

Для цитирования: *Бычков В.А., Бондарь Л.Н., Небова Ю.А., Ларионова И.В., Черемисина О.В., Перельмутер В.М.* Прогностическая значимость маркеров эпителиально-мезенхимального перехода и морфологических характеристик плоскоклеточных карцином головы и шеи в развитии лимфогенных метастазов. Сибирский онкологический журнал. 2019; 18(6): 67–74. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-67-74.

For citation: *Bychkov V.A., Bondar L.N., Nebova J.A., Larionova I.V., Cheremisina O.V., Perelmuter V.M.* Prognostic significance of the epithelial-mesenchymal transition markers and morphological characteristics of head and neck squamous cell carcinomas in the development of lymphogenous metastases. Siberian Journal of Oncology. 2019; 18(6): 67–74. – doi: 10.21294/1814-4861-2019-18-6-67-74.

ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ МАРКЕРОВ ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО ПЕРЕХОДА И МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК ПЛОСКОКЛЕТОЧНЫХ КАРЦИНОМ ГОЛОВЫ И ШЕИ В РАЗВИТИИ ЛИМФОГЕННЫХ МЕТАСТАЗОВ

**В.А. Бычков¹, Л.Н. Бондарь¹, Ю.А. Небова^{1,2}, И.В. Ларионова^{1,2},
О.В. Черемисина¹, В.М. Перельмутер¹**

Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный
исследовательский медицинский центр Российской академии наук, г. Томск, Россия¹
Россия, г. Томск, 634050, пер. Кооперативный, 5. E-mail: va.bych@gmail.com¹
ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский государственный университет»,
г. Томск, Россия²
Россия, 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36²

Аннотация

Предыдущие исследования морфологических особенностей плоскоклеточных карцином головы и шеи выявили значимую ассоциацию наличия дискретных опухолевых клеток и низкого уровня воспалительного инфильтрата с лимфогенным метастазированием. **Цель исследования** – количественно установить содержание опухолевых клеток в состоянии эпителиально-мезенхимального перехода в клеточных структурах разной степени дифференцировки и оценить прогностическую модель лимфогенного метастазирования. **Материал и методы.** Для этого проведена оценка основных клинко-морфологических показателей у 92 пациентов с плоскоклеточными карциномами головы и шеи. У 16 пациентов проведено исследование экспрессии опухолевыми клетками маркеров эпителиально-мезенхимального перехода – белков Snail и Vimentin при помощи конфокальной микроскопии. **Результаты.** Была оценена выраженность эпителиально-мезенхимального перехода в клеточных структурах разной степени дифференцировки, максимальное количество Snail- и Vimentin-позитивных клеток (по 20 %) наблюдалось в дискретных опухолевых клетках. При этом доля клеток в состоянии эпителиально-мезенхимального перехода не различалась у пациентов с наличием и отсутствием лимфогенного метастазирования. Таким образом, в прогностическую модель лимфогенного метастазирования вошли два показателя: наличие одиночных опухолевых клеток и низкая выраженность воспаления. Чувствительность модели составила 54,5 %, специфичность – 89 %.

Ключевые слова: опухоли головы и шеи, Snail, Vimentin, эпителиально-мезенхимальный переход, внутриопухолевая гетерогенность, морфология, воспаление, лимфогенное метастазирование.

PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF THE EPITHELIAL-MESENCHYMAL TRANSITION MARKERS AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF HEAD AND NECK SQUAMOUS CELL CARCINOMAS IN THE DEVELOPMENT OF LYMPHOGENOUS METASTASES

V.A. Bychkov¹, L.N. Bondar¹, J.A. Nebova^{1,2}, I.V. Larionova^{1,2},
O.V. Cheremisina¹, V.M. Perelmuter¹

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences, Tomsk, Russia¹

5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russia. E-mail: va.bych@gmail.com¹

National Research Tomsk State University, Tomsk, Russia²

34a, Lenina prospect, Tomsk, 634050, Russia²

Abstract

Previous studies of the morphological features of head and neck squamous cell carcinomas revealed a significant association of the presence of discrete tumor cells and a low level of inflammatory infiltrate with lymphogenous metastasis. **The aim of the study** was to evaluate the quantity of tumor cells undergoing epithelial-mesenchymal transition (EMT) in tumor cell structures of different degrees of differentiation and to assess the prognostic model of lymphogenous metastasis based on the studied parameters. **Material and Methods.** The main clinical tumor characteristics and morphological patterns of the tumor were assessed in 92 patients. The expressions of Snail and Vimentin proteins were studied in 16 patients using confocal microscopy. **Results.** The expression of the EMT marker in cell structures of different degrees of differentiation was evaluated; the maximum number of Snail- and Vimentin-positive cells (20 % each) was observed in discrete tumor cells. No difference in the proportion of cells undergoing epithelial-mesenchymal transition between patients with and without lymphogenous metastasis was found. Thus, the prognostic model of lymphogenous metastasis included: the presence of single tumor cells and low level of inflammation. The sensitivity of the model was 54.5 %, and specificity was 89 %.

