

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.628871>

Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты: возможность использования их потенциала в клинической практике при раке молочной железы

М.В. Мнихович¹, Л.М. Ерофеева¹, Д.А. Борисов², Р.Г. Тимофеев², Ю.С. Агафонова²,
Т.В. Безуглова¹, И.А. Ширипенко^{1, 2}

¹ Научно-исследовательский институт морфологии человека имени академика А.П. Авцына Российского научного центра хирургии имени академика Б.В. Петровского, Москва, Россия;

² Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты в настоящее время рассматривают как прогностический биомаркёр выживаемости онкологических больных и эффективности ответа на проводимую терапию, а также как мишень для иммунотерапии. Однако такие лимфоциты являются только частью опухолевого микроокружения, состоящего из клеточного и цитокинового компонентов. К клеточному компоненту относят также ассоциированные с опухолью макрофаги, нейтрофилы, фибробласты и другие клетки. Цитокиновое составляющее представлено продуктами деятельности всех клеток микроокружения, а также опухолевых клеток.

В настоящем обзоре рассмотрены различные субпопуляции опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, показано их взаимодействие с опухолевыми клетками и другими клеточными популяциями опухолевого микроокружения, а также описаны возможности клинического применения этой клеточной популяции как биомаркёра прогноза клинических исходов и для определения наиболее эффективного метода лечения при раке молочной железы.

Получение новых данных о ранее мало исследованных составляющих опухолевого микроокружения и опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах, а также формирование представлений о взаимном влиянии клеток опухолевого микроокружения и опухолевых клеток открывает перспективу разработки инновационных моделей терапии. Одним из современных направлений является поиск молекулярных механизмов поддержания противоопухолевой активности опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, а также поляризации клеток опухолевого микроокружения. Успехи в области молекулярной онкологии позволят снизить смертность онкобольных до минимальных значений с сохранением или даже улучшением их уровня жизни.

Ключевые слова: опухолевое микроокружение; опухоль-инфильтрирующие лимфоциты; рак молочной железы.

Как цитировать:

Мнихович М.В., Ерофеева Л.М., Борисов Д.А., Тимофеев Р.Г., Агафонова Ю.С., Безуглова Т.В., Ширипенко И.А. Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты: возможность использования их потенциала в клинической практике при раке молочной железы // Морфология. 2023. Т. 161, № 3. С. 97–105.
DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.628871>

DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.628871>

Tumor-infiltrating lymphocytes: opportunities to use their potential in clinical practice in breast cancer

Maxim V. Mnikhovich¹, Lyudmila M. Erofeeva¹, Denis A. Borisov², Roman G. Timofeev², Yulia S. Agafonova², Tatiana V. Bezuglova¹, Ivan A. Shiripenko^{1, 2}

¹ Avtsyn Research Institute of Human Morphology of Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow, Russia;

² N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

ABSTRACT

Tumor-infiltrating lymphocytes are currently considered as a prognostic biomarker of cancer patient survival and response to therapy, as well as a target for immunotherapy. However, tumor-infiltrating lymphocytes are only part of the tumor microenvironment, which consists of cellular and cytokine components. The cellular component also includes tumor-associated macrophages, neutrophils, fibroblasts and other cells. The cytokine component is represented by the products of the activity of all cells of the microenvironment, as well as tumor cells.

This review examines various subpopulations of tumor-infiltrating lymphocytes, shows their interaction with tumor cells and other cell populations of the tumor microenvironment, and also describes the potential for clinical use of this cell population as a biomarker for predicting clinical outcomes and the possibility of their use to determine the most effective treatment for breast cancer.

Obtaining new data on the previously poorly studied components of the tumor microenvironment and tumor-infiltrating lymphocytes, as well as the formation of ideas about the mutual influence of tumor microenvironment cells and tumor cells open up the prospect of developing innovative models of therapy. One of the modern directions is the search for molecular mechanisms of maintaining the antitumor activity of tumor-infiltrating lymphocytes, as well as the polarization of cells in the tumor microenvironment. Advances in the field of molecular oncology will make it possible to reduce the mortality rate of cancer patients to minimal levels while maintaining or even improving their standard of living.

Keywords: tumor microenvironment studies; tumor-infiltrating lymphocytes; breast cancer.

To cite this article:

Mnikhovich MV, Erofeeva LM, Borisov DA, Timofeev RG, Agafonova YuS, Bezuglova TV, Shiripenko IA. Tumor-infiltrating lymphocytes: opportunities to use their potential in clinical practice in breast cancer. *Morphology*. 2023;161(3):97–105. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.628871>

ВВЕДЕНИЕ

Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (ОИЛ, *англ.* tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) являются частью опухолевого микроокружения (tumor microenvironment, TME), состоящего из клеточного и цитокинового компонентов. К клеточному компоненту, помимо TILs, относят ассоциированные с опухолью макрофаги (tumor-associated macrophages, TAM) и нейтрофилы (tumor-associated neutrophils, TAN), фибробласты (cancer associated fibroblasts, CAF) и другие клетки, связанные с опухолью. Цитокиновое составляющее представлено продуктами деятельности всех клеток микроокружения, а также опухолевых клеток. Некоторые элементы TME и клетки опухоли обладают иммуносупрессорным действием, благодаря чему нарушается активация Т-лимфоцитов — основы иммунного ответа на опухоль [1].

В настоящее время TILs становятся объектом многих исследований, рассматривающих их как прогностический биомаркер выживаемости онкологических больных и эффективности ответа на проводимую терапию, а также как мишень для терапевтического воздействия. Одним из перспективных методов терапии опухолей в настоящее время является метод иммунотерапии. В связи с этим цель настоящего обзора — рассмотреть различные субпопуляции TILs, показать их взаимодействие с опухолевыми клетками и другими клеточными популяциями опухолевого микроокружения, а также оценить возможности клинического применения этой клеточной популяции как биомаркера на примере рака молочной железы (РМЖ).

