

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-1-19-27>

Биомаркеры опухолевого микроокружения при раке молочной железы

П.М. Соколов¹, А.В. Караулов², А.В. Суханова³, И.Р. Набиев^{2,3}

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский ядерный университет «МИФИ»; Россия, 115409 Москва, Каширское шоссе, 31;

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет); Россия, 119992 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2;

³Университет Реймса Шампань-Арденн; Франция, 51100 Реймс, ул. Когнак Жэ, 51

Контакты: Игорь Руфаилович Набиев igor.nabiev@gmail.com

Рак молочной железы является наиболее частой нозологией в структуре женской онкологической заболеваемости. Опухолевая структура при раке молочной железы характеризуется не только морфологической гетерогенностью опухолевых клеток, но и высокой степенью гетерогенности опухолевого микроокружения, включающего клетки иммунной системы, элементы клеточного матрикса и другие компоненты, которые могут оказывать проонкогенное и противоонкогенное действие. Таким образом, применение персонализированных подходов для выбора наиболее эффективных протоколов терапии рака молочной железы невозможно без комплексного исследования целевых онкомаркеров и биомаркеров клеточного микроокружения.

Цель работы – систематизировать данные о биомаркерах опухолевого микроокружения и провести оценку прогностической ценности исследования биомаркеров опухолевого микроокружения при раке молочной железы. Биомаркеры опухолевого микроокружения являются важным прогностическим фактором. Молекулярно-генетический анализ профиля таких биомаркеров, а также иммуногистохимические исследования взаимного расположения клеток опухоли и опухолевого микроокружения могут использоваться для высокоточной онкодиагностики и для подбора эффективной персонализированной терапии при раке молочной железы. Необходимость такого широкого комплексного исследования определяется пластичностью клеток микроокружения опухоли, которые могут как поддерживать опухолевый рост, блокировать иммунный ответ и обеспечивать резистентность к лекарственным препаратам, так и проявлять противоопухолевую активность.

В настоящем обзоре проанализированы ключевые элементы микроокружения опухоли, встречающиеся при раке молочной железы, примеры взаимодействия опухолевых клеток с микроокружением, данные прогностической и диагностической ценности биомаркеров микроокружения опухоли. Показано, что микроокружение опухоли влияет на образование лекарственной устойчивости и эффективность различных методов терапии рака молочной железы.

Ключевые слова: рак молочной железы, микроокружение опухоли, биомаркеры, детекция

Для цитирования: Соколов П.М., Караулов А.В., Суханова А.В., Набиев И.Р. Биомаркеры опухолевого микроокружения при раке молочной железы. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(1):19–27. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-1-19-27

Tumor microenvironment biomarkers in breast cancer

Pavel M. Sokolov¹, Alexander V. Karaulov², Alyona V. Sukhanova³, Igor R. Nabiev^{2,3}

¹National Research Nuclear University MEPhI (Moscow Engineering Physics Institute); 31 Kashirskoe Shosse, 115409 Moscow, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); Bld. 2, 8 Trubetskaya St., 119146 Moscow, Russia;

³Université de Reims Champagne-Ardenne; 51 rue Cognacq Jay, 51100 Reims, France

Contact: Igor Rufailovich Nabiev igor.nabiev@gmail.com

Breast cancer is the most common malignant tumor in women. The tumor structure in breast cancer is characterized not only by morphological heterogeneity of tumor cells, but also by a high degree of heterogeneity of tumor

microenvironment, which contains immune cells, cell matrix elements, and other components that may have procarcinogenic or anticarcinogenic effects. Therefore, personalized approaches to selecting the most effective breast cancer treatment protocols cannot be used without comprehensive analysis of the target cancer markers and cellular microenvironment biomarkers.

This review is aimed at systematizing the data on tumor microenvironment biomarkers and evaluating the prognostic value of the analysis of tumor microenvironment biomarkers in breast cancer.

Biomarkers of the tumor microenvironment are important prognostic factors. Molecular genetic analysis of the profile of these biomarkers, as well as immunohistochemical studies of the mutual arrangement of tumor cells and tumor microenvironment can be used for high-accuracy cancer diagnosis and for the selection of effective personalized therapy in breast cancer. This comprehensive research is necessary because of the plasticity of tumor microenvironment cells, which can either support tumor growth, block immune response, and provide resistance to drugs, or exhibit antitumor activity.

