



<https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-4-266-272>

НЕОЛИМФОГЕНЕЗ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Ганцев Шамиль Ханафиевич — д.м.н., профессор, директор НИИ онкологии, зав. кафедрой онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии, e-mail: prfg@mail.ru, orcid.org/0000-0003-2047-963X
Рустамханов Расул Айдарович — ассистент кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, e-mail: weather86@mail.ru, тел.: 89196131608, orcid.org/0000-0002-0355-1399
Кзыргалин Шамиль Римович — к.м.н., доцент кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, e-mail: ufa.shamil@gmail.com, orcid.org/0000-0001-9721-108X
Турсуметов Давлат Сайтмуратович — к.м.н., доцент кафедры онкологии с курсами онкологии и патологической анатомии ИДПО, e-mail: ufa.davlat@gmail.com, orcid.org/0000-0003-4069-6594

Ш.Х. Ганцев, Р.А. Рустамханов, Ш.П. Кзыргалин, Д.С. Турсуметов

Башкирский государственный медицинский университет, Россия, 450008, Уфа, ул. Ленина, 3

Контакты: Рустамханов Расул Айдарович, e-mail: weather86@mail.ru, тел.: +7 (919) 613-16-08

Введение. Ранее проведенные нами исследования доказали, что постнатально сформированные лимфатические узлы могут служить источником биологических сигналов, активирующих противоопухолевые реакции иммунитета и подавляющих распространение метастазирующих злокачественных клеток.

Цель работы: определение экспрессии CD3, CD20, CD68 в нативных, сторожевых и постнатально индуцированных лимфатических узлах аксиллярной зоны при раке молочной железы.

Материалы и методы. Исследованию подвергались готовые оцифрованные изображения иммуногистохимической экспрессии фиксированной панели антител CD3, CD20, CD68. Проводили количественную оценку экспрессии методом подсчета экспрессированных клеток в каждом исследованном узле по четырем основным структурно-функциональным зонам.

Результаты и обсуждение. Результаты сравнительного иммуногистохимического исследования нативных, сторожевых и постнатально индуцированных лимфатических узлов показали, что содержание CD3, CD20, CD68 в различных структурах лимфатических узлов имело принципиальные отличия.

Выводы

1. В постнатально индуцированных лимфатических узлах отчетливо выявлена отличная от нативных и сторожевых лимфатических узлов экспрессия антител к основным иммунокомпетентным клеткам, реализующих в лимфатическом узле ключевые иммунные реакции, что может указывать на повышенный функциональный статус новообразованных лимфоузлов.
2. Проведенное исследование демонстрирует высокий уровень антигенной стимуляции Т- и В-лимфоцитов в ПНИЛУ, а также указывает на возможную роль клеток макрофагального ряда в стимуляции неолимфогенеза и образования новых лимфоузлов.
3. Реализация данного научного проекта позволяет в дальнейших научных изысканиях заложить фундаментальные основы для исследований, посвященных постнатальным индуцированным лимфатическим узлам у онкологических больных.

Ключевые слова: неолимфогенез, лимфатические узлы, рак молочной железы, иммуногистохимия, CD3, CD20, CD68

Для цитирования: Ганцев Ш.Х., Рустамханов Р.А., Кзыргалин Ш.П., Турсуметов Д.С. Неолимфогенез и иммуногистохимическое исследование лимфатических узлов при раке молочной железы. Креативная хирургия и онкология. 2019;9(4):266–272. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-4-266-272>

NEOLYMPHOGENESIS AND IMMUNOGISTOGOCHEMICAL STUDY OF LYMPH NODES IN BREAST CANCER

Shamil Kh. Gantsev, Rasul A. Rustamkhanov, Shamil R. Kzyrgalin, Davlat S. Tursumetov

Bashkir State Medical University, 3 Lenin str., Ufa, 450008, Russian Federation

Contacts: Rustamkhanov Rasul Ajdarovich, e-mail: weather86@mail.ru, tel.: +7 (919) 613-16-08

Background. Our previous studies have shown that postnatally formed lymph nodes (PNFLN) can serve as a source of biological signals activating antitumour immune reactions and suppressing the spread of metastatic malignant cells.

Aim. To determine the expression of CD3, CD20, CD68 in native, sentinel and postnatally induced lymph nodes of the axillary zone in breast cancer.

Materials and methods. The study involved an analysis of digitalized images of the immunohistochemical expression of a fixed panel of antibodies CD3, CD20, CD68. The expression levels were assessed quantitatively by counting the expressed cells in each studied node for four main structural and functional zones.