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Рак молочной железы является гетерогенным заболеванием, в котором выделяют несколько подтипов. С молекулярной точки зрения выделяют люминальные А и В, HER2-положительный, трижды негативный РМЖ [2].

Из всех подтипов РМЖ наибольшие уровни лимфоцитарной инфильтрации и мутационной нагрузки (tumour mutation burden, TMB) отмечаются при трижды негативном РМЖ. Тогда как минимальный уровень TILs и TMB установлен при гормон-позитивном (hormone receptor positive, HR⁺) РМЖ. HER2⁺-опухоли занимают промежуточное положение. В литературе описана прямая корреляция между TMB и TILs при РМЖ [3]. Однако исследований в этой области крайне мало.

Низкая иммуногенность гормон-положительных опухолей связана не только с низким уровнем TMB, но и с воздействием эстрогена, концентрация которого повышена при данном подтипе РМЖ [4]. Этот гормон является иммуносупрессивным фактором, ведущим к снижению функции и пролиферативных возможностей иммунных клеток, которые обладают провоспалительными свойствами. Вместе с тем воздействие эстрадиола увеличивает экспрессию транскрипционного фактора FOXP3,

IL-10 и пролиферацию Treg-клеток, что обуславливает противовоспалительные эффекты. Существуют также данные о негативной корреляции между эстрогеновыми рецепторами и экспрессией молекул HLA, которые в свою очередь прямо пропорционально связаны с TILs [4].

Показано изменение TME после применения химиотерапии. Так, при трижды негативном РМЖ и HER2⁺ отмечается улучшение свойств TILs, связанных с выживаемостью пациентов (повышается уровень иммуоинфильтрации). Однако исследования TME после химиотерапии в случаях HR⁺ рака указывают, что уменьшение концентрации TILs ассоциировано с лучшими показателями. Имеются наблюдения, свидетельствующие, что концентрация TILs в метастазах значительно ниже, чем в первичных опухолевых очагах [5, 6].

ОСНОВНЫЕ КЛЕТОЧНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ TILs И НЕЛИМФОЦИТАРНОГО TME ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В популяции CD8⁺ выделяют эффекторные лимфоциты, клетки памяти и наивные Т-лимфоциты (naïve T-cells). Степень инфильтрации CD8⁺-клетками являлась предиктором ответа на антрациклин или антрациклин/таксан по программе первичной системной терапии при РМЖ. Отмечена также корреляция степени инфильтрации CD8⁺-клетками с благоприятными клиническими исходами при трижды негативном РМЖ и HER2-положительных опухолях. Однако данная взаимосвязь не наблюдается при гормон-положительном РМЖ [7–9].

Факторами, определяющими степень CD8⁺-клеточной инфильтрации, являются TMB и иммуносупрессивные свойства остальных клеточных типов TME. Таким образом, наиболее высокий уровень обогащённости CD8⁺-лимфоцитами отмечается при трижды негативном РМЖ и HER2-положительных опухолях, более низкие значения характерны для HR⁺ РМЖ [10].

Основной задачей популяции CD4⁺-лимфоцитов является регуляция иммунного ответа на опухоль, в котором участвуют 7 типов клеток этой группы: Th1, Th2, Th17, Th9, Th22, Т-фолликулярные клетки (Tfh), Treg-клетки (Т-клетки) [11].

На сегодняшний день лучше всего исследовано прогностическое значение соотношения Th1/Th2 и их роль в противоопухолевом ответе. Известно, что смещение данного соотношения в сторону Th2-типа связано с неблагоприятными последствиями. Вопрос о влиянии Th9 на исходы РМЖ менее изучен, однако в ряде статей описывается их участие в противоопухолевом иммунитете. Сведения о роли Th17 неоднозначны: есть исследования, указывающие как на благоприятное, так и на негативное их влияние [12]. Уставлено, что лимфоциты Th22-типа, секретируя IL-22, стимулируют метастазирование опухоли, а следовательно, повышают риск плохого прогноза

для пациентов [13]. Treg-субпопуляция CD4⁺-лимфоцитов характеризуется синтезом FOXP3, который обеспечивает иммуносупрессивное действие данного типа лимфоцитов. Однако в некоторых исследованиях показаны противоположные влияния Treg на клинический исход даже в рамках одного молекулярного подтипа опухоли [13].

В работах [14, 15] приведены данные, свидетельствующие о том, что для прогнозирования вероятности метастазирования, безрецидивной и общей выживаемости пациентов большое значение имеет соотношение «внутриопухолевые CD8⁺». Согласно этим исследованиям, уменьшение данного соотношения ассоциировано с негативным прогнозом. В современных клинических исследованиях представлены возможные варианты терапии, направленной на снижение эффектов Treg-лимфоцитов. Задачей дальнейших разработок является определение показаний для подавления Treg-клеток.

ТРЕТИЧНЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ СТРУКТУРЫ

В состав третичных лимфоидных структур (tertiary lymphoid structures, TLS) входят клетки врождённого и адаптивного иммунитета. В свою очередь лимфоциты в составе TLS можно разделить на две группы: Т- и В-клетки (Breg-клетки).

Основные функции клеток врождённого иммунитета в данных структурах — это обеспечение презентации антигена и продукция цитокинового окружения для клеток адаптивного иммунитета.

