

Исследование циркулирующих регуляторных Т-клеток при солидных раках

Т. Ю. Мушкарина, Е. Г. Кузьмина, В. А. Бирюков, Г. В. Афонин, Л. Ю. Гривцова

Медицинский радиологический научный центр им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

РЕЗЮМЕ

Регуляторные Т-клетки (Treg) играют ключевую роль в поддержании периферической иммунной толерантности. Нарушение их функционирования связано с развитием аутоиммунных, аллергических и онкологических заболеваний.

Целью исследования было изучить уровень циркулирующих Treg-клеток при солидных злокачественных новообразованиях (рак шейки матки, рак предстательной железы и рак легкого)

Материалы и методы. Методом проточной цитофлуориметрии определен уровень Treg-клеток (CD 45⁺CD 4⁺CD 25⁺CD 127^{-low}) в периферической крови пациентов с раком шейки матки (РШМ, n=10), раком предстательной железы (РПЖ, n=23) и раком легкого (РЛ, n=10). Контрольную группу составили 40 здоровых доноров. Для сравнения показателей групп использован U-критерий Манна-Уитни.

Результаты. Исследование показало повышенный уровень циркулирующих Treg-клеток у пациентов с РШМ, РПЖ и РЛ по сравнению с контрольной группой (p<0,05). При РШМ уровень Treg был повышен в 1,5 раза (относительное число) и в 2,5 раза (абсолютное число); при РПЖ – в 1,8 раза (как относительное, так и абсолютное), что возможно указывает на вовлеченность этих клеток в патогенез рака независимо от пола. Наиболее выраженное увеличение Treg-клеток наблюдалось при РЛ (в 2,7 и 3,2 раза по проценту и абсолютному количеству соответственно), что коррелирует с поздними стадиями заболевания.

Заключение. Полученные данные подтверждают универсальную роль Treg-клеток в развитии и прогрессировании солидных опухолей, что указывает на перспективность иммуномодулирующих подходов, направленных на регуляцию активности этих клеток.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: регуляторные Т-клетки (Treg), периферическая кровь, рак шейки матки, рак предстательной железы, рак легкого.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Study of circulating regulatory T cells in solid cancers

T. Yu. Mushkarina, E. G. Kuzmina, V. A. Biryukov, G. V. Afonin, L. Yu. Grivtsova

A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

SUMMARY

Regulatory T cells (Tregs) play a key role in maintaining peripheral immune tolerance. Disorders in their functioning are associated with the development of autoimmune, allergic and oncological diseases.

The aim of the study was to evaluate the involvement of circulating Treg cells in the development of solid malignancies.

Materials and methods. The level of Treg cells (CD 45⁺CD 4⁺CD 25⁺CD 127^{-low}) in the peripheral blood of patients with cervical cancer (CC, n=10), prostate cancer (PC, n=23) and lung cancer (LC, n=10) was determined by flow cytometry. The control group consisted of 40 healthy donors. The Mann-Whitney U-test was used to compare the indicators of the groups.

Results. The study showed an increased level of circulating Treg cells in patients with CC, PC and LC compared with the control group (p<0.05). In CC Treg cells levels were increased 1.5-fold (relative number) and 2.5-fold (absolute number); in PC, they were increased 1.8-fold (both relative and absolute), which possibly indicates the involvement of these cells in the pathogenesis of cancer regardless of gender. The most pronounced increase in Treg cells was observed in LC (2.7 and 3.2 times in percentage and absolute number, respectively), which correlates with the late stages of the disease.

Conclusion. The data obtained confirm the universal role of Treg cells in the development and progression of solid tumors, which indicates the promise of immunomodulatory approaches aimed at regulating the activity of these cells.

KEY WORDS: regulatory T cells (Treg), peripheral blood, cervical cancer, prostate cancer, lung cancer.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was performed without external funding.

Введение

Регуляторные Т-клетки (Treg) – малочисленная особая субпопуляция Т-хелперов, играющая ключевую роль в поддержании гомеостаза иммунной системы [1]. Treg-клетки в организме выполняют основную функцию в поддержании иммунологической периферической толерантности к собственным тканям через супрессию аутореактивных лимфоцитов [2–3]. Нарушения иммунной толерантности являются фундаментальной причиной развития многих заболеваний человека. Дефицит или снижение функциональной активности Treg-клеток может способствовать развитию аутоиммунных и аллергических заболеваний,

в то время как их избыточная активность может быть связана с онкологическими заболеваниями [4].