Results and Discussion. The results of a comparative immunohistochemical study of native, sentinel and postnatally induced lymph nodes showed that the content of CD3, CD20, CD68 demonstrates fundamental differences in different lymph node structures.

Conclusions

1. In postnatally induced lymph nodes, compared to native and sentinel lymph nodes, the distinct expression of antibodies to the main immunocompetent cells, which realize key immune responses in the lymph node, can indicate an increased functional status of the newly formed lymph nodes.
2. The study demonstrated a high level of antigenic stimulation of T and B lymphocytes in postnatally induced lymph nodes, as well as indicated a possible role of macrophage cells in the stimulation of neolymphogenesis and the formation of new lymph nodes.
3. The study provides the basis for further research into postnatal induced lymph nodes in cancer patients.

Keywords: neolymphogenesis, lymph nodes, breast cancer, immunohistochemistry, CD3, CD20, CD68

For citation: Gantsev Sh.Kh., Rustamkhanov R.A., Kzyrgalin Sh.R., Tursumetov D.S. Neolymphogenesis and Immunogistogochemical Study of Lymph Nodes in Breast Cancer. *Creative surgery and oncology*. 2019;9(4):266–272. <https://doi.org/10.24060/2076-3093-2019-9-4-266-272>

Gantsev Shamil Khanafievich — Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of the Scientific Research Institute of Oncology, Head of the Department of Oncology with Oncology and Anatomical Pathology courses in the Institute of Additional Professional Education, e-mail: prfg@mail.ru, orcid.org/0000-0003-2047-963X

Rustamkhanov Rasul Aydarovich — Assistant lecturer of the Department of Oncology with Oncology and Anatomical Pathology courses in the Institute of Additional Professional Education, e-mail: weather86@mail.ru, tel.: 89196131608, orcid.org/0000-0002-0355-1399

Kzyrgalin Shamil Rimovich — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Oncology with Oncology and Anatomical Pathology courses in the Institute of Additional Professional Education, e-mail: ufa.shamil@gmail.com, orcid.org/0000-0001-9721-108X

Tursumetov Davlat Saytmuratovich — Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of the Department of Oncology with Oncology and Anatomical Pathology courses in the Institute of Additional Professional Education, e-mail: ufa.davlat@gmail.com, orcid.org/0000-0003-4069-6594

Введение

Неолимфогенез — процесс образования и развития новых лимфатических узлов в постнатальном периоде. По данным классических анатомических изданий, формирование лимфатической системы у человека завершается на этапе эмбриогенеза и все изменения сводятся к уменьшению количества, общей массы лимфоидной ткани и ее активности. Вновь образованный лимфатический узел имеет единый сосуд — афферентный и эфферентный (в норме — 4–6 афферентных и 1 эфферентный сосуд). Наличие вновь образованных лимфатических узлов, по предварительным наблюдениям, свидетельствует о прекращении функциональной активности первого анатомического этапа-барьера сторожевого лимфатического узла (СЛУ) на пути распространения раковых клеток [1].

В норме различные лимфоидные структуры возникают лишь в процессе развития плода, однако при длительных хронических воспалительных процессах, длительно не заживающих ранах, аутоиммунных и онкологических заболеваниях обнаружено реактивное новообразование различных лимфоидных структур [2, 3].

Исследования в области изучения постнатально индуцированных лимфатических узлов (третичных лимфоидных органов, лимфоидного неогенеза) ведутся в международном научном сообществе очень активно. Предполагается, что появление вновь образованных лимфатических узлов при злокачественных опухолях можно рассматривать с позиций сложных механизмов взаимодействия иммунной системы с опухолью и ее метастазами. В частности, в постнатальных индуцированных лимфатических узлах (ПНИЛУ) у онкологических больных выявлены изменения экспрессии генов, кодирующих определенные провоспалительные цитокины, хемокины и рецепторы, что может оказывать влияние на процесс распространения злокачественных клеток [4].

Ранее проведенные нами исследования доказали, что постнатально сформированные лимфатические узлы могут служить источником биологических сигналов, активирующих противоопухолевые реакции иммунитета и подавляющих распространение метастазирующих злокачественных клеток [5].

Так, сравнение профиля РНК, содержащихся в ткани гистологически нормальных и третичных лимфатических узлов, которые были обнаружены при исследовании операционного материала у больных раком молочной железы, показало повышенную экспрессию в ПНИЛУ генов, кодирующих рецепторы XCR1 и CYFIP2, цитокины TNFSF14 и CCL16, а также сниженную экспрессию лигандов хемокинов CXCL5 и CXCL12 [6].

