

# HLA-мономорфные детерминанты первичной опухоли у больных раком молочной железы

С.В. Чулкова<sup>1,2</sup>, Е.Н. Шолохова<sup>1</sup>, И.В. Поддубная<sup>3</sup>, И.С. Стилиди<sup>1,2</sup>, Н.Н. Тупицын<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия 117997 Москва, ул. Островитянова, 1а;

<sup>3</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 125993 Москва, ул. Баррикадная, 2/1, стр. 1

**Контакты:** Светлана Васильевна Чулкова [chulkova@mail.ru](mailto:chulkova@mail.ru)

**Введение.** Молекулы главного комплекса гистосовместимости изучаются при раке длительное время, но их клиническая значимость до сих пор вызывает полемику. Сообщается, что они могут иметь важное предиктивное значение в эффективности иммунотерапии. В этом контексте интерес представляет изучение HLA-иммунофенотипов опухоли, поскольку дополнительно раскрывает иммунобиологические особенности рака, что в дальнейшем может повлиять на подходы в лекарственной терапии рака молочной железы.

**Цель исследования** – оценить частоту HLA-иммунофенотипов рака молочной железы и их взаимосвязь с клинико-морфологическими признаками первичной опухоли.

**Материалы и методы.** В исследование включены 82 больные раком молочной железы, получавшие лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Иммунофенотипирование первичной опухоли выполнено иммуногистохимическим методом (иммунофлуоресцентного окрашивания) на криостатных срезах. Оценка реакции проводилась с помощью люминесцентного микроскопа ZEISS AxioScope 5 (Zeiss AG, Германия). В исследовании преобладали больные с IIB стадией – 54 %, IIA стадия выявлена в 5 % случаев, IIIA – в 12 % случаев, IIIB – в 21 %, IIIC – в 8 %. Инфильтративно-протоковый рак молочной железы диагностирован у 67 % больных ( $n = 55$ ), инфильтративно-дольковый – в 22 % случаев ( $n = 18$ ), другие виды составили 11,0 % ( $n = 9$ ). Изучена частота иммунофенотипов в зависимости от клинических и морфологических характеристик рака молочной железы.

**Результаты.** При раке молочной железы HLA-бинегативный иммунофенотип (отсутствие экспрессии обеих детерминант HLA I, II) являлся преобладающим. Высокая частота данного фенотипа наблюдалась при стадии T4 в сравнении с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотипом – 100 и 0 % соответственно ( $p = 0,042$ ). При размерах первичной опухоли, соответствующих стадии T4, также наблюдался иммунофенотип HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>. Отмечено, что частота встречаемости этого иммунофенотипа при IIIA стадии была выше в сравнении с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотипом – 60 и 40 % ( $p = 0,01$ ). При опухолях, имеющих HLA-DR-негативный иммунофенотип, чаще наблюдались поражения лимфатических узлов, отсутствие экспрессии рецепторов к эстрогену. Опухоли с HLA-бинегативным иммунофенотипом в сравнении с группой опухолей с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотипом в 80 % наблюдений были рецептор-отрицательными ( $p = 0,022$ ); аналогичные данные получены для HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-иммунофенотипа ( $p = 0,037$ ).

**Заключение.** По результатам анализа HLA-иммунофенотипов рака молочной железы HLA-бинегативный иммунофенотип оказался преобладающим. Вторым по частоте являлся иммунофенотип с отсутствием экспрессии молекул HLA-DR. Выявлена связь HLA-иммунофенотипов со стадией опухолевого процесса, размером первичной опухоли, статусом экспрессии рецепторов к эстрогену.

**Ключевые слова:** HLA-I, HLA-DR, иммунофенотип, рак молочной железы, иммунофлуоресценция, криостатные срезы

**Для цитирования:** Чулкова С.В., Шолохова Е.Н., Поддубная И.В. и др. HLA-мономорфные детерминанты первичной опухоли у больных раком молочной железы. Российский биотерапевтический журнал 2022;21(2):56–66. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-2-56-66

## HLA-monomorphic determinants of the primary tumor in breast cancer patients

Svetlana V. Chulkova<sup>1,2</sup>, Elena N. Sholokhova<sup>1</sup>, Irina V. Poddubnaya<sup>3</sup>, Ivan S. Styliidi<sup>1,2</sup>, Nikolay N. Tupitsyn<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, 115478 Moscow, Russia;

<sup>2</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1a Ostrovityanova St., 117997 Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Ministry of Health of Russia; Bld. 1, 2/1 Barrikadnaya St., 125993 Moscow, Russia

**Contacts:** Svetlana Vasilievna Chulkova [chulkova@mail.ru](mailto:chulkova@mail.ru)

**Background.** Molecules of the major histocompatibility complex in cancer are currently being widely studied, and their clinical significance is still the subject of controversy. It is reported that they might have an important predictive value in the effectiveness of immunotherapy. The study of the expression HLA molecules status in breast cancer provides a deeper understanding of the biological properties of the tumor, in particular to identify the features of its immunological phenotype, which may further influence on breast cancer therapy.

**Aim.** To evaluate the frequency of HLA-immunophenotypes in breast cancer and their relationship with the clinical and morphological features of the primary tumor.

**Materials and methods.** This study included 82 patients with breast cancer who received treatment at the N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia. Immunophenotyping of the primary tumor was performed by immunofluorescence on cryostat sections. The reaction was evaluated using a ZEISS Axioscope 5 luminescent microscope (Zeiss AG, Germany). The study was dominated by patients with stage IIB – 54 %, stage IIA was detected in 5 % of cases, IIIA – in 12 % of cases, IIIB – in 21 % of cases, IIIC – 8 %. Infiltrative ductal breast cancer was diagnosed in 67 % of patients ( $n = 55$ ), infiltrative-lobular – in 22 % of cases ( $n = 18$ ), other types – in 11 % ( $n = 9$ ). The frequency of immunophenotypes was studied depending on the clinical and morphological characteristics of breast cancer.

**Results.** It was found that in the group as a whole, the HLA-binegative immunophenotype of breast cancer was predominant. It dominated at stage T4 compared to the HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotype (100 and 0 %),  $p = 0.042$ . At the same time, it should be noted that in T4 primary tumor the HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> immunophenotype was also observed. The relationship this immunophenotype was noted with the stage: frequency at stage IIIA was higher than the HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotype, 60 and 40 %,  $p = 0.01$ . Both HLA-DR-negative immunophenotypes were characterized by a high incidence of lymph node involvement and the absence of estrogen receptor expression. 80 % of receptor-negative tumors were noted in HLA-binegative immunophenotype compared to phenotype HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>,  $p = 0.022$ ; the similar data were obtained for the HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> immunophenotype ( $p = 0.037$ ).

