

ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ И ПРОДУКЦИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ I И II ТИПОВ В ЛОКАЛЬНОМ МИКРООКРУЖЕНИИ СИНОНАЗАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ

Нижегородова Д.Б.^{1,2}, Морозова Н.А.³, Иванчик Г.И.¹, Кулинич С.С.¹,
Колядич Ж.В.³, Зафранская М.М.^{1,2}

¹ Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск, Республика Беларусь

² Межгосударственный экологический институт имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь

³ Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минский район, Республика Беларусь

Резюме. Субпопуляционный состав дендритных клеток и их функциональный потенциал, определяемый эндогенным интерфероновым статусом в микроокружении опухолевой ткани, являются решающим этапом в формировании эффекторных реакций опухоль-специфических Т-лимфоцитов. В связи с этим понимание закономерностей изменения иммунных клеток в условиях синоназальных новообразований является важным в контексте поиска биомаркеров опухолевого процесса, что может открывать новые возможности для разработки таргетной терапии. В данном исследовании впервые приводится сравнительная характеристика субпопуляционного состава дендритных клеток и продукция интерферонов I и II типов у пациентов со злокачественными и доброкачественными синоназальными опухолями.

Материалом исследования явилась опухолевая ткань 30 пациентов с новообразованиями — основная группа (15 пациентов со злокачественными опухолями и 15 пациентов с инвертированной папилломой) и биопсийный материал слизистой оболочки 15 пациентов с полипозным риносинуситом (группа сравнения). Опухоль-инфильтрирующие иммунные клетки выделяли из ткани методом автоматизированной и ферментативной клеточной диссоциации. Поверхностный и внутриклеточный фенотип клеток оценивали с использованием моноклональных антител и метода проточной цитометрии. Продукцию α - и γ -интерферонов определяли методом иммуноферментного анализа. Статистический анализ данных проводили в Statistica 10.0. У пациентов со злокачественными опухолями установлено увеличение количества опухоль-инфильтрирующих миелоидных дендритных клеток относительно группы сравнения, которое коррелировало со стадией онкологического процесса ($R = -0,67$; $p = 0,01$). У пациентов с инвертированной папилломой относительно группы сравнения отмечалось увеличение резидентных как миелоидных, так и плазмоцитоидных дендритных

Адрес для переписки:

Нижегородова Дарья Борисовна
Научно-исследовательский институт
экспериментальной и клинической медицины
220040, Республика Беларусь,
Минский р-н, Боровлянский с/с, а. г. Лесной 106-2.
Тел.: +375 (29) 608-99-94.
E-mail: nzh@tut.by

Address for correspondence:

Darya B. Nizheharodava
Scientific Research Institute of Experimental
and Clinical Medicine
106-2 Lesnoy
Borovlyansky s/s, Minsk Region
220040 Republic of Belarus
Phone: +375 (29) 608-99-94.
E-mail: nzh@tut.by

Образец цитирования:

Д.Б. Нижегородова, Н.А. Морозова, Г.И. Иванчик,
С.С. Кулинич, Ж.В. Колядич, М.М. Зафранская
«Дендритные клетки и продукция интерферонов I и II
типов в локальном микроокружении синоназальных
опухолей» // Медицинская иммунология, 2024. Т. 26,
№ 5. С. 933-940. doi: 10.15789/1563-0625-DCA-16593
© Нижегородова Д.Б. и соавт., 2024
Эта статья распространяется по лицензии
Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

D.B. Nizheharodava, N.A. Marozava, G.I. Ivanchyk,
S.S. Kulinich, J.V. Kolyadich, M.M. Zafanskaya "Dendritic
cells and type I and II interferon production in the local
microenvironment of sinonasal tumors", Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2024, Vol. 26, no. 5,
pp. 933-940.
doi: 10.15789/1563-0625-DCA-16593
© Nizheharodava D.B. et al., 2024
The article can be used under the Creative
Commons Attribution 4.0 License
DOI: 10.15789/1563-0625-DCA-16593

клеток. При этом микроокружение злокачественных новообразований характеризовалось увеличением *in situ* продукции α - и γ -интерферонов в сочетании с выраженным снижением количества IFN γ -продуцирующих Т-клеток, в то время как у пациентов с инвертированной папилломой регистрировалось снижение как внутриклеточной, так и внеклеточной продукции γ -интерферона относительно группы сравнения.

У пациентов с синоназальными опухолями выявлены изменения субпопуляционного состава дендритных клеток и снижение резервных возможностей синтеза γ -интерферона, что может характеризовать вовлечение данных механизмов в формирование несостоятельности противоопухолевого иммунного ответа и требует дальнейшего исследования для установления их патогенетической роли.

