

Meme Karsinomunda Tümörü infiltrate eden T Lenfositlerin Yoğunluğunun Prognostik Faktörlerle İlişkisi

The Relationship Between Tumor Infiltrating T Lymphocyte Density with Prognostic Factors in Breast Cancer

Gözde Çakırsoy Çakar^{1*} , Mustafa Kösem¹ 

¹ Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Sakarya, Türkiye

gozdec@sakarya.edu.tr,
mustafakosem65@hotmail.com,
ror.org/04ttw109

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author



Geliş Tarihi/Received: 22.01.2025
Kabul Tarihi/Accepted: 17.04.2025
Yayınlanma Tarihi/ Available Online:
12.06.2025

Giriş: Tümörü infiltrate eden lenfositler, tümör mikroçevresindeki immün sistem hücreleridir ve kansere karşı oluşan immün yanıtta kritik rol oynar. Meme karsinomunda, tümörü infiltrate eden lenfositlerin miktarının prognostik ve prediktif önemi olabileceği ortaya konmuştur. Çalışmamızda, meme kanserine ait tümör dokularındaki inflamatuvar hücreler, TILs Working Group standartları göz önünde bulundurularak değerlendirilmiş ve prognostik faktörlerle ilişkisine bakılmıştır.

Materyal ve Metod: Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında incelenen, İnvasiv Karsinom, Özel Tip İçermeyen (NST) tanılı, neoadjuvan kemoterapi almamış 100 hastaya ait mastektomi ve meme koruyucu cerrahi materyalleri çalışmaya dahil edilerek, lenf nodu metastazı, tümör çapı evresi, tümörün histolojik derecesi, östrojen; progesteron ve Her2 reseptörü durumu olmak üzere prognostik parametreleri belirlendi. Tümör bloklarından elde edilen kesitlere CD4(+) ve CD8(+) pozitif lenfositleri tespit etmek için immunohistokimyasal çalışma yapıldı. Belirlenen prognostik parametrelerle inflamatuvar hücre yoğunluğu arasındaki ilişki değerlendirildi.

Bulgular: Vakaların 50'sinde lenf nodu metastazı mevcut iken, 50 hastada lenf nodu metastazı yoktu. Hastalara ait prognoz ile ilişkili değişkenlerin alt gruplarından tümörlerin histolojik derecesine göre hasta dağılımına bakıldığında 24 hasta derece 1, 44 hasta derece 2 ve 32 hasta derece 3 idi. Farklı grade'lere göre intratümöral stromal CD8 pozitif T lenfosit infiltrasyonu açısından grade 1 ve grade 3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon görüldü.

Sonuç: Çalışmamıza göre derecesi yüksek tümörlerde CD8(+) T lenfosit infiltrasyonu yoğunluğunun daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamız tümörü infiltrate eden lenfositlerin yoğunluğundaki artışın prognostik ve prediktif değerinin olabileceği konusunda farkındalık oluşturmada açısından önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Tümörü infiltrate eden lenfositler, Meme kanseri, Tümör derecesi

Introduction: Tumor-infiltrating lymphocytes are immune system cells in the tumor microenvironment and play a critical role in the immune response to cancer. In breast carcinoma, it has been demonstrated that the amount of tumor-infiltrating lymphocytes may have prognostic and predictive importance. In our study, inflammatory cells in breast cancer tumor tissues were evaluated considering the TILs Working Group standards and their relationship with the prognostic factors.

Material and Method: Mastectomy and breast-conserving surgery materials of 100 patients with the diagnosis of Invasive Carcinoma, No Special Type (NST) who did not receive neoadjuvant chemotherapy and who were examined in the Pathology Department laboratory of Sakarya University Faculty of Medicine between 2011 and 2015 were included in the study and prognostic parameters including lymph node metastasis, tumor diameter stage, histological grade of the tumor, estrogen; progesterone and Her2 receptor status were determined.

Results: Fifty of the cases had lymph node metastasis, while 50 patients did not have lymph node metastasis. When the distribution of patients according to the histological grade of the tumors was examined among the subgroups of variables related to the prognosis of the patients, 24 patients were grade 1, 44 patients were grade 2 and 32 patients were grade 3. A statistically significant positive correlation was observed between the grade 1 and grade 3 groups in terms of intratumoral stromal CD8 positive T lymphocyte infiltration according to different grades.

Conclusion: According to our study, it was determined that the density of CD8(+) T lymphocyte infiltration was higher in tumors with higher grade. Our study is important in terms of creating awareness that the increase in the density of lymphocytes infiltrating the tumor may have prognostic and predictive value.

Keywords: Tumor-infiltrating lymphocytes, Breast cancer, Tumor grade

EXTENDED ABSTRACT

Introduction

Tumor-infiltrating lymphocytes are immune system cells that infiltrate the tumor microenvironment and play a critical role in the immune response to cancer.¹ Tumor-infiltrating lymphocytes are distributed in the stroma, tumor epithelium, and tumor periphery. In breast carcinoma, it has been demonstrated that the amount of tumor-infiltrating lymphocytes may have prognostic and predictive importance.² In breast carcinoma, tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes in the tumor bed have been shown to be associated with a higher rate of pathological complete response. In 2014, the International TILs Working Group took standards for the assessment of tumor-infiltrating lymphocytes in breast carcinomas. In our study, the distribution and density of inflammatory cells in breast cancer tumor tissues were evaluated considering the TILs Working Group standards and their relationship with prognostic factors such as lymph node metastasis, tumor diameter, tumor grade, estrogen progesterone and Her2 receptor status was examined.

