



А.И. Стукань¹⁻³, О.Ю. Чухрай¹, С.Д. Максименко¹

Значение этиопатогенеза в формировании локального иммунного ответа при плоскоклеточном орофарингеальном раке

¹ГБУЗ «КОД № 1» МЗ КК, г. Краснодар

²ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар

³ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Санкт-Петербург

Актуальность. Установлено, что несмотря на инфильтрацию опухоли иммунокомпетентными клетками, зачастую плоскоклеточный рак головы шеи (ПРГШ) демонстрирует именно иммуносупрессивный тип микроокружения, что влияет на результаты лечения и диктует поиск новых прогностических маркеров и мишеней терапии.

Цель исследования. Изучить состав иммунных клеток при орофарингеальном плоскоклеточном раке (ОФПКР) и тип экспрессии PD-L1 (CPS, TPS) в зависимости от ВПЧ-статуса, пола и возраста.

Материалы и методы. В исследование кафедры онкологии КубГМУ на базе ГБУЗ КОД №1, г. Краснодара, с 2020 г. до июня 2022 г. включено 65 p16-негативных (52 %) и 60 p16-позитивных (48 %) больных ОФПКР. У 86 пациентов выполнена оценка уровня TILs, при иммуногистохимическом анализе изучены компоненты иммунного микроокружения по маркерам CD4, CD8, CD68, CD163, CD20, экспрессия PD-L1. Статистический анализ выполнен с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics v. 22.

Результаты. ВПЧ-позитивный статус ассоциирован с раком небных миндалин ($p = 0,021$), более высоким уровнем опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (TILs) ($p = 0,007$), вероятно, за счёт Tregs ввиду более достоверной связи с CD4⁺ TILs ($p = 0,007$), чем с CD8⁺ TILs ($p = 0,033$). ОФПКР у женщин в сравнении с мужчинами чаще представлен раком миндалин ($p < 0,001$), характеризуется высокими значениями CD4⁺ TILs ($p = 0,021$) и CD8⁺ TILs ($p = 0,035$), однако более высоким иммунорегуляторным индексом (ИРИ) CD4/CD8 ($p = 0,021$). У женщин установлен более высокий уровень экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках (TPS) ($p = 0,009$) и комбинированный показатель (CPS) ($p = 0,018$), чем у мужчин. Более высокие значения CPS и TPS выявлены при CD4⁺TILs < 30 % ($p = 0,001$, $p = 0,005$ соответственно) и при CD68 $< 8,5$ % ($p = 0,001$). N+ связано с высоким уровнем

CPS PD-L1. У ВПЧ-позитивных больных выявлен более высокий уровень экспрессии маркера CD20⁺B-лимфоцитов ($p = 0,02$) в группе моложе 55 лет и уровень CD4⁺TILs ≥ 30 ассоциирован с более высокими значениями CD20 ($p = 0,002$).

Заключение. Тип формирования микроокружения ОФПКР и степень иммунной супрессии различается в зависимости от пола, возраста, ассоциации с транскрипционно активной ВПЧ-инфекцией.

Ключевые слова: орофарингеальный плоскоклеточный рак; p16; ВПЧ-позитивный статус; CD4⁺T-лимфоциты; CD8⁺T-лимфоциты; B-лимфоциты; PD-L1-экспрессия

Для цитирования: Стукань А.И., Чухрай О.Ю., Максименко С.Д. Значение этиопатогенеза в формировании локального иммунного ответа при плоскоклеточном орофарингеальном раке. Вопросы онкологии. 2023;69(2):300–307. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-300-307

Введение

Понимание биологии первичного и рецидивного опухолевого процесса при плоскоклеточном раке головы и шеи (ПРГШ) является весьма актуальной задачей ввиду необходимости улучшения показателей выживаемости у этой крайне сложной когорты онкологических пациентов. В большинстве исследований в качестве перспективных терапевтических мишеней выступают компоненты иммунного ответа в микроокружении опухоли (МО), которые играют значимую роль в течении заболевания, эффективности лечения и резистентности к терапии [1, 2]. Кроме этого, предполагается, что именно сочетание этиопатогенетических основ развития опухолевого процесса и характер иммунного ответа определяют архитектуру предопухолевой ниши, состав МО, иерархию взаимодействий компонентов опухолевой стромы с опухолевой клеткой. Установлено, что МО ПРГШ характеризуется наличием опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) различного субпопуляционного

состава — CD8⁺ Т-лимфоциты (Т-ЛФ), CD4⁺ Т-ЛФ, в т. ч. Т-регуляторные лимфоциты (Tregs), В-лимфоциты (В-ЛФ), а также опухоль-ассоциированными макрофагами (ОАМ), миелоидными супрессивными клетками (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs), натуральными киллерами (NK-клетки). Несмотря на инфильтрацию опухоли иммунокомпетентными клетками, зачастую ПРГШ демонстрирует иммуносупрессивный тип микроокружения [3, 4]. Орофарингеальный плоскоклеточный рак (ОФПКР) в последние десятилетия демонстрирует неуклонный рост заболеваемости [5]. При этом транскрипционно-активный вирус папилломы человека (ВПЧ) стал наиболее распространенной причиной ОФПКР в мире [6, 7]. В исследованиях показано, что TILs связаны с клиническим течением и прогнозом при онкологических заболеваниях различных локализаций, в т. ч. ПРГШ [8]. Необходимо понимать, что в реализации адаптивного иммунного ответа при ВПЧ-ассоциированном ОФПКР участвуют опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TILs), которые также могут быть специфичны в отношении ВПЧ-инфицированной опухолевой клетки, экспрессирующей E7 ВПЧ-16 типа. При этом низкий уровень TILs у курильщиков коррелирует с поздними стадиями и локорегионарным рецидивом. Однако сложность стандартизации TILs лимитирует применение маркера на практике [9, 10].