Ключевые слова: дендритные клетки, интерфероны, опухолевое микроокружение, синоназальные новообразования, инвертированная папиллома, полипозный риносинусит

DENDRITIC CELLS AND TYPE I AND II INTERFERON PRODUCTION IN THE LOCAL MICROENVIRONMENT OF SINONASAL TUMORS

Nizheharodava D.B.^{a, b}, Marozava N.A.^c, Ivanchyk G.I.^a, Kulinich S.S.^a, Kolyadich J.V.^c, Zafranskaya M.M.^{a, b}

^a Scientific Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

^b International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

^c N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk District, Republic of Belarus

Abstract. The subpopulations of dendritic cells and their functional potential determined by endogenous interferon status in tumor microenvironment is an important stage in tumor-specific T-lymphocytes effector reactions development. In this regard, understanding the patterns of sinonasal neoplasms immune cells changes is important in the context of the search for biomarkers of the tumor process which may open up new opportunities for targeted therapy. This study is the first to provide a comparative description of dendritic cells subsets and the type I and type II interferon production in patients with malignant and benign sinonasal tumors.

Tumor tissue from 30 patients with neoplasms – main group (15 patients with malignant tumors and 15 patients with inverted papilloma) and biopsy material of the mucous membrane from 15 patients with polypous rhinosinusitis (comparison group) were used. Tumor-infiltrating immune cells were isolated from tissue using automated and enzymatic cell dissociation. The surface and intracellular cells phenotype was assessed using monoclonal antibodies and flow cytometry. The production of α - and γ -interferons was determined by enzyme-linked immunosorbent assay. Statistical data analysis was proceeded in Statistica 10.0.

An increase of tumor-infiltrating myeloid dendritic cells number was found in patients with malignant tumors as compared to control group what correlated with the stage of the pathological process ($R = -0.67$; $p = 0.01$). There was an increase in both myeloid and plasmacytoid dendritic cells in the neoplasm tissue in patients with inverted papilloma relative to the comparison group. The microenvironment of malignant growth was characterized by an increase in α - and γ -interferons production in combination with a pronounced decrease in IFN γ -producing T cells percent while a decrease in both intracellular and extracellular production of γ -interferons was detected in tumor tissue of patients with inverted papilloma as compared with control group.

In patients with sinonasal tumors changes in dendritic cells subpopulations as well as a decrease in the reserve capacity of γ -interferon synthesis were revealed what may characterize the involvement of these mechanisms in the formation of the antitumor immune response failure and requires further research to establish their pathogenetic role.

Keywords: dendritic cells, interferons, tumor microenvironment, sinonasal neoplasms, inverted papilloma, polypous rhinosinusitis

Введение

Синоназальные опухоли представляют собой важную медико-социальную проблему в связи с выявлением злокачественного процесса на позд-

них стадиях. От 50 до 80% всех злокачественных новообразований полости носа и околоносовых пазух составляет плоскоклеточный рак (с наибольшей частотой встречаемости в европейских странах) [5], в то время как доминирующим ти-

пом доброкачественных синоназальных опухолей (62%) является инвертированная папиллома, риск малигнизации которой варьирует от 7 до 16% [4]. Несмотря на значительные достижения в методах визуализации, эндоскопических хирургических подходах и прецизионной лучевой терапии злокачественных синоназальных новообразований прогноз остается неблагоприятным: общая 5-летняя выживаемость составляет 30-50% с частотой рецидивов 31-56%, являющихся основной причиной смертности [6].

Предлагаемые прогностические биомаркеры эффективности иммунотерапии синоназальных новообразований включают наряду с мутационной нагрузкой наличие опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток [1, 5], однако до сих пор до конца не изучен их субпопуляционный состав и функциональный статус в локальном микроокружении опухолей полости носа и околоносовых пазух.

Одним из ключевых компонентов опухоль-инфильтрирующих клеток являются дендритные клетки, которые представляют собой гетерогенную популяцию, участвующую в распознавании, процессинге и презентации опухолевых антигенов и инициирующих развитие опухоль-специфического Т-клеточного иммунного ответа. Некоторыми авторами продемонстрировано, что количество зрелых дендритных клеток зависит от степени патологического процесса или стадии опухоли и положительно коррелирует с терапевтическим эффектом и общей выживаемостью пациентов с солидными опухолями [2].

Среди основных популяций дендритных клеток выделяют миелоидные или классические (mDCs) и плазматоидные (pDCs) дендритные клетки. mDCs осуществляют внутриклеточный процессинг и презентацию образующихся при некрозе или апоптозе опухоль-ассоциированных антигенов в составе МНС I класса CD8⁺Т-лимфоцитам, а также эффективно представляют онкоантигены в составе молекул МНС II класса CD4⁺Т-хелперам, стимулируя их поляризацию в Th1-, Th2- и Th17-лимфоциты [11]. В свою очередь Т-хелперы способны напрямую активировать цитотоксические Т-клетки и опосредованно через синтез интерферона II типа (IFN γ) стимулировать макрофаги и NK-клетки. Наряду с реализацией эффекторных механизмов контактной цитотоксичности Т-киллеров и NK-клеток IFN γ принимает участие в ингибировании ангиогенеза в опухолевой ткани, индукции апоптоза регуляторных Т-клеток (Treg), стимуляции активности провоспалительных M1 макрофагов и эффекторных Т-клеток, тем самым подавляя опухолевую прогрессию [12].