Key words: epithelial-mesenchymal transition, intratumoral heterogeneity, inflammation, lymphogenous metastasis.

Введение

Хорошо известна фенотипическая вариабельность плоскоклеточных карцином головы и шеи (ПКГШ), которая проявляется наличием клеточных структур разной степени дифференцировки. Большинство исследователей определяет гистопатологическую степень плоскоклеточных карцином согласно рекомендациям ВОЗ [1]. Изучению прогностической значимости таких факторов, как клиническая стадия, гистологические знаки и патологическая степень, посвящено большое количество исследований [2–4], однако многие авторы отмечают, что общепринятая классификация далеко не всегда правильно позволяет оценить прогноз ПКГШ.

Продолжают публиковаться работы, предлагающие новые критерии оценки наблюдаемого морфологического разнообразия плоскоклеточных карцином [5]. Ранее нами также был изучен новый критерий прогноза течения ПКГШ на основе гистопатологического описания среза опухоли. В каждой опухоли идентифицировали 5 типов устойчивых клеточных структур разной степени дифференцировки: структуры с ороговением

(I тип), с клетками базалоидного и шиповатого типов без ороговения (II тип), с клетками базалоидного типа (III тип), структуры с выраженным клеточным полиморфизмом (IV тип) и одиночные опухолевые клетки (V тип) [6].

В связи с тем, что во многих исследованиях показана связь уровня лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TILs), с улучшенным прогнозом [7], мы проводили оценку воспалительного инфильтрата в срезах плоскоклеточных карцином головы и шеи. В результате было показано, что наличие в опухоли структур IV и V типов, а также низкий уровень воспалительного инфильтрата ассоциированы с лимфогенным метастазированием [8].

Одним из возможных механизмов метастазирования является эпителиально-мезенхимальный переход (ЭМП), когда опухолевая клетка подвергается анаплазии, теряет межклеточные контакты, меняет эпителиоидную форму и приобретает способность к локомоции. По косвенным признакам, по крайней мере, часть структур V типа может находиться в состоянии ЭМП (потеря клеточных контактов, низкая степень дифференцировки, выраженная ассоциация с лимфогенным метастазированием).

Цель исследования – изучить выраженность ЭМП в 5 типах клеточных структур, оценить его роль в метастатическом поражении лимфоузлов, разработать прогностическую модель лимфогенного метастазирования.

Материал и методы

Материалом исследования служили срезы опухоли от 92 пациентов с плоскоклеточным раком головы и шеи T1–4N0–3M0, получавших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ в 2007–16 гг. В исследование вошли карциномы преддверья ротовой полости (n=18), ротовой полости (n=32), глотки (n=12), гортани (n=29) и верхнечелюстной пазухи (n=1). Во всех случаях диагноз был верифицирован морфологически. Специфического лечения до взятия образцов опухоли больные не получали. Исследование проходило с разрешения локального этического комитета института, все пациенты подписали информированное согласие. Клинические данные были получены из амбулаторных карт.

Анализ морфологической гетерогенности плоскоклеточных карцином проводился методом световой микроскопии препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. При этом оценивались следующие параметры: пол, стадия по TNM, количество пораженных лимфоузлов, степень дифференцировки, наличие клеточных структур определенного типа, инвазия в окружающие ткани, выраженность и тип воспалительного инфильтрата по аналогии с рекомендациями Международной рабочей группы [9] (рис. 1).

Эпителиальные клетки в состоянии эпителиально-мезенхимального перехода начинают синтезировать белки, характерные для клеток мезенхимы. Идентификация опухолевых клеток в состоянии ЭМП осуществлялась на основе определения в них белков Snail и виментина при помощи первичных антител (Santa Cruz Biotechnology, USA), которые, в свою очередь, метились вторичными антителами, конъюгированными с флуорес-

центными метками (Dako, USA). Для окраски ядер клеток применялся Dapi (Sigma-Aldrich, USA). Детекция флуоресцентного сигнала осуществлялась при помощи конфокального лазерного сканирующего микроскопа LSM 780 NLO («Carl-Zeiss», Германия). В исследование включено 9 пациентов без лимфогенных метастазов (N0) и 7 больных с метастатическим поражением региональных лимфоузлов (N1–2). На каждый случай получали 3–5 микрофотографий плоскоклеточной карциномы, на которых подсчитывали общее количество клеток и количество клеток, экспрессирующих маркеры ЭМП, для каждого типа структур. Результат выражали в процентах.

