

Взаимосвязь молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II классов с клинико-морфологическими признаками рака молочной железы

С.В. Чулкова^{✉1,2}, Е.Н. Шолохова¹, И.В. Поддубная³, И.С. Стилиди^{1,2}, Д.А. Буров⁴, Н.Н. Тупицын¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва, Россия;

³ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

⁴ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Обсуждение. Длительное время не ослабевает интерес к HLA-пептидному комплексу, клиническое значение которого при раке по сей день является предметом напряженных дискуссий. Через презентацию HLA-антигенов опухолевые клетки становятся доступными для распознавания и уничтожения эффекторными клетками иммунной системы. Детальный анализ экспрессии молекул HLA клетками рака молочной железы представляет собой и научную, и важную практическую ценность, поскольку может привести дополнительную информацию об иммунной системе для определения дальнейшей стратегии лечения больных раком молочной железы.

Цель. Оценить экспрессию молекул HLA I и II класса клетками рака молочной железы и определить их взаимосвязи с морфологическими и клиническими характеристиками опухолей.

Материалы и методы. В данную работу включены 82 больные раком молочной железы, которые получали лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Иммунофенотипирование первичной опухоли выполнено иммуногистохимическим методом (иммунофлуоресцентного окрашивания) на криостатных срезах. Оценка реакции проводилась с помощью люминесцентного микроскопа ZEISS (AXIOSKOP, Германия). Изучена частота экспрессии молекул HLA I и II класса в зависимости от клинических и морфологических характеристик рака молочной железы.

Результаты. Частота экспрессии молекул HLA I и II класса клетками рака молочной железы различалась. Антигены HLA I класса экспрессированы почти в 1/2 случаев (54,5%), тогда как антигены HLA II класса – в 22,0%. Выявлены ассоциации молекул главного комплекса гистосовместимости с клинико-морфологическими признаками рака молочной железы. С увеличением стадии возрастает частота HLA-DR-негативных случаев ($p=0,029$). Частота мономорфной экспрессии HLA II класса при размерах опухоли, соответствующих T1, составила 50% против 0% при T4 ($p=0,032$). Отрицательные по рецепторам эстрогенов опухоли молочной железы в большинстве случаев не экспрессировали HLA II класса (85,2% против 64%; $p=0,034$). Не установлено связи с другими клинико-морфологическими признаками опухоли.

Заключение. В большинстве случаев рака молочной железы отсутствует экспрессия молекул HLA II класса при сохранной экспрессии HLA I класса в 1/2 случаев. Мономорфная экспрессия HLA II класса характерна для раннего этапа развития рака молочной железы и преимущественно для рецептор-положительных опухолей.

Ключевые слова: HLA-I, HLA-DR, рак молочной железы, иммунофенотипирование, иммунофлуоресценция, криостатные срезы

Для цитирования: Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Поддубная И.В., Стилиди И.С., Буров Д.А., Тупицын Н.Н. Взаимосвязь молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I и II классов с клинико-морфологическими признаками рака молочной железы. Современная Онкология. 2023;25(2):208–213. DOI: 10.26442/18151434.2023.2.202082

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2023 г.

Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Чулкова Светлана Васильевна** – канд. мед. наук, доц., ст. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопоза Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», доц. каф. онкологии и лучевой терапии ФГАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». E-mail: chulkova@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4412-5019

Шолохова Елена Николаевна – канд. мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. иммунологии гемопоза Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: enshell@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1456-1904

Поддубная Ирина Владимировна – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. онкологии и паллиативной медицины им. А.И. Савицкого, проректор по лечебной работе и международному сотрудничеству ФГБОУ ДПО РМАНПО. ORCID: 0000-0002-0995-1801; SPIN-код: 1146-9889

Стилиди Иван Сократович – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., дир. ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», зав. каф. онкологии и лучевой терапии ФГАУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова». ORCID: 0000-0002-0493-1166

Буров Дмитрий Александрович – ст. лаборант каф. онкологии ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова»

Тупицын Николай Николаевич – д-р мед. наук, проф., рук. лаб. иммунологии гемопоза Научно-исследовательского института клинической онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». ORCID: 0000-0003-3966-128X

✉ **Svetlana V. Chulkova** – Cand. Sci. (Med.), Assoc. Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Pirogov Russian National Research Medical University. E-mail: chulkova@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4412-5019

Elena N. Sholokhova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: enshell@mail.ru; ORCID: 0000-0002-1456-1904

Irina V. Poddubnaya – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. ORCID: 0000-0002-0995-1801; SPIN code: 1146-9889

Ivan S. Stilidi – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Pirogov Russian National Research Medical University. ORCID: 0000-0002-0493-1166

Dmitrii A. Burov – Senior Laboratory Assistant, Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry

Nikolai N. Tupitsyn – D. Sci. (Med.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology. ORCID: 0000-0003-3966-128X

Interrelation of HLA-I and class II major histocompatibility complex molecules with clinical and morphological signs of breast cancer: A retrospective cohort study

Svetlana V. Chulkova^{1,2}, Elena N. Sholokhova¹, Irina V. Poddubnaya³, Ivan S. Stilidi^{1,2}, Dmitrii A. Burov⁴, Nikolai N. Tupitsyn¹

¹Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia;

³Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

⁴Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

Abstract

Background. For a long time, interest in the HLA peptide complex is unabated, the clinical significance of which in cancer is still the subject of intense debate. Through the presentation of HLA antigens, tumor cells become available for recognition and destruction by effector cells of the immune system. A detailed analysis of the expression status of HLA molecules by breast cancer cells is of both scientific and important practical value. It can provide additional information about the immune system to determine a further strategy for treating breast cancer.