Пациенты с ВПЧ-ассоциированным ОФПКР демонстрируют лучший ответ на химиолучевую терапию, а также более высокие показатели выживаемости в сравнении с больными ВПЧ-негативным ОФПКР [11]. При этом весьма важен вопрос деинтенсификации лечения с целью снижения побочных эффектов терапии больных ВПЧ-ассоциированным ОФПКР низкого риска без анамнеза курения и с ранними стадиями. Однако зачастую попытки деэскалации терапии в общей группе ВПЧ-позитивного рака демонстрируют худшие результаты показателей выживаемости [12, 13]. Это свидетельствует о необходимости выделения дополнительных диагностических маркеров для стратификации риска и индивидуализации терапии ввиду существования гетерогенности биологических механизмов канцерогенеза и их сочетаний [14].

Цель исследования — изучить субпопуляционный состав иммунных клеток микроокружения при орофарингеальном раке и тип экспрессии PD-L1 (CPS, TPS) в зависимости от ВПЧ-статуса, пола и возраста.

Материалы и методы

В проспективное наблюдательное исследование кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии ФПК и

ППС ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России с 2020 г. проводится набор пациентов с раком ротоглотки и известным ВПЧ-статусом по суррогатному маркеру p16. Исследование одобрено независимым этическим комитетом ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 87 от 24 марта 2020 г.). Критерии включения:

1. больные местно-распространённым, рецидивирующим или метастатическим орофарингеальным раком;
2. гистологически подтверждённый плоскоклеточный рак с оценкой экспрессии p16;
3. доступный биопсийный материал для иммуногистохимического исследования.

Все включенные пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Для характеристики больных использована классификация AJCC TNM 7 пересмотра для достижения единообразия определения распространённости процесса.

На срезах с парафиновых блоков проводилось иммуногистохимическое исследование на иммуногистостейнере ThermoScientific с использованием моноклональных антител к рецепторам p16 (INK4 BioGenex clone, 1:25), CD8 (clone, 1448 DBS, 1:100), CD4 (clone 4B12 Dako, 1:50), CD68 (clone KP1 DBS, 1:100), CD163 (clone10D6 DBS, 1:200), CD20 (clone L26 DBS, 1:100), PD-L1 (clone SP263 IHC Detection Kit, Ventana Medical Systems Roch) и системы визуализации HistoFine Universal Immunoperoxidase Polymer anti-Mouse and Rabbit. ВПЧ-статус оценен по суррогатному маркеру экспрессии p16INK4a. ВПЧ-позитивность признавалась при ядерно-цитоплазматической положительной экспрессии более 70 % клеток включительно. Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (TILs) оценены при окраске гематоксилином и эозином. TIL оценивался в стромальном компоненте опухоли: в строме учитывался % площади, занимаемой мононуклеарными воспалительными клетками от общей внутриопухолевой области стромы. В подсчете иммунных клеток учитывались лимфоидные и гистиоцитарные элементы, непосредственно контактирующие с опухолевыми клетками, и расположенные в строме опухоли. Перитуморальный лимфоидный инфильтрат не учитывался. Использовали 3 категории инфильтрации: низкую (0–10 %), промежуточную (11–49 %) и высокую (50–100 %) [15]. Уровень хелперных Т-ЛФ оценен по маркеру CD4, цитотоксических Т-ЛФ — по маркеру CD8. Экспрессия CD68 оценена как маркер M1 и M2-поляризованных ОАМ, CD163 — как маркер M2-ОАМ, CD20 — как маркер В-ЛФ. Значения экспрессии маркеров CD4, CD8, CD20, CD68, CD163 оценены как процент окрашенных клеток от мононуклеарных иммунных клеток, расположенных интра-туморально и стромально (100 %). Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) CD4/CD8 и индекс CD68/CD163 оценены как соотношение медиан значений уровня экспрессии (%) в подгруппах.

Статистический анализ выполнен с использованием статистического пакета IBM SPSS Statistics v. 22. Применены параметрические и непараметрические описательные статистики, оценены средние величины со стандартным отклонением и медианы с интерквартильным размахом. В условиях нормального распределения признака в соответствии с тестом Колмогорова–Смирнова при сравнительном анализе средних значений применялся t-критерий Стьюдента для независимых выборок. В ином случае применялся метод непараметрического анализа (U-критерий Манна-Уитни). С помощью анализа таблиц сопряженности оценена зависимость исходов от факторов риска. В данных случаях статистическая достоверность корреляции изучалась с использованием критерия χ^2 и точного критерия Фишера. В случаях, предусмотренных статистическим анализом, использован метод расчета критерия χ^2 с поправкой Йейтса. Различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

В рамках представленного исследования на момент среза данных в июне 2022 г. включено 125 больных раком орофарингеальной зоны, которым выполнен анализ ВПЧ-статуса по экспрессии p16. Из них выявлено 65 p16-негативных (52 %) и 60 p16-положительных (48 %) образцов опухоли. ИГХ-анализ маркеров иммунного микроокружения выполнен у 86 пациентов — 61 мужчин (71 %) и 25 женщин (29 %). В этой группе ВПЧ-негативный статус установлен у 39, ВПЧ-положительный — у 47 больных. При сравнении клинико-морфологических характеристик больных (табл. 1) в зависимости от ВПЧ-статуса и пола не выявлено различий в возрасте, размере опухоли, наличии метастазов

