ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СУБПОПУЛЯЦИЙ ОПУХОЛЬ-ИНФИЛЬТРИРУЮЩИХ Т-ЛИМФОЦИТОВ УОРТИНО-ПОДОБНОГО ВАРИАНТА ПАПИЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

© 2018 г. А. В. Боголюбова[1,2]*, А. Ю. Абросимов[3,4], Л. С. Селиванова[3], Н. Ю. Двинских[5], Д. В. Купраш[1], П. В. Белоусов[1,4]

**E-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com*

[1]Лаборатория передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия;

[2]Образовательный Фонд «Талант и успех», Образовательный центр «Сириус», Сочи, Россия;

[3]Отдел фундаментальной патоморфологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия;

[4]Лаборатория «Физические методы, акустооптическая и лазерная аппаратура для задач диагностики и терапии онкологических заболеваний», ФГАУ ВПО «Национальный Исследовательский Технологический Университет МИСиС», Москва, Россия;

[5]Патологоанатомическое отделение, ФГБУ «НМИЦ радиологии», МНИОИ им. П. А. Герцена Минздрава России, Обнинск, Россия

Поступила: 11.12.2018. **Принята:** 15.01.2019

Опухоль-инфильтрирующие иммунные клетки, в частности, Т-лимфоциты, могут как стимулировать, так и подавлять рост опухолей. Уортино-подобный вариант папиллярного рака щитовидной железы характеризуется аномально большим количеством иммунного инфильтрата. Данная работа представляет собой анализ субпопуляционного состава Т-лимфоцитов, инфильтрирующих этот тип опухоли.

Ключевые слова: Т-лимфоциты, Уортино-подобный вариант папиллярного рака щитовидной железы, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, третичные лимфоидные структуры, молекулы иммунологические чекпойнты

DOI: 10.31857/S102872210005017-3

Адрес: 119991, Москва, ул. Вавилова, д. 32, Боголюбова Аполлинария Васильевна. Тел.: +79060798364 (моб.), факс: +74991351405.

E-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com

Авторы:

Боголюбова А. В., м.н.с. лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия; н.с. Образовательного Фонда «Талант и успех», Образовательный центр «Сириус», Сочи, Россия;

Абросимов А. Ю., д.м.н., профессор, зав. отделом фундаментальной патоморфологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва Россия; Лаборатория «Физические методы, акустооптическая и лазерная аппаратура для задач диагностики и терапии онкологических заболеваний», ФГАУ ВПО «Национальный Исследовательский Технологический Университет МИСиС», Москва, Россия;

Селиванова Л. С., к.м.н., с.н.с. отдела фундаментальной патоморфологии, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, Москва, Россия;

Двинских Н. Ю., к.м.н., зав. патологоанатомическим отделением, ФГБУ «НМИЦ радиологии», МНИОИ им. П. А. Герцена Минздрава России, г. Обнинск, Россия;

Купраш Д. В., д.б.н., профессор, чл.-корр. РАН, зав. лабораторией передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия;

Белоусов П. В., м.н.с. лаборатории передачи внутриклеточных сигналов в норме и патологии, ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта» РАН, Москва, Россия; Лаборатория «Физические методы, акустооптическая и лазерная аппаратура для задач диагностики и терапии онкологических заболеваний», ФГАУ ВПО «Национальный Исследовательский Технологический Университет МИСиС», Москва, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Клетки иммунной системы являются важным компонентом микроокружения опухолей. Они могут как стимулировать, так и подавлять

прогрессию опухолей в зависимости от спектра вырабатываемых ими цитокинов. Поэтому прогностическая и диагностическая роль иммунного инфильтрата неопластической ткани определяется не только его интенсивностью, но и субпопуляционным составом клеток [1, 2].

