

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ CD4+ ЛИМФОЦИТОВ В ОКОЛООПУХОЛЕВОЙ ЗОНЕ СВЕТЛОКЛЕТОЧНОЙ ПОЧЕЧНО-КЛЕТОЧНОЙ КАРЦИНОМЫ

Бобров И.П.¹, Долгатова Е.С.¹, Пименова А.А.¹, Долгатов А.Ю.¹, Корсиков Н.А.¹,
Лепилов А.В.¹, Калинин Д.А.¹, Лушникова Е.Л.², Клиникова М.Г.², Бакарев М.А.²

¹Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России,
Барнаул, e-mail: nikkor94knaagmu@yandex.ru;

²Институт молекулярной патологии и патоморфологии Федерального исследовательского центра
фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск

В рамках исследования проведен количественный анализ CD4+ лимфоцитов в околоопухолевой зоне светлоклеточной почечно-клеточной карциномы. У 57 пациентов ретроспективно был проведен подсчет количества CD4+ лимфоцитов в околоопухолевой зоне карцином. Возраст пациентов колебался от 35 до 75 лет, а в среднем он составлял $57,7 \pm 1,2$ года. Мужчин в исследовании было 29 (50,9%), женщин – 28 (49,1%). Показано, что количество CD4+ лимфоцитов в околоопухолевой зоне светлоклеточной почечно-клеточной карциномы было взаимосвязано со стадией по TNM ($r=0,66$; $p=0,0001$), с наибольшим длинником карциномы ($r=0,60$; $p=0,0001$), степенью анаплазии опухолевых клеток ($r=0,73$; $p=0,0001$), с наличием отдаленных метастазов ($r=0,55$; $p=0,0001$) и послеоперационной 5-летней выживаемостью больных ($r=0,42$; $p=0,01$). Анализ кривых выживаемости по Каплану–Майеру в зависимости от содержания CD4+ лимфоцитов в околоопухолевой зоне светлоклеточной почечно-клеточной карциномы показал статистически значимые различия (log-rank-критерий составил $p=0,003$). При содержании CD4+ лимфоцитов в околоопухолевой зоне меньше 118 переживших 5 лет после операции было 89%, а при содержании CD4+ лимфоцитов больше 118 число переживших 5 лет после операции составило 50%. Таким образом, содержание CD4+ лимфоцитов в околоопухолевой зоне может быть дополнительным фактором прогноза при светлоклеточной почечно-клеточной карциноме.

Ключевые слова: почечно-клеточная карцинома, околоопухолевая зона, CD4+ лимфоциты, прогностические факторы, 5-летняя выживаемость.

QUANTITATIVE ANALYSIS OF CD4+ LYMPHOCYTE CONTENT IN THE PERITUMOUR ZONE OF LUMINAL RENAL CELL CARCINOMA

Bobrov I.P.¹, Dolgatova E.S.¹, Pimenova A.A.¹, Dolgатов A.Yu.¹, Korsikov N.A.¹,
Lepilov A.V.¹, Kalin D.A.¹, Lushnikova E.L.², Klinnikova M.G.², Bakarev M.A.²

¹Altai State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Barnaul, e-mail: nikkor94knaagmu@yandex.ru;
Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology of the Federal Research Centre of Fundamental and
Translational Medicine, Novosibirsk

The aim of the study was to perform a quantitative analysis of CD4+ lymphocytes in the peritumoral zone of clear cell renal cell carcinoma. In 57 patients, the number of CD4+ lymphocytes in the peritumoral zone of carcinomas was retrospectively counted. The age of the patients ranged from 35 to 75 years, and on average it was 57.7 ± 1.2 years. There were 29 men (50.9%) and 28 women (49.1%) in the study. It was shown that the number of CD4+ lymphocytes in the peritumor zone of clear cell renal cell carcinoma was interconnected with the TNM stage ($r=0.66$; $p=0.0001$), with the greatest length of carcinoma ($r=0.60$; $p=0.0001$), the degree of tumor cell anaplasia ($r=0.73$; $p=0.0001$), with the presence of distant metastases ($r=0.55$; $p=0.0001$) and postoperative 5-year survival of patients ($r=0.42$; $p=0.01$). Analysis of Kaplan–Meier survival curves depending on the content of CD4+ T-lymphocytes in the peritumor zone of clear cell renal cell carcinoma showed reliable differences (log-rank criterion was $p=0.003$). When the CD4+ lymphocyte count in the peritumoral zone was less than 118, the number of patients surviving 5 years after surgery was 89%, and when the CD4+ lymphocyte count was more than 118, the number of patients surviving 5 years after surgery was 50%. Thus, the CD4+ lymphocyte count in the peritumoral zone may be an additional prognostic factor in clear cell renal cell carcinoma.