Treg-клетки супрессируют функционирование широкого спектра иммунокомпетентных клеток, вовлеченных в реакции врожденного и адаптивного иммунитета, включая Th1-, Th2- и Th17-хелперы, цитотоксические Т-лимфоциты, NK- и NKT-клетки, дендритные клетки, В-лимфоциты, макрофаги и тучные клетки [5–6]. Механизмы их воздействия разнообразны и включают три основных типа: межклеточное взаимодействие через ингибиторные рецепторы, секрецию растворимых факторов и нарушение обмена веществ [7–8].

Опухоль использует множественные молекулярные механизмы иммуносупрессии Treg-клеток в своем микроокружении для подавления противоопухолевого иммунного ответа [9]. Активация и клональная экспансия Treg-клеток специфичных для опухоли стимулируются как локально в микроокружении, так и на системном уровне [10].

Цель нашего исследования заключалась в оценке участия циркулирующих Treg-клеток в развитии солидных злокачественных новообразований.

Материалы и методы

На базе МРНЦ им. А. Ф. Цыба – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России обследованы 43 первичных пациента с солидными злокачественными новообразованиями (рак шейки матки, РШМ; рак предстательной железы, РПЖ; рак легкого, РЛ). Онкологические диагнозы подтверждены данными анамнеза, клинических, морфологических и лабораторно-инструментальных методов обследования. В группу больных РШМ ($T_{1a-3b}N_{0-1}M_0$) вошли 10 женщин, средний возраст которых составил 47 ± 10 лет (диапазон: 30–58 лет). Группа пациентов с локализованным РПЖ ($T_{1-2a,c}N_0M_0$) состояла из 23 мужчин. Их возраст колебался от 54 до 75 лет (67 ± 6 лет). В группе из 10 пациентов с РЛ ($T_{1c-4}N_{1-3}M_{0-1}$) было 8 мужчин (80%) и 2 женщины (20%). Средний возраст пациентов равнялся 65 ± 8 лет (от 49 до 76 лет).

В качестве контроля использованы данные периферической крови 40 практически здоровых людей в возрасте от 22 до 57 лет (39 ± 10 лет). Группа контроля состояла из 22 женщин (55%) и 18 мужчин (45%).

Относительное содержание Treg-клеток ($CD45^+CD4^+CD25^+CD127^{low/-}$) определяли методом многоцветной проточной цитофлуориметрии на 6-цветном приборе FACS Canto II (BD Biosciences, США) с использованием программного обеспечения FACSDiva Software 6.0 (BD Biosciences, США). Моноклональные антитела (BD Biosciences, США) применяли в следующей комбинации: CD127-FITC, CD4-PE, CD25-PE-Cy7, CD45-APC-H7. Абсолютное количество клеток подсчитано двухплатформенным методом на основании значений лимфоцитов,

полученных на гематологическом анализаторе UniCel DxH 800 (Beckman Coulter, США).

Обработку полученных данных проводили при помощи программы «STATISTICA 8.0» (StatSoft). Статистическую значимость различий между показателями групп оценивали непараметрическим U-критерием Манна-Уитни при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