Material and Method

Mastectomy and breast conservation surgery materials of 100 patients with the diagnosis of Invasive Carcinoma, Non-Special Type (NST) who did not receive neoadjuvant chemotherapy and who were examined in the Pathology Department of Sakarya University Faculty of Medicine laboratory between 2011-2015 were included in the study. Prognostic parameters as lymph node metastasis, tumor diameter stage, tumor histological grade, estrogen; progesterone and Her2 receptor status were evaluated. Patients were divided into two subgroups as positive and negative according to lymph node metastasis status. Tumor diameter was evaluated according to the American Joint Committee (AJCC) staging system and evaluated in three subgroups as T1 (less than 2 cm), T2 (between 2-5 cm) and T3 (greater than 5 cm). Accordingly, the cases were two subgroups as positive and negative according to estrogen receptor (ER) status. They were also in two subgroups as positive and negative according

to progesterone receptor (PR) status. Her2 subgroups as score 0, score 1, score 2 and score 3 according to Her2 receptor status. Immunohistochemical staining performed to the tumor tissues, helper T cells were stained with CD4 and cytotoxic T cells were stained with CD8. A scoring scale was created according to the mean density ratio of lymphocytes infiltrating the tumor. The groups in the scoring scale were determined as follows; Score 0: No stained cells, Score 1: Mild, focal staining in small groups, Score 2: Moderate, staining in scattered small groups, Score 3: Severe, widespread staining in large clusters. The mean scores of inflammatory cell densities in each different group of the selected prognostic parameters were determined and it was examined whether the inflammatory cell density in the groups showed differences.

Statistical Analysis

Descriptive statistics were performed to evaluate the relationship between the density scores of CD4 positive and CD8 positive T lymphocytes infiltrating the tumor and the prognostic parameters of the patients. The relationship between the parameters was evaluated using ANOVA Test, Kruskal Wallis Test, Mann Whitney U Test and Spearman Correlation Test. P values were considered statistically significant when calculated less than 0.05. Ready-made statistical software was used in the calculations. (SPSS 20 Satisfactory Package for Social Sciences)

Results

Mastectomy and breast-conserving surgery materials of 100 female patients were included in the study. The subgroup scores of the parameters lymph node metastasis, tumor size, tumor grade, estrogen; progesterone and Her2 receptors, patient numbers and distributions, and CD4 and CD8 positive inflammatory cell infiltration density scores are shown in the table as variables related to the prognosis of the patients (Table 2). According to the subgroups of the parameters, the tumor diameter stage of 28 patients was T1, the tumor diameter stage of 58 patients was T2, and the tumor diameter stage of 14 patients was T3. When the patient distribution according to the histological grade of the tumor was examined, 24

patients were grade 1, 44 patients were grade 2, and 32 patients were grade 3. When the patient distribution according to ER status was examined, 13 patients were ER negative, while 87 patients were ER positive. While there were 28 patients with PR negative, 72 patients were PR positive. According to Her2 receptor status, 55 patients had Her2 score 0, 15 patients had Her2 score 1, 12 patients had Her2 score 2 and 18 patients had Her2 score 3. When intratumoral stromal inflammatory cell density was examined considering tumor grade, mean intratumoral stromal CD4 positive T cell density score was: in the grade 1 (G1) group: 1.25 ± 0.53 ; in the grade 2 (G2) group: 1.36 ± 0.65 ; in the grade 3 (G3) group: 1.97 ± 0.86 ($p > 0.05$). When intratumoral stromal inflammatory cell density was examined considering tumor grade, mean intratumoral stromal CD8 positive T cell density score was: in the grade 1 (G1) group: 1.42 ± 0.71 ; in the grade 2 (G2) group: 1.61 ± 0.65 ; in the grade 3 (G3) group: 1.94 ± 0.84 . A statistically significant difference was observed between grade 1 and grade 3 groups in terms of intratumoral stromal CD8 positive T lymphocyte infiltration according to different grades ($p = 0.02$) (Table 5).

Discussion

There is evidence for the existence of an interaction between the tumor and the host on cancer development and progression.^{12,13,14} There are studies showing that local inflammation in the tumor microenvironment due to this interaction has both inductive and inhibitory properties on tumor growth depending on the type, density and location of the cells it contains.^{15,16} When looking at the literature, it has been suggested in various studies that lymphocyte infiltration in the tumor stroma and tumor epithelium may have prognostic and predictive value, but the study results are not consistent.^{2,17,19} In a study investigating the relationship between CD4 positive lymphocyte infiltration and patient prognosis, in which 168 cases were examined, no relationship was found between CD4+ T lymphocyte infiltration and ER, PR, Her2 and tumor diameter. In the same study, a positive correlation was found between CD4+ T lymphocyte infiltration density and tumor grade.¹⁸

In recent years, studies conducted on patients who received neoadjuvant chemotherapy have also attracted attention. The results of some retrospective studies are promising in that chemotherapy may not be applied in early-stage triple-negative breast carcinomas with a high proportion of tumor-infiltrating lymphocytes. In our study, a statistically significant positive correlation was detected between CD8 positive T cell density and tumor grade.

Cocclusion

Tumor-infiltrating lymphocytes have attracted attention in recent years and continue to be studied from different perspectives, maintaining their importance. In our study, the relationship between intratumoral stromal inflammatory cell density and lymph node metastasis, tumor histological grade, tumor diameter, estrogen; progesterone and Her2 receptor parameters was investigated, and a significant positive correlation was found between CD8 positive T cell density and tumor grade. More studies are needed on the meaning of tumor-infiltrating lymphocytes.