Keywords: renal cell carcinoma, peritumour zone, CD4+ lymphocytes, prognostic factors, 5-year survival rate.

Почечно-клеточная карцинома (ПМК) – это злокачественная опухоль, которая составляет 90–95% случаев рака почки и 3% случаев рака у взрослых [1]. ПМК представляет собой серьезную глобальную проблему для здравоохранения. Заболеваемость ПМК растет во всем мире, причем более высокие показатели наблюдаются в развитых, чем в развивающихся, странах [2]. По оценкам ВОЗ, заболеваемость в мире ежегодно приближается к 400 000 вновь диагностированных случаев заболевания. Только в США в 2024 году рак почки был диагностирован у 81 610 пациентов, 14 390 из них умерли от рака почки [3].

Светлоклеточная почечно-клеточная карцинома (сПМК) является преобладающей формой рака почки, составляя примерно 70–90% всех раковых заболеваний почек. Этот вариант отличается выраженной агрессивностью и высокой частотой метастазирования, что создает значительные трудности для терапевтического вмешательства. На момент постановки диагноза уже примерно у 30% пациентов наблюдается отдаленное метастазирование. Кроме того, примерно у 20% пациентов, которым первоначально выполнялась нефрэктомия без признаков отдаленного метастатического поражения, впоследствии развивались метастазы [4].

В настоящее время при злокачественном росте активно изучается роль лимфоидного инфильтрата [5, 6, 7]. CD4⁺ лимфоциты являются Т-хелперами. Выделяют два подкласса хелперов – Th1 и Th2, которые оказывают разнонаправленное действие. Th1-лимфоциты способны секретировать цитокины IFN- γ и IL-2, обладающие противоопухолевой активностью, а Th2-лимфоциты могут стимулировать секрецию В-лимфоцитами антител и продукцию цитокинов IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, которые способны подавлять активность цитотоксических Т-лимфоцитов [8]. Также среди CD4⁺ лимфоцитов выделяют группу Т-регуляторных лимфоцитов (T-regs), на которых экспрессируется ядерный фактор транскрипции FoxP3. Активированные T-reg способны подавлять пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов и секрецию ими цитокинов [9]. С. Cui и соавт. [10] показали, что посредством секреции эффекторных цитокинов CD4⁺ лимфоциты способствуют активации CD8⁺ лимфоцитов. Поэтому предполагают, что активированные околоопухолевые CD4⁺ лимфоциты стимулируют миграцию CD8⁺ лимфоцитов. По данным Н.В. Даниловой и соавт. [11], CD4⁺ лимфоциты при раке желудка также могут привлекать в околоопухолевую зону (ОЗ) фибробласты, которые активно продуцируют матриксные металлопротеиназы, что облегчает инвазию и метастазирование опухолевых клеток.

Прогностическое значение возрастания количества CD4⁺ лимфоцитов в ОЗ показано при раке гортани, раке молочной железы, раке легкого и раке яичника [7]. По данным S. Su и соавт. [12], сПМК более инфильтрирована лимфоцитами, чем другие раковые образования. Н.Л. Lee и соавт. [13] показали, что высокая инфильтрация сПМК CD4⁺ лимфоцитами и FoxP3⁺

иммунными клетками была ассоциирована с плохим послеоперационным выживанием больных. Аналогичные данные приводятся и в других работах [14]. В то же время имеются работы, где показан благоприятный прогноз нахождения высокого содержания CD4+ лимфоцитов при сПКК [15]. Таким образом, приведенные данные литературы о прогностическом значении CD4+ лимфоцитов в микроокружении ПКК противоречивы.