Значительную часть иммуноцитов, инфильтрирующих строму опухолей, как правило, составляют Т-лимфоциты. Различные их субпопуляции могут оказывать разнонаправленное действие на опухолевый рост. Так, $CD8^+$ цитотоксические Т-лимфоциты могут мигрировать в неопластическую ткань под воздействием хемокинов и уничтожать опухолевые клетки путем перфорин/гранзим-зависимого контактного цитолиза. $CD4^+$ Т-лимфоциты в опухолевой ткани могут быть представлены как Т-хелперами, так и регуляторными Т-клетками (Treg), характеризующимися экспрессией транскрипционного фактора FoxP3. Как правило, $CD4^+$ Т-лимфоциты не могут распознать опухолевые клетки ввиду отсутствия на последних молекул MHC второго класса. В то же время, некоторые опухоли, например, меланома, могут экспрессировать MHC II конститутивно или в условиях индукции IFN-γ [3]. Кроме того, $CD4^+$ Т-хелперы могут помогать $CD8^+$ Т-киллерам реализовывать их функции. Одна из субпопуляций $CD4^+$ Т-лимфоцитов, фолликулярные Т-хелперы (Tfh), важна для соматического гипермутагенеза В-клеточных рецепторов и индукции синтеза В-лимфоцитами антител против опухоль-ассоциированных антигенов, которые также могут принимать участие в противоопухолевом иммунном ответе [4].

Как правило, наличие опухоль-инфильтрирующих Treg оказывается прогностически неблагоприятным фактором, поскольку эта субпопуляция иммунных клеток оказывает подавляющее действие на активность других клеток иммунной системы [5, 6]. Treg экспрессируют на своей поверхности различные супрессорные молекулы – так называемые иммунологические контрольные точки, или чекпойнты (PD-1, CTLA-4, TIM-3, LAG-3 и др.), инактивирующие эффекторные Т-лимфоциты. Кроме того, Treg секретируют ряд супрессорных цитокинов [7, 8], таким образом подавляя активность цитотоксических Т-лимфоцитов [9]. Повышенные значения соотношение CD8/FoxP3 Т-лимфоцитов являются прогностически благоприятным фактором для большинства солидных опухолей человека [1].

Среди опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов можно выделить также субпопуляцию $CD45RO^+$ Т-клеток памяти (как $CD4^+$, так и $CD8^+$). Многочисленные исследования корреляций между присутствием в опухолевой ткани иммунных клеток различных фенотипов и прогнозом для пациента (так называемый Immunoscore) показали, что наличие $CD45RO^+$ Т-лимфоцитов положительно коррелирует с благоприятным прогнозом у пациентов с различными злокачественными новообразованиями [3].

Характер расположения лимфоцитов в строме опухоли может быть различным. Иммунные клетки могут как располагаются диффузно, так и образовывать третичные лимфоидные структуры (ТЛС), сходные по своему строению с фолликулами вторичных лимфоидных органов. В составе ТЛС можно выделить Т- и В-клеточную зоны [10], в которой, по аналогии с лимфоузлами, проходит эффективная презентация опухолевых антигенов, соматический гипермутагенез, пролиферация и переключение изотипов антител В-клеток. На данный момент образование ТЛС рассматривается как один из механизмов иммунного надзора над опухолью [11].

Молекулы – иммунологические чекпойнты CTLA-4 и PD-1 являются важнейшими негативными регуляторами активации Т-лимфоцитов. В лимфоузлах экспрессия обоих молекул отмечается как на поверхности фолликулярных Т-хелперов, необходимых для функционирования герминального центра, так и на фолликулярных регуляторных Т-клетках [12–15]. Немногочисленные работы, посвященные исследованию продукции CTLA-4 и PD-1 Т-клетками ТЛС, указывают на существование корреляции между экспрессией данных молекул с развитием активного иммунного ответа [16].

Уортино-подобный папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) – редкий гистологи-

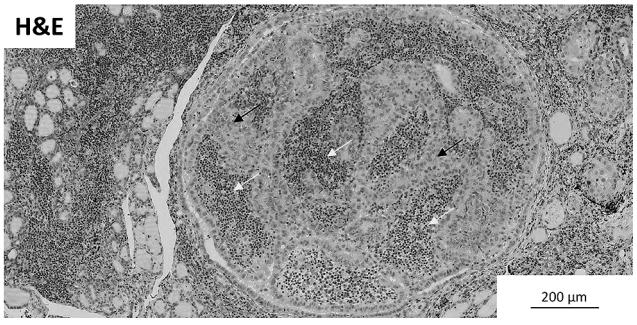

Рис. 1. Типичная гистологическая картина Уортино-подобного варианта ПРЩЖ. Окрашивание гематоксилином-эозином. Черные стрелки указывают на опухолевые клетки, белые – на сопутствующую иммунную инфильтрацию.