**Conclusion.** HLA immunophenotypes analysis of breast cancer revealed the HLA-binegative immunophenotype of breast cancer was predominant. The second most common immunophenotype was the absence of expression of HLA-DR molecules. The association of HLA-immunophenotypes with the stage of the tumor process, the size of the primary tumor, and the expression status of estrogen receptors was revealed.

**Keywords:** HLA-I, HLA-DR, immunophenotype, breast cancer, immunofluorescence

**For citation:** Chulkova S.V., Sholokhova E.N., Poddubnaya I.V. et al. HLA-monomorphic determinants of the primary tumor in breast cancer patients. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2022; 21(2):56–66. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-2-56-66

## Введение

Рак молочной железы (РМЖ) – самая распространенная злокачественная опухоль у женщин. В структуре онкологической заболеваемости она прочно удерживает лидирующее место. По статистическим данным, в 2020 г. было зарегистрировано 2261 419 новых случаев РМЖ [1]. Современные методы диагностики и лечения благодаря достижениям молекулярной биологии позволили преодолеть некоторые трудности и улучшить показатели выживаемости данной категории больных. Однако смертность от РМЖ остается высокой [2]. Ежегодно в мире регистрируется почти 700 тыс. летальных исходов этой болезни [3]. Поэтому на сегодняшний день остается актуальным усовершенствование существующих и поиск новых лечебных подходов при РМЖ.

В исследованиях РМЖ широкое распространение получило изучение молекулярно-биологических характеристик опухоли, которые имеют важное значение при выборе вида лечения и тесно связаны с про-

гнозом заболевания. В связи с этим неослабевающий интерес удерживают иммунологические маркеры, к числу которых относятся молекулы главного комплекса гистосовместимости: HLA I и II классов (HLA-I, HLA-II) [4, 5].

Молекулы HLA являются примитивными рецепторами, которые в норме экспрессируются всеми ядросодержащими клетками организма. Они специализируются на распознавании и представлении собственных и чужеродных пептидов [6]. Молекулы HLA, экспонируя на клеточной мембране пептидные фрагменты, опосредуют Т-клеточный противоопухолевый ответ [7].

Установлено, что при многих видах рака имеются изменения в экспрессии молекул HLA, приводящие к эффективному уклонению опухоли от цитотоксической атаки иммунными клетками, что влечет за собой ее прогрессирование [8–10]. По мнению исследователей, выраженность экспрессии, а порой утрата экспрессии молекул HLA-I, в зависимости

от вида опухоли могут быть ассоциированы с гистологическим типом опухоли, степенью ее злокачественности, ответом на лечение, выживаемостью [11, 12].

В связи с этим молекулы HLA широко и детально изучаются, в том числе при РМЖ, а их клиническая значимость до сих пор вызывает полемику. Сообщается, что они могут иметь важное предиктивное значение в эффективности иммунотерапии. Этому посвящены несколько экспериментальных и клинических исследований, в которых анализируется влияние экспрессии молекул HLA-I и HLA-II на эффективность анти-PD-1/PD-L1-терапии [13–17].

В лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России проведено несколько научных исследований по изучению молекул HLA при раке [18–22]. Одной из крупных работ является исследование Е.В. Артамоновой, в котором показано наличие взаимосвязи экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II классов клетками РМЖ между собой [19]. Выявлены ассоциации экспрессии мономорфных HLA-детерминант с выраженностью интратуморальных иммунных реакций. Снижение экспрессии молекул HLA клетками РМЖ сопровождается достоверным снижением инфильтрации опухоли по большинству субпопуляций иммунокомпетентных клеток, была выявлена корреляция инфильтрации с прогнозом. На основании полученных результатов автором предложена концепция, согласно которой мономорфные HLA-детерминанты опосредованно, через иммунные реакции, влияют на прогноз заболевания [19]. В свою очередь, особый интерес представляет изучение HLA-иммунофенотипов опухоли, поскольку они могут представлять собой различные опухолевые клоны и отличаться характером интратуморальных реакций. В дальнейшем это может оказать влияние на направленность лечебных подходов, эффективность лекарственной терапии.

### Материалы и методы

Материалом данного исследования послужили образцы опухолевой ткани. В исследование были включены 82 больные РМЖ, которые прошли обследование и получали лечение в условиях ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в 2002–2005 гг. Возраст больных варьировал от 27 до 77 лет, средний возраст составил  $53,7 \pm 10,3$  года. У 46 % пациенток репродуктивная функция была сохранна, 48 % пациенток находились в состоянии менопаузы, 4 % – перименопаузы, 2 % – постменопаузы. Диагноз РМЖ был установлен на основании клинических, рентгенологических и морфологических данных. Всем пациенткам выполнено хирурги-

ческое пособие: в объеме мастэктомии – 79,3 % ( $n = 65$ ), резекции молочной железы – 20,7 % ( $n = 17$ ). Лекарственное лечение в неoadъювантном режиме проведено у 62,2 % пациенток ( $n = 51$ ), в адъювантном режиме – у 37,8 % ( $n = 31$ ). Лучевая терапия проведена в 45,1 % случаев ( $n = 37$ ), гормонотерапия – в 50,0 % ( $n = 41$ ). Согласно клинической классификации и международной системе TNM (7-е издание) установлена распространенность опухолевого процесса. По стадиям заболевания больные распределились следующим образом: ПА стадия – 5 % случаев, ПВ стадия – 54 %, ПИА стадия – 12 %, ПИБ стадия – 21 %, ПИС стадия – 8 % (табл. 1).

**Таблица 1.** Распределение больных в зависимости от стадии рака молочной железы

**Table 1.** Distribution of patients depending on the stage of breast cancer

Стадия Stage	<i>n</i>	%
ПА	4	5,0
ПВ	44	54,0
ПИА	10	12,0
ПИБ	17	21,0
ПИС	7	8,0
Всего Total	82	100

В большинстве случаев размер первичной опухоли соответствовал категории T2 – 72 % ( $n = 59$ ), реже отмечалась стадия T4 – 22 % ( $n = 18$ ), стадия T1 определена у 2,4 % больных ( $n = 2$ ), а T3 – у 3,6 % ( $n = 3$ ). Метастатическое поражение лимфатических узлов (N+) наблюдалось почти у всех больных, что составило 95 % ( $n = 78$ ): N1 – 68,9 % ( $n = 54$ ), N2 – 20,7 % ( $n = 17$ ), N3 – 8,5 % ( $n = 7$ ). Чаще всего степень дифференцировки опухоли соответствовала G<sub>2</sub> (76,5 %,  $n = 52$ ).