Целями исследования были количественный анализ содержания CD4+ лимфоцитов в ОЗ сПКК и поиск взаимосвязей с клинико-анатомическими параметрами карцином и прогнозом послеоперационной выживаемости больных.

Материалы и методы исследования. В работе был проведен ретроспективный анализ операционного материала 57 пациентов после оперативного лечения по поводу сПКК, из которых к 5-летнему сроку наблюдения 43 (75,4%) были живы, а 14 (24,6%) умерли от рака. Характеристика больных и параметры карцином представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты подсчета числа CD4+ лимфоцитов в ОЗ сПКК в зависимости от пола, возраста пациентов, стадии, степени анаплазии, Т-параметра и наличия метастазов (М±м)

Параметры	Число пациентов	%
Пол: мужчины	29	50,9
женщины	28	49,1
Возраст, годы:		
30–39	3	5,3
40–49	12	21
50–59	20	35,1
60–69	16	28,1
70–79	6	10,5
TNM стадия: I–II	37	64,9
III–IV	20	35,1
Степень анаплазии: G I–II	35	61,4
G III–IV	22	38,6
Наибольший длинник карциномы см: <7	30	52,6
≥7	27	47,4
Наличие отдаленных метастазов: N0	43	75,4
N+	14	24,6

Материал фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина в течение 24 часов, затем подвергали стандартной проводке и заливке в парафин. Срезы окрашивали иммуногистохимическим методом по протоколу производителя с помощью моноклональных антител к CD4+ (клон RbCD4 (SP35), SPRING). CD4+ лимфоциты подсчитывали в ОЗ карцином в 5 полях зрения при увеличении микроскопа x400 с помощью морфометрического пакета ВидеоТест-Морфология 5.2. Спастический анализ проводили в программе Statistica

10.0. Вычисляли среднее значение и ошибку среднего. Статистически значимыми считали данные при $p < 0,05$. Корреляционный анализ был осуществлен по Спирмену.

Результаты исследования и их обсуждение

Выявлено, что без учета клинических и анатомических особенностей новообразований медиана числа CD4+ лимфоцитов в ОЗ сПКК составила $117,8 \pm 9,2$ в 5 полях зрения при увеличении микроскопа $\times 400$.

При проведении корреляционного анализа в зависимости от пола взаимосвязи с числом CD4+ лимфоцитов в ОЗ карцином обнаружено не было ($r=0,12$; $p=0,37$). Число CD4+ лимфоцитов в ОЗ у мужчин было равно $124,1 \pm 12,3$, а у женщин – $112,2 \pm 13,6$ ($p=0,5$) (табл. 2).

В зависимости от возраста взаимосвязи с количеством CD4+ лимфоцитов в ОЗ карцином так же не было выявлено ($r=0,06$; $p=0,64$). Наибольшее количество CD4+ лимфоцитов в ОЗ было при возрасте больных от 70 до 79 лет ($132,9 \pm 34,6$), наименьшее – в возрастной группе от 30 до 39 лет ($19,3 \pm 1,8$) (табл. 2).

Проведение корреляционного анализа со стадией по TNM позволило выявить корреляционную взаимосвязь ($r=0,66$; $p=0,0001$). На ранних стадиях карцином (I–II стадия) количество CD4+ лимфоцитов в ОЗ равнялось $65,9 \pm 6,6$, а на поздних (III–IV стадия) оно возрастало в 3,4 раза ($p=0,0000001$) (рис. 1; табл. 2).

Со степенью анаплазии опухолевых клеток тоже была выявлена сильная корреляционная взаимосвязь ($r=0,73$; $p=0,0001$). При степени анаплазии карцином по Fuhrman GI–GII содержание CD4+ лимфоцитов в ОЗ составило $45,5 \pm 2,7$, а при GIII–GIV оно возрастало в 4,9 раза (табл. 2).