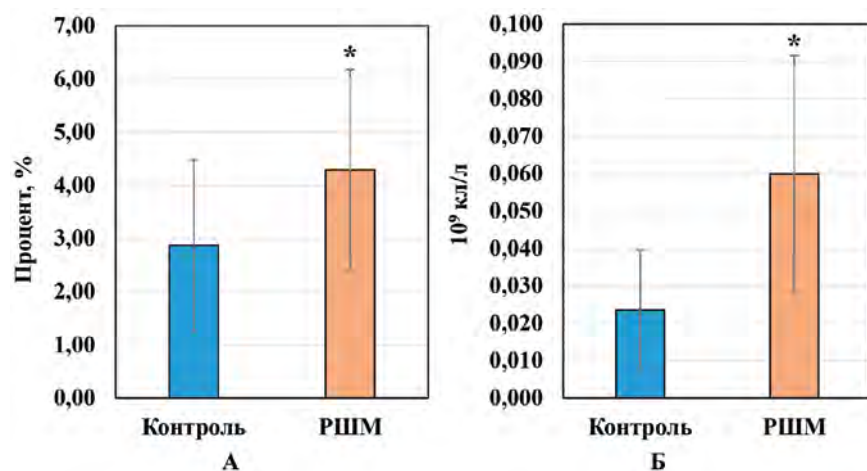
При исследовании уровня циркулирующих Treg-клеток в норме обнаружено, что их процентное количество составило $3,69 \pm 1,89\%$, абсолютное – $0,031 \pm 0,017 \cdot 10^9$ кл/л. Полученные нами данные соответствуют типичному диапазону референсных значений для здоровых взрослых (2–10%), описанному в литературе [11–12]. Однако следует отметить, что четкий референсный интервал для Treg-клеток не установлен. Это связано с тем, что на результаты анализа могут оказывать существенное влияние различные факторы. В частности, используемые методы анализа, такие как выбор моноклональных антител с разной аффинностью или различные стратегии гейтирования клеток при проточной цитометрии, могут приводить к разбросу получаемых значений. Кроме того, клинические характеристики обследуемых, включая возраст, пол и этническую принадлежность, также влияют на вариабельность результатов. Например, известно, что с возрастом происходит изменение иммунного профиля, в том числе количества и функциональной активности Treg-клеток [13].

Анализируя различия в контрольной группе в зависимости от пола, выявлено, что у мужчин, по сравнению с женщинами, статистически значимо повышены как относительное ($4,76 \pm 1,81\%$ против $2,87 \pm 1,61\%$), так и абсолютное ($0,040 \pm 0,016 \cdot 10^9$ кл/л против $0,024 \pm 0,016 \cdot 10^9$ кл/л) значения Treg-клеток ($p < 0,05$). Несмотря на ограниченное количество исследований связи гендерного признака с уровнем Treg-клеток, в имеющихся работах также подтверждается более высокий уровень этих клеток у мужчин независимо от возраста. Авторы предполагают, что более низкий уровень Treg-клеток у женщин

может объяснять их повышенную предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям [14–15].

В связи с выявленными различиями Treg-клеток у мужчин и женщин в контрольной группе, далее уровень Treg-клеток в группах больных РШМ и РПЖ сравнивали со значениями нормы, соответствующих им по полу.

У женщин с впервые выявленным РШМ наблюдалось значительное увеличение доли Treg-клеток в периферической крови относительно нормы ($4,29 \pm 1,89\%$ / $0,060 \pm 0,032 \cdot 10^9$ кл/л, $p < 0,05$): процент был выше в 1,5 раза, абсолютное число в 2,5 раза (рис. 1). Повышенные уровни



* Статистически значимые отличия от нормы, $p < 0,05$.

Рисунок 1. Относительный (А) и абсолютный (Б) уровень Treg-клеток при РШМ

циркулирующих Treg-клеток при РШМ вероятно отражают активное участие этой клеточной популяции в системном формировании иммуносупрессивной среды, которая способствует развитию заболевания, ослабляя эффективность противоопухолевого иммунного ответа и обеспечивая ускользание опухоли от иммунного надзора.

У мужчин с диагнозом РПЖ также отмечено значительно более высокое исходное содержание Treg-клеток. По сравнению с контрольной группой, как процент ($8,81 \pm 2,46\%$), так и абсолютное количество ($0,072 \pm 0,027 \cdot 10^9$ кл/л) увеличены примерно в 1,8 раза ($p < 0,05$, рис. 2). Подобно наблюдениям в группе РШМ, эти результаты позволяют предположить, что Treg-клетки играют важную роль в патогенезе РПЖ. Возможно, полученные данные свидетельствуют об универсальной роли Treg-клеток в развитии РПЖ и РШМ.

