

ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НК- И НКТ-КЛЕТОК У БОЛЬНЫХ ПОЧЕЧНОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ

© 2014 г. А.А. Савченко, А.А. Модестов*, А.В. Мошев, О.Г. Тоначева*, А.Г. Борисов

ФГБУ «НИИ медицинских проблем Севера» СО РАМН, Красноярск, Россия;

*КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер им. А.И. Крыжановского»,
Красноярск, Россия

Поступила: 24.07.2014. Принята: 25.08.2014

С целью изучения фенотипического состава НК- и НКТ-клеток и их взаимосвязей у больных почечноклеточным раком обследовано 63 пациента до операции. Диагноз почечноклеточного рака (Т3N0M0, светлоклеточный тип) верифицирован гистологически. С помощью методов проточной цитометрии оценивался фенотипический состав НК- и НКТ-клеток периферической крови. В результате проведенных исследований обнаружено, что количество НК-клеток в периферической крови больных почечноклеточным раком повышается. Увеличение содержания НК-клеток при почечноклеточном раке осуществляется преимущественно за счет популяции цитотоксических НК-клеток, уровень цитокин-продуцирующих естественных киллеров повышается в меньшей степени. Аналогичным образом при почечноклеточном раке увеличивается содержание активированных НК-клеток. При исследовании содержания в периферической крови НКТ-лимфоцитов установлено, что при снижении уровня зрелых клеток у больных почечноклеточным раком повышается количество цитотоксических и снижается содержание активированных цитокин-продуцирующих НКТ-клеток.

Ключевые слова: НК-клетки, НКТ-клетки, фенотип, почечноклеточный рак

ВВЕДЕНИЕ

Почечноклеточный рак (ПКР) относится к числу наиболее тяжелых онкоурологических заболеваний. Так, число случаев поздней диагностики рака почки в 3 раза выше, чем при других урологических новообразованиях, а результаты лечения данного заболевания свидетельствуют, что у 40–50% больных в течение первого года после лечения появляются метастазы [1, 2, 3].

В настоящее время большое внимание уделяется роли врожденного иммунитета в этиологии и патогенезе опухолевого роста [4, 5, 6]. Ведущую роль в системе противоопухолевого иммунитета осуществляют НК- и НКТ-клетки

[7, 8, 9, 10]. НК-клетки – натуральные, или естественные, киллеры представляют собой гетерогенную популяцию, обладают естественной цитолитической активностью и способны продуцировать цитокины и хемокины [11]. Многочисленные исследования подтверждают способность НК-клеток распознавать и уничтожать опухолевые клетки *in vitro* [12, 13, 14]. Однако *in vivo* противоопухолевый потенциал не всегда реализуется [8, 15].

НКТ-лимфоциты относят к клеткам врожденного иммунитета, представляют собой минорную популяцию Т-клеток, которая благодаря своей аутореактивности и способности быстро продуцировать различные цитокины, обеспечивают связь между врожденным и адаптивным звеньями иммунитета и играет важнейшую роль в регуляции иммунного ответа при различных патологических состояниях, в том числе, и при опухолевом росте [9, 11, 16]. Доказано, что НКТ-клетки помимо цитотоксической функции выполняют роль основного источника цитокинов (в первую

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, 3Г. НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, Савченко Андрею Анатольевичу.

E-mail: aasavchenko@yandex.ru

E-mail: 241045@mail.ru

очередь, IFN γ) на начальных этапах развития иммунного ответа [11].

Функциональная активность НК- и НКТ-клеток во многом определяется экспрессией активационных и адгезионных маркеров. Доказано, что уровень миграции клеток иммунной системы в опухоль определяет исход онкологического заболевания. Например, степень инфильтрации опухоли НК-клетками имела прогностическое значение при опухолевом росте [16, 17]. Снижение количества НКТ-клеток в периферической крови больных сквамозноклеточным раком головы и шеи коррелировало с плохим прогнозом заболевания [16]. Однако особенности экспрессии активационных и адгезионных рецепторов и взаимосвязи между фенотипическим составом НК- и НКТ-клеток при онкологических заболеваниях в настоящее время полностью не исследованы.