Таблица 2

Содержание CD4+ лимфоцитов в ОЗ в зависимости
от возрастно-половых особенностей пациентов и сПКК ($M \pm m$)

Параметры	Число CD4+ лимфоцитов в ОЗ	p
Пол: мужчины женщины	$124,1 \pm 12,3$ $112,2 \pm 13,6$	$p=0,5$
Возраст: 30–39 лет (1) 40–49 лет (2) 50–59 лет (3) 60–69 лет (4) 70–79 лет (5)	$19,3 \pm 1,8$ $122,8 \pm 19,9$ $128,5 \pm 16,1$ $100,2 \pm 14$ $132,9 \pm 34,6$	–
Стадия TNM: I–II III–IV	$65,9 \pm 6,6$ $221,7 \pm 17,6$	$p=0,0000001$
Степень анаплазии: G I–II G III–IV	$45,5 \pm 2,7$ $224,7 \pm 15,1$	$p=0,0000001$
Наибольший длинник карциномы см: <7 ≥ 7	$63,05 \pm 6,6$ $183,2 \pm 15,7$	$p=0,0000001$

Наличие отдаленных метастазов: N0	90,1±8,9	p=0,000001
N+	211,8±21	

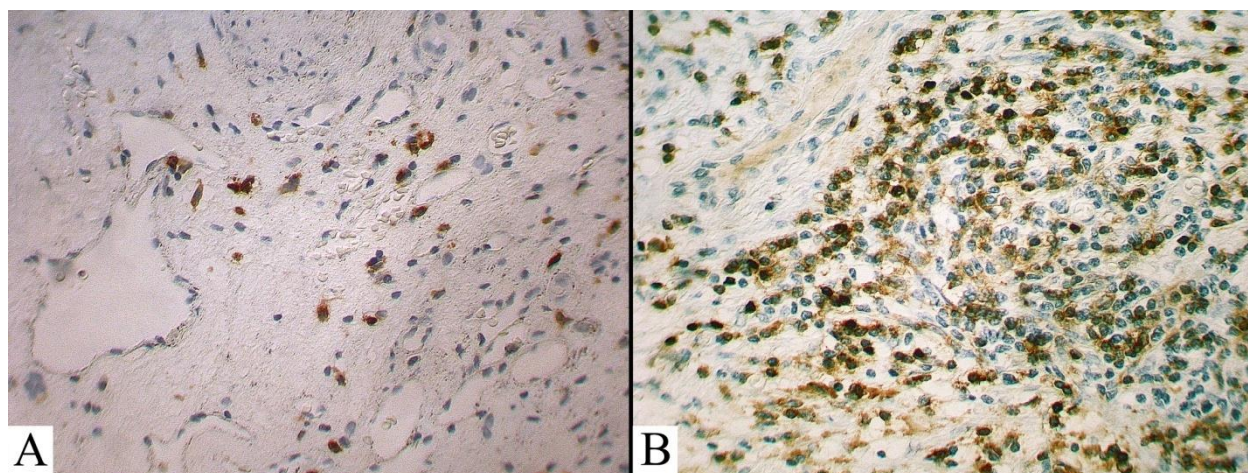


Рис. 1. Содержание CD4+ лимфоцитов в ОЗ карцином в зависимости от стадии заболевания: А – I стадия; В – IV стадия.

Иммуногистохимическая реакция с антителами против CD4. Ув. x400

Число CD4+ лимфоцитов в ОЗ коррелировало с наибольшим длинником карциномы ($r=0,60$; $p=0,0001$). Наибольший длинник карцином в среднем составил $6,8 \pm 0,2$ см. Если наибольший длинник карцином был $<7,0$ см, число CD4+ лимфоцитов в ОЗ составляло $63,05 \pm 6,6$, а когда был $\geq 7,0$ см, оно увеличивалось в 2,9 раза ($p=0,0000001$) (табл. 2).

Наличие метастазов было взаимосвязано с содержанием CD4+ лимфоцитов в ОЗ карцином ($r=0,55$; $p=0,0001$). При локализованных карциномах количество CD4+ лимфоцитов в ОЗ составило $90,1 \pm 8,9$, а в местнораспространенных оно было больше в 2,35 раза (табл. 2).

