

ЛИМФОИДНЫЕ ОПУХОЛИ

LYMPHOID TUMORS

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2024-17-3-266-272>

<https://doi.org/10.21320/2500-2139-2024-17-3-266-272>

Прогностическое значение цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов реактивного микроокружения опухоли при диффузной В-крупноклеточной лимфоме

The Prognostic Value of Cytotoxic CD8-Positive T-Lymphocytes of the Reactive Tumor Microenvironment in Diffuse Large B-Cell Lymphoma

Е.В. Ванеева^{ID}, В.А. Росин^{ID}, Д.А. Дьяконов^{ID}, Н.В. Глубоковских^{ID}

E.V. Vaneeva^{ID}, V.A. Rosin^{ID}, D.A. Dyakonov^{ID}, N.V. Glubkovskikh^{ID}

ФГБУН «Кировский НИИ гематологии и переливания крови ФМБА», ул. Красноармейская, д. 72, Киров, Российская Федерация, 610027

Kirov Research Institute of Hematology and Transfusiology, 72 Krasnoarmeiskaya ul., Kirov, Russian Federation, 610027

РЕФЕРАТ

ABSTRACT

ЦЕЛЬ. Оценить прогностическое значение цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли при диффузной В-крупноклеточной лимфоме (ДВКЛ).

AIM. To assess the prognostic value of cytotoxic CD8-positive T-lymphocytes of the reactive tumor microenvironment in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследование включено 124 пациента с впервые диагностированной ДВКЛ. Все больные получали стандартную иммунохимиотерапию первой линии по схеме R-CHOP. С помощью иммуногистохимического и морфометрического методов определяли относительное количество CD8-позитивных Т-лимфоцитов в биоптатах лимфатических узлов или другой опухолевой ткани. Оценивалось 20 полей зрения в каждом образце биоптата с подсчетом среднего относительного числа CD8-позитивных Т-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли. Подсчет Т-клеток осуществлялся методом двойного слепого анализа. Больные были в возрасте 23–80 лет (медиана 59 лет); женщин было 62, мужчин — 62.

MATERIALS & METHODS. The study enrolled 124 patients with newly diagnosed DLBCL. All patients received the standard R-CHOP first-line immunochemotherapy. Immunohistochemistry and morphometry were used to assess the relative count of CD8-positive T-lymphocytes in the biopsy samples of lymph nodes or other tumor tissues. In each biopsy sample, 20 fields of view were analyzed to assess the mean relative count of CD8-positive T-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment. T-cells were counted by double-blind technique. Patients were aged 23–80 years (median 59 years); there were 62 women and 62 men.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Показатель порогового значения числа CD8-позитивных Т-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли, вычисленного методом ROC-анализа, составил 13 %. Подпороговое значение относительного количества цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов ($\leq 13\%$) ассоциировалось с наличием у больных ДВКЛ экстранодальных поражений, а также с отсутствием полного ответа на терапию первой линии по схеме R-CHOP и худшими показателями выживаемости.

RESULTS. Obtained by ROC-analysis, the threshold value of the CD8-positive T-lymphocyte count in the reactive tumor microenvironment was 13 %. The subthreshold relative count of cytotoxic CD8-positive T-lymphocytes ($\leq 13\%$) was associated with extranodal lesions in DLBCL patients as well as with the lack of complete response to the R-CHOP first-line therapy and worse progression-free (PFS) and overall survival (OS) rates. In the group with the above-threshold ($> 13\%$) count of CD8-positive T-lymphocyte, the 5-year PFS was 60 % (median not reached), in the group with the subthreshold count it was 45.3 % (median 39 months; $p = 0.036$); the 5-year OS was 78.3 % (median not reached) and 45.3 %

сти без прогрессирования (ВБП) и общей выживаемости (ОВ). 5-летняя ВБП в группе с надпороговым (> 13 %) содержанием CD8-позитивных Т-лимфоцитов составила 60 % (медиана не достигнута), с подпороговым — 45,3 % (медиана 39 мес.; $p = 0,036$); 5-летняя ОВ — 78,3 (медиана не достигнута) и 45,3 % (медиана 40 мес.) в группах с надпороговым и подпороговым уровнями Т-клеток CD8+ соответственно ($p = 0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Полученные в настоящем исследовании результаты указывают на необходимость оценки количества цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов в реактивном микроокружении опухоли у пациентов с ДВКЛ еще на этапе верификации диагноза. Не исключено, что такой подход позволит клиницистам более достоверно прогнозировать течение ДВКЛ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: диффузная В-крупноклеточная лимфома, реактивное микроокружение опухоли, Т-лимфоциты, CD8, прогноз.

Получено: 30 октября 2023 г.

Принято в печать: 1 мая 2024 г.

Для переписки: Елена Викторовна Ванеева, канд. биол. наук, ул. Красноармейская, д. 72, Киров, Российская Федерация, 610027; тел.: +7(922)975-23-34; e-mail: vaneeva@niigpk.ru, vaneeva.elena.vic@mail.ru

Для цитирования: Ванеева Е.В., Росин В.А., Дьяконов Д.А., Глубоковских Н.В. Прогностическое значение цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов реактивного микроокружения опухоли при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. Клиническая онкогематология. 2024;17(3):266–72. doi: 10.21320/2500-2139-2024-17-3-266-272.