The key elements of the tumor microenvironment in breast cancer have been analyzed, and examples of interaction between tumor cells and the microenvironment, as well as data on the prognostic and diagnostic values of tumor microenvironment biomarkers, have been summarized. The tumor microenvironment has been shown to affect the formation of drug resistance and the efficiencies of various breast cancer therapies.

Keywords: breast cancer, tumor microenvironment, biomarkers, detection

For citation: Sokolov P.M., Karaulov A.V., Sukhanova A.V., Nabiev I.R. Tumor microenvironment biomarkers in breast cancer. Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy 2023;22(1):19–27. (In Russ.). DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-1-19-27

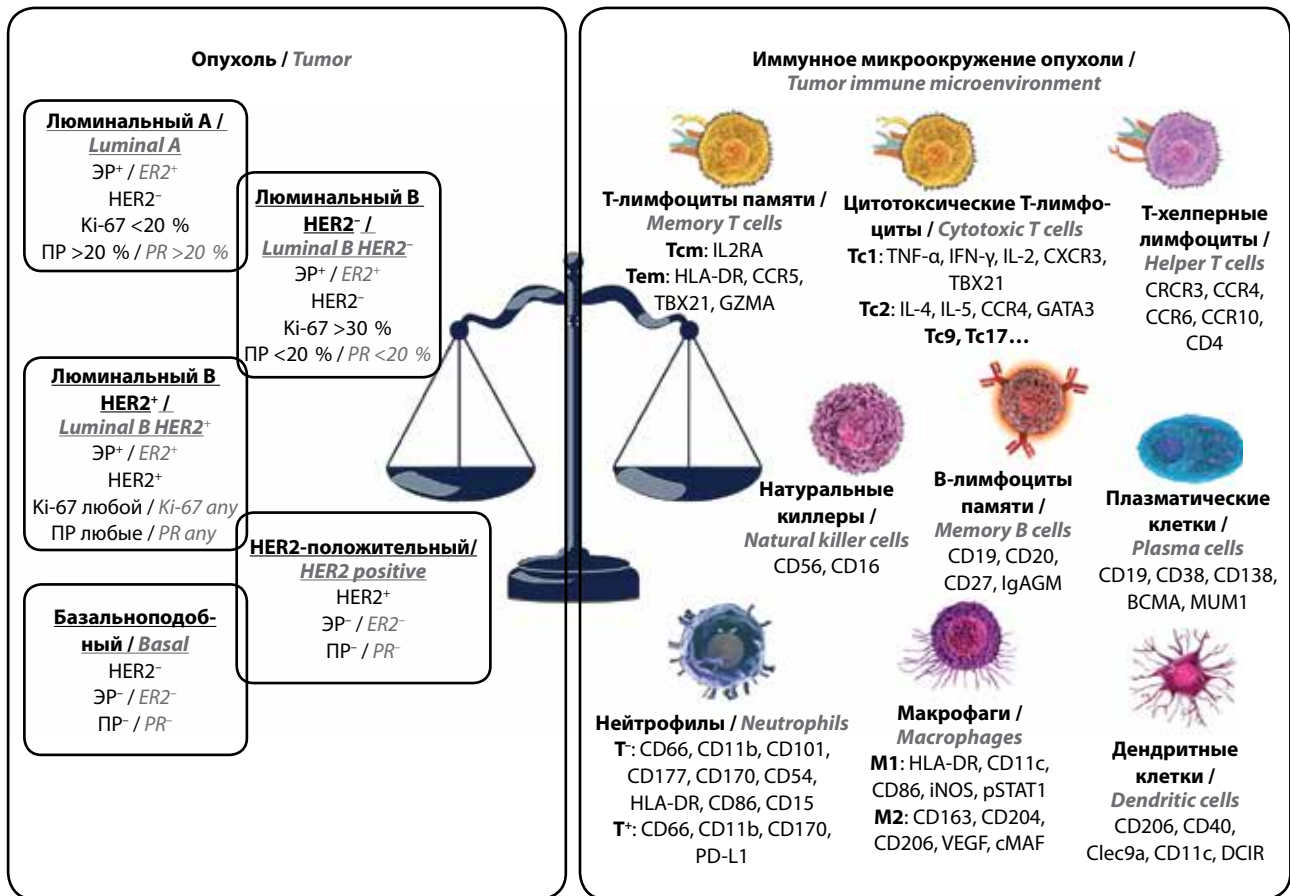
Введение

Рак молочной железы (РМЖ) — самое часто диагностируемое онкологическое заболевание в женской популяции как в России, так и во всем мире [1]. Важным условием снижения инвалидизации и смертности от РМЖ является его ранняя высокоточная диагностика, а также выбор эффективной стратегии персонализированной терапии. Согласно клиническим рекомендациям Минздрава России, диагностика РМЖ включает гистологическое и иммуногистохимическое исследование биопсийного и/или операционного материала с указанием гистологического варианта, степени дифференцировки, опухолевых специфических биомаркеров — HER2, Ki-67, эстрогенового (ЭР) и прогестеронового рецепторов (ПР) [2]. Известно, что опухоли молочной железы гетерогенны по своей структуре, что обуславливает возможность приобретения устойчивости к различным видам терапии, а также их метастатический потенциал [3–5]. Рост опухоли определяется активным взаимодействием опухолевых клеток с иммунной системой пациента. Так, опухолевое микроокружение содержит регуляторные, цитотоксические и хелперные Т-лимфоциты [6], В-лимфоциты [7], макрофаги [8], нейтрофилы [9] и дендритные клетки [10] (см. рисунок), которые могут взаимодействовать с клетками опухоли с помощью сигнальных молекул (цитокины, интерлейкины (IL), факторы роста) и ферментов (оксидазы, протеиназы и др.). Гетерогенность микроокружения опухоли также выражается в локальных изменениях pH, уровня кислорода, градиентов концентрации питательных веществ. Таким образом, иммунная система пациента играет важную роль как