pDCs являются основными клетками врожденного иммунитета в связи с их высокой способностью к продукции интерферонов I типа (IFN α и IFN β), которые помимо усиления ме-

ханизмов врожденного иммунитета и формирования противовирусной защиты вовлекаются также в поддержание адаптивных иммунных реакций и участвуют в активации опухоль-специфических Т-лимфоцитов, в том числе за счет кросс-презентации онкоантигенов. При этом IFN I типа инициирует противоопухолевый иммунитет и предотвращает рост и прогрессию новообразования на нескольких уровнях регуляции: на уровне опухолевых клеток — индуцирует апоптоз, останавливает клеточный цикл и усиливает презентацию опухолевых антигенов; на уровне новообразования — предотвращает инвазию и метастазирование; на уровне иммунной системы — усиливает праймирование опухоль-специфических Т-лимфоцитов дендритными клетками наряду с супрессией активности протуморогенных Treg и миелоидных супрессивных клеток [13].

Одним из основных механизмов иммунологического ускользания опухолевых клеток рассматривается нарушение распознавания онкоантигенов дендритными клетками, что приводит к подавлению развития опухоль-специфического Т-клеточного иммунного ответа. Иммуносупрессивное микроокружение опухоли может влиять на эффекторные функции дендритных клеток как посредством растворимых медиаторов (IL-10, TGF- β и PGE2 или VEGF), так и за счет модуляции межклеточного взаимодействия (снижение экспрессии костимулирующих молекул и увеличение коингибиторных молекул), изменяя фенотип дендритных клеток и способствуя их дисфункции в результате формирования толерогенных сигналов [8]. В связи с этим, наряду с количественным содержанием дендритных клеток важен также и цитокиновый профиль микроокружения, который определяет не только созревание дендритных клеток, но и поляризацию Т-лимфоцитов с последующей реализацией их эффекторных реакций.

Целью данного исследования явилась характеристика субпопуляционного состава дендритных клеток и оценка продукции интерферонов I и II типов *in situ* у пациентов со злокачественными и доброкачественными синоназальными новообразованиями.

Материалы и методы

Материалом исследования явились биопсийный материал слизистой оболочки полости носа и околоносовых пазух 45 пациентов (30 мужчин и 15 женщин), возрастом 54,0 (42,0 ÷ 64,0) года, находившихся на лечении в отделении опухолей головы и шеи ГУ «РНПЦ онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова» (Минский район, Республика Беларусь). Основную группу составили пациенты со злокачественными новообразованиями полости носа и около-

носовых пазух (группа 1, $n = 15$) и пациенты с инвертированной папилломой (группа 2, $n = 15$). В группу 1 вошли пациенты со следующими диагнозами: плоскоклеточный рак верхнечелюстной пазухи ($n = 7$), меланома полости носа ($n = 3$), рак *in situ* ($n = 2$), рабдомиосаркома полости носа ($n = 2$), нейроэндокринный рак ($n = 1$), из которых у 60% определялась 4 стадия, у 7% — 3 стадия, у 7% — 2 стадия, у 13% — 1 стадия, у 13% — 0 стадия (рак *in situ*). Группу сравнения (ГС) составили пациенты с полипозным риносинуситом ($n = 15$), сопоставимые по возрасту и полу. Диагнозы подтверждались морфологическими исследованиями биопсийного материала. Все пациенты предоставили информированное согласие.

Опухоль-инфильтрирующие иммунные клетки выделяли из биопсийного материала слизистых оболочек путем ферментативной диссоциации опухолевой ткани с использованием набора ферментов Tumor dissociation kit (Miltenyi, Германия) и последующей автоматизированной диссоциацией биоматериала в программируемом диссоциаторе GentleMACS™ Dissociator (Miltenyi, Германия). Жизнеспособность опухоль-инфильтрирующих клеток подтверждали по исключению мертвых клеток окрашиванием трипановым синим, концентрацию выделенных клеток подсчитывали на гематологическом анализаторе Micros (ABX, Франция).

Для получения супернатанта тканевого гомогената ткань слизистой оболочки промывали холодным фосфатно-буферным раствором, измельчали на мелкие фрагменты, взвешивали и криоконсервировали в жидком азоте с последующим хранением образцов при -70°C . После размораживания образцы ткани гомогенизировали в холодном фосфатно-буферном растворе (масса ткани (г): объем раствора (мл) = 1:9) и проводили механическую гомогенизацию в диссоциаторе. Для получения супернатанта гомогенаты тканей центрифугировали в течение 10 мин при $5000 \times g$ и температуре $2-8^{\circ}\text{C}$.