Целью данного исследования явилось изучение фенотипического состава НК- и НКТ-клеток и их взаимосвязей у больных почечно-клеточным раком.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского» обследованы больные ПКР (Т3N0M0, светлоклеточный тип) в возрасте 40–55 лет до хирургического лечения ($n = 63$). Диагноз ПКР у всех больных верифицирован гистологически. В качестве контрольной группы были обследованы 78 практически здоровых людей аналогичного возрастного диапазона.

Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой пятицветной иммунофлуоресценции цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (BeckmanCoulter, USA), меченных FITC (fluoresceinisothiocyanate), PE (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующих панелях: CD16-FITC/CD56-PE/CD8-ECD/CD3-PC5/CD11b-PC7, CD57-FITC/CD3-ECD/CD16/56-PC5/CD45-PC7. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [18]. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента VersLyse (Beckman Coulter, США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуори-

метре FC-500 (BeckmanCoulter, USA) [19, 20]. В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 1 и 3 квартилей (Q_1 и Q_3). Достоверность различий между показателями независимых выборок (сравнение с показателями контрольной группы) оценивали по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни. Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену. Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 7.0 (StatSoftInc. 2004).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведения цитометрического анализа обнаружено, что у больных ПКР в периферической крови снижено абсолютное содержание лимфоцитов (**табл. 1**). При исследовании фенотипического состава НК-клеток в обследуемых группах установлено, что у больных ПКР повышено относительное количество CD16⁺/56⁺-, CD16⁻CD56⁺-, CD16⁻CD56⁺CD11b⁺- и CD16⁺/56⁺CD57⁺-клеток. Кроме того, при раке почки в периферической крови обследуемых выявлено повышение процентного и абсолютного уровня CD16⁺CD56⁻ и CD16⁺CD56⁻CD11b⁺-лимфоцитов.

При исследовании фенотипа НКТ-клеток периферической крови обнаружено, что у больных ПКР относительно контрольного уровня в 1,6 раза снижено абсолютное количество CD3⁺CD56⁺CD16⁺- и CD3⁺CD56⁺CD16⁻CD11b⁺-клеток, а также повышено процентное содержание CD3⁺CD56⁻CD16⁺-лимфоцитов (**табл. 2**).

Исследование особенностей взаимосвязи различных фракций НК-клеток позволило установить, что у лиц контрольной группы содержание CD16⁺CD56⁺-клеток положительно коррелирует с CD16⁺CD56⁻-лимфоцитами

Таблица 1. Содержание НК-лимфоцитов у больных ПКР (Me, Q₁-Q₃)

Показатели	Контроль n = 78		Больные ПКР n = 63		p
	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	2,02	1,65 – 2,34	1,75	1,31 – 2,25	0,003
CD16/56 ⁺ , %	9,66	5,78 – 13,06	12,71	8,30 – 16,31	0,048
CD16/56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,173	0,107 – 0,248	0,195	0,137 – 0,240	
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	7,94	5,57 – 15,48	10,64	6,25 – 17,73	
CD16 ⁺ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,164	0,118 – 0,326	0,180	0,109 – 0,299	
CD16 ⁺ CD56 ⁻ , %	0,33	0,21 – 0,57	0,66	0,31 – 1,17	0,002
CD16 ⁺ CD56 ⁻ , 10 ⁹ /л	0,006	0,004 – 0,013	0,010	0,006 – 0,019	0,030
CD16 ⁻ CD56 ⁺ , %	0,28	0,17 – 0,53	0,48	0,32 – 0,78	0,005
CD16 ⁻ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,006	0,003 – 0,012	0,008	0,005 – 0,013	
CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	7,36	5,45 – 13,95	10,43	6,07 – 17,54	
CD16 ⁺ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , 10 ⁹ /л	0,161	0,104 – 0,314	0,177	0,103 – 0,298	
CD16 ⁺ CD56 ⁻ CD11b ⁺ , %	0,25	0,16 – 0,43	0,49	0,24 – 0,99	<0,001
CD16 ⁺ CD56 ⁻ CD11b ⁺ , 10 ⁹ /л	0,005	0,003 – 0,012	0,009	0,004 – 0,015	0,010
CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , %	0,26	0,16 – 0,47	0,42	0,26 – 0,70	0,005
CD16 ⁻ CD56 ⁺ CD11b ⁺ , 10 ⁹ /л	0,005	0,003 – 0,011	0,008	0,005 – 0,013	
CD16/56 ⁺ CD57 ⁺ , %	2,79	1,52 – 4,18	5,09	2,51 – 7,49	0,002
CD16/56 ⁺ CD57 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,055	0,031 – 0,081	0,077	0,036 – 0,146	

