

А.А. Савченко¹, А.Г. Борисов¹, И.В. Кудрявцев^{2,3}, А.В. Мошев¹

Взаимосвязь количества Т-регуляторных клеток с уровнями содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток у больных раком почки

¹ФГБНУ «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск;

²ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург;

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

Целью исследования явилось изучение особенностей зависимости количества и фенотипа цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток от содержания Т-регуляторных клеток в крови у больных раком почки. Обследованы больные раком почки (Т3N0M0, светлоклеточный тип) в возрасте 40-55 лет до хирургического лечения. Иммунофенотипирование лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии. Установлено, что в периферической крови у больных раком почки на фоне повышения относительного содержания Т-регуляторных клеток наблюдается снижение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и увеличение уровня НКТ-клеток. Предполагается, что отсутствие изменений в количестве активированных Т-регуляторных и цитотоксических Т-лимфоцитов определяется миграцией клеток из крови. Повышение количества НКТ-клеток при раке почки определяется увеличением эффекторных и активированных клеток, но при снижении уровня регуляторной субпопуляции. У здоровых людей содержание Т-регуляторных клеток слабо взаимосвязано с эффекторными субпопуляциями Т-лимфоцитов. У больных раком почек количество активированных Т-регуляторных клеток тесно взаимосвязано с различными фракциями НКТ-лимфоцитов. Причем, если с регуляторной и зрелой субпопуляцией НКТ-клеток выявляются отрицательные связи, то с НКТ-клетками, экспрессирующими маркеры CD28 и CD57, – положительные, что характеризует сонаправленную динамику уровней активированных регуляторных и эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов на фоне опухолевого роста. С помощью канонического анализа доказано, что наибольшей значимостью у больных раком почек обладают активированные Т-регуляторные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты и НКТ-клетки.

Ключевые слова: рак почки, Т-регуляторные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты, НКТ-клетки, субпопуляции, взаимосвязь

Т-регуляторные клетки (Tregs) представляют собой отдельную фракцию CD4⁺ Т-лимфоцитов, конститутивно экспрессирующих α -субъединицу рецептора интерлейкина-2 (CD25) [3,8]. Установлено, что при активации Tregs не пролиферируют и не продуцируют IL-2, но приобретают способность подавлять пролиферацию Т-лимфоцитов и синтез ими цитокинов. Доказана супрессирующая роль Tregs в системе противоопухолевого иммунитета, которая также реализуется преимущественно через ингибирование функции цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ) [1,5,13].

Значительный интерес в рамках развития противоопухолевого иммунитета вызывают НКТ-клетки. Данную популяцию лимфоцитов относят к клеткам врожденного иммунитета, они представляют собой минорную популяцию Т-лимфоцитов, которая благодаря своей аутореактивности и способности быстро продуцировать различные цитокины, обеспечивает 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 [2,6]. Доказано, что НКТ-клетки помимо цитотоксической функции выполняют роль основного источника цитокинов (в первую очередь, IFN γ) на начальных этапах развития иммунного ответа [9,20].

Супрессорная активность Tregs на эффекторы противоопухолевого иммунитета реализуется тремя механизмами: прямой контакт активированными эффекторными клетками, секреция ингибирующих цитокинов (трансформирующий ростовой фактор- β и интерлейкин-10) и цитолитическая активность [3,19]. Т-регуляторные клетки могут снижать эффективность проявления функциональной активности эффекторных Т-лимфоцитов: синтез и секреция цитокинов, экспрессия активационных, адгезионных и хемокиновых рецепторов, цитолитическое действие на клетки-мишени [1,20]. В целом, особенности взаимодействия Tregs с эффекторными клетками определяет активность противоопухолевого иммунитета, а

также эффективность терапии и, соответственно, исход заболевания.

Целью исследования явилось изучение особенностей зависимости количества и фенотипа цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток от содержания Tregs в крови у больных раком почки.