В В-клеточном компоненте ответа на опухоль выделяют 5 основных механизмов [16]:

- 1) рекрутирование иммунных клеток и организация из них структур (в том числе TLS);
- 2) обеспечение формирования и усиления Т-клеточного иммунного ответа за счёт антигенпрезентирующей способности клеток и костимулирующих возможностей иммунного синапса;
- 3) активация врождённого иммунного ответа вследствие антителозависимой активации комплемента, клеточной цитотоксичности и фагоцитоза;
- 4) прямое действие антител на опухолевые клетки — антителозависимая внутриклеточная нейтрализация, блокирование внеклеточных сигналов (путём связывания с сигнальными молекулами или же рецепторами к ним), транзитоз;
- 5) иммуносупрессия, происходящая благодаря выделению противовоспалительных цитокинов Breg-клетками и экспрессии ими молекул, ингибирующих иммунные реакции.

Таким образом, на примере В-клеточного компонента TLS, состоящего из разных популяций и субпопуляций, отмечена многогранность их функциональных эффектов на суммарный иммунный ответ данных структур.

Следовательно, для полноценного понимания и прогностической оценки данных образований необходимо исследовать качественный состав TLS. Однако значительная часть из имеющихся на сегодняшний день работ рассматривают прогностическое значение третичных лимфоидных структур без учёта клеточных популяций, их образующих, поэтому в литературе можно встретить противоречивые выводы.

Если рассматривать непосредственно эффекты разных групп В-клеточного пула, то на сегодняшний день существует очень мало работ, посвящённых непосредственно их прогностическому значению.

Для РМЖ показано негативное влияние Breg-клеток на клинические исходы. Описаны примеры снижения иммуносупрессивного влияния таких клеток при помощи МЕК/ВТК-ингибиторов, а также моноклональных антител к цитокинам и ингибирующим иммунным молекулам [8]. Предполагается, что другие популяции В-клеток ассоциированы с позитивными прогностическими явлениями при РМЖ. Например, этот факт установлен в отношении В-клеток памяти, наивных В-лимфоцитов, плазмочитов при трижды негативном РМЖ [17].

Рассматривая Т-клеточный состав TLS, необходимо обратить внимание на популяцию Т-фолликулярных хелперов — Tfh. Функции данной группы клеток — активация провоспалительных участников TIL-B и CD8⁺ TILs, формирование иммунологической памяти [18]. Предполагают, что данные клетки, выделяя большие объёмы хемоаттрактанта CXCL13, способствуют миграции CXCR5⁺-лимфоцитов и таким образом — формированию TLS [18].

В 2021 году G. Noël и соавт. [18] опубликовали результаты исследования, в основе которого лежит представление о популяции Т-фолликулярных регуляторных клеток (T-follicular regulatory (Tfr) cells), обладающих способностью ингибировать функциональную активность Tfh посредством TGF-β-зависимого механизма. Авторами показано, что баланс между Tfh и Tfr определяет активность третичных лимфоидных структур, которые в свою очередь имели прямую корреляцию с благоприятным клиническим исходом. При исследовании влияния плотности TLS на безрецидивную выживаемость существенных различий не обнаружено. Таким образом, показано, что прогностическое значение TLS должно определяться на основании клеточного состава данных структур [18].

Макрофаги и нейтрофилы, взаимодействуя с TILs и опухолевыми клетками, обеспечивают различные компоненты иммунного ответа и являются важными прогностическими биомаркерами. Необходимо отметить, что данные клетки обладают уникальной способностью к поляризации, т.е. они, находясь в дифференцированном состоянии, могут изменять свой фенотип под воздействием сигналов микроокружения.

M1-/N1- и M2-/N2-типы клеток являются крайними проявлениями поляризации, обладающими противоопухолевым и проопухолевым действием соответственно.

Модель поляризации диктует возможность взаимного перехода M1-/N1-клеток в M2-/N2-типы и наоборот. Таким образом, бинарная концепция о M1- и M2-состояниях макрофагов является упрощением процесса трансформации клеток с множеством переходных форм [19].

Поляризация в M2-тип происходит под воздействием цитокинов (CSF-1, IL-3, IL-4, IL-10, TGF- β и т.д.) и определённых метаболитов опухолевых клеток (длинноцепочечные жирные кислоты, сукцинат, PGE2 и т.д.). Благодаря данному типу клеток поддерживаются выживание, пролиферация, ангиогенез и диссеминация опухолевых клеток. Стимулируются также дифференцировка Th0-лимфоцитов в Th2-тип, развитие дисфункционального состояния Т-лимфоцитов и привлечение Treg-клеток, что приводит к иммунной толерантности [19].

Клинически значимым является возможность перехода M2- в M1-подобные макрофаги, которые, как отмечалось ранее, обладают противоопухолевым действием [19]. В ряде исследований показано, что M2-тип может переходить в M1-клетки под воздействием лигандов TLR или IFN- γ [19]. Однако данный вопрос требует дополнительных исследований.

Высокие значения M1-макрофагов связаны с более благоприятным прогнозом независимо от молекулярного подтипа РМЖ. Наоборот, M2-макрофаги являются предиктором неблагоприятных прогнозов в силу вышеописанных проонкогенных влияний. При изучении роли TAM в патогенезе HR⁺ РМЖ выявлено, что повышенная активность M2-подобных макрофагов является одной из ключевых причин резистентности этого типа рака к эндокринной терапии [20]. В ряде исследований обращается внимание на важность комплексной оценки ТМЕ, а не только отдельных групп клеток [21].

