DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-104-111

CC BY 4.0

Динамика субпопуляций циркулирующих нейтрофилов CD15⁺CD66b⁺ и CD62L⁺CD63⁺ у пациентов с доброкачественными новообразованиями почки и с прогрессированием рака почки

И.Р. Мягдиева[1], Т.В. Абакумова[1], Д.Р. Долгова[1], О.Ю. Горшков[2], Т.П. Генинг[1], Р.Ш. Зайнеева[1], С.А. Тимофеева[1]

[1]ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет»; Россия, 432017 Ульяновск, ул. Льва Толстого, 42;
[2]ГУЗ «Областной клинический онкологический диспансер»; Россия, 432017 Ульяновск, ул. 12 Сентября, 90

Контакты: Ильсея Ринатовна Мягдиева *ilseya2015@yandex.ru*

Введение. В связи с неоднозначной ролью нейтрофилов в канцерогенезе актуальным является изучение их фенотипической трансформации и субпопуляционного состава, определяющего проопухолевый (CD15⁺CD66b⁺) или противоопухолевый (CD62L⁺CD63⁺) потенциал.

Цель исследования – оценка динамики субпопуляций циркулирующих нейтрофилов CD15⁺CD66b⁺, CD62L⁺CD63⁺ у пациентов с доброкачественными новообразованиями почки и у больных с прогрессированием рака почки.

Материалы и методы. Объектом исследования явились циркулирующие нейтрофилы пациентов с доброкачественными новообразованиями почки и больных раком почки. Количество нейтрофилов монопопуляций CD15⁺, CD66b⁺, CD62L⁺, CD63⁺, CD95⁺ и субпопуляций CD15⁺CD66b⁺, CD62L⁺CD63⁺ оценивали с помощью проточной цитометрии (BioSino, Китай). Статистическую обработку проводили с использованием программ Statistica 13 и Jamovi 2.3.28.

Результаты. Выявлено значимое повышение количества монопопуляций нейтрофилов CD15⁺, CD62L⁺ и CD66b⁺ у пациентов с доброкачественными новообразованиями почки и у больных раком почки, а также количества CD15⁺CD66b⁺-нейтрофилов у пациентов с доброкачественными опухолями почки и у больных раком почки I–II стадии по сравнению с контролем. Доля CD62L⁺CD63⁺-нейтрофилов у больных с доброкачественными новообразованиями была в 3 раза выше, чем у больных раком почки I–II стадии, и в 2 раза выше, чем у больных распространенным раком почки. В регрессионной модели Кокса изменение количества CD15⁺CD66b⁺- и CD62L⁺CD63⁺-нейтрофилов на фоне увеличения количества лейкоцитов служит прогностическим маркером рака почки для пациентов старше 68 лет.

Заключение. Количество циркулирующих нейтрофилов с проопухолевым фенотипом CD15⁺CD66b⁺ при доброкачественных новообразованиях почки выше по сравнению с контролем и сохраняется на этом уровне на всех стадиях канцерогенеза. Количество циркулирующих нейтрофилов противоопухолевого фенотипа CD62L⁺CD63⁺ значимо возрастает при доброкачественных новообразованиях почки и снижается на всех стадиях канцерогенеза. Оценка фенотипа циркулирующих нейтрофилов позволяет определить риск возникновения новообразований почки.

Ключевые слова: CD15⁺CD66b⁺-нейтрофилы, CD62L⁺CD63⁺-нейтрофилы, рак почки, доброкачественное новообразование почки

Для цитирования: Мягдиева И.Р., Абакумова Т.В., Долгова Д.Р. и др. Динамика субпопуляций циркулирующих нейтрофилов CD15⁺CD66b⁺ и CD62L⁺CD63⁺ у пациентов с доброкачественными новообразованиями почки и с прогрессированием рака почки. Успехи молекулярной онкологии 2025;12(2):104–11.
DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-104-111

Dynamics of subpopulations of CD15⁺CD66b⁺ and CD62L⁺CD63⁺ circulating neutrophils in patients with benign neoplasms and progression of kidney cancer

I.R. Myagdieva[1], T.V. Abakumova[1], D.R. Dolgova[1], O.Yu. Gorshkov[2], T.P. Gening[1], R.Sh. Zaineeva[1], S.A. Timofeeva[1]

[1]Ulyanovsk State University; 42 L'va Tolstogo St., Ulyanovsk 432017, Russia;
[2]Regional Clinical Oncology Dispensary; 90 12th September St., Ulyanovsk 432017, Russia

Contacts: Ilseya Rinatovna Myagdieva *ilseya2015@yandex.ru*

Introduction. Due to the ambiguous role of neutrophils in carcinogenesis, it is relevant to study their phenotypic transformation and subpopulation composition that determines protumor ($CD15^+CD66b^+$) or antitumor ($CD62L^+CD63^+$) potential.

Aim. To assess the dynamics of $CD15^+CD66b^+$ and $CD62L^+CD6^+$ circulating neutrophil subpopulations in patients with benign neoplasms and during the progression of kidney cancer.

Materials and methods. The study focused on circulating neutrophils from patients with benign neoplasms and kidney cancer. The phenotype of monopopulations ($CD15^+$, $CD66b^+$, $CD62L^+$, $CD63^+$, $CD95^+$) and subpopulations ($CD15^+CD66b^+$, $CD62L^+CD63^+$) of neutrophils was assessed using flow cytometry (BioSino, China). Statistical analysis was performed using Statistica 13 and Jamovi 2.3.28.