в сдерживании канцерогенеза, так и в его прогрессии. Анализ данных литературы показывает, что все больше внимания уделяется детальной характеристике опухолевого микроокружения с целью найти новые мишени для терапии и разработать высокоспецифические методы лечения, снизить устойчивость опухоли к традиционным методам лечения, что должно обеспечить увеличение периода ремиссии и улучшить показатели долгосрочной выживаемости [11]. Кроме того, дополнительное исследование биомаркеров компонентов микроокружения опухоли в сыворотке крови пациентов поможет детализировать клиническую картину развития РМЖ [12], а также уточнять вероятные эффективные пути лечения [13].

Биомаркеры иммунного микроокружения опухоли и прогноз рака молочной железы

Макрофаги и дендритные клетки (ДК) образуются в процессе дифференцировки моноцитов и являются компонентами врожденной иммунной системы. При этом популяция макрофагов, инфильтрирующих опухоль, очень гетерогенна, так как фенотип и функции макрофагов могут меняться в зависимости от микроокружения. Макрофаги фенотипа M1, положительные по таким маркерам, как HLA-DR, CD11c, CD86, iNOS и pSTAT1, поддерживают развитие воспаления и являются провоспалительными, а макрофаги фенотипа M2, положительные по CD163, CD204, CD206, VEGF и cMAF, наоборот, оказывают противовоспалительный эффект [14]. А. Bobrie и соавт. при исследовании образцов опухолей неметастатического трижды негативного РМЖ от 285 пациентов



Биомаркеры рака молочной железы и компонентов иммунного микроокружения опухоли. ЭР — эстрогеновые рецепторы; ПР — прогестероновые рецепторы

Biomarkers of breast cancer and components of tumor immune microenvironment. ER — estrogen receptor; PR — progesterone receptor

выявили 4 патогномичных маркера макрофагов — CD68, IRF8, CD163 и CD206 [15]. Полученные результаты показали, что РМЖ у пациентов, имеющих CD206⁺-фенотип макрофагов, отличается более благоприятным прогнозом. Другими авторами было продемонстрировано, что дифференциация в M2-макрофаги может коррелировать с повышенным ангиогенезом и агрессивностью опухоли [16].

Дендритные клетки распознают и представляют опухолевые антигены в составе главного комплекса гистосовместимости и далее активируют Т-лимфоциты, являясь связующим звеном между врожденным и адаптивным иммунитетом. При этом в зависимости от типа, степени созревания ДК могут как усиливать эффекторный ответ Т-лимфоцитов, так и снижать его, обуславливая прогрессию опухоли [17]. J. Szpor и соавт. исследовали популяции ДК с определением маркеров CD1a, CD83, CD123, CD208 и CD209 при различных типах РМЖ [10]. Проведенные исследования показали, что ДК с фенотипом CD1a⁺ обнаруживались преимущественно внутри области опухолевого роста, в то время как положительные