(median 40 months) in the groups with the above- and sub-threshold CD8+ T-cell counts, respectively ($p = 0.001$).

CONCLUSION. The results of the present study clearly indicate the need to assess the count of cytotoxic CD8-positive T-lymphocytes of the reactive tumor microenvironment in DLBCL patients as early as on diagnosis verification. It is likely that this approach will allow clinicians to more accurately predict the course of DLBCL.

KEYWORDS: diffuse large B-cell lymphoma, reactive tumor microenvironment, T-lymphocytes, CD8, prognosis.

Received: October 30, 2023

Accepted: May 1, 2024

For correspondence: Elena Viktorovna Vaneeva, PhD in Biology, 72 Krasnoarmeiskaya ul., Kirov, Russian Federation, 610027; Tel.: +7(922)975-23-34; e-mail: vaneeva@niigpk.ru, vaneeva.elena.vic@mail.ru

For citation: Vaneeva E.V., Rosin V.A., Dyakonov D.A., Glubokovskikh N.V. The Prognostic Value of Cytotoxic CD8-Positive T-Lymphocytes of the Reactive Tumor Microenvironment in Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Clinical oncohematology. 2024;17(3):266–72. doi: 10.21320/2500-2139-2024-17-3-266-272. (In Russ).

ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) представляет собой агрессивную опухоль со множеством подтипов, отличающихся разнообразием клинических проявлений, морфологической картины и молекулярно-генетических характеристик. Заболевание является наиболее распространенным среди всех неходжкинских лимфом и составляет около 30–40 % [1, 2]. Стандартная иммунохимиотерапия (R-CHOP) эффективна у значительной части больных, однако в 30 % случаев отмечается резистентность к лечению и/или развиваются рецидивы [3, 4]. Прежде всего это связывают с биологической гетерогенностью ДВКЛ. С помощью молекулярно-генетических методов выявлены основные подтипы опухоли (GCB, ABC/non-GCB), отражающие разные этапы В-клеточной дифференцировки, активацию различных сигнальных путей, неодинаковый прогноз течения болезни [3, 5]. В последующем при секвенировании генома удалось разработать алгоритм, позволяющий идентифицировать еще шесть генетических подтипов (*TP53^{mut}*, *MCD*, *BN2*, *N1*, *EZB* и *ST2*) ДВКЛ [6]. В клинической практике для стратификации пациентов на группы риска используется международный прог-

ностический индекс (МПИ). Однако многие авторы отмечают, что чувствительность МПИ невысока, т. к. он базируется главным образом на клинических характеристиках пациентов и не учитывает патогенез заболевания [7].

При прогрессировании заболевания клетки опухоли приобретают уникальный фенотип, способствующий их неограниченной пролиферации, отсутствию чувствительности к регуляторным сигналам, активации ангиогенеза. Происходят изменения во взаимодействии опухоли с ее реактивным микроокружением. При этом важным аспектом является способность неопластических клеток уклоняться от надзора иммунной системы [8].

Реактивное микроокружение при ДВКЛ представлено иммунными клетками (Т-лимфоцитами, макрофагами, естественными киллерами), стромой, кровеносными сосудами и внеклеточным матриксом [9]. Т-лимфоциты занимают особое место в иммунной системе и имеют решающее значение в развитии клеточного иммунитета. Основные морфологически и функционально различающиеся подтипы представлены Т-хелперами (CD3+/CD4+), цитотоксическими Т-лимфоцитами (CD3+/CD8+), НКТ-клетками (CD3+/CD56+/CD16+) и регуляторными Т-клетками (CD3+/CD4+/CD25+/FoxP3+). Цитотоксические лимфоциты

Таблица 1. Характеристика больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой ($n = 124$)

Показатель	Число пациентов, n (%)
Возраст	
< 60 лет	58 (47)
≥ 60 лет	66 (53)
В-симптомы	
Нет	50 (40)
Есть	74 (60)
Стадия по Ann Arbor	
I–II	50 (40)
III–IV	74 (60)
Экстранодальные поражения	
Нет	61 (49)
Есть	63 (51)
Концентрация ЛДГ	
Норма	39 (31)
Выше нормы	85 (69)
Ответ на терапию	
Полный	70 (56)
Частичный/рецидив/рефрактерность	54 (44)
МПИ	
≤ 2 баллов	62 (50)
> 2 баллов	62 (50)
ИГХ-подтип ДВКЛ (алгоритм С.Р. Hans)	
GCB	45 (36)
non-GCB	79 (64)
Статус пациента ко времени анализа	
Остается под наблюдением	76 (61)
Летальный исход	48 (39)

ДВКЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома; ИГХ — иммуногистохимический; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; МПИ — международный прогностический индекс.

являются основными эффекторными Т-клетками, функциональная активность которых поддерживается только в паре с главным комплексом гистосовместимости (МНС) I класса через уникальный Т-клеточный рецептор.

