

ОТЗЫВ официального оппонента

на диссертационную работу Боголюбовой-Кузнецовой Аполлинарии Васильевны «Молекулярные, гистологические и иммунологические особенности редких форм рака щитовидной железы», представленную на соискание учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.03 – иммунология

Актуальность темы диссертации

Взаимодействие опухолевых клеток и компонентов иммунной системы представляется важным фактором регуляции опухолевого роста. В современной литературе сложность этого взаимодействия отражена в концепции «иммуноредактирования», согласно которой иммунная система оказывает влияние на формирование опухоли в ходе трех фаз. Первая фаза – элиминация – заключается в устранении аномальных клеток. Неопластические клетки, которые не подверглись деструкции в ходе первой фазы, входят в фазу равновесия, или «редактирования». Последняя фаза – фаза ускользания – представляет собой процесс формирования иммуносупрессорного микроокружения, обеспечивающего дальнейший рост опухоли. Прогностическое значение наличия иммунного инфильтрата зависит от его состава, а также типа и локализации опухоли. Появление новых терапевтических подходов, основанных на ингибировании так называемых иммунологических чекпойнтов, сделало исследования иммунного микроокружения еще более востребованными.

Опухоли с выраженной иммунной инфильтрацией представляют собой наиболее интересный объект для изучения различных аспектов взаимодействия трансформированных клеток и иммунной системы. В частности, автором настоящего исследования в качестве такого объекта предложена редкая и плохо охарактеризованная разновидность папиллярного рака щитовидной железы – Уортино-подобный рак, часто возникающий на фоне аутоиммунного тиреоидита.

Достоверность и новизна результатов и выводов диссертационной работы

Диссертационная работа Боголюбовой-Кузнецовой А.В. отличается новизной. На основе морфологического и молекулярного анализа установлено, что Уортино-подобный папиллярный рак щитовидной железы имеет родство с папиллярным раком щитовидной железы из высоких клеток. Присутствие компонента из высоких клеток определяет его

неблагоприятное клиническое течение. Впервые представлены данные иммуногистохимического анализа иммунного инфильтрата и показано, что большую часть опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов в строме опухоли составляют плазматические клетки со значительной фракцией Т-лимфоцитов. Характер инфильтрации носит IFN γ -опосредованный, но не воспалительный характер. Описаны третичные лимфоидные структуры, располагающиеся на инвазивной границе опухолей Уортино-подобного строения, и показано наличие в них Т- и В-клеточной зоны, а также фолликулярных дендритных клеток. Т-лимфоциты третичных лимфоидных структур экспрессируют молекулы иммунологических чекпойнтов CTLA-4 и PD-1.

Научно-практическая значимость полученных в работе результатов

Проведённое исследование имеет важное научно-прикладное значение. Получены новые данные о морфологических особенностях редких подтипов папиллярного рака щитовидной железы; представлена подробная характеристика иммунного инфильтрата этих разновидностей опухолей.

Содержание диссертации

Диссертационная работа Боголюбовой-Кузнецовой А.В. построена по классическому принципу и содержит все необходимые разделы.

Во введении кратко описана актуальность проблемы, сформулированы цели и задачи исследования, охарактеризованы новизна и значимость полученных в ходе работы результатов, использованные методики и достоверность полученных данных.

Первая часть – литературный обзор – представлена шестью главами и содержит анализ состояния проблемы. Первые три главы посвящены современным представлениям о злокачественном росте (hallmarks of cancer), описанию иммунного инфильтрата опухолей, подходам к иммунотерапии злокачественных новообразований. В разделе представлены новые данные об экспрессионном профилировании субпопуляций иммунных клеток из опухолевого микроокружения. Отдельная глава дает подробное морфологическое описание папиллярного рака щитовидной железы, в том числе его редких подтипов. Литературный обзор завершается описанием генетических нарушений, характерных для опухолей этой локализации.

Во второй части работы описаны материалы и методы, использованные автором в исследовании. В частности, было выполнено иммуногистохимическое окрашивание парафиновых срезов Уортино-подобного папиллярного рака щитовидной железы, а также молекулярно-генетический анализ мутаций в гене *BRAF* и перестроек *RET/PTC1*, *RET/PTC3*. Ряд сравнений, а именно профили экспрессии мРНК, микроРНК, хемокинов, цитокинов, а также анализ мутаций в гене *BRAF* и промоторе гена *TERT* выполнены *in silico* с привлечением данных из консорциума TCGA. Принимая во внимание, что различные группы образцов (парафиновые срезы из собственной коллекции случаев Уортино-подобного подтипа, готовые экспрессионные данные образцов TCGA нескольких гистологических подтипов папиллярного рака щитовидной железы) анализировались по-разному, автор приводит блок-схему общего дизайна работы в начале раздела «Результаты». Можно было бы рекомендовать автору поместить данную блок-схему в раздел «Материалы и методы».