Aim. To evaluate the frequency of expression of HLA-I and class II molecules by breast cancer cells and to determine its relationship with the morphological and clinical characteristics of the tumor.

Materials and methods. This study included 82 patients with breast cancer who received treatment at the Blokhin National Medical Research Center of Oncology. Immunophenotyping of the primary tumor was performed by the immunohistochemical method (immunofluorescent staining) on cryostat sections. The reaction was evaluated using a ZEISS luminescent microscope (AXIOSKOP, Germany). The frequency of expression of HLA-I and class II molecules was studied depending on the clinical and morphological characteristics of breast cancer.

Results. It was found that the frequency of expression of HLA I and II class molecules by breast cancer cells differed. HLA class I antigens are preserved in almost half of the cases 54.5%, while HLA class II antigens are preserved in 22.0%. Associations of molecules of the major histocompatibility complex with clinical and morphological signs of breast cancer were revealed. The frequency of HLA-DR negative cases increases in the stage advanced ($p=0.029$). The frequency of monomorphic expression of HLA class II with T1 tumor was 50% versus 0% at T4 tumor ($p=0.032$). Estrogen receptor-negative tumors in most cases did not express HLA-II class (85.2% vs 64%; $p=0.034$). No connection with other clinical and morphological features of the tumor has been established.

Conclusion. In most cases of breast cancer, the expression of HLA class II molecules is lost, while the expression of HLA class I is preserved in half of the cases. Monomorphic expression of HLA class II is characteristic of the early stage of breast cancer development and predominantly of receptor-positive tumors.

Keywords: HLA-I, HLA-DR, breast cancer, immunophenotyping, immunofluorescence, cryostat sections

For citation: Chulkova SV, Sholokhova EN, Poddubnaya IV, Stilidi IS, Burov DA, Tupitsyn NN. Interrelation of HLA-I and class II major histocompatibility complex molecules with clinical and morphological signs of breast cancer: A retrospective cohort study. *Journal of Modern Oncology*. 2023;25(2):208–213. DOI: 10.26442/18151434.2023.2.202082

Введение

Рак молочной железы занимает лидирующие позиции в структуре онкологической заболеваемости у женщин. Следует констатировать, что, несмотря на кажущуюся простоту в диагностике и всю очевидность в выборе лечения согласно современным алгоритмам, излечение пациенток с диагнозом рака молочной железы пока не достигнуто. Смертность от рака молочной железы продолжает оставаться высокой [1]. По статистическим данным, от этой болезни в мире погибают почти 700 тыс. женщин ежегодно [2]. Течение рака молочной железы весьма разнообразно, нередко наблюдаются рецидивы, отдаленные метастазы даже спустя годы ремиссий, а ряд социально-экономических факторов ограничивает доступность больных к современным диагностическим и лечебным ресурсам [3, 4].

В последние десятилетия исследования фундаментальных основ биологии злокачественной опухоли продвинулись далеко вперед. Это позволило приоткрыть завесу ее биологических особенностей и обнаружило целый пласт признаков, которые на сегодняшний день предоставляют возможность проводить более точную диагностику рака молочной железы и выбирать наиболее оптимальный путь лечения конкретной пациентки [5]. Одними из таких признаков стали иммунологические маркеры, которые необходимо учитывать при принятии решения о виде системной лекарственной терапии рака молочной железы. К их числу относятся молекулы главного комплекса гистосовместимости [6, 7].

Главный комплекс гистосовместимости, более известный как комплекс человеческих лейкоцитарных антигенов (HLA), представляет собой довольно полиморфный генный

комплекс, кодирующий молекулы клеточной поверхности, которые специализируются на распознавании и представлении собственных и чужеродных пептидов [8]. Этот уникальный комплекс HLA содержит более 200 идентифицированных локусов, расположенных близко друг к другу в пределах короткого плеча 6-й хромосомы [9–11].

Известно, что на основе своих функций и структуры антигены HLA подразделяются на 3 класса: класс I, II и III. Молекулы HLA I класса экспрессируются на поверхности всех ядродержащих клеток организма, за исключением зародышевых и некоторых нейрональных клеток [12].