Неопластические злокачественные новообразования во многих своих свойствах сходны со средой хронического воспаления, в том числе с хроническим течением самого воспаления. Тем не менее злокачественные опухоли отличаются от хронического воспаления по одному существенному признаку, который, как считают некоторые ученые, может предотвратить образование

третичных лимфоидных структур высокоиммуносупрессивного микроокружения опухоли [7]. Однако, согласно последним исследованиям независимых ученых по всему миру, ТЛС различных степеней организации встречается у пациентов с различными видами первичных и метастазирующих опухолей [8–19].

Существуют представления о том, что индукция неолимфогенеза может быть использована для протезирования функции иммунной системы [20], а воздействие на состояние этих структур с использованием лекарственных средств или методов биотерапии может послужить основой для создания новых подходов к лечению онкологических больных [21].

Для иммуногистохимического исследования были выбраны антитела к основным иммунокомпетентным клеткам, реализующим в лимфатическом узле ключевые иммунные реакции.

Цель работы — определение экспрессии CD3, CD20, CD68 в нативных, сторожевых и постнатально индуцированных лимфатических узлах аксиллярной зоны при раке молочной железы.

Материалы и методы

Объектом исследования являлись лимфатические узлы при раке молочной железы аксиллярной области со стороны поражения опухолью. В исследование включались пациенты с установленным диагнозом «рак молочной железы» в стадиях IIIA, IIIB, IIIC. Во время операции, на этапе выделения аксиллярных лимфоузлов, при помощи красителя метиленового синего производили детекцию сторожевого лимфатического узла путем введения контраста в околонодулярную клетчатку.

Макропрепарат (молочная железа с аксиллярными лимфатическими узлами и сосудами в едином блоке), полученный после операции — мастэктомии с аксиллярной лимфодиссекцией, подвергался сонолиподеструкции, так как эта методика позволяет детально визуализировать структурные компоненты аксиллярного лимфатического коллектора.

После этапа сонолиподеструкции мы получили детализированную карту лимфатических узлов и сосудов аксиллярной области. Введение контраста во время операции позволило нам выявить 3 группы лимфатических узлов.

1. Нативные неизмененные лимфатические узлы (НЛУ). Полностью окрашенные метиленовым синим мы принимали за функционально активные, не измененные опухолевым процессом лимфатические узлы. Для них характерным было наличие нескольких (4–6) афферентных и одного эфферентного лимфатического сосуда.

2. Новообразованные, постнатально индуцированные лимфатические узлы (ПНИЛУ). Также были полностью окрашены метиленовым синим, как следствие, видимо, функционально активных и не задействованных в метастатическом процессе. Отличительной характеристикой ПНИЛУ было наличие единого афферентного и эфферентного лимфатического сосуда.

3. Сторожевые лимфатические узлы (СЛУ). Окрашены метиленовым синим частично, по нашему мнению,

за счет блокады сторожевого лимфатического узла метастатическими клетками опухоли. В отличие от нативных и новообразованных у сторожевых лимфоузлов количество отводящих лимфу сосудов было значительно больше, их количество коррелировало с задействованными в метастатическом процессе лимфатическими узлами. Чем больше было выявлено лимфоузлов, блокированных метастазами, тем больше лимфатических сосудов мы визуализировали отходящими от сторожевого лимфоузла.

Лимфатические узлы фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина, обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 1 мкм, изготовленные на микротоме Leica RM 2235, Германия, окрашивали гематоксилином и эозином.

Для иммуногистохимического исследования использовали аппарат для иммуногистохимии «Бонд-Макс» (Bond-maX), Австралия. Цифровые изображения полученной иммуногистохимической экспрессии получали посредством сканирования готовых гистологических микропрепаратов на цифровом сканере микропрепаратов Leica Aperio AT2 производства Германии. Работа по оценке экспрессии выполнялась с использованием программного обеспечения Digital Pathology.

Исследованию подвергались готовые оцифрованные изображения иммуногистохимической экспрессии фиксированной панели антител CD3, CD20, CD68. Для оценки результатов иммуногистохимической реакции проводили подсчет экспрессированных клеток на 2000 клеток в 10 случайным образом отобранных полях зрения (при увеличении $\times 40$). Учитывали умеренное и выраженное иммуногистохимическое окрашивание. Сравнительное исследование проводили в следующих группах: (1) сторожевые лимфатические узлы; (2) нативные лимфатические узлы; (3) постнатально индуцированные лимфатические узлы.

Экспрессированные клетки считали по основным структурно-функциональным зонам лимфоузлов, по каждому маркеру в отдельности:

- кортикальный синус;
- промежуточный синус;
- паракортикальная зона;
- лимфоидные фолликулы.

В работе использовались антитела согласно протоколу фирмы-изготовителя Leica, страна-производитель Великобритания (табл. 1).

