

PU.1 – ядерный маркер иммунокомпетентных клеток опухолевой стромы при колоректальном раке

О.В. Ковалева¹, А.Н. Грачев¹, П.А. Подлесная¹, М.А. Рашидова¹, Д.В. Самойлова¹,
Н.Ю. Соколов¹, З.З. Мамедли¹, Д.А. Кудлай², Н.Е. Кушлинский¹

¹ ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина Минздрава России, Москва, Россия

² ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия

Введение. Макрофаги, ассоциированные с опухолью (МАО), традиционно считаются проопухолевым фактором, способствующим росту многих новообразований. Тем не менее для колоректального рака (КРР) прогностическая значимость МАО до конца не определена, что может быть связано с отсутствием маркеров макрофагов, подходящих для данной опухоли. Цель исследования – изучение экспрессии ядерного маркера стромальных клеток PU.1 в КРР и ее ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками опухолей.

Материалы и методы. Иммуногистохимическим методом проведен анализ экспрессии PU.1, CD68 и CD20 в 85 первичных опухолях пациентов с КРР. Для определения статистически значимых различий в независимых группах использовали критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ экспрессии исследуемых белков проводили с помощью определения коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты. Экспрессия PU.1 и CD68 обнаружена в клетках стромы опухолей в 100% образцов, а CD20 – в 87%. Показано, что при КРР все CD68⁺ или CD20⁺ клетки экспрессируют PU.1, при этом PU.1 и CD20 статистически значимо ассоциированы со стадией заболевания ($p=0,036$; $p=0,002$) и наличием регионарных метастазов ($p=0,022$; $p=0,007$). Отмечена статистически значимая связь экспрессии PU.1 в опухоли с наличием отдаленных метастазов и локализацией новообразования в толстой кишке ($p=0,031$; $p=0,022$). Для CD20 также показана значимая ассоциация маркера с размером КРР ($p=0,025$). Экспрессия CD68 не связана с клинико-морфологическими характеристиками КРР. Кроме того, количество PU.1⁺ клеток в опухолях статистически значимо положительно коррелирует с CD68 ($r=0,231$, $p=0,036$) и CD20 ($r=0,267$, $p=0,015$).

Заключение. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что PU.1 можно рассматривать в качестве независимого маркера благоприятного прогноза при КРР.

Ключевые слова: колоректальный рак, экспрессия CD20, CD68, PU.1, макрофаги, В-клетки

Для корреспонденции: Ольга Владимировна Ковалева. E-mail: ovkovaleva@gmail.com

Для цитирования: Ковалева О.В., Грачев А.Н., Подлесная П.А., Рашидова М.А., Самойлова Д.В., Соколов Н.Ю., Мамедли З.З., Кудлай Д.А., Кушлинский Н.Е. PU.1 – ядерный маркер иммунокомпетентных клеток опухолевой стромы при колоректальном раке. Клини. эксп. морфология. 2021;10(2):32–39. DOI: 10.31088/СЕМ2021.10.2.32-39.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-29-09069.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила 30.03.2021. Получена после рецензирования 14.04.2021. Принята в печать 21.04.2021.

PU.1 is a nuclear factor of immunocompetent cells of tumor stroma in colorectal cancer

O.V. Kovaleva¹, A.N. Gratchev¹, P.A. Podlesnaya¹, M.A. Rashidova¹, D.V. Samoilova¹,
N.Yu. Sokolov¹, Z.Z. Mamedli¹, D.A. Kudlay², N.E. Kushlinskii¹

¹ N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), Moscow, Russia

Introduction. Tumor-associated macrophages (TAMs) are traditionally considered to be a pro-tumor factor that promotes the growth of various tumors; however, for colorectal carcinomas (CRC), the prognostic significance of TAMs has not been fully determined, which may be due to the lack of macrophage markers suitable for this tumor type. The aim of this work was to study the expression of the nuclear marker of stromal cells PU.1 in colorectal tumors and its association with the clinical and morphological tumor characteristics.

Materials and methods. We performed an immunohistochemical analysis to assess the expression of PU.1, CD68, and CD20 in 85 primary CRCs. The Mann-Whitney test was used to determine statistically significant differences in independent groups. Correlation analysis of the expression of the studied protein was carried out by determining the Spearman's rank correlation coefficient. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$.