Таблица 2. Содержание НКТ-лимфоцитов у больных ПКР (Me, Q₁-Q₃)

Показатели	Контроль n = 78		Больные ПКР n = 63		p
	Me	Q ₁ -Q ₃	Me	Q ₁ -Q ₃	
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , %	2,89	1,46 – 6,23	3,59	1,10 – 6,37	
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,064	0,027 – 0,114	0,057	0,015 – 0,116	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	3,61	2,07 – 5,38	3,14	1,20 – 4,81	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,072	0,040 – 0,133	0,044	0,022 – 0,091	0,043
CD3 ⁺ CD56 ⁻ CD16 ⁺ , %	4,27	3,08 – 5,1700	6,86	4,03 – 10,09	<0,001
CD3 ⁺ CD56 ⁻ CD16 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,082	0,062 – 0,114	0,105	0,064 – 0,172	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ , %	9,41	7,20 – 12,37	8,15	3,71 – 15,68	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ , 10 ⁹ /л	0,170	0,137 – 0,246	0,109	0,064 – 0,257	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁻ , %	0,02	0,01 – 0,10	0,02	0,001 – 0,050	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁻ , 10 ⁹ /л	0,0004	0,0002 – 0,0021	0,0003	0,0001 – 0,0008	0,044
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁺ , %	9,38	7,19 – 12,36	8,12	3,65 – 15,66	
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ CD11b ⁺ , 10 ⁹ /л	0,170	0,135 – 0,246	0,109	0,062 – 0,257	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , %	2,68	1,62 – 4,04	2,33	1,05 – 4,98	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,054	0,028 – 0,091	0,038	0,021 – 0,066	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁻ , %	0,68	0,35 – 0,99	0,84	0,33 – 1,29	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁻ , 10 ⁹ /л	0,013	0,006 – 0,022	0,011	0,004 – 0,022	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁻ CD56 ⁺ , %	9,53	6,41 – 11,24	7,80	3,38 – 14,93	
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD16 ⁻ CD56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,164	0,126 – 0,221	0,120	0,059 – 0,198	

(для процентного уровня – $r = 0,40$, $p = 0,010$; для абсолютного количества – $r = 0,49$, $p = 0,001$); для абсолютного количества – $r = 0,49$, $p = 0,001$), а содержание CD16⁺CD56⁻-клеток взаимосвязано с CD16⁻CD56⁺-лимфоцитами (для процентного уровня – $r = 0,49$, $p = 0,001$); для абсолютного количества – $r = 0,58$, $p < 0,001$). В то же время у больных ПКР установлена взаимосвязь только между CD16⁺CD56⁺-клетками и CD16⁻CD56⁺-лимфоцитами (для процентного уровня – $r = 0,36$,

$p = 0,004$; для абсолютного количества — $r = 0,47$, $p < 0,001$).