по другим исследованным маркерам ДК обычно локализовались на краю опухолевого роста. Кроме того, ДК CD123⁺ преимущественно встречаются в более агрессивных опухолях молочной железы с плохим прогнозом, а также всего в 15 % случаев базального подтипа РМЖ, который также характеризуется высокой агрессивностью, устойчивостью к терапии и плохим прогнозом. ДК CD83⁺ чаще присутствуют в опухолях люминальных подтипов, а выживаемость пациентов с метастазами в лимфатические узлы коррелирует с уровнем экспрессии CD83⁺. ДК CD208⁺ чаще встречаются в ЭР- и ПР-отрицательных опухолях, а также в опухолях с высоким уровнем Ki-67 и HER2, что обычно характеризует более агрессивные формы РМЖ с повышенной устойчивостью к терапии.

Цитотоксические, хелперные и Т-лимфоциты памяти, В-лимфоциты памяти, плазматические клетки, натуральные киллеры (НК) и другие потомки лимфоидных прогениторных клеток составляют адаптивную иммунную систему. Наличие в микроокружении опухоли цитотоксических Т-лимфоцитов CD8⁺

коррелирует с лучшим клиническим исходом и более длительным периодом ремиссии пациентов. При этом Т-хелперы (CD4⁺-Т-лимфоциты) являются 2-м по распространенности типом Т-лимфоцитов в опухоли [18]. Показано, что опухоли, содержащие большее количество CD4⁺- и CD8⁺-Т-лимфоцитов, лучше отвечают на иммунотерапию, чем опухоли с их низким содержанием [19]. R. Saragica и соавт. проанализировали результаты 7 клинических исследований, которые включали данные более 3 тыс. пациентов с неинвазивным РМЖ, и пришли к выводу, что высокое содержание лимфоцитов, инфильтрующих опухоль, связано с большей вероятностью рецидива и более агрессивными формами РМЖ [20]. Т-лимфоциты памяти являются субпопуляцией CD8⁺-Т-лимфоцитов, а также положительны по CD103, CD69 и PD1 [21]. P. Savas и соавт. методом профилирования экспрессии на единичных клетках установили, что Т-лимфоциты памяти отличаются высокими уровнями экспрессии молекул иммунных контрольных точек, включая PD-1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3, а также эффекторных белков, включая гранзим В и перфорин. При этом их присутствие в опухолевом микроокружении коррелирует с лучшей выживаемостью пациентов с базальноподобным подтипом РМЖ [22]. Эта особенность делает их одними из ключевых мишеней при модуляции и ингибировании контрольных точек иммунного ответа. Также экспрессия эффекторных цитотоксических белков объединяет их еще с одним типом клеток опухолевого микроокружения — НК. Известно, что НК микроокружения опухоли при РМЖ характеризуются высоким уровнем экспрессии молекулы адгезии CD56, рецептора CD16, а также отсутствием экспрессии CD3 [23]. Показано, что НК могут вызывать активацию клеточных рецепторов смерти, таких как Fas-лиганд и TRAIL (апоптоиндуцирующий лиганд, связанный с фактором некроза опухолей (TNF)), что приводит к классическому апоптозу опухолевых клеток. Кроме того, различные популяции НК могут оказывать иммунорегуляторный эффект, например путем продукции цитокинов, таких как интерферон γ (IFN- γ) и TNF- α [24]. S. Nersesian и соавт. провели анализ результатов 8 клинических исследований с данными 1631 пациента и установили, что НК, инфильтрующие опухоли, чаще ассоциированы с лучшей выживаемостью пациентов, хотя и с высоким разбросом полученных данных, что объясняется высокой гетерогенностью РМЖ [25]. Плазматические клетки, положительные по таким маркерам, как CD38 и CD138, играют важную роль в презентировании антигенов и гуморальном иммунитете, а также могут оказывать цитотоксический эффект как через продукцию цитокинов IL-12 и IFN- γ [26], так и через выработку опухольспецифических IgG, проявляющих противоопухолевую ак-

тивность [27]. A. Sakaguchi и соавт., проанализировав образцы биоптатов 146 пациентов, получавших неоадьювантную химиотерапию, показали, что у пациентов с высоким содержанием плазматических клеток до химиотерапии в результате терапии наблюдался лучший ответ, а также отмечалось повышенное содержание В-лимфоцитов. Кроме того, эта закономерность прослеживалась даже в случае с базальноподобным подтипом РМЖ [28].