в регионарных лимфоузлах. Уровень экспрессии маркеров CD163, CD68, соотношения CD4/CD8 и CD163/CD68 не зависят от ВПЧ-статуса и пола ($p > 0,05$). ВПЧ-положительный статус статистически значимо ассоциирован с раком небных миндалин ($p = 0,021$), высоким уровнем опухолинфильтрирующих лимфоцитов (TILs $\geq 50\%$) ($p = 0,007$), и более высокими показателями CD4⁺ TILs и CD8⁺ TILs ($p = 0,007$, $p = 0,033$ соответственно) в сравнении с ВПЧ-негативной группой. Рак ротоглотки у женщин в сравнении с мужчинами зачастую представлен раком миндалин ($p < 0,001$), более высоким уровнем CD4⁺ TILs ($p = 0,021$) и CD8⁺ TILs ($p = 0,035$), однако более высоким ИРИ CD4/CD8 ($p = 0,021$). Примеры различий экспрессии изученных маркеров представлены на рис. 1–3.

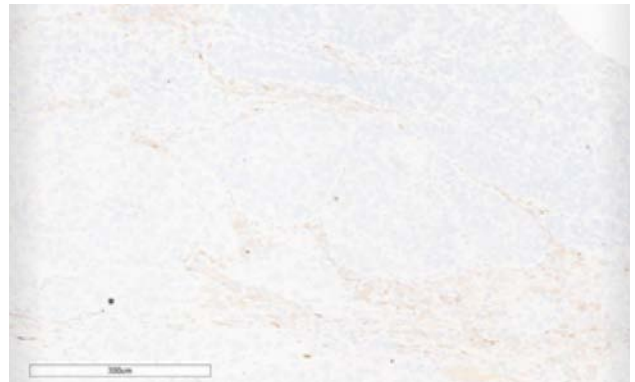
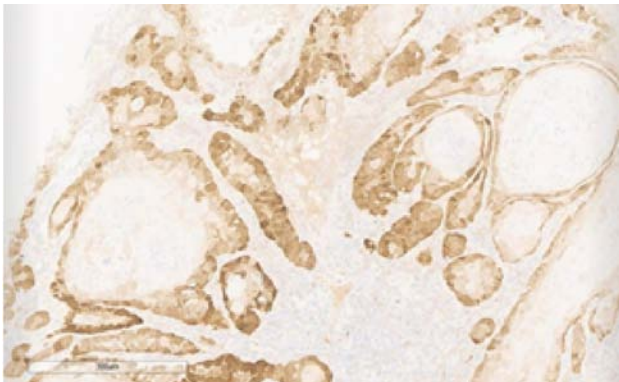


Рис. 1. Слева — гиперэкспрессия p16 (ВПЧ-положительный ОФПКР), справа — отсутствие экспрессии p16 (ВПЧ-негативный ОФПКР)

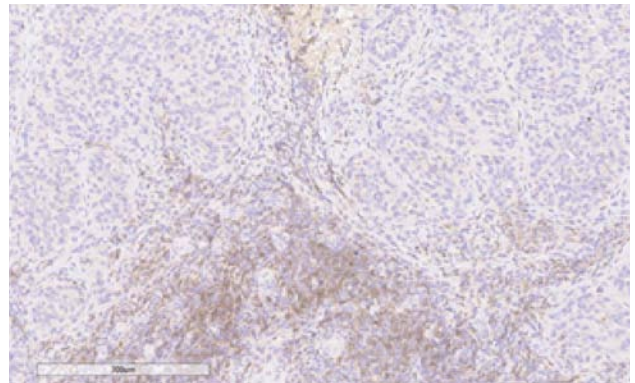
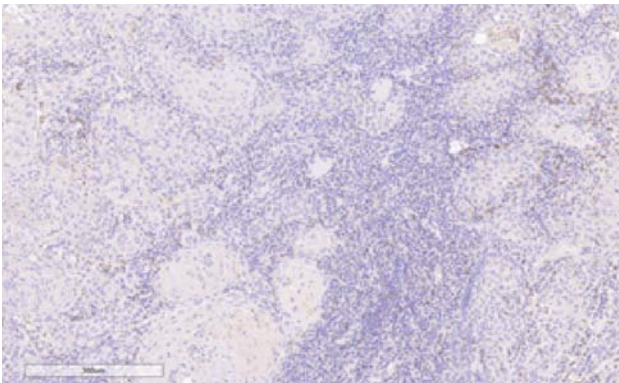


Рис. 2. Слева — низкий уровень CD4⁺ TILs ВПЧ-негативной опухоли, справа — высокий уровень CD4⁺ TILs ВПЧ-положительной опухоли, микрофотография (x300)