В отличие от молекул HLA I класса молекулы HLA II класса обычно присутствуют только на профессиональных антигенпрезентирующих клетках (В-клетках, макрофагах, дендритных клетках, клетках Лангерганса), эпителии тимуса и активированных Т-клетках [13]. Они кодируются генами в локусах HLA-DP, -DQ и -DR кластера 6-й хромосомы [13]. Состоят молекулы HLA II класса из 2 высокополимерных полипептидов, цепей α и β [13]. Только β_2 -домен β -цепи является непептидной областью. Он представляет собой сайт связывания для корцептора CD4+ Т-клеток [14, 15].

Молекулы HLA II класса способствуют переключению наивных Т-клеток в активированные Т-клетки путем представления экзогенно полученных антигенных пептидов CD4+ Т-клеткам [14, 15]. Кроме того, молекулы HLA II класса регулируют функции В-клеток, макрофагов и Т-клеток [13].

Молекулы HLA I класса экспонируют на клеточной мембране пептидные фрагменты, происходящие от эндогенно расщепленных собственных или чужеродных белков. Эти пептиды распознаются Т-клеточным рецептором цитоток-

сических Т-лимфоцитов (CD8+) [15]. Пептиды, полученные из собственных (немутированных) белков, обычно игнорируются цитотоксическими Т-лимфоцитами (ЦТЛ). Опухолевые клетки характеризуются мутированными генами и aberrantly экспрессируемыми клеточными белками, из которых образуются опухолеспецифические антигены и опухолеассоциированные антигены. Через презентацию этих антигенов опухолевые клетки становятся доступными ЦТЛ-опосредованному лизису. Используя эту систему адаптивного иммунитета, ЦТЛ проявляют мощную противоопухолевую активность [16].

Молекулы HLA I класса также могут представлять пептиды, генерируемые из экзогенных белков, процесс, известный как перекрестная презентация [12, 17]. Этот процесс необходим для распознавания и уничтожения как опухолевых клеток, так и вирусов, которые с трудом инфицируют антигенпрезентирующие клетки, стимулируя наивные Т-клетки в активированные ЦТЛ [12, 13, 17].

Помимо опосредования адаптивного иммунного ответа молекулы HLA I класса также играют ключевую роль во врожденном иммунном ответе, так как они служат лигандами ингибирующих иммуноглобулин-подобных рецепторов NK-клеток [18]. Поскольку большинство нормальных ядродержащих клеток экспрессируют молекулы HLA I класса, ингибирующие рецепторы обеспечивают их защиту от атаки NK-клетками. NK-клетки уничтожают только опухолевые клетки, у которых экспрессия молекул HLA зачастую снижена [18, 19].

Установлено, что aberrации в экспрессии молекул гистосовместимости HLA I и II класса наблюдаются при многих видах рака, приводя к эффективному уклонению опухоли от иммунного ответа [20–22]. В зависимости от вида опухоли это может коррелировать с гистологическим типом опухоли, степенью ее злокачественности, ответом на лечение, выживаемостью [23–25]. По этим причинам HLA пептидный комплекс привлекает довольно широкое внимание исследователей и активно изучается по сей день, являясь источником напряженных дискуссий.

В ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» мономорфные HLA-детерминанты при раке изучаются длительное время. Лабораторией иммунологии гемопоза за годы исследований накоплен довольно обширный материал по изучению их значимости при раке молочной железы. Так, результаты работы Е.В. Артамоновой демонстрируют наличие взаимосвязи экспрессии антигенов HLA I и II классов клетками рака молочной железы между собой [25]. Кроме того, на основе полученных данных автором сформулирована концепция, объясняющая механизм влияния мономорфных HLA-детерминант на прогноз заболевания. Реализация данного влияния HLA-фенотипа происходит опосредованно, через действие иммунной системы в иммунокомпетентном организме [25]. Эти данные подтверждаются в последующих исследованиях лаборатории, в которых дополнительно изучались такие аспекты, как связи экспрессии молекул гистосовместимости с эффективностью лекарственного лечения, их взаимоотношения с местными иммунными реакциями [26, 27].

Таким образом, детальный анализ статуса экспрессии молекул HLA клетками рака молочной железы представляет собой не только научную, но и важную практическую ценность, поскольку может привести дополнительную информацию для определения дальнейшей стратегии лечения рака молочной железы.

Материалы и методы

Материалом данного исследования послужили образцы опухолевой ткани больных раком молочной железы. Всего включены в работу 82 больные раком молочной железы, которые прошли обследование и получали лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» (2002–2005 гг). Возраст больных варьировал от 27 до 77 лет, средний возраст составил 53,7±10,3 года. У 46% пациенток репродуктивная

Таблица 1. Распределение больных в зависимости от стадии рака молочной железы
Table 1. Distribution of patients by the stage of breast cancer

Стадия	Абс.	%
IIA	4	5,0
IIB	44	54,0
IIIA	10	12,0
IIIB	17	21,0
IIIC	7	8,0
Всего	82	100,0

Таблица 2. Распределение больных в зависимости от рецепторного статуса рака молочной железы
Table 2. Distribution of patients by the receptor status of breast cancer

Рецепторный статус	P3		P1	
	Абс.	%	Абс.	%
Положительный	54	65,9	53	64,6
Отрицательный	28	34,1	29	35,4
Всего	82	100,0	82	100,0

Примечание. P3 – рецепторы эстрогенов, P1 – рецепторы прогестерона.