Для проверки статистически значимой разницы результатов в исследуемых группах использовались непараметрические критерии Фишера, Манна – Уитни и Краскела – Уоллиса, проводили корреляционный анализ Спирмена. Использовался метод логистической регрессии для оценки влияния изучаемых факторов на метастазирование. Различия считались значимыми при $p < 0,05$

Результаты и обсуждение

Каждая плоскоклеточная карцинома была оценена по наличию 5 типов структур различной степени дифференцировки. В подавляющем числе случаев ПКГШ были представлены сочетанием структур (табл. 1). Чаще всего встречалось сочетание клеточных структур I, II и III типов (32,6%), в 2–3 раза реже наблюдалось сочетание I–III структур с IV и V типами. В целом, чаще всего обнаруживались структуры II и III типов (94,6 и 95,7% соответственно), реже всего – структуры IV типа (31,5%). Выявлена слабая корреляция между I–II типами ($R=0,392$, $p < 0,01$) и IV–V типами клеточных структур ($R=0,349$, $p < 0,01$).

При анализе частоты изучаемых клеточных структур в зависимости от основных клиникo-морфологических характеристик опухоли (табл. 2) показано, что I тип в 5 раз чаще обнаруживается в

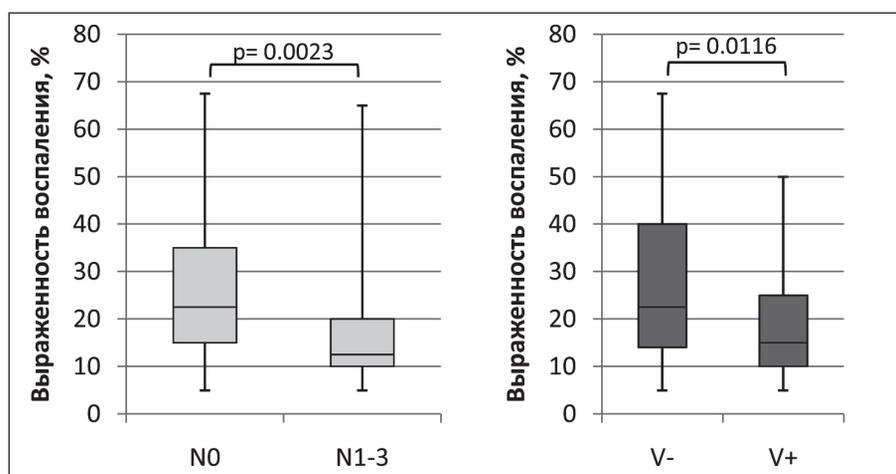


Рис. 1. Выраженность воспалительного инфильтрата в гистологических срезах плоскоклеточных карцином у пациентов с интактными и пораженными метастазами лимфоузлами, а также с наличием или отсутствием клеточных структур V типа (Me(Q1;Q3), %)

Таблица 1

Комбинации клеточных структур в опухоли

I тип	II тип	III тип	IV тип	V тип	Частота
+	+	+			30/92 (32,6 %)
+	+	+	+	+	14/92 (15,2 %)
+	+	+		+	13/92 (14,1 %)
+	+	+	+		8/92 (8,7 %)
	+	+			7/92 (7,6 %)
	+	+	+	+	6/92 (6,5 %)
	+	+		+	5/92 (5,4 %)
		+		+	3/92 (3,3 %)
		+			2/92 (2,2 %)
	+				1/92 (1,1 %)
	+			+	1/92 (1,1 %)
+	+				1/92 (1,1 %)
+	+		+	+	1/92 (1,1 %)
67/92 (72,8 %)	87/92 (94,6 %)	88/92 (95,7 %)	29/92 (31,5 %)	43/92 (46,7 %)	

Таблица 2

Ассоциация различных типов клеточных структур с клиничко-морфологическими характеристиками опухоли