При впервые выявленном РЛ уровень Treg-клеток в периферической крови значимо превышал референсные значения ($p < 0,05$, рис. 3). Относительный показатель превосходил норму в 2,7 раза ($9,88 \pm 3,19\%$), абсолютный показатель демонстрировал еще более выраженное увеличение – в 3,2 раза ($0,100 \pm 0,046 \cdot 10^9$ кл/л). Согласно нашим данным, при РЛ обнаружено наиболее выраженное повышение циркулирующих Treg-клеток по сравнению с группами РШМ и РПЖ. Следует отметить, что в группу РЛ входили пациенты преимущественно с поздними стадиями заболевания по сравнению с РШМ и РПЖ. При РЛ у всех пациентов выявлены регионарные метастазы, и у некоторых – опухоли стадии T4. Напротив, при РПЖ метастазы отсутствовали, а размеры опухоли были ограничены стадиями T1-T2. В группе РШМ регионарные метастазы наблюдали не во всех случаях, и стадии опухоли варьировали от T1 до T3. Таким образом, изучаемый показатель проявляет связь с прогрессированием опухоли и усилением иммуносупрессии, причины которой нуждаются в более подробном изучении.

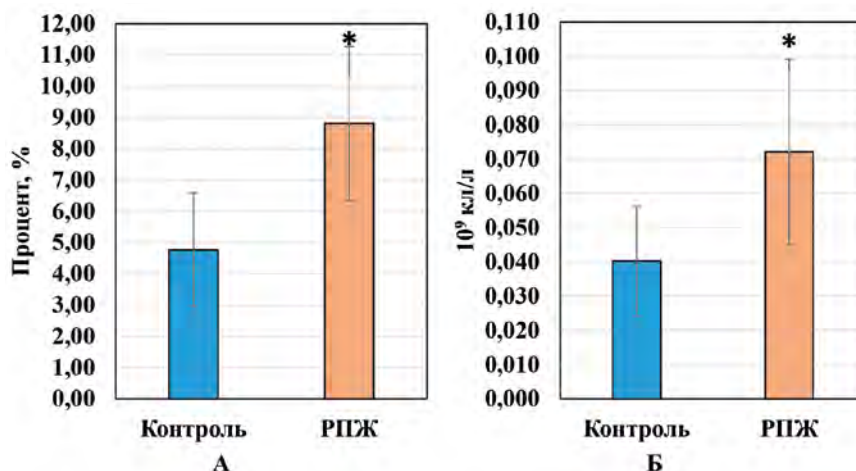
Заключение

Проведенное исследование демонстрирует значительное и устойчивое увеличение уровня Treg-клеток в периферической крови при изученных формах солидных опухолей (РШМ, РПЖ и РЛ). Наблюдение повышенного уровня данной популяции клеток при различных типах рака, независимо от гендерной принадлежности, подчеркивает потенциально универсальную роль этих клеток в развитии опухолевого процесса. Примечательно, что наиболее выраженное возрастание доли Treg-

клеток обнаружено при более распространенных стадиях заболевания, что подтверждает предположение о вкладе иммуносупрессии, опосредованной Treg-клетками, в процессы прогрессирования и метастазирования опухолей. В целом, полученные результаты указывают на значимость, перспективность и необходимость продолжения исследований иммунотерапевтических стратегий, направленных на модуляцию численности и активности Treg-клеток.