ческий вариант ПРЩЖ, определяемый по наличию обильной лейкоцитарной инфильтрации стромы опухоли [17] (**рис. 1**). Большую часть лимфоцитов стромы опухоли составляют плазматические клетки, однако процент Т-лимфоцитов также значителен. Кроме того, внутри опухолевой массы и на инвазивной границе часто располагаются ТЛС. Таким образом, характеристика субпопуляций опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов важна для понимания противоопухолевого потенциала иммунного инфильтрата Уортино-подобного варианта ПРЩЖ.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Пациенты

Восемь случаев Уортино-подобного варианта ПРЩЖ были выбраны из архива патологоанатомического отделения МРНЦ им. А. Ф. Цыба (филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, г. Обнинск). Для всех случаев имелся опухолевый материал в виде парафиновых блоков. В **таблице 1** приведена клиническая информация о пациентах.

Иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов

Окрашивание срезов ткани антителами к различным маркерам Т- и В-лимфоцитов было проведено по стандартной методике с использованием пероксидазной системы детекции с DAB. Окрашивание антителами к CD3 (Leica, клон LN10), CD4 (Leica, клон 4B12), CD8 (Leica, клон 4B11), CD45RO (Leica, клон UCHL1), CTLA-4 (Bio SB, клон BSB2884), PD-1 (Sigma Aldrich, клон HPA035981) и CD79α (Leica, клон 11E3) проводили с использованием автоматического иммуногистостейнера Leica BOND и фирменных реактивов Leica. Антитела против CD3, CD4, CD8, CD45RO и CD79α представляли собой уже разведенные готовые к использованию антитела, для антител против CTLA-4 и PD-1 использовали разведение 1/50.

Получение гистологических изображений

Окрашенные гистологические срезы сканировали с использованием системы Leica SCN400 с 20-кратным увеличением для дальнейшего анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ популяционного состава опухоль-инфильтрирующих иммунных клеток Уортино-подобного варианта ПРЩЖ ранее был проведен в нескольких работах, однако количество проанализированных пациентов мало. Наибольшая выборка (3 пациента) была представлена в исследовании D'Antonio с соавторами, в котором иммунный инфильтрат опухолей был визуализирован антителами к CD3, CD4, CD8, CD79α, CD21 [18]. Кроме того, иммуногистохимическое окрашивание иммуноцитов было осуществлено в четырех статьях формата «описание случая» (case report), а именно в работах Urano с соавторами [19] (1 пациент, антитела против CD45RO, CD20), Vera-Sempere с соавторами [20] (1 пациент, антитела против CD45RO, CD20, CD3), Lam с соавторами [21] (1 пациент, антитела против CD3, CD20), Amico с соавторами [22] (1 пациент, антитела против CD3, CD20). Все вышеупомянутые работы постулируют наличие окрашивания на использованные ими маркеры лимфоцитов, однако никак его не обсуждают. Кроме того, присутствие в строме опухоли ТЛС было упомянуто только в исследовании D'Antonio с соавторами, однако их структура также не была исследована. В то же время, характеристика основных субпопуляций Т-лимфоцитов может быть важна для понимания функционирования ТЛС, встречающихся внутри и на инвазивной границе опухолей Уортино-подобного строения и, по всей видимости,

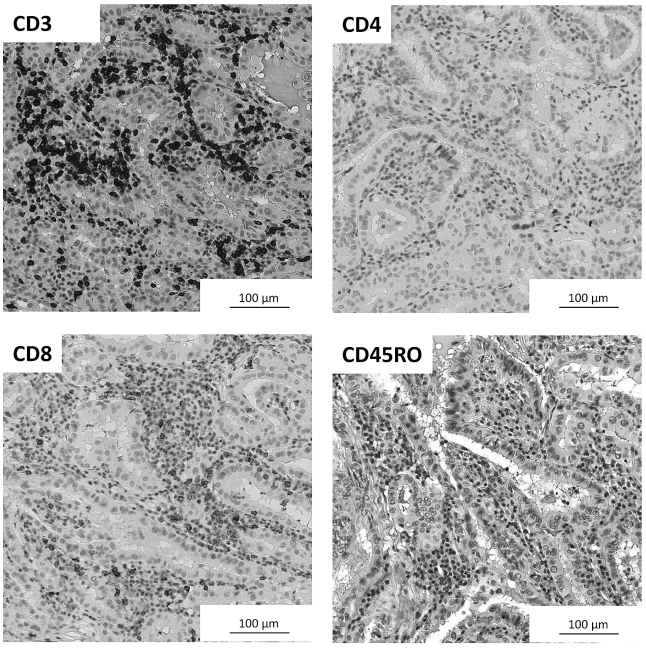

Рис. 2. Иммуногистохимическое окрашивание основных маркеров различных субпопуляций Т-лимфоцитов, инфильтрирующих строму опухолей Уортино-подобного строения.