Опухоль-ассоциированные нейтрофилы также находятся под выраженным влиянием факторов ТМЕ. N1- и N2-нейтрофилы, как ранее было сказано, обладают противоположными функциями, обеспеченными активацией различных механизмов. N1-нейтрофилы реализуют программу межклеточных взаимодействий, в которой можно выделить два основных направления: стимуляцию провоспалительных иммунных клеток, включая TILs, и обеспечение собственной противоопухолевой активности [22, 23]. N2-нейтрофилы играют обратную роль, реализуя систему противовоспалительных и проопухолевых реакций, в которой также можно выделить два основных вектора клеточной активности: супрессию противоопухолевых TILs и стимуляцию онкогенеза. Подавляющее иммунное действие N2-популяции обеспечивается за счёт иммуносупрессии цитокинами и другими сигнальными молекулами провоспалительной части TILs, а также генотоксичности. Кроме того, данная группа нейтрофилов непосредственно стимулирует процессы онкогенеза, метастазирования, ангиогенеза, таким образом играя роль важного проонкогенного фактора. В работе [24] высокий уровень нейтрофильной инфильтрации при РМЖ

связывают с негативным прогнозом. Однако в данной работе не была определена поляризация инфильтрировавших нейтрофилов.

Опухоль-ассоциированные фибробласты являются клеточным компонентом стромы ТМЕ. Показано, что плотность активированных фибробластов в значительной степени коррелирует с метастазированием в лимфатические узлы, отрицательным статусом рецепторов эстрогена, снижением общей и безрецидивной выживаемости пациентов с РМЖ [25]. Основными механизмами влияния CAFs на TILs при РМЖ являются: обеспечение противовоспалительного цитокинового окружения, поддерживающего эффекты Treg-клеток [26]; и иммуномодулирующее влияние большой плотности синтезируемого фибробластами коллагена, заключающееся в подавлении эффекторных возможностей CD8⁺ Т-клеток [27].

Естественные клетки-киллеры (NK-клетки) относятся к группе врождённых лимфоидных клеток и входят в состав опухолевого окружения. На основе экспрессии CD56 и CD16 NK-клетки разделяют на две группы: CD56^{bright}CD16⁻ и CD56^{dim}CD16⁺. Первый тип естественных киллеров, выделяя провоспалительные цитокины (IFN- γ), выполняет иммунорегуляторную функцию. Тип CD56^{dim}CD16⁺ обладает высокой антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичностью [28]. Показано, что NK-клетки имеют важное влияние на прогноз в зависимости от молекулярного подтипа РМЖ. Так, трижды негативный РМЖ и HER2-положительные опухоли обычно имеют большую инфильтрацию NK-клетками по сравнению с HR⁺ опухолями. При этом сравнительно высокие значения инфильтрации NK-клетками связывают с положительным клиническим прогнозом РМЖ [29, 30].

Естественные киллеры имеют особенное прогностическое значение в терапии HER2-положительного РМЖ моноклональными антителами против рецептора HER2 за счёт активации антителозависимой клеточной цитотоксичности NK-клеток. Сравнительно высокие значения инфильтрирующих опухоль NK-клеток связывают с полным патологическим ответом на неоадьювантное лечение на основе антител против HER2, а также с более длительной безрецидивной выживаемостью.

Противоопухолевая активность NK-клеток — как CD56^{bright}CD16⁻, так и CD56^{dim}CD16⁺ — многогранна. С одной стороны, данные клетки усиливают Т-клеточную инфильтрацию злокачественных новообразований, с другой — обеспечивают лизис опухолевых клеток, не экспрессирующих на своей поверхности МНС I класса, тем самым предотвращая их инвазию. Для последней функции необходима полная активация NK-клеток, которая достигается при стимуляции их рецепторов — NKG2D, NCR и других [28]. Кроме того, установлено, что естественные киллеры обладают антиметастатической активностью [28, 31].

Однако данные эффекты инфильтрирующих опухоль NK-клеток могут лимитироваться вследствие их

дезактивации раковыми клетками, а также под супрессивным влиянием клеточных популяций TME. В основе иммуносупрессорных механизмов лежат синтез противовоспалительных цитокинов, в частности TGF- β [28]; появление на поверхности NK-клеток ингибирующих рецепторов TIGIT, KLRG1; стимуляция выработки естественными киллерами ДНК-метилтрансфераз (DNMT1, DNMT3a и DNMT3b). Группой американских учёных, изучающих эти процессы, в ходе эксперимента было установлено, что использование анти-TIGIT- или анти-KLRG1-антител и ингибиторов DNMT снижает степень дисфункции NK-клеток, тем самым поддерживая их противоопухолевую активность [31].

Кроме того, в настоящее время обнаружен механизм защиты раковых клеток от NK-клеточной цитотоксической активности, который представляет собой ремоделирование опухолевыми клетками их актинового цитоскелета с накоплением F-актина в области клеточных контактов [32].

Таким образом, на сегодняшний день открываются новые направления для исследований и поиска лекарственных молекулярных мишеней, которые бы способствовали ослаблению устойчивости раковых клеток к противоопухолевой активности TME, приводили к повышению эффективности иммунотерапии и других видов лечения.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее важным направлением в современной онкологии является изучение механизмов участия иммунной системы в онкогенезе и значения TILs для диагностики и лечения. Выявление молекулярных взаимодействий внутри опухоли и изучение иммунных процессов позволяют как разработать общие алгоритмы лечения, так и обеспечить индивидуальный подход к терапии конкретного пациента.

В данном обзоре мы рассмотрели фундаментальные представления о TILs, обсудили возможности практического применения данной клеточной популяции как биомаркера при РМЖ. Нами также затронуты вопросы дальнейших исследований TILs и новых способов их использования в клинической практике.