1. GİRİŞ

Tümörü infiltre eden lenfositler, tümör mikroçevresini infiltre eden immün sistem hücreleridir ve kansere karşı oluşan immün yanıtta kritik rol oynar.¹ Tümörü infiltre eden lenfositler stroma içinde, tümör epitelinde ve tümör çevresinde dağılım gösterirler. Meme karsinomunda, tümörü infiltre eden lenfositlerin miktarının prognostik ve prediktif önemi olabileceği ortaya konmuştur.² Meme karsinomunda tümör yatağında, tümörü infiltre eden CD8+ T lenfositlerin patolojik tam yanıt ile daha yüksek oranda ilişkili olduğu gösterilmiştir.³

Meme karsinomunda, özellikle yaygın lenfosit infiltrasyonu gösteren vakalarda, tümörü infiltre eden lenfositler, germinal merkezler içerecek biçimde yapısal olarak lenf nodlarına benzerlik gösteren tersiyer lenfoid doku görünümünde olabilir ve daha uzun hastalıklı sağ kalım oranları ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.⁴

Lenfosit infiltratları primer meme karsinomu yanı sıra meme karsinomu metastazlarında da bulunmaktadır. Metastatik odaklardaki lenfosit

infiltrasyonları genellikle daha az sayıda lenfosit içerir. Metastatik odaklardaki lenfosit infiltrasyonunun önemi henüz yeterince bilinmemektedir ve konuda daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.⁵

2014 yılında International TILs Working Group, önemli bir adım atarak meme karsinomlarında tümörü infiltre eden lenfositlerin değerlendirmesini standart hale getirdi.⁶ Bu kılavuz, tümörü infiltre eden lenfositlerin doğru ve sürdürülebilir biçimde değerlendirilebilmesini amaçlayarak, standardize bir metodolojinin olmasının önemini vurgulamıştır. Tavsiye edilen değerlendirme, invaziv karsinom içeren bir kesitteki lenfositlerin, 200-400x lük büyütmede hotspot denilen inflamatuvar hücrelerin yoğunlaştığı alanlara odaklanmadan, devamlı parametre olarak incelenip, ortalama değerin alınması şeklindedir. Bu değerlendirmede hariç tutulması gereken durumlar, önceki biyopsi alanı, nekroz alanları ve ezilme artefaktı görülen alanlardır. Ayrıca, tümör stromasında bulunan lenfositler daha çok miktarda ve Hematoksilen&Eosin kesitlerde daha net görülebilir olduğundan, intratümöral lenfositlerin değerlendirilmesine göre daha sürdürülebilir bir parametre oluşturmaktadır. Bu nedenle de International TILs Working Group tarafından tümör stromasındaki lenfositlerin değerlendirilmesi önerilmiştir.⁶

Çalışmamızda, meme kanserine ait tümör dokularındaki inflamatuvar hücrelerin dağılımı ve yoğunluğu, TILs Working Group standartları göz önünde bulundurularak değerlendirilmiş ve lenf nodu metastazı, tümör çapı, tümör derecesi, östrojen progesteron ve Her2 reseptörü durumu olmak üzere prognostik faktörlerle ilişkisine bakılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı laboratuvarında 2011-2015 yılları arasında incelenen, İnvaziv Karsinom, Özel Tip İçermeyen (NST) tanılı, neoadjuvan kemoterapi almamış 100 hastaya ait mastektomi ve meme koruyucu cerrahi materyalleri çalışmaya dahil edildi. Bu olguların 50'sinde aksiller lenf nodu metastazı mevcut olup, kalan 50 vakada ise

histopatolojik ya da klinik ve radyolojik olarak aksiller lenf nodu metastazı lehine bulgu yoktu. Lenf nodu metastazı durumu dışında prognostik parametreler olarak, tümör çapı evresi, tümörün histolojik derecesi, östrojen; progesteron ve Her2 reseptörü durumu belirlendi. Hastalar, lenf nodu metastazı durumuna göre pozitif ve negatif olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Tümör çapı, American Joint Committee (AJCC) evreleme sistemine göre değerlendirildi ve buna göre; T1 (2 cm'den küçük), T2 (2-5 cm arası) ve T3 (5 cm'den büyük) olmak üzere üç alt gruba dağılım gösterdi. Olgulara ait reseptör profilleri daha önce vakaların raporlanma ve incelenme sürecinde yapılan immünohistokimyasal boyamalara ait lamlar yeniden değerlendirilerek yapıldı. Buna göre olgular, östrojen reseptör (ER) durumuna göre pozitif ve negatif olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Progesteron reseptör (PR) durumuna göre de pozitif ve negatif olmak üzere iki alt gruba ayrıldı. Olgular Her2 reseptörü durumuna göre ise skor 0, skor 1, skor 2 ve skor 3 olmak üzere dört alt gruba dağılım göstermekte idi. Olguların Hematoksilen&Eosin boyalı tümör kesitlerinin tümü ışık mikroskopu ile yeniden incelendi. Her olgu için tümörü en iyi temsil eden, inflamasyonun net olarak seçilebildiği bir adet Hematoksilen&Eosin boyalı lam immünohistokimyasal boyama yapılacak parafin bloğu belirlemek için seçildi. Her olgunun seçilen lamlarının parafin bloklarından üç mikronluk kesitler alınarak deparafinizasyon için 70 C de bir saat etüvde bekletildi. Daha sonra immünohistokimyasal olarak CD4 ve CD8 antikoları ile Leica BOND-MAX cihazı ile otomatik olarak boyandı. İmmünohistokimyasal boyamada CD4 ile yardımcı T hücrelerin, CD8 ile sitotoksik T hücrelerin boyanması hedeflendi. Otomatik olarak yapılan immünohistokimyasal boyamada kullanıma hazır primer monoklonal CD4 antikoru (PA0368, Bond, Leica), kullanıma hazır fare monoklonal CD8 antikoru (RTU-CD8-295, Novocastra, Leica) uygulanarak tespit edilmesi hedeflenen proteinler görünür hale getirildi. Antikolar ile inkübasyon süreleri 40 dakika idi. Antikor inkübasyonu sonrası kesitler sırasıyla, %70'lik alkolde 2 dakika, %80'lik alkolde 2 dakika, %95'lik alkolde 2 dakika ve absolü alkolde 2 dakika bekletildi. Havada kuruyan kesitler

ksilolde 15 dakika bekletildikten sonra entellan yardımıyla lamel ile kapatıldı.