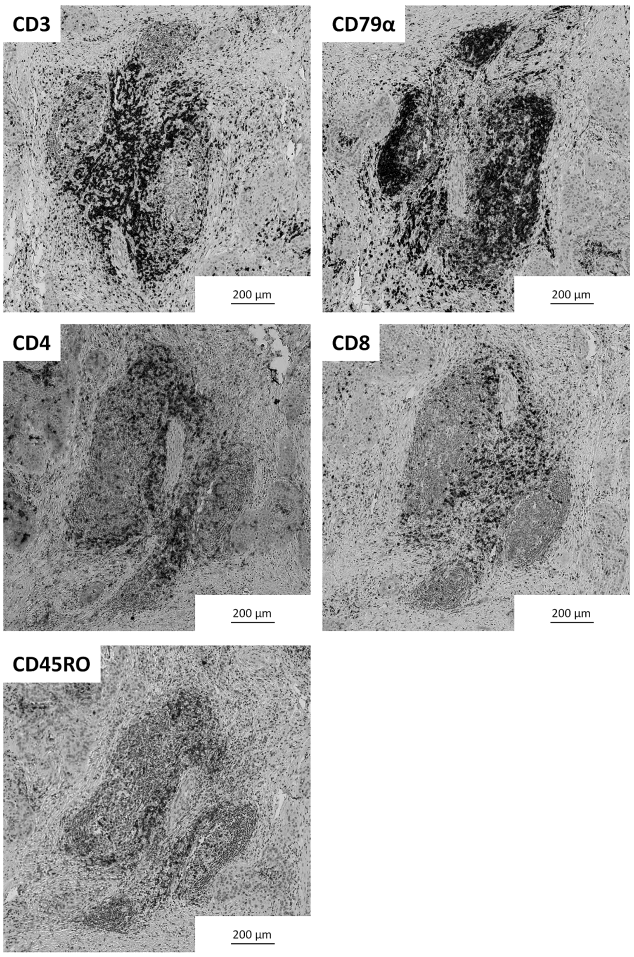

Рис. 3. Строение третичных лимфоидных структур (ТЛС) в Уортино-подобном варианте ПРЩЖ. Иммуногистохимическое окрашивание на CD4, CD8, CD45RO и CD79α.

являющихся важным структурным компонентом противоопухолевого иммунного ответа. Таким образом, данная работа представляет собой первый опыт характеристики гистологической картины опухолей Уортино-подобного строения исходя из особенностей иммунного инфильтрата, являющегося основным диагностическим критерием при выделении данного гистологического варианта ПРЩЖ.

В данной работе методом иммуногистохимии был охарактеризован субпопуляционный состав опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD45RO^+$) для 8 проб опухолей Уортино-подобного строения из коллекции МРНЦ им. А. Ф. Цыба, г. Обнинск, Россия. Кроме того, впервые была проанализирована экспрессия молекул иммунологических контрольных точек (чекпойнтов) CTLA-4 и PD-1 на опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитах при Уортино-подобном варианте ПРЩЖ.

Распределение $CD3^+$ Т-лимфоцитов по опухолевому очагу Уортино-подобного строения бимодально. Значительное количество Т-клеток диффузно распределено по строме опухоли (**рис. 2**), тогда как другая часть формирует Т-клеточную зону ТЛС (**рис. 3**).

Т-лимфоциты, инфильтрирующие строму опухоли, преимущественно представлены $CD8^+$ цитотоксическими Т-клетками. Кроме того, строма опухоли достаточно интенсивно инфильтрирована $CD45RO^+$ Т-клетками и $CD4^+$ Т-лимфоцитами.

Архитектура ТЛС Уортино-подобного ПРЩЖ соответствует организации вторичных лимфоидных органов. Четко выделяются Т- ($CD3^+$) и В-клеточная ($CD79\alpha^+$) зоны (**рис. 3А и Б**, соответственно). Основной субпопуляцией Т-лимфоцитов являются $CD4^+$ Т-клетки, которые, по-видимому, представлены преимущественно Т-фолликулярными хелперами и фолликулярными регуляторными Т-лимфоцитами (**рис. 3В**). Цитотоксические Т-лимфоциты и Т-клетки памяти также присутствуют на периферии ТЛС (**рис. 3Г и Д**, соответственно).