Материалы 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=92). 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 (пятицветная иммунофлуоресценция) цельной периферической крови с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, USA), меченых FITC (fluorescein isothiocyanate), PE (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующих панелях: CD62L-FITC/CD127-PE/CD3-ECD/CD25-PC5/CD4-PC7, CD16-FITC/CD56-PE/CD8-ECD/CD3-PC5/CD11b-PC7, CD57-FITC/CD28-PE/CD3-ECD/CD16+56-PC5/CD45-PC7. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [4]. Подготовку образцов периферической крови для анализа осуществляли по стандартной методике [7]. Лизис эритроцитов проводили по безотмывочной технологии с использованием реагента VersaLyse (Beckman Coulter, США). Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, USA) [14]. В каждой пробе анализировали не менее 50000 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. Для оценки комплексной взаимосвязи уровней Т-регуляторных клеток с количеством цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток использовали канонический анализ с подсчетом коэффициента канонической корреляции (R) и канонических весов коррелируемых параметров. Статистическая значимость коэффициента канонической корреляции оценивалась по χ^2 . Статистический анализ осуществляли в пакете программ Statistica 7.0 (StatSoft Inc. 2004).

Результаты и обсуждение

При исследовании содержания Tregs и эффекторных фракций Т-лимфоцитов обнаружено, что в периферической крови больных ра-

ком почки повышено относительное количество CD3⁺CD4⁺CD25^{High}CD127^{Low}-клеток (табл. 1). У обследованных пациентов снижено абсолютное и относительное содержание CD3⁺CD8⁺-лимфоцитов.

Значительные изменения при раке почки обнаружены в фенотипическом составе НКТ-клеток (см. табл. 1). Так, на фоне повышения абсолютного количества CD3⁺CD16/56⁺-лимфоцитов увеличивается процентное содержание клеток с данным фенотипом, а также CD3⁺CD16/56⁺CD28⁻, CD3⁺CD16/56⁺CD57⁻ и CD3⁺CD56⁺CD16⁺-клеток. При этом у больных лиц в крови снижается относительный уровень CD3⁺CD56⁺CD16⁻ и CD3⁺CD56⁺CD16⁻-лимфоцитов.

Анализируя количественные изменения при раке почек, можно заключить, что в периферической крови больных повышается содержание Т-регуляторных клеток с фенотипом CD3⁺CD4⁺CD25^{High}CD127^{Low}. Однако уровень Tregs с экспрессией CD62L остается неизменным относительно контрольных значений. CD62L является мембранным гликопротеином, принадлежащим к семейству L-селектинов, который экспрессируется на широком спектре клеток иммунной системы [5,18,21]. Рецептор обеспечивает слабые межклеточные взаимодействия, благодаря которым движение клеток вдоль сосудистой стенки замедляется и происходит их миграция из сосудистого русла. Можно предположить, что регуляторные клетки, экспрессирующие CD62L, мигрируют из крови в лимфоидную ткань, что и приводит к стабилизации количества активированных Tregs в крови на контрольном уровне.

В крови больных раком почки снижается процентное и абсолютное количество цитотоксических Т-лимфоцитов с фенотипом CD3⁺CD8⁺. Содержание цитотоксических клеток, экспрессирующих CD11b, остается на уровне контрольного диапазона. Молекула CD11b представляет собой α М цепь интегрина Mac-1, которая повышает миграционный и эффекторный потенциал цитотоксических клеток [6,12].

При исследовании фенотипического состава НКТ-клеток обнаружено, что у больных раком почки повышено абсолютное и процентное содержание общих НКТ-клеток и НКТ-клеток, экспрессирующих молекулы маркеров CD28 и CD57. CD28 – мембранный белок, участвующий в костимуляции необходимой для активации лимфоцитов. Доказано, что стимуляция клеток через CD28 в дополнении к стимуляции Т-клеточного рецептора обеспечивает сильный костимулирующий сигнал, приводящий к выработке различных цитокинов, активации и запуску пролиферации клона антиген-специфических Т-клеток [10,16,17]. Рецептор CD57

обеспечивает клеточную миграцию посредством выполнения контактов клетка-клетка и клетка-матрикс. Доказано, что лимфоциты, экспрессирующие на своей мембране CD57, не способны входить в пролиферативный цикл даже под влиянием сильнейших стимуляторов, эта молекула является маркером зрелости клона. Кроме того, экспрессия CD57 на поверхности цитотоксических клеток связана со способностью этих клеток накапливать в составе цитоплазматических гранул перфорин и гранзимы [5,11,15].