CD4 ve CD8 pozitif T lenfositler değerlendirilirken yoğunluk ve dağılımlarına bakıldı. İnflamatuvar hücrelerin dağılımlarının peritümöral, tümör stroması içinde ve tümör epitelinin içinde olmak üzere üç farklı alanda yoğunlaştığı izlendi. TILs Working Group standartlarına göre tümör stromal alanındaki inflamatuvar hücre infiltrasyonu çalışmamızda değerlendirmeye alındı. Stromal alandaki iltihabi hücreler değerlendirilirken kesitlerdeki tümör dokusuna dahil alanların içindeki desmoplastik stroma incelendi. Buna göre tümörü infiltre eden lenfositlerin ortalama yoğunluk oranına göre bir skorlama skalası oluşturuldu. Skor skalasındaki gruplar; Skor 0: Boyanan hücre yok, Skor 1: Hafif, fokal küçük gruplar halinde boyanma, Skor 2: Orta, saçılmış küçük gruplar şeklinde boyanma, Skor 3: Şiddetli, yaygın büyük kümeler halinde boyanma, olarak belirlendi (Tablo 1) (Resim 1 ve 2). Seçilen prognostik parametrelerin her bir farklı grubunda inflamatuvar hücre yoğunluklarının skor ortalamaları belirlendi ve her bir parametrenin kendi içindeki gruplarda inflamatuvar hücre yoğunluğunun prognostik parametre alt grupları arasında anlamlı farklılık gösterip göstermediğine bakıldı.

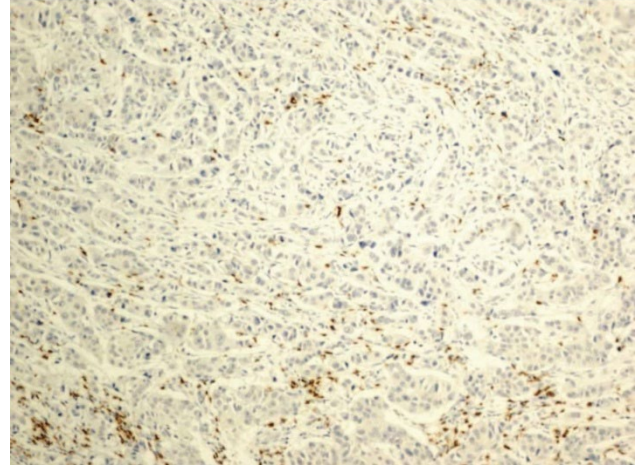
Tablo 1.

Tümör stromasını infiltre eden lenfositlerin ortalama yoğunluk oranlarına göre skorlama skalası

Skor 0	Boyanan hücre yok
Skor 1	Hafif, fokal küçük gruplar halinde boyanma
Skor 2	Orta, saçılmış küçük gruplar şeklinde boyanma
Skor 3	Şiddetli, yaygın büyük kümeler şeklinde boyanma

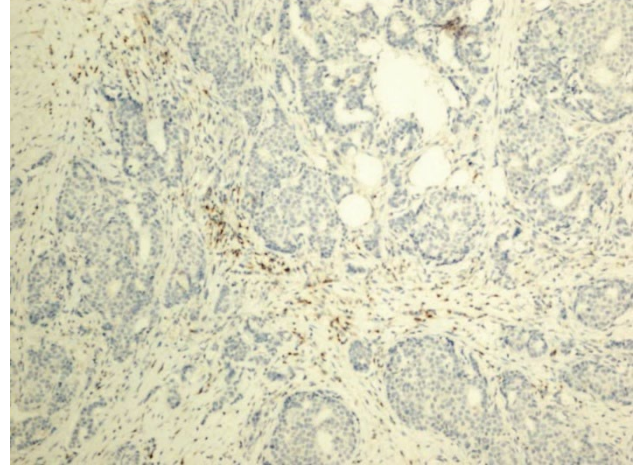
Resim 1.

CD4 ile skor 2 boyanma (X100, İmmünperoksidaz)



Resim 2.

CD8 ile skor 1 boyanma (X100, İmmünperoksidaz)



3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tümörü infiltre eden CD4 pozitif ve CD8 pozitif T lenfositlerin yoğunluk skorlarının hastalara ait prognostik parametrelerle olan ilişkisini değerlendirmek üzere tanımlayıcı istatistikler yapılmıştır. Parametrelerin birbiri arasındaki ilişki ANOVA Testi, Kruskal Wallis Testi, Mann Whitney U Testi ve Spearman Korelasyon Testi ile değerlendirildi. P değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hesaplamalarda hazır istatistik yazılımı kullanılmıştır. (SPSS 20 Satisitcal Package for Social Sciences)

4. BULGULAR

Çalışmaya 100 kadın hastaya ait mastektomi ve meme koruyucu cerrahi materyali dahil edildi. Vakaların 50'sinde lenf nodu metastazı mevcut

iken, 50 hastada lenf nodu metastazı yoktu. Hastalara ait prognoz ile ilişkili değişkenler olarak lenf nodu metastazı, tümör çapı, tümör derecesi, östrojen; progesteron ve Her2 reseptörü

parametrelerinin alt gruplarının skorları, hasta sayısı ve dağılımları ile CD4 ve CD8 pozitif inflamatuvar hücre infiltrasyonu yoğunluk skorları tabloda belirtilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2.