Results. We analyzed the expression of PU.1, CD68, and CD20 in CRC and detected positive PU.1 and CD68 expressions in tumor stromal cells in all of the studied samples. Expression of CD20 was observed in 87% of cases. We showed that in colorectal tumors all CD68+ or CD20+ cells express PU.1 and that PU.1 and CD20 were significantly associated with the disease stage ($p=0.036$ and $p=0.002$) and the presence or absence of regional metastases ($p=0.022$ and $p=0.007$). In addition, PU.1 showed a significant correlation with the distant metastases' presence and tumor localization ($p=0.031$ and $p=0.022$). Higher content of PU.1 was typical for colon tumors without metastases. CD20 also showed a significant association with tumor size ($p=0.025$). No significant correlations with clinical and morphological features were found for CD68. We also demonstrated that the number of PU.1+ cells in tumors significantly positively correlates with CD68 ($r=0.231$, $p=0.036$) and CD20 ($r=0.267$, $p=0.015$).

Conclusion. The results of this study indicate that PU.1 can be considered as an independent marker of a favorable prognosis in CRC patients.

Keywords: colorectal cancer, expression, CD20, CD68, PU.1, macrophages, B-cells

Corresponding author: Olga V. Kovaleva. E-mail: ovkovaleva@gmail.com

For citation: Kovaleva O.V., Gratchev A.N., Podlesnaya P.A., Rashidova M.A., SamoiloVA D.V., Sokolov N.Yu., Mamedli Z.Z., Kudlay D.A., Kushlinskii N.E. PU.1 is a nuclear factor of immunocompetent cells of tumor stroma in colorectal cancer. *Clin. exp. morphology.* 2021;10(2):32–39. DOI: 10.31088/CEM2021.10.2.32–39 (In Russ.).

Funding. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research, Project No. 18-29-09069.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 30.03.2021. **Received in revised form** 14.04.2021. **Accepted** 21.04.2021.

Введение

Изучение противоопухолевого иммунитета стало неотъемлемой частью исследований, посвященных биологии рака. Активность иммунной системы может как защищать от возникновения опухолей, так и способствовать их появлению и развитию [1]. Макрофаги, ассоциированные с опухолью (MAO), традиционно считаются проопухолевым фактором, способствующим росту многих новообразований [2]. Для колоректального рака (КРР) прогностическая значимость MAO до конца не определена, но некоторые исследователи рассматривают их как фактор благоприятного прогноза для данного типа опухолей [3, 4]. Высокий уровень инфильтрации опухолей Т-клетками для многих типов новообразований, включая КРР, является фактором благоприятного прогноза [5, 6]. Инфильтрация опухоли CD20⁺ В-клетками считается благоприятным прогностическим фактором рака молочной железы, шейки матки, а также немелкоклеточного рака легкого [7–9]. Для КРР инфильтрация опухоли CD20⁺ клетками также может быть фактором благоприятного прогноза [10].

PU.1 представляет собой транскрипционный фактор, играющий важную роль в гемопоэзе. Экспрессия PU.1 необходима для нормального гемопоэза и наблюдается в различных гемопоэтических клетках, включая CD34⁺ клетки, макрофаги, В-лимфоциты, нейтрофилы, тучные клетки, ранние эритробласты и остеокласты. PU.1 регулирует экспрессию важных миелоидных генов, таких как рецепторы M-CSF, G-CSF

и GM-CSF. Уровень экспрессии PU.1 определяет развитие клетки-предшественника в макрофаг, гранулоцит или В-лимфоцит. Низкий уровень экспрессии PU.1 ассоциирован с В-клеточной дифференцировкой, в то время как высокий уровень экспрессии данного белка стимулирует развитие макрофагов. Опубликовано всего два исследования, посвященных экспрессии PU.1 в солидных опухолях и ее прогностической значимости [11, 12].

Так как PU.1 экспрессируется в разных типах клеток воспалительного инфильтрата опухолей, в представленном нами исследовании впервые проведено комплексное изучение экспрессии CD20, CD68 и PU.1 в опухолях пациентов с КРР, проанализирована их связь с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

Материалы и методы

В исследование были включены 85 первичных пациентов с КРР, проходивших обследование и лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии им. Н.Н. Блохина. Все процедуры, выполненные в исследовании, соответствуют стандартам этического комитета организации, Хельсинкской декларации 1964 года и ее последующим изменениям. От каждого включенного в исследование участника получено добровольное информированное согласие. Клинический диагноз у всех пациентов подтвержден данными морфологического исследования опухоли со-

гласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019), у всех выявлена аденокарцинома толстой кишки. Детальное описание исследуемой выборки представлено в таблице 1.

Иммуногистохимический анализ

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование экспрессии CD68, PU.1 и CD20 выполнено по стандартной методике на срезах опухолевой ткани. Для демаскировки антигена использовали Tris-EDTA буфер pH 9,0 («ПраймБиоМед», Россия). Первичные антитела к PU.1 (4G6; «ПраймБиоМед», Россия, разведение 1:200), CD68 (GR021, 61-0184 Genemed, США, разведение 1:100) и CD20 (RM272, SAB5600082, Sigma-Aldrich, США, разведение 1:1000) инкубировали в течение 30 минут. Использовали систему детекции PrimeVision Ms/Rb HRP/DAV (78-310004, «ПраймБиоМед», Россия) и двухцветную систему детекции Power Stain Ms/HRP – Rb/AP (52-0023, Genemed, США) согласно инструкции производителя.