Современные исследования показывают, что предикторный потенциал TILs зависит от трёх факторов: количественного, качественного состава TILs и влияния других составляющих TME. В клинической практике для оценки эффективности лечения активно используют именно количественный показатель TILs, описываемый как степень иммунной инфильтрации опухоли. Изучение качественного состава TILs является перспективной областью, которая вследствие своей сложности в настоящий момент не получила широкого клинического применения. Однако влияние опухоли и остальных составляющих её микроокружения на TILs служит ключом к пониманию механизмов иммунорезистентности опухолей, следовательно,

модулирование данного фактора является одной из основ лечения пациентов.

Более выраженная обогащённость опухоли лимфоцитами считается благоприятным показателем для проведения иммунотерапии и прогноза эффективности лечения. Однако факт наличия резистентности к иммунотерапии у опухолей молочной железы с высокой иммунной инфильтрацией является наглядным примером того, что количественная оценка TILs не может служить полноценным объективным показателем. Отсутствие ответа данных видов РМЖ на различные методы лечения, в том числе на иммунотерапию, во многом зависит от сформировавшегося иммуносупрессорного опухолевого микроокружения.

Вследствие этого применение TILs в качестве биомаркера должно быть ориентировано в том числе на оценку их качественного состава и влияния на них других составляющих TME.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Получение новых данных о ранее мало исследованных составляющих опухолевого микроокружения и опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, а также формирование представлений о взаимном влиянии клеток опухолевого микроокружения и опухолевых клеток открывает перспективу разработки инновационных моделей терапии. Одним из современных направлений является поиск молекулярных механизмов поддержания противоопухолевой активности опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, а также поляризации клеток опухолевого микроокружения. Успехи в области молекулярной онкологии позволят снизить смертность онкобольных до минимальных значений с сохранением и улучшением их качества жизни.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении поисково-аналитической работы.

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

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение поисково-аналитической работы и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: М.В. Мнихович — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, написание текста, редактирование; Л.М. Ерофеева — написание текста, редактирование; Д.А. Борисов, Р.Г. Тимофеев, Ю.С. Агафонова — сбор и обработка материала, написание текста; Т.В. Безуглова — концепция и дизайн исследования, редактирование; И.А. Ширипенко — редактирование.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This article was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data