Results. A significant increase in the number of $CD15^+$, $CD62L^+$, and $CD66b^+$ neutrophil monopopulations, as well as in the number of $CD15^+CD66b^+$ neutrophils, was observed in the groups of patients with benign kidney tumors and kidney cancer compared to the control group. In patients with benign renal tumors, the percentage of $CD62L^+CD63^+$ neutrophils was three times higher than in patients with stage I–II kidney cancer, and twice as high as in those with advanced kidney cancer. According to the Cox regression model, changes in the numbers of $CD15^+CD66b^+$ and $CD62L^+CD63^+$ neutrophils, alongside an increase in leukocyte count, serve as prognostic markers of kidney cancer in patients over 68 years of age.

Conclusion. The number of circulating neutrophils with a protumor phenotype ($CD15^+CD66b^+$) increases even at the stage of benign kidney neoplasms compared to controls and remains elevated throughout all stages of carcinogenesis. Meanwhile, the number of circulating neutrophils with an antitumor phenotype ($CD62L^+CD63^+$) significantly increases in benign renal neoplasms but decreases during cancer progression. Assessment of the circulating neutrophil phenotype may help predict the risk of kidney neoplasms.

Keywords: $CD15^+CD66b^+$ neutrophils, $CD62L^+CD63^+$ neutrophils, kidney cancer, benign kidney tumor

For citation: Myagdieva I.R., Abakumova T.V., Dolgova D.R. et al. Dynamics of subpopulations of $CD15^+CD66b^+$ and $CD62L^+CD63^+$ circulating neutrophils in patients with benign neoplasms and progression of kidney cancer. Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2025;12(2):104–11. (In Russ.).
DOI: https://doi.org/10.17650/2313-805X-2025-12-2-104-111

ВВЕДЕНИЕ

Рак почки (РП) составляет около 3 % всех злокачественных новообразований и 97 % всех опухолей почки в мире [1]. В последнее десятилетие отмечено появление новых иммунологических подходов к лечению данной патологии. Иммунотерапия основана на подавлении иммунной супрессии и усилении иммунологического надзора путем ингибирования контрольных иммунных точек [2, 3].

Применение иммунотерапевтического метода для комбинированного лечения РП требует детального изучения иммунопатогенеза данной патологии [4], поскольку эффективность иммунотерапии зависит от функционального состояния циркулирующих в крови и инфильтрирующих опухоль иммунных клеток [5]. Нейтрофилы являются 1-й линией защиты врожденной иммунной системы и обладают способностью регулировать адаптивный иммунный ответ. В последнее время растет количество исследований фенотипов и функциональных состояний нейтрофилов, а также их роли в развитии РП [6]. Нейтрофилы могут иметь как противоопухолевое воздействие, проявляя цитотоксические свойства против опухоли, так и проопухолевое влияние, способствуя метастазированию опухолевых клеток [7–9]. Известно, что нейтрофилы изменяют свой фенотип в процессах созревания и активации [10]. При этом трансформация субпопуляций нейтрофилов может происходить под влиянием цитокинов и хемокинов, продуцируемых как самой опухолью, так и иммунными клетками [11].

Функциональное состояние и фенотип нейтрофилов определяются экспрессией различных рецепторов, которая изменяется в зависимости от типа опухоли и стадии канцерогенеза [12, 13]. Рецепторы CD15 и CD62L участвуют в адгезии и миграции нейтрофилов в очаг воспаления, а CD66b и CD63 – в их созревании, активации и дегрануляции [14]. CD62L – рецептор адгезии, обеспечивающий роллинг и перемещение нейтрофилов в опухолевое микроокружение. Согласно результатам исследований, снижение экспрессии CD62L на нейтрофилах способствует метастазированию при раке молочной железы и меланоме [15, 16]. Рецептор CD63 играет роль белков-посредников при передаче сигналов и выполняет важную регуляторную функцию, влияя на развитие нейтрофильных гранулоцитов, их активацию, рост и подвижность [16]. $CD62L^+CD63^+$-нейтрофилы представляют собой активированные, зрелые нейтрофилы, способные к миграции в опухолевый очаг для выполнения противоопухолевой функции [17]. Также отмечено увеличение количества данной субпопуляции нейтрофилов при колоректальном раке [17].

По данным ранее проведенных исследований, циркулирующие в крови нейтрофилы у пациентов с РП характеризуются пониженной поверхностной экспрессией маркеров созревания CD66b и CD63,

что может объясняться усилением гемопоэза в костном мозге [18].

По данным исследования C. Blanco-Camarillo и соавт., $CD15^+CD66b^+$-нейтрофилы представляют собой субпопуляцию нейтрофилов низкой плотности, являющихся зрелыми клетками с повышенными продукцией активных форм кислорода и фагоцитарной способностью [19, 20]. Такие нейтрофилы проявляют иммуносупрессивные свойства у пациентов с раком яичников и немелкоклеточным раком легкого [21, 22].

Несмотря на большой интерес к особенностям функционирования нейтрофилов при канцерогенезе и значительное количество исследований по этой теме, малоизученным остается вопрос о трансформации нейтрофилов различных субпопуляций в зависимости от типа опухоли, ее «биологического портрета» и стадии развития.