Полученные препараты оценивали с помощью микроскопа BX53 (Olympus, Япония), камеры INFINITY2-2C (Lumenera, Канада) и программного обеспечения Infinity analyze (Lumenera, Канада). Экспрессию CD68, PU.1 и CD20 оценивали в строме опухоли. В каждом случае оценку количества CD68, PU.1 и CD20 положительных клеток осуществляли при $\times 400$ в 5 независимых полях зрения путем прямого подсчета. Содержание CD68, PU.1 и CD20 в строме опухоли выражали как среднее значение количества клеток в поле зрения.

Статистический анализ

Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием пакета статистических программ GraphPad Prism v. 9. Проверку вариационных рядов на нормальность производили с помощью критериев Колмогорова–Смирнова и Д'Агостино. Для определения статистически значимых различий в независимых группах использовали критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ экспрессии исследуемых белков проводили с помощью определения коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Статистически достоверными считались различия при $p < 0,05$.

Результаты

Экспрессия PU.1, CD20, CD68 в опухолях пациентов с KPP

Экспрессию PU.1 и CD68 выявили в 100% исследованных образцов KPP, а CD20 – в 87% случаев (74 из 85). Анализ результатов исследования показал, что среднее содержание PU.1⁺ клеток в образце составляет 28,7 (3,2–67,2) клетки в поле зрения. Содержание CD68⁺ клеток составило 25,6 (9,6–44,8) в поле зрения, CD20⁺ клеток – 10,3 (2,6–57,4). Таким образом, В-клетки обнаружены в опухолях пациентов с KPP в значительно меньшем количестве по сравнению с другими типами

Таблица 1 | Table 1

Клинико-морфологические характеристики пациентов с KPP | Clinical and pathological features of 85 CRC patients

Характеристика Feature	Абс. (Отн.) Abs. (Relative)
Возраст Age	
≤60	30 (35%)
>60	55 (65%)
Пол Sex	
мужской male	46 (54%)
женский female	39 (46%)
Стадия заболевания Stage	
I–II	57 (67%)
III–IV	28 (33%)
Размер первичной опухоли Primary tumor size	
T1–2	27 (32%)
T3–4	58 (42%)
Наличие регионарных метастазов Nodal status	
N–	62 (73%)
N+	23 (27%)
Наличие отдаленных метастазов Metastases	
M–	73 (86%)
M+	12 (14%)
Степень дифференцировки опухоли Tumor grade	
G1	21 (25%)
G2/3	64 (75%)
Локализация опухоли Tumor localization	
прямая кишка rectum	30 (35%)
толстая кишка colon	55 (65%)

клеток воспалительного инфильтрата. Распределение содержания клеток между образцами и примеры ИГХ окрашивания представлены на рисунке 1.

Из приведенных фотографий следует, что CD68⁺ макрофаги располагаются равномерно в строме опухоли. CD20⁺ клетки могут как диффузно локализоваться в строме опухоли, так и образовывать очаговые лимфоидные инфильтраты. CD20⁺ плазмочитарные лимфоидные инфильтраты обнаружены в 55% образцов (47 из 85). PU.1 экспрессируется разными типами клеток, преимущественно макрофагами и В-клетками с различной интенсивностью. Макрофаги характеризуются максимальной экспрессией PU.1 по сравнению с В-клетками.

Далее провели попарное двойное окрашивание PU.1/CD20 и PU.1/CD68 для того, чтобы определить, экспрессируют ли PU.1 все CD20⁺ и CD68⁺ клетки. Результаты окрашивания представлены на рисунке 2.

Проведенный анализ показал, что все CD68⁺ или CD20⁺ клетки экспрессируют PU.1.