Для понимания функционирования субпопуляций Т-лимфоцитов в Уортино-подобном варианте ПРЩЖ нами был проведен анализ экспрессии молекул – иммунологических контрольных точек (чекпойнтов) CTLA-4 и PD-1 (**рис. 4**). Было показано наличие специфического окрашивания лишь на редких единичных внутриопухолевых Т-лимфоцитах. Это может указывать на малое количество Treg в строме опухоли.

В то же время, и CTLA-4, и PD-1 интенсивно экспрессируются на Т-лимфоцитах ТЛС. Наличие данных молекул на поверхности лимфоцитов, входящих в состав лимфоузлов и ТЛС, может служить параметром, характеризующим функциональную активность последних, по-

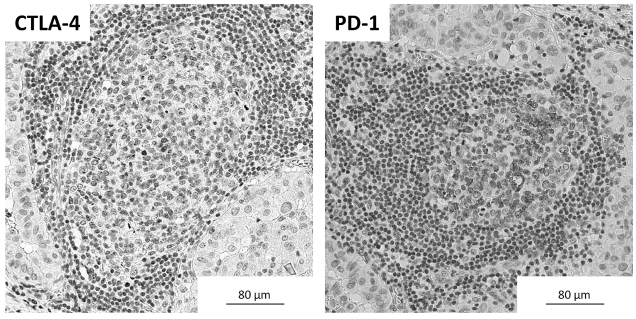

Рис. 4. Иммуногистохимическое окрашивание молекул – иммунологических чекпойнтов CTLA-4 и PD-1, экспрессирующихся на поверхности Т-лимфоцитов в составе ТЛС.

Таблица 1. Клинико-патоморфологические характеристики пациентов, взятых в исследование

Пациент	Возраст на момент постановки диагноза	Пол	Размер опухоли, мм	T-стадия (AJCC)	N-стадия (AJCC)	Наличие экстратиреоидного распространения	Сопутствующий аутоиммунный тиреоидит
1	37	Ж	3	T1a	N1a	-	+
2	60	Ж	25	T2	N0	+	+
3	53	Ж	13	T1b	N1a	-	+
4	63	Ж	14	T1b	N0	+	+
5	36	Ж	6	T1a	N0	-	+
6	55	Ж	7	T1a	N0	-	+
7	54	Ж	5	T1a	N1a	-	+
8	57	Ж	17	T1b	N1a	+	+

скольку для адекватного прохождения процессов созревания В-лимфоцитов в лимфоузлах необходимо наличие отрицательных регуляторов, коими и являются иммунологические чекпойнты. Было показано, что экспрессия PD-1 в лимфоидной ткани имеет комплексный эффект [23]. С одной стороны, она ингибирует привлечение в фолликулы активированных Т-хелперов, в результате чего рекрутируются Т-лимфоциты, имеющие высокий уровень экспрессии костимуляторного рецептора ICOS, необходимого для активации и функционирования Т-клеток. Кроме того, экспрессия PD-1 помогает фолликулярным Т-хелперам концентрироваться в герминальных центрах. Таким образом, экспрессия молекул-иммунологических чекпойнтов может рассматриваться как один из параметров, характеризующих функциональную активность ТЛС опухолей Уортино-подобного строения.

В то же время, экспрессия молекул иммунологических контрольных точек также может наблюдаться на Treg, присутствующих в составе ТЛС. На мышиной модели рака легкого было показано, что данные клетки вносят вклад в подавление противоопухолевого иммунного ответа [24]. Соответственно, уровень экспрессии молекул иммунологических чекпойнтов на поверхности Т-лимфоцитов в составе ТЛС нельзя рассматривать исключительно как благоприятный прогностический признак, поскольку необходимо учитывать субпопуляционный состав экспрессирующих их клеток.