Субпопуляционный состав опухоль-инфильтрирующих дендритных клеток определяли методом проточной цитометрии с использованием панели моноклональных DuraClone IM Dendritic Cells, включающей CD16-FITC, CD1c-PC5.5, CD11c-PC7, CD123-APC-A700, HLA-DR-PB, Clec9A-APC, Lin-PE, CD45KrO (Beckman Coulter, Германия). Для фенотипирования к 100 мкл опухоль-инфильтрирующих клеток добавляли коктейли моноклональных антител в концентрации согласно инструкции производителя. Инкубацию проб с моноклональными антителами осуществляли в течение 15 мин в темноте при комнатной температуре. Регистрацию результатов выполняли на проточном цитометре CytoFlex (Beckman Coulter, США).

Внутриклеточную продукцию $\text{IFN}\gamma$ определяли в суточных культурах опухоль-инфи-

трирующих клеток, в которые за 4 ч до окончания культивирования добавляли 10 нг/мл форбол 12-миристат 13-ацетата (Sigma, Германия), 1 мкг/мл кальциевой соли иономицина (Cayman Chemicals, США) и 10 мкг/мл брэфелдина А (Cayman Chemicals, США). После инкубации клетки окрашивали моноклональными антителами CD3-FITC (Beckman Coulter, США) и CD45-PB (Biolegend, США) и фиксировали в течение 10 мин 4% раствором пара-формальдегида. После отмывания клеток центрифугированием в течение 5 мин при 1500 об/мин добавляли моноклональные антитела $\text{IFN}\gamma$ -PE (Beckman Coulter, США), разведенные в 2% Triton X-100 (Sigma, Германия). Учет результатов проводили на проточном цитометре CytoFlex на 10000 Т-лимфоцитов.

Концентрацию цитокинов $\text{IFN}\alpha$ и $\text{IFN}\gamma$ в супернатантах тканевых гомогенатов определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием следующих коммерческих наборов: «альфа-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (А-8758, ЗАО «Вектор-Бест», РФ, диагностическая чувствительность — 5,0 пг/мл) и «гамма-Интерферон-ИФА-БЕСТ» (А-8752, ЗАО «Вектор-Бест», РФ, диагностическая чувствительность — 2,0 пг/мл). Все этапы исследований осуществляли в соответствии с инструкцией фирмы изготовителя. Оптическую плотность исследуемых образцов измеряли на спектрофотометре Sunrise (Tecan, Австрия) при длине волны $\lambda = 450 \text{ нм}$.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Statistica 10.0. Статистически значимые различия определяли при уровне $p < 0,05$. Для характеристики исследуемых групп использовались показатели медианы (Me), нижнего и верхнего процентилей (25-й процентиль ÷ 75-й процентиль). Сравнение групп и определение статистической значимости различий осуществлялась непараметрическим U-критерием Манна-Уитни для независимых переменных. Корреляционный анализ выполняли по Спирмену с расчетом коэффициентов корреляции (R).

Результаты и обсуждение

Современная концепция противоопухолевого иммунитета предполагает, что распознавание опухолевых антигенов и инициация иммунных реакций зависят от типа антиген-презентирующих клеток. В связи с этим у пациентов исследуемых групп охарактеризован *in situ* субпопуляционный состав дендритных клеток, выступающих в качестве профессиональных антиген-презентирующих клеток, по экспрессии CD123 и CD11c маркерам: $\text{CD123}^+\text{CD11c}^+\text{mDCs}$ и $\text{CD123}^+\text{CD11c}^+\text{pDCs}$. Результаты представлены на рисунке 1.

У пациентов группы 1 установлено увеличение количества mDCs в ткани новообразования относительно ГС ($p = 0,004$), которое коррелировало со стадией онкологического процесса ($R = -0,67$; $p = 0,01$). В группе 2 отмечалось повышение процента как mDCs ($p = 0,002$) относительно ГС, так и pDCs ($p = 0,02$) относительно исследуемых групп. При этом у пациентов с инвертированной папилломой регистрировалось превалирование субпопуляции pDCs (39,4 (18,1 ÷ 59,0) %) относительно mDCs (23,2 (16,8 ÷ 58,1) %) среди опухоль-инфильтрирующих дендритных клеток, что не отмечалось у пациентов со злокачественными опухолями и ГС (рис. 1).

Выявленное в основной группе пациентов увеличение mDCs в слизистых оболочках новообразований отражает активацию механизмов противоопухолевого иммунитета *in situ* и подтверждает их активное вовлечение в формирование специфического клеточного иммунного ответа на опухолевые антигены вне зависимости от типа новообразования. Установленная корреляция опухоль-инфильтрирующих mDCs со стадией заболевания в группе 1 согласуется с литературными данными о высокой иммуногенности дендритных клеток на ранних стадиях злокачественного процесса [10]. При этом с прогрессированием заболевания рядом авторов показано, что дендритные клетки могут приобретать иммуносупрессивный фенотип (МНС II^{low}, CD40^{low} и PD-L1^{high}) или трансформироваться в регуляторные макрофаг-подобные клетки, способные за счет продукции оксида азота, активности аргиназы и синтеза IL-10 подавлять Т-клеточный ответ [11].