При исследовании взаимосвязей количества NK- и NKT-клеток обнаружено, что у лиц контрольной группы абсолютный уровень $CD16^+CD56^-CD11b^+$ -клеток положительно взаимосвязан с абсолютным количеством $CD3^+CD16^+CD56^-$ -лимфоцитов ($r = 0,42$, $p = 0,009$), тогда как абсолютное содержание $CD16^+CD56^-$ -клеток — с абсолютным уровнем $CD3^+CD16^+CD56^-$ -лимфоцитов ($r = 0,40$, $p = 0,014$). У больных ПКР обнаружена отрицательная взаимосвязь между процентным содержанием $CD16^+CD56^+CD11b^+$ -клеток и относительным количеством $CD3^+CD16^-CD56^+$ -лимфоцитов ($r = -0,29$, $p = 0,023$). При ПКР обнаружена положительная взаимосвязь абсолютного содержания $CD16^+CD56^-CD11b^+$ -клеток с абсолютным количеством $CD3^+CD16^+CD56^+$ -лимфоцитов ($r = 0,28$, $p = 0,032$), тогда как процентный уровень $CD16^-CD56^+CD11b^+$ -клеток отрицательно коррелирует с относительным количеством $CD3^+CD16^+CD56^+$ - ($r = -0,41$, $p < 0,001$), $CD3^+CD8^+CD16^+CD56^+$ - ($r = -0,70$, $p < 0,001$) и $CD3^+CD8^+CD16^-CD56^+$ -лимфоцитов ($r = -0,56$, $p < 0,001$). Также у больных выявляется положительная корреляционная связь абсолютного содержания $CD16^+CD56^-$ -клеток с абсолютным количеством $CD3^+CD16^+CD56^+$ -лимфоцитов ($r = 0,28$, $p = 0,032$) и отрицательные взаимосвязи между процентным содержанием $CD16^-CD56^+$ - и $CD3^+CD56^+CD16^-CD11b^-$ -лимфоцитов ($r = -0,26$, $p = 0,044$) и абсолютным содержанием $CD16^-CD56^+$ - и $CD3^+CD16^+CD56^+$ -клеток ($r = -0,29$, $p = 0,026$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Основная функция естественных киллеров — цитоллиз трансформированных клеток (малигнизированных или инфицированных) при отсутствии на них экспрессии собственных молекул главного комплекса гистосовместимости I класса (MHC-I) [11, 21, 22]. Однако широкий спектр опухолевых клеток не становятся мишенью для NK-клеток, так как сохраняют на своей поверхности молекулы MHC-I [8,10,17]. Выявление субпопуляций NK-клеток (цитотоксической и цитокин-продуцирующей) позволяет по новому рассматривать их роль в системе противоопухолевого иммунитета. Клетки почечноклеточного рака явля-

ются «иммуногенными», то есть индуцируют развитие противоопухолевого иммунитета, хотя и экспрессируют антигены MHC-I [23]. В связи с этим, необходимо оценить регуляторный потенциал NK-клеток у больных ПКР.

Нами установлено, что у больных ПКР в периферической крови повышено относительное содержание общей фракции NK-клеток ($CD16/56^+$). При этом увеличения абсолютного количества NK-клеток не выявлено в связи с тем, что при раке почки снижено содержание лимфоцитов в крови.

Деление общей фракции NK-клеток на субпопуляции осуществлялось по маркерам CD16 и CD56. Гликопротеин CD16 является низкоаффинным рецептором для IgG (FcγRIIIA), с помощью которого осуществляется механизм антителозависимой клеточной цитотоксичности [11]. CD56 участвует в реализации межклеточной адгезии [11, 21]. Установлено, что и у лиц контрольной группы, и у больных ПКР в периферической крови естественные киллеры представлены преимущественно NK-клетками, одновременно экспрессирующими CD16 и CD56 (зрелые клетки). В меньшем количестве представлены цитотоксическая ($CD16^+CD56^-$) и цитокин-продуцирующая ($CD16^-CD56^+$) субпопуляции NK-клеток. Причем при почечноклеточном раке выявляется практически 2-кратное повышение количества цитотоксической субпопуляции NK-клеток и в 1,7 раза — процентного содержания цитокин-продуцирующей фракции. С помощью корреляционного анализа установлено, что если у лиц контрольной группы фракция зрелых NK-клеток положительно взаимосвязана с цитотоксической субпопуляцией, а также выявляются положительные корреляции между цитотоксической и цитокин-продуцирующей субпопуляциями естественных киллеров, то при ПКР содержание зрелых NK-клеток положительно коррелирует с количеством цитокин-продуцирующей субпопуляции.

Экспрессия CD11b (αM цепь интегрина Mac-1) на поверхности естественных киллеров повышает их миграционный и эффекторный потенциал [24, 25]. В периферической крови больных ПКР практически в 2 раза повышается количество цитотоксических NK-клеток, экспрессирующих CD11b. В то же время уровень цитокин-продуцирующих NK-клеток при ПКР повышается только в 1,6 раза и только в относительном количестве. CD57 является рецептором адгезии и марке-

ром терминальной дифференцировки клеток [26]. Повышение количества НК-клеток в периферической крови больных ПКР также характеризует их функциональную активацию.

