

УДК 616.32/.345-006.6-018-097:577.152.34

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-80-87>

Для цитирования: Колобовникова Ю.В., Янкович К.И., Романова Е.В., Дмитриева А.И., Новицкий В.В., Уразова О.И. Особенности экспрессии CCL11/эотаксина, рецептора CCR3 и эозинофильной пероксидазы в опухолевой ткани при раке желудка и толстого кишечника. *Бюллетень сибирской медицины*. 2018; 17 (3): 80–87.

## **Особенности экспрессии CCL11/эотаксина, рецептора CCR3 и эозинофильной пероксидазы в опухолевой ткани при раке желудка и толстого кишечника**

**Колобовникова Ю.В.<sup>1</sup>, Янкович К.И.<sup>1,2</sup>, Романова Е.В.<sup>1</sup>,  
Дмитриева А.И.<sup>2</sup>, Новицкий В.В.<sup>1</sup>, Уразова О.И.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Сибирский государственный медицинский университет (СибГМУ)  
Россия, 634050, г. Томск, Московский тракт, 2*

<sup>2</sup> *Томский областной онкологический диспансер (ТООД)  
Россия, 634050, Томск, пр. Ленина, 115*

### **РЕЗЮМЕ**

**Цель исследования** – проанализировать экспрессию CCL11/эотаксина, рецептора к эотаксину CCR3 и эозинофильной пероксидазы (EPX) в опухолевой ткани и ее связь с тканевой эозинофилией при раке желудка и толстого кишечника.

**Материалы и методы.** Обследовано 52 пациента с раком желудка и 55 пациентов с раком толстого кишечника. Материалом исследования служили образцы злокачественных новообразований желудка и толстого кишечника, полученные при операционном вмешательстве. Экспрессию CCL11/эотаксина, CCR3 и EPX в опухолевой ткани оценивали иммуногистохимическим методом. Для статистической обработки результатов применяли однофакторный дисперсионный и корреляционно-регрессионный (по Спирмену) методы анализа.

**Результаты.** Для рака желудка и толстого кишечника с эозинофильной инфильтрацией опухолевой ткани характерна высокая экспрессия CCL11/эотаксина опухолевыми клетками. Рецептор CCR3 к эотаксину на мембране клеток инфильтрата опухолевой ткани при раке желудка и толстого кишечника обнаруживается в 100% случаев. Экспрессия CCR3 (при раке желудка) и EPX (при раке желудка и толстого кишечника) клетками микроокружения злокачественных новообразований с инфильтрацией эозинофильными гранулоцитами существенно выше, чем в клетках микроокружения опухолей без эозинофильной инфильтрации.

**Заключение.** Развитие тканевой эозинофилии при раке желудка и толстого кишечника обусловливается способностью злокачественно трансформированных клеток продуцировать CCL11/эотаксин, что опосредует привлечение CCR3-экспрессирующих эозинофильных гранулоцитов в опухолевую ткань. Высокий уровень экспрессии EPX (маркерного фермента эозинофилов) клетками опухолевого микроокружения при раке желудка и толстого кишечника с тканевой эозинофилией предполагает наличие у эозинофильных гранулоцитов выраженного цитотоксического потенциала, который может быть направлен против клеток опухоли.

**Ключевые слова:** эозинофилия, эотаксин, CCR3, эозинофильная пероксидаза, рак желудка, рак толстого кишечника.

✉ Колобовникова Юлия Владимировна, e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru.

## ВВЕДЕНИЕ

В ткани многих опухолей эпителиального происхождения обнаруживаются эозинофильные гранулоциты [1–2]. Примерами таких новообразований служат злокачественные опухоли желудка и толстого кишечника. Эозинофилы желудочно-кишечного тракта составляют доминирующую популяцию тканевых лейкоцитов и являются неотъемлемой частью механизмов иммунологической защиты [3]. Наличие эозинофильных гранулоцитов в составе опухолевого микроокружения при раке желудка и толстого кишечника может быть результатом действия хематтрактантов, экспрессируемых самими опухолевыми клетками [4].