Была найдена корреляционная взаимосвязь с послеоперационным выживанием пациентов ($r=0,42$; $p=0,01$). Анализ кривых выживаемости по Каплану–Майеру в зависимости от содержания CD4+ лимфоцитов в ОЗ карцином показал статистически значимые различия. Показатель log-rank-критерия составил $p=0,003$ (рис. 2).

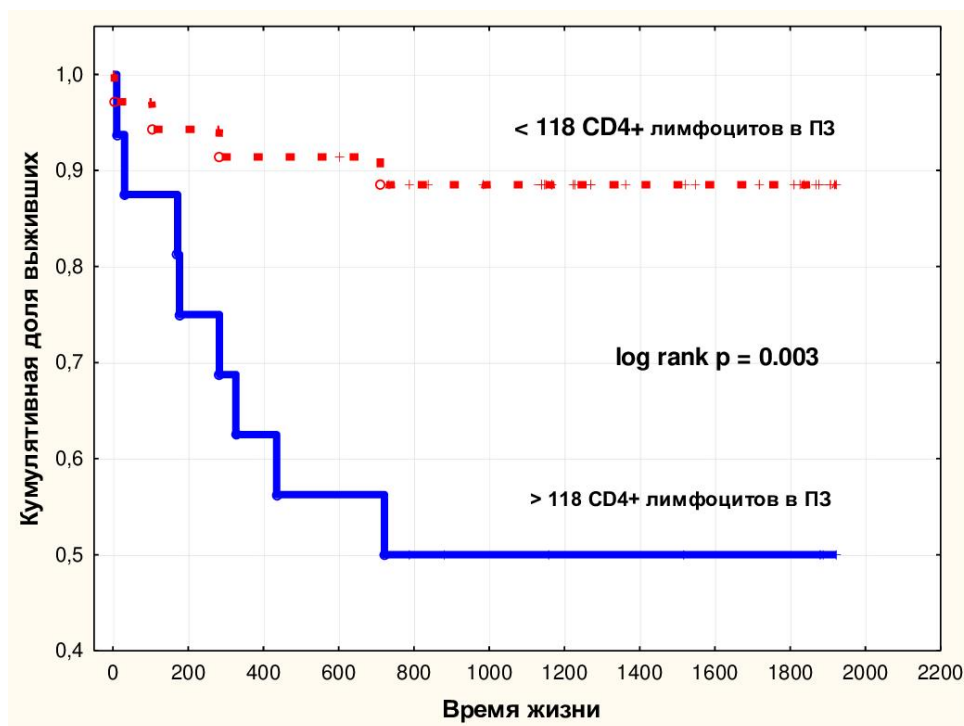


Рис. 2. Кривые 5-летнего послеоперационного выживания пациентов зависимости от количества CD4+ лимфоцитов в ОЗ

В настоящий момент прогностическое значение и фенотипические особенности внутриопухолевого лимфоидного инфильтрата злокачественных новообразований изучено гораздо более полно, чем околоопухолевого. Данные исследований прогностического значения лимфоидного инфильтрата в ОЗ при сПКК неоднозначны и порой противоречивы. В то же время в некоторых работах указывается, что сПКК является загадкой в плане изучения лимфоидного микроокружения, поскольку, в отличие от других злокачественных новообразований, большое количество лимфоцитов в карциноме взаимосвязано с неблагоприятным прогнозом заболевания. Так, например, было показано, что инфильтрация CD8+ лимфоцитами метастазов в легкие из сПКК была взаимосвязана с короткой общей послеоперационной выживаемостью пациентов, в то время как при метастатических поражениях легких из колоректальной карциномы большое количество CD8+ лимфоцитов являлось фактором благоприятного прогноза [6].