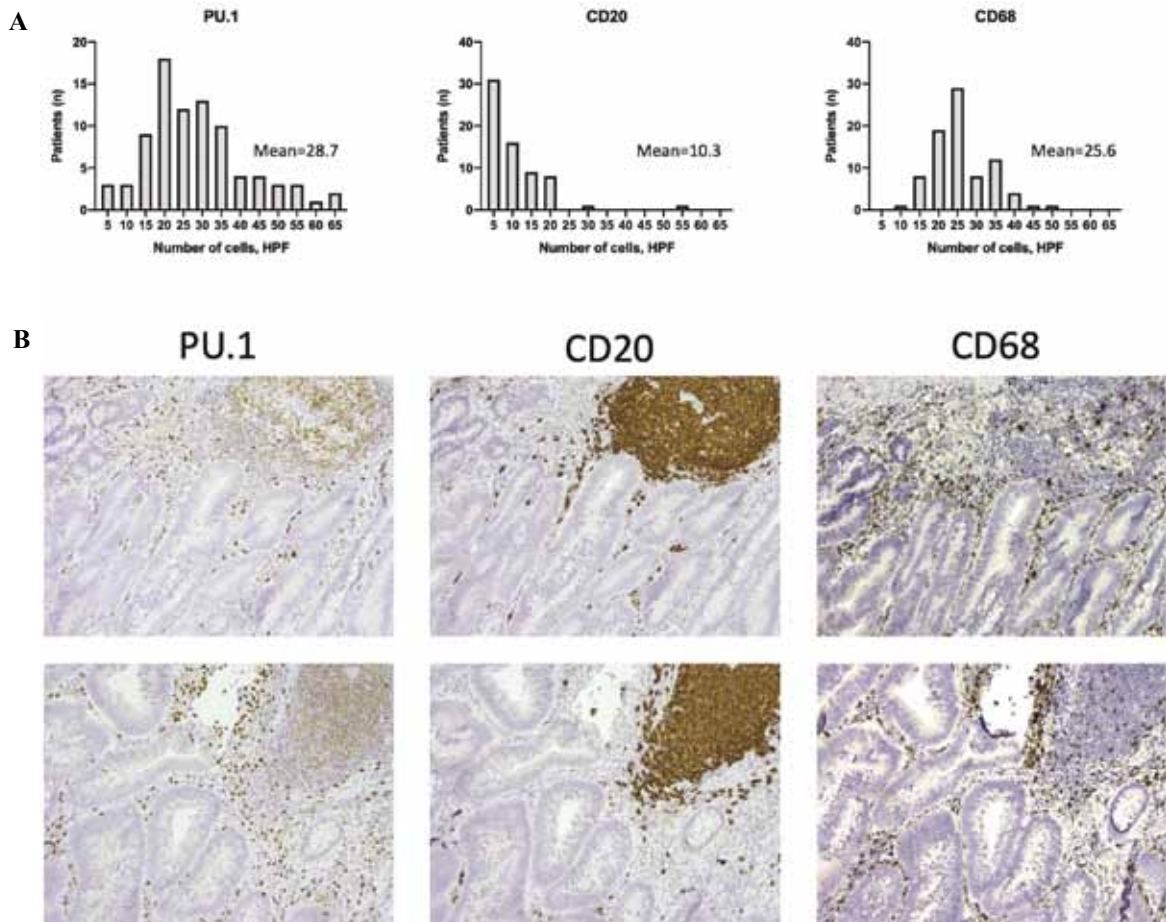


Рис. 1. Экспрессия CD68, PU.1 и CD20 в строме КРП.

А – распределение содержания CD68⁺, PU.1⁺ и CD20⁺ клеток у 80 пациентов с КРП, В – пример индивидуального окрашивания CD68, PU.1 и CD20 в строме КРП (×100)

Fig. 1. CD68, PU.1, and CD20 expression in the CRC stroma.

А – distribution of infiltrating CD68⁺, PU.1⁺, and CD20⁺ cells in the cohort of 80 CRC patients, В – staining pattern illustration of CD68, PU.1, and CD20 in the CRC stroma (×100)