Olgulara göre immünohistokimyasal boyalar ve histopatolojik bulgular

SIRA	LN	TMCAPİ (cm)	TCD	GRADE	ER	PR	HER2	PT CD4	ITS CD4	PT+ITS CD4	PT CD8	ITS CD8	IE CD8	PT+ITS+IE CD8	PT CD20	PT CD38	ITS CD38	PT+ITS CD38	PT MH	ITS MH	IE MH	PT+ITS+IE MH
1	-	2	1	2	+	+	2	2	1	3	2	2	2	6	1	1	1	2	3	3	1	7
2	-	1,5	1	2	+	-	3	3	3	6	3	2	3	8	1	1	2	3	3	3	3	9
3	-	3	2	3	+	+	0	2	1	3	2	2	2	6	2	2	1	3	3	1	1	5
4	-	1,8	1	1	+	-	2	2	2	4	2	1	2	5	1	1	1	2	3	1	2	6
5	-	2,5	2	3	+	-	0	1	2	3	2	3	3	8	1	1	1	2	2	2	1	5
6	-	1,9	1	2	+	+	2	3	3	6	3	3	3	9	1	2	2	4	1	1	0	2
7	-	2,5	2	3	+	+	3	2	1	3	1	1	2	4	1	1	1	2	1	1	1	3
8	-	2,2	2	2	+	+	0	1	1	2	1	2	3	6	1	1	1	2	1	1	0	2
9	-	3	2	3	-	-	0	2	3	5	3	3	3	9	2	1	3	4	2	1	1	4
10	-	1,5	1	2	+	+	2	2	1	3	2	3	3	8	2	1	1	2	2	3	2	7
11	-	3,5	2	3	+	+	0	2	1	3	2	2	2	6	1	1	1	2	2	1	1	4
12	-	3	2	3	-	-	3	2	1	3	2	1	2	5	1	1	1	2	1	1	0	2
13	-	2	1	2	+	+	0	1	1	2	1	1	2	4	1	1	0	1	1	2	1	4
14	-	2,4	2	3	-	-	3	2	1	3	2	2	3	7	2	2	2	4	1	1	0	2
15	-	2,1	2	2	+	+	0	2	1	3	2	2	3	7	1	1	1	2	1	1	1	3
16	-	1,2	3	2	+	+	0	1	1	2	1	1	3	5	1	1	1	2	2	2	1	5
17	-	3,9	2	2	+	+	3	1	1	2	1	1	3	5	1	1	1	2	2	2	2	6
18	-	1,5	1	2	+	+	1	2	2	4	2	3	3	8	2	1	1	2	1	2	0	3
19	-	3	2	2	+	+	0	1	1	2	1	2	3	6	1	1	1	2	2	2	2	6
20	-	2,5	2	3	+	+	0	2	3	5	2	2	3	7	1	2	3	5	1	1	1	3
21	-	1,2	1	1	+	+	0	1	1	2	1	1	2	4	1	1	1	2	2	2	1	5
22	-	2,2	2	2	+	-	3	1	1	2	1	1	1	3	1	1	1	2	1	1	3	5
23	-	2,5	2	3	-	-	1	3	2	5	2	1	3	6	2	2	1	3	1	1	1	3
24	-	1,5	1	1	+	+	1	1	1	2	1	1	1	3	1	1	1	2	1	1	1	3
25	-	1	1	2	+	-	0	3	1	4	2	1	1	4	3	2	1	3	1	1	1	3
26	-	1,5	1	2	+	+	0	1	1	2	1	1	1	3	1	1	1	2	2	1	1	4
27	-	1,3	1	1	+	+	3	1	1	2	1	2	2	5	1	1	1	2	1	1	1	3
28	-	3	2	1	+	+	2	1	1	2	1	1	1	3	1	1	1	2	3	3	3	9
29	-	2,5	2	2	+	-	2	2	1	3	2	2	2	6	1	1	1	2	1	1	1	3
30	-	1,7	1	1	+	+	0	1	1	2	1	1	1	3	1	1	1	2	3	2	2	7
31	-	9,5	3	2	+	+	1	1	1	2	1	2	2	5	1	1	1	2	1	1	0	2
32	-	1,8	1	3	+	+	3	2	3	5	2	1	2	5	2	2	3	5	2	1	1	4
33	-	5,5	3	1	+	+	0	1	1	2	1	1	2	4	1	1	1	2	1	2	3	6
34	-	4,5	2	1	+	+	0	1	1	2	1	2	3	6	1	1	1	2	1	1	0	2
35	-	12	3	3	-	-	0	2	3	5	2	3	3	8	1	2	3	5	1	1	0	2
36	-	3,8	2	3	-	-	0	2	3	5	3	3	3	9	3	3	3	6	3	1	1	5
37	-	7	3	2	+	+	3	1	1	2	1	1	2	4	1	1	1	2	2	1	1	4
38	-	3	2	2	+	-	3	2	1	3	1	1	1	3	1	1	1	2	3	3	3	9
39	-	5	3	2	+	+	1	1	2	3	1	1	2	4	1	2	1	3	1	1	0	2
40	-	3	2	3	+	-	2	1	2	3	1	1	2	4	1	1	1	2	2	2	2	6
41	-	1,2	1	2	+	+	1	2	3	5	1	2	3	6	1	1	0	1	2	1	1	4
42	-	6	3	2	+	-	1	2	1	3	2	2	3	7	2	1	1	2	1	1	1	3
43	-	0,8	1	1	+	+	0	2	1	3	2	2	3	7	2	2	2	4	3	1	1	5
44	-	3,8	2	3	+	+	0	1	1	2	2	1	2	5	1	1	1	2	2	3	1	6
45	-	2,7	2	1	+	+	0	2	2	4	2	3	2	7	2	1	2	3	1	3	1	5
46	-	1,2	1	3	-	-	0	2	1	3	2	1	1	4	1	1	1	2	1	1	0	2
47	-	2,9	2	3	+	+	0	2	3	5	2	3	3	8	2	3	3	6	1	1	0	2
48	-	2,9	2	2	+	-	1	1	2	3	1	2	3	6	1	1	1	2	1	1	1	3
49	-	3,5	2	1	+	+	0	2	1	3	2	2	3	7	1	1	1	2	2	1	1	4
50	-	3	2	3	-	-	3	3	3	9	2	3	3	8	3	2	1	3	1	1	1	3
SKORLAR TOPLAMI								84	78	162	82	88	116	286	67	65	65	130	83	74	55	212
SKORLAR ORTALAMASI								1,68	1,56	1,62	1,64	1,76	2,32	1,90	1,34	1,30	1,30	1,30	1,66	1,48	1,10	1,41

ER: Östrojen, İE: İntraepitelyal lenfosit skoru, İTS: İntratümöral stromal lenfosit skoru, LN: Lenf nodu metastazı durumu, PT: Peritümöral lenfosit infiltrasyonu skoru, TCD: Tümör Çapı Derecesi.