Факторами миграции эозинофильных гранулоцитов принято считать эотаксины, основным среди которых является эотаксин-1 (CCL11). Последний обладает высокой селективностью в отношении своего рецептора CCR3, при участии которого происходит хемотаксис, активация и дегрануляция тканевых эозинофилов [5]. Показано, что цитотоксические белки эозинофилов оказывают повреждающее действие на клетки новообразований [6–7]. По данным F. Legrand et al. (2010), совместное культивирование эозинофилов с клеточной линией рака толстого кишечника Colo-205 приводит к высвобождению из гранулоцитов эозинофильного катионного протеина, эозинофильной пероксидазы, эозинофильного нейротоксина и гранзима А [6]. По мнению исследователей, высокий цитотоксический потенциал тканевых эозинофилов может обеспечивать противоопухолевую защиту макроорганизма и препятствовать прогрессии опухоли.

Цель настоящего исследования – проанализировать экспрессию CCL11/эотаксина, рецептора к эотаксину CCR3 и эозинофильной пероксидазы (EPX) в опухолевой ткани и ее связь с тканевой эозинофилией при раке желудка и толстого кишечника.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследованы 52 пациента с раком желудка и 55 пациентов с раком толстого кишечника, которые проходили лечение и состояли на диспансерном учете в ОГАУЗ «Томский областной онкологический диспансер». Больные раком желудка и раком толстого кишечника были разделены на группы в зависимости от наличия или отсутствия эозинофильной инфильтрации опухолевой ткани. Группу пациентов со злокачественными новообразованиями желудочно-кишечного тракта с тканевой эозинофилией составили 25 больных

раком желудка (средний возраст  $(65,3 \pm 4,7)$  лет) и 23 пациента с раком толстого кишечника (средний возраст  $(63,0 \pm 7,3)$  лет). Среди обследованных пациентов, в опухолевой ткани которых эозинофильная инфильтрация не обнаруживалась, 27 пациентов имели диагноз рака желудка (средний возраст  $(62,9 \pm 5,2)$  лет) и 32 больных – рака толстого кишечника (средний возраст  $(61,3 \pm 6,0)$  лет). Критерии исключения пациентов из исследования: наличие хронических воспалительных процессов, психических, аутоиммунных и (или) наследственных заболеваний, аллергии и паразитарных инвазий, а также опухолей других локализаций.

Материалом исследования служили образцы злокачественных новообразований желудка и толстого кишечника, полученные при операционном вмешательстве до начала проведения цитостатической и лучевой терапии. Образцы опухолевой ткани заключались в парафин. Эозинофильную инфильтрацию в слизистой и подслизистой оболочках желудка и толстого кишечника определяли полуколичественным методом путем прямого подсчета тканевых эозинофилов в «горячих точках» вблизи опухолевого узла, просматривали не менее 20 полей зрения ( $\times 400$ ) с помощью светового микроскопа Leica DM2000 (Leica Microsystems, Германия). Присутствие 10 и более эозинофильных гранулоцитов в поле зрения расценивали как тканевую эозинофилию [8–9]. При отсутствии или наличии единичных эозинофилов в поле зрения делали вывод об отсутствии эозинофильной инфильтрации опухоли.

Оценку экспрессии CCL11/эотаксина, CCR3 и EPX в опухолевой ткани проводили на парафиновых срезах иммуногистохимическим методом по стандартной методике с использованием автоматического иммуногистостейнера Bond-maX (Leica Biosystems, Германия). Срезы докрашивали гематоксилином и заключали в канадский бальзам. В исследовании использовали моноклональные антитела Abscam (Великобритания) к CCL11 (клон EPR5825, рабочее разведение 1 : 100, кроличьи), CCR3 (клон Y31, рабочее разведение 1 : 100, кроличьи) и поликлональные антитела Novus Biologicals (США) к EPX (рабочее разведение 1 : 200, кроличьи).

Оценку экспрессии исследуемых показателей в опухолевой ткани желудка и толстого кишечника осуществляли в участках максимальной экспрессии маркера (в «горячих точках»), что более воспроизводимо, чем в случайных полях зрения.