Для удобства визуализации чувствительности разных структурно-функциональных зон к исследованным маркерам использовали рандомную шкалу распределения процентов по степени экспрессии антител (табл. 2).

Результаты и обсуждение

Результаты сравнительного иммуногистохимического исследования НЛУ, СЛУ и ПНИЛУ показали, что содержание CD3, CD20, CD68 в различных структурах лимфатических узлов имело принципиальные отличия, поэтому приводим последовательное описание этих особенностей в тканях различных лимфатических узлов.

Антитело	Клон	Специфичность	Разведение антител
CD3	LN10	T-лимфоциты	1/50
CD20	MJ1	B-лимфоциты	RTU
CD68	514H12	Все макрофаги	RTU

Таблица 1. Характеристики антител, использованных в работе
Table 1. Characteristics of antibodies used in the work

%	Степень экспрессии антител
100	+++
90	+++
80	++
70	++
60	+
50	+
40	+/-
30	+/-
20	-
10	-
0	--

Таблица 2. Шкала распределения процентов по степени экспрессии антител
Table 2. Percentage Scale for Antibody Expression

В ткани СЛУ CD3 T-клетки локализовались преимущественно в паракортикальной зоне (рис. 1а). Экспрессия CD20⁺ В-лимфоцитов выявлялись больше всего в лимфоидных фолликулах, чуть меньше в паракортикальной зоне, некоторое количество клеток встречалось в промежуточных синусах и единичные клетки выявлялись в кортикальном синусе (рис. 1б). В ткани НЛУ CD68⁺ макрофаги/гистиоциты локализовались преимущественно в промежуточных синусах, в краевом синусе их было значительно меньше. В паракортикальной зоне и лимфоидных фолликулах встречались единичные экспрессированные CD68⁺-клетки (рис. 1в).

В ткани ПНИЛУ CD3⁺ T-клетки локализовались преимущественно в паракортикальной зоне (рис. 2а). Экспрессия CD20⁺ В-лимфоцитов выявлялись больше всего в лимфоидных фолликулах, чуть меньше в паракортикальной зоне, некоторое количество клеток встречалось в промежуточных синусах и единичные клетки выявлялись в кортикальном синусе (рис. 2б). В ткани НЛУ CD68⁺ макрофаги/гистиоциты локализовались преимущественно в промежуточных синусах, в краевом синусе их было значительно меньше. В паракортикальной зоне и лимфоидных фолликулах встречались единичные экспрессированные CD68⁺-клетки (рис. 2в).

В ткани ПНИЛУ CD3 T-клетки выявлялась выраженная экспрессия в краевом и промежуточном синусах и паракортикальной зоне. В лимфоидных фолликулах экспрессировались 25 % CD3⁺-клеток (рис. 3а). Экспрессия CD20⁺ В-лимфоцитов выявлялась больше всего в лимфоидных фолликулах, чуть меньше в паракортикальной зоне, среднее количество клеток встречалось в промежуточных синусах и кортикальном синусе

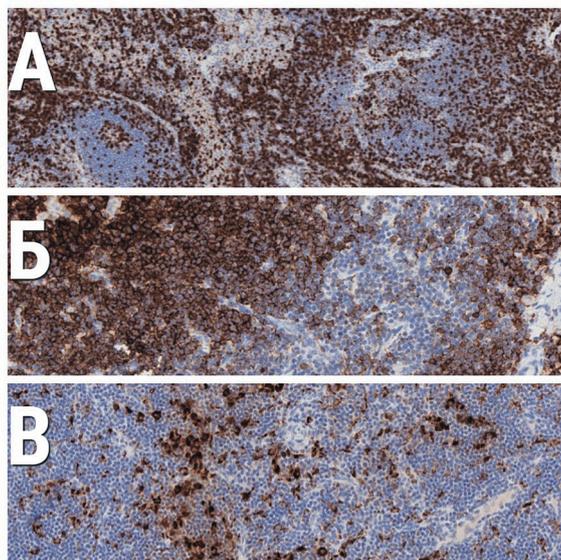


Рисунок 1. СЛУ: А — CD3⁺-клетки локализуются преимущественно в паракортикальной зоне; Б — CD20⁺-клетки в лимфоидных фолликулах в паракортикальной зоне; В — CD68⁺-макрофаги/гистиоциты локализуются преимущественно в промежуточных синусах. Непрямое иммунопероксидазное окрашивание с антителами к CD3, CD20, CD68, докрасивание гематоксилином; ×20, ×40, ×40