Цель исследования – оценка динамики субпопуляций циркулирующих нейтрофилов $CD15^+CD66b^+$ и $CD62L^+CD63^+$ у пациентов с доброкачественными новообразованиями (ДНО) почки и у больных с прогрессированием РП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились циркулирующие нейтрофилы пациентов с РП. Критерием включения в исследование был гистологически подтвержденный светлоклеточный РП (табл. 1). Сформированы 2 группы сравнения. В 1-ю группу вошли условно здоровые доноры без онкологической патологии в анамнезе, сопоставимые по возрасту с пациентами экспериментальной группы, во 2-ю – пациенты с ДНО почки (онкоцитомой, ангиолипомой, кистой почки). Критериями исключения из исследования были несветло-

Таблица 1. *Характеристика пациентов, включенных в исследование*

Table 1. *Characteristics of patients included in the study*

Показатель Parameter	Значение Value
Рак почки ($n = 84$) **Kidney cancer ($n = 84$)**	
Возраст, медиана (Q_1–Q_3), лет Age, median (Q_1–Q_3), years	66 (58–70)
Абсолютное число лейкоцитов, $\times 10^9$/л, медиана (Q_1–Q_3) Absolute leukocyte count $\times 10^9$/l, median (Q_1–Q_3)	7,02 (5,80–8,31)
Абсолютное число нейтрофилов, $\times 10^9$/л, медиана (Q_1–Q_3) Absolute neutrophil count, $\times 10^9$/л, median (Q_1–Q_3)	3,46 (2,70–4,90)
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, медиана (Q_1–Q_3) Neutrophil to lymphocyte ratio, median (Q_1–Q_3)	1,33 (1,01–2,19)
Пол: Sex: мужской male женский female	 46 38
Гистологический тип опухоли: Histological type of tumor: светлоклеточный рак почки clear cell renal cell carcinoma	74
Стадия заболевания: Disease stage: I–II III–IV	 44 30
Доброкачественные опухоли почки ($n = 25$) **Benign kidney tumors ($n = 25$)**	
Возраст, медиана (Q_1–Q_3), лет Age, median (Q_1–Q_3), years	68 (56–75)
Абсолютное число лейкоцитов, $\times 10^9$/л, медиана (Q_1–Q_3) Absolute leukocyte count, $\times 10^9$/l, median (Q_1–Q_3)	4,60 (4,30 – 5,65)
Абсолютное число нейтрофилов, $\times 10^9$/л, медиана (Q_1–Q_3) Absolute neutrophil count, $\times 10^9$/л, median (Q_1–Q_3)	2,58 (2,10–2,68)
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, медиана (Q_1–Q_3) Neutrophil to lymphocyte ratio, median (Q_1–Q_3)	1,19 (1,18–1,68)
Пол: Sex: мужской male женский female	 10 15
Группа контроля ($n = 20$) **Control group ($n = 20$)**	
Возраст, медиана (Q_1–Q_3), лет Age, median (Q_1–Q_3), years	54 (52–66)
Абсолютное число лейкоцитов, $\times 10^9$/л, медиана (Q_1–Q_3) Absolute leukocyte count, $\times 10^9$/l, median (Q_1–Q_3)	6,10 (5,28–6,88)
Абсолютное число нейтрофилов, $\times 10^9$/л, медиана (Q_1–Q_3) Absolute neutrophil count, $\times 10^9$/л, median (Q_1–Q_3)	3,30 (2,82–3,97)
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, медиана (Q_1–Q_3) Neutrophil to lymphocyte ratio, median (Q_1–Q_3)	1,73 (1,23–1,88)
Пол: Sex: мужской male женский female	 8 14

Примечание. Q_1 – 1-й квартиль; Q_3 – 3-й квартиль.

Note. Q_1 – 1st quartile; Q_3 – 3rd quartile.

клеточный РП, опухоли иной локализации и любое противоопухолевое лечение до забора крови.

Всем пациентам, участвующим в исследовании, проведено хирургическое лечение (нефрэктомия).

Выделение нейтрофилов. Нейтрофилы выделяли из венозной крови на двойном градиенте плотности стерильных растворов фиколла-верографина и доводили до концентрации 5 × 10^6 клеток/мл. Чистота фракции нейтрофилов составила 92–94 %, жизнеспособность нейтрофилов в тесте с 0,5 % трипановым синим – 95 %.

Проточная цитометрия. Исследование фенотипа выделенных нейтрофилов проводили методом проточной цитометрии (проточный цитометр BioSino, Китай) с использованием моноклональных антител: CD15, меченного фикоэритрином-цианином 5 (PC5) (Sony Biotechnology, США), CD66b, CD62L, CD95, меченных флуоресцеином-изотиоцианатом (FITC) (Elabscince, КНР), и CD63, меченного фикоэритрином (PE) (Atagenix, КНР). К клеткам добавляли 5 мкл тестируемого моноклонального антитела и инкубировали 15–20 мин при 20 ºС согласно протоколу производителя. После инкубации клетки трехкратно отмывали раствором Хенкса. Методом последовательного гейтирования определяли монопопуляции нейтрофилов CD15, CD66b, CD63, CD62L, CD95 и субпопуляции с фенотипами $CD66b^+CD15^+$ и $CD62L^+CD63^+$. Для корректного анализа образца использовали отрицательный контроль (неокрашенные клетки).

Статистический анализ. Совокупности количественных показателей, распределение которых отличалось от нормального, описывали с помощью значений медианы (Me) и нижнего (Q_1) и верхнего (Q_3) квартилей. Статистическую обработку проводили с использованием программ Statistica 13 и Jamovi 2.3.28. Значимость различий оценивали с помощью U-критерия Манна–Уитни. Для оценки ассоциации исследуемых показателей со степенью дифференцировки использовали мультивариантную регрессионную модель Кокса и ROC-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе исследования обнаружены значимые изменения абсолютного количества нейтрофилов и лейкоцитов в крови пациентов исследуемых групп (табл. 2).