Исследование субпопуляционного состава НКТ-клеток позволило установить, что у больных раком почки снижено содержание зрелых ($CD3^+CD56^+CD16^+$) и регуляторных фракций ($CD3^+CD56^+CD16^-$) НКТ-клеток, но при повышении количества эффекторной субпопуляции ($CD3^+CD56^+CD16^+$).

С помощью корреляционного анализа исследованы особенности взаимосвязи количества Т-регуляторных клеток с уровнем цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток. Обнаружено, что у лиц контрольной группы выявляется единственная корреляционная связь – между относительным уровнем $CD3^+CD4^+CD25^{High}CD127^{Low}$ -клеток и процентным количеством $CD3^+CD16/56^+$ -лимфоцитов ($r=-0,32$, $p=0,015$). В то же время у больных раком почек выявляются взаимосвязи только между количеством активированных Tregs и содержанием НКТ-клеток. Так, относительный уровень $CD3^+CD4^+CD25^{High}CD127^{Low}CD62L^+$ -клеток отрицательно коррелирует с процентным количеством $CD3^+CD56^+CD16^+$ ($r=-0,28$, $p=0,007$) и $CD3^+CD56^+CD16^-$ -лимфоцитов ($r=-0,23$, $p=0,026$), а также положительно с $CD3^+CD16/56^+CD28^+$ ($r=0,24$, $p=0,023$) и $CD3^+CD16/56^+CD57^+$ -клеток ($r=0,21$, $p=0,047$).

С помощью канонического анализа исследованы особенности комплексной взаимосвязи уровней Т-регуляторных клеток с количеством цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток. Выбор канонического анализа связан с тем, что данный метод позволяет оценить взаимосвязь двух наборов показателей с определением значимости вклада каждого параметра в каноническую корреляцию, выраженную в каноническом весе. Установлено, что все канонические корреляции Tregs с фенотипическим составом цитотоксических Т-лимфоцитов и НКТ-клеток являются статистически значимыми и с характерным распределением весов по исследуемым показателям у лиц контрольной группы и больных раком почек (табл. 2 и 3). Так, если у лиц контрольной группы Tregs вносят отрицательный вклад в каноническую корреляцию с количеством цитотоксических Т-клеток, а активированные Tregs – положительный, то у больных раком почек обе

фракции Tregs вносят отрицательный вклад (см. табл. 2). При этом в обеих обследуемых группах вес цитотоксических Т-лимфоцитов в системе канонической корреляции является положительным, тогда как активированных клеток – отрицательный. У лиц контрольной группы Tregs с фенотипом $CD3^+CD4^+CD25^{High}CD127^{Low}$ вносят большой вклад (по величине весов) в каноническую корреляцию, тогда как цитотоксические Т-лимфоциты – практически равный. У больных раком почки наибольший вклад в данную каноническую корреляцию вносят активированные Tregs и более выраженное – активированные цитотоксические Т-лимфоциты.

Аналогичный вклад Tregs с фенотипом $CD3^+CD4^+CD25^{High}CD127^{Low}$ вносят в каноническую корреляцию с фракциями НКТ-клеток: у лиц контрольной группы – положительный вклад, у больных раком почки – отрицательный (см. табл. 3). У лиц контрольной группы и больных раком почки значительно различается вклад НКТ-клеток в данную каноническую взаимосвязь. Так, если у лиц контрольной группы активированные НКТ-клетки вносят отрицательный вклад в каноническую корреляцию с Т-регуляторными клетками, то у больных раком почки – положительный. Зрелые и регуляторные НКТ-клетки у лиц контрольной группы также вносят отрицательный вклад в указанную каноническую корреляцию, у больных раком почки – положительный. У лиц контрольной группы обе фракции Т-регуляторных клеток вносят равный вклад (по величине весов) в каноническую корреляцию с НКТ-клетками, с другой стороны – максимальные значения весов выявляются у регуляторных ($CD3^+CD56^+CD16^-$), активированных клеток (с экспрессией CD28 и CD57) и общей фракции ($CD3^+CD16/56^+$) НКТ-клеток. У больных раком почки наибольший вклад в каноническую корреляцию вносят активированные Tregs с одной стороны, а с другой – только НКТ-клетки с фенотипом $CD3^+CD16/56^+CD28^+$.