for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. M.V. Mnikhovich — concept and design of the study, collection and processing of material, writing and editing the article; L.M. Erofeeva — writing and editing the article; D.A. Borisov, R.G. Timofeev, Yu.S. Agafonova — collection and processing of material, writing the article; T.V. Bezuglova — concept and design of the study, editing the article; I.A. Shiripenko — editing the article.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Annaratone L., Cascardi E., Vissio E., et al. The multifaceted nature of tumor microenvironment in breast carcinomas // *Pathobiology*. 2020. Vol. 87, N 2. C. 125–142. doi: 10.1159/000507055
2. Tsang J.Y.S., Tse G.M. Molecular classification of breast cancer // *Adv Anat Pathol*. 2020. Vol. 27, N 1. P. 27–35. doi: 10.1097/PAP.0000000000000232
3. Mei P., Freitag C.E., Wei L., et al. High tumor mutation burden is associated with DNA damage repair gene mutation in breast carcinomas // *Diagn Pathol*. 2020. Vol. 15, N 1. P. 50. doi: 10.1186/s13000-020-00971-7
4. Segovia-Mendoza M., Morales-Montor J. Immune tumor microenvironment in breast cancer and the participation of estrogen and its receptors in cancer physiopathology // *Front Immunol*. 2019. Vol. 10. P. 348. doi: 10.3389/fimmu.2019.00348
5. Ogiya R., Niikura N., Kumaki N., et al. Comparison of tumor-infiltrating lymphocytes between primary and metastatic tumors in breast cancer patients // *Cancer Sci*. 2016. Vol. 107, N 12. P. 1730–1735. doi: 10.1111/cas.13101
6. Sobottka B., Pestalozzi B., Fink D., et al. Similar lymphocytic infiltration pattern in primary breast cancer and their corresponding distant metastases // *Oncoimmunology*. 2016. Vol. 5, N 6. P. e1153208. doi: 10.1080/2162402X.2016.1153208
7. Egelston C.A., Guo W., Tan J., et al. Tumor-infiltrating exhausted CD8+ T cells dictate reduced survival in premenopausal estrogen receptor–positive breast cancer // *JCI Insight*. 2022. Vol. 7, N 3. P. e153963. doi: 10.1172/jci.insight.153963
8. Oshi M., Asaoka M., Tokumaru Y., et al. CD8 T cell score as a prognostic biomarker for triple negative breast cancer // *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21, N 18. P. 6968. doi: 10.3390/ijms21186968
9. Sobral-Leite M., Salomon I., Opdam M., et al. Cancer-immune interactions in ER-positive breast cancers: PI3K pathway alterations and tumor-infiltrating lymphocytes // *Breast Cancer Res*. 2019. Vol. 21, N 1. P. 90. doi: 10.1186/s13058-019-1176-2
10. Glajcar A., Szpor J., Hodorowicz-Zaniewska D., et al. The composition of T cell infiltrates varies in primary invasive breast cancer of different molecular subtypes as well as according to tumor size and nodal status // *Virchows Arch*. 2019. Vol. 475, N 1. P. 13–23. doi: 10.1007/s00428-019-02568-y
11. Wang S., Yao Y., Yao M., et al. Interleukin-22 promotes triple negative breast cancer cells migration and paclitaxel resistance through JAK-STAT3/MAPKs/AKT signaling pathways // *Biochem Biophys Res Commun*. 2018. Vol. 503, N 3. P. 1605–1609. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.07.088
12. Karpishev V., Ahmadi M., Abbaszadeh-Goudarzi K., et al. The role of Th17 cells in the pathogenesis and treatment of breast cancer // *Cancer Cell Int*. 2022. Vol. 22, N 1. P. 108. doi: 10.1186/s12935-022-02528-8
13. Kos K., de Visser K.E. The multifaceted role of regulatory t cells in breast cancer // *Annu Rev Cancer Biol*. 2021. Vol. 5. P. 291–310. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-042920-104912
14. Peng G.L., Li L., Guo Y.W., et al. CD8+ cytotoxic and FoxP3+ regulatory T lymphocytes serve as prognostic factors in breast cancer // *Am J Transl Res*. 2019. Vol. 11, N 8. P. 5039–5053.
15. Solis-Castillo L.A., Garcia-Romo G.S., Diaz-Rodriguez A., et al. Tumor-infiltrating regulatory T cells, CD8/Treg ratio, and cancer stem cells are correlated with lymph node metastasis in patients with early breast cancer // *Breast Cancer*. 2020. Vol. 27, N 5. P. 837–849. doi: 10.1007/s12282-020-01079-y
16. Laumont C.M., Banville A.C., Gilardi M., et al. Tumour-infiltrating B cells: immunological mechanisms, clinical impact and therapeutic opportunities // *Nat Rev Cancer*. 2022. Vol. 22, N 7. P. 414–430. doi: 10.1038/s41568-022-00466-1
17. Hu Q., Hong Y., Qi P., et al. Atlas of breast cancer infiltrated B-lymphocytes revealed by paired single-cell RNA-sequencing and antigen receptor profiling // *Nat Commun*. 2021. Vol. 12, N 1. P. 2186. doi: 10.1038/s41467-021-22300-2
18. Noël G., Fontsa M.L., Garaud S., et al. Functional Th1-oriented T follicular helper cells that infiltrate human breast cancer promote effective adaptive immunity // *J Clin Invest*. 2021. Vol. 131, N 19. P. e139905. doi: 10.1172/JCI139905
19. Mehta A.K., Kadel S., Townsend M.G., et al. Macrophage biology and mechanisms of immune suppression in breast cancer // *Front Immunol*. 2021. Vol. 12. P. 643771. doi: 10.3389/fimmu.2021.643771
20. Castellaro A.M., Rodriguez-Baili M.C., Di Tada C.E., Gil G.A. Tumor-associated macrophages induce endocrine therapy resistance in ER+ breast cancer cells // *Cancers (Basel)*. 2019. Vol. 11, N 2. P. 189. doi: 10.3390/cancers11020189
21. Kuroda H., Jamiyan T., Yamaguchi R., et al. Tumor microenvironment in triple-negative breast cancer: the correlation of tumor-associated macrophages and tumor-infiltrating lymphocytes // *Clin Transl Oncol*. 2021. Vol. 23, N 12. P. 2513–2525. doi: 10.1007/s12094-021-02652-3
22. Minns D., Smith K.J., Hardisty G., et al. The outcome of neutrophil-t cell contact differs depending on activation status of both cell types // *Front Immunol*. 2021. Vol. 12. P. 633486. doi: 10.3389/fimmu.2021.633486
23. Ohms M., Möller S., Laskay T. An attempt to polarize human neutrophils toward N1 and N2 phenotypes in vitro // *Front Immunol*. 2020. Vol. 11. P. 532. doi: 10.3389/fimmu.2020.00532
24. Geng S.K., Fu S.M., Ma S.H., et al. Tumor infiltrating neutrophil might play a major role in predicting the clinical outcome of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy // *BMC Cancer*. 2021. Vol. 21, N 1. P. 68. doi: 10.1186/s12885-021-07789-6

25. Hu G., Xu F., Zhong K., et al. Activated tumor-infiltrating fibroblasts predict worse prognosis in breast cancer patients // *J Cancer*. 2018. Vol. 9, N 20. P. 3736–3742. doi: 10.7150/jca.28054
26. Costa A., Kieffer Y., Scholer-Dahirel A., et al. Fibroblast heterogeneity and immunosuppressive environment in human breast cancer // *Cancer Cell*. 2018. Vol. 33, N 3. P. 463–479. doi: 10.1016/j.ccell.2018.01.011
27. Kuczek D.E., Larsen A.M.H., Thorseth M.L., et al. Collagen density regulates the activity of tumor-infiltrating T cells // *J Immunother Cancer*. 2019. Vol. 7, N 1. P. 68. doi: 10.1186/s40425-019-0556-6
28. Elaraby E., Malek A.I., Abdullah H.W., et al. Natural killer cell dysfunction in obese patients with breast cancer: a review of a triad and its implications // *J Immunol Res*. 2021. Vol. 2021. P. 9972927. doi: 10.1155/2021/9972927
29. Bouzidi L., Triki H., Charfi S., et al. Prognostic value of natural killer cells besides tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer tissues // *Clin Breast Cancer*. 2021. Vol. 21, N 6. P. e738–e747. doi: 10.1016/j.clbc.2021.02.003
30. O'Meara T., Marczyk M., Qing T., et al. Immunological differences between immune-rich estrogen receptor-positive and immune-rich triple-negative breast cancers // *JCO Precis Oncol*. 2020. Vol. 4. P. P0.19.00350. doi: 10.1200/P0.19.00350.
31. Chan I.S., Knútsdóttir H., Ramakrishnan G., et al. Cancer cells educate natural killer cells to a metastasis-promoting cell state // *J Cell Biol*. 2020. Vol. 219, N 9. P. e202001134. doi: 10.1083/jcb.202001134
32. Al Absi A., Wurzer H., Guerin C., et al. Actin cytoskeleton remodeling drives breast cancer cell escape from natural killer-mediated cytotoxicity // *Cancer Res*. 2018. Vol. 78, N 19. P. 5631–5643. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0441