Таблица 2. *Изменение абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов, нейтрофилов и нейтрофильно-лимфоцитарного индекса в исследуемых группах, медиана (Q_1–Q_3)*

Table 2. *Changes in the absolute number of leukocytes, lymphocytes, neutrophils and the neutrophil-lymphocyte ratio in the study groups, median (Q_1–Q_3)*

Показатель Parameter	**Группа контроля (n = 20)** Control group (n = 20)	**Доброкачественные опухоли почки (n = 25)** Benign kidney tumors (n = 25)	**Рак почки I–II стадии (n = 44)** Kidney cancer stage I–II (n = 44)	**Рак почки III–IV стадии (n = 30)** Kidney cancer stage III–IV (n = 30)
Абсолютное число лейкоцитов, ×10^9/л Absolute leukocyte count, ×10^9/l	6,10 (5,28–6,88)	4,60 (4,30–5,65)* p_1 = 0,001	5,97 (5,67–7,75)* p_2 = 0,002	8,07 (6,26–8,50)* p_1 = 0,003 p_2 = 0,001 p_3 = 0,011
Абсолютное число нейтрофилов, ×10^9/л Absolute neutrophil count, ×10^9/l	3,30 (2,82–3,97)	2,58 (2,10–2,68)* p_1 = 0,001	3,10 (2,61–4,14)* p_2 = 0,004	4,04 (3,19–4,80)* p_3 = 0,030
Абсолютное число лимфоцитов, ×10^9/л Absolute lymphocyte count, ×10^9/l	1,90 (1,85–2,35)	1,7 (1,60–2,24)	2,30 (1,64–2,51)	2,32 (2,05–3,20)* p_1 = 0,024
Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс, ×10^9/л Neutrophil-lymphocyte ratio, ×10^9/l	1,73 (1,23–1,88)	1,19 (1,18–1,68)* p_1 = 0,030	1,36 (1,01–2,19)	1,69 (1,04–2,04)* p_2 = 0,015

**Различия статистически значимы (U-критерий Манна–Уитни), p <0,05.*

Примечание. *Здесь и в табл. 3: p_1 – значимость различий показателей относительно группы контроля; p_2 – значимость различий показателей относительно группы доброкачественных опухолей почки; p_3 – значимость различий показателей относительно группы рака почки I–II стадии. Q_1 – 1-й квартиль; Q_3 – 3-й квартиль.*

**The differences are statistically significant (Mann–Whitney U-test), p <0.05.*

Note. *Here and in table 3: p_1 – significance of differences in indicators relative to the control group; p_2 – significance of differences in indicators relative to the group of benign kidney tumors; p_3 – significance of differences in indicators relative to the group of kidney cancer stages I–II. Q_1 – 1st quartile; Q_3 – 3rd quartile.*

Таблица 3. *Изменение экспрессии поверхностных рецепторов циркулирующих нейтрофилов при доброкачественных опухолях почки и раке почки различных стадий, медиана (Q_1–Q_3)*

Table 3. *Changes in the expression of surface receptors of circulating neutrophils in benign kidney tumors and at different stages of kidney cancer, median (Q_1–Q_3)*

Показатель Parameter	**Группа контроля (n = 20)** Control group (n = 20)	**Доброкачественные опухоли почки (n = 25)** Benign kidney tumors (n = 25)	**Рак почки I–II стадии (n = 44)** Kidney cancer stage I–II (n = 44)	**Рак почки III–IV стадии (n = 30)** Kidney cancer stage III–IV (n = 30)
CD15$^+$, %; 10^9/л CD15$^+$, %; 10^9/l	73 (61–80); 2,4 (2,0–2,6)	95 (64–95)*; 2,5 (1,9–2,6); p_1 = 0,003	77 (70–94)*; 2,7 (2,4–3,3); p_1 = 0,025	74 (52–95)*; 2,6 (1,8–3,3); p_2 = 0,05
CD66b$^+$, %; 10^9/л CD66b$^+$, %; 10^9/l	67 (58–77); 2,3 (2,2–2,8)	66 (60–68); 2,2 (2,1–2,5)	76 (63–87)*; 2,6 (2,2–3,0); p_2 = 0,001	70 (60-79)*; 2,4 (2,1–2,7); p_2 = 0,001
CD62L$^+$, %; 10^9/л CD62L$^+$, %; 10^9/l	3 (3–10); 0,1 (0,1–0,3)	27 (5–91)*; 0,7 (0,1–1,9); p_1 = 0,001	9 (7–19)*; 0,3 (0,3–0,6); p_1 = 0,003	12 (8–20)*; 0,4 (0,3–0,7); p_1 = 0,001; p_2 = 0,001
CD63$^+$, %; 10^9/л CD63$^+$, %; 10^9/l	82 (78–93); 2,7 (2,6–3,1)	78 (67–98); 2,0 (1,4–2,6)	82 (61–95); 2,8 (2,1–3,3)	76 (29–90); 2,6 (1,0–3,0)
CD95$^+$, %; 10^9/л CD95$^+$, %; 10^9/l	0,3 (0,2–0,8); 0,01 (0,01–0,03)	0,5 (0,3–2,0)*; 0,14 (0,07–0,53); p_1 = 0,003	0,7 (0,37–1,1)*; 0,02 (0,01–0,04); p_1 = 0,002	0,8 (0,4–1,0)*; 0,02 (0,01–0,04); p_1 = 0,001
CD15$^+$CD66b$^+$, %; 10^9/л CD15$^+$CD66b$^+$, %; 10^9/l	55 (48–66); 1,8 (1,6–2,2)	81(65–90)*; 2,2 (1,4–2,4); p_1 = 0,001	67(60–82)*; 2,3 (2,1–2,8); p_1 = 0,016; p_2 = 0,050	60(51–78); 2,1 (1,7–2,7)
CD62L$^+$CD63$^+$, %; 10^9/л CD62L$^+$CD63$^+$, %; 10^9/l	5 (2–12); 0,2 (0,1–0,4)	27 (5–91)*; 0,7 (0,1–2,4); p_1= 0,001	9 (6–18)*; 0,3 (0,2–0,6); p_1= 0,002; p_2 = 0,008	13 (7–48)*; 0,4 (0,2–1,7); p_1 = 0,001; p_2 = 0,003