Исходя из результатов корреляционного и канонического анализа, можно сделать следующие заключения. Взаимосвязь уровней Т-регуляторных клеток с количеством НКТ-клеток более выражена, чем с содержанием цитотоксических Т-лимфоцитов. Корреляционные связи между Т-регуляторными клетками и цитотоксическими Т-лимфоцитами отсутствуют как у здоровых людей, так и у больных раком почки. Вес Т-регуляторных клеток в канонической корреляции с цитотоксическими Т-лимфоцитами значительно ниже и сама каноническая корреляция слабее, чем с НКТ-клетками (также в обеих обследуемых группах). Кроме того, если у здоровых людей с содержанием НКТ-клеток взаимосвязан уровень Tregs с фенотипом

Таблица 1. Количество Т-регуляторных, цитотоксических Т- и NKT-клеток у больных раком почки (Me, Q₁ - Q₃)

Показатели	Контроль n=78		Больные раком почки n=92		p
	Me	Q ₁ - Q ₃	Me	Q ₁ - Q ₃	
Т-регуляторные клетки					
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,83	0,57 - 1,16	0,82	0,60 - 1,00	
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{High} CD127 ^{Low} , %	5,4	4,0 - 6,8	6,3	4,3 - 8,3	0,048
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{High} CD127 ^{Low} CD62L ⁺ , %	3,8	2,9 - 4,8	4,2	2,6 - 7,3	
Цитотоксические Т-лимфоциты					
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,55	0,38 - 0,80	0,40	0,31 - 0,53	<0,001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	27,0	21,6 - 32,0	20,8	16,3 - 27,5	<0,001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD11b ⁺ , %	23,4	17,7 - 28,1	24,6	19,3 - 37,7	
NKT-клетки					
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , 10 ⁹ /л	0,046	0,018 - 0,101	0,072	0,019 - 0,120	0,049
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , %	2,6	0,8 - 5,4	4,1	1,5 - 6,4	0,026
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ CD28 ⁺ , %	1,5	0,8 - 3,2	2,8	0,9 - 5,6	0,021
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ CD57 ⁺ , %	1,3	0,6 - 2,3	2,2	0,8 - 5,8	0,012
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	3,7	2,1 - 5,7	2,7	1,1 - 4,7	0,022
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	4,1	2,8 - 5,3	5,4	2,5 - 9,6	0,039
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ , %	10,3	7,5 - 15,2	8,0	3,4 - 15,3	0,017

Таблица 2. Каноническая корреляция между количеством Т-регуляторных клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов в контроле и у больных раком почки

Показатели	Веса показателей	
	Контроль, n=78	Рак почки, n=92
Слева		
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{High} CD127 ^{Low} , %	-1,925	-0,053
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{High} CD127 ^{Low} CD62L ⁺ , %	1,093	-0,980
Справа		
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	1,799	0,617
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD11b ⁺ , %	-1,921	-0,932
Показатели канонической корреляции		
Каноническая R	0,46	0,83
c ²	12,146	56,441
p	0,016	<0,001

Таблица 3. Каноническая корреляция между количеством Т-регуляторных клеток и NKT-лимфоцитов в контроле и у больных раком почки

Показатели	Веса показателей	
	Контроль, n=78	Рак почки, n=92
Слева		
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{High} CD127 ^{Low} , %	2,612	-0,024
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{High} CD127 ^{Low} CD62L ⁺ , %	-2,621	-0,991
Справа		
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ , %	0,708	0,146
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ CD28 ⁺ , %	-0,809	1,137
CD3 ⁺ CD16/56 ⁺ CD57 ⁺ , %	-0,829	0,130
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	-0,008	0,035
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁺ , %	-0,006	-0,038
CD3 ⁺ CD56 ⁺ CD16 ⁻ , %	-1,454	0,259
Показатели канонической корреляции		
Каноническая R	0,70	0,96
c ²	33,698	215,924
p	0,002	<0,001

CD3⁺CD4⁺CD25^{High}CD127^{Low}, то при раке почек с данной популяцией эффекторных клеток коррелируют только активированные Tregs, причем с активированными НКТ-клетками (с экспрессией CD28- и CD57-молекул) выявляется положительные корреляционные связи. Результаты канонического анализа также показывают, что у больных раком почек наибольший вес имеют активированные регуляторные и эффекторные Т-лимфоциты: активированные Tregs в обеих канонических корреляциях, активированные цитотоксические Т-лимфоциты и НКТ-клетки, экспрессирующие CD28.