Экспрессию CCL11 (в цитоплазме опухолевых клеток) и CCR3 (на мембране клеток,

инфильтрирующих опухолевую ткань) определяли по количеству положительно окрашенных клеток, % [8, 10]. Экспрессию ЕРХ в цитоплазме клеток опухолевого микроокружения анализировали в зависимости от интенсивности окрашивания по 3-балльной шкале: слабая (1 балл), средняя (2 балла) и выраженная (3 балла). Для оценки выраженности экспрессии ЕРХ определяли относительное количество положительно окрашенных клеток и показатель экспрессии (ПЭ) – сумму произведений баллов интенсивности окрашивания (1–3) и количества клеток, %, с соответствующей интенсивностью окрашивания (А – интенсивная, В – умеренная, С – слабая) по формуле

$$\text{ПЭ} = 3 \times \text{А} + 2 \times \text{В} + 1 \times \text{С} \text{ [11].}$$

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с применением программы SPSS Statistics. Для проверки гипотезы и соответствия выборочных данных нормальному закону распределения использовали тест Шапиро – Уилка. Поскольку количественные параметры в группах исследования имели нормальное распределение, результаты представляли в виде среднего значения  $M$  и стандартного отклонения  $S.D.$  Проверку гипотезы о равенстве средних выборочных величин проводили с использованием однофакторного дисперсионного анализа (F-критерий). Использовали корреляционно-регрессионный анализ по Спирмену (коэффициент ранговой корреляции  $r$ ). Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Опухлеассоциированная тканевая эозинофилия связана, как правило, со способностью опухолевых клеток продуцировать и секретировать хемотаксические факторы [3–4]. Показана высокая экспрессия трансформированными клетками желудка хемокина RANTES (regulated on activation normal T-cell expressed and secreted), инициирующего аккумуляцию эозинофильных гранулоцитов в опухолевом узле [12]. В литературе описаны случаи лимфогранулематоза с эозинофилией, при которых регистрируется высокий уровень секреции опухолевыми клетками интерлейкина (IL) 5, проявляющего хемотаксические свойства [13]. По данным В.Р. Davis, М.Е. Rothenberg (2014), в лизатах опухолевых клеток идентифицирован негистоновый ядерный белок HMGB (highmobility group protein B) 1, при участии которого происходит привлечение и активация эозинофильных гранулоцитов хемокин-независимым способом [14].

В настоящем исследовании у больных раком желудка и толстого кишечника оценивалась экспрессия ключевого фактора хемотаксиса эозинофильных гранулоцитов CCL11/эотаксина и его рецептора CCR3 в опухолевой ткани. В результате исследования установлено, что в цитоплазме опухолевых клеток у больных раком желудка и толстого кишечника, сопровождающимся тканевой эозинофилией, уровень экспрессии CCL11/эотаксина в 1,8 и 2,0 раза соответственно превышал таковой у пациентов с отсутствием эозинофильной инфильтрации опухоли (табл. 1).

Т а б л и ц а 1  
T a b l e 1

Экспрессия CCL11/эотаксина и CCR3 в опухолевой ткани у больных раком желудка и толстого кишечника, $M \pm S.D.$ CCL11/eotaxin and CCR3 expression in tumor tissue in patients with gastric and colon cancer, $M \pm S.D.$				
Показатель Characteristic	Локализация опухоли Tumor localization			
	Рак желудка, $n = 52$ Stomach cancer, $n = 52$		Рак толстого кишечника, $n = 55$ Colon cancer, $n = 55$	
	с тканевой эозинофилией, $n = 25$ with tissue eosinophilia	без тканевой эозинофилии, $n = 27$ without tissue eosinophilia	с тканевой эозинофилией, $n = 25$ with tissue eosinophilia	без тканевой эозинофилии, $n = 27$ without tissue eosinophilia
CCL11/эотаксин CCL11/eotaxin	$61,64 \pm 19,42$	$34,78 \pm 14,53$	$62,7 \pm 23,17$	$31,03 \pm 14,77$
	$F = 32,20; p < 0,05$		$F = 38,28; p < 0,05$	
CCR3	$15,84 \pm 6,34$	$8,70 \pm 4,39$	$10,87 \pm 3,19$	$9,09 \pm 3,44$
	$F = 22,56; p < 0,05$		$F = 3,78; p > 0,05$	

П р и м е ч а н и е. Здесь и в табл. 2:  $p$  – уровень статистической значимости различий между показателями у пациентов с эозинофилией и без;  $F$  – значение F-статистики по результатам дисперсионного анализа.

N o t e. Here and in the table 2:  $p$  – statistical significance of difference between characteristics of patients with and without eosinophilia;  $F$  – F-statistic based on the analysis of variance.