Инфильтрирующие опухоль Т-лимфоциты CD8+ участвуют в апоптозе злокачественных клеток с помощью гранзим-перфоринового механизма или за счет взаимодействия с мембранным рецептором клетки-мишени CD95. Дефицит CD8-позитивных Т-лимфоцитов ослабляет противоопухолевый иммунитет, а их избыток может провоцировать аутоагрессию [10, 11].

Некоторыми авторами установлено благоприятное прогностическое значение уровня инфильтрации как элементами общей Т-клеточной популяции (CD3+), так и отдельными субпопуляциями Т-лимфоцитов в микроокружении опухоли при ДВКЛ [12–14]. По результатам исследования Н. Rajnai и соавт. количество цитотоксических Т-лимфоцитов выше порогового уровня (порог 5 %) связано с лучшей выживаемостью пациентов [15]. Напротив, в работах С. Galand и соавт. [16], J.J.F. Muris и соавт. [17] показано, что высокий уровень Т-лимфоцитов CD8+ служил показателем неблагоприятного прогноза течения ДВКЛ. В исследованиях австралийских ученых не выявлена взаимосвязь между уровнем Т-клеток CD8+ (порог 15 %) и течением заболевания [18]. Таким образом, данные литературы по обсуждаемому вопросу весьма

противоречивы, что подтверждает необходимость дальнейшего изучения субпопуляции цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ микроокружения опухоли при ДВКЛ.

Цель настоящего исследования — оценить прогностическое значение относительного количества Т-лимфоцитов CD8+ микроокружения опухоли при ДВКЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В настоящее ретроспективное исследование включено 124 первичных пациента с морфологически и иммуногистохимически подтвержденным диагнозом ДВКЛ в соответствии с критериями классификации ВОЗ опухолей кроветворной и лимфоидной тканей (2008, 2017 гг.). Медиана возраста составила 59 лет (диапазон 23–80 лет), мужчин было 62, женщин — 62. Больные наблюдались в ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России с 2014 по 2020 г. и получали терапию первой линии по схеме R-CHOP. Характеристика больных представлена в табл. 1.

В работе использовались архивные образцы (парафиновые блоки биоптатов) лимфатических узлов или вовлеченных в патологический процесс органов и тканей, а также материал, полученный при биопсии. Морфологические и иммуногистохимические исследования выполняли в лаборатории патоморфологии ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России. Постановку реакций осуществляли непрямым пероксидазным методом в соответствии с протоколом для систем визуализации EnVISION (DAB+, Dako, Дания), используя широкую диагностическую панель антител. Для определения цитотоксических Т-лимфоцитов гистологические срезы опухоли инкубировали с соответствующими моноклональными антителами (клон C8/144B, Dako, Дания).

Морфометрический подсчет относительного числа Т-клеток CD8+ выполняли с помощью светового микроскопа AxioScore.A1 со встроенной фото-/видеокамерой, программным обеспечением анализа изображений (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Германия). Оценивали 20 полей зрения в каждом образце с применением окуляров 10x и объектива 100x. Исходя из полученных результатов, вычисляли среднее относительное содержание антигенпозитивных Т-клеток в биопсийном материале.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics 26. Прогностически значимый порог Т-лимфоцитов CD8+ вычисляли с помощью ROC-анализа. Взаимосвязь между содержанием Т-клеток в микроокружении опухоли с характеристиками больных определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона с расчетом значений отношения шансов (ОШ) и 95%-го доверительного интервала (95% ДИ). В случае числа ожидаемых частот менее 5 применяли точный двусторонний критерий Фишера (F). 5-летнюю общую выживаемость (ОВ) и выживаемость без прогрессирования (ВБП) рассчитывали по методу Каплана—Мейера с графическим построением

