright} у онкологических больных может улучшить понимание механизма ускользания различных опухолей из-под иммунного надзора. Динамика изменения количественного состава субпопуляций лимфоцитов, а также поверхностной экспрессии маркеров активации при онкологических заболеваниях может представлять ценность для мониторинга иммунотерапевтических воздействий и дополнить клиническую оценку течения основного заболевания.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г. Стресс-индуцированные молекулы MICA/B и их роль в развитии онкологических заболеваний // Молекулярная медицина. 2012. № 2. С. 16–20.
2. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции НК-клеток человека // Иммунология. 2012. Т. 33, № 4. С. 220–224.
3. Абакушина Е.В., Маризина Ю.В., Неприна Г.С., Пасова И.А., Бердов Б.А. Изучение фенотипа лимфоцитов после иммунотерапии больных раком желудка и толстого кишечника // Российский биотерапевтический журнал. 2014. Т. 13, № 1. С. 57–144.
4. Бережной А.Е., Гнучев Н.В., Георгиев Г.П., Козлов А.М., Ларин С.С. Молекулярные механизмы взаимодействия опухоли и иммунной системы // Вопросы онкологии. 2008. Т. 54, № 6. С. 669–683.
5. Жулал Г.А., Олейник Е.К. Регуляторные Т-клетки и канцерогенез // Иммунология. 2013. № 1. С. 61–64.
6. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2012 году (заболеваемость и смертность). М., 2014. 250 с.
7. Литвинова Л.С., Гуцол А.А., Сохоневич Н.А., Кофанова К.А., Хазиахматова О.Г., Шуплецова В.В., Кайгородова Е.В., Гончаров А.Г. Основные поверхностные маркеры функциональной активности Т-лимфоцитов // Медицинская иммунология. 2014. Т. 16, № 1. С. 7–26.
8. Маризина Ю.В., Неприна Г.С., Кудрявцев Д.В., Селиванова Н.В., Абакушина Е.В. Фенотип лимфоцитов у больных меланомой после иммунотерапии // Российский биотерапевтический журнал. 2014. Т. 13, № 1. С. 57–144.
9. Хайдуков С.В., Зурочка А.В., Тоголян А.А., Черешнев В.А. Основные и малые популяции лимфоцитов периферической крови человека и их нормативные значения (методом многоцветного цитометрического анализа) // Медицинская иммунология. 2009. Т. 11, № 2–3. С. 227–238.
10. Череев А.Н., Горлина Н.К., Козлов И.Г. CD-маркеры в практике клинико-диагностических лабораторий // Клиническая лабораторная диагностика. 1999. № 6. С. 25–31.
11. Clausen J., Vergeiner B., Enk M., Petzer A.L., Gastl G., Günsilius E. Functional significance of the activation-associated receptor CD25 and CD69 on human NK-cells and NK-like T-cells // Immunobiology. 2003. Vol. 207 (2). P. 85–93.
12. Lin R.Y., Astiz M.E., Saxon J.C., Rackow E.C. Altered leukocyte immunophenotypes in septic shock. Studies of HLA-DR, CD11b, CD14, and IL-2R expression // Chest. 1993. Vol. 104 (3). P. 847–853.
13. Sabry M., Lowdell M.W. Tumor-primed NK cells: waiting for the green light // Front Immunol. 2013. Vol. 4 (408). P. 1–7. doi: 10.3389/fimmu.2013.00408.
14. Sandoval-Montes C., Santos-Argumedo L. CD38 is expressed selectively during the activation of a subset of mature T-cells with reduced proliferation but improved potential to produce cytokines // Leukocyte Biol. 2005. Vol. 77. P. 513–521.
15. Shinoda K., Tokoyoda K., Hanazawa A., Hayashizaki K., Zehentmeier S., Hosokawa H., Iwamura C., Koseki H., Tumes D.J., Radbruch A., Nakayama T. Type II membrane protein CD69 regulates the formation of resting T-helper memory // Proc. Natl. Acad. Sci. 2012. Vol. 109 (19). P. 7409–7414. doi: 10.1073/pnas.
16. Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. The Immune System in Health and Science // Immuno-Biology 6th ed., Garland Science Publishing. 2005. 27 p.