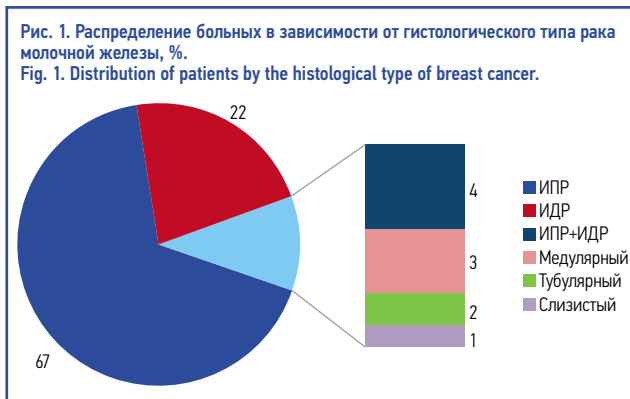
Таблица 3. Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR
Table 3. HLA-I and HLA-DR expression by tumor cells

Оценка экспрессии антигена	Абс.	%
HLA-I		
Отрицательная реакция «-»	37	46,0
Мозаичная реакция «-/+»	10	12,2
Мономорфная реакция «+»	34	42,0
Всего	81	100,0
HLA-DR		
Отрицательная реакция «-»	64	78,0
Мозаичная реакция «-/+»	9	12,0
Мономорфная реакция «+»	8	10,0
Всего	81	100,0

функция являлась сохранной, 48% пациенток находились в состоянии менопаузы, 4% – перименопаузы, 2% – постменопаузы. Диагноз рака молочной железы установлен на основании клинических, рентгенологических и морфологических данных. Всем пациенткам выполнено хирургическое пособие: в объеме мастэктомии – 79,3% (n=65), резекции молочной железы – 20,7% (n=17). Лекарственное лечение в адьювантном режиме проведено у 62,2% (n=51) пациенток, в неoadьювантном режиме – у 37,8% (n=31). Лучевая терапия проведена в 45,1% (n=37) случаев, гормонотерапия – в 50,0% (41) случаев.

Распространенность опухолевого процесса оценивалась согласно клинической классификации и международной системе TNM согласно 7-му изданию. По стадиям больных распределились следующим образом: IIA стадия – 5%, IIB стадия наблюдалась у 54% больных, IIIA выявлена в 12% случаев, IIIB – в 21% случаев, IIIC – 8% (табл. 1).

В большинстве случаев размер первичной опухоли соответствовал категории T2 (72%, n=59), реже отмечалась стадия T4 (22%, n=18). T1 стадия установлена лишь у 2,4% (n=2) больных, а T3 – у 3,6% (n=3). Метастатическое поражение лимфоузлов (N+) наблюдалось почти у всех больных, что составило 95% (n=78): N1 – 68,9% (n=54), N2 – 20,7% (n=17), N3 – 8,5% (n=7). Чаще всего степень дифференцировки опухоли соответствовала G2 (76,5%, n=52).



В соответствии с данными патоморфологического исследования в большинстве случаев диагностирован инфильтративно-протоковый рак (ИПР) молочной железы – 67% (n=55) больных. Инфильтративно-дольковый рак (ИДР) отмечен в 22% случаев (n=18), другие виды – 11,0% (n=9); рис. 1. Экспрессия опухолевыми клетками рецепторов эстрогена наблюдалась в 34% (n=28) случаев, рецепторов прогестерона – в 35% (n=29); табл. 2.

Имунофенотипирование опухоли выполнено на криостатных срезах в лаборатории иммунологии гемопоза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» методом иммунофлуоресценции. Опухоли помещались на предметные стекла, фиксировались ацетоном в течение 10 мин при температуре 4°C. Затем их отмывали в среде 199 (pH 7,2–7,4), наносили моноклональные антитела и инкубировали 30 мин. После отмывания наносили ФИТЦ-меченные F(ab)2 – фрагменты антисыворотки. По окончании инкубации препараты отмывали и консервировали 50% раствором глицерина. Учет реакции выполняли на люминесцентном микроскопе ZEISS (AXIOSKOP, Германия). Оценка экспрессии опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR проводилась полуквантитативным методом. Отрицательная реакция – менее 10% антиген-положительных клеток, мозаичная реакция – антиген экспрессируется частью опухолевых клеток (10–80%). Мономорфная реакция – экспрессия анализируемого антигена наблюдается более чем в 80% опухолевых клеток.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM-SPSS Statistics v.21. Осуществляли анализ корреляций по Пирсону или Спирмену, подсчет распределения частот по категориям с непрерывными и дискретными переменными (критерий Фишера и χ^2 по Пирсону). Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты анализа экспрессии молекул HLA-I класса, HLA-DR клетками рака молочной железы представлены в табл. 3.