В соответствии с данными патоморфологического исследования, в большинстве случаев диагностирован инфильтративно-протоковый РМЖ – 67 % больных ( $n = 55$ ), инфильтративно-дольковый рак отмечен в 22 % случаев ( $n = 18$ ), другие виды составили 11,0 % ( $n = 9$ ) (рис. 1).

Экспрессия опухолевыми клетками рецепторов к эстрогену наблюдалась в 34 % случаев ( $n = 28$ ), рецепторов к прогестерону – в 35 % ( $n = 29$ ) (табл. 2).

Иммунофенотипирование первичной опухоли выполнено на криостатных срезах в лаборатории иммунологии гемопоэза ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России методом иммуногистохимии (иммунофлуоресцентного окрашивания).

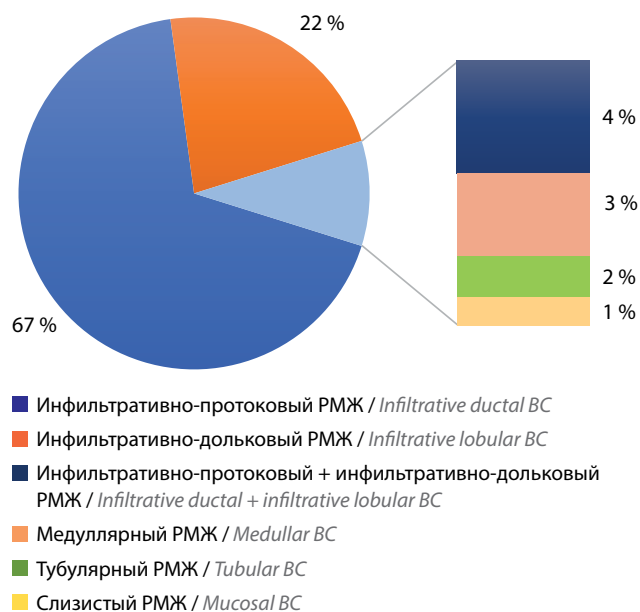


Рис. 1. Распределение больных в зависимости от гистологического типа рака молочной железы (РМЖ)

Fig. 1. Distribution of patients depending on the histological type of breast cancer (BC)

Срезы опухоли помещали на предметные стекла, фиксировали ацетоном («ПанЭко», Россия) в течение 10 мин при температуре 4 °С. Затем отмывали в среде 199 (pH 7,2–7,4) («ПанЭко», Россия), наносили моноклональные антитела (HLA-ABC, clone: W6/32, HLA-DR, clone: LN3) (Becton Dickinson, США) и инкубировали в течение 30 мин. После отмывания наносили F(ab)2-фрагменты антивидовых IgG1, меченные FITC (clone: M1-14D12) (Becton Dickinson, США). По окончании инкубации препараты отмывали и консервировали 50 % раствором глицерина («ПанЭко», Россия).

Таблица 2. Распределение больных в зависимости от рецепторного статуса рака молочной железы

Table 2. Distribution of patients depending on the receptor status of breast cancer

Рецепторный статус Receptor status	n	%
РЭ <sup>-</sup> ER <sup>-</sup>	54	65,9
РЭ <sup>+</sup> ER <sup>+</sup>	28	34,1
РП <sup>-</sup> PR <sup>-</sup>	53	64,6
РП <sup>+</sup> PR <sup>+</sup>	29	35,4

Примечание. РЭ – рецепторы к эстрогену; РП – рецепторы к прогестерону.

Note. ER – estrogen receptor; PR – progesterone receptors.

Учет реакции выполняли на люминесцентном микроскопе ZEISS Axioscope 5 (Zeiss AG, Германия). Положительными считали клетки, имеющие мембранное свечение (в виде кольца, сегмента, полукольца) разной степени интенсивности (от слабой до выраженной), а также клетки с цитоплазматическим свечением. Реакция клеток в контроле отсутствовала. Оценку экспрессии опухолевыми клетками молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-I, HLA-DR проводили полуколичественным методом, предложенным Hammerling и соавт. (1987).

Выделяли 3 типа взаимодействия антител с опухолевыми клетками: мозаичный тип – антиген экспрессируется частью опухолевых клеток (10–80 %); мономорфный тип – экспрессия антигена наблюдается более чем на 80 % опухолевых клеток; при экспрессии антигена менее чем 10 % опухолевых клеток реакция расценивалась как отрицательная. Указанные виды взаимодействия антител с опухолевыми клетками представлены на рис. 2.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета IBM SPSS Statistics v.21. Осуществляли анализ корреляционных связей по Пирсону или Спирмену, подсчет распределения частот по категориям с непрерывными и дискретными переменными (критерий Фишера и  $\chi^2$  по Пирсону). Различия считали значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

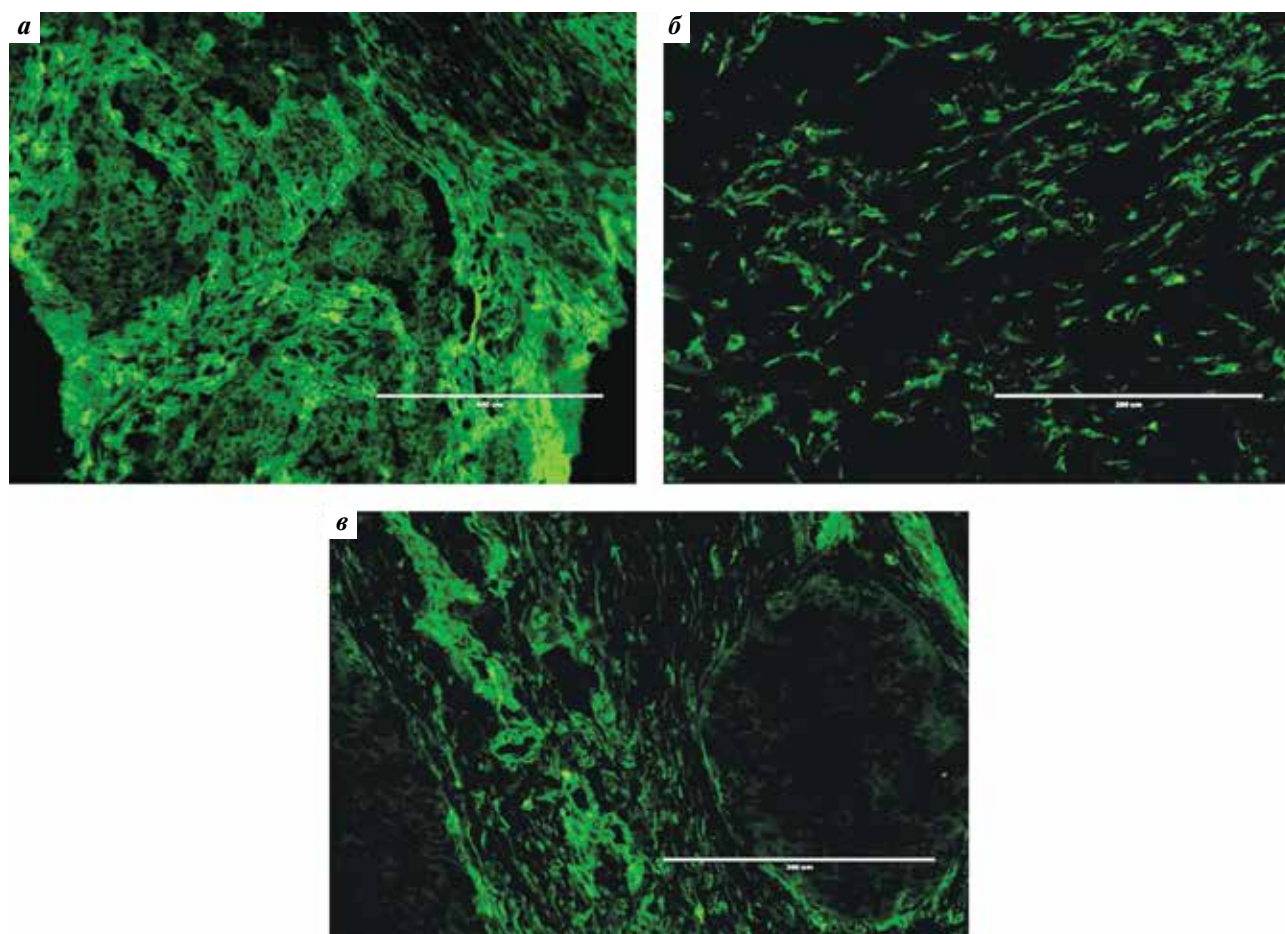
Результаты анализа экспрессии молекул HLA-I, HLA-DR клетками РМЖ представлены на рис. 3.