Собственные данные показывают, что в ОЗ ПКК представлена обильной инфильтрацией CD8+ лимфоцитами, CD79α+ В-лимфоцитами, CD68-макрофагами и CD117-тучными клетками. Высокое содержание данных клеток в ОЗ ПКК было статистически значимо взаимосвязано с факторами неблагоприятного прогноза: высокой стадией по TNM; большим наибольшим длинником карциномы, высокой степенью анаплазии опухолевых клеток, наличием отдаленных метастазов и низкой 5-летней послеоперационной выживаемостью больных [5, 6, 7]. Исследование CD4+ лимфоцитов в ОЗ сПКК показало

аналогичные результаты. По-видимому, в ОЗ ППК иммунные клетки воспалительного инфильтрата находятся во взаимодействии с друг с другом и оказывают свои эффекты в едином комплексе. Однако остается неясным, является ли инфильтрация иммунными клетками ОЗ при ППК признаком активизации иммунного ответа или миграция этих клеток из кровяного русла в ОЗ осуществляется в ответ на выделения цитокинов опухолевыми клетками и перепрограммирования их функций.

Как известно, иммунные клетки богаты факторами роста, пролиферации, ангиогенеза и другими активными цитокинами. Интересно отметить, что, по данным авторов, у больных, в ППК у которых в ОЗ наблюдается высокая инфильтрация CD4⁺ лимфоцитами, CD8⁺ лимфоцитами, CD79α⁺ В-лимфоцитами, CD68-макрофагами и CD117-тучными клетками имели место активный ангиогенез, высокая экспрессия VEGF, Ki-67, нуклеофозмина B/23, p53, MMP-9 и слабая экспрессия ингибитора апоптоза bcl-2. Таким образом, такие карциномы отличаются хорошим кровоснабжением, высокой пролиферативной активностью и скоростью пролиферации, способностью к инвазии и метастазированию. В опухолевых клетках таких карцином отмечаются высокое содержание мутантного p53 и малое количество bcl-2, поэтому клетки опухоли способны к активному выживанию в неблагоприятных условиях. По мнению авторов, CD4⁺ лимфоциты околоопухолевой области во взаимодействии с другими иммунными клетками при сПКК также могут способствовать росту и инвазии опухолевых клеток.

Заключение. Количественный анализ содержания CD4⁺ клеток в ОЗ ППК позволил выявить корреляционные взаимосвязи с важными клинико-анатомическими факторами прогноза и 5-летней послеоперационной выживаемостью больных. Высокая инфильтрация ОЗ ППК CD4⁺ клетками может свидетельствовать о неблагоприятном прогнозе заболевания.

Список литературы

1. Li X., Zhang Y., Ye Y., Xiao W., Liu L., Zhang X. NK cells in renal cell carcinoma and its implications for CAR-NK therapy // *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2025. Vol. 20. Is. P. 131532491. DOI: 10.3389/fcell.2025.1532491.
2. Zuo Y., Li T., Yang S., Chen X., Tao X., Dong D., Liu F., Zhu Y. Contribution and expression of renal drug transporters in renal cell carcinoma // *Frontiers in Pharmacology*. Vol. 15. P. 1466877. DOI: 10.3389/fphar.2024.1466877.
3. Miller J.W., Johnson J.S., Guske C., Mannam G., Hatoum F., Nassar M., Potez M., Fazili A., Spiess P.E., Chahoud J. Immune-Based and Novel Therapies in Variant Histology RenalCell Carcinomas // *Cancers*. 2025. Vol. 17. P. 326. DOI: org/10.3390/cancers17020326.