**Различия статистически значимы (U-критерий Манна–Уитни), p <0,05.*

**The differences are statistically significant (Mann–Whitney U-test), p <0.05.*

При этом общее количество лейкоцитов и абсолютное количество нейтрофилов в крови значимо снижалось в группе пациентов с ДНО почки относительно контрольной группы, но возрастало при прогрессировании РП. Отмечено увеличение нейтрофильно-лимфоцитарного индекса в группе РП III–IV стадии относительно группы ДНО почки.

Анализ фенотипа циркулирующих нейтрофилов показал значимое увеличение доли CD15$^+$-нейтрофилов в группе ДНО почки и РП I–II стадии относительно контрольной группы (табл. 3). Количество CD66b$^+$-нейтрофилов в группах РП I–II и III–IV стадий было выше, чем в группе ДНО почки. Также обнаружено увеличение количества CD62L$^+$-нейтрофилов в группах ДНО и РП относительно группы контроля. Однако этот показатель был значимо ниже у пациентов с РП III–IV стадии по сравнению с пациентами с ДНО почки. В группах больных РП и с ДНО почки количество CD95$^+$-нейтрофилов оказалось значимо выше, чем в группе контроля.

Результаты анализа субпопуляционного состава нейтрофилов в исследуемых группах показали повышение количества CD15$^+$CD66b$^+$-нейтрофилов в группах РП I–II стадии и ДНО почки относительно группы контроля. Количество CD62L$^+$CD63$^+$-нейтрофилов значимо повышалось во всех исследуемых группах по сравнению с группой контроля. Доля нейтрофилов данной субпопуляции у пациентов с ДНО почки была в 3 раза больше, чем в группе пациентов с РП I–II стадии, и в 2 раза выше, чем у больных РП III–IV стадии. При этом количество CD63$^+$-нейтрофилов значимо не различалось во всех исследуемых группах.

В ходе универиантного анализа логистической регрессии для дифференциальной диагностики ДНО почки и РП статистическую значимость продемонстрировали количество CD15$^+$CD66b$^+$- (отношение шансов (ОШ) 0,1813; 95 % доверительный интервал (ДИ) 1,036–1,387; p = 0,015) и CD62L$^+$CD63$^+$-нейтрофилов (ОШ 0,050; 95 % ДИ 1,014–1,089; p = 0,006), абсолютное количество лейкоцитов (ОШ –0,9178;

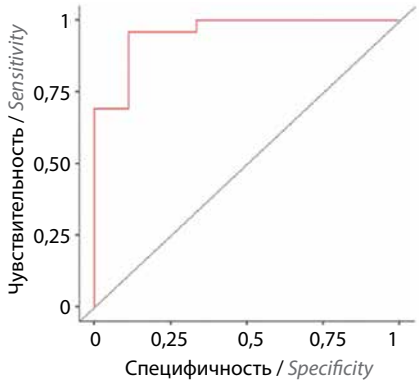

Рис. 1. *ROC-кривая для регрессионной модели дифференциальной диагностики рака почки и доброкачественных опухолей почки с учетом субпопуляционного состава циркулирующих нейтрофилов, количества лейкоцитов и возраста пациентов*

Fig. 1. *ROC curve for the regression model of differential diagnosis of kidney cancer and benign kidney tumors taking into account the subpopulation composition of circulating neutrophils, number of leukocytes, and age of patients*

95 % ДИ 0,168–0,950; $p = 0,038$) и возраст пациентов старше 68 лет (ОШ 2,9451; 95 % ДИ 1,240–291,459; $p = 0,034$). Площадь под ROC-кривой (AUC) модели составила 0,897; РП мог быть диагностирован с вероятностью 80 % (специфичность 0,846, чувствительность 0,667) (рис. 1).

Риск возникновения РП возрастает при понижении количества нейтрофилов субпопуляций $CD15^+CD66b^+$ и $CD62L^+CD63^+$, а также при повышении количества лейкоцитов, возрасте пациентов старше 68 лет ($R^2 = 0,389$; χ^2-критерий = 31,0; $p = 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно результатам исследований, применение иммунотерапии при светлоклеточном РП обеспечивает более высокие показатели продолжительности жизни пациентов по сравнению с таргетной терапией [23, 24]. При этом иммунное микроокружение опухоли у пациентов с РП меняется по мере прогрессирования заболевания [25]. Нейтрофилы составляют значительную часть опухолевого инфильтрата, а большое количество нейтрофилов в тканях опухоли ассоциировано с плохим прогнозом при РП, меланоме кожи, немелкоклеточном раке легкого, глиоме и раке желудка [25]. Результаты исследований, направленных на изучение роли нейтрофилов в развитии РП, показали способность нейтрофилов проявлять как про-, так и противоопухолевые свойства [6, 26, 27].