Уортино-подобный вариант ПРЩЖ является уникальной опухолью по степени инфильтрации стромы иммунными клетками и может служить модельной системой для изучения взаимодействия опухолевых клеток и иммунитета. Т-лимфоциты традиционно находятся под пристальным вниманием современной онкоиммунологии, поскольку являются основными клетками, которые могут как усиливать, так и ингибировать рост опухоли. Представленные в этой работе данные по субпопуляциям опухоль-инфильтрирующих Т-лимфоцитов в опухолях щитовидной железы Уортино-подобного строения указывают на развитие активного иммунного ответа в данных структурах и требуют дальнейшего изучения.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена в рамках реализации научной программы при финансовой поддержке РФФИ (грант № 18–315–00168).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Fridman W.-H., Dieu-Nosjean M.-C., Pagès F., Cremer I., Damotte D., Sautès-Fridman C., Galon J.* The immune microenvironment of human tumors: general significance and clinical impact. Cancer Microenviron. 2013. 6 (2), 117–122.
2. *Fridman W. H., Pagès F., Sautès-Fridman C., Galon J.* The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. Nat. Rev. Cancer 2012, 12 (4), 298–306.
3. *Hadrup S., Donia M., Thor Straten P.* Effector CD4 and CD8 T cells and their role in the tumor microenvironment. Cancer Microenviron. 2013, 6 (2), 123–133.
4. *Gu-Trantien C., Loi S., Garaud S., Equeter C., Libin M., de Wind A., Ravoet M., Le Buanec H., Sibille C., Manfouo-Foutsop G., Veys I., Haibe-Kains B., Singhal S. K., Michiels S., Rothé F., Salgado R., Duvillier H., Igna-*

tiadis M., Desmedt C., Bron D., Larsimont D., Piccart M., Sotiriou C., Willard-Gallo K., Perou C., Sorlie T., Sotiriou C., Pusztai L., Sotiriou C., Ascierto M., Teschendorff A., Miremadi A., Pinder S., Ellis I., Caldas C., Alexe G., Desmedt C., Schmidt M., Rody A., Yau C., Esserman L., Moore D., Waldman F., Sninsky J., Benz C., Ascierto M., Rody A., Rahir G., Moser M., Mahmoud S., Mahmoud S., Lee A., Ellis I., Green A., Bos R., Marquardt K., Cheung J., Sherman L., Bos R., Sherman L., Ruffell B., DeNardo D., Affara N., Coussens L., Zamarron B., Chen W., Gobert M., Wilke C., Ye J., Livergood R., Peng G., deLeeuw R., Kost S., Kakal J., Nelson B., Chaisemartin L. de, Dieu-Nosjean M., Coppola D., Vinuesa C., Cyster J., Ruffell B., Au A., Rugo H., Esserman L., Hwang E., Coussens L., Chtanova T., Miyara M., Lee M., Hanspers K., Barker C., Korn A., McCune J., Ravoet M., Zaunders J., Baniyash M., Fazilleau N., Mark L., McHeyzer-Williams L., McHeyzer-Williams M., Balkwill F., Razis E., Panse J., Link A., Crotty S., Viegas M., Crotty S., Ignatiadis M., Grange C., Hayden M., Ghosh S., Kim T., Chang M., Yu K., Kwon H., Norman D., Vig E., Goebl M., Harrington M., Macian F., Lopez-Rodriguez C., Rao A., Xiao G., Deng A., Liu H., Ge G., Liu X., Ghebeh H., Good-Jacobson K., Szumilas C., Chen L., Sharpe A., Tomayko M., Shlomchik M., Mihalj M., Kellermayer Z., Balogh P., Inozume T., O'Shea J., Paul W., Galon J., Yoon H., Orrock J., Foster N., Sargent D., Smyrk T., Sinicrope F., Shankaran V., Curtis N., Primrose J., Thomas G., Mirnezami A., Ottensmeier C., Haabeth O., Braumuller H., Ji Y., Zhang W., Kryczek I., Curiel T., Ladoire S., Kim M., Watanabe M., Oda J., Amarante M., Voltarelli J. C., Bates G., West N., Breitfeld D., Schaerli P., Willimann K., Lang A., Lipp M., Loetscher P., Moser B., McHeyzer-Williams M., Okitsu S., Wang N., McHeyzer-Williams L., Ramiscal R., Vinuesa C., Nelson B., Lohr M., Mahmoud S., Lee A., Paish E., Macmillan R., Ellis I., Green A., Nielsen J., Ladanyi A., Maletzki C., Jahnke A., Ostwald C., Klar E., Prall F., Linnebacher M., Coronella J., Coronella-Wood J., Hersh E., Bianchini G., Foo S., Phipps S., Martinet L., Muller G., Hopken U., Lipp M., Wang C., Hillsamer P., Kim C., Denkert C., Haibe-Kains B. $CD4^+$ follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. J. Clin. Invest. 2013, 123 (7), 2873–2892.