Параметр	I-	I+	II-	II+	III-	III+	IV-	IV+	V-	V+	
T	T1–2	3 (12,0 %)	12 (17,9 %)	0 (0 %)	15 (17,2 %)	0 (0 %)	15 (17,1 %)	14 (22,2 %)	1 (3,4 %)	10 (20,4 %)	5 (11,6 %)
	T3–4	22 (88,0 %)	55 (82,1 %)	5 (100 %)	72 (82,8 %)	4 (100 %)	73 (82,9 %)	49 (77,8 %)	28 (96,6 %)	39 (79,6 %)	38 (88,4 %)
	p	0,7519		0,5872		1,0		0,0313		0,3969	
N	N0	13 (52,0 %)	42 (62,7 %)	1 (20,0 %)	54 (63,2 %)	2 (50 %)	53 (62,4 %)	42 (66,7 %)	13 (44,8 %)	37 (75,5 %)	18 (41,8 %)
	N1–2	12 (48,0 %)	25 (37,7 %)	4 (80,0 %)	33 (36,8 %)	2 (50 %)	32 (37,6 %)	21 (33,3 %)	16 (55,2 %)	12 (24,5 %)	25 (58,2 %)
	p	0,4739		0,1535		0,6347		0,0669		0,0014	
Степень дифференцировки	Высокая	1 (4,8 %)	15 (23,8 %)	0 (0 %)	16 (19,8 %)	2 (50,0 %)	14 (17,5 %)	13 (22,8 %)	3 (11,1 %)	12 (26,1 %)	4 (10,5 %)
	Умеренная	14 (66,7 %)	40 (63,5 %)	1 (33,3 %)	53 (65,4 %)	0 (0 %)	54 (67,5 %)	35 (61,4 %)	19 (70,4 %)	30 (65,2 %)	24 (63,2 %)
	Низкая	6 (28,5 %)	8 (12,7 %)	2 (66,7 %)	12 (14,8 %)	2 (50,0 %)	12 (15,0 %)	9 (15,8 %)	5 (18,5 %)	4 (8,7 %)	10 (26,3 %)
p	0,0492		0,0891		0,9758		0,3805		0,0323		
Инвазия в подлежащие ткани	Нет	16 (76,2 %)	45 (72,6 %)	3 (100 %)	58 (72,5 %)	4 (100 %)	57 (72,2 %)	42 (75,0 %)	19 (70,4 %)	35 (77,8 %)	26 (68,4 %)
	Есть	5 (23,8 %)	17 (27,4 %)	0 (0 %)	22 (27,5 %)	0 (0 %)	22 (27,8 %)	14 (25,0 %)	8 (29,6 %)	10 (22,2 %)	12 (31,6 %)
	p	1,0		0,5618		0,5618		0,7913		0,4547	
Тип воспалительного инфильтрата	Лимфоидный	19 (76,0 %)	41 (65,1 %)	4 (80,0 %)	56 (67,5 %)	2 (66,7 %)	58 (68,2 %)	41 (68,3 %)	19 (67,9 %)	35 (79,5 %)	25 (59,5 %)
	Смешанный	6 (24,0 %)	22 (34,9 %)	1 (20,0 %)	27 (32,5 %)	1 (33,3 %)	27 (31,8 %)	19 (31,7 %)	9 (32,1 %)	11 (20,5 %)	17 (40,5 %)
	p	0,4475		1,0		1,0		1,0		0,1129	

высокодифференцированных новообразованиях, тогда как V тип в 3 раза чаще – в низкодифференцированных опухолях. Структуры с высоким клеточным полиморфизмом (IV тип) в подавляющем большинстве случаев (96,6 %) выявлены у пациентов с поздними стадиями заболевания (Т3–4). Наконец, V тип клеточных структур в 2,3 раза чаще обнаруживается у больных с поражением лимфоузлов (N1–2) по сравнению с пациентами с интактными лимфоузлами (N0).

Вероятно, структуры I, II и III типов можно назвать основными, «базовыми», т.е. образующимися на первых этапах канцерогенеза, что подтверждается тем, что у пациентов ПКГШ с ранними стадиями (T1–2) I тип клеточных структур обнаружился в 80 %, а II и III типы – в 100 % случаев (табл. 2). При этом отдельные опухолевые клетки (V тип), хотя и могут встречаться у пациентов с I–III типами клеточных структур, в большей степени ассоциированы с высокополиморфными структурами IV типа (значимая корреляция), которые практически не наблюдаются при опухолях ранних стадий (табл. 2).

Изучение выраженности эпителиально-мезенхимального перехода в изучаемых клеточных структурах показало, что количество Snail- и виментин-положительных клеток в структурах I–III типов значимо не различается и колеблется на уровне 2–5 % для Snail и 6–10 % для виментина. В сравнении с указанными структурами в высокополиморфных клеточных структурах IV типа имела тенденция к увеличению Snail- и виментин-положительных клеток – 11 и 16 % соответственно ($p > 0,05$), тогда как в структурах V типа доля клеток в состоянии ЭМП была значимо выше – 19 и 20 % соответственно ($p < 0,05$) (рис. 2).