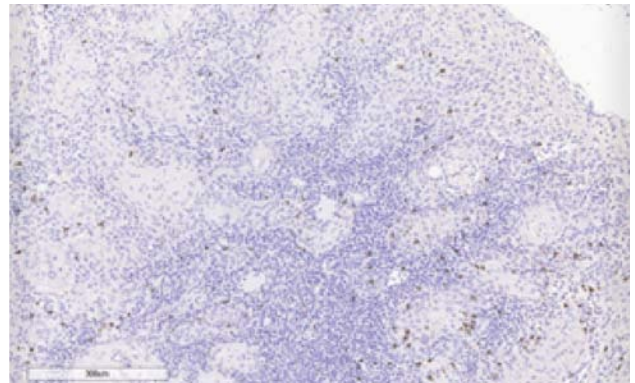
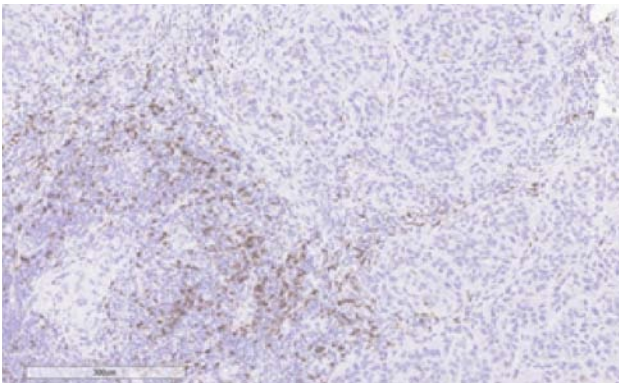


Рис. 3. Слева — высокий уровень CD8⁺ TILs в ВПЧ-положительной группе, справа — низкий уровень CD8⁺ TILs в ВПЧ-негативной группе, микрофотография (x300)

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики больных ОФПКР в зависимости от p16-статуса и пола

Параметр	P16-статус (n = 86)		p	Пол (n = 86)		p
	P16-отр (n = 39)	P16-пол (n = 47)		Мужской (n = 61)	Женский (n = 25)	
Возраст, Ме (квартили)	56 (51-62)	56 (46-61)	>0,05	_____	_____	NA
T1-2 (n = 35) T3-4 (n = 51)	14 25	21 26	0,509	21 40	14 11	0,091
N0 (n = 40) N1-3 (n = 46)	21 18	19 28	0,278	32 29	8 17	0,100
Локализация Коренья языка (n = 24) Миндалины (n = 16) Небные дужки (n = 43) Мягкое небо (n = 2) ЗСРГ (n = 1)	12 2 23 2 0	12 14 20 0 1	0,021	20 0 37 2 1	3 16 6 0 0	<0,001
TILs, Ме (квартили),%	55 (20-65)	70 (25-90)	0,007	55 (20-75)	70 (60-89)	0,113
CD4+TILs, Ме (квартили),%	15 (5-40)	45 (10-70)	0,007	17,5 (7-70)	42,5 (28-65)	0,021
CD8+TILs, Ме (квартили),%	7 (3-15)	10 (5-20)	0,033	7 (3-27)	10 (10-15)	0,035
CD4+/CD8+ Ме(квартили)	2,33 (1,42-5)	2,5 (1,5-4)	0,534	2 (1,4-4,5)	3,29 (2,3-4,3)	0,021
CD163, Ме (квартили),%	3 (3-5)	3 (3-10)	0,612	5 (3-7,75)	3 (2,25-6,5)	0,708
CD68, Ме (квартили),%	7 (5-10)	10 (5-15)	0,657	10 (5-15)	7 (5-10)	0,668
CD163/CD68 Ме (квартили)	0,6 (0,3-0,7)	0,6 (0,3-0,6)	0,567	0,6 (0,3-0,6)	0,7 (0,3-0,8)	0,530

Примечание: Ме — медиана

Таблица 2. Взаимосвязь размера опухоли и статуса регионарных лимфоузлов с компонентами иммунного МО у больных ОФПКР

Параметр	Размер первичной опухоли AJCC TNM 7		p	Метастазы в лимфоузлы AJCC TNM 7		p
	T1-2 (n = 35)	T3-4 (n = 51)		N0 (n = 40)	N1-2 (n = 46)	
TILs Ме (квартили), %	60 (15-75)	60 (30-85)	0,207	60 (15-88,7)	60 (20-75)	0,105
CD4+TILs Ме (квартили), %	40 (10-70)	25 (10-60)	0,936	27,5 (5,5-77,5)	40 (13,7-61)	0,247
CD8+TILs Ме (квартили), %	10 (3-20)	10 (5-15)	0,886	7 (3-15)	10 (5-20)	0,915
CD4+/CD8+ Ме (квартили)	2,5 (1,6-3,2)	2,33 (1,4-5,3)	0,737	2,41 (1,42-5,3)	2,33 (1,5-4)	0,893
CD163 Ме (квартили), %	5 (3-10)	3 (3-7)	0,615	3 (3-6,5)	5 (3-10)	0,555
CD68 Ме (квартили), %	10 (5-15)	40 (10-70)	0,017	10 (5-14,25)	7 (5-15)	0,169
CD163/CD68 Ме (квартили)	0,46 (0,2-0,6)	0,6 (0,4-0,7)	0,015	0,6 (0,3-0,7)	0,6 (0,4-0,7)	0,537

Таблица 3. Взаимосвязь экспрессии PD-L1 (CPS, TPS) с клинико-морфологическими характеристиками больных и медианами уровня ИГХ-маркеров в исследовании (n = 40)