Хорошо известно, что молекулы HLA-I могут утрачиваться при РМЖ в 7–56 % случаев. В нашем исследовании при изучении экспрессии молекул HLA-I установлено следующее. Почти в половине исследуемых образцов (46,0 %,  $n = 37$ ) HLA-детерминанты I класса утрачивались. Мономорфная экспрессия молекул HLA-I выявлена в 42,0 % случаев ( $n = 34$ ), а в 12,2 % случаев ( $n = 10$ ) наблюдали мозаичный тип реакции.

Несколько иная картина наблюдалась в отношении экспрессии молекулы HLA-DR. HLA-DR обнаруживались нами на клетках РМЖ гораздо реже. Мономорфная экспрессия HLA-DR-антигена отмечена в 10 % наблюдений ( $n = 8$ ). Мозаично экспрессировали данный антиген опухолевые клетки в 12,0 % образцов ( $n = 9$ ). Антигеннегативные опухоли встречались в большинстве изученных образцов, что составило 78,0 % ( $n = 64$ ).

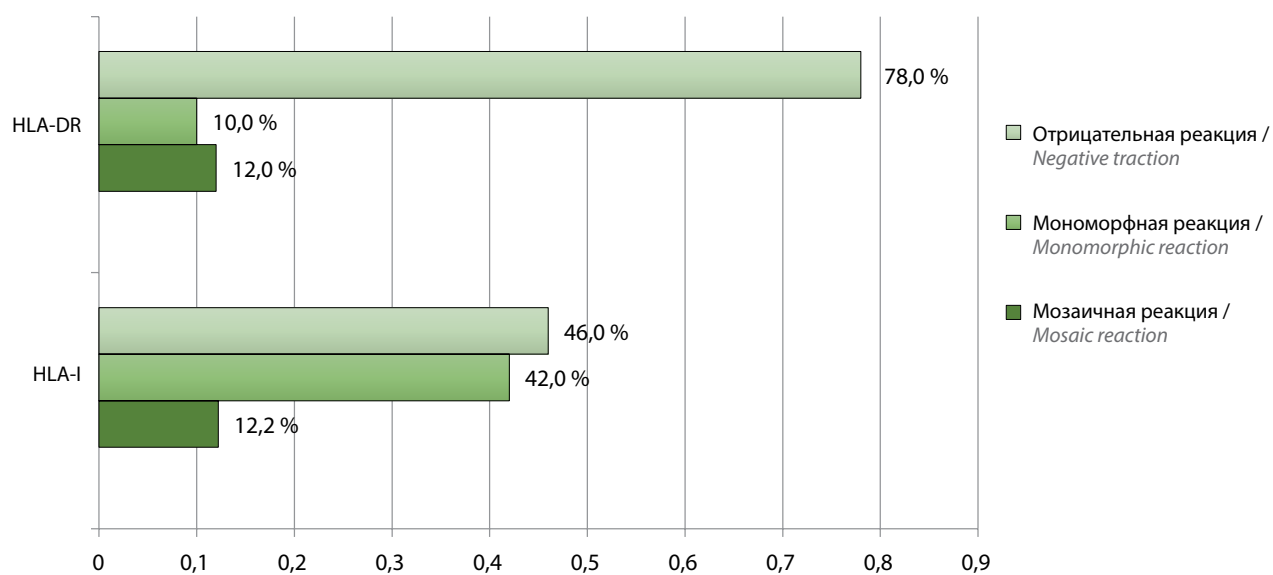
Таким образом, частота экспрессии молекул HLA-I и HLA-II различалась. Почти в половине случаев молекулы HLA-I утрачиваются, а экспрессия наблюдается в 54 % случаев. Экспрессия молекул HLA-II установлена в 22,0 % образцов. Как видим, большинство анализируемых опухолей характеризовались





**Рис. 2.** Типы экспрессии изучаемого антигена опухолевыми клетками: а – мономорфный тип реакции; б – мозаичный тип реакции; в – отрицательная реакция. Иммунофлуоресцентный анализ.  $\times 400$

**Fig. 2.** Types of expression of the studied antigen by tumor cells: а – monomorphic type of reaction; б – mosaic type of reaction; в – negative reaction. Immunofluorescence analysis.  $\times 400$



**Рис. 3.** Экспрессия опухолевыми клетками молекул HLA-I, HLA-DR

**Fig. 3.** Expression of HLA-I, HLA-DR molecules by tumor cells

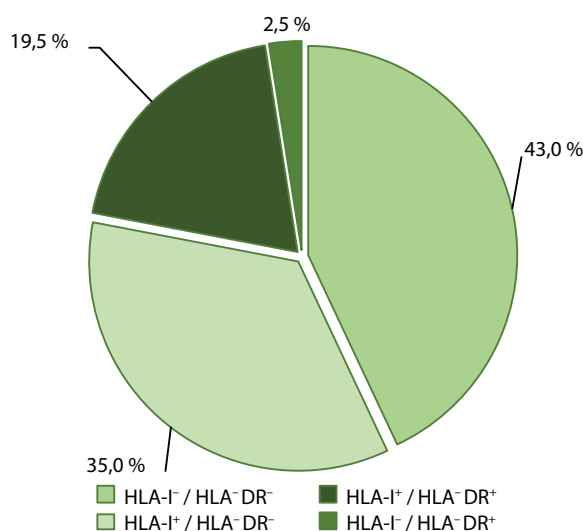


Рис. 4. Частота HLA-иммунофенотипических вариантов рака молочной железы

Fig. 4. Frequency of HLA-immunophenotypic variants of breast cancer

отсутствием экспрессии HLA-II. Полученные результаты согласуются с данными литературы [18, 19].