Известно, что адгезия нейтрофилов опосредована активацией рецепторов CD15 при его взаимодействии с рецепторами CD66b [18]. Мы выявили значимое повышение количества $CD15^+$-нейтрофилов у пациентов с ДНО почки и РП I–II стадии относительно группы контроля и $CD66b^+$-нейтрофилов у пациентов с РП всех стадий относительно больных с ДНО почки. Это может говорить об увеличении активированных, зрелых, способных к дегрануляции и адгезии циркулирующих нейтрофилов у пациентов исследуемых групп, что согласуется с результатами исследований, посвященных другим типам рака [28].

Нейтрофилы, готовые к апоптозу, экспрессируют на поверхности рецептор клеточной гибели CD95 [29]. Исходя из полученных нами данных, эта способность возрастает в группах РП и ДНО почки. Результаты проведенных ранее исследований показали, что повышенный уровень лиганда CD95 в сыворотке крови пациентов с РП связан с иммунным ответом и использовался как маркер прогрессирования [30, 31].

Согласно данным, полученным M.J. Dominguez-Luis и соавт., активация рецептора CD62L происходит уже на начальных этапах воспаления [32], что объясняет увеличение его экспрессии на ранних стадиях РП и ее снижение на распространенных стадиях РП. Нейтрофильно-лимфоцитарный индекс может быть использован в качестве прогностического маркера при различных типах рака, в том числе при РП [33, 34]. В ходе нашего исследования выявлено увеличение значения этого индекса при прогрессировании РП.

Известно, что нейтрофилы, экспрессирующие $CD15^+CD66b^+$, склонны проявлять иммуносупрессивные свойства [35], а повышение количества $CD15^+CD66b^+$-нейтрофилов в группах РП I–II стадии и ДНО почки относительно группы контроля дает возможность предположить их проопухолевую роль.

Согласно полученным нами данным, количество $CD62L^+CD63^+$-нейтрофилов значимо повышалось во всех исследуемых группах относительно группы контроля. По результатам исследования X. Lai и соавт., снижение экспрессии CD63 на нейтрофилах ассоциировалось с уменьшением внутриклеточной нейтрофильной эластазы и их цитотоксических свойств. Однако количество $CD63^+$-нейтрофилов оставалось на одном уровне во всех исследуемых группах, что может говорить о сохранении их противоопухолевых свойств при прогрессировании РП [36].