5. *Bronkhorst I. H. G., Vu T. H. K., Jordanova E. S., Luyten G. P. M., Burg S. H. van der, Jager M. J.* Different Subsets of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Correlate with Macrophage Influx and Monosomy 3 in Uveal Melanoma. Investig. Opthalmology Vis. Sci. 2012, 53 (9), 5370.
6. *Chaudhary B., Elkord E.* Regulatory T Cells in the Tumor Microenvironment and Cancer Progression: Role and Therapeutic Targeting. Vaccines 2016, 4 (3), 28.
7. *Sakuishi K., Apetoh L., Sullivan J. M., Blazar B. R., Kuchroo V. K., Anderson A. C.* Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. J. Exp. Med. 2010, 207 (10), 2187–2194.
8. *Park H.J., Kusnadi A., Lee E.-J., Kim W. W., Cho B. C., Lee I. J., Seong J., Ha S.-J.* Tumor-infiltrating regulatory T cells delineated by upregulation of PD-1 and inhibitory receptors. Cell. Immunol. 2012, 278 (1–2), 76–83.
9. *Schmidt A., Oberle N., Krammer P. H.* Molecular mechanisms of treg-mediated T cell suppression. Front. Immunol. 2012, 3, 51.
10. *Dieu-Nosjean M.-C., Antoine M., Danel C., Heudes D., Wislez M., Poulot V., Rabbe N., Laurans L., Tartour E., de Chaisemartin L., Lebecque S., Fridman W.-H., Cadranel J.* Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. J. Clin. Oncol. 2008, 26 (27), 4410–4417.
11. *Dieu-Nosjean M.-C., Giraldo N. A., Kaplon H., Germain C., Fridman W. H., Sautès-Fridman C.* Tertiary lymphoid structures, drivers of the anti-tumor responses in human cancers. Immunol. Rev. 2016, 271 (1), 260–275.
12. *Castan J., Tenner-Racz K., Racz P., Fleischer B., Bröker B. M.* Accumulation of CTLA-4 expressing T lymphocytes in the germinal centres of human lymphoid tissues. Immunology 1997, 90 (2), 265–271.
13. *Wang C. J., Heuts F., Ovcinnikovs V., Wardzinski L., Bowers C., Schmidt E. M., Kogimtzis A., Kenefeck R., Sansom D. M., Walker L. S. K.* CTLA-4 controls follicular helper T-cell differentiation by regulating the strength of CD28 engagement. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2015, 112 (2), 524–529.
14. *Sage P. T., Paterson A. M., Lovitch S. B., Sharpe A. H.* The coinhibitory receptor CTLA-4 controls B cell responses by modulating T follicular helper, T follicular regulatory, and T regulatory cells. Immunity 2014, 41 (6), 1026–1039.
15. *Sage P. T., Francisco L. M., Carman C. V, Sharpe A. H.* The receptor PD-1 controls follicular regulatory T cells in the lymph nodes and blood. Nat. Immunol. 2013, 14 (2), 152–161.
16. *Solinas C., Garaud S., De Silva P., Boisson A., Van den Eynden G., de Wind A., Risso P., Rodrigues Vitória J., Richard F., Migliori E., Noël G., Duvillier H., Craciun L., Veys I., Awada A., Detours V., Larsimont D., Piccart-Gebhart M., Willard-Gallo K.* Immune Checkpoint Molecules on Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Their Association with Tertiary Lymphoid Structures in Human Breast Cancer. Front. Immunol. 2017, 8, 1412.
17. *Apel R. L., Asa S. L., LiVolsi V. A.* Papillary Hürthle cell carcinoma with lymphocytic stroma. «Warthin-like tumor» of the thyroid. Am. J. Surg. Pathol. 1995, 19 (7), 810–814.
18. *D'Antonio A., De Chiara A., Santoro M., Chiappetta G., Losito N. S.* Warthin-like tumour of the thyroid gland: RET/PTC expression indicates it is a variant of papillary carcinoma. Histopathology 2000, 36 (6), 493–498.
19. *Urano M., Abe M., Kuroda M., Mizoguchi Y., Horibe Y., Kasahara M., Tanaka K., Sudo K., Hirasawa Y.* Warthin-like tumor variant of papillary thyroid carcinoma: case report and literature review. Pathol. Int. 2001, 51 (9), 707–712.
20. *Vera-Sempere F. J., Prieto M., Camañas A.* Warthin-like Tumor of the Thyroid: A Papillary Carcinoma with Mitochondrion-rich Cells and Abundant Lymphoid Stroma. A Case Report. Pathol.– Res. Pract. 1998, 194 (5), 341–347.