При этом Snail можно рассматривать как маркер раннего, частичного ЭМП, а виментин – как маркер позднего, завершеного ЭМП. По данным литературы, для длительного поддержания ЭМП требуется наличие опухолевых клеток, постоянно продуцирующих биологически активные факторы и создающих определенное сигнальное микроокружение (TGF- β и др.) [10]. Отмечается, что при этом они должны поддерживать «эпителиальный» фенотип, чтобы сохранять продукцию этих факторов [11]. С этой точки зрения опухолевые структуры IV типа хорошо подходят на роль такой поддерживающей популяции клеток за счет корреляции со структурами V типа.

Далее мы оценили количество клеток в состоянии ЭМП у пациентов с пораженными (N1–2) и интактными (N0) лимфоузлами. Несмотря на высокую долю Snail- и виментин-положительных клеток в одиночно расположенных опухолевых клетках, для которых показана ассоциация с лимфогенным метастазированием, в целом выраженность эпителиально-мезенхимального перехода в плоскоклеточных карциномах у больных с N1–3 и с

N0 не отличалась (табл. 3). Возможно, это связано с малым объемом выборки пациентов, однако ряд авторов указывают на низкую прогностическую значимость маркеров ЭМП при ПКГШ [12, 13]. Тем не менее ЭМП является одним из возможных механизмов, объясняющих увеличение частоты метастатического поражения лимфоузлов, уточнение его масштабов и особенностей является важной фундаментальной задачей.

При анализе степени воспалительной реакции в зависимости от клинических характеристик и морфологических особенностей плоскоклеточных карцином было показано, что меньшая выраженность воспалительной инфильтрации ассоциирована с метастатическим поражением лимфоузлов и наличием в опухоли одиночно расположенных опухолевых клеток (V тип структур), что позволяет предположить, что наблюдаемые признаки патогенетически связаны. Действительно, снижение воспалительной реакции можно рассматривать как признак подавления иммунного ответа [14, 15]. При этом агрессивные свойства опухоли в значительной степени определяются условиями, в которых происходит ее рост и развитие [16–24]. В результате инвазивный и метастатический потенциал опухолевых клеток увеличивается, и это находит отражение на уровне морфологии опухоли: формируется инвазивный фронт, возникают паттерны коллективной и индивидуальной инвазии, меняется форма одиночных опухолевых клеток. В связи с этим представляется важным оценивать одновременно как стромальные, так и паренхиматозные факторы для определения прогноза развития злокачественного заболевания.

Нами была оценена математическая модель прогноза метастатического поражения лимфоузлов

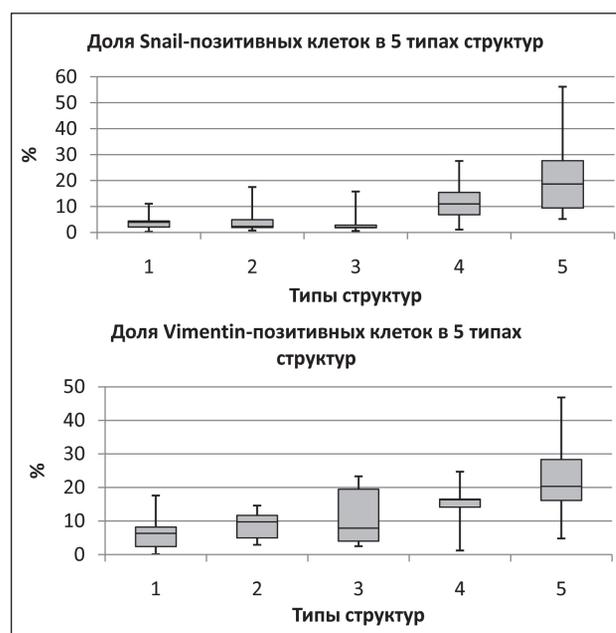


Рис. 2. Доля клеток с признаками раннего и позднего ЭМП в различных типах клеточных структур (Me(Q1;Q3), %)

Таблица 3

Содержание клеток в состоянии ЭМП у пациентов в зависимости от состояния регионарных лимфоузлов (M%(Q1;Q3))

Параметр	Больные без лимфогенных метастазов (n=9)	Больные с лимфогенными метастазами (N1-2) (n=7)	p
Snail	2,5 (1,9; 5,6)	4,5 (3,0; 5,2)	p=0,56
Vimentin	12,5 (7,1; 21,4)	11,9 (9,4; 13,7)	p=0,74

Таблица 4

Характеристика прогностической модели лимфогенного метастазирования, полученной на основе регрессионного анализа

Показатель	B	Среднеквадратичная ошибка	Вальд	Значение	Exp (B)	95 % доверительный интервал для EXP(B)	
						Нижняя	Верхняя
V тип	1,513	0,452	11,187	0,001	4,538	1,871	11,011
Воспаление	-0,889	0,221	16,147	0,000	0,411	0,266	0,634