Это указывает на способность злокачественно трансформированных клеток желудка и толстого кишечника самостоятельно продуцировать CCL11/эотаксин и тем самым стимулировать эозинофильные гранулоциты к миграции в очаг опухолевого поражения.

В свою очередь, рецептор CCR3 обнаруживался не в самих опухолевых клетках, а в инфильтративном компоненте опухолевого узла у всех обследованных пациентов. При этом у больных раком желудка с тканевой эозинофилией на клетках опухолевого микроокружения экспрессия CCR3 была достоверно выше, чем при раке желудка без эозинофилии (см. табл. 1). При раке толстого кишечника такого рода различий не выявлено (см. табл. 1).

Известно, что в составе опухолевого микроокружения могут обнаруживаться макрофаги, тучные клетки и лимфоциты, способные экспрессировать на своей мембране CCR3, особенно в условиях активирующего влияния провоспалительных медиаторов TNF (tumor necrosis factor, фактор некроза опухоли)  $\alpha$ , IL-3 и компонента комплемента C5a [15]. Однако более выраженная экспрессия этого рецептора характерна именно для эозинофильных гранулоцитов [16]. Полученные нами данные согласуются с результатами других исследователей, которые рассматривают CCL11/эотаксин-опосредованный механизм рекрутирования эозинофилов в качестве ключевого события при формировании тканевой эозинофилии [5, 8, 10, 17].

Следует отметить, что CCL11/эотаксин является не только фактором хемотаксиса эозинофильных гранулоцитов, но и опосредует их дегрануляцию в тканях [16]. При дегрануляции высвобождаются эозинофильные цитотоксические протеины, некоторые из них обладают противоопухолевой активностью. К таким белкам

относятся главный основной протеин, эозинофильный катионный протеин и эозинофильная пероксидаза EPX (eosinophil peroxidase) [3, 6, 7]. Последняя является маркерным ферментом эозинофильных гранулоцитов и катализирует реакции окисления с образованием активных форм кислорода и азота, которые вызывают окислительный стресс и могут способствовать последующей гибели опухолевых клеток [18]. Кроме этого, EPX усиливает цитотоксический эффект других гранулярных протеинов, повреждающих мембраны клеток-мишеней [19]. Показано, что эозинофильные гранулоциты, несущие на мембране рецепторы 2B4, оказывают цитотоксическое действие на клетки мастоцитомы мышей, а также секретируют EPX, токсичную для клеточной линии В-лимфомы [20].

В данной работе исследовалась экспрессия EPX в опухолевой ткани у больных раком желудка и толстого кишечника в зависимости от наличия тканевой эозинофилии. Установлено достоверное увеличение количества EPX-экспрессирующих «неопухолевых» клеток в образцах тканей злокачественных новообразований желудка и толстого кишечника с эозинофильной инфильтрацией. В данных образцах регистрировалась также выраженная (3 балла) интенсивность окрашивания цитоплазмы EPX-позитивных клеток. При этом ПЭ EPX у больных раком желудка и толстого кишечника с тканевой эозинофилией в среднем в 7,6 и 7,0 раза соответственно превышал его значения у пациентов без эозинофилии (табл. 2).

По-видимому, высокая экспрессия EPX в опухолевой ткани при раке желудка и толстого кишечника с эозинофилией обуславливается не только большим количеством клеток, экспрессирующих EPX, но и более высокой активностью фермента в гранулах эозинофилов.

Т а б л и ц а 2  
T a b l e 2

Показатель экспрессии EPX в клетках опухолевого микроокружения у больных раком желудка и толстого кишечника, $M \pm S.D.$				
EPX expression in tumor microenvironment cells in patients with gastric and colon cancer, $M \pm S.D.$				
Показатель Characteristic	Локализация опухоли Tumor localization			
	Рак желудка, $n = 52$ Stomach cancer, $n = 52$		Рак толстого кишечника, $n = 55$ Colon cancer, $n = 55$	
	с тканевой эозинофилией $n = 25$ with tissue eosinophilia	без тканевой эозинофилии $n = 27$ without tissue eosinophilia	с тканевой эозинофилией $n = 25$ with tissue eosinophilia	без тканевой эозинофилии $n = 27$ without tissue eosinophilia
EPX	39,40 $\pm$ 14,08	5,93 $\pm$ 3,71	43,61 $\pm$ 17,14	6,28 $\pm$ 3,94
	F = 142,1; $p < 0,05$		F = 142,3; $p < 0,05$	