Принимая во внимание факт, что pDCs являются ключевыми участниками противовирусного иммунитета, выявленное их преимущественное увеличение в сочетании с повышением mDCs у пациентов с инвертированной папилломой может быть также результатом формирования иммунного ответа на папилломавирусную инфекцию, 16-й и 18-й серотип которой в большинстве случаев ассоциируется с развитием доброкачественного новообразования [2]. Кроме того, pDCs, представляя основной источник ИФН I типа, являются ключевыми регуляторами созревания mDCs в опухолевом микроокружении и за счет индукции дифференцировки mDCs усиливают эффекторные киллерные функции CD8⁺Т-клеток и NK-клеток. Противоопухолевая активность pDCs также опосредована экспрессией цитотоксических молекул гранзима В и TRAIL [12]. Однако, с другой стороны, pDCs могут способствовать росту опухоли за счет экспрессии иммуносупрессивных молекул, таких как PD-L1, ICOSL, индоламин-2,3-диоксигеназа или за счет экспансии Treg [13].

В связи с тем, что микроокружение опухоли формирует неблагоприятную среду для нормального функционирования дендритных клеток и большая часть из них являются незрелыми или находятся в состоянии анергии, происходит изменение не только их субпопуляционного состава, но и локального цитокинового баланса, в частности эндогенного интерферонового статуса. Принимая во внимание, что дендритные клетки являются основными продуцентами и клетками-мишенями для интерферонов, являющихся ключевыми регуляторами противоопухолевого иммунитета, изучена продукция IFN α и IFN γ су-

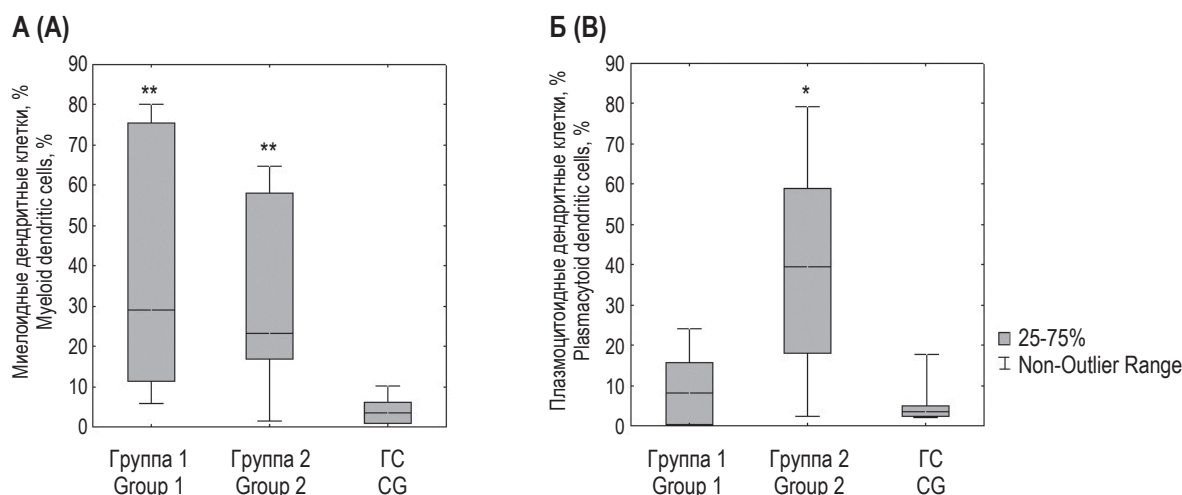


Рисунок 1. Количество миелоидных (А) и плазмацитоидных (Б) дендритных клеток среди опухоль-инфильтрирующих дендритных клеток у пациентов исследуемых групп, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) – медиана, 25-й и 75-й процентиль; ГС – группа сравнения.

Figure 1. Myeloid (A) and plasmacytoid (B) dendritic cells number of among tumor-infiltrating dendritic cells in patients of investigated groups, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Note. *, p -value $< 0,05$; **, p -value $< 0,01$; Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), median, 25th and 75th percentiles; CG, comparison group.

ТАБЛИЦА 1. КОНЦЕНТРАЦИЯ ИНТЕРФЕРОНОВ В ТКАНИ У ПАЦИЕНТОВ ИССЛЕДУЕМЫХ ГРУПП, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

TABLE 1. THE CONCENTRATION OF INTERFERONS IN TISSUE SAMPLES FROM PATIENTS OF INVESTIGATED GROUPS, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Интерфероны Interferons	Основная группа Main group		Группа сравнения Comparison group	p
	группа 1 / group 1	группа 2 / group 2		
IFN α , пг/мл IFN α , pg/mL	99,8 (92,1 ÷ 104,7)	65,4 (25,7 ÷ 88,5)	51,2 (33,8 ÷ 96,2)	$p_{1-2} = 0,08$
IFN γ , пг/мл IFN γ , pg/mL	115,1 (101,8 ÷ 120,0)	12,1 (6,1 ÷ 44,2)	43,6 (37,5 ÷ 59,3)	$p_{1-2} = 0,03$ $p_{1-ГС} = 0,01$

Примечание. p – уровень статистически значимых различий; Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) – медиана, 25-й и 75-й процентиль; IFN α – α -интерферон; IFN γ – γ -интерферон.