Параметр	CPS Ме (квартили)	p	TPS, % Ме (квартили)	p
Пол Мужчины (n = 24) Женщины (n = 16)	2 (0,5-6) 5 (3,5-24)	0,018	1 (0,5-2,7) 3,5 (2,1-19,8)	0,009
ВПЧ-статус P16-отр (n = 16) P16-пол (n = 24)	1,25 (0,5-20) 4 (2,2-6,5)	0,171	1 (0,5-5,7) 2,75 (0,8-4,3)	0,134
возраст<55 лет (n = 17) возраст≥55лет (n = 23)	2 (0,5-27,5) 3 (0,5-7)	0,882	1,5 (0,5-3) 2 (2-10)	0,935
T1-2 (n = 19) T3-4 (n = 21)	3 (0,5-5) 3 (1,2-7)	0,402	2,5 (0,5-4,5) 2 (1-3)	0,935
N0 (n = 21) N+ (n = 19)	2 (0,5-5) 7 (3-25)	0,011	1,5 (0,5-3) 2,5 (2-10)	0,17
TILs < 50 % (n = 20) TILs ≥ 50 % (n = 20)	2,5 (0,5-5) 4 (0,5-4,5)	0,142	1,75 (0-4) 2,75 (0,5-4,5)	0,224
CD4+TILs < 30 % (n = 14) CD4+TILs ≥ 30 % (n = 26)	7 (3-25) 2 (0,5-5)	0,001	4 (2-10) 0,5 (0,3-3)	0,005
CD8+TILs < 15 % (n = 20) CD8+TILs ≥ 15 (n = 20)	5 (2-7) 2,5 (0,5-5)	0,1	2 (1,5-4) 1,5 (0,5-4,5)	0,461
CD4+/CD8+ TILs < 2,15 (n = 17) CD4+/CD8+ TILs ≥ 2,15 (n = 23)	3 (1,25-15) 5 (0-4,5)	0,638	2 (0,5-5,5) 2 (0-4,5)	0,850
CD68 < 8,5 % (n = 18) CD68 ≥ 8,5 % (n = 22)	7 (3-26) 2 (0,5-5)	0,001	3 (2-13,7) 0,5 (0,5-3)	0,003
CD163 < 3 % (n = 21) CD163 ≥ 3 % (n = 19)	3 (2-6) 3 (0,5-25)	0,822	2 (0,5-3) 3 (0,5-7)	0,688
CD163/CD68 < 0,46 (n = 20) CD163/CD68 ≥ 0,46 (n = 20)	3 (2-5) 4 (0,5-25)	0,894	2 (0,7-4) 2 (0-7)	0,512

Таблица 4. Экспрессия маркера В-лимфоцитов (CD20) при ВПЧ-положительном ОФПКР в зависимости от клинико-морфологических параметров и медиан иммунологических маркеров

Параметры	Экспрессия CD20, % n=47	
	Медиана (квартили)	p
Мужчина (n = 25) / женщина (n = 22)	5 (2,5-6) / 4 (3-10)	0,228
Возраст < 55 лет (n = 20) / возраст ≥ 55 лет (n = 27)	5 (3,5-10) / 3 (3-7)	0,02
T1-2 (n = 21) / T3-4 (n = 26)	3 (3-6) / 3 (3-10)	0,413
N0 (n = 19) / N1-3 (n = 28)	3 (3-5) / 5 (3-10)	0,269
TILs < 50 (n = 18) / TILs ≥ 50 (n = 29)	3 (2-7) / 5 (3-10)	0,116
CD4+TILs < 30 (n = 18) / CD4+TILs ≥ 30 (n = 29)	3 (2-5,5) / 5 (3-10)	0,002
CD8+TILs < 15 (n = 26) / CD8+TILs ≥ 15 (n = 21)	5 (2-7,75) / 5 (3-10)	0,343
CD4+/CD8+ TILs < 2,15 (n = 18) / CD4+/CD8+ TILs ≥ 2,15 (n = 29)	5 (3-7) / 5 (3-10)	0,841

Выявлено, что наличие N+ не зависело от уровня TILs и экспрессии CD4, CD8, CD68 и CD163 ($p > 0,05$) (табл. 2).

При анализе ассоциации экспрессии PD-L1 у 40 пациентов ОФПКР выявлено отсутствие связи экспрессии PD-L1 (CPS, TPS) с возрастом, ВПЧ-статусом, размером опухоли и метастазами в лимфоузлах ($p > 0,05$). У женщин выявлены более высокие показатели TPS и CPS в сравнении с мужчинами ($p = 0,009$ и $p = 0,018$ соответственно). Кроме этого, с уровнем с CD4+TILs < 30 ассоциированы более высокие показатели маркеров экспрессии PD-L1 CPS, TPS ($p = 0,001$, $p = 0,005$ соответственно) и CD68 < 8,5 ($p = 0,001$). Однако с N+ связан только более высокий уровень маркера CPS (табл. 3).

Анализ экспрессии маркера В-лимфоцитов CD20 выполнен в когорте 47 больных ВПЧ-положительным ОФПКР. У больных моложе 55 лет выявлен более высокий уровень экспрессии CD20-маркера В-лимфоцитов — на мононуклеарах МО в сравнении с более старшей возрастной группой ($p = 0,02$). Уровень CD4+TILs ≥ 30 также оказался ассоциирован с более высоким уровнем экспрессии CD20 ($p = 0,002$) (табл. 4).

Обсуждение

Представленные данные согласуются с результатами исследований, где также показано влияние системного и локального иммунного ответа на клиническое течение заболевания, в т. ч. различия в зависимости от ВПЧ-статуса [16]. При этом у пожилых онкологических пациентов имеются существенные особенности иммунного ответа по сравнению с более молодыми больными [17–21].

Высокая экспрессия PD-L1 на опухолевых клетках, как фактор уклонения от иммунного надзора, более свойственны женщинам с ОФПКР ($p = 0,009$ и $p = 0,018$ соответственно). Это может быть связано с гендерными различиями иммунного ответа, где для реализации метастатического потенциала у женщин необходим

более широкий спектр иммунного редактирования опухоли [22–25].