При этом следует отметить, что, по данным отдельных источников, экспрессия молекул HLA-I при РМЖ может наблюдаться чаще [11, 12]. Этому может быть несколько объяснений. Во-первых, это может быть обусловлено разной шкалой оценки реакции. Во-вторых, полученные результаты могут отличаться ввиду особенностей выборки: биологические типы опухоли, морфологические характеристики. Интересно, что в работе B. V. Sinn и соавт. высокая частота положительных случаев наблюдалась преимущественно за счет 2 молекулярных подтипов РМЖ. Авторы указывают, что наиболее часто экспрессия наблюдалась при HR<sup>-</sup>/HER2<sup>-</sup> и HR<sup>-</sup>/HER2<sup>+</sup>-опухолях, а также при низкой дифференцировке (G<sub>3</sub>) [12].

Анализ частоты иммунофенотипов показал следующее. Преобладающим вариантом иммунофенотипа РМЖ был HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>, что составило 43 % ( $n = 35$ ) (рис. 4). В группе HLA-I-негативных опухолей всего в 2,5 % случаев ( $n = 2$ ) имела экспрессия HLA-DR (не мономорфная). Эти данные демонстрируют формирование HLA-негативного пула опухолевых клеток, которые, утрачивая молекулы главного комплекса гистосовместимости, избегают атаки Т-цитотоксических лимфоцитов и таким образом приобретают преимущество в выживании. Такое антигенное упрощение опухоли хорошо изучено и документировано. В данном исследовании процент таких опухолей составляет почти половину выборки.

Иммунофенотип HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> встречался в 35 % случаев ( $n = 28$ ). Отсутствие утраты антигена

HLA-I в 19,5 % случаев сопровождалось экспрессией молекул HLA-DR, что показывает некоторую синхронность в экспрессии антигенов гистосовместимости I и II классов на клетках РМЖ. Необходимо отметить, что в 7 случаях в группе фенотипа HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> отсутствовала мономорфная экспрессия HLA-I опухолевыми клетками, иными словами, часть клеток опухолей уже утрачивает данную детерминанту.

Анализ взаимосвязи экспрессии опухолевыми клетками антигенов HLA-I с экспрессией молекул HLA-DR показал, что снижение экспрессии молекул HLA-I сопровождается потерей экспрессии HLA-II (61,8; 77,8; 94,6 %) (табл. 3). В HLA-I-негативной группе опухолевые клетки в 94,6 % случаев не экспрессируют HLA-II. При сохранной экспрессии (мономорфной реакции) антигенных детерминант HLA-I в 20,6 % случаев молекулы HLA-II выражено экспрессируются на поверхности опухолевых клеток. При этом HLA-II в 17,6 % образцов экспрессируются мозаично. Напротив, в HLA-I-негативной группе мозаичный тип реакции HLA-II отмечается только в 5,4 % наблюдений. Признаки достоверно взаимосвязаны. Корреляционный анализ по Спирмену показал среднюю положительную корреляцию данных признаков: 0,388 ( $p = 0,000$ ).

Таблица 3. Взаимосвязь экспрессии опухолевыми клетками антигенов HLA-I с экспрессией молекул HLA-DR ( $p = 0,004$ )

Table 3. The relationship between the expression of HLA-I antigens by tumor cells and the expression of HLA-DR ( $p = 0.004$ )

Антиген Antigen		HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-DR <sup>-/+</sup>	HLA-DR <sup>+</sup>	Всего Total
HLA-I <sup>-</sup>	$n$	35	2	0	37
	%	94,6	5,4	0,0	100
HLA-I <sup>-/+</sup>	$n$	7	1	1	9
	%	77,8	11,1	11,1	100
HLA-I <sup>+</sup>	$n$	21	6	7	34
	%	61,8	17,6	20,6	100
Всего Total	$n$	63	9	8	80
	%	78,8	11,2	10,0	100

Далее в работе были проанализированы взаимосвязи клинических и морфологических характеристик опухоли с различными видами иммунофенотипа РМЖ. Интересно было сопоставить группу опухолей, утративших экспрессию обеих HLA-детерминант с группой, в которой оба маркера экспрессировались

опухолевыми клетками. При сравнении иммунофенотипов HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> не обнаружено достоверных связей с возрастом, стадией, количеством пораженных лимфатических узлов, гистологическим видом опухоли, степенью дифференцировки. При этом следует отметить, что прослеживалась отчетливая тенденция увеличения встречаемости бинегативного фенотипа при нарастании количества пораженных лимфатических узлов. При стадиях N0, N1, N2 частота фенотипа HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> составляла 33,3; 68,6; 88,9 % соответственно, однако при N3 этот показатель составил 50 %, достоверности не достигнуто. Необходимо отметить, что более ранние работы лаборатории указывают на существование взаимосвязи статуса лимфатических узлов с экспрессией молекул HLA-DR [19].

Не отмечено связи с размером первичной опухоли (Т), однако углубленный анализ в пределах групп со стадиями Т2 и Т4, которые были наиболее многочисленны, позволил установить, что частота иммунофенотипа HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> выше при стадии Т4 (табл. 4). Как видно из таблицы, частота бинегативного иммунофенотипа при стадии Т2 составляла 64,3 %, тогда как при стадии Т4 – 100 % ( $p = 0,042$ ). Фенотип HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> при стадии Т4 не наблюдался ни в одном случае. Иными словами, иммунофенотип HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> при больших размерах опухоли встречается достоверно чаще, чем HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотип. Разумеется, количество случаев при стадии Т4 невелико, и необходимо продолжить накопление материала.