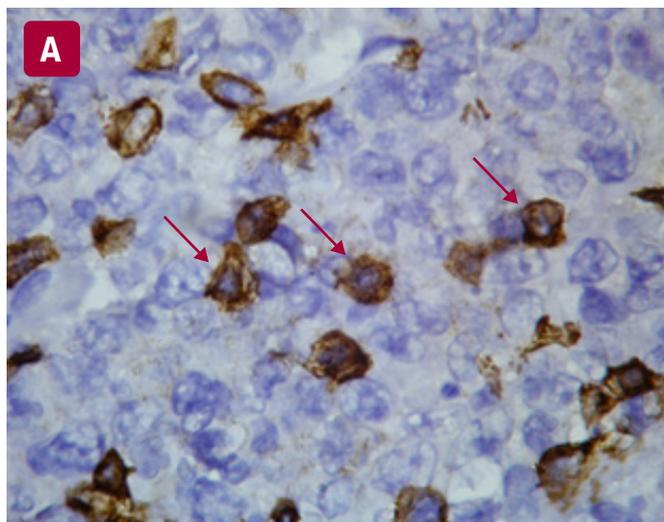
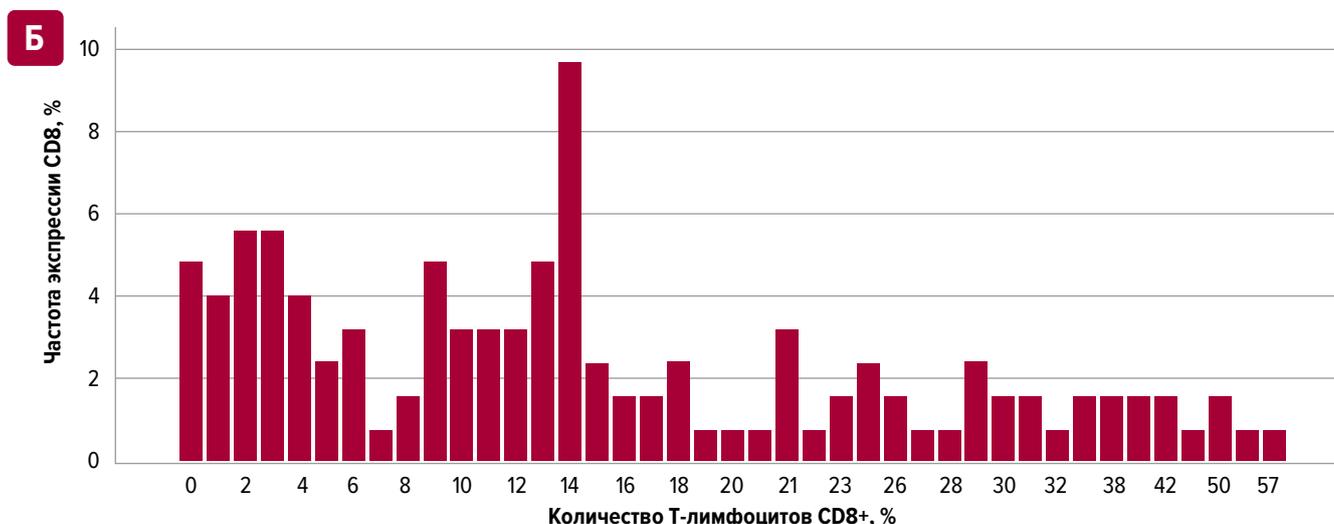


Рис. 1. (А) Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ). Биоптат лимфатического узла. Иммуногистохимическое окрашивание моноклональным антителом к антигену CD8 (клон C8/144В, Dako, Дания), система визуализации EnVision (Dako, Дания). Продукт реакции окрашен в коричневый цвет (стрелки). Докраска ядер выполнена гематоксилином, $\times 1000$. (Б) Распределение пациентов с учетом содержания Т-клеток CD8+ в биопсийном материале ДВКЛ

Fig. 1. (A) Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL). Lymph node biopsy sample. Immunohistochemical staining with monoclonal antibody to CD8 antigen (clone C8/144B, Dako, Denmark), EnVision visualization system (Dako, Denmark). The reaction product is brown-colored (arrows). Hematoxylin final nuclear staining, $\times 1000$. (B) Distribution of patients according to the CD8+ T-cell counts in the DLBCL biopsies



соответствующих кривых; межгрупповые сравнения факторов оценивали с помощью логрангового теста. Независимое влияние факторов на показатели выживаемости анализировали методом регрессии Кокса. Различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитотоксические Т-лимфоциты выявлены в биоптатах у 118 из 124 пациентов. Во всех случаях наблюдалось дискретное расположение Т-клеток по всему срезу. Отмечалась цитоплазматическая и мембранная экспрессия антигенов (рис. 1, А). Относительное содержание Т-клеток CD8+ в биоптатах у разных пациентов варьировало от 0 до 57 % (рис. 1, Б). Медиана относительного числа цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов составила 13 % (Q_1 – Q_3 5,0–21,5).

По результатам ROC-анализа оптимальный прогностически значимый пороговый уровень цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ составил 13 % (чувствительность — 73 %, специфичность — 62 %; AUC = 0,64; $p = 0,008$). В соответствии с установленным пороговым значением пациенты распределены в две группы: с количеством Т-лимфоцитов CD8+ выше (высоким, или надпороговым, > 13 %) и ниже порогового уровня (низким, или подпороговым, ≤ 13 %).

Проанализированы особенности распределения надпорогового и подпорогового количества Т-клеток CD8+ в биоптатах пациентов с различными характеристиками ДВКЛ (табл. 2). Пациенты с экстранодальными поражениями чаще регистрировались в группе с низким уровнем Т-лимфоцитов CD8+ в отличие от обследованных с высоким содержанием Т-клеток (61 vs 39 % соответственно; $p = 0,049$).

При сравнении частоты распределения цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ в группах с разным ответом на терапию по схеме R-CHOP получены статистически значимые различия. У пациентов с подпороговым уровнем цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ вероятность недостижения ремиссии увеличивалась в 2,2 раза по сравнению с больными, имевшими надпороговые их значения (ОШ 2,2; 95% ДИ 1,1–4,7; $p = 0,026$). При анализе других клинико-лабораторных показателей статистически значимых различий не выявлено. Отмечалась тенденция к преобладанию распространенных стадий заболевания у лиц с содержанием цитотоксических Т-клеток CD8+ ниже порогового уровня по сравнению с обследуемыми с надпороговыми значениями ($p = 0,078$).