Поступила 25.11.14

REFERENCES

1. Abakushina E.V., Kuz'mina E.G. Stress-induced molecules MICA/B and their role in the development of oncological diseases // Molekulyarnaya meditsina. 2012. № 2. P. 16–20. [in Russian]
2. Abakushina E.V., Kuz'mina E.G., Kovalenko E.I. The main characteristics of human natural killer cells // Immunologiya. 2012. Vol. 33 (4). P. 220–224. [in Russian]
3. Abakushina E.V., Marizina Yu.V., Neprina G.S., Pasova I.A., Berdov B.A. The study of phenotype lymphocytes after immunotherapy of patients with gastric and colorectal cancer // Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal. 2014. Vol. 13 (1). P. 57. [in Russian]
4. Berezhnoy A.E., Gnuchev N.V., Georgiev G.P., Kozlov A.M., Larin S.S. Molecular mechanisms of interaction between the tumor and the immune system // Voprosy onkologii. 2008. Vol. 54 (6). P. 669–683. [in Russian]
5. Zhulay G.A., Oleynik E.K. Regulatory T-cells carcinogenesis // Immunologiya. 2013. № 1. P. 61–64. [in Russian]
6. Kaprin A.D., Starinskiy V.V., Petrova G.V. Malignancies in Russia in 2012 (morbidity and mortality). M., 2014. 250 p. [in Russian]
7. Litvinova L.S., Gutsol A.A., Sokhonevich N.A., Kofanova K.A., Khaziakhmatova O.G., Shupletsova V.V., Kaygorodova E.V., Goncharov A.G. Basic surface markers of functional activity T-lymphocytes // Meditsinskaya immunologiya. 2014. Vol. 16 (1). P. 7–26. [in Russian]
8. Marizina Yu.V., Neprina G.S., Kudryavtsev D.V., Selivanova N.V., Abakushina E.V. Phenotype of lymphocytes in patients with melanoma after immunotherapy // Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal. 2014. T. 13 (1). P. 109. [in Russian]
9. Khaydukov S.V., Zurochka A.V., Totolyan A.A., Chereshev V.A. Major and lymphocyte populations of human peripheral blood lymphocytes and their reference values, as assayed by multi-colour cytometry // Meditsinskaya Immunologiya. 2009. T. 11 (2–3). P. 227–238. [in Russian]
10. Chereedev A.N., Gorlina N.K., Kozlov I.G. CD-markers in the practice of clinical diagnostic laboratories // Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 1999. № 6. P. 25–31. [in Russian]
11. Clausen J., Vergeiner B., Enk M., Petzer A.L., Gastl G., Günsilius E. Functional significance of the activation-associated receptor CD25 and CD69 on human NK-cells and NK-like T-cells // Immunobiology. 2003. Vol. 207 (2). P. 85–93.
12. Lin R.Y., Astiz M.E., Saxon J.C., Rackow E.C. Altered leukocyte immunophenotypes in septic shock. Studies of HLA-DR, CD11b, CD14, and IL-2R expression // Chest. 1993. Vol. 104 (3). P. 847–853.
13. Sabry M., Lowdell M.W. Tumor-primed NK cells: waiting for the green light // Front Immunol. 2013. Vol. 4 (408). P. 1–7. doi: 10.3389/fimmu.2013.00408.
14. Sandoval-Montes C., Santos-Argumedo L. CD38 is expressed selectively during the activation of a subset of mature T-cells with reduced proliferation but improved potential to produce cytokines // Leukocyte Biol. 2005. Vol. 77. P. 513–521.
15. Shinoda K., Tokoyoda K., Hanazawa A., Hayashizaki K., Zehentmeier S., Hosokawa H., Iwamura C., Koseki H., Tumes D.J., Radbruch A., Nakayama T. Type II membrane protein CD69 regulates the formation of resting T-helper memory // Proc. Natl. Acad. Sci. 2012. Vol. 109 (19). P. 7409–7414. doi: 10.1073/pnas.
16. Travers P., Walport M., Shlomchik M.J. The Immune System in Health and Science // Immuno-Biology 6th ed., Garland Science Publishing. 2005. 27 p.