**Таблица 4.** Результаты анализа взаимосвязей фенотипов HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> с размером опухоли (Т) ( $p = 0,042$ )

Table 4. Results of the analysis of the relationship of HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> and HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotypes with tumor size (Т) ( $p = 0.042$ )

Категория Т Category T		HLA-I <sup>-</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>+</sup>	Всего Total
Т2	n	27	15	42
	%	64,3	35,7	100
Т4	n	5	0	5
	%	100	0,0	100
Всего Total	n	32	15	47
	%	68,1	31,9	100

При изучении рецепторного статуса установлено, что при HLA-бинегативном иммунофенотипе опухолевые клетки преимущественно не экспрессировали рецепторы к эстрогену (табл. 5). Как видно из таблицы, 80 % рецептор-отрицательных опухолей имели фенотип HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>, тогда как HLA-I<sup>+</sup>/

HLA-DR<sup>+</sup> – лишь 19,6 %. Признаки достоверно связаны ( $p = 0,022$ ). Можно предположить, что в результате сложных молекулярно-биологических изменений отсутствие экспрессии обеих молекул HLA пептидного комплекса на клетках РМЖ сопровождается отсутствием рецепторов к стероидным гормонам, по типу нелюминального рака, который, как известно, отличается более агрессивным течением, более частым поражением лимфатических узлов, большими размерами опухолевого узла [23]. Действительно, в нашем исследовании мы наблюдали, что именно при увеличении встречаемости HLA-бинегативного фенотипа отмечается нарастание количества пораженных лимфатических узлов. Несмотря на то что достоверной связи N<sup>+</sup>-статуса с фенотипом HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> в нашей работе не выявлено, подтверждением предположения могут служить результаты работы Е.В. Артамоновой, в которой установлено, что при отсутствии молекул HLA-DR на опухолевых клетках метастазы в регионарных лимфатических узлах выявляются достоверно чаще, чем при наличии таковых [19].

**Таблица 5.** Результаты сравнения фенотипов HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> в зависимости от рецепторного статуса опухоли ( $p = 0,022$ )

Table 5. Results of comparison of HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> and HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotypes depending on the receptor status of the tumor ( $p = 0.022$ )

Статус рецепторов Receptors status		HLA-I <sup>-</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>+</sup>	Всего Total
РЭ <sup>-</sup> ER <sup>-</sup>	n	25	6	31
	%	80,6	19,4	100
РЭ <sup>+</sup> ER <sup>+</sup>	n	10	10	20
	%	50,0	50,0	100
Всего Total	n	35	16	51
	%	68,6	31,4	100

**Примечание.** Здесь и в табл. 9: РЭ – рецепторы к эстрогену.  
Note. Here and in table 9: ER – estrogen receptor.

Следующим предметом сравнения стали группы опухолей с отсутствием экспрессии обеих молекул главного комплекса гистосовместимости и отсутствием экспрессии одного из антигенов. Нами выполнен анализ наиболее многочисленной группы с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>-фенотипом. Связи с возрастом, стадией, индексом N, рецепторным статусом опухоли не отмечено.

Оценив частоту обозначенных иммунофенотипов в пределах групп со стадиями Т2 и Т4, мы обнаружили следующую закономерность (табл. 6). При стадии Т2 иммунофенотип HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> встречался в 65,9 % наблюдений, тогда как HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> –

в 34,1 % наблюдений. Ситуация менялась при стадии Т4: преобладал фенотип с отсутствием только молекулы HLA-DR, что составило 72,2 % ( $p = 0,006$ ). Установлена невысокая положительная корреляция (по Спирмену): 0,367 ( $p = 0,003$ ). Интерпретация полученных данных несколько затруднительна. Поскольку, на первый взгляд, при оценке статуса экспрессии антигенных детерминант, опосредующих иммунный ответ, ожидаемо, что опухоли, не экспрессирующие обе детерминанты, возможно, более адаптивны и агрессивны и могут иметь больший размер узла. Как мы видим, это выглядит не совсем так. Возможно, дальнейшие исследования помогут прояснить эти результаты.

**Таблица 6.** Результаты сравнения фенотипов HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> в зависимости от размера опухоли (Т) ( $p = 0,006$ )

Table 6. Results of comparison of HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> and HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> phenotypes depending on tumor size (T) ( $p = 0.006$ )

Категория Т Category T		HLA-I <sup>-</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	Всего Total
Т2	n	27	14	41
	%	65,9	34,1	100
Т4	n	5	13	18
	%	27,8	72,2	100
Всего Total	n	32	27	59
	%	54,2	45,8	100

Достоверных различий между анализируемыми иммунофенотипами в зависимости от гистологического вида опухоли не наблюдалось. Вместе с тем следует отметить, что при протоковой карциноме оба фенотипа встречались почти с равной частотой (51,2 и 48,8 %), а при инфильтративно-дольковом раке фенотип HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> преобладал (69,2 и 30,8 %). Признаки не были достоверно связаны, поэтому любая трактовка, разумеется, должна быть осторожной.

Интересным оказалось сравнение группы HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> с группой, в которой оба антигена экспрессированы. Установлена достоверная взаимосвязь со стадией заболевания, которая заключалась в следующем. Как видно из табл. 7, при более ранней стадии частота фенотипа HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> была меньше, чем при более распространенной стадии РМЖ. Так, при IIA стадии она составляла 33,3 %, тогда как при IIIA – 60,0 %. Иная картина получена в отношении фенотипа HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>, встречаемость которого при IIA стадии составила 66,7 %, при IIIA – 40,0 %. Разумеется, в некоторых группах число случаев невелико, и, несмотря на достоверность, следует продолжить накопление материала.

**Таблица 7.** Результаты сравнения фенотипов HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> в зависимости от стадии заболевания ( $p = 0,01$ )

Table 7. Results of comparison of HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> and HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotypes depending on the stage ( $p = 0.01$ )

Стадия Stage		HLA-I <sup>-</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>+</sup>	Всего Total
IIA	n	1	2	3
	%	33,3	66,7	100
IIB	n	9	9	18
	%	50,0	50,0	100
IIIA	n	3	2	5
	%	60,0	40,0	100
IIIB	n	12	0	12
	%	100	0,0	100
IIIC	n	3	2	5
	%	60,0	40,0	100
Всего Total	n	28	15	43
	%	65,1	34,9	100

Также необходимо отметить, что, как указано выше, при сравнении HLA-бинегативного иммунофенотипа (HLA-I<sup>-</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>) с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> фенотипом выявлена корреляция признака с размером опухоли: при Т4 преобладал фенотип с отсутствием экспрессии только антигена HLA-DR. Это косвенно может подтверждать, что при более распространенных стадиях действительно HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> фенотип наблюдается чаще.

Дальнейшее сравнение анализируемых фенотипов показало, что при стадии Т4 в 100,0 % случаев наблюдается фенотип HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>, при стадии Т2 оба фенотипа встречались одинаково часто (табл. 8).