В ходе унивариантного анализа логистической регрессии для дифференциальной диагностики между ДНО почки и РП выявлено, что риск возникновения РП возрастал при снижении количества нейтрофилов субпопуляций $CD15^+CD66b^+$, $CD62L^+CD63^+$, повышении количества лейкоцитов и возрасте пациентов старше 68 лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количество циркулирующих нейтрофилов с проопухолевым фенотипом $CD15^+CD66b^+$ повышается уже при ДНО почки по сравнению с группой контроля и сохраняется на этом уровне на всех стадиях канцерогенеза. Количество циркулирующих нейтрофилов противоопухолевого фенотипа $CD62L^+CD63^+$ значительно возрастает при ДНО почки и снижается в динамике канцерогенеза. Оценка фенотипа циркулирующих нейтрофилов позволяет предположить риск возникновения новообразований почки.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Li P., Znaor A., Holcatova I. et al. Regional geographic variations in kidney cancer incidence rates in European countries. Eur Urol 2015;67(6):1134–41. DOI: 10.1016/j.eururo.2014.11.001
2. Motzer R.J., Jonasch E., Agarwal N. et al. Kidney cancer, version 3.2022, NCCN clinical practice guidelines in oncology. J Natl Compr Cancer Netw 2022;20:71–90. DOI: 10.6004/jnccn.2022.0001
3. Коротаева А.А., Апанович Н.В., Брага Э.А. и др. Современные достижения в иммунотерапии рака почки. Онкоурология 2019;15(4):30–8. DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-4-30-38
Korotaeva A.A., Apanovich N.V., Braga E.A. et al. Current advances in kidney cancer immunotherapy. Onkourologiya = Cancer Urology 2019;15(4):30–8. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-4-30-38
4. De Palma M., Biziato D., Petrova T. V. Microenvironmental regulation of tumour angiogenesis. Nat Rev Cancer 2017;17(8):457–74. DOI: 10.1038/nrc.2017.51
5. Anker J., Miller J., Taylor N. et al. From bench to bedside: how the tumor microenvironment is impacting the future of immunotherapy for renal cell carcinoma. Cells 2021;10(11):3231. DOI: 10.3390/cells10113231
6. Савченко А.А., Борисов А.Г., Кудрявцев И.В. и др. Взаимосвязь фенотипа и метаболизма нейтрофилов крови у больных раком почки. Медицинская иммунология 2020;22(5):887–96. DOI: 10.15789/1563-0625-IAM-2037
Savchenko A.A., Borisov A.G., Kudryavcev I.V. et al. The relationship between the phenotype and metabolism of blood neutrophils in patients with kidney cancer. Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology 2020;22(5):887–96. (In Russ.). DOI: 10.15789/1563-0625-IAM-2037
7. Данилова А.Б., Балдуева И.А. Нейтрофилы как компонент опухолевого микроокружения. Вопросы онкологии 2016;62(1):35–44.
Danilova A.B., Baldueva I.A. Neutrophils as a component of the tumor microenvironment. Voprosy onkologii = Oncology Issues 2016;62(1):35–44. (In Russ.).
8. Mishalian I., Granot Z., Fridlender Z.G. The diversity of circulating neutrophils in cancer. Immunobiology 2017;222(1):82–8. DOI: 10.1016/j.imbio.2016.02.001
9. Silvestre-Roig C., Fridlender Z.G., Glogauer M., Scapini P. Neutrophil diversity in health and disease. Trends Immunol 2019;40(7):565–83. DOI: 10.1016/j.it.2019.04.012
10. Evrard M., Kwok I.W.H., Chong S.Z. et al. Developmental analysis of bone marrow neutrophils reveals populations specialized in expansion, trafficking, and effector functions. Immunity 2018; 48(2):364–79. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.02.002
11. Lecot P., Sarabi M., Pereira Abrantes M. et al. Neutrophil heterogeneity in cancer: from biology to therapies. Front Immunol 2019;10:2155. DOI: 10.3389/fimmu.2019.02155
12. Савченко А.А., Здзитовецкий Д.Э., Борисов А.Г., Лузан Н.А. Хемилюминесцентная и энзиматическая активность нейтрофильных гранулоцитов у больных распространенным гнойным перитонитом в зависимости от исхода заболевания. Вестник РАМН 2014;5(6):23–8.
Savchenko A.A., Zdzitovetskiy D.E., Borisov A.G., Luzan N.A. Chemiluminescent and enzyme activity of neutrophils in patients with wides preadpurulent peritonitis depending on the outcome of disease. Vestnik RAMN = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences 2014;5(6):23–8. (In Russ.).
13. Lin A., Lore K. Granulocytes: new members of the antigen-presenting cell family. Front Immunol 2017;11:1781. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01781
14. Нестерова И.В., Чудилова Г.А., Ковалева С.В. и др. Неоднозначное влияние рекомбинантного интерферона α2В на нетрансформированный и трансформированный фенотип функционально значимых субпопуляций нейтрофильных гранулоцитов в эксперименте *in vitro*. Иммунология 2020;41(2):124–34. DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-2-124-134
Nesterova I.V., Chudilova G.A., Kovaleva S.V. et al. Contradictory effect of recombinant interferon α2b on the non-transformed and transformed phenotypes of functionally significant subpopulations of neutrophilic granulocytes *in vitro*. Immunologiya = Immunology 2020; 41(2):124–34. (In Russ.). DOI: 10.33029/0206-4952-2020-41-2-124-134
15. Wang Z., Yang C., Li L. et al. CD62L^{dim} neutrophils specifically migrate to the lung and participate in the formation of the pre-metastatic niche of breast cancer. Front Oncol 2020;10:540484. DOI: 10.3389/fonc.2020.540484
16. Peng Z., Liu C., Victor A.R. et al. Tumors exploit CXCR4hiCD62Llo aged neutrophils to facilitate metastatic spread. Oncoimmunology 2021;10(1):1870811. DOI: 10.1080/2162402X.2020.1870811
17. Чудилова Г.А., Нестерова И.В., Ковалева С.В., Ломтатидзе Л.В. Особенности влияний *in vitro* регуляторных цитокинов на фенотип субпопуляций CD62L+CD63–, CD62L+CD63+ и микробицидную активность нейтрофильных гранулоцитов пациентов с колоректальным раком. Вестник Российского университета дружбы народов 2020;24(4):304–14. DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-304-314
Chudilova G.A., Nesterova I.V., Kovaleva S.V., Lomtatidze L.V. Regulatory cytokine effects *in vitro* on the phenotype of subpopulations CD62L+CD63–, CD62L+CD63+ and microbicidal activity of neutrophilic granulocytes in patients with colorectal cancer. Vestnik Rossiyskogo universiteta druzhby narodov = RUDN Journal of Medicine 2020;24(4):304–14. (In Russ.). DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-304-314
18. Wang Z., Yang C., Li L. et al. CD62L^{dim} neutrophils specifically migrate to the lung and participate in the formation of the pre-metastatic niche of breast cancer. Front Oncol 2020;10:540484. DOI: 10.3389/fonc.2020.540484
19. Rice C.M., Davies L.C., Subleski J.J. et al. Tumour-elicited neutrophils engage mitochondrial metabolism to circumvent nutrient limitations and maintain immune suppression. Nat Commun 2018;9(1):5099. DOI: 10.1038/s41467-018-07505-2
20. Blanco-Camarillo C., Aleman O.R., Rosales C. Low-density neutrophils in healthy individuals display a mature primed phenotype. Front Immunol 2021;12:672520. DOI: 10.3389/fimmu.2021.672520
21. Zhang J., Xu X., Shi M. et al. CD13^{hi} neutrophil-like myeloid-derived suppressor cells exert immune suppression through Arginase 1 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma. Oncoimmunology 2017;6(2):e1258504. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1258504
22. Vanhaver C., Aboubakar Nana F. , Delhez N. et al. Immunosuppressive low-density neutrophils in the blood of cancer patients display a mature phenotype. Life Sci Alliance 2023;7(1):e202302332. DOI: 10.26508/lsa.202302332
23. Albiges L., Tannir N.M., Burotto M. et al. Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib for first-line treatment of advanced renal cell carcinoma: extended 4-year follow-up of the phase III CheckMate 214 trial. ESMO Open 2020;5(6):e001079. DOI: 10.1136/esmoopen-2020-001079
24. Tannir N.M., Signoretti S., Choueiri T.K. et al. Efficacy and safety of nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in first-line treatment of patients with advanced sarcomatoid renal cell carcinoma. Clin Cancer Res 2021;27(1):78–86. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-20-2063
25. Dumitru C.A., Lang S., Brandau S. Modulation of neutrophil granulocytes in the tumor microenvironment: mechanisms and consequences for tumor progression. Semin Cancer Biol 2013;23(3):141–8. DOI: 10.1016/j.semcancer.2013.02.005

