

Регуляторные Т-лимфоциты (Treg) при лимфопролиферативных заболеваниях

Кузьмина Е.Г., Мушкарина Т.Ю., Константинова Т.В.

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба, филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, Обнинск

ВВЕДЕНИЕ

Изучение иммунокомпрометированности организма при развитии онкологических заболеваний по-прежнему актуально. В последние десятилетия открыта новая малая популяция Т-лимфоцитов, поддерживающая стабильность иммунной системы, охарактеризован ее фенотип и функции. Она получила название регуляторные Т-клетки (Treg). Повышение их количества приводит к супрессии функций эффекторных клеток, снижая противоопухолевый и противоинфекционный иммунитет, а уменьшение к потере контроля сохранения нормального уровня активации, что влечет за собой гиперактивацию иммунокомпетентных клеток, способствуя развитию аутоиммунной патологии и аллергии.

В некоторых исследованиях отмечено повышение величины регуляторных Т-клеток при лейкозах и лимфомах. Возможно, что эффективность лечения онкологических заболеваний может быть обусловлена нормализацией уровня регуляторных лимфоцитов, с последующим восстановлением процессов активации и супрессии реакций иммунной системы. В противоположном случае при сохранении или дальнейшем повышении численности регуляторных клеток предполагается большая частота развития рецидивов и прогрессирования лимфопролиферативного процесса.

Поэтому актуальной и приоритетной задачей научно-прикладных исследований становится изучение исходного уровня регуляторных клеток при лимфопролиферативных заболеваниях и чувствительность регуляторов к методам химиолучевого лечения.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить уровень регуляторных Т-лимфоцитов при лимфопролиферативных заболеваниях и оценить их реакцию на химиолучевую терапию.

Для достижения этой цели были решены следующие задачи:

1. Сопоставлен нормальный уровень Treg-клеток с их уровнем в дебюте и рецидиве у больных лимфомой Ходжкина (ЛХ), неходжкинскими лимфомами (НХЛ), В-клеточным хроническим лимфолейкозом (В-ХЛЛ).
2. Сравнен уровень Treg-клеток в группах больных НХЛ при локальных и распространенных формах процесса с выходом аберрантных клеток в циркуляцию крови.
3. Оценена степень ответа Treg-клеток на химиолучевую терапию при НХЛ и В-ХЛЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Выполнено 71 исследование периферической крови больных с ЛХ (7), НХЛ (общее число исследований – 32, локальные формы 10, распространенные с выходом клона клеток в кровь – 5, после лечения – 9, рецидив – 8) и ХЛЛ (общее число исследований – 30, до лечения – 24, после лечения - 6). Фенотип Treg-клеток определен с использованием 4-х цветной флуоресцентной метки методом проточной цитофлуориметрии как CD45+CD4+CD25+CD127- на приборе BD FACSCanto II.