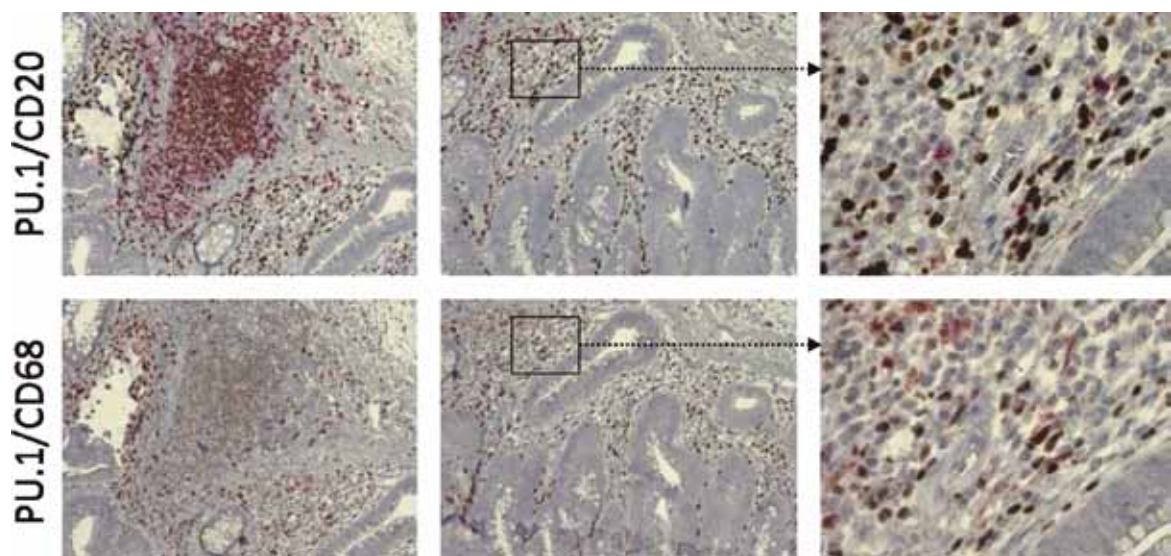


Рис. 2. Двойное окрашивание PU.1/CD20 и PU.1/CD68 в строме опухолей пациентов с КРП. PU.1 – коричневое окрашивание, CD20 и CD68 – красное окрашивание (×100, правая панель ×400)

Fig. 2. Double staining PU.1/CD20 and PU.1/CD68 in the CRC stroma. PU.1 – brown staining, CD20 and CD68 – red staining (×100, right panel ×400)

Ассоциация содержания CD68, PU.1 и CD20 с клиническими и морфологическими характеристиками КРР

Провели анализ содержания CD68, PU.1 и CD20 положительных клеток в строме КРР с учетом основных клинико-морфологических характеристик заболевания. Результаты представлены в таблице 2.

Показано, что PU.1 и CD20 статистически значимо ассоциированы со стадией КРР и наличием регионарных метастазов, при этом для начальных стадий заболевания и при отсутствии метастазов в лимфоузлах наблюдали большее количество PU.1⁺ и CD20⁺ клеток. Помимо этого, для PU.1 выявлена статистически значимая связь маркера с наличием отдаленных метастазов и локализацией новообразования в толстой кишке. Большее количество PU.1⁺ клеток характерно для опухолей толстой кишки при отсутствии метастазов. Для CD20 также показана

статистически значимая ассоциация маркера с размером опухоли. Для CD68 не выявлены значимые связи с основными клиническими и морфологическими характеристиками КРР. Необходимо отметить, что наличие в опухоли CD20⁺ очаговых лимфоидных инфильтратов не связано с клинико-морфологическими характеристиками КРР (данные не представлены).

Провели корреляционный анализ экспрессии PU.1, CD20 и CD68 в опухолях пациентов с КРР. Результаты представлены в таблице 3.

На основании анализа полученных данных следует отметить, что содержание PU.1⁺ клеток в КРР статистически значимо положительно коррелирует с CD68 ($r=0,231$, $p=0,036$) и CD20 ($r=0,267$, $p=0,015$). Кроме того, необходимо указать на положительную корреляционную связь между содержанием CD68⁺ и CD20⁺ клеток в строме КРР.

Таблица 2 | Table 2

Ассоциация содержания PU.1, CD20 и CD68 с учетом клинических и морфологических характеристик КРР | PU.1, CD20, and CD68 associated with clinical and morphological features of CRC

Факторы Factors	N	PU.1		CD20		CD68	
		Среднее (мин.–макс.) Mean (min–max)	p	Среднее (мин.–макс.) Mean (min–max)	p	Среднее (мин.–макс.) Mean (min–max)	p
Возраст Age			0,293		0,995		0,188
≤60	30	26,74 (5,2–64,6)		8,17 (0–28,4)		23,77 (0–40,6)	
>60	55	29,71 (3,2–67,2)		8,22 (0–57,4)		26,5 (9,6–44,8)	
Пол Sex			0,666		0,717		0,476
мужской male	46	29,39 (5,2–67,2)		7,16 (0–22)		24,4 (0–44,2)	
женский female	39	27,8 (3,2–64,6)		9,44 (0–57,4)		26,3 (12–44,8)	
Стадия заболевания Stage			0,036		0,002		0,690
I–II	57	30,52 (3,2–67,2)		9,8 (0–57,4)		25,3 (0–44,8)	
III–IV	28	24,88 (5,2–64,6)		4,8 (0–19,2)		25,13 (12–40,6)	
Размер опухоли Tumor size			0,451		0,025		0,608
T1–T2	27	30,24 (5,8–61)		10,1 (0–28,4)		24,2 (0–44,2)	
T3–T4	58	27,92 (3,2–67,2)		7,29 (0–57,4)		25,7 (9,6–44,8)	
Наличие регионарных метастазов Nodal status			0,022		0,007		0,744
N0	62	30,64 (3,2–67,2)		9,4 (0–57,4)		25 (0–44,8)	
N+	23	23,32 (5,2–57,2)		4,8 (0–19,2)		25,9 (16–40,6)	
Наличие отдаленных метастазов Metastases			0,031		0,087		0,148
M0	73	29,63 (3,2–67,2)		8,7 (0–57,4)		25,6 (0–44,8)	
M+	12	22,77 (5,2–64,6)		4,8 (0–14,2)		23 (12–33,6)	
Степень дифференцировки опухоли Tumor grade			0,849		0,543		0,295
G1	21	29,11 (12,6–61)		9,9 (0–57,4)		23,6 (0–44,8)	
G2/3	64	28,51 (3,2–67,2)		7,62 (0–28,4)		25,8 (9,6–44,2)	
Локализация опухоли Tumor localization			0,022		0,538		0,672
прямая кишка rectum	30	23,95 (5,2–53,2)		7,88 (0–57,4)		25 (0–44,8)	
толстая кишка colon	55	31,23 (3,2–67,2)		8,79 (0–28,4)		25,6 (12–44,2)	