26. Rosellini M., Marchetti A., Mollica V. et al. Prognostic and predictive biomarkers for immunotherapy in advanced renal cell carcinoma. Nat Rev Urol 2023;20(3):133–57. DOI: 10.1038/s41585-022-00676-0
27. Kraus R.F., Gruber M.A. Neutrophils-from bone marrow to first-line defense of the innate immune system. Front Immunol 2021;12:1–35. DOI: 10.3389/fimmu.2021.767175
28. Kanamaru R., Ohzawa H., Miyato H. et al. Low density neutrophils (LDN) in postoperative abdominal cavity assist the peritoneal recurrence through the production of neutrophil extracellular traps (NETs). Sci Rep 2018;8(1):632. DOI: 10.1038/s41598-017-19091-2
29. Risso V., Lafont E., LeGallo M. Therapeutic approaches targeting CD95L/CD95 signaling in cancer and autoimmune diseases. Cell Death Dis 2022;13(3):248. DOI: 10.1038/s41419-022-04688-x
30. Macher-Goeppinger S., Bermejo J.L., Wagener N. et al. Expression and prognostic relevance of the death receptor CD95 (Fas/APO1) in renal cell carcinomas. Cancer Lett 2011;301(2):203–11. DOI: 10.1016/j.canlet.2010.12.005
31. Nonomura N., Nishimura K., Ono Y. et al. Soluble Fas in serum from patients with renal cell carcinoma. Urology 2000;55(1):151–5. DOI: 10.1016/s0090-4295(99)00379-9
32. Dominguez-Luis M.J., Maria Jesus E. , Herrera-García A. et al. L-selectin expression is regulated by CXCL8-induced reactive oxygen species produced during human neutrophil rolling. Eur J Immunol 2019;49(3):386–97. DOI: 10.1002/eji.201847710
33. Chandrasekaran D., Sundaram S., Maheshkumar K. et al. Preoperative neutrophil-lymphocyte ratio/platelet-lymphocyte ratio: a potential and economical marker for renal cell carcinoma. J Cancer Res Ther 2022;18(6):1635–9. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_482_20
34. Sejima T., Iwamoto H., Morizane S. The significant immunological characteristics of peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio and Fas ligand expression incidence in nephrectomized tumor in late recurrence from renal cell carcinoma. Urol Oncol 2013;31(7):1343–9. DOI: 10.1016/j.urolonc.2011.09.008
35. Потапнев М.П., Гущина Л.М., Мороз Л.А. Фенотипическая и функциональная гетерогенность субпопуляций нейтрофилов в норме и при патологии. Иммунология 2019;40 (5):84–96. DOI: 10.24411/0206-4952-2019-15009
Potapnev M.P., Gushina L.M., Moroz L.A. Phenotypic and functional heterogeneity of neutrophil subpopulations in normal and pathological conditions. Immunologiya = Immunology 2019; 40 (5):84–96. (In Russ.). DOI: 10.24411/0206-4952-2019-15009
36. Lai X., Gu Q., Zhou X. et al. Decreased expression of CD63 tetraspanin protein predicts elevated malignant potential in human esophageal cancer. Oncol Lett 2017;13(6):4245–51. DOI: 10.3892/ol.2017.6023

Вклад авторов
И.Р. Мягдиева: пробоподготовка биоматериала, выполнение проточной цитометрии, поиск литературы по теме статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи;
Т.В. Абакумова: разработка концепции и дизайна исследования, написание текста статьи, научное руководство исследованием;
Д.Р. Долгова: подбор моноклональных антител, написание раздела «Материалы и методы», выполнение проточной цитометрии;
О.Ю. Горшков: подбор групп пациентов, сбор клинических данных;
Т.П. Генинг: написание текста статьи, редактирование;
Р.Ш. Зайнеева: поиск литературы по теме статьи, анализ полученных данных;
С.А. Тимофеева: пробоподготовка биоматериала.
Authors' contributions
I.R. Myagdieva: sample preparation of biomaterial, performing flow cytometry, searching literature on the topic of the article, analyzing the data obtained, article writing;
T.V. Abakumova: developing the concept and design of the study, article writing, scientific guidance of the study;
D.R. Dolgova: selection of monoclonal antibodies, writing the section "Materials and methods", performing flow cytometry;
O.Yu. Gorshkov: selection of patient groups, collection of clinical data;
T.P. Gening: article writing, editing;
R.Sh. Zayneeva: literature search on the topic of the article, analysis of the data obtained;
S.A. Timofeeva: sample preparation of biomaterial.

ORCID авторов/ ORCID of authors
И.Р. Мягдиева / I.R. Myagdieva: https://orcid.org/0000-0002-3908-0840
Т.В. Абакумова / T.V. Abakumova: https://orcid.org/0000-0001-7559-5246
Д.Р. Долгова / D.R. Dolgova: https://orcid.org/0000-0001-5475-7031
О.Ю. Горшков / O.Yu. Gorshkov: https://orcid.org/0009-0000-8641-2580
Т.П. Генинг / T.P. Gening: https://orcid.org/0000-0002-5117-1382
Р.Ш. Зайнеева / R.Sh. Zaineeva: https://orcid.org/0000-0002-7784-2404
С.А. Тимофеева / S.A. Timofeeva: https://orcid.org/0009-0003-5315-410X

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Funding. The study was conducted without sponsorship.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики
Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом Института медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный университет» (протокол № 1 от 15.01.2020).
Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Compliance with patient rights and principles of bioethics
The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Ulyanovsk State University (protocol No. 1 dated 15.01.2020).
All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 30.10.2024. **Принята к публикации:** 28.04.2025. **Опубликована онлайн:** 23.06.2025.
Article submitted: 30.10.2024. **Accepted for publication:** 28.04.2025. **Published online:** 23.06.2025.