Parametrelerin alt gruplarına göre 28 hastanın tümör çapı evresi T1, 58 hastanın tümör çapı evresi T2 ve 14 hastanın tümör çapı evresi T3 idi. Tümörün histolojik derecesine göre hasta dağılımına bakıldığında 24 hasta grade 1, 44 hasta grade 2 ve 32 hasta grade 3 idi. ER durumuna göre hasta dağılımına bakıldığında 13 hasta ER negatif iken, 87 hasta ER pozitif idi. PR negatif 28 hasta mevcut iken 72 hasta PR pozitif idi. Her2 reseptör durumuna göre 55 hasta Her2 skor 0, 15 hasta

Her2 skor 1, 12 hasta Her2 skor 2 ve 18 hasta Her2 skor 3 idi.

İntratümöral stromal CD4 pozitif ve CD8 pozitif inflamatuvar T hücre infiltrasyonu hastaların lenf nodu metastazı durumu göz önüne alınarak incelendiğinde, lenf nodu negatif grupta CD4 ve CD8 pozitif T lenfosit infiltrasyon yoğunluk skoru ortalaması, lenf nodu pozitif gruba göre daha fazla olmasına rağmen bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 3) ($p>0,05$).

Tablo 3.

Lenf nodu metastazı pozitif ve negatif olan gruplarda intratümöral CD4 pozitif ve CD8 pozitif T hücre yoğunluk skoru ortalama değerleri

Hücre Tipi	Lenf Nodu Pozitif	Lenf Nodu Negatif	P Değeri
CD4 pozitif T hücre infiltrasyonu skor ortalaması	1,50+/- 0,70	1,56+/- 0,81	0,69
CD8 pozitif T hücre infiltrasyonu skor ortalaması	1,58+/- 0,73	1,76+/- 0,77	0,23

İnatümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu, tümör çapına göre belirlenen T evresi göz önüne alınarak incelendiğinde, CD4 ve CD8 pozitif her iki hücre alt tipinin yoğunluğu da T2'de en yüksek saptanmış olup, bu farklılık anlamlı düzeyde değildi ($p>0,05$) (Tablo 4).

Tablo 4.

Tümör çapı derecesine göre intratümöral stromal CD4 pozitif ve CD8 pozitif T hücre yoğunluk skoru ortalama değerleri

Hücre Tipi	T1 (<2cm)	T2 (2-5 cm)	T3 (>5 cm)	P Değeri
CD4 (+) T lenfositler	1,50+/- 0,79	1,57+/- 0,77	1,43+/- 0,64	0,80
CD8 (+) T lenfositler	1,61+/- 0,68	1,76+/- 0,80	1,43+/- 0,64	0,29

İnatümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu, tümör derecesi göz önüne alınarak incelendiğinde, intratümöral stromal CD4 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: grade 1 (G1) olan grupta: 1,25+/-0,53; grade 2 (G2) olan grupta: 1,36+/-0,65; grade 3 (G3) olan grupta: 1,97+/-0,86 idi ($p>0,05$). İnatümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu, tümör derecesi göz önüne alınarak incelendiğinde, intratümöral stromal CD8 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: grade 1 (G1) olan grupta: 1,42+/-0,71; grade 2 (G2) olan grupta: 1,61+/-0,65; grade 3 (G3) olan grupta: 1,94+/-0,84 idi. Farklı grade

'lere göre intratümöral stromal CD8 pozitif T lenfosit infiltrasyonu açısından grade 1 ve grade 3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görüldü ($p=0,02$) (Tablo 5).

Tablo 5.

Tümör derecesine göre intratümöral stromal CD4 pozitif ve CD8 pozitif hücre yoğunluk skoru ortalama değerleri

Hücre Tipi	Grade 1	Grade 2	Grade 3	P Değeri
CD4 (+) T lenfositler	1,25+/- 0,53	1,36+/- 0,65	1,97+/- 0,86	0,06
CD8 (+) T lenfositler	1,42+/- 0,71	1,61+/- 0,65	1,94+/- 0,84	0,02

İnatümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu, ER reseptör durumu göz önüne alınarak incelendiğinde, intratümöral stromal CD4 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: ER pozitif grupta: 1,47+/-0,71; ER negatif olan grupta: 1,92+/-0,95 idi. İnatümöral stromal CD8 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: ER pozitif olan grupta: 1,63+/-0,73; ER negatif olan grupta: 1,92+/-0,86 idi. ER pozitif ve negatif gruplar arasında intratümöral CD4 pozitif ve CD8 pozitif T hücre infiltrasyonu yoğunluğu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,08$, $p=0,55$).

İnatümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu, PR reseptör durumu göz önüne alınarak incelendiğinde, intratümöral stromal CD4 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: PR pozitif grupta: 1,48+/-0,73; PR negatif olan grupta: 1,64+/-0,82 idi. İnatümöral stromal CD8 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: PR pozitif olan grupta: 1,66+/-0,73; PR negatif olan grupta: 1,71+/-0,81 idi. PR pozitif ve negatif gruplar arasında intratümöral CD4 pozitif ve CD8 pozitif T hücre infiltrasyonu yoğunluğu açısından anlamlı farklılık saptanmadı (sırasıyla $p=0,33$, $p=0,75$).

İnatümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu, Her2 reseptör skoru göz önüne alınarak incelendiğinde, intratümöral stromal CD4 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: skor 0 olan grupta: 1,58+/-0,78; skor 1 olan grupta: 1,40+/-0,63; skor 2 olan grupta: 1,58+/-0,79; skor 3 olan grupta: 1,44+/-0,78 idi. İnatümöral

stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu Her2 reseptör skoru göz önüne alınarak incelendiğinde, intratümöral stromal CD8 pozitif T hücre yoğunluğu skor ortalaması: skor 0 olan grupta: 1,75+/-0,75; skor 1 olan grupta: 1,47+/-0,74; skor 2 olan grupta: 1,75+/-0,75 idi. Farklı Her2 skor gruplarına göre intratümöral stromal CD4 pozitif ve CD8 pozitif T lenfosit infiltrasyonu açısından skor 0, skor 1, skor 2 ve skor 3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (sırasıyla p=0,80, p=0,53).

5. TARTIŞMA

Meme kanseri kadınlarda en sık görülen kanser türü olup, meme kanserinde prognoz, hasta ve tümörle ilişkili çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Bu faktörlerin başında hasta yaşı, tümörün histolojik tipi, tümör derecesi, tümör çapı, lenf nodu metastazı, lenfovasküler invazyon, ER, PR ve Her2 ekspresyonudur.^{7,8,9,10,11}

Kanser gelişimi ve progresyonu üzerinde tümör ve konak arasındaki etkileşim varlığına ait kanıtlar mevcuttur.^{12,13,14} Bu etkileşime bağlı tümör mikroçevresindeki lokal inflamasyonun içerdiği hücrelerin tipine, yoğunluğuna ve yerleşimine göre tümör büyümesi üzerinde hem indükleyici hem de inhibe edici özelliğini gösteren çalışmalar mevcuttur.^{15,16} Literatüre bakıldığında tümör stroması ve tümör epiteli içerisinde bulunan lenfosit infiltrasyonunun prognostik ve prediktif değerinin olabileceği çeşitli çalışmalarda öne sürülmüş olmakla birlikte çalışma sonuçları tutarlı değildir.^{2,17,19}

CD4 pozitif lenfosit infiltrasyonu ile hastaların prognozu arasındaki ilişkiyi araştıran, 168 vakanın incelendiği bir çalışmada CD4+ T lenfosit infiltrasyonu ile ER, PR, Her2 ve tümör çapı arasında ilişki saptanmamıştır. Aynı çalışmada CD4+ T lenfosit infiltrasyonu yoğunluğu ile tümör derecesi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır.¹⁸ Bizim çalışmamızda ise CD4+ T lenfosit infiltrasyonu yoğunluğu ile prognostik parametreler arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Lenfosit subtipleri ve klinikopatolojik faktörler arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada CD8+ T hücre yoğunluğunun tümör derecesi artışı ile pozitif korelasyon gösterdiği bildirilmiştir.¹⁷ Bizim

çalışmamızda da intratümöral stromal alandaki CD8+ T hücre yoğunluğunun grade 3 tümörlerde grade 1 tümörlere göre daha yoğun olduğu saptandı.

Tümörü infiltrate eden lenfositlerin moleküler mekanizmalarla da ilişkili olduğu gösterilmiş olup, meme kanserinde bu mekanizmalardan biri de immün kontrol noktası yolaklarıdır. Tümör hücreleri tarafından eksprese edilen İmmün Kontrol Noktası Ligand Benzeri Programlanmış Hücre Ölümü Ligandı 1 (PDL-1), tümörü infiltrate eden lenfositlerin aktivitesini inhibe ederek, tümörün immün sistemden kaçmasını sağlayabilir.²⁰ Bu nedenle tümörü infiltrate eden lenfosit yoğunluğu, immünoterapi bağlamında prediktif değere sahip olabilir.²¹ Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Son yıllarda neoadjuvan kemoterapi almış olgularda yapılan çalışmalar da dikkat çekmektedir. Birkaç çalışmada neoadjuvan tedavi öncesi tümördeki lenfosit yoğunluğu ile tedavi yanıtı ve patolojik tam yanıt arasında pozitif korelasyon olduğunu ortaya konmuştur.^{22,23,24} Bazı retrospektif çalışmaların sonuçları, tümörü infiltrate eden lenfosit oranı yüksek olan erken evre triple negatif meme karsinomlarında kemoterapi uygulanmayabileceği noktasında umut vaad etse de tümörü infiltrate eden lenfositlerin skorlanması, günümüzde tedavi kararlarını desteklemekte kullanılmamalıdır.^{25,26} CAP (Collage of American Pathologists) Kılavuzuna göre meme tümörlerini infiltrate eden lenfositlerin patoloji raporlarında zorunlu ya da opsiyonel olarak skorlanması ve bildirilmesi önerilmemektedir.

Tümörü infiltrate eden lenfositler geçmiş yıllardan bu yana dikkat çekmekte ve farklı açılardan incelenmeye devam ederek önemini korumaktadır. Bizim çalışmamızda da intratümöral stromal inflamatuvar hücre yoğunluğu ile lenf nodu metastazı, tümörün histolojik derecesi, tümör çapı, östrojen; progesteron ve Her2 reseptörü parametreleri arasındaki ilişki araştırıldı ve CD8 pozitif T hücre yoğunluğu ile tümör derecesi arasında anlamlı pozitif korelasyon tespit edildi.