у пациентов с плоскоклеточными карциномами головы и шеи на основе изучаемых параметров. Проведенный регрессионный анализ выявил только два значимых параметра, которые оцениваются при простом морфологическом исследовании: наличие в опухоли одиночно расположенных опухолевых клеток и выраженность воспаления. Для упрощения расчета условной границы риска лимфогенного метастазирования от выраженности воспалительного инфильтрата предложено использовать медиану по выборке (17,5 %), поскольку данные не имели нормального распределения. Модель получилась значимая ($\chi^2=22,002, p<0,001$), качество подгонки модели по критерию Хосмера – Лемешова удовлетворительное ($p>0,05$, R-квадрат Найджелкерка – 0,295) (табл. 4). Показано, что наличие одиночно расположенных опухолевых клеток является более значимым показателем (B=1,513) по сравнению с выраженностью вос-

паления (B=-0,889) (табл. 4). Модель обладает невысокой чувствительностью (54,5 %), но хорошей специфичностью (89 %), что позволяет использовать ее для выявления больных с интактными лимфоузлами.

Заключение

Таким образом, подтверждена гипотеза, что часть наблюдаемых при микроскопическом исследовании одиночных опухолевых клеток находится в состоянии эпителиально-мезенхимального перехода, но молекулярные маркеры ЭМП (Snail, виментин) не являются значимыми предикторами лимфогенного метастазирования. Разработанная прогностическая модель на основе наличия в плоскоклеточных карциномах головы и шеи клеточных структур V типа и низкой выраженности воспаления позволяет выявлять больных с ПКГШ без поражения лимфоузлов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Amin M.B., Greene F.L., Edge S.B., Compton C.C., Gershenwald J.E., Brookland R.K., Meyer L., Gress D.M., Byrd D.R., Winchester D.P. The Eighth Edition AJCC Cancer Staging Manual: Continuing to build a bridge from a population-based to a more «personalized» approach to cancer staging. CA Cancer J Clin. 2017 Mar; 67(2): 93–99. doi: 10.3322/caac.21388.
- Philip J., James R. Maxillary squamous cell carcinoma: An 11-year retrospective study of one regional cancer centre. Int J Oral Maxillofac Surg. 2014 Oct; 43(10): 1195–8. doi: 10.1016/j.ijom.2014.05.020.
- Montes D.M., Carlson E.R., Fernandes R., Ghali G.E., Lubek J., Ord R., Bell B., Dierks E., Schmidt B.L. Oral maxillary squamous carcinoma: An indication for neck dissection in the clinically negative neck. Head Neck. 2011 Nov; 33(11): 1581–5. doi: 10.1002/hed.21631.
- Yang X., Song X., Chu W., Li L., Ma L., Wu Y. Clinicopathological characteristics and outcome predictors in squamous cell carcinoma of the maxillary gingiva and hard palate. J Oral Maxillofac Surg. 2015 Jul; 73(7): 1429–36. doi: 10.1016/j.joms.2014.12.034.
- Boxberg M., Jesinghaus M., Dorfner C., Mogler C., Drecoll E., Warth A., Steiger K., Bollwein C., Meyer P., Wolff K.D., Kolk A., Weichert W. Tumour budding activity and cell nest size determine patient outcome in oral squamous cell carcinoma: proposal for an adjusted grading system. Histopathology. 2017 Jun; 70(7): 1125–1137. doi: 10.1111/his.13173.
- Савенкова О.В., Завьялова М.В., Бычков В.А., Чойнзонов Е.Л., Перельмутер В.М. Связь экспрессии матриксных металлопротеиназ с морфологической гетерогенностью, дифференцировкой опухоли