По данным ряда авторов, ВПЧ-положительный ОФПКР представляет собой разнородную когорту, что связано с дополнительными факторами иммуносупрессии при ПРГШ. Исследования продемонстрировали, что лучший прогноз при ВПЧ-положительном ПРГШ был в значительной степени обусловлен опухоль-инфильтрирующими Т-лимфоцитами (TILs). Высокий уровень инфильтрации внутриопухолевыми и стромальными CD8⁺-Т-ЛФ связан с увеличением показателей выживаемости при ВПЧ-ассоциированном ОФПКР [26]. Однако показатели выживаемости больных с опухолями, ассоциированными с ВПЧ и низким уровнем TILs сопоставимы с ВПЧ-негативным раком [27, 28]. Также вероятно, что и наличие антител к ВПЧ является потенциальным диагностическим маркером ВПЧ-ассоциированного ПРГШ. В представленном исследовании в группе из 47 больных ВПЧ-положительным ОФПКР обнаружено, что более высокий уровень экспрессии CD20⁺В-ЛФ встречается у больных моложе 55 лет. Инфильтрация CD4⁺TILs ≥ 30 ассоциирована с более высоким уровнем инфильтрации CD20⁺ В-ЛФ. Изучение CD20⁺-В-лимфоцитов в микроокружении опухоли привело к пониманию их благоприятного влияния на прогноз многих опухолей. В-лимфоциты являются источником противоопухолевых антител, принимающих участие в реализации антителозависимой цитотоксичности, и служат антигенпрезентирующими клетками, активируя Т-лимфоциты. Однако регуляторные В-лимфоциты характеризуются иммуносупрессивными свойствами [29].

Заключение

Тип формирования микроокружения ОФПКР и степень иммунной супрессии различается в зависимости от пола, возраста, ассоциации с транскрипционно-активной ВПЧ-инфекцией

и влияет на клиническое течение заболевания. Для персонализации прогноза в терапии ОФПКР необходимо оптимизировать анализ клинических и морфологических данных, позволяющих стратифицировать пациентов по принципу этиопатогенеза развития заболевания.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Стукань А.И. — обзор публикаций по теме статьи, сбор данных для анализа, интерпретация результатов, написание текста;

Чухрай О.Ю., Максименко С.Д. — анализ гистологического материала.