Note. p-value, statistically significant test result; Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), median, 25th and 75th percentiles; IFN α , α -interferon; IFN γ , γ -interferon.

пернатантах тканевых гомогенатов у пациентов исследуемых групп (табл. 1).

У пациентов группы 1 наблюдалась тенденция к увеличению локальной продукции IFN α ($p = 0,08$) относительно группы 2 в сочетании со статистически значимым повышением синтеза IFN γ по сравнению с аналогичными показателями в исследуемых группах. В то же время у пациентов группы 2 показатели уровня локального синтеза интерферонов I и II типов статистически значимо не отличались от таковых в ГС (табл. 1).

Известно, что уровень IFN I типа зависит от субпопуляционного состава дендритных клеток. В частности, pDCs являются преимущественным источником IFN I типа, которые при стимуляции эндосомальных TLR3/7/8/9 продуцируют его в 100 раз больше, чем классические mDCs. Так, иммунотерапевтические подходы, используемые у пациентов со злокачественными опухолями, основаны на стимуляции продукции IFN I типа pDCs для последующей активации классиче-

ских mDCs и генерации опухоль-специфических CD8⁺T-лимфоцитов [14].

Принимая во внимание отсутствие статистически значимых изменений в количестве опухоль-инфильтрирующих pDCs у пациентов группы 1, можно предположить, что основной вклад в повышение продукции IFN α происходит за счет популяции mDCs. Это согласуется с данными Zhou и соавторов, свидетельствующие о том, что опухолевое микроокружение плоскоклеточного рака может ингибировать дифференцировку pDCs и их созревание в результате снижения TLR7 и повышенной концентрации TGF β , IL-10, VEGF, что ведет к формированию толерогенного фенотипа и подавлению противоопухолевого иммунитета [13]. В то же время отсутствие изменений в локальной продукции IFN α в сочетании со статистически значимым увеличением количества pDCs у пациентов группы 2 может свидетельствовать о функциональной несостоятельности. Согласно литературным данным до сих пор не известно, в какой степени опухоль-инфильтри-

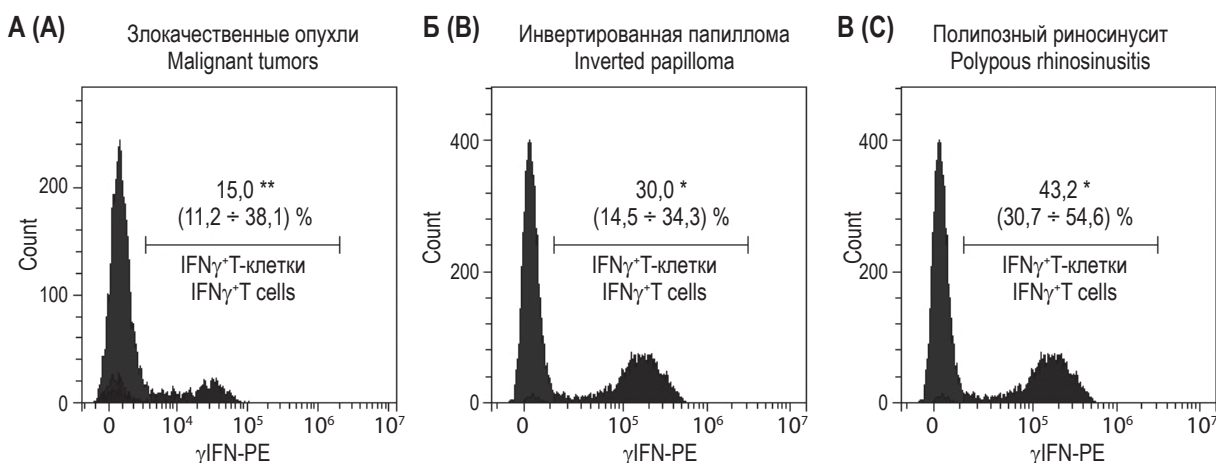


Рисунок 2. Количество CD3⁺IFN γ ⁺T-лимфоцитов в микроокружении опухоли у пациентов исследуемых групп, Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; Ме ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$) – медиана, 25-й и 75-й процентиль; ГС – группа сравнения.

Figure 2. CD3⁺IFN γ ⁺T-lymphocytes number in the tumor microenvironment in patients of investigated groups, Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$)

Note. *, p-value < 0,05; **, p-value < 0,01; Me ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$), median, 25th and 75th percentiles.