Увеличение активности ЕРХ и других протеинов эозинофильных гранул описано при целом ряде опухолевых заболеваний, сопровождающихся эозинофилией [18]. По данным А.С. Литвиновой и соавт. (2007), повышение активности ЕРХ в эозинофилах крови отмечается при множественной миеломе и лимфогранулематозе, ассоциированных с эозинофилией [13]. Другие исследователи отмечали высокую активность ЕРХ в крови при миелоидном лейкозе [22]. В свою очередь, S. Schroeder et al. (2017) идентифицировали увеличение концентрации отдельных белков эозинофильных гранул у больных с негематологическими опухолями. Высокая концентрация эозинофильных катионных протеинов, по мнению исследователей, указывает на повышение функциональной активности циркулирующих и тканевых эозинофилов [23]. Рассматривается также возможность синтеза *de novo* эозинофилами гранулярных протеинов, в том числе ЕРХ, в условиях высокой концентрации IL-5, IL-3, RANTES и эотаксина в крови [24].

В представленном исследовании установлена положительная корреляция между экспрессией CCL11/эотаксина опухолевыми клетками и ЕРХ клетками микроокружения у больных раком желудка ( $r = 0,86$ ;  $p < 0,05$ ) и раком толстого кишечника ( $r = 0,89$ ;  $p < 0,05$ ) с эозинофилией. Данный факт подтверждает способность эотаксина участвовать не только в рекрутировании эозинофильных гранулоцитов в ткани, но и активации их цитотоксических свойств.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование эозинофильной инфильтрации ткани злокачественных новообразований желудка и толстого кишечника обусловлено гиперэкспрессией CCL11/эотаксина опухолевыми клетками (при раке обеих локализаций) и его рецептора CCR3 на мембране клеток инфильтрата опухолевой ткани (у больных раком желудка). Высокая экспрессия ЕРХ в клетках опухолевого микроокружения обосновывает наличие выраженного цитотоксического потенциала у тканевых эозинофилов при злокачественных новообразованиях желудочно-кишечного тракта. Действие агрессивных факторов эозинофильных гранул может быть направлено в отношении опухолевых клеток, что обосновывает скорее позитивное влияние эозинофильной инфильтрации опухолевой ткани при раке желудка и толстого кишечника. Дальнейшее исследование факторов эмиграции эозинофильных гранулоцитов в опухолевую

ткань и их цитотоксических свойств позволит существенно дополнить современные представления о роли опухолеассоциированной эозинофилии ввиду перспективности ее использования в качестве дополнительного критерия прогноза онкологических заболеваний.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Янкович К.И., Романова Е.В. – проведение исследований, анализ и интерпретация данных. Колобовникова Ю.В., Дмитриева А.И. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование рукописи. Новицкий В.В., Уразова О.И. – проверка критически важного интеллектуального содержания и окончательное утверждение рукописи для публикации.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых (МД-842.2017.7 «Роль галектинов в патогенезе рака желудка и толстой кишки с опухолеассоциированной эозинофилией», руководитель – д-р мед. наук Ю.В. Колобовникова) и ведущих научных школ (НШ-2690.2018.7 «Молекулярные факторы дисрегуляции гомеостаза иммунокомпетентных клеток крови при социально-значимых заболеваниях» (руководитель – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН О.И. Уразова).

## СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом СибГМУ (протокол № 5309 от 22.05.2017 г.).

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Wei Y., Zhang X., Wang G., Zhou Y., Luo M., Wang S., Hong C. The impacts of pretreatment circulating eosinophils and basophils on prognosis of stage I–III colorectal cancer. *Asia-Pacific Journal of Clinical Oncology*. 2018. DOI: 10.1111/ajco.12871.
2. Harbaum L., Pollheimer M.J., Kornprat P., Lindtner R.A., Bokemeyer C., Langner C. Peritumoral eosinophils predict recurrence in colorectal cancer. *Modern Pathology*. 2015; 28 (3): 403–413. DOI: 10.1038/modpathol.2014.104.
3. Varricchi G., Galdiero M.R., Loffredo S., Lucarini V., Marone G., Mattei F., Marone G., Schiavoni G. Eosinophils: The unsung heroes in cancer? *Oncoimmunology*. 2017. 7 (2): e1393134. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1393134.
4. Jain M., Kasetty S., Sudheendra U.S. Tijare M., Khan S., Desai A. Assessment of tissue eosinophilia as a prognosticator in oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma – an image analysis study. *Pathology Research*