Таким образом, в периферической крови у больных раком почки на фоне повышения количества Т-регуляторных клеток наблюдается снижение содержания цитотоксических Т-лимфоцитов и увеличивается уровень НКТ-клеток. Предполагается, что отсутствие изменений в количестве активированных Т-регуляторных и цитотоксических Т-лимфоцитов определяется миграцией клеток. Повышение количества НКТ-клеток при раке почки определяется увеличением эффекторных и активированных клеток, но при снижении уровня регуляторных популяций. С помощью корреляционного анализа установлено, что у здоровых людей содержание Т-регуляторных клеток слабо взаимосвязано с эффекторными субпопуляциями Т-лимфоцитов. В то же время, у больных раком почек количество активированных Т-регуляторных клеток тесно взаимосвязано с различными фракциями НКТ-лимфоцитов. Причем, если с регуляторной и зрелой субпопуляцией НКТ-клеток выявляются отрицательные связи, то с НКТ-клетками, экспрессирующими маркеры CD28 и CD57, – положительные, что характеризует сонаправленную динамику уровней активированных регуляторных и эффекторных субпопуляций Т-лимфоцитов на фоне опухолевого роста. Аналогичные результаты получены с помощью канонического анализа. Доказано, что наибольшей значимостью в канонических корреляциях у больных раком почек обладают активированные Т-регуляторные клетки, цитотоксические Т-лимфоциты и НКТ-клетки. Выявленные особенности взаимосвязи Т-регуляторных клеток с цитотоксическими Т-лимфоцитами и НКТ-клетками характеризуют иммунопатогенез рака почек и могут быть использованы при разработке иммунотерапевтических методов, направленных на стимуляцию противоопухолевой активности иммунной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Жулай Г.А., Олейник Е.К. Регуляторные Т-клетки и канцерогенез // Иммунология. – 2013. – № 1. – С. 61-64.
2. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. НКТ-клетки и противоопухолевый иммунитет // Российский биотерапевтический журнал. – 2011. – Т. 10. – № 3. – С. 9-15.
3. Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Славина Е.Г. Регуляторные Т-клетки и их роль в противоопухолевом иммунном ответе // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55. – № 3. – С. 269-277.
4. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шестичетного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология. – 2015. – Т. 17. – № 1. – С.19-26.
5. Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В., Мошев А.В. Роль Т- и В-клеточного иммунитета в патогенезе онкологических заболеваний // Вопросы онкологии. – 2015. – Т. 61. – № 6. – С. 867-875.
6. Савченко А.А., Модестов А.А., Мошев А.В. и др. Цитометрический анализ NK- и НКТ-клеток у больных почечноклеточным раком // Российский иммунологический журнал. – 2014. – Т. 8 (17). – № 4. – С. 1012-1018.
7. Хайдуков С.В., Байдун Л.А., Зурочка А.В., Тотолян Арег А. Стандартизованная технология «Исследование субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови с применением проточных цитофлуориметров-анализаторов» (Проект) // Медицинская иммунология. – 2012. – Т. 14. – № 3. – С. 255-268.
8. Banerjee A., Vasanthakumar A., Grigoriadis G. Modulating T regulatory cells in cancer: how close are we? // Immunol. Cell Biol. – 2013. – Vol. 91. – P. 340-349.
9. Emoto M., Yoshida T., Fukuda T. et al. Alpha-galactosylceramide promotes killing of *Listeria monocytogenes* within the macrophage phagosome through invariant NKT-cell activation // Infect. Immun. – 2010. – Vol. 78. – P. 2667-2676.
10. Esensten J.H., Helou Y.A., Chopra G. et al. CD28 Costimulation: From Mechanism to Therapy // Immunity. – 2016. – Vol. 44. – № 5. – P. 973-988.
11. Kared H., Martelli S., Ng T.P. et al. CD57 in human natural killer cells and T-lymphocytes // Cancer Immunol. Immunother. – 2016. – Vol. 65. – № 4. – P. 441-452.
12. Lin D., Lei L., Zhang Y. et al. Secreted IL-1 promotes T-cell activation and expansion of CD11b(+) Gr1(+) cells in carbon tetrachloride-induced liver injury in mice // Eur. J. Immunol. – 2015. – Vol. 45. – № 7. – P. 2084-2098.
13. Liu S., Sun X., Luo J. et al. Effects of radiation on T regulatory cells in normal states and cancer: mechanisms and clinical implications // Am. J. Cancer Res. – 2015. – Vol. 15. – P. 3276-3285.
14. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project // Nat. Rev. Immunol. – 2012. – Vol. 12. – P. 191-200.
15. Onyema O.O., Njemini R., Forti L.N. et al. Aging-associated subpopulations of human CD8+ T-lymphocytes identified by their CD28 and CD57 phenotypes // Arch. Gerontol. Geriatr. – 2015. – Vol. 61. – № 3. – P. 494-502.
16. Porciello N., Tuosto L. CD28 costimulatory signals in T lymphocyte activation: Emerging functions beyond a qualitative and quantitative support to TCR signaling // Cytokine Growth Factor Rev. – 2016. – Vol. 28. – P. 11-19.
17. Schildberg F.A., Klein S.R., Freeman G.J., Sharpe A.H. Coinhibitory Pathways in the B7-CD28 Ligand-Receptor Family // Immunity. – 2016. – Vol. 44. – № 5. – P. 955-972.
18. Schlub T.E., Badovinac V.P., Sabel J.T. et al. Predicting CD62L expression during the CD8+ T-cell response in