Figure 1. Sentinel lymph nodes. A) CD3⁺-cells are localized mainly in the paracortical zone; B) CD20⁺-cells in lymphoid follicles in the paracortical zone; B) CD68⁺-macrophages / histiocytes are localized mainly in the intermediate sinuses. Indirect immunoperoxidase staining with antibodies to CD3, CD20, CD68, additional staining with hematoxylin: ×20, ×40, ×40

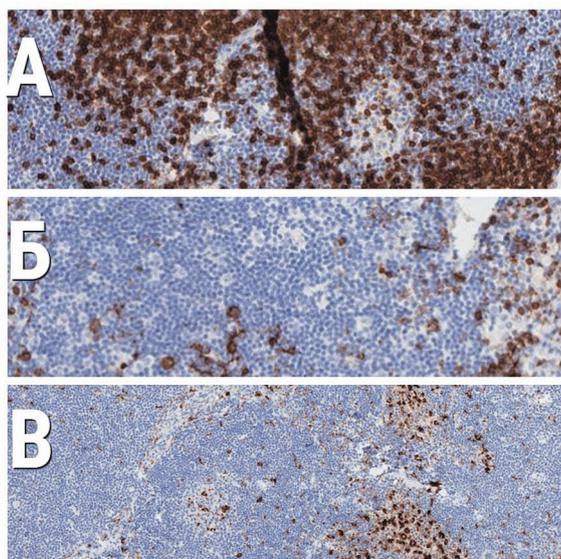


Рисунок 2. НЛУ: А — CD3⁺-клетки локализуются преимущественно в паракортикальной зоне; Б — CD20⁺-клетки в лимфоидных фолликулах в паракортикальной зоне; В — CD68⁺-макрофаги/гистиоциты локализуются преимущественно в промежуточных синусах. Непрямое иммунопероксидазное окрашивание с антителами к CD3, CD20, CD68, докрасивание гематоксилином; ×20, ×20, ×20

Figure 2. Native lymph nodes. A) CD3⁺-cells are localized mainly in the paracortical zone; Б) CD20⁺-cells in lymphoid follicles in the paracortical zone; В) CD68⁺-macrophages/histiocytes are localized mainly in the intermediate sinuses. Indirect immunoperoxidase staining with antibodies to CD3, CD20, CD68, additional staining with hematoxylin: ×20, ×20, ×20

(рис. 3б). В ткани НЛУ CD68⁺-макрофаги/гистиоциты локализовались преимущественно в промежуточных синусах, в краевом синусе их было значительно меньше. В паракортикальной зоне и лимфоидных фолликулах встречались единичные экспрессированные CD68⁺-клетки (рис. 3в).

Процентное соотношение экспрессий каждой из структурно-функциональных зон лимфоузлов переведено в степени экспрессии по трем группам лимфоузлов (табл. 3–5).

Таким образом, в результате проведенного исследования получены данные по интерпретации иммуногистохимического профиля лимфатических узлов (нативных, сторожевых и постнатально индуцированных) при раке молочной железы.

Выводы:

1. В постнатально индуцированных лимфатических узлах отчетливо выявлена отличная от нативных и сторожевых лимфатических узлов экспрессия антител к основным иммунокомпетентным клеткам, реализующих в лимфатическом узле ключевые иммунные реакции, что может указывать на повышенный функциональный статус новообразованных лимфоузлов.

2. Проведенное исследование демонстрирует высокий уровень антигенной стимуляции Т- и В-лимфоцитов в ПНИЛУ, а также указывает на возможную роль клеток макрофагального ряда в стимуляции неоплимфоцитоза и образования новых лимфоузлов.

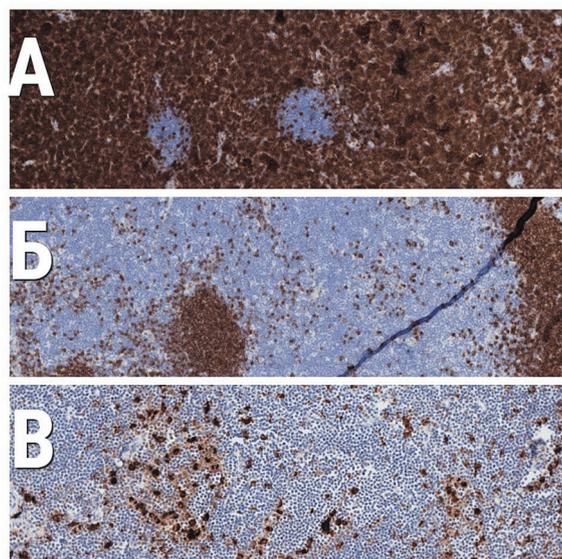


Рисунок 3. ПНИЛУ: А — в лимфоидных фолликулах экспрессировались 25 % CD3⁺-клеток; Б — CD20⁺-клетки в лимфоидных фолликулах в паракортикальной зоне; В — CD68⁺-макрофаги/гистиоциты локализуются преимущественно в промежуточных синусах. Непрямое иммунопероксидазное окрашивание с антителами к CD3, CD20, CD68, докрасивание гематоксилином; ×40, ×20, ×20