Таблица 3 | Table 3

**Корреляционный анализ экспрессии PU.1, CD20 и CD68 |
PU.1, CD20, and CD68 expression correlation analysis**

Маркеры Markers	PU.1	CD20	CD68
PU.1			
г		0,333	0,231
р		0,002	0,036
CD20			
г	0,333		0,267
р	0,002		0,015
CD68			
г	0,231	0,267	
р	0,036	0,015	

Обсуждение

КРР является актуальной проблемой современной онкологии, требующей разработки новых терапевтических стратегий. Ввиду повсеместного распространения иммунотерапевтических методов лечения в последнее время все больше внимания уделяют исследованию состава опухолевого микроокружения. С одной стороны, большое число научных работ посвящено опухолюассоциированным фибробластам, а с другой – иммунному компоненту стромы опухоли. Анализируя воспалительный инфильтрат, в большинстве работ исследовали макрофаги, ассоциированные с опухолью. Прогностическая роль количества MAO при КРР неоднозначна. Так, одни исследователи выявили связь MAO с прогрессией заболевания [13], в то время как другие указывают на их благоприятную прогностическую значимость [3]. Помимо исследования макрофагов большое число работ посвящено анализу прогностической значимости различных типов Т-клеток в опухолях [14]. По данным литературы, изучение инфильтрации опухоли В-клетками при КРР представлено небольшим числом исследований, при этом высокое содержание В-клеток в опухоли чаще ассоциировано с благоприятным прогнозом заболевания [10]. PU.1 относится к семейству транскрипционных факторов E26, необходимых для развития иммунной системы, и кодируется геном *Sp1*. PU.1 участвует в гемопоэзе, его экспрессия определяет развитие лимфоидных и миелоидных клеток, в особенности макрофагов, гранулоцитов, дендритных клеток, а также играет важную роль в дифференцировке иммунных клеток по лимфоидному типу. Высокий уровень экспрессии PU.1 характерен для миелоидных клеток [15], в то время как В-клетки экспрессируют его в меньшем количестве [16]. Несколько более низкий уровень экспрессии маркера отмечен в гранулоцитах, мегакариоцитах, тучных клетках и незрелых клетках эритроидного ряда. Зрелые Т-лимфоциты не экспрессируют PU.1. В контексте солидных опухолей изучение прогностической и клинической значимости экспрессии PU.1 проведено для рака молочной железы и глиом [11, 12], причем для обеих нозологий показана связь экспрессии маркера с прогрессией и неблагоприятным

прогнозом. Учитывая тот факт, что PU.1 продуцируется как макрофагами, так и В-клетками, нами проведено комплексное исследование экспрессии PU.1⁺, CD68⁺ и CD20⁺ клеток в строме КРР. Анализ полученных нами данных выявил высокий уровень инфильтрации опухолей у пациентов с КРР иммунными клетками. Содержание макрофагов в опухоли в целом было значительно больше по сравнению с В-клетками. Кроме того, обнаружено, что все клетки, экспрессирующие на своей поверхности общий макрофагальный маркер CD68 и маркер В-клеток – CD20, также экспрессируют PU.1. На основании этого можно сделать вывод, что все макрофаги и В-клетки, инфильтрирующие КРР, PU.1 положительны. Дополнительно провели корреляционный анализ и выявили, что содержание PU.1⁺ клеток в опухолях статистически значимо положительно коррелирует с CD68 ($r=0,231$, $p=0,036$) и CD20 ($r=0,267$, $p=0,015$). Необходимо отметить, что не все PU.1⁺ клетки экспрессируют CD68 или CD20, что свидетельствует о наличии в опухоли дополнительной популяции PU.1⁺ клеток. Таким образом, оценка экспрессии PU.1 в опухоли может служить самостоятельным прогностическим фактором при КРР независимо от CD68 и CD20. Проведенный анализ содержания PU.1⁺, CD68⁺ и CD20⁺ клеток и их ассоциации с клиническими и морфологическими характеристиками КРР показал, что PU.1 и CD20 статистически значимо ассоциированы со стадией заболевания и наличием регионарных метастазов. Для начальных стадий заболевания и при отсутствии метастазов в лимфоузлах наблюдается большее количество PU.1⁺ и CD20⁺ клеток, что согласуется с данными литературы о благоприятном влиянии большого количества CD20⁺ клеток на течение заболевания [17]. Помимо этого, для PU.1 показана статистически значимая корреляционная связь с наличием отдаленных метастазов и локализацией новообразования в толстой кишке. Большее содержание PU.1 характерно для опухолей толстой кишки и при отсутствии метастазов. Для CD20 также показана значимая ассоциация с размером опухоли – новообразования меньшего размера содержат большее количество В-клеток. Для CD68 ассоциации с клинико-морфологическими характеристиками КРР не выявлены. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что экспрессию PU.1 в КРР можно рассматривать как независимый фактор благоприятного прогноза.