Проанализированы показатели выживаемости с учетом уровня Т-лимфоцитов CD8+ у больных ДВКЛ, получавших лечение по схеме R-CHOP в первой линии (рис. 2). 5-летняя ОВ в группе с надпороговым уровнем Т-лимфоцитов CD8+ (> 13 %) составила 78,3 % (медиана

Таблица 2. Характеристика больных с учетом количества Т-лимфоцитов CD8+ в реактивном микроокружении опухоли при ДВКЛ ($n = 124$)

Показатель	Количество клеток CD8+		ОШ (95% ДИ)	p
	> 13 % ($n = 60$), n (%)	≤ 13 % ($n = 64$), n (%)		
Возраст				
< 60 лет	35 (53,0)	31 (47,0)	0,67	0,270
≥ 60 лет	25 (43,1)	33 (56,9)	(0,33–1,36)	
В-симптомы				
Нет	26 (52,0)	24 (48,0)	1,3	0,510
Есть	34 (45,9)	40 (54,1)	(0,64–2,61)	
Стадия по Ann Arbor				
I–II	29 (58,0)	21 (42,0)	1,9	0,078
III–IV	31 (41,9)	43 (58,1)	(0,93–3,96)	
Экстранодальные поражения				
Нет	35 (57,4)	26 (42,6)	2,0	0,049*
Есть	25 (39,0)	38 (61,0)	(0,98–4,25)	
Концентрация ЛДГ				
Норма	18 (46,2)	21 (53,8)	0,8	0,730
Выше нормы	42 (49,4)	43 (50,6)	(0,41–1,87)	
Ответ на терапию				
Полный	40 (57,1)	30 (42,9)	2,2 (1,1–4,7)	0,026*
Частичный/ прогрессирование/ рефрактерность	20 (37,0)	34 (63,0)		
МПИ				
МПИ ≤ 2 баллов	34 (54,8)	28 (45,2)	1,6	0,150
МПИ > 2 баллов	26 (41,9)	36 (58,1)	(0,86–3,43)	
ИГХ-подтип ДВКЛ (алгоритм С.Р. Hans)				
GCB	21 (46,7)	24 (53,3)	0,9	0,770
non-GCB	39 (49,4)	40 (50,6)	(0,44–1,86)	

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ДВКЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома; ИГХ — иммуногистохимический; ЛДГ — лактатдегидрогеназа; МПИ — международный прогностический индекс; ОШ — отношение шансов.

* Статистически значимые различия между группами.

не достигнута) vs 45,3 % (медиана 40 мес.) у пациентов с подпороговым (≤ 13 %) количеством ($p = 0,001$). Низкое содержание цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ в микроокружении опухоли ассоциировалось с высоким риском развития летального исхода (отношение рисков [ОР] 3,2; 95% ДИ 1,69–6,07; $p = 0,001$).

5-летняя ВВП в группе с подпороговым содержанием Т-клеток CD8+ составила 45,3 % (медиана 39 мес.), с надпороговым — 60 % (медиана не достигнута) ($p = 0,036$). Риск развития рецидивов и/или рефрактерности к терапии у больных с подпороговым уровнем цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ был в 1,7 раза выше в сравнении с лицами с надпороговым значением (ОР 1,7; 95% ДИ 1,02–2,91).

По результатам однофакторного регрессионного анализа Кокса установлены предикторы неблагоприятного прогноза в отношении показателей ОБ: подпороговый уровень цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+, МПИ > 2 баллов, non-GCB-подтип ДВКЛ (табл. 3). С использованием многофакторной модели Кокса оценено независимое влияние на показатели ОБ и ВВП нескольких факторов.