- и лимфогенным метастазированием плоскоклеточной карциномы гортани. Сибирский онкологический журнал. 2015; 1: 51–8. [Savenkova O.V., Zavyalova M.V., Bychkov V.A., Choinzonov E.L., Perelmuter V.M. Relationship between expression of matrix metalloproteinases and morphological heterogeneity, tumor differentiation and lymphogenous metastasis of squamous cell laryngeal carcinoma. Siberian Journal of Oncology. 2015; 1(1): 51–58. (in Russian)].
- deRuiter E.J., Oofi M.L., Devriese L.A., Willems S.M. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. Oncoimmunology. 2017 Aug 9; 6(11): e1356148. doi: 10.1080/2162402X.2017.1356148.
- Бычков В.А., Бондарь Л.Н., Чойнзонов Е.Л., Перельмутер В.М. Характер течения плоскоклеточных карцином головы и шеи в зависимости от морфологических особенностей исходной опухоли. Сибирский онкологический журнал. 2017; 16(2): 20–6. [Bychkov V.A., Bondar L.N., Choinzonov E.L., Perelmuter V.M. Head and neck squamous cell carcinoma depending on the morphological characteristics of the primary tumor. Siberian Journal of Oncology. 2017; 16(2): 20–26. (in Russian)]. doi: 10.21294/1814-4861-2017-16-2-20-26.
- Salgado R., Denkert C., Demaria S., Sirtaine N., Klauschen F., Pruneri G., Wienert S., Van den Eynden G., Baehner F.L., Penault-Llorca F., Perez E.A., Thompson E.A., Symmans W.F., Richardson A.L., Brock J., Criscitiello C., Bailey H., Ignatiadis M., Floris G., Sparano J., Kos Z., Nielsen T., Rimm D.L., Allison K.H., Reis-Filho J.S., Loibl S., Sotiriou C., Viale G., Badve S., Adams S., Willard-Gallo K., Loi S. International TILs Working Group 2014. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes

- (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol.* 2015 Feb; 26(2): 259–71. doi: 10.1093/annonc/mdu450.
10. Lyons J.G., Lobo E., Martorana A.M., Myerscough M.R. Clonal diversity in carcinomas: its implications for tumour progression and the contribution made to it by epithelial-mesenchymal transitions. *Clin Exp Metastasis.* 2008; 25(6): 665–77. doi: 10.1007/s10585-007-9134-2.
11. Neelakantan D., Drasin D.J., Ford H.L. Intratumoral heterogeneity: Clonal cooperation in epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis. *Cell Adh Migr.* 2015; 9(4): 265–76. doi: 10.4161/19336918.2014.972761.
12. Cercelaru L., Stepan A.E., Mărgăritescu C., Osman A., Popa I.C., Florescu M.M., Simionescu C.E., Mărgăritescu O.C. E-cadherin, β -catenin and Snail immunorexpression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Rom J MorpholEmbryol.* 2017; 58(3): 761–6.
13. Göppel J., Möckelmann N., Münscher A., Sauter G., Schumacher U. Expression of Epithelial-Mesenchymal Transition Regulating Transcription Factors in Head and Neck Squamous Cell Carcinomas. *Anticancer Res.* 2017 Oct; 37(10): 5435–5440. doi: 10.21873/anticancer.11971.
14. Duray A., Demoulin S., Hubert P., Delvenne P., Saussez S. Immune suppression in head and neck cancers: a review. *Clin Dev Immunol.* 2010; 2010: 701657. doi: 10.1155/2010/701657.
15. Czystowska M., Gooding W., Szczepanski M.J., Lopez-Abaitero A., Ferris R.L., Johnson J.T., Whiteside T.L. The immune signature of CD8(+) CCR7(+) T cells in the peripheral circulation associates with disease recurrence in patients with HNSCC. *Clin Cancer Res.* 2013 Feb 15; 19(4): 889–99. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2191.
16. dos Santos M., Mercante A.M., Louro I.D., Gonçalves A.J., de Carvalho M.B., daSilva E.H., daSilva A.M. HIF1- α expression predicts survival of patients with squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Clin Cancer Res.* 2013 Feb 15; 19(4): 889–99. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2191.
17. Ames B.N., Wakimoto P. Are vitamin and mineral deficiencies a major cancer risk? *Nat Rev Cancer.* 2002 Sep; 2(9): 694–704. doi: 10.1038/nrc886.
18. Bird R.P. The Emerging Role of Vitamin B6 in Inflammation and Carcinogenesis. *Adv Food Nutr Res.* 2018; 83: 151–194. doi: 10.1016/bs.afnr.2017.11.004.
19. Wei S.C., Yang J. Forcing through Tumor Metastasis: The Interplay between Tissue Rigidity and Epithelial-Mesenchymal Transition. *Trends Cell Biol.* 2016; 26(2): 111–20. doi: 10.1016/j.tcb.2015.09.009.
20. Mandal R., Şenbabaoglu Y., Desrichard A., Havel J.J., Dalin M.G., Riaz N., Lee K.W., Ganly L., Hakimi A.A., Chan T.A., Morris L.G. The head and neck cancer immune landscape and its immunotherapeutic implications. *JCI Insight.* 2016 Oct 20; 1(17): e89829. doi: 10.1172/jci.insight.89829.
21. Fridlender Z.G., Sun J., Kim S., Kapoor V., Cheng G., Ling L., Worthen G.S., Albelda S.M. Polarization of tumor-associated neutrophil phenotype by TGF- β : «N1» versus «N2» TAN. *Cancer Cell.* 2009 Sep 8; 16(3): 183–94. doi: 10.1016/j.ccr.2009.06.017.
22. Kumar A.T., Knops A., Swendseid B., Martinez-Outschoom U., Harshyne L., Philp N., Rodeck U., Luginbuhl A., Cognetti D., Johnson J., Curry J. Prognostic Significance of Tumor-Associated Macrophage Content in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma: A Meta-Analysis. *Front Oncol.* 2019 Jul 23; 9: 656. doi: 10.3389/fonc.2019.00656.
23. Kumar D., New J., Vishwakarma V., Joshi R., Enders J., Lin F., Dasari S., Gutierrez W.R., Leef G., Ponnuram S., Chavan H., Ganaden L., Thornton M.M., Dai H., Tawfik O., Straub J., Shnyder Y., Kakarala K., Tsue T.T., Girod D.A., Van Houten B., Anant S., Krishnamurthy P., Thomas S.M. Cancer-Associated Fibroblasts Drive Glycolysis in a Targetable Signaling Loop Implicated in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Progression. *Cancer Res.* 2018; 78(14): 3769–82. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-17-1076.
24. Stakheyyeva M., Riabov V., Mitrofanova I., Litviakov N., Choynzov E., Cherdynitseva N., Kzhyshkowska J. Role of the Immune Component of Tumor Microenvironment in the Efficiency of Cancer Treatment: Perspectives for the Personalized Therapy. *Curr Pharm Des.* 2017; 23(32): 4807–4826. doi: 10.2174/1381612823666170714161703.