При изучении экспрессии антигенных детерминант HLA I класса установлено, что в 46,0% (n=37) образцов отмечается отрицательная реакция, т.е. наблюдалось менее 10% антиген-положительных клеток. Мономорфная экспрессия анализируемого маркера выявлена в 42,0% (n=34) случаев, мозаичный тип реакции отмечен в 12,2% (n=10).

В отношении молекулы HLA-DR наблюдалась несколько иная картина. Антигены не экспрессировались более чем в 1/2 изученных образцов, что соответствовало 78,0% (n=64). Экспрессия HLA-DR антигена более чем 80% опухолевых клеток отмечена только в 10% (n=8) наблюдений. Мозаичная экспрессия данного антигена опухолевыми клетками установлена в 12,0% (n=9) образцов.

Как видим, частота экспрессии молекул HLA I и II классов различалась. HLA I класса сохраняются почти в 1/2 случаев (54,5%), тогда как экспрессия молекул HLA II класса отмечалась в 22,0% образцов. Большинство анализируемых случаев характеризовались отсутствием экспрессии HLA II клас-

Таблица 4. Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I в зависимости от размера опухоли (Т)
Table 4. HLA-I expression by tumor cells depending on tumor size (T)

Индекс Т		HLA-I «-»	HLA-I «+»	Итого
Т 1–2	Абс.	31	29	60
	%	51,7	48,3	100,0
Т 3–4	Абс.	6	15	21
	%	28,6	71,4	100,0
Итого	Абс.	37	44	81
	%	45,7	54,3	100,0

$p=0,063$

Таблица 5. Взаимосвязь HLA-DR-антигена со стадией
Table 5. Relationship between HLA-DR-antigen and cancer stage

Стадия	HLA-DR «-»	HLA-DR «+»	Итого	
IIA	Абс.	2	2	4
	%	50,0	50,0	100,0
IIB	Абс.	32	12	44
	%	72,7	27,3	100,0
IIIA	Абс.	8	2	10
	%	80,0	20,0	100,0
IIIB	Абс.	17	0	17
	%	100,0	0,0	100,0
IIIC	Абс.	5	2	7
	%	71,4	28,6	100,0
Итого	Абс.	64	18	82
	%	78,0	22,0	100,0

$p=0,029$

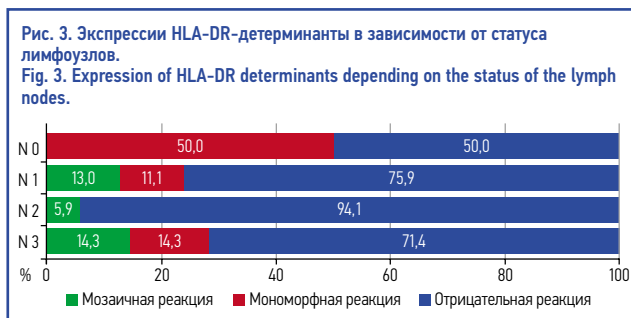
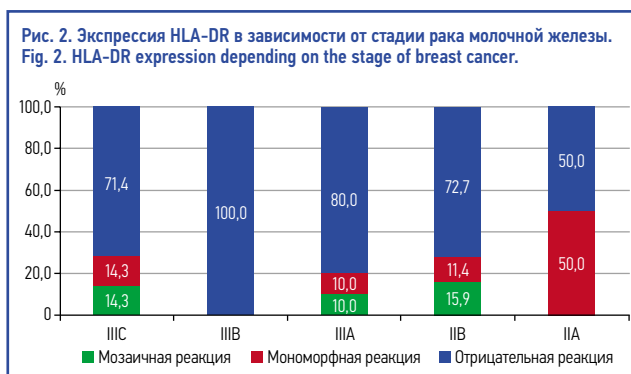
са. Полученные данные полностью согласуются с данными литературы и подтверждают результаты, полученные в более ранних работах лаборатории [25, 28].

Не установлено связи экспрессии молекул HLA I класса со стадией опухолевого процесса. При анализе связи статуса HLA-I с размерами первичной опухоли обращало внимание, что при увеличении размеров первичной опухоли (Т) частота экспрессии изучаемого антигена выше (табл. 4). При Т1–2 утрата молекул HLA-I наблюдалась в 51,7% случаев, тогда как при Т3–4 – в 28,6%, однако статистической значимости не достигнуто ($p=0,063$).

Достоверной взаимосвязи экспрессии молекул HLA-I с количеством метастатических лимфоузлов (N), гистологическим видом опухоли, степенью злокачественности, рецепторным статусом в ходе исследования не выявлено. При этом необходимо отметить, что в группе РЭ-негативных опухолей отсутствие экспрессии молекул HLA-I наблюдалось несколько чаще в сравнении с РЭ-положительными: 50,9 и 35,7% соответственно.

Дальнейший анализ касался молекулы HLA-II, в результате которого нами выявлен ряд достоверных взаимосвязей с несколькими морфологическими и клиническими факторами рака молочной железы. В табл. 5 представлены данные сравнения экспрессии антигена HLA-DR в зависимости от стадии. Как видим, при увеличении стадии возрастает количество опухолей с отсутствием экспрессии анализируемой детерминанты: при IIA-IIB-IIIA-IIIB соответственно 50% – 72,7% – 80,0% – 100,0% ($p=0,029$).