- International*. 2014; 2014. Article ID 507512, 6 pages. DOI: 10.1155/2014/507512.
5. Grozdanovic M., Laffey K.G., Abdelkarim H., Hitchinson B., Harijith A., Moon H.G., Park G.Y., Rousslang L.K., Masterson J.C., Furuta G.T., Tarasova N.I., Gaponenko V., Ackerman S.J.. Novel peptide nanoparticle biased antagonist of CCR3 blocks eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018; pii: S0091-6749(18)30709-7. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.05.003.
  6. Legrand F., Driss V., Delbeke M., Loiseau S., Hermann E., Dombrowicz D., Capron M. Human eosinophils exert TNF- $\alpha$  and granzyme A-mediated tumoricidal activity toward colon carcinoma cells. *The Journal of Immunology*. 2010; 185 (12): 7443–7451. DOI: 10.4049/jimmunol.1000446.
  7. Liao W., Long H., Chang C.C., Lu Q. The eosinophil in health and disease: from bench to bedside and back. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2016; 50 (2): 125–139. DOI: 10.1007/s12016-015-8507-6.
  8. Cho H., Lim S.J., Won K.Y., Bae G.E., Kim G.Y., Min J.W., Noh B.J. Eosinophils in colorectal neoplasms associated with expression of CCL11 and CCL24. *Journal of Pathology and Translational Medicine*. 2016; 50 (1): 45–51. DOI: 10.4132/jptm.2015.10.16.
  9. Pehlivanoglu B., Doganavsargil B., Sezak M., Nalbantoglu I., Korkmaz M. Gastrointestinal parasitosis: histopathological insights to rare but intriguing lesions of the gastrointestinal tract. *Turkish Journal of Pathology*. 2016; 32 (2): 82–90. DOI: 10.5146/tjpath.2015.01350.
  10. Gong Di-He, Fan Lei, Chen Hai-Yan, Ding Ke-Feng, Yu Ke-Da. Intratumoral expression of CCR3 in breast cancer is associated with improved relapse-free survival in luminal-like disease. *Oncotarget*. 2016; 7 (19): 28570–28578. DOI:10.18632/oncotarget.8680.
  11. Петров С.В., Райхлин Н.Т. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека. 3-е изд., доп. и перераб. Казань: изд-во «Титул», 2004: 456. [Petrov S.V., Raykhlin N.T. Guidelines for immunohistochemical diagnosis of human tumors. 3th ed. Kazan': Titul Publ., 2004: 456 (in Russ.)].
  12. Wang T., Wei Y., Tian L., Song H., Ma Y., Yao Q., Feng M., Wang Y., Gao M., Xue Y. C-C motif chemokine ligand 5 (CCL5) levels in gastric cancer patient sera predict occult peritoneal metastasis and a poorer prognosis. *International Journal of Surgery*. 2016; 32: 136–142. DOI: 10.1016/j.ijso.2016.07.008.
  13. Литвинова Л.С., Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Клеточные механизмы больших эозинофилий крови. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2007: 138. [Litvinova L.S., Ryazantseva N.V., Novitskiy V.V. Cellular mechanisms of large blood eosinophilia. Tomsk: izd-vo Tom. un-ta Publ., 2007: 138 (in Russ.)].
  14. Ramirez G.A., Yacoub M.R., Ripa M., Mannina D., Cariddi A., Saporiti N., Ciceri F., Castagna A., Colombo G., Dagna L. Eosinophils from physiology to disease: a comprehensive review. *BioMed Research International*. 2018, Article ID 9095275, 28 pages. DOI: 10.1155/2018/9095275.
  15. Hofmann S.R., Böttger F., Range U., Lück C., Morbach H., Girschick H.J., Suttorp M., Hedrich C.M. Serum interleukin-6 and CCL11/eotaxin may be suitable biomarkers for the diagnosis of chronic nonbacterial osteomyelitis. *Frontiers in Pediatrics*. 2017; 5: 256. DOI: 10.3389/fped.2017.00256.
  16. Grozdanovic M., Laffey K.G., Abdelkarim H., Hitchinson B., Harijith A., Moon H.G., Park G.Y., Rousslang L.K., Masterson J.C., Furuta G.T., Tarasova N.I., Gaponenko V., Ackerman S.J.. Novel peptide nanoparticle biased antagonist of CCR3 blocks eosinophil recruitment and airway hyperresponsiveness. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2018; pii: S0091-6749(18)30709-7. DOI: 10.1016/j.jaci.2018.05.003.
  17. Колобовникова Ю.В., Уразова О.И., Новицкий В.В. Эозинофил в норме и при патологии. Томск: Печатная мануфактура, 2014: 124. [Kolobovnikova Yu.V., Urazova O.I., Novitskiy V.V. Eosinophil in health and disease. Tomsk: Pechatnaya manufaktura Publ., 2014: 124 (in Russ.)].
  18. Slattery M.L., Lundgreen A., Welbourn B., Wolff R.K., Corcoran C. Oxidative balance and colon and rectal cancer: interaction of lifestyle factors and genes. *Mutation Research*. 2012; 734 (1–2): 30–40. DOI: 10.1016/j.mrfmm.2012.04.002.
  19. Lacy P., Abdel D. Latif, Steward M., Musat-Marcu S., Man S. F., Moqbel R. Divergence of mechanisms regulating respiratory burst in blood and sputum eosinophils and neutrophils from atopic subjects. *The Journal of Immunology*. 2003; 170 (5): 2670–2679. DOI: 10.4049/jimmunol.170.5.2670.
  20. Weller P.F., Spencer L.A. Functions of tissue-resident eosinophils. *Nature Reviews Immunology*. 2017; 17 (12): 746–760. DOI: 10.1038/nri.2017.95.
  21. Schroeder S., Ochkur S.I., Shim K.P., Galvin K.M., Bauer C.S., Lee J.J., Wright B.L. Throat-derived eosinophil peroxidase is not a reliable biomarker of pediatric eosinophilic esophagitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017; 5 (6): 1804–1805. DOI: 10.1016/j.jaip.2017.07.043.
  22. Mangaru Z., Shetty S., Visconte V., Liu H.D., Rogers H.J. Acute myeloid leukemia with inv(16)(p13.1q22), abnormal eosinophils, and absence of peripheral blood and bone marrow blasts. *American Journal of Hematology*. 2016; 91 (4): E273–4. DOI: 10.1002/ajh.24289.
  23. Fulkerson P.C., Rothenberg M.E. Eosinophil development, disease involvement, and therapeutic suppression. *Advances in Immunology*. 2018; 138: 1–34. DOI: 10.1016/bs.ai.2018.03.001.
  24. Kim K., Hwang S.M., Kim S.M., Park S.W., Jung Y., Chung I.Y. Terminally differentiating eosinophils express neutrophil primary granule proteins as well as eosinophil-specific granule proteins in a temporal manner. *Immune Network*. 2017; 17 (6): 410–423. DOI: 10.4110/in.2017.17.6.410.