4. He W.B., Zhou C., Yang Z.J., Zhang Y.F., Zhang W.B., He H., Wang J., Zhou F.H. The predictive value of radiomics and deep learning for synchronous distant metastasis in clear cell renal cell carcinoma // *Discover Oncology*. 2025. Vol. 16. P. 86. DOI: 10.1007/s12672-025-01806-x.
5. Бобров И.П., Черданцева Т.М., Долгатова Е.С., Долгатов А.Ю., Лепилов А.В., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А. Прогностическое значение количественной оценки В-лимфоцитов в перитуморозной зоне рака почки // *Современные проблемы науки и образования*. 2021. № 2. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=30739> (дата обращения: 15.04.2025). DOI: 10.17513/spno.30739.
6. Бобров И.П., Черданцева Т.М., Долгатова Е.С., Долгатов А.Ю., Лепилов А.В., Корсиков Н.А., Лушникова Е.Л., Бакарев М.А. Высокая экспрессия CD8+ Т-лимфоцитов в перитуморозной зоне рака почки: взаимосвязи с клинико-патологическими параметрами карцином и прогностическое значение // *Современные проблемы науки и образования*. 2023. № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=32460> (дата обращения: 15.04.2025). DOI: 10.17513/spno.32460.
7. Бобров И.П., Долгатова Е.С., Долгатов А.Ю., Лепилов А.В., Корсиков Н.А., Лушникова Е.Л., Клиникова М.Г., Бакарев М.А. Прогностическое значение исследования воспалительного инфильтрата в перитуморозной зоне злокачественных новообразований // *Современные проблемы науки и образования* 2025. № 1. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=33934> (дата обращения: 15.04.2025). DOI: 10.17513/spno.33934.
8. Gabitass R.F., Annels N.E., Stocken D.D., Pandha H.A., Middleton G.W. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic, esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13 // *Cancer Immunol Immunother*. 2011. Vol. 60. (10). P. 1419-1430. DOI: 10.1007/s00262-011-1028-0.
9. Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Зависимость фенотипа и хемилюминесцентной активности моноцитов от количества Т-регуляторных клеток у больных раком почки // *Медицинская иммунология*. 2020. № 22 (2). С. 347-356. DOI: 10.15789/1563-0625-DOP-1890.
10. Cui C., Wang J., Fagerberg E., Chen P.M., Connolly K.A., Damo M., Cheung J.F., Mao T., Askari A.A., Chen S., Fitzgerald B., Foster G.G., Eisenbarth S.C., Zhao H., Craft J., Joshi N.S. Neoantigen-driven B cell and CD4 T follicular helper cell collaboration promotes anti-tumor CD8 T cell responses // *Cell*. 2021. Vol. 184. (25). P. 6101-6118. DOI: 10.1016/j.cell.2021.11.007.
11. Данилова Н.В., Хомяков В.М., Чайка А.В., Михайлов И.А., Олейников Н.В., Мальков П.Г. Характеристика иммунного микроокружения слизистой оболочки перитуморальной области – дополнительный независимый прогностический фактор при раке

желудка // Сибирский онкологический журнал. 2021. Vol. 20. (1). С. 74-86. DOI: 10.21294/1814-4861-2021-20-1-74-86.

12. Su S., Akbarinejad S., Shahriyari L. Immune classification of clear cell renal cell carcinoma // Scientific Reports. 2021. Vol. 11. (1). P. 4338. DOI: 10.1038/s41598-021-83767-z.

13. Lee H.J., Shin D.Y., Lee Y.J., Lee S.J., Hwang C.S., Kim A., Park W.Y., Lee J.H., Choi K.U., Kim J.Y., Lee C.H., Sol M.Y., Park S.W. PD-L1 expression and infiltration by CD4⁺ and FoxP3⁺ T cells are increased in Xp11 translocation renal cell carcinoma and indicate poor prognosis // Histopathology. 2020. Vol. 76. (5). P. 714-721. DOI: 10.1111/his.14047.

14. Ager C.R., Zhang M., Chaimowitz M., Bansal S., Tagore S., Obradovic A., Jugler C., Rogava M., Melms J.C., McCann P., Spina C., Drake C.G., Dallos M.C., Izar B. KLRG1 marks tumor-infiltrating CD4 T cell subsets associated with tumor progression and immunotherapy response // Journal for Immunotherapy of Cancer. 2023. Vol. 11. (9). P. e006782. DOI: 10.1136/jitc-2023-006782.

15. Yao J., Xi W., Chen X., Xiong Y., Zhu Y., Wang H., Hu X., Guo J. Mast cell density in metastatic renal cell carcinoma: Association with prognosis and tumour-infiltrating lymphocytes // Scandinavian Journal of Immunology. 2021. Vol. 93. (4). P. 13006. DOI: 10.1111/sji.13006.