

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СУБПОПУЛЯЦИЙ ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫХ
МАКРОФАГОВ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ОТВЕТА НА
ХИМИОТЕРАПИЮ**

Д.С. Халяпин¹, И.В. Ларионова^{1,2}

Научный руководитель: к.м.н. Е.С. Григорьева

¹Национальный исследовательский Томский государственный университет, Россия, г. Томск,
пр. Ленина, 36, 634050

²НИИ онкологии Томского НИМЦ, Россия, г. Томск, пер. Кооперативный, 5, 634009

E-mail: daniilkh1997@mail.ru

**COMPARATIVE ASSESSMENT OF SUBSIPOPULATIONS OF TUMOR-ASSOCIATED
MACROPHAGES IN BREAST CANCER DEPENDING ON THE RESPONSE TO CHEMOTHERAPY**

D.S. Khalyapin¹, I.V. Larionova^{1,2}

Scientific Supervisor: Cand.M.Sc, E.S. Grigorieva

¹Laboratory of Translational Cellular and Molecular Biomedicine, Tomsk State University, Lenina Av., 36,
634050 Tomsk, Russia

²Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences,
Kooperativny Lane, 5, 634050 Tomsk, Russia

E-mail: daniilkh1997@mail.ru

***Abstract.** The key cells of the immune system that determine the relationship between tumor cells and the microenvironment, beginning with early stages of tumor growth, including regulation of neoangiogenesis and the terminal stage of malignant process, are tumor-associated macrophages (TAM). In the present study, identification of TAM markers in breast tumors in patients with neoadjuvant chemotherapy and a comparative assessment of the differences in the macrophages subpopulation in tumors with different response to chemotherapy were carried out. The data we obtained indicate the functional differences between TAM subpopulations that have various phenotypes, that are confirmed at the level of associative links with the effectiveness of chemotherapy.*

Введение. Современное понимание гетерогенности фенотипических проявлений разных субпопуляций макрофагов указывает на необходимость одновременной оценки нескольких специфичных маркеров, что повышает точность идентификации той или иной субпопуляции макрофагов [1]. Известно, что фенотип M1 или M2 не в полной мере отражает гетерогенность макрофагов и их функциональные особенности. Методы стандартного лечения, таргетные агенты, антиангиогенные препараты и иммунотерапия зависят от функции опухолеассоциированных макрофагов (ОАМ) [2]. Химиотерапия и лучевая терапия могут иметь двойственное влияние на ОАМ, поскольку активированный макрофагами механизм восстановления поврежденной ткани может привести к химиорезистентности [3]. Однако при других обстоятельствах ОАМ имеют решающее значение для эффективной терапии. Поэтому идентификация субпопуляций макрофагов, связанных с ответом на химиотерапию, важна для понимания их роли в химиорезистентности опухолей.

Материалы и методы. В исследование включены больные инвазивным раком молочной железы T1-4N0-3M0, получавших до операции неoadъювантную химиотерапию (НАХТ) по схемам CMF, FAC, CAH. Эффективность предоперационной химиотерапии оценивали по критериям ВОЗ и Международного противоракового союза с помощью УЗИ и/или маммографии. Для исследования использовали парафиновые срезы опухолевой ткани пациенток с РМЖ после курса НАХТ. Были проведены двойные иммунофлюоресцентные окраски с использованием комбинации белковых маркеров: CD68 в комбинации с CD206, CD163, stabilin-1, YKL-40, YKL-39, SI-CLP. Конфокальная микроскопия проводилась с использованием лазерного сканирующего микроскопа CarlZeiss LSM 780 NLO (Германия).

Результаты. В исследовании больные РМЖ со стабилизацией или прогрессированием составляли группу с отсутствием ответа на НАХТ, а больные с полной и частичной регрессией – группу с объективным ответом на лечение. Известно, что CD68 является маркером общей популяции макрофагов, YKL-40 рассматривается в качестве маркера субпопуляции макрофагов 1 типа, индуцированных IFN- γ , YKL-39 - субпопуляции M2 макрофагов, индуцированных IL4+TGF β , SI-CLP - маркера M2 макрофагов. Stabilin-1 (RS1) является маркером дексаметазон-индуцированной субпопуляции макрофагов 2 типа, CD206 экспрессируется на макрофагах 2 типа, индуцированных ИЛ-4. CD163 может экспрессироваться на обоих типах макрофагов и это зависит от микроокружения, в котором они находятся. Нами было обнаружено, что на уровне статистической значимости у пациентов с плохим ответом на НАХТ (стабилизация или прогрессирование) отмечалось большее количество двойных позитивных клеток по маркерам CD68+/CD163+ ($p=0,049$) (Рисунок 1). У пациенток с хорошим ответом на химиотерапию также наблюдалась тенденция к увеличению количества двойных позитивных клеток CD68+/YKL-40+ ($p=0,07$) (Рисунок 2) по сравнению с пациентками с хорошим ответом.