Поступила в редакцию 12.03.2018

Подписана в печать 15.05.2018

Колобовникова Юлия Владимировна, д-р мед. наук, профессор, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Янкович Кристина Игоревна, мл. науч. сотрудник, ЦНИЛ, СибГМУ; врач клинко-диагностической лаборатории, ТООД, г. Томск.

Романова Елена Викторовна, ст. преподаватель, кафедра микробиологии и вирусологии, СибГМУ, г. Томск.

Дмитриева Алла Ивановна, д-р мед. наук, зав. клинко-диагностической лабораторией, ТООД, г. Томск.

Новицкий Вячеслав Викторович, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заслуженный деятель науки Российской Федерации, кафедра патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

Уразова Ольга Ивановна, д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, зав. кафедрой патофизиологии, СибГМУ, г. Томск.

(✉) Колобовникова Юлия Владимировна, e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru.

УДК 616.32/.345-006.6-018-097:577.152.34

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2018-3-80-87>

For citation: Kolobovnikova Yu.V., Yankovich K.I., Romanova E.V., Dmitrieva A.I., Novitskiy V.V., Urazova O.I. The expression of CCL11/eotaxin, CCR3 receptor and eosinophil peroxidase in tumor tissue in gastric and colon cancers. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2018; 17 (3): 80–87.