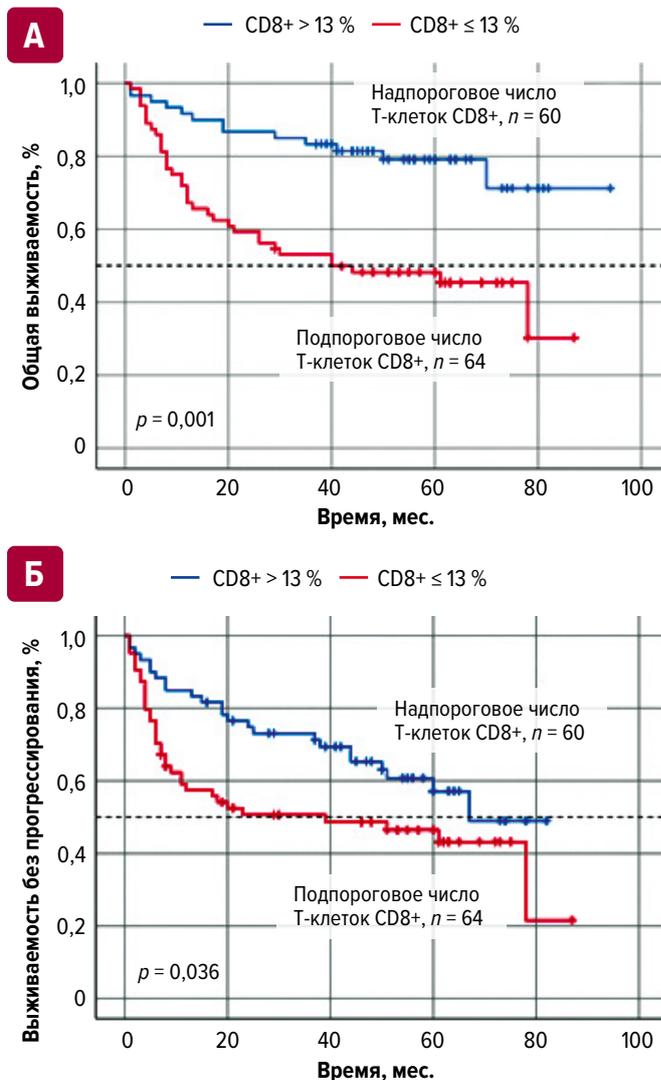


Рис. 2. (А) Общая и (Б) выживаемость без прогрессирования у больных ДВКЛ с учетом количества Т-лимфоцитов CD8+ в реактивном микроокружении опухоли

Fig. 2. (A) Overall and (B) progression-free survivals in DLBCL patients depending on the count of CD8+ T-lymphocytes in the reactive tumor microenvironment

Установлено, что число цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ ≤ 13 % в микроокружении опухоли при ДВКЛ независимо от других предикторов, указанных в табл. 3, оказывает влияние на прогноз в отношении показателей ОБ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Важное значение в развитии любой опухоли имеет микросреда, которая формируется в результате образования перекрестных связей между опухолевыми клетками и разными типами окружающих их неопухолевых клеток. Среди последних ключевое значение имеют эффекторные Т-лимфоциты, воздействующие на иммунный ландшафт опухоли [19]. Процессы, влияющие на иммунный профиль реактивного микроокружения опухоли, вызывают повышенный интерес у исследователей.

Мы исследовали содержание Т-лимфоцитов CD8+ в биопсийном материале больных с помощью

Таблица 3. Результаты одно- и многофакторного регрессионного анализа по определению предикторов, влияющих на показатели ОБ и ВБП у пациентов с ДВКЛ

Параметр	ОБ			ВБП		
	ОР	95% ДИ	<i>p</i>	ОР	95% ДИ	<i>p</i>
Однофакторный анализ, <i>n</i> = 124						
Количество Т-лимфоцитов CD8+	3,2	1,69–6,07	0,012*	1,7	0,97–1,01	0,345
МПИ > 2 баллов	4,7	2,41–9,33	0,001*	5,0	2,71–9,17	0,001*
ИГХ-подтип (non-GCB)	1,9	1,12–3,78	0,043*	1,5	0,89–2,66	0,123
Многофакторный анализ, <i>n</i> = 124						
Количество Т-лимфоцитов CD8+	4,0	1,87–8,65	0,002*	1,0	0,98–1,09	0,248
МПИ > 2 баллов	4,9	2,51–9,88	0,001*	5,1	2,83–9,41	0,001*
ИГХ-подтип (non-GCB)	1,8	2,51–9,88	0,075	1,4	0,83–2,53	0,191

95% ДИ — 95%-й доверительный интервал; ВБП — выживаемость без прогрессирования; ДВКЛ — диффузная В-крупноклеточная лимфома; ИГХ — иммуногистохимический; МПИ — международный прогностический индекс; ОБ — общая выживаемость; ОР — отношение рисков.

* Различия статистически значимы.

иммуногистохимического метода. У пациентов с ДВКЛ выявлены значительные колебания количества цитотоксических Т-клеток CD8+ (0–57 %). Установлен пороговый уровень Т-клеток CD8+, равный 13 %. У больных с уровнем CD8-позитивных Т-лимфоцитов ≤ 13 % значительно чаще встречались экстранодальные поражения и отмечалось отсутствие полной ремиссии при лечении по схеме R-CHOP. Выявлена тенденция к преобладанию подпорогового количества Т-клеток CD8+ у пациентов с распространенными стадиями ДВКЛ.

При оценке показателей ОБ и ВБП установлено, что подпороговое количество цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов среди элементов микроокружения опухоли является неблагоприятным прогностическим фактором в отношении лечения ДВКЛ по схеме R-CHOP. 5-летняя ОБ у пациентов с подпороговым количеством (≤ 13 %) цитотоксических Т-лимфоцитов CD8+ составила 45,3 % (медиана 40 мес.), у больных с надпороговым уровнем (> 13 %) — 78,3 %. Выявленные различия оказались статистически значимыми (*p* = 0,001). Сходная закономерность выявлена при оценке 5-летней ВБП. Этот показатель при подпороговом количестве Т-лимфоцитов CD8+ составил 45,3 % (медиана 39 мес.), а при надпороговом — 60 % (медиана не достигнута; *p* = 0,036). По результатам многофакторного анализа установлено, что низкий уровень Т-лимфоцитов CD8+ (≤ 13 %) в микроокружении опухоли является независимым фактором неблагоприятного прогноза течения ДВКЛ.