REFERENCES

1. Annaratone L., Cascardi E., Vissio E., et al. The multifaceted nature of tumor microenvironment in breast carcinomas. *Pathobiology*. 2020;87(2):125–142. doi: 10.1159/000507055
2. Tsang JYS, Tse GM. Molecular classification of breast cancer. *Adv Anat Pathol*. 2020; 27(1):27–35. doi: 10.1097/PAP.0000000000000232
3. Mei P, Freitag CE, Wei L, et al. High tumor mutation burden is associated with DNA damage repair gene mutation in breast carcinomas. *Diagn Pathol*. 2020;15(1):50. doi: 10.1186/s13000-020-00971-7
4. Segovia-Mendoza M, Morales-Montor J. Immune tumor microenvironment in breast cancer and the participation of estrogen and its receptors in cancer physiopathology. *Front Immunol*. 2019;10:348. doi: 10.3389/fimmu.2019.00348
5. Ogiya R, Niikura N, Kumaki N, et al. Comparison of tumor-infiltrating lymphocytes between primary and metastatic tumors in breast cancer patients. *Cancer Sci*. 2016;107(12):1730–1735. doi: 10.1111/cas.13101
6. Sobottka B, Pestalozzi B, Fink D, et al. Similar lymphocytic infiltration pattern in primary breast cancer and their corresponding distant metastases. *Oncoimmunology*. 2016;5(6):e1153208. doi: 10.1080/2162402X.2016.1153208
7. Egelston CA, Guo W, Tan J, et al. Tumor-infiltrating exhausted CD8+ T cells dictate reduced survival in premenopausal estrogen receptor-positive breast cancer. *JCI Insight*. 2022;7(3):e153963. doi: 10.1172/jci.insight.153963
8. Oshi M, Asaoka M, Tokumaru Y, et al. CD8 T cell score as a prognostic biomarker for triple negative breast cancer. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6968. doi: 10.3390/ijms21186968
9. Sobral-Leite M, Salomon I, Opdam M, et al. Cancer-immune interactions in ER-positive breast cancers: PI3K pathway alterations and tumor-infiltrating lymphocytes. *Breast Cancer Res*. 2019;21(1):90. doi: 10.1186/s13058-019-1176-2
10. Glajcar A, Szpor J, Hodorowicz-Zaniewska D, et al. The composition of T cell infiltrates varies in primary invasive breast cancer of different molecular subtypes as well as according to tumor size and nodal status. *Virchows Arch*. 2019;475(1):13–23. doi: 10.1007/s00428-019-02568-y
11. Wang S, Yao Y, Yao M, et al. Interleukin-22 promotes triple negative breast cancer cells migration and paclitaxel resistance through JAK-STAT3/MAPKs/AKT signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018;503(3):1605–1609. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.07.088
12. Karpishev V, Ahmadi M, Abbaszadeh-Goudarzi K, et al. The role of Th17 cells in the pathogenesis and treatment of breast cancer. *Cancer Cell Int*. 2022;22(1):108. doi: 10.1186/s12935-022-02528-8
13. Kos K, de Visser KE. The multifaceted role of regulatory t cells in breast cancer. *Annu Rev Cancer Biol*. 2021;5:291–310. doi: 10.1146/annurev-cancerbio-042920-104912
14. Peng GL, Li L, Guo YW, et al. CD8+ cytotoxic and FoxP3+ regulatory T lymphocytes serve as prognostic factors in breast cancer. *Am J Transl Res*. 2019;11(8):5039–5053.
15. Solis-Castillo LA, Garcia-Romo GS, Diaz-Rodriguez A, et al. Tumor-infiltrating regulatory T cells, CD8/Treg ratio, and cancer stem cells are correlated with lymph node metastasis in patients with early breast cancer. *Breast Cancer*. 2020;27(5):837–849. doi: 10.1007/s12282-020-01079-y
16. Laumont CM, Banville AC, Gilardi M, et al. Tumour-infiltrating B cells: immunological mechanisms, clinical impact and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer*. 2022;22(7):414–430. doi: 10.1038/s41568-022-00466-1
17. Hu Q, Hong Y, Qi P, et al. Atlas of breast cancer infiltrated B-lymphocytes revealed by paired single-cell RNA-sequencing and antigen receptor profiling. *Nat Commun*. 2021;12(1):2186. doi: 10.1038/s41467-021-22300-2
18. Noël G, Fontsa ML, Garaud S, et al. Functional Th1-oriented T follicular helper cells that infiltrate human breast cancer promote effective adaptive immunity. *Clin Invest*. 2021;131(19):e139905. doi: 10.1172/JCI139905
19. Mehta AK, Kadel S, Townsend MG, et al. Macrophage biology and mechanisms of immune suppression in breast cancer. *Front Immunol*. 2021;12:643771. doi: 10.3389/fimmu.2021.643771
20. Castellaro AM, Rodriguez-Baili MC, Di Tada CE, Gil GA. Tumor-associated macrophages induce endocrine therapy resistance in ER+ breast cancer cells. *Cancers (Basel)*. 2019;11(2):189. doi: 10.3390/cancers11020189
21. Kuroda H, Jamiyan T, Yamaguchi R, et al. Tumor microenvironment in triple-negative breast cancer: the correlation of tumor-associated macrophages and tumor-infiltrating lymphocytes. *Clin Transl Oncol*. 2021;23(12):2513–2525. doi: 10.1007/s12094-021-02652-3
22. Minns D, Smith KJ, Hardisty G, et al. The outcome of neutrophil-t cell contact differs depending on activation status of both cell types. *Front Immunol*. 2021;12:633486. doi: 10.3389/fimmu.2021.633486