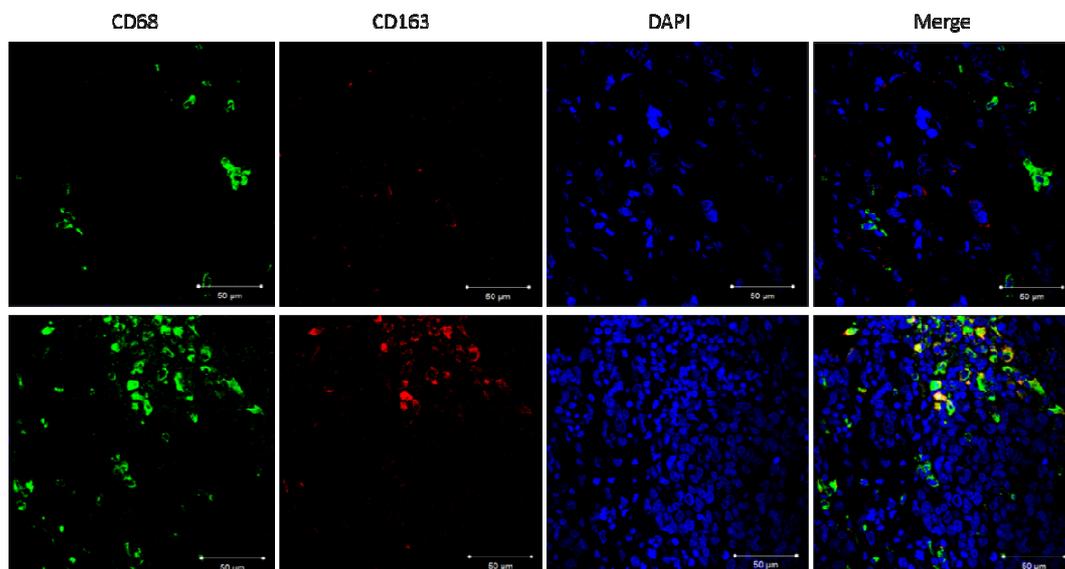


Рис. 1. Конфокальная микроскопия ткани рака молочной железы с хорошим (верхняя панель) и плохим (нижняя панель) ответом на химиотерапию при помощи маркеров CD68 и CD163

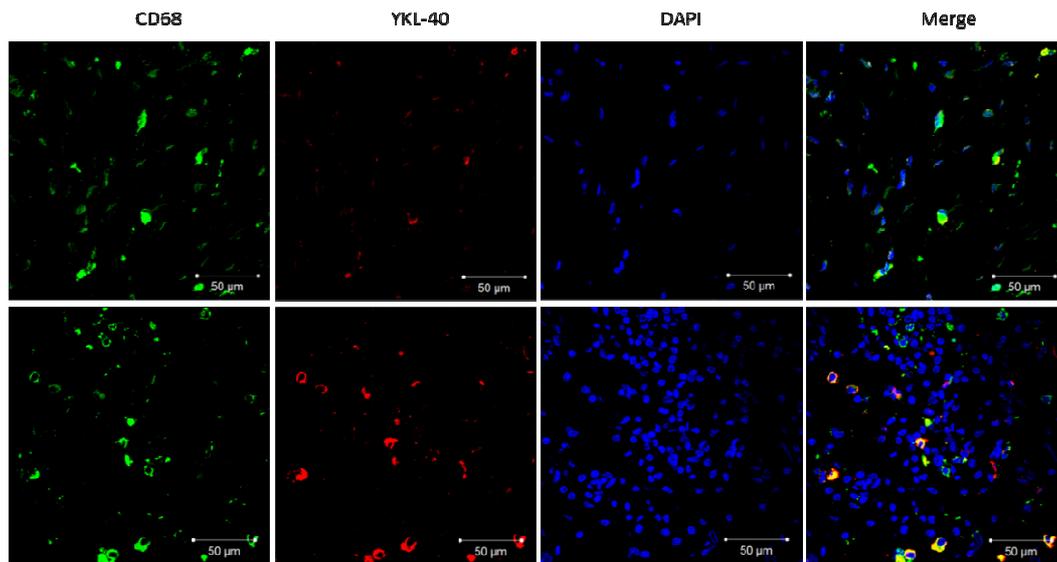


Рис. 2. Конфокальная микроскопия ткани рака молочной железы с хорошим (верхняя панель) и плохим (нижняя панель) ответом на химиотерапию при помощи маркеров CD68 и YKL-40

Выводы. Полученные нами данные свидетельствуют о функциональных различиях субпопуляций опухолеассоциированных макрофагов, имеющих разные фенотипы, что подтверждается на уровне ассоциативных связей с эффективностью химиотерапии.

Работа поддержана грантом РФФИ № 16-54-76015 ЭРА_a.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chávez-Galán, L., Olleros, M. L., Vesin, D., Garcia, I. (2015) Much more than M1 and M2 macrophages, there are also CD169+ and TCR+ macrophages. *Front Immunology*, no. 6, pp. 263.
2. Mantovani, A., Allavena, P. (2015) The interaction of anticancer therapies with tumor-associated macrophages. *Journal of Experimental Medicine*, no. 212(4), pp. 435–445.
3. Mitrofanova, I., Zavyalova, M., Telegina, N., Buldakov, M., Riabov, V., Cherdyntseva, N., Kzhyshkowska, J.. (2016) Tumor-associated macrophages in human breast cancer parenchyma negatively correlate with lymphatic metastasis after neoadjuvant chemotherapy. *Immunobiology*, no. 222(1), pp. 101-109.