## The expression of CCL11/eotaxin, CCR3 receptor and eosinophil peroxidase in tumor tissue in gastric and colon cancers

Kolobovnikova Yu.V.<sup>1</sup>, Yankovich K.I.<sup>1,2</sup>, Romanova E.V.<sup>1</sup>,  
Dmitrieva A.I.<sup>2</sup>, Novitskiy V.V.<sup>1</sup>, Urazova O.I.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Siberian State Medical University (SSMU)

2, Moskow Trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

<sup>2</sup> Tomsk Regional Oncologic Dispensary (TROD)

115, Lenin Str., Tomsk, 634050, Russian Federation

### ABSTRACT

**The purpose** of the study was to analyze the expression of CCL11/eotaxin, CCR3 receptor to eotaxin and eosinophil peroxidase (EXP) in tumor tissue and its relation to tissue eosinophilia in gastric and colon cancers.

**Materials and methods.** 52 patients with gastric cancer and 55 patients with colon cancer were examined. The material of the study was samples of malignant tumors of the stomach and large intestine obtained during a surgery. The expression of CCL11/eotaxin, CCR3 and EXP in the tumor tissue was evaluated by immunohistochemical method. For statistical processing of the results, one-factor dispersion and correlation-regression (by Spearman) methods of analysis were used.

**Results.** High expression of CCL11/eotaxin by tumor cells is typical of stomach and colon cancers with eosinophilic infiltration of the tumor tissue. The CCR3 receptor to eotaxin on the cell membrane of infiltration of the tumor tissue in gastric and colon cancers is found in 100% of cases. Expression of CCR3 (at stomach cancer) and EXP (at stomach and colon cancers) by cells of the tumor microenvironment with eosinophilic granulocytes infiltration is significantly higher than in the cells of the tumor microenvironment without eosinophilic infiltration.

**Conclusion.** Tissue eosinophilia in gastric and colon cancers develops due to the ability of transformed malignant cells to produce CCL11/eotaxin that mediates the attraction of CCR3-expressing eosinophil granulocytes in the tumor tissue. High level of EPX (marker enzyme of eosinophils) expression by cells of tumor microenvironment in the gastric and colon cancers with tissue eosinophilia suggests the expressed cytotoxic potential of eosinophilic granulocytes, which can be directed against tumor cells.

**Key words:** eosinophilia, eotaxin, CCR3, eosinophilic peroxidase, gastric cancer, colon cancer.

**CONFLICT OF INTEREST**

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**SOURCE OF FINANCING**

The study was performed with financial support from the Russian Federation President Council on Grants for governmental support for young Russian scientists (МД-842.2017.7 “The role of galectins in the pathogenesis of stomach and colon cancer with tumor-associated

eosinophilia”, supervisor – DmedSc Yu. V. Kolobovnikova) and leading scientific schools (HIII-2690.2018.7 “Molecular factors of homeostasis dysregulation of immunocompetent blood cells in socially significant diseases” (supervisor – DmedSc, professor, corresponding member of the Russian academy of sciences O.I. Urazova).

**CONFORMITY WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS**

The study approved by the local ethics committee named after SSMU (Protocol No. 5309 of 22.05.2017).

Received 12.03.2018

Accepted 15.05.2018

**Kolobovnikova Yuliya V.**, DM, Professor, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-7156-2471.

**Jankovich Kristina I.**, Junior Researcher, Central Research Laboratory, SSMU; Doctor, Clinical and Diagnostic Laboratory, TROD, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0001-8893-0939.

**Romanova Elena V.**, Senior Lecturer, Department of Microbiology and Virology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-8769-5743.

**Dmitrieva Alla I.**, DM, Head of the Clinical and Diagnostic Laboratory, TROD, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-5247-9872.

**Novitskiy Vyacheslav V.**, DM, Professor, Academician of RAS, Honored Scientist of the Russian Federation, Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9577-8370.

**Urazova Olga I.**, DM, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of the Department of Pathophysiology, SSMU, Tomsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-9457-8879.

(✉) **Kolobovnikova Yuliya V.**, e-mail: kolobovnikova.julia@mail.ru.