21. *Lam K. Y., Lo C. Y., Wei W. I.* Warthin tumor-like variant of papillary thyroid carcinoma: a case with dedifferentiation (anaplastic changes) and aggressive biological behavior. Endocr. Pathol. 2005, 16 (1), 83–89.
22. *Amico P., Lanzafame S., Li Destri G., Greco P., Caltabiano R., Vecchio G. M., Magro G.* Warthin tumor-like papillary thyroid carcinoma with a minor dedifferentiated component: report of a case with clinicopathologic considerations. Case Rep. Med. 2010, 495281.
23. *Shi J., Hou S., Fang Q., Liu X., Liu X., Qi H.* PD-1 Controls Follicular T Helper Cell Positioning and Function. Immunity 2018, 49 (2), 264–274.e4.
24. *Joshi N. S., Akama-Garren E. H., Lu Y., Lee D.-Y., Chang G. P., Li A., DuPage M., Tammela T., Kerper N. R., Farago A. F., Robbins R., Crowley D. M., Bronson R. T., Jacks T.* Regulatory T Cells in Tumor-Associated Tertiary Lymphoid Structures Suppress Anti-tumor T Cell Responses. Immunity 2015, 43 (3), 579–590.

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF TUMOR-INFILTRATING T-LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS OF THE WARTHIN-LIKE VARIANT OF PAPILLARY THYROID CANCER

© 2018 A. V. Bogolyubova[1,2]*, A. Yu. Abrosimov[3,4], L. S. Selivanova[3], N. Yu. Dvinskikh[5], D. V. Kuprash[1], P. V. Belousov[1,4]

**E-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com*
[1]Laboratory of intracellular signaling in health and disease, Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;
[2]Educational Fund "Talent and Success", Educational center "Sirius", Sochi, Russia;
[3]Department of Basic Pathology, National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow, Russia;
[4]Laboratory «Physical methods, acousto-optical and laser devices for diagnosis and therapy of oncological diseases», National University of Science & Technology «MISIS», Moscow, Russia;
[5]Department of Pathology, A. Tsyb Medical Radiological Research Center, Ministry of Health of Russian Federation, Obninsk, Russia

Received: 11.12.2018. **Accepted:** 15.01.2019

Tumor-infiltrating immune cells, in particular T-lymphocytes, can both stimulate and inhibit the tumor growth. Warthin-like variant of papillary thyroid cancer is a unique tumor characterized by an abnormally abundant immune infiltration. We performed the analysis of the composition of T-cell subpopulations in the contexture of this type of cancer.

Key words: T-lymphocytes, Warthin-like papillary thyroid cancer, tumor-infiltrating lymphocytes, tertiary lymphoid structures, immune checkpoints

Authors:

Bogolyubova A. V., ✉ junior staff scientist Laboratory of intracellular signaling in health and disease, Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; staff scientist, Educational Fund «Talent and success», Educational center «Sirius», Sochi, Russia;

119991, Russia, Moscow, Vavilova str., 32. Phone: +79060798364 (моб.), Fax: +74991351405.
E-mail: apollinariya.bogolyubova@gmail.com;

Abrosimov A. Yu., PhD, head of the department Department of Basic Pathology, National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow, Russia; Laboratory «Physical methods, acousto-optical and laser devices for diagnosis and therapy of oncological diseases», National University of Science & Technology «MISIS», Moscow, Russia;

Selivanova L. S., PhD, senior staff scientist Department of Basic Pathology, National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow, Russia;

Dvinskikh N. Yu., PhD, head of the Department of Pathology, A. Tsyb Medical Radiological Research Center, Ministry of Health of Russian Federation, Obninsk, Russia

Kuprash D. V., PhD, head of the Laboratory of intracellular signaling in health and disease, Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia;

Belousov P. V., junior staff scientist Laboratory of intracellular signaling in health and disease, Engelhardt Institute of Molecular Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia; Laboratory «Physical methods, acousto-optical and laser devices for diagnosis and therapy of oncological diseases», National University of Science & Technology «MISIS», Moscow, Russia.