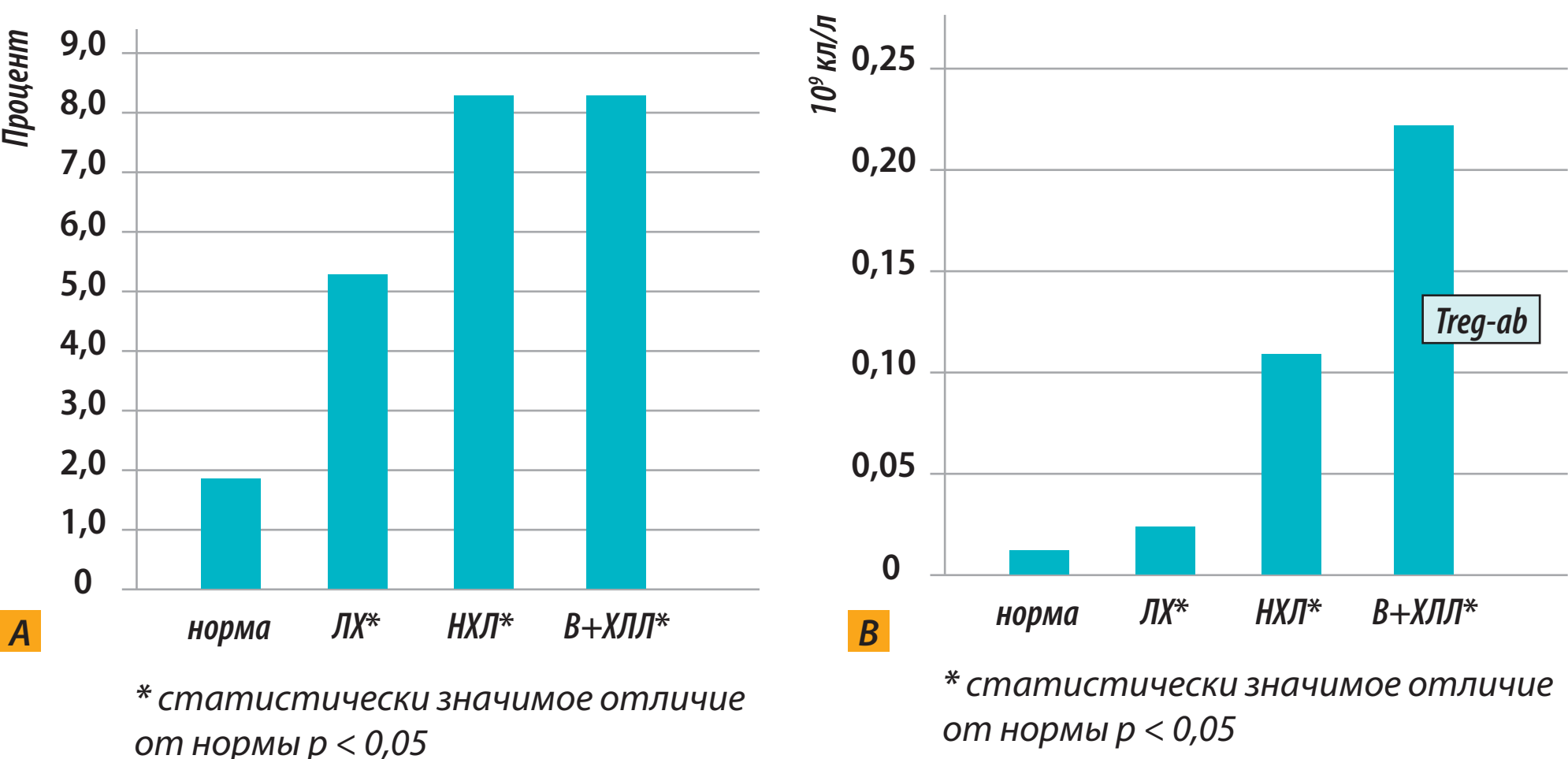
Фенотип клональной популяции при В-ХЛЛ и распространенной форме НХЛ определен с помощью панели моноклональных антител, специально разработанной для этих целей и рекомендованной Международной ассоциацией гематологов. Контрольной группой по уровню Treg-клеток служили данные периферической крови 10 практически здоровых людей (доноров крови). Химиолучевая терапия НХЛ проводилась по схемам 6–8 циклов ПХТ (схемы CHOP, R-CHOP, CIOP) + при необходимости консолидирующее облучение очагов поражения в СОД 30 Гр).

Сравнение групповых данных проведено с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ

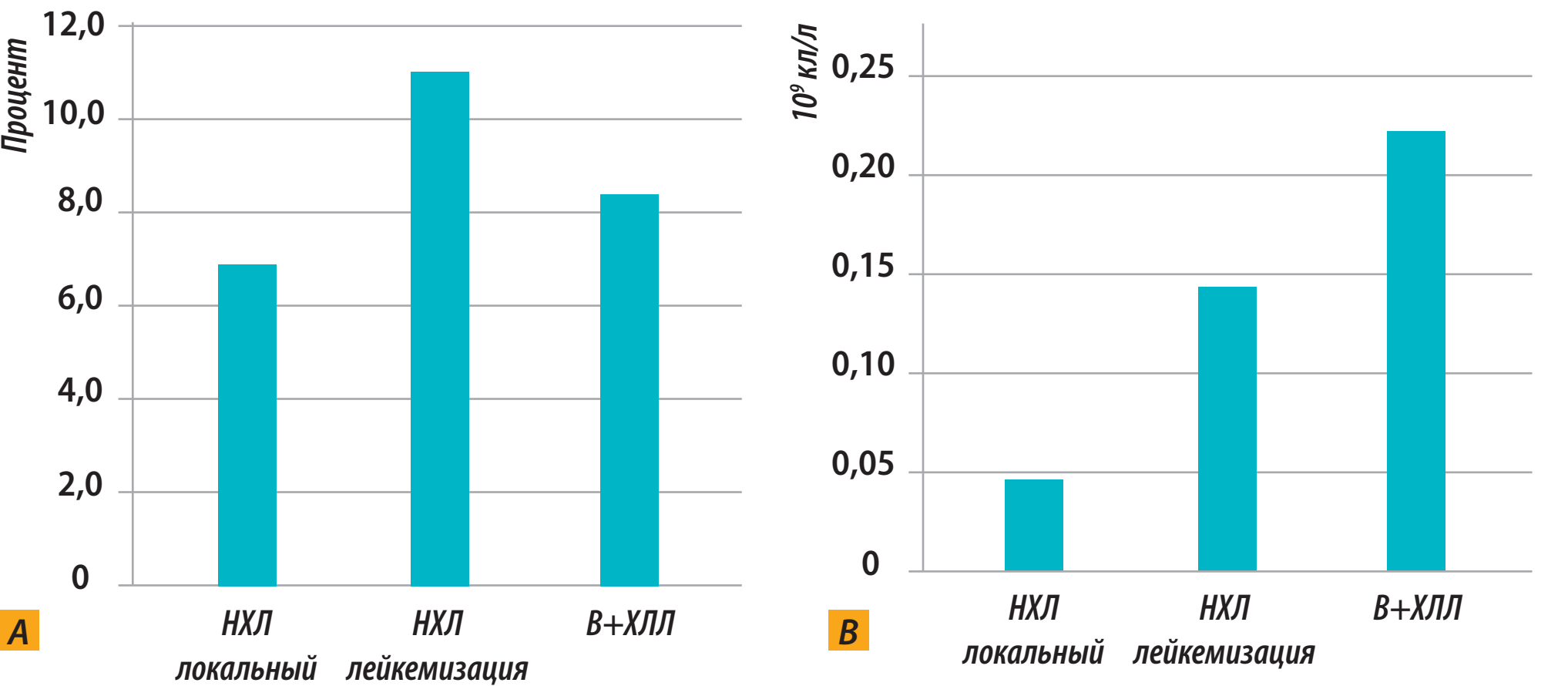
Для лимфопролиферативных процессов в дебюте заболевания характерно повышение уровня Treg-клеток по сравнению с нормой, которая составляет 2,09%/0,016*10⁹ кл/л. При первичных ЛХ, НХ и ХЛЛ их уровень составил соответственно 5,54%/0,023*10⁹ кл/л; 8,88%/0,11*10⁹ кл/л и 8,94%/0,23*10⁹ кл/л (рисунок 1. А, В).

Рис. 1. Процент (А) и количество (В) Treg-клеток в дебюте лимфопролиферативных заболеваний



При локализованной НХЛ количество Treg-клеток превышает контрольные значения в 1,5–5 раз, а при лейкомических формах в 4–15 раз. При В-ХЛЛ относительный и абсолютный уровень Treg-клеток сопоставим с лейкомической формой НХЛ (рисунок 2. А, В).