Натуральные киллерные клетки, несущие на своей поверхности CD57, при стимуляции антителами против CD16 способны продуцировать IFN γ более эффективно, нежели клетки с фенотипом CD57⁻CD56^{dim}CD16⁺. При анализе уровня внутриклеточных цитолитических молекул (перфорина и гранзима В) было показано, что среди популяции CD57⁺CD56^{dim}CD16⁺ количество клеток, имеющих в составе своих гранул данные молекулы, значительно превосходило таковое популяции CD57⁻CD56^{dim}CD16⁺. Однако способность к дегрануляции — появление на поверхности клеток CD107a при совместном культивировании с клетками-мишенями — достоверно не различалась между CD57⁺ и CD57⁻ популяциями НК-клеток [26]. Приведенные результаты, равно как и сниженная пролиферативная активность *in vitro* CD57-позитивных НК-клеток, позволяют рассматривать клетки данной популяции в качестве зрелых эффекторных клеток. Тезис о том, что изменение фенотипа CD56^{dim}CD16⁺ натуральных киллеров с CD57⁻ на CD57⁺ связан с «созреванием» клеток также подтверждается исследованиями на моделях экспериментальных животных и результатами мониторинга состояния пациентов после пересадки гемопоэтических стволовых клеток [27, 28]. В последней работе было отмечено, что «созревание» CD56^{dim} клеток сопровождается постепенной утерей NKG2A при увеличении уровня экспрессии ингибирующих KIR-рецепторов и появлением на поверхности CD57. Поэтому предлагается следующая схема дифференцировки НК-клеток: CD56^{bright} → CD57⁻CD56^{dim} → CD57⁺CD56^{dim}.

Второй популяцией клеток, участвующей в системе противоопухолевого иммунитета, являются НКТ-лимфоциты (CD3⁺CD16/56⁺) [11, 16]. Данная популяция клеток осуществляет как эффекторные (через перфорин/гранзимовый или FasL-опосредованный механизм), так и регуляторные функции (синтез широкого спектра цитокинов), обеспечивая взаимосвязь между врожденным и адаптивным иммунитетом. При исследовании содержания данной популяции клеток в периферической крови больных ПКР обнаружено, что при онкологическом заболевании снижено абсолютное количество зрелых НКТ-лимфо-

цитов (CD3⁺CD56⁺CD16⁺) и повышено относительное содержания эффекторных клеток (CD3⁺CD56⁻CD16⁺). Также при почечноклеточном раке крови больных снижается абсолютное содержание регуляторной фракции НКТ-клеток (CD3⁺CD56⁺CD16⁻), экспрессирующих CD11b. При этом необходимо отметить, что именно с продукцией интерферона- γ связывают противоопухолевую активность НКТ-клеток [16].

Обнаружены различия во взаимосвязях между количеством НК- и НКТ-клеток различных субпопуляций в периферической крови лиц контрольной группы и больных почечноклеточным раком. Так, только у лиц контрольной группы наблюдаются положительные корреляционные связи абсолютного содержания цитотоксической фракции НКТ-лимфоцитов с абсолютным количеством цитотоксической субпопуляции НК-клеток и НК-клеток, экспрессирующих CD11b.

При почечноклеточном раке с этими же фракциями НК-клеток также положительно коррелируют зрелые НКТ-лимфоциты. Кроме того, при раке почки наблюдаются и конкурентные (отрицательные) взаимосвязи между фракциями НК- и НКТ-клеток. Так, у обследованных пациентов зрелые НК-клетки, экспрессирующие CD11b, отрицательно взаимосвязаны с фракцией цитокин-продуцирующих НКТ-лимфоцитов. Уровень цитокин-продуцирующих НК-клеток больных отрицательно коррелируют с количеством зрелых НКТ-лимфоцитов и цитокин-продуцирующих с экспрессией CD11b. Кроме того, у больных установлены отрицательные корреляционные связи активированных цитокин-продуцирующих НК-клеток с зрелыми НКТ-лимфоцитами и НКТ-лимфоцитами, экспрессирующими CD8-маркер. Необходимо отметить, что повышение количества НКТ-клеток, экспрессирующих CD8, у больных онкологическими заболеваниями является неблагоприятным прогностическим критерием [16].