Figure 3. Postnatally formed lymph nodes. A) 25% of CD3⁺-cells were expressed in lymphoid follicles; Б) CD20⁺-cells in the lymphoid follicles in the paracortical zone; В) CD68⁺-macrophages/histiocytes are localized mainly in the intermediate sinuses. Indirect immunoperoxidase staining with antibodies to CD3, CD20, CD68, additional staining with hematoxylin: ×40, ×20, ×20.

	Кортикальный синус	Промежуточные синусы	Паракортикальная зона	Лимфатические фолликулы
CD3	+++	+++	++	-
CD20	-	+/-	+++	+++
CD68	-	++	--	--

Таблица 3. Степени экспрессии антител сторожевых лимфатических узлов
Table 3. Antibody expression in sentinel lymph nodes

	Кортикальный синус	Промежуточные синусы	Паракортикальная зона	Лимфатические фолликулы
CD3	+/-	+/-	++	-
CD20	-	+/-	++	+++
CD68	-	+	--	--

Таблица 4. Степени экспрессии антител нативных лимфатических узлов
Table 4. Antibody expression in sentinel lymph nodes

	Кортикальный синус	Промежуточные синусы	Паракортикальная зона	Лимфатические фолликулы
CD3	+++	+++	+++	-
CD20	+	-	++	+++
CD68	-	+/-	--	--

Таблица 5. Степени экспрессии антител постнатально индуцированных лимфатических узлов
Table 5. Antibody expression in postnatally formed lymph nodes

3. Реализация данного научного проекта позволяет в дальнейших научных изысканиях заложить фундаментальные основы для исследований, посвященных постнатальным индуцированным лимфатическим узлам у онкологических больных. На основе полученных данных мы приблизились к выявлению ключевых белков, задействованных в процессе формирования постнатально индуцированных лимфатических узлов.

Информация о конфликте интересов. Конфликт интересов отсутствует.

Информация о финансировании. Данная работа не финансировалась.