23. Ohms M, Möller S, Laskay T. An attempt to polarize human neutrophils toward n1 and n2 phenotypes in vitro. *Front Immunol.* 2020;11:532. doi: 10.3389/fimmu.2020.00532
24. Geng SK, Fu SM, Ma SH, et al. Tumor infiltrating neutrophil might play a major role in predicting the clinical outcome of breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *BMC Cancer.* 2021;21(1):68. doi: 10.1186/s12885-021-07789-6
25. Hu G, Xu F, Zhong K, et al. Activated tumor-infiltrating fibroblasts predict worse prognosis in breast cancer patients. *J Cancer.* 2018;9(20):3736–3742. doi: 10.7150/jca.28054
26. Costa A, Kieffer Y, Scholer-Dahirel A, et al. Fibroblast heterogeneity and immunosuppressive environment in human breast cancer. *Cancer Cell.* 2018;33(3):463–479.e10. doi: 10.1016/j.ccell.2018.01.011
27. Kuczek DE, Larsen AMH, Thorseth ML, et al. Collagen density regulates the activity of tumor-infiltrating T cells. *J Immunother Cancer.* 2019;7(1):68. doi: 10.1186/s40425-019-0556-6
28. Elaraby E, Malek AI, Abdullah HW, et al. Natural killer cell dysfunction in obese patients with breast cancer: a review of

- a triad and its implications. *J Immunol Res.* 2021;2021:9972927. doi: 10.1155/2021/9972927
29. Bouzidi L, Triki H, Charfi S, et al. Prognostic value of natural killer cells besides tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer tissues. *Clin Breast Cancer.* 2021;21(6):e738–e747. doi: 10.1016/j.clbc.2021.02.003
30. O'Meara T, Marczyk M, Qing T, et al. Immunological differences between immune-rich estrogen receptor-positive and immune-rich triple-negative breast cancers. *JCO Precis Oncol.* 2020;4:P0.19.00350. doi: 10.1200/P0.19.00350
31. Chan IS, Knútsdóttir H, Ramakrishnan G, et al. Cancer cells educate natural killer cells to a metastasis-promoting cell state. *J Cell Biol.* 2020;219(9):e202001134. doi: 10.1083/jcb.202001134
32. Al Absi A, Wurzer H, Guerin C, et al. Actin cytoskeleton remodeling drives breast cancer cell escape from natural killer-mediated cytotoxicity. *Cancer Res.* 2018;78(19):5631–5643. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-0441

ОБ АВТОРАХ

* **Мнихович Максим Валерьевич**, канд. мед. наук, доцент;
адрес: 117418, Россия, Москва, ул. Цюрупы, д. 3;
ORCID: 0000-0001-7147-7912;
eLibrary SPIN: 6975-6677;
e-mail: mnichmaxim@yandex.ru

Ерофеева Людмила Михайловна, д-р биол. наук, профессор;
ORCID: 0000-0003-2949-1432;
eLibrary SPIN: 7217-5030;
e-mail: gystology@mail.ru

Борисов Денис Алексеевич;
ORCID: 0009-0000-3625-692X;
eLibrary SPIN: 6039-7943;
e-mail: borisofdenis@gmail.com

Тимофеев Роман Геннадьевич;
ORCID: 0009-0000-2468-2200;
eLibrary SPIN: 7991-6697;
e-mail: Timofrg@yandex.ru

Агафонова Юлия Сергеевна;
ORCID: 0009-0007-4877-9569;
eLibrary SPIN: 2726-5343;
e-mail: yuliaagaf2000@mail.ru

Безуглова Татьяна Васильевна, канд. биол. наук;
ORCID: 0000-0001-7792-1594;
eLibrary SPIN: 3943-4400;
e-mail: bezuglovat@mail.ru

Ширипенко Иван Александрович;
ORCID: 0000-0002-5947-1523;
eLibrary SPIN: 3691-0148;
e-mail: hikkiwahikki@gmail.com

AUTHORS' INFO

* **Maxim V. Mnikhovich**, MD, Cand. Sci. (Medicine),
Assistant Professor;
address: 3 Tsyurupy street, 117418 Moscow, Russia;
ORCID: 0000-0001-7147-7912;
eLibrary SPIN: 6975-6677;
e-mail: mnichmaxim@yandex.ru

Lyudmila M. Erofeeva, Dr. Sci. (Biology), Professor;
ORCID: 0000-0003-2949-1432;
eLibrary SPIN: 7217-5030;
e-mail: gystology@mail.ru

Denis A. Borisov;
ORCID: 0009-0000-3625-692X;
eLibrary SPIN: 6039-7943;
e-mail: borisofdenis@gmail.com

Roman G. Timofeev;
ORCID: 0009-0000-2468-2200;
eLibrary SPIN: 7991-6697;
e-mail: Timofrg@yandex.ru

Yulia S. Agafonova;
ORCID: 0009-0007-4877-9569;
eLibrary SPIN: 2726-5343;
e-mail: yuliaagaf2000@mail.ru

Tatiana V. Bezuglova, Cand. Sci. (Biology);
ORCID: 0000-0001-7792-1594;
eLibrary SPIN: 3943-4400;
e-mail: bezuglovat@mail.ru

Ivan A. Shiripenko;
ORCID: 0000-0002-5947-1523;
eLibrary SPIN: 3691-0148;
e-mail: hikkiwahikki@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author