Таким образом, полученные результаты указывают на наличие характерных особенностей в фенотипическом составе НК- и НКТ-клеток у больных почечноклеточным раком. Количество НК-клеток в периферической крови больных повышается. Однако увеличение содержания НК-клеток при почечноклеточном раке осуществляется преимущественно за счет популяции цитотоксических НК-клеток, уровень цитокин-продуцирую-

щих естественных киллеров повышается в меньшей степени. Аналогичным образом при почечноклеточном раке увеличивается содержание активированных NK-клеток. Как уже отмечалось, значение цитотоксических NK-клеток в системе противоопухолевого иммунитета ставится под сомнение, тогда как цитокин-продуцирующие естественные киллеры стимулируют цитотоксическую активность Т-лимфоцитов [8, 15, 21]. При исследовании содержания в периферической крови второй популяции клеток, участвующей в системе противоопухолевого иммунитета, — NKT-лимфоцитов установлено, что при снижении уровня зрелых NKT-клеток у больных почечноклеточным раком повышается количество цитотоксических и снижается содержание активированных цитокин-продуцирующих NKT-клеток.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аполихин О.И., Сивков А.В., Солнцева Т.В., Комарова В.А. Анализ урологической заболеваемости в Российской Федерации в 2005–2010 годах. Экспериментальная и клиническая урология 2012, 2, 4–12.
2. Писарева Л.Ф., Бояркина А. П., Огинцова И.Н., Гурина Л.И., Алексеева Г.Н. Эпидемиология рака почки в регионе Сибири и Дальнего Востока (1994–2008). Урология 2013, 3, 52–56.
3. Abern M.R., Scosyrev E., Tsivian M., Messing E.M., Polascik T.J. et al. Survival of patients undergoing cytoreductive surgery for metastatic renal cell carcinoma in the targeted-therapy era. Anticancer Res. 2014, 34, 2405–2411.
4. Brodt P. Surviving host innate immunity: Cancer cells can turn a deadly assault into an advantage. Oncoimmunology 2012, 1, 1601–1603.
5. Ishii T., Warabi E., Yanagawa T. Novel roles of peroxiredoxins in inflammation, cancer and innate immunity. J. Clin. Biochem. Nutr. 2012, 50, 91–105.
6. Kim J., Cho Y.A., Choi I.J., Lee Y.S., Kim S.Y. et al. Effects of polymorphisms of innate immunity genes and environmental factors on the risk of noncardia gastric cancer. Cancer Res Treat. 2013, 45, 313–324.
7. Bassiri H., Das R., Nichols K.E. Invariant NKT cells: Killers and conspirators against cancer. Oncoimmunology 2013, 2, e27440.
8. Sungur C.M., Murphy W.J. Positive and negative regulation by NK cells in cancer. Crit. Rev. Oncog. 2014, 19, 57–66.
9. Terabe M., Berzofsky J.A. The immunoregulatory role of type I and type II NKT cells in cancer and other diseases. Cancer Immunol. Immunother. 2014, 63, 199–213.
10. Yuan-Kun C., Tao Y. Does a decrease of NK cells in the appendix increase the risk of developing colon cancer? Hepatogastroenterology 2012, 59, 1819–1821.
11. Ярулин А.А. Иммунология. ГЭОТАР-Медиа, Москва 2010, 752.
12. Перфильева Ю.В., Абголла Н., Кустова Е.А., Уразалиева Н.Т., Башшева С.Х. Экспрессия маркеров адгезии CD62L, CD44 и CXCR4 на NK-клетках при онкологических заболеваниях. Цитокины и воспаление 2012, 1, 86–90.
13. Frings P.W., Van Elssen C.H., Wieten L., Matos C., Hupperets P.S. Elimination of the chemotherapy resistant subpopulation of 4T1 mouse breast cancer by haploidentical NK cells cures the vast majority of mice. Breast Cancer Res. Treat. 2011, 130, 773–781.
14. Wu X.T., Liu J.Q., Lu X.T., Chen F.X., Zhou Z.H. et al. The enhanced effect of lupeol on the destruction of gastric cancer cells by NK cells. Int. Immunopharmacol. 2013, 16, 332–340.
15. Terme M., Ullrich E., Aymeric L., Meinhardt K., Coudert J.D. et al. Cancer-induced immunosuppression: IL-18-elicited immunoablative NK cells. Cancer Res. 2012, 72, 2757–2767.
16. Кагаругзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. NKT-клетки и противоопухолевый иммунитет. Российский биотерапевтический журнал 2011, 3, 9–15.
17. Campoli M., Ferrone S. Tumor escape mechanisms: potential role of soluble HLA antigens and NK cells activating ligands. Tissue Antigens 2008, 72, 321–334.
18. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. Nat. Rev. Immunol. 2012, 12, 191–200.
19. Хайгуков С.В., Зурочка А.В. Многоцветный цитометрический анализ. Идентификация NK-клеток. Российский иммунологический журнал 2008, 1, 20–30.
20. Luider J.I., Cyfra M., Johnson P., Auer I. Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. Lab. Hematol. 2004, 10, 102–108.
21. Абакушина Е.В., Кузьмина Е.Г., Коваленко Е.И. Основные свойства и функции NK-клеток человека. Иммунология 2012, 4, 220–225.
22. Montaldo E., Del Zotto G., Della Chiesa M., Mingari M.C., Moretta A. et al. Human NK cell receptors/markers: a tool to analyze NK cell development, subsets and function. Cytometry A 2013, 83, 702–713.
23. Magyarlaki T., Buzogány I., Nagy J. Specific von Hippel-Lindau protein expression of clear cell renal cell carcinoma with "immunogenic" features. Pathol. Oncol. Res. 2001, 7, 42–45.
24. Clinthorne J.F., Beli E., Duriancik D.M., Gardner E.M. NK cell maturation and function in