Список литературы

- Ганцев Ш.Х., Галеев М.Г., Ганцев К.Ш., Кзыргалин Ш.Р., Турсуметов Д.С., Рустамханов Р.А. и др. Лимфатический узел и его микроокружение при раке молочной железы. Москва: МИА; 2019. 280 с.
- Бородин Ю.И., Горчакова О.В., Горчаков В.Н. Периферические лимфоидные структуры: образование и функция. Морфология. 2016;(4):90–6.
- Corsiero E., Delvecchio F.R., Bombardieri M., Pitzalis C. B cells in the formation of tertiary lymphoid organs in autoimmunity, transplantation and tumorigenesis. *Curr Opin Immunol.* 2019;57:46–52. DOI: 10.1016/j.coi.2019.01.004
- Ганцев Ш.Х., Рустамханов Р.А., Ганцев К.Ш., Кзыргалин Ш.Р. Третичные лимфоидные структуры (лимфоидный неогенез). *Иммунология.* 2019;40(2):58–63. DOI: 10.34411/0306-4953-3019-13008
- Gantsev S.K., Umezawa K., Islamgulov D.V., Khusnutdinova E.K., Ishmuratova R.S., Frolova V.Y., et al. The role of inflammatory chemokines in lymphoid neoorganogenesis in breast cancer. *Biomed Pharmacother.* 2013;67(5):363–6. DOI: 10.1016/j.biopha.2013.03.017
- Ганцев Ш.Х., Пухов А.Г., Хуснутдинова Э.К., Галеев М.Г., Ганцев К.Ш., Ишмуратова Р.Ш. и др. Неоплазматический и профиль экспрессии хемокинов при раке молочной железы. *Креативная хирургия и онкология.* 2012;(1):4–9. DOI: 10.24060/2076-3093-2012-0-1-4-9
- Joyce J.A., Fearon D.T. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science.* 2015;(348):74–80. DOI: 10.1126/science.1256204
- Goc J., Germain C., Vo-Bourgais T.K.D., Lupo A., Klein C., Knockaert S., et al. Dendritic cells in tumor-associated tertiary lymphoid structures signal a Th1 cytotoxic immune contexture and license the positive prognostic value of infiltrating CD8+ T cells. *Cancer Res.* 2014;74(3):705–15. DOI: 10.1158/0008-5472.CCR-13-1342
- Bento D.C., Jones E., Junaid S., Tull J., Williams G.T., Godkin A., et al. High endothelial venules are rare in colorectal cancers but accumulate in extra-tumoral areas with disease progression. *Oncoimmunology.* 2015;4(3):e974374. DOI: 10.4161/2162402X.2014.974374
- Di Caro G., Bergomas F., Grizzi F., Doni A., Bianchi P., Malessi A., et al. Occurrence of tertiary lymphoid tissue is associated with T-cell infiltration and predicts better prognosis in early-stage colorectal cancers. *Clin Cancer Res.* 2014;20(8):2147–58. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2590
- Figenschau S.L., Fismen S., Fenton K.A., Fenton C., Mortensen E.S. Tertiary lymphoid structures are associated with higher tumor grade in primary operable breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2015;15:101. DOI: 10.1186/s12885-015-1116-1
- Song J.H., Heo S.-H., Bang W.S., Park H.S., Park I.A., Kim Y.A., et al. Predictive value of tertiary lymphoid structures assessed by high endothelial venule counts in the neoadjuvant setting of triple-negative breast cancer. *Cancer Res Treat.* 2017;49(2):399–407. DOI: 10.1433/crt.2016.215
- García-Hernández M.L., Uribe-Urbe N.O., Espinosa-González R., Kast W.M., Khader S.A., Rangel-Moreno J. A unique cellular and molecular microenvironment is present in tertiary lymphoid organs of patients with spontaneous prostate cancer regression. *Front Immunol.* 2017;8:563. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00563
- Kroeger D.R., Milne K., Nelson B.H. Tumor-infiltrating plasma cells are associated with tertiary lymphoid structures, cytolytic T-cell responses, and superior prognosis in ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2016;22(12):3005–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2762
- Hiraoka N., Ino Y., Yamazaki-Itoh R., Kanai Y., Kosuge T., Shimada K. Intratumoral tertiary lymphoid organ is a favourable prognosticator in patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2015;112(11):1782–90. DOI: 10.1038/bjc.2015.145
- Finkin S., Yuan D., Stein I., Taniguchi K., Weber A., Unger K., et al. Ectopic lymphoid structures function as microniches for tumor progenitor cells in hepatocellular carcinoma. *Nat Immunol.* 2015;16(12):1235–44. DOI: 10.1038/ni.3290
- Sakai Y., Hoshino H., Kitazawa R., Kobayashi M. High endothelial venule-like vessels and lymphocyte recruitment in testicular seminoma. *Andrology.* 2014;2(2):282–9. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00192.x

- 18 Giraldo N.A., Becht E., Pagès F., Skliris G., Verkarre V., Vano Y., et al. Orchestration and prognostic significance of immune checkpoints in the microenvironment of primary and metastatic renal cell cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(13):3031–40. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2926
- 19 Low S., Sakai Y., Hoshino H., Hirokawa M., Kawashima H., Higuchi K., et al. High endothelial venule-like vessels and lymphocyte recruitment in diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathology.* 2016;48(7):666–74. DOI: 10.1016/j.pathol.2016.08.002
- 20 Ганцев И.Х. Новое к теории метастазирования рака и подходам к его лечению. *Креативная хирургия и онкология.* 2010;(4):5–11.
- 21 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):260–75. DOI: 10.1111/imr.12405
- 10 Di Caro G., Bergomas F., Grizzi F., Doni A., Bianchi P., Malesci A., et al. Occurrence of tertiary lymphoid tissue is associated with T-cell infiltration and predicts better prognosis in early-stage colorectal cancers. *Clin Cancer Res.* 2014;20(8):2147–58. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2590
- 11 Figschau S.L., Fismen S., Fenton K.A., Fenton C., Mortensen E.S. Tertiary lymphoid structures are associated with higher tumor grade in primary operable breast cancer patients. *BMC Cancer.* 2015;15:101. DOI: 10.1186/s12885-015-1116-1
- 12 Song I.H., Heo S.-H., Bang W.S., Park H.S., Park I.A., Kim Y.A., et al. Predictive value of tertiary lymphoid structures assessed by high endothelial venule counts in the neoadjuvant setting of triple-negative breast cancer. *Cancer Res Treat.* 2017;49(2):399–407. DOI: 10.4143/crt.2016.215
- 13 García-Hernández M.L., Uribe-Urbe N.O., Espinosa-González R., Kast W.M., Khader S.A., Rangel-Moreno J. A unique cellular and molecular microenvironment is present in tertiary lymphoid organs of patients with spontaneous prostate cancer regression. *Front Immunol.* 2017;8:563. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00563
- 14 Kroeger D.R., Milne K., Nelson B.H. Tumor-infiltrating plasma cells are associated with tertiary lymphoid structures, cytolytic T-cell responses, and superior prognosis in ovarian cancer. *Clin Cancer Res.* 2016;22(12):3005–15. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2762
- 15 Hiraoka N., Ino Y., Yamazaki-Itoh R., Kanai Y., Kosuge T., Shimada K. Intratumoral tertiary lymphoid organ is a favourable prognosticator in patients with pancreatic cancer. *Br J Cancer.* 2015;112(11):1782–90. DOI: 10.1038/bjc.2015.145
- 16 Finkin S., Yuan D., Stein I., Taniguchi K., Weber A., Unger K., et al. Ectopic lymphoid structures function as microniches for tumor progenitor cells in hepatocellular carcinoma. *Nat Immunol.* 2015;16(12):1235–44. DOI: 10.1038/ni.3290
- 17 Sakai Y., Hoshino H., Kitazawa R., Kobayashi M. High endothelial venule-like vessels and lymphocyte recruitment in testicular seminoma. *Andrology.* 2014;2(2):282–9. DOI: 10.1111/j.2047-2927.2014.00192.x
- 18 Giraldo N.A., Becht E., Pagès F., Skliris G., Verkarre V., Vano Y., et al. Orchestration and prognostic significance of immune checkpoints in the microenvironment of primary and metastatic renal cell cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(13):3031–40. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2926
- 19 Low S., Sakai Y., Hoshino H., Hirokawa M., Kawashima H., Higuchi K., et al. High endothelial venule-like vessels and lymphocyte recruitment in diffuse sclerosing variant of papillary thyroid carcinoma. *Pathology.* 2016;48(7):666–74. DOI: 10.1016/j.pathol.2016.08.002
- 20 Gantsev Sh.Kh. New in metastasis processing theory and in cancer treatment approaches. *Creative surgery and oncology.* 2012;(4):5–11 (In Russ.).
- 21 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):260–75. DOI: 10.1111/imr.12405