ЛИТЕРАТУРА

- Martin L, Zoubir M, Le Tourneau C. Les récives des tumeurs des voies aérodigestives supérieures [Recurrence of upper aerodigestive tract tumors (In French)]. Bull Cancer. 2014;101(5):511–20. doi:10.1684/bdc.2014.1970.
- Wu T, Dai Y. Tumor microenvironment and therapeutic response. Cancer Lett. 2017;387:61–68. doi:10.1016/j.canlet.2016.01.043.
- Fang J, Li X, Ma D, et al. Prognostic significance of tumor infiltrating immune cells in oral squamous cell carcinoma. BMC Cancer. 2017;17(1):375. doi:10.1186/s12885-017-3317-2.
- Nguyen N, Bellile E, Thomas D, et al. Tumor infiltrating lymphocytes and survival in patients with head and neck squamous cell carcinoma. Head Neck. 2016;38(7):1074–84. doi:10.1002/hed.24406.
- Lewis JS, Beadle B, Bishop JA, et al. Human papillomavirus testing in head and neck carcinomas: guideline from the College of American Pathologists. Arch Pathol Lab Med. 2018;142(5):559–97. doi:10.5858/arpa.2017-0286-CP.
- Пхешхова Б.Г., Мудунов А.М., Азизян Р.И. и др. Оценка распространенности ВПЧ-положительного плоскоклеточного рака ротоглотки на примере отдельной выборки в Российской Федерации. Опухоли головы и шеи. 2022;12(1):72–78 [PKheshkhova BG, Mudunov AM, Azizyan RI, et al. Estimation of the prevalence of HPV-positive squamous cell carcinoma of the oropharynx on the example of a separate sample in the Russian Federation. Head and Neck Tumors (HNT). 2022;12(1):72–78 (In Russ.)]. doi:10.17650/2222-1468-2022-12-1-72-78.
- Stukan AI, Porkhanov VA, Bodnya VN. Clinical significance of P16-positive status and high index of proliferative activity in patients with oropharyngeal squamous cell carcinoma. Siberian journal of oncology. 2020;19(2):41–48. doi:10.21294/1814-4861-2020-19-2-41-48.
- Saltz J, Gupta R, Hou L, et al. Spatial organization and molecular correlation of tumor-infiltrating lymphocytes using deep learning on pathology images. Cell Rep. 2018;23(1):181–193.e7. doi:10.1016/j.celrep.2018.03.086.
- Faraji F, Fung N, Zaidi M, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte quantification stratifies early-stage human papillomavirus oropharynx cancer prognosis. Laryngoscope. 2020;130(4):930–938. doi:10.1002/lary.28044.
- Kemnade JO, Elhalawani H, Castro P. CD8 infiltration is associated with disease control and tobacco exposure in intermediate-risk oropharyngeal cancer. Sci Rep. 2020;10(1):243. doi:10.1038/s41598-019-57111-5.
- Ward MJ, Thirdborough SM, Mellows T, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes predict for outcome in HPV-positive oropharyngeal cancer. Br J Cancer. 2014;110(2):489–500. doi:10.1038/bjc.2013.639.
- Chen T-C, Wu C-T, Ko J-Y, et al. Clinical characteristics and treatment outcome of oropharyngeal squamous cell carcinoma in an endemic betel quid region. Sci Rep. 2020;10(1):526. doi:10.1038/s41598-019-57177-1.
- Yom SS, Torres-Saavedra P, Caudell JJ, et al. Reduced-dose radiation therapy for HPV-associated oropharyngeal carcinoma (NRG Oncology HN002). J Clin Oncol. 2021;39(9):956–65. doi:10.1200/JCO.20.03128.
- Facompre ND, Rajagopalan P, Sahu V, et al. Identifying predictors of HPV related head and neck squamous cell carcinoma progression and survival through patient-derived models. Int J Cancer. 2020;147(11):3236–49. doi:10.1002/ijc.33125.
- Hendry S, Salgado R, Gevaert T, et al. Assessing tumor-infiltrating lymphocytes in solid tumors: a practical review for pathologists and proposal for a standardized method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: part 2: TILs in melanoma, gastrointestinal tract carcinomas, non-small cell lung carcinoma and mesothelioma, endometrial and ovarian carcinomas, squamous cell carcinoma of the head and neck, genitourinary carcinomas, and primary brain tumours. Adv Anat Pathol. 2017;24:311–335. doi:10.1097/PAP.000000000000162.
- Стукань А.И., Мурашко Р.А., Цыган Н.А. и др. Адаптивный иммунный ответ в патогенезе и лечении плоскоклеточного рака головы и шеи: влияние факторов иммуносупрессии и гендерных особенностей. Опухоли головы и шеи 2022;12(3):114–26 [Stukan AI, Murashko RA, Tsygan NA, et al. Adaptive immune response in pathogenesis and treatment of head and neck squamous cell carcinoma: the influence of immunosuppression factors and gender. Head and Neck Tumors (HNT). 2022;12(3):114–26 (In Russ.)]. doi:10.17650/2222-1468-2022-12-3-114-126.
- Maggiore R, Zumsteg ZS, BrintzenhofeSzoc K, et al. The older adult with locoregionally advanced head and neck squamous cell carcinoma: knowledge gaps and future direction in assessment and treatment. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2017;98(4):868–83. doi:10.1016/j.ijrobp.2017.02.022.
- Bottazzi B, Riboli E, Mantovani A. Aging, inflammation and cancer. Seminars in Immunology. 2018;40:74–82. doi:10.1016/j.smim.2018.10.011.
- Saavedra D, Garcia B, Lage A. T cell subpopulations in healthy elderly and lung cancer patients: insights from Cuban studies. Front Immunol. 2017;8:146. doi:10.3389/fimmu.2017.00146.
- Saavedra D, Garcia B, Lorenzo-Luaces P, et al. Biomarkers related to immunosenescence: relationships with therapy and survival in lung cancer patients. Cancer Immunol Immunother. 2016;65(1):37–45. doi:10.1007/s00262-015-1773-6.
- Shang B, Liu Y, Jiang SJ, Liu Y. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis. Sci Rep. 2015;5:15179. doi:10.1038/srep15179.
- Ruggieri A, Malorni W, Ricciardi W. Gender disparity in response to anti-viral vaccines: new clues toward personalized vaccinology. Ital J Gender-Specific Med. 2016;2(3):93–8. doi:10.1723/2625.26991.

23. Conforti F, Pala L, Bagnardi V, et al. Sex-based heterogeneity in response to lung cancer immunotherapy: A systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2019;111(8):772–81. doi:10.1093/jnci/djz094.
24. Frasor J, Danes JM, Komm B, et al. Profiling of estrogen up-and down-regulated gene expression in human breast cancer cells: insights into gene networks and pathways underlying estrogenic control of proliferation and cell phenotype. *Endocrinology.* 2003;144(10):4562–74. doi:10.1210/en.2003-0567.
25. Tobillo R, De Joya E, Dooley S, et al. Female sex and increased immune marker mRNA gene expression are associated with decreased overall survival in patients with HPV-negative head and neck cancer. *Int J Rad Oncol Biol Phys.* 2021;111:(3S):e238–9. doi:10.1016/j.ijrobp.2021.07.810.
26. Wang H, Wang S, Tang Y-J, et al. The double-edged sword – how human papillomaviruses interact with immunity in head and neck cancer. *Front Immunol.* 2019;10:653. doi:10.3389/fimmu.2019.00653.
27. King EV, Ottensmeier CH, Thomas GJ. The immune response in HPV+ oropharyngeal cancer. *Oncoimmunology.* 2014;3(1):e27254. doi:10.4161/onci.27254.
28. Partlová S, Boucek J, Kloudová K, et al. Distinct patterns of intratumoral immune cell infiltrates in patients with HPV-associated compared to non-virally induced head and neck squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology* 2015;4(1):e965570. doi:10.4161/21624011.2014.965570.
29. Lechner A, Schläßer HA, Thelen M, et al. Tumor-associated B cells and humoral immune response in head and neck squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology.* 2019;8(3):1535293. doi:10.1080/2162402X.2018.1535293.