При более детальной оценке можно наблюдать, что процент мономорфно экспрессирующих молекулу HLA-DR опухолей снижался, наблюдалась мозаичная экспрессия, более того, при стадии IIIB не отмечено опухолей с экспрессией данного антигена (рис. 2). В работе Д.А. Бурова и соавт.



экспрессия молекул HLA-DR отмечалась при стадиях I-IIa и не наблюдалась при стадиях IIb и IIIa [26].

Схожие данные получены при сопоставлении выраженности экспрессии антигена HLA-DR с размером первичной опухоли (табл. 6). Как можно видеть из таблицы, мономорфно экспрессировался антиген в 1/2 случаев исключительно при небольших размерах опухолевого узла (T1), а при нарастании размеров его экспрессия становилась мозаичной, как, например, при T2, или отсутствовала вовсе. Признаки достоверно связаны. Дополнительный корреляционный анализ по Спирмену установил обратную связь средней силы: $-0,268$ ($p=0,015$).

Данное наблюдение в совокупности с приведенными результатами в отношении молекулы HLA-I свидетельствует, что уже на ранних этапах развития опухоль упрощает свой антигенный профиль, что позволяет ей эффективно избегать атаки цитотоксических лимфоцитов и, преодолевая иммунные барьеры, формировать нужное микроокружение и эволюционировать [29]. Подобного рода результаты описываются в мировой литературе и находят подтверждение в исследованиях, посвященных изучению опухолевого микроокружения [29–35].

На рис. 3 представлены результаты оценки связи экспрессии HLA-DR-детерминанты со статусом лимфоузлов. Хотя статистической значимости не достигнуто ($p=0,152$), тем не менее можно видеть отчетливую тенденцию. Частота мономорфной экспрессии HLA-DR при статусе N0 достигает 50% (2/4), тогда как при увеличении количества метастатически пораженных лимфоузлов снижается, уступая место мозаичной экспрессии. Так, при N1 отмечается экспрессия в 11,1% (6/54) мономорфная, а в 13,0% (7/54) случаев – мозаичная. При N2 94,1% (16/17) опухолей вовсе не экспрессируют антиген HLA-DR, лишь в 5,9% (1/17) он представлен мозаично. При N3 процент антиген-негативных опухолей остается высоким – 71,4% (5/7). Вместе с тем признаки не являются достоверно взаимосвязанными. В работе Д.А. Бутова и соавт. связи поражения регионарных лимфатических узлов с экспрессией HLA-DR на опухолевых клетках также не установлено [26], тогда как в другом исследовании нашей лаборатории (Е.В. Артамонова) при отсутствии молекул HLA-DR на опухолевых клетках метастазы в регионарные лимфатические узлы выявлялись достоверно чаще [25].

Отчетливой взаимосвязи экспрессии HLA-DR-детерминанты с гистологическим видом рака молочной желе-

Таблица 6. Взаимосвязь HLA-DR-антигена с размером опухоли (индекс Т)
Table 6. Relationship between HLA-DR-antigen and the tumor size (T index)

Индекс Т	HLA-DR «-»	HLA-DR «+/-»	HLA-DR «+»	Итого	
T1	Абс.	1	0	1	2
	%	50,0	0,0	50,0	100,0
T2	Абс.	43	9	7	59
	%	72,9	15,3	11,9	100,0
T3	Абс.	2	0	1	3
	%	66,7	0,0	33,3	100,0
T4	Абс.	18	0	0	18
	%	100,0	0,0	0,0	100,0
Итого	Абс.	64	9	9	82
	%	78,0	11,0	11,0	100,0

$p=0,032$

Таблица 7. Взаимосвязь рецепторного статуса опухоли и HLA-DR-антигена
Table 7. Relationship between tumor receptor status and HLA-DR-antigen

Статус рецепторов	HLA-DR – негатив.	HLA-DR – позитив.	Итого	
РЭ «-»	Абс.	46	8	54
	%	85,2	14,8	100,0
РЭ «+»	Абс.	18	10	28
	%	64,3	35,7	100,0
Итого	Абс.	64	18	82
	%	78,0	22,0	100,0

$p=0,034$

зы, впрочем, так же, как и со степенью ее дифференцировки, нами не выявлено. В литературе встречаются сведения о том, что при нарастании степени злокачественности рака молочной железы экспрессия анализируемого антигена утрачивается [26, 27]. Иными словами, экспрессия HLA-DR имеет место при более дифференцированных опухолях. Вероятно, в нашем исследовании отсутствие такой связи обусловлено малочисленностью случаев в группе с высокой дифференцировкой опухоли.