Поступила/Received 1.10.19
Принята в печать/Accepted 6.11.19

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Бычков Вячеслав Алексеевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). E-mail: va.bykh@gmail.com. SPIN-код: 6174-4896. Researcher ID (WOS): C-8610-201. Author ID (Scopus): 34970901200. ORCID: 0000-0003-2228-8335.

Бондарь Людмила Николаевна, врач-патологоанатом отделения общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 2620-1353. Researcher ID (WOS): G-8195-2018. Author ID (Scopus): 5720054694. ORCID: 0000-0001-6176-548.

Небова Юлия Андреевна, лаборант-исследователь лаборатории онковирусологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 3048-4715. ORCID: 0000-0003-0484-3059.

Ларионова Ирина Валерьевна, младший научный сотрудник лаборатории биологии опухолевой прогрессии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия); младший научный сотрудник лаборатории трансляционной клеточной и молекулярной биомедицины НИ ТГУ (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6272-8422. Researcher ID (WOS): R-2391-2017. Author ID (Scopus): 56862097400. ORCID: 0000-0001-5758-7330.

Черемисина Ольга Владимировна, доктор медицинских наук, заведующая отделением эндоскопии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 9579-2691. Researcher ID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

Перельмутер Владимир Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением общей и молекулярной патологии, Научно-исследовательский институт онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук (г. Томск, Россия). SPIN-код: 6252-5319. ORCID: 0000-0002-7633-9620. Researcher ID (WOS): C-8227-2012. Author ID (Scopus): 8091317300.

Финансирование

Исследование проведено при финансовой поддержке РФФИ и администрации Томской области (№18-415-703014).

Конфликт интересов

Авторы объявляют, что у них нет конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Viacheslav A. Bychkov, Senior Researcher, Viral Oncology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). E-mail: va.bych@gmail.com. Researcher ID (WOS): C-8610-201. Author ID (Scopus): 34970901200. ORCID: 0000-0003-2228-8335.

Ludmila N. Bondar, MD, pathologist, General and Molecular Pathology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): G-8195-2018, Author ID (Scopus): 5720054694; ORCID: 0000-0001-6176-548

Julia A. Nebova, Research Assistant, Viral Oncology Laboratory, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0003-0484-3059.

Irina V. Larionova, Junior Researcher, Laboratory of cancer progression biology, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): R-2391-2017. Author ID (Scopus): 56862097400. ORCID: 0000-0001-5758-7330.

Olga V. Cheremisina, MD, DSc, Head of Endoscopy Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). Researcher ID (WOS): C-9259-2012. Author ID (Scopus): 6602197938. ORCID: 0000-0001-7234-4708.

Vladimir M. Perelmuter, MD, DSc, Professor, Head of General and Molecular Pathology Department, Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences (Tomsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7633-9620. Researcher ID (WOS): C-8227-2012. Author ID (Scopus): 8091317300.

Funding

The research was funded by Russian Foundation for Basic Research and the government of the Tomsk region of the Russian Federation, grant № 18-415-703014.

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflict of interest.