Tümörü infiltrate eden lenfosit subtiplerinin prognostik parametrelerle ilişkisi tam olarak

aydınlatılamamış olmakla birlikte, son yıllarda bu alandaki çalışmaların daha çok moleküler mekanizmalar üzerinde durduğu görülmektedir. Çalışmamızda ise sadece inflamatuvar hücre subtipi olarak CD8+ T hücre infiltrasyonu ile prognostik parametreler arasındaki ilişki incelenmiştir. Meme kansinomlarında tümörü infiltre eden lenfositlerin anlamına dair daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Makale Bilgi Formu

Yazarların Katkısı

Gözde Çakırsoy Çakar: Yazım, örnek toplama, veri analizi

Mustafa Kösem: Süpervizyon, inceleme ve düzenleme

Çıkar Çatışması / Ortak Çıkar Beyanı

Yazarlar tarafından herhangi bir çıkar çatışması veya ortak çıkar beyan edilmemiştir.

Etik Kurul Onay Beyanı

Sakarya Eğitim Araştırma Hastanesi Tıpta uzmanlık etik kurulundan (TUEK) onay alınmıştır (21.11.14 tarihli oturum).

Yapay Zeka Beyanı

Bu makale yazılırken hiçbir yapay zeka aracı kullanılmamıştır.

Telif Hakkı Beyanı

Yazarlar dergide yayınlanan çalışmalarının telif haklarına sahiptir ve çalışmaları CC BY-NC 4.0 lisansı altında yayınlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Ciarka A, Piatek M, Peksa R, Kunc M, Senkus E. Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Prognostic and predictive significance across molecular subtypes. *Biomedicines*. 2024;12:763.
2. Khoury T, Nagrale V, Opyrchal M, Peng X, Wang D, Yao S. Prognostic significance of stromal versus intratumoral infiltrating lymphocytes in different subtypes of breast cancer treated with cytotoxic neoadjuvant chemotherapy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26:523.
3. Ladoire S, Arnould L, Apetoh L, Coudert B, Martin F, Chauffert B et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating Foxp3+ regulatory T cells. *Clin Cancer Res*. 2008;14:2413-2420.
4. Gu-Trantien C, Loi S, Garaud S, Equeter C, Libin M, De Wind A et al. CD4+ Follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J Clin Investig*. 2013;123:2873-2892.
5. Solinas C, Carbognin L, De Silva P, Criscitiello C, Lambertini M. Tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer according to tumor subtype: Current state of the art. *Breast*. 2017;35:142-150.
6. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The Evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: Recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann. Oncol*. 2015;26:259-271.
7. Menard S, Fortis S, Castiglioni F, Agresti R, Balsari A. HER2 as a prognostic factor in breast cancer. *Oncology*. 2001;2:67-72.
8. Lee AK, De Lellis RA, Silverman ML, Heatley GJ, Wolfe HJ. Prognostic significance of peritumoral lymphatic and blood vessel invasion in node-negative carcinoma of the breast. *J Clin Oncol*. 1990;8(9):1457-1465.
9. Gasparini G et al. Tumor microvessel density, p53 expression, tumor size and peritumoral lymphatic vessel invasion are relevant prognostic markers in node negative breast carcinoma. *J Clin Oncol*. 1994;12(3):454-466.
10. Kato T, Kameoka S, Kimura T, Nishikawa T, Kobayashi M. The combination of angiogenesis and blood vessel invasion as a prognostic indicator in primary breast cancer. *Br J Cancer*. 2003;88(12):1900-1908.
11. Lal P, Tan LK, Chen B. Correlation of Her2 status with estrogen and progesterone receptors and histologic features in 3,655 invasive breast carcinomas. *Am J Clin Pathol*. 2005;123(4):541-546.
12. De Nardo DG, Coussens LM. Inflammation and breast cancer. Balancing immune response: crosstalk between adaptive and innate immune cells during breast cancer progression. *Breast Cancer Res*. 2007;9(4):212.

13. Gottfried E et al. Expression of CD68 in non-myeloid cell types. *Scand J Immunol.* 2008;67(5):453-463.
14. Colotta F, Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. Cancer related inflammation, the seventh hallmark of cancer: Links to genetic instability. *Carcinogenesis.* 2009;30(7):1073-1081.
15. Galon J et al. Type, density and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006;29:1960-1964.
16. Roxburgh CS, McMillan DC. The role of the in situ local inflammatory response in predicting recurrence and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Cancer Treat Rev.* 2012;38(5):451-66.
17. Mohammed ZM, Going JJ, Edwards J, Elsberger B, McMillan DC. The relationship between lymphocyte subsets and clinicopathological determinants of survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer. *Br J Cancer.* 2013;17:1676-84.
18. Al Murri et al. The relationship between the systemic inflammatory response, tumor proliferative activity, T lymphocytic and macrophage infiltration, microvessel density and survival in patients with primary operable breast cancer. *Br J Cancer.* 2008;99(7):1013-1019.
19. Loi S et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2013;31:860-867.
20. Mittendorf E.A et al. PD-L1 Expression in triple-negative breast cancer. *Cancer Immunol.* 2014;2:361-370.
21. Zhang N et al. Prognostic impact of Tertiary Lymphoid Structures in Breast Cancer Prognosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cancer Cell Int.* 2021;21:536.
22. Sharma P et al. Clinical and biomarker results of neoadjuvant phase II study of pembrolizumab and carboplatin plus docetaxel in triple-negative breast cancer (TNBC) (NeoPACT). *J Clin Oncol.* 2022;40:513.
23. Nederlof I et al. LBA13 nivolumab and ipilimumab in early-stage triple negative breast cancer (TNBC) with tumor-infiltrating lymphocytes (TILs): First results from the BELLINI Trial. *Ann Oncol.* 2022;33:1382.
24. Loibl S et al. Neoadjuvant durvalumab improves survival in early triple-negative breast cancer independent of pathological complete response. *Ann Oncol.* 2022;33:1149-1158.
25. Cardoso F et al. Early breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2019;30:1194-1220.
26. Curigliano G et al. Understanding breast cancer complexity to improve patient outcomes: The St Gallen International Consensus Conference for the primary therapy of individuals with early breast Cancer. *Ann Oncol.* 2023;34:970-986.