Сопоставление с рецепторным статусом рака молочной железы первоначально не установило выраженной связи с антигеном HLA-DR. Но при детальном анализе эти признаки оказались достоверно взаимосвязаны (табл. 7). Отрицательные по рецепторам эстрогена опухоли в 85,2% ($n=46$) случаев не экспрессировали молекулу HLA II класса, т.е. подавляющее большинство являлись HLA-DR-негативными, в то время как в группе рецептор-положительных опухолей отсутствие HLA-DR-антигена наблюдалось в 64% случаев ($n=18$; $p=0,034$). В отношении рецепторов прогестерона подобных связей не установлено. Полученные результаты подтверждают данные литературы [26].

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что частота экспрессии молекул HLA I и II классов различалась. Антигены HLA I класса сохраняются почти в 1/2 случаев (54,5%), тогда как антигены HLA-II экспрессированы в 22,0%. Выявлены ассоциации молекул HLA с клинико-морфологическими признаками рака молочной железы. Экспрессия молекулы HLA II класса коррелировала со стадией опухоли, схожие данные получены при сопоставлении выраженности экспрессии антигена HLA-DR с размером первичной опухоли. При увеличении индекса Т экспрессия HLA-DR становилась мозаичной или отсутствовала вовсе. При отсутствии экспрессии рецепторов эстрогена подавляющее большинство опухолей не экспрессировали молекулу HLA II класса.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. С.В. Чулкова – написание текста рукописи, анализ данных, перевод, оформление рукописи; Е.Н. Шолохова – получение и анализ данных; И.В. Поддубная – анализ рукописи; И.С. Стилиди – анализ рукописи; Д.А. Буров – оформление рукописи; Н.Н. Тупицын – дизайн исследования, анализ данных, анализ рукописи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. S.V. Chulkova – manuscript writing, data analysis,

translation, manuscript design; E.N. Sholokhova – data acquisition and analysis; I.V. Poddubnaya – manuscript review; I.S. Stilidi – manuscript review; D.A. Burov – manuscript design; N.N. Tupitsyn – study design, data review, manuscript review.