Анализ рецепторного статуса опухоли выявил, что иммунофенотип с отсутствием экспрессии одного из антигенов (HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>) встречается чаще в группе опухолей, не экспрессирующих рецепторы к эстрогену, в отличие от HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> фенотипа: 80,0 % против 20,0 % ( $p = 0,037$ ) (табл. 9). Эти данные почти полностью повторяют результаты, полученные при сравнении HLA-бинегативных опухолей с группой опухолей, экспрессирующих оба антигена. Не обнаруживалось связи с рецепторами к прогестерону.

Суммируя результаты проведенного в данной работе анализа, следует констатировать, что HLA-иммунофенотип с отсутствием экспрессии обеих молекул главного комплекса гистосовместимости клетками РМЖ в анализируемой выборке является



преобладающим. Данный фенотип доминировал при стадии Т4 в сравнении с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотипом. Вместе с тем следует отметить, что при размерах первичной опухоли более 5 см также наблюдался фенотип HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> (взаимосвязь которого отмечена со стадией), и он встречался чаще, нежели HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотип.

**Таблица 8.** Результаты сравнения фенотипов HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> в зависимости от размера опухоли (Т) ( $p = 0,0001$ )

Table 8. Results of comparison of HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> and HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotypes depending on tumor size (T) ( $p = 0.0001$ )

Категория Т Category T		HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>+</sup>	Всего Total
Т2	n	14	14	28
	%	50,0	50,0	100
Т4	n	13	0	13
	%	100	0,0	100
Всего Total	n	27	14	41
	%	65,9	34,1	100

**Таблица 9.** Результаты сравнения фенотипов HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> и HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> в зависимости от рецепторного статуса опухоли ( $p = 0,037$ )

Table 9. Results of comparison of HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> and HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> phenotypes depending on the receptor status of the tumor ( $p = 0.037$ )

Статус рецепторов Receptors status		HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>-</sup>	HLA-I <sup>+</sup> / HLA-DR <sup>+</sup>	Всего Total
РЭ <sup>-</sup> ER <sup>-</sup>	n	20	5	25
	%	80,0	20,0	100
РЭ <sup>+</sup> ER <sup>+</sup>	n	8	10	18
	%	44,4	55,6	100
Всего Total	n	28	15	43
	%	65,1	34,9	100

Таким образом, значительное число опухолей уже на ранних этапах развития характеризуются отсутствием экспрессии одной или обеих детерминант HLA пептидного комплекса. Роль молекул HLA-DR на раковых клетках во многом сходна с ролью молекул HLA-I с точки зрения опосредования взаимодействия опухоли с иммунной системой. Поэтому вполне ожидаемо, что опухоли с иммунофенотипами HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>, HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup> могут иметь слабую степень лимфоидной инфильтрации, особен-

но активированными Т-клетками. В более ранних работах нашей лаборатории Д.А. Буровым и соавт. детально описано, что именно HLA-DR-негативные опухоли характеризовались сниженным содержанием интратуморальных Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>) [21]. В то же время в группах с HLA-DR-положительным фенотипами установлено, что экспрессия молекул гистосовместимости II класса при РМЖ достоверно коррелирует с увеличением инфильтрации опухоли [19, 24].

Следует обратить внимание, что оба HLA-DR-негативных иммунофенотипа характеризовались частым метастатическим поражением лимфатических узлов и нередко отсутствием экспрессии рецепторов к стероидным гормонам. Известно, что HLA-I, HLA-DR-негативные опухоли имеют более плохой прогноз и ответ на лечение, что обсуждается в работе М.Л. Axelrod и соавт. [25]. Поэтому клиническое значение иммунофенотипа HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup> видится вполне очевидным. Опухолевые клетки с таким фенотипом могут составлять особый клон, резистентный к проводимой терапии, в частности иммунотерапии. Об этом могут свидетельствовать несколько экспериментальных и клинических исследований, в которых обсуждается влияние экспрессии молекул HLA-I и HLA-DR на эффективность анти-PD-1/PD-L1-иммунотерапии; в частности, экспрессия HLA-DR клетками рака может предсказывать высокую вероятность ответа на анти-PD-1/PD-L1-терапию [13–17, 25].

### Заключение

В работе выполнен анализ HLA-иммунофенотипов при РМЖ, изучена их связь с клинко-морфологическими характеристиками опухоли. Согласно результатам исследования, HLA-бинегативный иммунофенотип РМЖ являлся преобладающим. При стадии Т4 он выявлялся чаще в сравнении с HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотипом. Вместе с тем следует отметить, что при размерах первичной опухоли, соответствующих Т4, также наблюдался иммунофенотип HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>-</sup>, взаимосвязь которого отмечена со стадией. Его частота при распространенной стадии была выше, нежели HLA-I<sup>+</sup>/HLA-DR<sup>+</sup>-фенотипа. Оба HLA-DR-негативных иммунофенотипа характеризовались высокой частотой поражения лимфатических узлов, нередко отсутствием экспрессии рецепторов к стероидным гормонам. Полученные данные, по-видимому, могут указывать на то, что опухоли с подобным иммунофенотипом обладают высоким злокачественным потенциалом, что, безусловно, крайне важно принимать во внимание при планировании лекарственного лечения, и особенно иммунотерапии.

## Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

- Global cancer statistics. IARC, 2020. Available at: <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/cancers/20-Breast-fact-sheet.pdf>
- Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71(3):209–49. DOI: 10.3322/caac.21660
- McCormack V., McKenzie F., Foerster M. et al. Breast cancer survival and survival gap apportionment in sub-Saharan Africa (ABC-DO): a prospective cohort study. *Lancet Glob Health* 2020;8(9):e1203–12. DOI: 10.1016/S2214-109X(20)30261-8
- Sabbatino F., Liguori L., Polcaro G. et al. Role of human leukocyte antigen system as a predictive biomarker for checkpoint-based immunotherapy in cancer patients. *Int J Mol Sci* 2020;21(19):7295. DOI: 10.3390/ijms21197295
- Shukla A., Cloutier M., Santharam A.M. et al. The MHC class-I transactivator NLRC5: implications to cancer immunology and potential applications to cancer immunotherapy. *Int J Mol Sci* 2021;22(4):1964. DOI: 10.3390/ijms22041964
- Trowsdale J., Knight J.C. Major histocompatibility complex genomics and human disease. *Annu Rev Genom Hum Genet* 2013;14:301–23. DOI: 10.1146/annurev-genom-091212-153455
- Blum J.S., Wearsch P.A., Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annu Rev Immunol* 2013;31:443–73. DOI: 10.1146/annurev-immunol-032712-095910
- Cabrera T., Maleno I., Collado A. et al. Analysis of HLA class I alterations in tumors: choosing a strategy based on known patterns of underlying molecular mechanisms. *Tissue Antigens* 2007;69(Suppl S1):264–8. DOI: 10.1111/j.1399-0039.2006.00777.x
- Cai L., Michelakos T., Yamada T. et al. Defective HLA class I antigen processing machinery in cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2018;67(6):999–1009. DOI: 10.1007/s00262-018-2131-2
- Garrido F., Algarra I. MHC antigens and tumor escape from immune surveillance. *Adv Cancer Res* 2001;83:117–58. DOI: 10.1016/S0065-230X(01)83005-0
- Pedersen M.H., Hood B.L., Beck H.C. et al. Downregulation of antigen presentation-associated pathway proteins is linked to poor outcome in triple-negative breast cancer patient tumors. *Oncoimmunology* 2017;6(5):e1305531. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1305531
- Sinn B.V., Weber K.E., Schmitt W.D. et al. Human leucocyte antigen class I in hormone receptor-positive, HER2-negative breast cancer: association with response and survival after neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2019;21(1):142. DOI: 10.1186/s13058-019-1231-z
- Webb E.S., Liu P., Baleeiro R. et al. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy. *J Biomed Res* 2018;32(5):317–26. DOI: 10.7555/JBR.31.20160168
- Kametani Y., Ohno Y., Ohshima S. et al. Humanized mice as an effective evaluation system for peptide vaccines and immune checkpoint inhibitors. *Int J Mol Sci* 2019;20(24):6337. DOI: 10.3390/ijms20246337
- Ashizawa T., Iizuka A., Nonomura C. et al. Antitumor effect of programmed death-1 (PD-1) blockade in humanized the NOG-MHC double knockout mouse. *Clin Cancer Res* 2017;23(1):149–58. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0122
- Gettinger S., Choi J., Hastings K. et al. Impaired HLA class I antigen processing and presentation as a mechanism of acquired resistance to immune checkpoint inhibitors in lung cancer. *Cancer Discov* 2017;7(12):1420–35. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-17-0593
- Rodig S.J., Gusenleitner D., Jackson D.G. et al. MHC proteins confer differential sensitivity to CTLA-4 and PD-1 blockade in untreated metastatic melanoma. *Sci Transl Med* 2018;10(450):eaar3342. DOI: 10.1126/scitranslmed.aar3342
- Енгай Д.А., Поддубная И.В., Тупицын Н.Н., Мечетнер Е.Б. Клинико-иммунологическое значение экспрессии MDR1/PGP 170 при раке молочной железы. *Опухоли репродуктивной системы* 2008;3:41–3. Yengay D.A., Poddubnaya I.V., Tupitsyn N.N., Mechetner E.B. Clinical and immunological significance of MDR1/PGP 170 in breast cancer. *Opukholi zhenskoy reproduktivnoy sistemy = Tumors of female reproductive system* 2008;3:41–3. (In Russ.).
- Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования опухолевых клеток в диагностике и прогнозе рака молочной железы. *Иммунология гемопоэза* 2009;6(1):8–52. Artamonova E.V. The role of tumor cell immunophenotyping in the diagnosis and prognosis of breast cancer. *Immunologiya gemopoza = Immunology of hematopoiesis* 2009;6(1):8–52. (In Russ.).
- Субботина А.В., Лetyagin В.П., Тупицын Н.Н. и др. Роль иммунофенотипирования рака молочной железы в процессе неoadъювантной химиотерапии. *Иммунология гемопоэза* 2009;6(1):52–79. Subbotina A.V., Letyagin V.P., Tupitsyn N.N. et al. The role of breast cancer immunophenotyping in the process of neoadjuvant chemotherapy. *Immunologiya gemopoza = Immunology of hematopoiesis* 2009;6(1):52–79. (In Russ.).
- Буров Д.А., Безнос О.А., Воротников И.К. и др. Клиническое значение экспрессии молекул гистосовместимости на клетках рака молочной железы. *Иммунология гемопоэза* 2016;14(2):33–53. Burov D.A., Beznos O.A., Vorotnikov I.K. et al. Clinical significance of histocompatibility molecules expression in breast cancer cells. *Immunologiya gemopoza = Immunology of hematopoiesis* 2016;14(2):33–53. (In Russ.).
- Рябчиков Д.А., Безнос О.А., Дудина И.А. и др. Диссеминированные опухолевые клетки у пациентов с люминальным раком молочной железы. *Российский биотерапевтический журнал* 2018;17(1):53–7. DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57 Ryabchikov D.A., Beznos O.A., Dudina I.A. et al. Disseminated tumor cells in patients with luminal breast cancer. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2018;17(1):53–7. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-1-53-57
- Cardoso F., Spence D., Mertz S. et al. Global analysis of advanced/metastatic breast cancer: decade report (2005–2015). *Breast* 2018;39:131–8. DOI: 10.1016/j.breast.2018.03.002
- Park I.A., Hwang S.-H., Song I.H. et al. Expression of the MHC class II in triple-negative breast cancer is associated with tumor-infiltrating lymphocytes and interferon signaling. *PLoS One* 2017;12(8):e0182786. DOI: 10.1371/journal.pone.0182786
- Axelrod M.L., Cook R.S., Johnson D.B., Balko J.M. Biological consequences of MHC-II expression by tumor cells in cancer. *Clin Cancer Res* 2019;25(8):2392–402. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-3200

**Вклад авторов**

С.В. Чулкова: анализ данных, написание текста рукописи, перевод на английский язык, перевод англоязычных научных источников, оформление рукописи;

Е.Н. Шолохова: получение и анализ данных;

И.В. Поддубная, И.С. Стилиди: анализ рукописи;

Н.Н. Тупицын: разработка дизайна исследования, анализ данных, анализ рукописи.

**Authors' contributions**

S.V. Chulkova: data analysis, manuscript writing, translation into English, translation of English-language scientific sources, design of the manuscript;

E.N. Sholokhova: data acquisition and analysis;

I.V. Poddubnaya, I.S. Stilidi: analysis of the manuscript;

N.N. Tupitsyn: research design, data analysis, manuscript analysis.

**ORCID авторов / ORCID of authors**

С.В. Чулкова / S.V. Chulkova: <https://orcid.org/0000-0003-4412-5019>

Е.Н. Шолохова / E.N. Sholokhova: <https://orcid.org/0000-0002-1456-1904>

И.В. Поддубная / I.V. Poddubnaya: <https://orcid.org/0000-0002-0995-1801>

И.С. Стилиди / I.S. Stilidi: <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>

Н.Н. Тупицын / <https://orcid.org/0000-0003-3966-128X>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Funding.** The study was performed without external funding.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** All the patients signed informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 29.03.2022. Принята к публикации: 16.05.2022.

Article submitted: 29.03.2022. Accepted for publication: 16.05.2022.