Полученные нами данные согласуются с результатами некоторых исследований [15, 20]. Однако встречались работы, в которых высокое содержание Т-лимфоцитов CD8+ при ДВКЛ ассоциировалось с худшей выживаемостью пациентов или вовсе не имело прогностического значения [16–18]. Предполагается, что Т-клетки в этих случаях подвергаются воздействию сложной иммуносупрессивной сети, состоящей из клеток самой опухоли, клеток воспаления, цитокинов. При этом Т-лимфоциты находятся в состоянии неполной активации (истощения), с потерей функций, высокой экспрессией ингибиторных антигенов, снижением продукции эффекторных цитокинов [11, 15, 20, 21]. Кроме того, отмечается, что наиболее распространенной

причиной, связанной с уклонением опухоли от иммунного надзора, является отсутствие экспрессии на поверхности опухолевых клеток белков МНС класса I, что коррелирует с неблагоприятным прогнозом заболевания и наблюдается примерно в 50 % случаев ДВКЛ [12, 22–25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Относительное количество цитотоксических CD8-позитивных Т-лимфоцитов в микроокружении опухоли ≤ 13 % является независимым неблагоприятным прогностическим фактором при ДВКЛ у пациентов, получающих лечение по схеме R-CHOP, и связано с худшими показателями ВБП и ОБ.

УВЕДОМЛЕНИЯ/ACKNOWLEDGMENT

ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

DISCLOSURE. The authors declare no conflicts of interest.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ. Исследование не имело спонсорской поддержки.

FUNDING. This study received no external financial support.

ВКЛАД АВТОРОВ. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE. При этом наибольший вклад распределен следующим образом.

Концепция и дизайн: Е.В. Ванеева, В.А. Росин, Д.А. Дьяконов.

Сбор и обработка данных: Е.В. Ванеева, Н.В. Глубоковских, В.А. Росин.

Предоставление материалов для исследования: Д.А. Дьяконов.

Анализ и интерпретация данных: Е.В. Ванеева, В.А. Росин, Д.А. Дьяконов.

Подготовка рукописи: все авторы.

Окончательное одобрение рукописи: В.А. Росин, Д.А. Дьяконов.

AUTHOR CONTRIBUTION. All authors meet the ICMJE criteria for authorship and declare their special contribution as follows:

Conception and design: E.V. Vaneeva, V.A. Rosin, D.A. Dyakonov.

Data collection and processing: E.V. Vaneeva, N.V. Glubokovskikh, V.A. Rosin.

Research materials provision: D.A. Dyakonov.

Data analysis and interpretation: E.V. Vaneeva, V.A. Rosin, D.A. Dyakonov.

Manuscript writing: all authors.

Final approval of manuscript: V.A. Rosin, D.A. Dyakonov.

СОГЛАСИЕ НА ПУБЛИКАЦИЮ. От всех пациентов получено письменное информированное согласие на публикацию.

CONSENT FOR PUBLICATION. Written informed consent for publication was obtained from all patients.

ЭТИЧЕСКОЕ ОДОБРЕНИЕ. Исследование было одобрено локальным этическим комитетом ФГБУН КНИИГиПК ФМБА России 26.09.2023 г. (протокол № 26).

ETHICS APPROVAL. This study was approved by the local Ethics Committee of the Kirov Research Institute of Hematology and Transfusiology 26.09.2023 (protocol #26).