References

- 1 Gantsev Sh.Kh., Galeev M.G., Gantsev K.Sh., Kzyrgalin Sh.R., Tursunmetov D.S., Rustamkhanov R.A., et al. Lymph node and its microenvironment in breast cancer. Moscow: MIA; 280 p. (In Russ.).
- 2 Borodin Yu.I., Gorchakova O.V., Gorchakov V.N. Peripheral lymphoid structures: formation and function. *Morphology.* 2016;(4):90–6 (In Russ.).
- 3 Corsiero E., Delvecchio F.R., Bombardieri M., Pitzalis C. B cells in the formation of tertiary lymphoid organs in autoimmunity, transplantation and tumorigenesis. *Curr Opin Immunol.* 2019;57:46–52. DOI: 10.1016/j.coi.2019.01.004
- 4 Gantsev Sh.Kh., Rustamkhanov R.A., Gantsev K.Sh., Kzyrgalin Sh.R. Tertiary lymphoid structures (lymphoid neogenesis). *Immunologiya.* 2019;40(2):58–63 (In Russ.). DOI: 10.34411/0306-4953-3019-13008
- 5 Gantsev S.K., Umezawa K., Islamgulov D.V., Khusnutdinova E.K., Ishmuratova R.S., Frolova V.Y., et al. The role of inflammatory chemokines in lymphoid neoorganogenesis in breast cancer. *Biomed Pharmacother.* 2013;67(5):363–6. DOI: 10.1016/j.biopha.2013.03.017
- 6 Gantsev Sh.Kh., Pukhov A.G., Khusnutdinova E.K., Galeev M.G., Gantsev K.Sh., Ishmuratova R.Sh., et al. Neolymphogenesis and chemokines expression profile during breast cancer. *Creative surgery and oncology.* 2012;(1):4–9 (In Russ.). DOI: 10.24060/2076-3093-2012-0-1-4-9
- 7 Joyce J.A., Fearon D.T. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science.* 2015;(348):74–80. DOI: 10.1126/science.aaa6204
- 8 Goc J., Germain C., Vo-Bourgais T.K.D., Lupo A., Klein C., Knockaert S., et al. Dendritic cells in tumor-associated tertiary lymphoid structures signal a Th1 cytotoxic immune contexture and license the positive prognostic value of infiltrating CD8+ T cells. *Cancer Res.* 2014;74(3):705–15. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1342
- 9 Bento D.C., Jones E., Junaid S., Tull J., Williams G.T., Godkin A., et al. High endothelial venules are rare in colorectal cancers but accumulate in extra-tumoral areas with disease progression. *Oncoimmunology.* 2015;4(3):e974374. DOI: 10.4161/2162402X.2014.974374