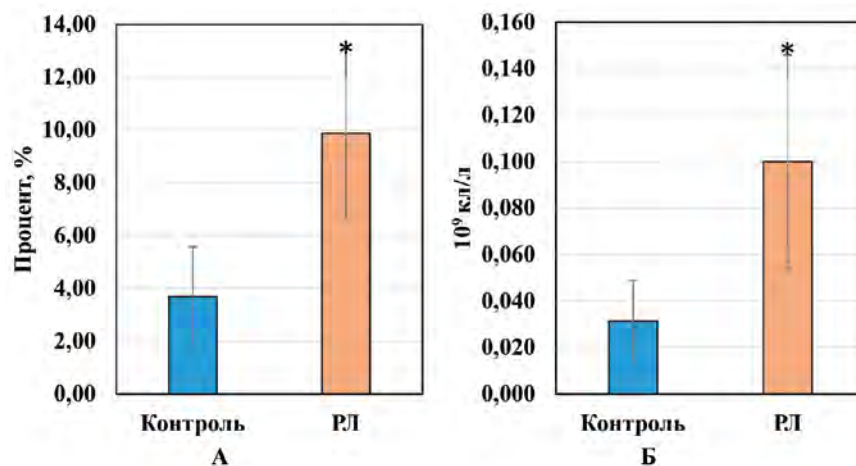
Список литературы/ References

1. Sakaguchi S, Mikami N, Wing J.B. et al. Regulatory T cells and human disease. *Annu. Rev. Immunol.* 2020; 38: 541–566. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-042718-041717>
2. Супрун Е. Н. Иммунологическая толерантность: от истории к практике / Е. Н. Супрун. Аллергология и иммунология в педиатрии. 2013; 3 (34): 29–36. Suprun E. N. Immunological tolerance: from history to practice / E. N. Suprun. *Allergology and immunology in pediatrics.* 2013; 3 (34): 29–36. (In Russ.).
3. Курганова Е. В., Тихонова М. А., Лебедева В. А. и др. Характеристика регуляторных T-клеток у больных раком яичников. *Сибирский онкологический журнал.* 2008; 6 (30): 40–45. Kurganova E. V., Tikhonova M. A., Lebedeva V. A., et al. Characteristics of regulatory T cells in patients with ovarian cancer. *Siberian Journal of Oncology.* 2008; 6 (30): 40–45. (In Russ.).
4. Козлов В. А. Иммунная парадигма и иммуносупрессорная доминанта в патогенезе основных заболеваний современного человека. *Бюллетень сибирской медицины.* 2019; 18 (1): 7–17. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-7-17> Kozlov V. A. Immune paradigm and immunosuppressive dominant in the pathogenesis of major diseases of modern humans. *Bulletin of Siberian Medicine.* 2019; 18 (1): 7–17. (In Russ.). <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-7-17>
5. Bayati F., Mohammadi M., Valadi M., et al. The Therapeutic Potential of Regulatory T Cells: Challenges and Opportunities. *Front Immunol.* 2021; 11: 585819. PMID: 33519807. doi: 10.3389/fimmu.2020.585819.



* Статистически значимые отличия от нормы, $p < 0,05$.

Рисунок 2. Относительный (А) и абсолютный (Б) уровень Treg-клеток при РПЖ



* Статистически значимые отличия от нормы, $p < 0,05$.

Рисунок 3. Относительный (А) и абсолютный (Б) уровень Treg-клеток при РЛ

6. Гариб Ф.Ю., Ризопулу А.П. Стратегия иммунной эвазии патогенов: супрессия иммунного ответа путем активирования Т-регуляторных клеток. *Иммунология*. 2016; 37 (1): 35–46. DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-35-46
Gharib FY, Rizopoulou AP. Cpathogen immune evasion strategy: suppression of the immune response by activation of T regulatory cells. *Immunology*. 2016; 37 (1): 35–46. (In Russ.). DOI: 10.18821/0206-4952-2016-37-1-35-46
7. Li Z., Li D., Tsun A. et al. FOXP3+ regulatory T cells and their functional regulation. *Cell Mol Immunol*. 2015; 12 (5): 558–65. PMID: PMC4579651. DOI: 10.1038/cmi.2015.10
8. Ferreira L.M.R., Muller Y.D., Bluestone J.A. et al. Next-generation regulatory T cell therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2019; 18 (10): 749–769. PMC7773144. DOI: 10.1038/s41573-019-0041-4
9. Wing J.B., Tanaka A., Sakaguchi S. Human FOXP3+ Regulatory T Cell Heterogeneity and Function in Autoimmunity and Cancer. *Immunity*. 2019; 50 (2): 302–316. PMID: 30784578. DOI: 10.1016/j.immuni.2019.01.020
10. Ohue Y., Nishikawa H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target? *Cancer Sci*. 2019; 110 (7): 2080–2089. PMID: 31102428. DOI: 10.1111/cas.14069
11. Саяпина М.С., Борунова А.А., Заботина Т.Н. и др. Анализ динамики субпопуляции Т-регуляторных клеток CD4+CD25+ при метастатическом почечно-клеточном раке. *Российский биотерапевтический журнал*. 2017; 6 (2): 91–96. DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-91-96
Sayapina M.S., Borunova A.A., Zabolina T.N., et al. Analysis of the dynamics of the subpopulation of T-regulatory cells CD4+CD25+ in metastatic renal cell carcinoma. *Russian Journal of Biotherapy*. 2017; 6 (2): 91–96. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-2-91-96
12. Darrasse-Jéze G., Marodon G., Salomon B.L. et al. Ontogeny of CD4+CD25+ regulatory/suppressor T cells in human fetuses. *Blood*. 2005; 105 (12): 4715–21. PMID: 15731180. DOI: 10.1182/blood-2004-10-4051
13. Чуров А.В. Регуляторные Т-клетки и старение организма. *Успехи геронтологии*. 2013; 26 (4): 603–609. Churov A.V. Regulatory T-cells and aging of the organism. *Advances in Gerontology*. 2013; 26 (4): 603–609. (In Russ.).
14. Afshan G., Afzal N., Qureshi S. CD4+CD25(hi) regulatory T cells in healthy males and females mediate gender difference in the prevalence of autoimmune diseases. *Clin Lab*. 2012; 58 (5–6): 567–71. PMID: 22783590.
15. Klein S.L., Flanagan K.L. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 2016; 16 (10): 626–38. PMID: 27546235. DOI: 10.1038/nri.2016.90