Заключение

В настоящем исследовании показано, что во всех колоректальных карциномах присутствуют значительные количества иммунокомпетентных клеток, экспрессирующих ядерный маркер, характерный для макрофагов, гранулоцитов и В-клеток, – PU.1, а также маркер макрофагов – CD68 и В-клеток – CD20. Количество PU.1⁺ клеток коррелировало с клинико-морфологическими характеристиками опухоли, указывающими на благоприятный прогноз заболевания; аналогичные

корреляции выявили и для количества CD20⁺ клеток. При этом для CD68 такие корреляции не наблюдали. Таким образом, маркер PU.1 у пациентов с КРР следует рассматривать как независимый стромальный фактор благоприятного прогноза.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – А.Н. Грачев, Д.А. Кудлай, Н.Е. Кушлинский.
Сбор и обработка материала – П.А. Подлесная, М.А. Рашидова, Д.В. Самойлова, Н.Ю. Соколов, З.З. Мамедли.
Написание текста – О.В. Ковалева.
Редактирование – О.В. Ковалева.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – A.N. Gratchev, D.A. Kudlay, N.E. Kushlinskii.
Collected the data and performed the analysis – P.A. Podlesnaya, M.A. Rashidova, D.V. Samoilova, N.Yu. Sokolov, Z.Z. Mamedli.
Wrote the paper – O.V. Kovaleva.
Edited the manuscript – O.V. Kovaleva.

Литература/References

1. *Ostrand-Rosenberg S.* Immune surveillance: A balance between protumor and antitumor immunity. *Curr Opin Genet. Dev.* 2008;18(1):11–8. DOI: 10.1016/j.gde.2007.12.007.
2. *Qian BZ, Pollard JW.* Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell.* 2010;141(1):39–51. DOI: 10.1016/j.cell.2010.03.014.
3. *Forssell J, Oberg A, Henriksson ML, Stenling R, Jung A, Palmqvist R.* High macrophage infiltration along the tumor front correlates with improved survival in colon cancer. *Clin Cancer Res.* 2007;13(5):1472–9. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-2073.
4. *Jakubowska K, Koda M, Kisielewski W, Kańczuga-Koda L, Famulski W.* Prognostic significance of inflammatory cell response in patients with colorectal cancer. *Oncol Lett.* 2019;18(1):783–91. DOI: 10.3892/ol.2019.10343.
5. *Naito Y, Saito K, Shiiba K, Ohuchi A, Saigenji K, Nagura H et al.* CD8⁺ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58(16):3491–4. PMID: 9721846.
6. *Diederichsen AC, Hjelmberg Jv, Christensen PB, Zeuthen J, Fenger C.* Prognostic value of the CD4⁺/CD8⁺ ratio of tumour infiltrating lymphocytes in colorectal cancer and HLA-DR expression on tumour cells. *Cancer Immunol Immunother.* 2003;52(7):423–8. DOI: 10.1007/s00262-003-0388-5.
7. *Al-Shibli KI, Donnem T, Al-Saad S, Persson M, Bremnes RM, Busund LT.* Prognostic effect of epithelial and stromal lymphocyte infiltration in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(16):5220–7. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0133.
8. *Nedergaard BS, Ladekarl M, Nyengaard JR, Nielsen K.* A comparative study of the cellular immune response in patients with stage IB cervical squamous cell carcinoma. Low numbers of several immune cell subtypes are strongly associated with relapse of disease within 5 years. *Gynecol Oncol.* 2008;108(1):106–11. DOI:10.1016/j.ygyno.2007.08.089.
9. *Schmidt M, Böhm D, von Törne C, Steiner E, Puhl A, Pilch H et al.* The humoral immune system has a key prognostic impact in node-negative breast cancer. *Cancer Res.* 2008;68(13):5405–13. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-07-5206.
10. *Berntsson J, Nodin B, Eberhard J, Micke P, Jirstrom K.* Prognostic impact of tumour-infiltrating B cells and plasma cells in colorectal cancer. *Int J Cancer.* 2016;139(5):1129–39. DOI:10.1002/ijc.30138.
11. *Xu Y, Gu S, Bi Y, Qi X, Yan Y, Lou M.* Transcription factor PU.1 is involved in the progression of glioma. *Oncol Lett.* 2018;15(3):3753–9. DOI:10.3892/ol.2018.7766.
12. *Lin J, Liu W, Luan T, Yuan L, Jiang W, Cai H et al.* High expression of PU.1 is associated with Her-2 and shorter survival in patients with breast cancer. *Oncol Lett.* 2017;14(6):8220–6. DOI:10.3892/ol.2017.7204.
13. *Feng Q, Chang W, Mao Y, He G, Zheng P, Tang W et al.* Tumor-associated macrophages as prognostic and predictive biomarkers for postoperative adjuvant chemotherapy in patients with stage II colon cancer. *Clin Cancer Res.* 2019;25(13):3896–907. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-18-2076.
14. *Kuwahara T, Hazama S, Suzuki N, Yoshida S, Tomochika S, Nakagami Y et al.* Intratumoural-infiltrating CD4⁺ and FOXP3⁺ T cells as strong positive predictive markers for the prognosis of resectable colorectal cancer. *Br J Cancer.* 2019;121(8):659–65. DOI:10.1038/s41416-019-0559-6.
15. *Heinz S, Benner C, Spann N, Bertolino E, Lin YC, Laslo P et al.* Simple combinations of lineage-determining transcription factors prime cis-regulatory elements required for macrophage and B cell identities. *Mol Cell.* 2010;38(4):576–89. DOI:10.1016/j.molcel.2010.05.004.
16. *Pang SHM, de Graaf CA, Hilton DJ, Huntington ND, Carotta S, Wu L et al.* PU.1 is required for the developmental progression of multipotent progenitors to common lymphoid progenitors. *Front Immunol.* 2018;9:1264. DOI:10.3389/fimmu.2018.01264.
17. *Meshcheryakova A, Tamandl D, Bajna E, Stift J, Mittlboeck M, Svoboda M et al.* B cells and ectopic follicular structures: novel players in anti-tumor programming with prognostic power for patients with metastatic colorectal cancer. *PloS One.* 2014;9(6):e99008. DOI:10.1371/journal.pone.0099008.