рующие дендритные клетки являются надежным источником ИФН I типа. Некоторыми авторами показано, что среди опухоль-инфильтрирующих дендритных клеток находятся дефектные pDCs, не способные синтезировать IFN α в результате нарушения регуляции сигнального пути IFN I типа или потери экспрессии его рецептора [15].

Несмотря на то, что иммунологических функций IFN I и II типа часто перекрываются, тем не менее, IFN γ является основным эффекторным противоопухолевым цитокином и обладает большим иммунорегуляторным потенциалом, поскольку его механизмы способствует не только оптимизации иммунологических реакций, но и направлены на ограничение воспалительных реакций, которые вызывают повреждение тканей [7]. Учитывая выраженную *in situ* продукцию IFN γ у пациентов группы 1 (табл. 1), параллельно проведена оценка количества CD3⁺IFN γ ⁺Т-лимфоцитов в ткани у пациентов исследуемых групп для характеристики опухоль-специфического потенциала Т-клеточного иммунного ответа и его резервных возможностей на основе сопоставления внеклеточной и внутриклеточной продукции IFN γ (рис. 2).

У пациентов группы 1 получены результаты, противоположные внеклеточной продукции IFN γ , характеризующиеся снижением внутриклеточной продукции IFN γ в опухоль-инфильтрирующих CD3⁺Т-лимфоцитах относительно ГС ($p = 0,01$). Аналогичное уменьшение процента CD3⁺IFN γ ⁺Т-лимфоцитов в локальном микроокружении выявлено у пациентов группы 2 относительно ГС ($p = 0,02$). При этом у пациентов группы 1 снижение количества CD3⁺IFN γ ⁺Т-лимфоцитов в ткани новообразования наблюдалось в 61,5% случаев, в то время как у пациентов группы 2 – в 35,7% случаев. Наряду с этим, у пациентов со злокачественными новообразованиями выявлена взаимосвязь интерферонов I и II ти-

пов: с увеличением локальной продукцией IFN α опухоль-инфильтрирующими клетками количество внутриклеточной продукции IFN γ CD3⁺Т-лимфоцитами снижалось ($R = -0,9$, $p = 0,03$).

Заключение

Микроокружение синоназальных злокачественных опухолей характеризуется увеличением количества mDCs на фоне тенденции к повышению локальной продукции IFN α и высоким уровнем IFN γ в сочетании с выраженным снижением количества IFN γ -продуцирующих Т-клеток. Это может являться отражением функционирования опухоль-специфического иммунного ответа и свидетельствует о реализации эффекторного IFN γ -медиированного потенциала Т-клетками в полном объеме в очаге патологического процесса, что может приводить к несостоятельности в результате иммунологического истощения цитотоксических Т-лимфоцитов и снижения резервных возможностей клеточного иммунитета.

У пациентов с инвертированной папилломой выявлено увеличение всех субпопуляций дендритных клеток с превалированием pDCs при отсутствии изменений в концентрации IFN α и снижении как внутриклеточной, так и внеклеточной продукции IFN γ в очаге новообразования. Полученные данные могут свидетельствовать о недостаточной стимуляции эффекторных реакций, опосредованных интерфероном II типа со стороны pDCs и требуют дальнейшего детального исследования на уровне механизмов индукции и регуляции синтеза интерферонов.

Таким образом, изменение соотношения внутриклеточной и внеклеточной продукции IFN γ в совокупности с субпопуляционным составом дендритных клеток могут быть использованы в качестве потенциальных биомаркеров вероятности развития злокачественных опухолей у пациентов с предопухолевой патологией.

Список литературы / References

1. De Meulenaere A., Vermassen T., Aspeslagh S., Vandecasteele K., Rottey S., Ferdinande L. TILs in head and neck cancer: ready for clinical implementation and why (not)? *Head Neck Pathol.*, 2017, Vol. 11, no. 3, pp. 354-363.
2. Del Prete A., Salvi V., Soriani A., Laffranchi M., Sozio F., Bosisio D., Sozzani S. Dendritic cell subsets in cancer immunity and tumor antigen sensing. *Cell. Mol. Immunol.*, 2023, Vol. 20, no. 5, pp. 432-447.
3. Diao J., Mikhailova A., Tang M., Gu H., Zhao J., Cattral M.S. Immunostimulatory conventional dendritic cells evolve into regulatory macrophage-like cells. *Blood*, 2012, Vol. 119, no. 21, pp. 4919-4927.
4. Eide J.G., Welch K.C., Adappa N.D., Palmer J.N., Tong C.C.L. Sinonasal inverted papilloma and squamous cell carcinoma: contemporary management and patient outcomes. *Cancers (Basel)*, 2022, Vol. 14, no. 9, 2195. doi: 10.3390/cancers14092195.
5. García-Marín R., Reda S., Riobello C., Cabal V.N., Suárez-Fernández L., Vivanco B., Álvarez-Marcos C., López F., Llorente J.L., Hermesen M.A. Prognostic and therapeutic implications of immune classification by CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and PD-L1 expression in sinonasal squamous cell carcinoma. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 13, 6926. doi: 10.3390/ijms22136926.
6. Gu J.T., Claudio N., Betts C., Sivagnanam S., Geltzeiler M., Pucci F. Characterization of the tumor immune microenvironment of sinonasal squamous-cell carcinoma. *Int. Forum Allergy Rhinol.*, 2022, Vol. 12, no. 1, pp. 39-50.
7. Gulubova M. Myeloid and plasmacytoid dendritic cells and cancer – new insights. *Open Access Maced. J. Med. Sci.*, 2019, Vol. 7, no. 19, pp. 3324-3340.
8. Gupta Y.H., Khanom A., Acton S.E. Control of dendritic cell function within the tumour microenvironment. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 10, no. 13, 733800. doi: 10.3389/fimmu.2022.733800.