- vivo // Immunol. Cell Biol. – 2010. – Vol. 88. – № 2. – P. 157-164.
19. Tselios K., Sarantopoulos A., Gkougkourelas I., Boura P. T regulatory cells: a promising new target in atherosclerosis // Crit. Rev. Immunol. – 2014. – Vol. 34. – P. 389-397.
 20. Wang H., Feng D., Park O. Et al. Invariant NKT cell activation induces neutrophil accumulation and hepatitis: opposite regulation by IL-4 and IFN- γ // Hepatology. – 2013. – Vol. 58. – P. 1474-1485.
 21. Yang S., Liu F., Wang Q.J. et al. The Shedding of CD62L (L-Selectin) Regulates the Acquisition of Lytic Activity in Human Tumor Reactive T Lymphocytes // PloS ONE. – 2011. – Vol. 6. – E22560.

Поступила в редакцию 18.07.2016 г.

*A.A.Savchenko¹, A.G.Borisov¹, I.V.Kudryavtsev^{2,3},
A.V.Moshev¹*

Relationship of the T-regulatory cells number with the cytotoxic T-lymphocytes and NKT-cells levels in patients with renal cancer

¹Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk;

²Institute of Experimental Medicine, St.Petersburg;

³N.N.Petrov Research Institute of Oncology, St.Petersburg

The aim of the study was to investigate the features of the relation to the number and the phenotype of the cytotoxic T-lymphocytes and NKT-cell from regulatory T-cells content in the blood by patients with renal cell carcinoma. The study included patients with renal cell carcinoma (T3N0M0, clear cell type) at the age of 40-55 years before surgery. Lymphocyte immunophenotyping was performed by flow cytometry. It is found that in the peripheral blood of the patients with renal cell carcinoma accompanied by increased number of T-regulatory cells observed decrease content of the cytotoxic T-lymphocytes and increased levels of the NKT-cells. It is assumed that no change in the number of activated T-regulatory cells and cytotoxic T-lymphocyte determined migration from the blood. Increasing the amount of the NKT-cells in renal cancer is determined by the increase of activated and effector cells but at lower levels of the regulatory subpopulation. The content of the T-regulatory cells in healthy people weakly correlated with the effector subpopulations of T-lymphocytes. In patients with renal cancer the number of the activated T-regulatory cells is closely correlated with the various NKT-lymphocytes fractions. Moreover, if the mature and regulatory NKT-cells subset detected negative relations, so with the NKT-cells expressing CD28 and CD57 markers found positive correlations that characterizes the codirectional dynamics the activated of the regulatory and effector T-lymphocyte subpopulations levels in the background of tumor growth. A canonical analysis demonstrated that the highest significance kidney cancer patients have activated regulatory T-cells, cytotoxic T cells and NKT-cells. A canonical analysis demonstrated that the highest significance by renal cancer patients have activated regulatory T-cells, cytotoxic T-cells and NKT-cells.

Key words: renal cancer, T-regulatory cells, cytotoxic T-cells, NKT-cells, subset, relationship