Третий раздел посвящен описанию полученных результатов. Изложение результатов соответствует общей идее работы и свидетельствует о достаточно продуманном плане экспериментов. Вначале представлена клиничко-морфологическая характеристика и сопоставление случаев Уортино-подобного рака из собственной коллекции и базы TCGA. Далее проведен гистологический анализ наличия структурного компонента из высоких клеток в составе опухолей Уортино-подобного строения. Анализ мутаций *BRAF V600E* подтвердил их высокую частоту в Уортино-подобном варианте, при этом их присутствие в опухоли было ассоциировано с наличием компонента из высоких клеток. Напротив, перестройки с вовлечением гена *RET*, по-видимому, не характерны для изучаемого подтипа. *In silico* анализ мРНК и микроРНК профилей выявил родство Уортино-подобного рака и папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток, так как оба подтипа были отнесены к кластерам 5 и 6. Далее, предпринято иммуногистохимическое исследование образцов Уортино-подобного варианта, в том числе анализ иммунологических «чекпойнтов»: показано, что экспрессия иммунологических контрольных точек наблюдается в Т-лимфоцитах третичных лимфоидных структур. Продемонстрирован также бимодальный характер распределения иммунного инфильтрата в опухоли: диффузно в строме и в виде третичных лимфоидных структур на инвазивной границе. Данные о вовлечении иммунного инфильтрата Уортино-подобного рака в надзор за опухолевым ростом также подтверждены *in silico* анализом образцов из базы данных TCGA.

Полученные автором данные убедительны и не вызывают сомнений. Представленный материал сопровождается информативными таблицами и рисунками.

Раздел «Обсуждение результатов» демонстрирует способность автора вдумчиво анализировать и грамотно сопоставлять собственные данные с результатами других исследователей.

Рецензируемая диссертационная работа Боголюбовой-Кузнецовой А.В. является самостоятельным научным исследованием, основные положения и выводы которого обоснованы благодаря репрезентативному по объёму материалу и оптимальному дизайну исследования, комплексному подходу с использованием самых современных молекулярно-генетических методов, критическому анализу полученных результатов.

Принципиальных замечаний по рецензируемой работе нет. В порядке редакционных замечаний можно было бы указать на отдельные стилистические погрешности, которые не оказывают существенного влияния на ценность проведённого исследования. В порядке дискуссии хотелось бы задать автору следующие вопросы:

1) Возможно ли по характеру (интенсивности, локализации) экспрессии иммунологических «чекпойнтов» в образцах Уортино-подобного папиллярного рака щитовидной железы предположить эффект от использования ингибиторов этих молекул?

2) Каково мнение автора относительно целесообразности выделения Уортино-подобного рака в отдельный гистологический подтип (в частности, его отделения от разновидности папиллярного рака щитовидной железы из высоких клеток)?

Заключение

Диссертационная работа Боголюбовой-Кузнецовой А.В. «Молекулярные, гистологические и иммунологические особенности редких форм рака щитовидной железы» посвящена актуальной проблеме иммуноонкологии. Результаты исследования отражены в 5 статьях, опубликованных в отечественных и высокорейтинговом зарубежном журнале. По объёму проведённого исследования, уровню его исполнения и достигнутым результатам диссертация соответствует паспорту специальности 03.03.03 – «иммунология» (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена, согласно положениям № 5, 6 Положения о

диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Соискатель Боголюбова-Кузнецова Аполлинария Васильевна заслуживает присуждения учёной степени кандидата биологических наук по специальности 03.03.03 – «иммунология».

Официальный оппонент:

Доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН,
руководитель отдела биологии опухолевого роста
ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

ИМЯНИТОВ Евгений Наумович

«03» июня 2019 г.

Контактные данные:

тел.: +7(812)439-95-55, e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом защищена
диссертация:

14.00.14 - онкология

03.00.04 – биохимия

Подпись *Имянитов Е. Н.* заверяю



Г. С. Киреева

Адрес места работы:

197758, г. Санкт-Петербург,

пос. Песочный, ул. Ленинградская, д. 68.

Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Национальный медицинский исследовательский центр

онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России

Тел.: +7(812)439-95-15; e-mail: oncl@rion.spb.ru