9. Mitchell D., Chintala S., Dey M. Plasmacytoid dendritic cell in immunity and cancer. *J. Neuroimmunol.*, 2018, Vol. 322, pp. 63-73.
10. Musella M., Galassi C., Manduca N., Sistigu A. The yin and yang of type I IFNs in cancer promotion and immune activation. *Biology (Basel)*, 2021, Vol. 10, no. 9, 856. doi: 10.3390/biology10090856.
11. Plesca I., Müller L., Böttcher J.P., Medyouf H., Wehner R., Schmitz M. Tumor-associated human dendritic cell subsets: phenotype, functional orientation, and clinical relevance. *Eur. J. Immunol.*, 2022, Vol. 52, no. 11, pp. 1750-1758.
12. Sittig S.P., De Vries I.J., Schreibeit G. Primary human blood dendritic cells for cancer immunotherapy – tailoring the immune response by dendritic cell maturation. *Biomedicine*, 2015, Vol. 3, no. 4, pp. 282-303.
13. Sprooten J., Agostinis P., Garg A.D. Type I interferons and dendritic cells in cancer immunotherapy. *Int. Rev. Cell. Mol. Biol.*, 2019, Vol. 348, pp. 217-262.
14. Wu J., Li S., Yang Y., Zhu S., Zhang M., Qiao Y., Liu Y., Chen J. TLR-activated plasmacytoid dendritic cells inhibit breast cancer cell growth in vitro and in vivo. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 7, pp. 11708-11718.
15. Zhou B., Lawrence T., Liang Y. The role of plasmacytoid dendritic cells in cancers. *Front. Immunol.*, 2021, Vol. 12, 749190. doi: 10.3389/fimmu.2021.749190.

Авторы:

Нижегородова Д.Б. — к.б.н., доцент, ведущий научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета; доцент кафедры иммунологии, Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь

Морозова Н.А. — аспирант, врач — онколог-хирург отделения опухолей головы и шеи, Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минский район, Республика Беларусь

Иванчик Г.И. — старший научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск, Республика Беларусь

Кулинич С.С. — аспирант, научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета, г. Минск, Республика Беларусь

Колядич Ж.В. — д.м.н., профессор, заведующая лабораторией онкопатологии центральной нервной системы с группой онкопатологии головы и шеи, Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии имени Н.Н. Александрова, Минский район, Республика Беларусь

Зафранская М.М. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник отдела иммунологии и биомедицинских технологий научно-исследовательской лаборатории, Научно-исследовательский институт экспериментальной и клинической медицины Белорусского государственного медицинского университета; заведующая кафедрой иммунологии, Международный государственный экологический институт имени А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета, г. Минск, Республика Беларусь

Authors:

Nizheharodava D.B., PhD (Biology), Associate Professor, Leading Research Associate, Immunology and Biomedical Technologies Department of Central Research Labor, Scientific Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University; Associate Professor, Immunology Department, International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Marozava N.A., Postgraduate Student, Oncologist-Surgeon, Head and Neck Tumors Department, N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk District, Republic of Belarus

Ivanchyk G.I., Senior Research Associate, Immunology and Biomedical Technologies Department of Central Research Labor, Scientific Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Kulinich S.S., Postgraduate Student, Research Associate, Immunology and Biomedical Technologies Department of Central Research Labor, Scientific Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

Kolyadich J.V., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Oncopathology of the Central Nervous System with a Group of Oncopathology of the Head and Neck, N. Alexandrov National Cancer Centre of Belarus, Minsk District, Republic of Belarus

Zafranskaya M.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Chief Research Associate, Immunology and Biomedical Technologies Department of Central Research Labor, Scientific Research Institute of Experimental and Clinical Medicine, Belarusian State Medical University; Head, Immunology Department, International Sakharov Environmental Institute, Belarusian State University, Minsk, Republic of Belarus

Поступила 26.03.2024
Отправлена на доработку 08.04.2024
Принята к печати 10.04.2024

Received 26.03.2024
Revision received 08.04.2024
Accepted 10.04.2024