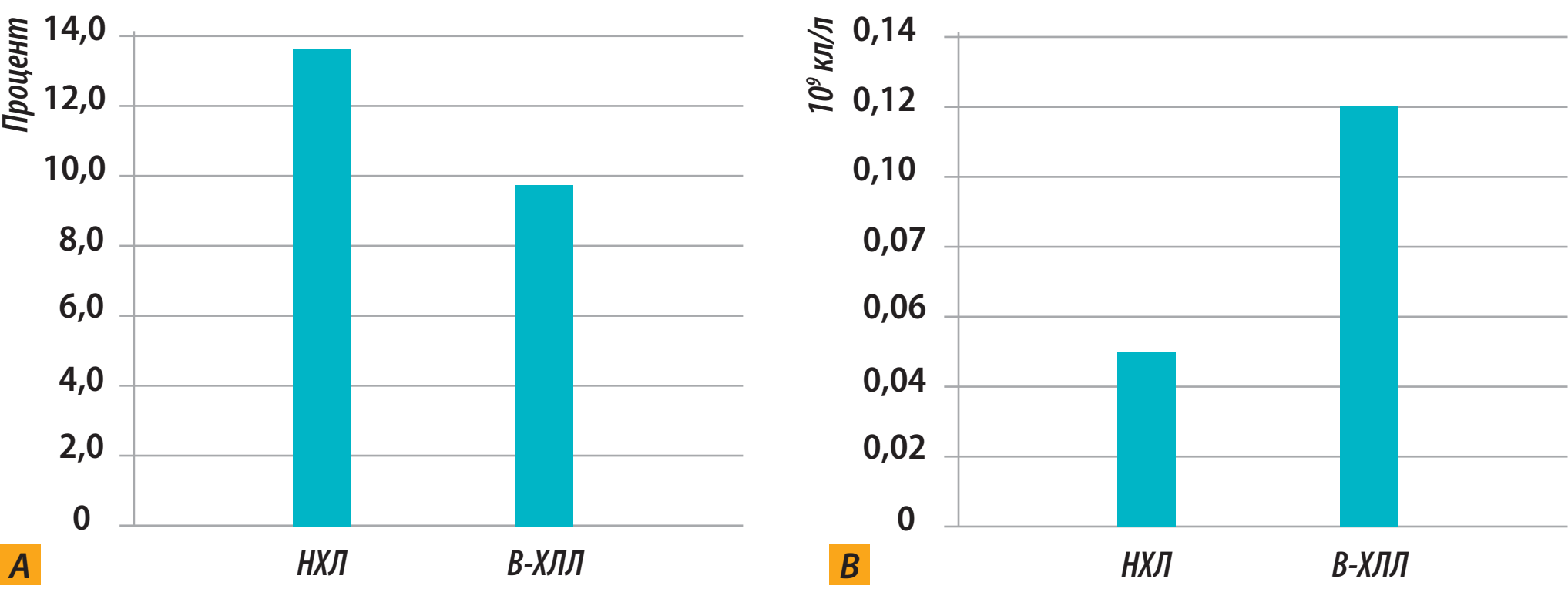
Рис. 2. Процент (А) и количество (В) Treg-клеток в зависимости от отсутствия/наличия в крови аберрантных лимфоцитов



При рецидивах НХЛ относительное и абсолютное число Т-регуляторов сопоставимо с их уровнем в дебюте заболевания.

После лечения НХЛ и В-ХЛЛ процент регуляторных Т-клеток несколько возрастал до 14,5% и 10,7% соответственно, их количество при НХЛ оставалось на прежнем уровне (0,06*10⁹ кл/л), а после лечения ХЛЛ снижалось в 2 раза (0,12*10⁹ кл/л). Эти результаты свидетельствуют об относительной резистентности регуляторных Т-клеток к компонентам использованных методов химиолучевого лечения (рисунок 3. А, В).

Рис. 3. Процент (А) и количество (В) Treg-клеток после химиолучевого лечения НХЛ и В-ХЛЛ



ВЫВОДЫ

1. При лимфопролиферативных заболеваниях (НХЛ и В-ХЛЛ) значительно повышено относительное и абсолютное количество Treg-клеток, при ЛХ повышен только процент Treg-клеток. При рецидивах НХЛ относительное и абсолютное число Т-регуляторов сопоставимо с их уровнем в дебюте заболевания.
2. При локализованной форме НХЛ количество Treg-клеток превышает контрольные значения в 1,5–5 раз, а при лейкомических формах в 4–15 раз. При В-ХЛЛ относительный и абсолютный уровень Treg сопоставим с лейкомической формой НХЛ.
3. Регуляторные Т-клетки проявляют резистентность к компонентам химиолучевого лечения по схемам CHOP±облучение очагов поражения в суммарной дозе 30Гр. После лечения процент регуляторных Т-клеток как при НХЛ, так и при В-ХЛЛ оставался повышенным. После лечения НХЛ количество Treg-клеток оставалось на прежнем уровне, а после лечения В-ХЛЛ снижалось в 2 раза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Патогенез лимфопролиферативных заболеваний дополнен новыми сведениями о повышении уровня Т регуляторных лимфоцитов (относительного и абсолютного числа) по сравнению с нормой, возрастающее в последовательности ЛХ – НХЛ локальная форма – НХЛ с выходом аберрантных клеток в кровеносное русло, В-ХЛЛ. Относительная резистентность Т – регуляторных клеток к компонентам применяемого химиолучевого лечения предполагает внедрение дополнительных подходов к терапии этих заболеваний. Полученные результаты обосновывают необходимость разработки и внедрения в клиническую практику стратегии, направленной на прицельную элиминацию численности Treg-клеток для модуляции их супрессирующей функции.