Поступила в редакцию 17.10.2022
 Прошла рецензирование 02.12.2022
 Принята в печать 16.02.2023

A.I. Stukan¹⁻³, O.Yu. Chukhray¹, S.D. Maksimenko¹

The role of etiopathogenesis in shaping local immune responses in squamous cell oropharyngeal cancer

¹Clinical Oncology Dispensary No. 1, Krasnodar, the Russian Federation

²Kuban State Medical University, Krasnodar, the Russian Federation

³N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology, St. Petersburg, the Russian Federation

Introduction: The research demonstrates that head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) frequently

exhibits an immunosuppressive microenvironment, despite immune cell infiltration into the tumor. This phenomenon significantly affects treatment outcomes and underscores the need to identify new prognostic markers and therapeutic targets.

Aim: To investigate the subpopulations of tumor-infiltrating lymphocytes in oropharyngeal squamous cell carcinoma (OPSCC) and the type of PD-L1 expression (CPS, TPS) with regard to both HPV status and gender.

Materials and Methods: From 2020 to June 2022, a research study was conducted by the Department of Oncology at Kuban State Medical University, located at Clinical Oncology Dispensary No. 1 in Krasnodar city. The study included 65 p16-negative (52 %) and 60 p16-positive (48 %) patients with OPSCC. The levels of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) were assessed in 86 patients. Immunohistochemical (IHC) analysis was conducted to examine the components of the tumor immune microenvironment for CD4, CD8, CD68, CD163, CD20 IHC markers, as well as PD-L1 and Ki-67 expression. Statistical analysis was performed using IBM SPSS Statistics V22 software.

Results: The research found that HPV-positive status was associated with palatine tonsil cancer ($p = 0.021$) and high levels of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) ($p = 0.007$), possibly due to Tregs, as there was a more significant association with CD4+ TILs ($p = 0.007$) than with CD8+ TILs ($p = 0.033$). In women, OPSCC was more often represented by tonsil cancer ($p < 0.001$), which was characterized by high values of CD4+ TILs ($p = 0.021$) and CD8+ TILs ($p = 0.035$), but a higher CD4/CD8 immunoregulatory index (IRI) ($p = 0.021$). TILs ≥ 50 % were associated with high levels of CD4+TILs and CD8+TILs ($p < 0.001$ and $p = 0.005$, respectively). Women also demonstrated a high level of PD-L1 expression on tumor cells using both the tumor proportion score (TPS) ($p = 0.009$) and the combined positive score (CPS) ($p = 0.018$). Tumors with CD4+TILs < 30 % revealed high values of CPS and TPS ($p = 0.001$, $p = 0.005$, respectively), as well as CD68 < 8.5 % ($p = 0.001$). N+ was associated with a high level of PD-L1 CPS. Patients under 55 revealed a higher level of the CD20+B-lymphocyte marker ($p = 0.02$). Expression of p53 ≥ 50 was associated with a lower level of CD20 expression ($p < 0.001$). The level of CD4+TILs ≥ 30 was associated with higher CD20 rates ($p = 0.002$).

Conclusion: The components of the tumor microenvironment in OPSCC and the degree of immunosuppression are dependent on the patient's p16 (HPV) status, gender, and age.

Keywords: oropharyngeal squamous cell carcinoma; p16; HPV-positive status; CD4+ T-lymphocytes; CD8+ T-lymphocytes; B-lymphocytes; PD-L1 expression

For citation: Stukan AI, Chukhray OYu, Maksimenko SD. The role of etiopathogenesis in shaping local immune responses in squamous cell oropharyngeal cancer. *Voprosy Onkologii.* 2023;69(2):300–307. doi: 10.37469/0507-3758-2023-69-2-300-307

Сведения об авторах

**Стукань Анастасия Игоревна*, канд. мед. наук, врач-онколог, координационный отдел лекарственного обеспечения, ГБУЗ КОД № 1» МЗ КК, 350040, Россия, г. Краснодар, Димитрова, 146; Ассистент кафедры онкологии с курсом торакальной хирургии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов, ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, 350063, Россия, г. Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4; ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России, Россия, 197758, Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0698-7710>, jolie86@bk.ru.

Чухрай Ольга Юрьевна, врач-патологоанатом, заведующая патологоанатомическим отделением ГБУЗ КОД № 1» МЗ КК, 350040, Россия, г. Краснодар, Димитрова, 146; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3041-520X>, lecabel@rambler.ru.

Максименко Софья Дмитриевна, врач-патологоанатом патологоанатомического отделения ГБУЗ КОД № 1» МЗ КК, 350040, Россия, г. Краснодар, Димитрова, 146; ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2515-9125>, sofya.maksimenko.23@gmail.com.

**Stukan Anastasia Igorevna*, MD, PhD, Oncologist, Drug Supply Coordination Department, Clinical Oncology Dispensary No. 1, 146 Dimitrova st., Krasnodar, Russia, 350040; Asst. Prof., Department of Oncology with the Course of Thoracic Surgery, Faculty of Advanced Training and Professional Retraining of Specialists, Kuban State Medical University, 4 Mitrofana Sedina st., Krasnodar 350063, Russia; N.N. Petrov National Medicine Research Center of Oncology, 68 Leningradskaya St., Pesochnyy, St. Petersburg, Russia, 197758, jolie@mail.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0698-7710>.

Chukhhray Olga Yurevna, MD, Pathologist, Head of Department of Pathology, Clinical Oncology Dispensary No. 1, 146 Dimitrova st., Krasnodar, Russia, 350040, lecabel@rambler.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3041-520X>.

Maksimenko Sofia Dmitrievna, MD, Pathologist, Department of Pathology, Clinical Oncology Dispensary No. 1, 146 Dimitrova st., Krasnodar, Russia, 350040, sofya.maksimenko.23@gmail.com, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2515-9125>.