- C57BL/6 mice are altered by caloric restriction. *J. Immunol.* 2013, 190, 712–722.
25. Wilk S., Jenke A., Stehr J., Yang C.A., Bauer S. et al. Adiponectin modulates NK-cell function. *Eur J. Immunol.* 2013, 43, 1024–1033.
26. Lopez-Vergès S., Milush J.M., Pandey S., York V.A., Arakawa-Hoyt J. et al. CD57 defines a functionally distinct population mature NK cells in the human CD56^{dim}CD16⁺ NK-cell subset. *Blood* 2010, 116, 3865–3874.
27. Bjorkstrom N.K., Riese P., Heuts F., Andersson S., Fauriat C. et al. Expression patterns of NKG2A, KIR, and CD57 define a process of CD56^{dim} NK-cell differentiation uncoupled from NK-cell education. *Blood* 2010, 116, 3853–3864.
28. Huntington N.D., Legrand N., Alves N.L., Jaron B., Weijer K. et al. IL-15 trans-presentation promotes human NK cell development and differentiation in vivo. *J. Exp. Med.* 2009, 206, 25–34.

FLOW CYTOMETRY OF NK- AND NKT-CELLS IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

A.A. Savchenko, A.A. Modestov*, A.V. Moshev, O.G. Tonacheva*, A.G. Borisov

*Research Institute of Medical Problems of the North, Siberian Branch of Russian Academy
of Sciences, Krasnoyarsk, Russia;*

**Krasnoyarsk Regional Clinical Oncology Dispensary named after
A.I. Kryzhanovsky, Krasnoyarsk, Russia*

In order to study the phenotypic composition of NK-and NKT-cells and their interrelations in renal cell carcinoma patients were examined 63 patients before surgery. The diagnosis of renal cell carcinoma (T3N0M0, clear cell type) was verified histologically. Using techniques of flow cytometry estimated phenotypic composition NK-and NKT-cells in the peripheral blood. The studies found that the number of NK-cells in the peripheral blood of patients with renal cell cancer increases. Increased NK-cell content for renal cell carcinoma is predominantly due to a population of cytotoxic NK-cells, the level of cytokine-producing natural killer cells increases to a lesser extent. Similarly renal cell carcinoma with increasing content of activated NK-cells. In the study the content in peripheral blood of NKT-lymphocytes established that by reducing the level of mature cells in patients with renal cell carcinoma increases the amount of cytotoxic and reduced content of activated cytokine-producing NKT-cells.