Источники финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information and all of accompanying images within the manuscript.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209–49.
- McCormack V, McKenzie F, Foerster M, et al. Breast cancer survival and survival gap apportionment in sub-Saharan Africa (ABC-DO): a prospective cohort study. *The Lancet Global Health.* 2020;8(9):e1203–12. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32827482>. Accessed: 01.12.2021.
- Титов К.С., Казаков А.М., Барышникова М.А., и др. Некоторые молекулярные и иммунологические факторы прогноза трижды негативного рака молочной железы. *Онкогинекология.* 2019;4(32):26–34 [Titov KS, Kazakov AM, Varyshnikova MA, et al. Nekotorye molekulyarnye i immunologicheskie faktory prognoza trizhdy negativnogo raka molochnoi zhelezy. *Onkoginekologiya.* 2019;4(32):26–34 (in Russian)].
- Mutebi M, Anderson BO, Duggan C, et al. Breast cancer treatment: A phased approach to implementation. *Cancer.* 2020;126(Suppl.10):236578. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32348571>. Accessed: 01.12.2021.
- Рябчиков Д.А., Абдуллаева Э.И., Дудина И.А., и др. Роль микро-РНК в канцерогенезе и прогнозе злокачественных новообразований молочной железы. *Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии.* 2018;18(2):5 [Ryabchikov DA, Abdullaeva EI, Dudina IA, et al. Rol' mikro-RNK v kantserogenezе i prognoze zlokachestvennykh novoobrazovaniy molochnoi zhelezy. *Vestnik Rossiiskogo nauchnogo tsentra rentgenoradiologii.* 2018;18(2):5 (in Russian)].
- Sabbatino F, Liguori L, Polcaro G, et al. Role of Human Leukocyte Antigen System as A Predictive Biomarker for Checkpoint-Based Immunotherapy in Cancer Patients. *Int J Mol Sci.* 2020;21:7295. DOI:10.3390/ijms21197295
- Shukla A, Cloutier M, Santharam AM, et al. The MHC Class-I Transactivator NLRCS: Implications to Cancer Immunology and Potential Applications to Cancer Immunotherapy. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1964. DOI:10.3390/ijms22041964
- Trowsdale J, Knight JC. Major histocompatibility complex genomics and human disease. *Annu Rev Genom Hum Genet.* 2013;14:301–23.
- Trowsdale J. Genomic structure and function in the MHC. *Trends Genet.* 1993;9:117–22.
- Norman PJ, Norberg SJ, Guethlein LA, et al. Sequences of 95 human MHC haplotypes reveal extreme coding variation in genes other than highly polymorphic HLA class I and II. *Genome Res.* 2017;27:813–23.
- Horton R, Wilming L, Rand V, et al. Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet.* 2004;5:889–99.
- Neeffes J, Jongsma MLM, Paul P, Bakke O. Towards a systems understanding of MHC class I and MHC class II antigen presentation. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:823–36.
- Rock KL, Reits E, Neeffes J. Present Yourself! By MHC class I and MHC class II Molecules. *Trends Immunol.* 2016;37:724–37.
- Holling TM, Schooten E, Van Den Elsen PJ. Function and regulation of MHC class II molecules in T-lymphocytes: Of mice and men. *Hum Immunol.* 2004;65:282–90.
- Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annu Rev Immunol.* 2013;31:443–73.
- Farhood B, Najafi M, Mortezaee K. CD8+ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: A review. *J Cell Physiol.* 2019;234:8509–21.
- Cruz FM, Colbert JD, Merino E, et al. The Biology and Underlying Mechanisms of Cross-Presentation of Exogenous Antigens on MHC-I Molecules. *Annu Rev Immunol.* 2017;35:149–76.
- Leone P, Shin EC, Perosa F, et al. MHC class I antigen processing and presenting machinery: Organization, function, and defects in tumor cells. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105:1172–87.
- Thielens A, Vivier E, Romagné F. NK cell MHC class I specific receptors (KIR): From biology to clinical intervention. *Curr Opin Immunol.* 2012;24:239–45.
- Cabrera T, Maleno I, Collado A, et al. Analysis of HLA class I alterations in tumors: Choosing a strategy based on known patterns of underlying molecular mechanisms. *Tissue Antigens.* 2007;69 (Suppl. S1):264–8.
- Cai L, Michelakos T, Yamada T, et al. Defective HLA class I antigen processing machinery in cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2018;67:999–1009.
- Garrido F, Algarra I. MHC antigens and tumor escape from immune surveillance. *Adv Cancer Res.* 2001;83:117–58.
- Martin HP, Brian LH, Hans ChB, et al. Downregulation of antigen presentation-associated pathway proteins is linked to poor outcome in triple-negative breast cancer patient tumors. *Oncol Immunology.* 2017;6(5):e1305531. DOI:10.1080/2162402X.2017.1305531
- Sinn BV, Weber KE, Schmitt WD, et al. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res.* 2019;21:142. DOI:10.1186/s13058-019-1231-z
- Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования в диагностике и прогнозе рака молочной железы. *Иммунология гемопоза.* 2009;1(9):8–52 [Artamonova EV. Rol' immunofenotipirovaniya v diagnostike i prognoze raka molochnoi zhelezy. *Immunologiya gemopoeza.* 2009;1(9):8–52 (in Russian)].
- Буров Д.А., Безнос О.А., Воронников И.К., и др. Клиническое значение экспрессии молекул гистосовместимости на клетках рака молочной железы. *Иммунология гемопоза.* 2016;2(14):33–53 [Burov DA, Beznos OA, Voronnikov IK, et al. Klinicheskoe znachenie ekspressii molekul gistosovmestimosti na kletkakh raka molochnoi zhelezy. *Immunologiya gemopoeza.* 2016;2(14):33–53 (in Russian)].
- Беришвили А.И., Тупицын Н.Н., Лактионов К.П. Иммунофенотипическая характеристика отечно-инфильтративной формы рака молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы.* 2009;3:4:15–9 [Berishvili AI, Tupitsyn NN, Laktionov KP. Immunophenotypic characteristics of inflammatory breast cancer. *Tumors of Female Reproductive System.* 2009;3:4:15–9 (in Russian)].
- Енгай Д.А. Иммунологическая характеристика Pgp170 позитивного рака молочной железы: дис. ... канд. мед. наук. М., 2008 [Engay DA. Immunologicheskaya kharakteristika Pgp170 pozitivnogo raka molochnoi zhelezy: dis. ... kand. med. nauk. Moscow, 2008 (in Russian)].
- Rodriguez JA. HLA-mediated tumor escape mechanisms that may impair immunotherapy clinical outcomes via T-cell activation. *Oncol Lett.* 2017;14:4415–27.
- Haen SP, Loffler MW, Rammensee HG, Brossart P. Towards new horizons: Characterization, classification and implications of the tumour antigenic repertoire. *Nat Rev Clin Oncol.* 2020;17:595–610.
- Yan M, Jene N, Byrne D, et al. Recruitment of regulatory T cells is correlated with hypoxia-induced CXCR4 expression, and is associated with poor prognosis in basal-like breast cancers. *Breast Cancer Res.* 2011;13:R47.
- Olkhanud PB, Damdinsuren B, Bodogai M, et al. Tumor-evoked regulatory T cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4(+) T cells to T-regulatory cells. *Cancer Res.* 2011;71:3505–15.
- Munir MT, Kay MK, Kang MH, et al. Tumor-Associated Macrophages as Multifaceted Regulators of Breast Tumor Growth. *Int J Mol Sci.* 2021;22:6526.
- Lim B, Woodward WA, Wang X, et al. Inflammatory breast cancer biology: The tumour microenvironment is key. *Nat Rev Cancer.* 2018;18:485–99.
- Burugu S, Asleh-Aburaya K, Nielsen TO. Immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: Detection, characterization and clinical implication. *Breast Cancer.* 2017;24:3–15.

Статья поступила в редакцию /

The article received: 20.03.2022

Статья принята к печати /

The article approved for publication: 02.06.2023



OMNIDOCTOR.RU