Вклад авторов. Мушкаркина Т.Ю. – выполнение и анализ данных проточно-цитометрических исследований, написание текста исследования; Кузьмина Е.Г. – разработка дизайна исследования, анализ данных, общее руководство работой; Гривцова А.Ю. – общее руководство работой, корректировка данных.

Authors' contribution. Mushkarina T. Yu. – implementation and analysis of flow cytometric studies data, writing the study text; Kuzmina E. G. – development of study design, data analysis, general supervision of the work; Grivtsova L. Yu. – general supervision of the work, data correction.

Статья поступила / Received 16.07.2025
Получена после рецензирования / Revised 16.07.2025
Принята в печать / Accepted 12.09.2025

Сведения об авторах

Мушкаркина Татьяна Юрьевна, научный сотрудник отделения клинической иммунологии. ORCID: 0000-0002-1266-1792
Кузьмина Евгения Геннадьевна, к.б.н., ведущий научный сотрудник отделения клинической иммунологии. ORCID: 0000-0002-0728-593X
Бирюков Виталий Александрович, к.м.н., заведующий отделением контактной радиотерапии. ORCID: 0000-0002-6750-521X
Афонин Григорий Владиславович, к.м.н., заведующий отделением лучевого и хирургического лечения заболеваний торакальной области. ORCID: 0000-0002-7128-2397
Гривцова Людмила Юрьевна, д.б.н., заведующая отделением клинической иммунологии. ORCID: 0000-0001-9103-9688

Медицинский радиологический научный центр им. А.Ф. Цыба – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России, Обнинск, Россия

Автор для переписки: Мушкаркина Татьяна Юрьевна. E-mail: jeweltany@gmail.com

Для цитирования: Мушкаркина Т.Ю., Кузьмина Е.Г., Бирюков В.А., Афонин Г.В., Гривцова А.Ю. Исследование циркулирующих регуляторных Т-клеток при солидных раках. *Медицинский алфавит*. 2025; (22): 55–58. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-22-55-58>

About authors

Mushkarina Tatyana Yu., researcher at Dept of Clinical Immunology. ORCID: 0000-0002-1266-1792
Kuzmina Evgenia G., PhD Bio Sci, senior researcher at Dept of Clinical Immunology. ORCID: 0000-0002-0728-593X
Biryukov Vitaly A., PhD Med, head of Dept of Contact Radiotherapy. ORCID: 0000-0002-6750-521X
Afonin Grigory V., PhD Med, head of Dept of Radiation and Surgical Treatment of Thoracic Diseases. ORCID: 0000-0002-7128-2397
Grivtsova Lyudmila Yu., Dr Bio Sci, head of Dept of Clinical Immunology. ORCID: 0000-0001-9103-9688

A. Tsyb Medical Radiological Research Centre – branch of the National Medical Research Radiological Centre of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Corresponding author: Mushkarina Tatyana Yu. E-mail: jeweltany@gmail.com

For citation: Mushkarina T. Yu., Kuzmina E. G., Biryukov V. A., Afonin G. V., Grivtsova L. Yu. Study of circulating regulatory T cells in solid cancers. *Medical alphabet*. 2025; (22): 55–58. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-22-55-58>