ORCID

Е.В. Ванеева — <https://orcid.org/0000-0003-1045-2011>

В.А. Росин — <https://orcid.org/0000-0003-2054-2870>

Д.А. Дьяконов — <https://orcid.org/0000-0001-8688-1344>

Н.В. Глубоковских — <https://orcid.org/0009-0001-7181-6192>

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Sehn LH, Salles G. Diffuse Large B-cell lymphoma. *N Engl J Med*. 2021;384(9):842–58. doi: 10.1056/NEJMra2027612.
- Alaggio R, Amador C, Anagnostopoulos I, et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Lymphoid Neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1720–48. doi: 10.1038/s41375-022-01620-2.
- Тумян Г.С. Материалы 13-й Международной конференции по злокачественным лимфомам (июнь 2015 г., Лугано). *Клиническая онкогематология*. 2015;8(4):455–70. [Tumyan G.S. Proceedings of the 13th International Conference on Malignant Lymphoma (June 2015, Lugano). *Clinical oncohematology*. 2015;8(4):455–70. (In Russ)]
- Campo E, Jaffe E, Cook JR, et al. The international consensus classification of mature lymphoid neoplasms: A report from the clinical advisory committee. *Blood*. 2022;140(11):1229–53. doi: 10.1182/blood.2022015851.
- Alizadeh A, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403(6769):503–11. doi: 10.1038/35000501.
- Rong Sh, Di Fu, Lei D, et al. Simplified algorithm for genetic subtyping in diffuse large B-cell lymphoma. *Signal Transduct Target Ther*. 2023;8(1):145. doi: 10.1038/s41392-023-01358-y.
- Vajavaara H, Leivonen S-K, Jorgensen J, et al. Low lymphocyte-to-monocyte ratio predicts poor outcome in high-risk aggressive large B-cell lymphoma. *EJHaem*. 2022;3(3):681–7. doi: 10.1002/jha2.409.
- Зибилов Р.Ф., Мозеров С.А. Характеристика клеточного микроокружения. *Онкология. Журнал им. П.А. Герцена*. 2018;7(2):67–72. doi: 10.17116/onkolog20187267-72. [Zibirov R.F., Mozerov S.A. Characterization of the tumor cell microenvironment. *Onkologiya. Zhurnal im. P.A. Gertsena*. 2018;7(2):67–72. doi: 10.17116/onkolog20187267-72. (In Russ)]
- Autio M, Leivonen S-K, Bruck O, et al. Immune cell constitution in the tumor microenvironment predicts the outcome in diffuse large B-cell lymphoma. *Haematologica*. 2021;106(3):718729. doi: 10.3324/haematol.2019.243626.
- Бурместер Г.-Р., Пецутто А. Наглядная иммунология. Пер. с англ., 8-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2022. С. 320. [Burmester G.R., Petsutto A. *Visual immunology*. 8th edition. (Russ. ed.: Burmester G.R., Petsutto A. *Naglyadnaya immunologiya*. 8-e izd. Moscow: Laboratoriya znaniy Publ.; 2022. pp. 320)]
- Zheng S, Ma J, Li J, et al. Lower PTEN may be associated with CD8+ T cell exhaustion in diffuse large B-cell lymphoma. *Hum Immunol*. 2023;84(10):551–60. doi: 10.1016/j.humimm.2023.07.007.
- Ennishi D, Takata K, Beguelin W, et al. Molecular and genetic characterization of MHC deficiency identifies EZH2 as therapeutic target for enhancing immune recognition. *Cancer Discov*. 2019;9(4):546–63. doi: 10.1158/2159-8290.CD-18-1090.
- Шолохова Е.Н., Зейналова П.А., Османов Е.А. и др. Клиническое значение клеток опухолевого микроокружения при диффузной В-крупноклеточной лимфоме. *Вестник ФГБУН «РОИЦ им. Н.Н. Блохина*. 2014;25(3–4):81–5. [Sholokhova E.N., Zeinalova P.A., Osmanov E.A., et al. Clinical significance of tumor microenvironment cells in diffuse large B-cell lymphoma. *Vestnik FGBUN «RONTs im. N.N. Blokhina*. 2014;25(3–4):81–5. (In Russ)]
- Ahearne JM, Bhuller K, Hew R, et al. Expression of PD-1 (CD279) and FoxP3 in diffuse large B-cell lymphoma. *Virchows Arch*. 2014;465(3):351–8. doi: 10.1007/s00428-014-1615-5.
- Rajnai H, Heyning FH, Koens L, et al. The density of CD8+ T-cell infiltration and expression of BCL2 predicts outcome of primary diffuse large B-cell lymphoma of bone. *Virchows Arch*. 2014;464(2):229–39. doi: 10.1007/s00428-013-1519-9.
- Galand C, Donnou S, Molina TJ, et al. Influence of tumor location on the composition of immune infiltrate and its impact on patient survival. Lessons from DCBCL and animal models. *Front Immunol*. 2012;4(3):98. doi: 10.3389/fimmu.2012.00098.V.3.
- Muris JF, Meijer CJ, Cillessen S, et al. Prognostic significance of activated cytotoxic T-lymphocytes in primary nodal diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2004;18(3):589–96. doi: 10.1038/sj.leu.2403240.
- Keane C, Gill D, Vari F, et al. CD4(+) tumor infiltrating lymphocytes are prognostic and independent of R-IP1 in patients with DLBCL receiving R-CHOP chemo-immunotherapy. *Am J Hematol*. 2013;88(4):273–6. doi: 10.1002/ajh.23398.
- Wellenstein MD, Visser KE. Cancer-cell-intrinsic mechanisms shaping the tumor immune landscape. *Immunity*. 2018;48(3):399–416. doi: 10.1016/j.immuni.2018.03.004.
- Guan Q, Han M, Guo Q, et al. Strategies to reinvigorate exhausted CD8+ T cells in tumor microenvironment. *Front Immunol*. 2023;14:1204363. doi: 10.3389/fimmu.2023.1204363.
- Jiang Y, Li Y, Zhu B. T-cell exhaustion in the tumor microenvironment. *Cell Death Dis*. 2015;6(6):1792. doi: 10.1038/cddis.2015.162.
- Cornel AM, Mimpfen IL, Nierkens S. MHC class I downregulation in cancer: Underlying mechanisms and potential targets for cancer immunotherapy. *Cancers*. 2020;12(7):1760. doi: 10.3390/cancers12071760.
- Takahara T, Nakamura Sh, Tsuzuki T, et al. The Immunology of DLBCL. *Cancers*. 2023;15(3):835. doi: 10.3390/cancers15030835.
- Wilkinson ST, Vanpatten KA, Fernandez DR, et al. Partial plasma cell differentiation as a mechanism of lost major histocompatibility complex class II expression in diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2012;119(6):1459–67. doi: 10.1182/blood-2011-07-363820.
- Cioroiu AI, Stinga PI, Sticlaru L, et al. Tumor Microenvironment in Diffuse Large B-Cell Lymphoma: Role and Prognosis. *Anal Cell Pathol*. 2019;2019:8586354. doi: 10.1155/2019/8586354.