Информация об авторах

Ольга Владимировна Ковалева – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории регуляции клеточных и вирусных онкогенов НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Алексей Николаевич Грачев – доктор биологических наук, заведующий лабораторией биологии стромальных клеток опухолей НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Полина Алексеевна Подлесная – лаборант-исследователь лаборатории биологии стромальных клеток опухолей НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Мадина Абдуллаевна Рашидова – лаборант-исследователь лаборатории биологии стромальных клеток опухолей НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Дарья Викторовна Самойлова – младший научный сотрудник лаборатории биологии стромальных клеток опухолей
НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Николай Юрьевич Соколов – кандидат медицинских наук, врач-химиотерапевт НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Заман Заурович Мамедли – кандидат медицинских наук, заведующий отделением онкопроктологии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Дмитрий Анатольевич Кудлай – доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии Института фармации им. А.П. Нелюбина
Первого МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский университет).

Николай Евгеньевич Кушлинский – доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической
биохимии НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина.

Author information

Olga V. Kovaleva – Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Laboratory of Regulation of Cellular and Viral Oncogenes, N.N. Blokhin National
Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0001-6132-9924>

Alexei N. Gratchev – Dr. Sci. (Biol.), Head of the Laboratory of Tumor Stromal Cell Biology, N.N. Blokhin National Medical Research
Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0003-2137-1866>

Polina A. Podlesnaya – Research Assistant, Laboratory of Tumor Stromal Cell Biology, N.N. Blokhin National Medical Research
Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0003-2312-5546>

Madina A. Rashidova – Research Assistant, Laboratory of Tumor Stromal Cell Biology, N.N. Blokhin National Medical Research
Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0002-3267-4232>

Daria V. Samoilova – Junior Researcher, Laboratory of Tumor Stromal Cell Biology, N.N. Blokhin National Medical Research
Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0001-5639-0835>

Nikolay Yu. Sokolov – Cand. Sci. (Med.), Medical Oncologist, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0002-0706-9575>

Zaman Z. Mamedli – Cand. Sci. (Med.), Head of the Oncoproctology Department, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0002-9289-1247>

Dmitriy A. Kudlay – Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Pharmacology, A.P. Nelyubin Institute of Pharmacy, I.M. Sechenov First
Moscow State Medical University (Sechenov University).

<https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>

Nikolay E. Kushlinskii – Dr. Sci. (Med.), Professor, Academician of RAS, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry, N.N. Blokhin
National Medical Research Center of Oncology.

<https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>