Традиционно для выбора терапии и определения прогноза РМЖ применяется исследование образцов опухолевой ткани методами иммуногистохимии с детекцией таких целевых онкомаркеров, как HER2, ЭР, ПР и Ki-67, что позволяет выделить 5 молекулярно-биологических подтипов: тройной негативный, люминальный А, люминальный В HER2⁻, люминальный В HER2⁺ и нелюминальный (HER2⁺). Каждый из этих подтипов отличается своим прогнозом и рекомендуемыми методами лечения. Так, трижды негативный подтип характеризуется агрессивным клиническим течением и низкими показателями ремиссии и выживаемости. РМЖ данного подтипа не поддается эндокринной и HER2-направленной терапии, но он чаще других подтипов характеризуется более высоким уровнем экспрессии PD-L1, что дает надежду на разработку эффективной иммунотерапии, нацеленной на PD-L1 [29]. Подтип люминальный А имеет хороший прогноз по выживаемости, а срок ремиссии составляет более 10 лет [30]. Опухоли данного подтипа в большинстве случаев хорошо поддаются эндокринной терапии и в некоторых случаях химиотерапии. Подтип люминальный В характеризуется худшим прогнозом по сравнению с люминальным А, он менее восприимчив к эндокринной терапии, но при этом лучше поддается химиотерапии, а срок ремиссии составляет менее 10 лет [31]. HER2⁺-подтип имеет прогноз хуже, чем люминальные А и В, но несколько лучше, чем базальный подтип, а срок ремиссии составляет менее 10 лет. Этот подтип поддается HER2-направленной терапии и химиотерапии с антрациклинами [32]. Тем не менее вышеизложенные данные литературы показывают, что для полного понимания прогноза РМЖ и выбора персонализированной стратегии лечения существенное значение приобретают дополнительные исследования микроокружения опухоли. Анализ пула клеток, инфильтрующих опухоль, их соотношения и степени дифференциации, а также детекция профилей биомаркеров микроокружения опухолевых клеток могут оказать значительное влияние на оценку прогноза заболевания и выбор подходящей линии терапии (см. таблицу). Проведение таких дополнительных исследований позволит более эффективно диагностировать, разрабатывать новые и выбирать эффективные подходы к терапии РМЖ, включая иммунотерапию.

Биомаркеры иммунного микроокружения опухоли

Biomarkers of tumor immune microenvironment

Тип клеток Cell type	Маркер/группа маркеров Marker/group of markers	Прогноз Prognosis	Ссылка Reference
Макрофаги Macrophages	M1 – HLA-DR, CD11c, CD86, iNOS, pSTAT1	У пациентов с тройным негативным подтипом увеличенное число макрофагов M1 коррелирует с лучшим прогнозом M1 is correlated with a better prognosis in triple-negative patients	[14]
	M2 – CD163, CD206	Благоприятный в случае тройного негативного подтипа Good in triple-negative patients	[15]
	M2 – CD206	Неблагоприятный: корреляция с повышенным уровнем ангиогенеза и агрессивностью опухоли в нелюминальных подгруппах Poor: the markers are correlated with enhanced angiogenesis and aggressive tumor behavior in nonluminal subgroups	[16]
Дендритные клетки Dendritic cells	CD83	Корреляция с более длительным безрецидивным прогнозом и лучшим показателем выживаемости The marker is correlated with a longer relapse-free period and a higher survival rate	[10]
	CD123	Преимущественно встречается в более агрессивных опухолях с неблагоприятным прогнозом The marker is predominantly found in more aggressive tumors with a poor prognosis	
	CD208	Характерно для агрессивных форм с повышенной устойчивостью к терапии тамоксифеном The marker is characteristic of aggressive tumors with an increased resistance to tamoxifen	
Цитотоксические Т-лимфоциты Cytotoxic T cells	CD8	Корреляция с лучшим клиническим прогнозом и более длительным периодом ремиссии пациентов The marker is correlated with a better prognosis and a longer relapse	[19]
Хелперные Т-лимфоциты Helper T cells	CD4	Если также присутствуют CD8 ⁺ -Т-лимфоциты, то опухоль лучше отвечает на иммунотерапию If there are also CD8 ⁺ T cells, the tumor responds better to immunotherapy	
Т-лимфоциты памяти Memory T cells	PD-1, CTLA4, TIM3, TIGIT, LAG3	Корреляция с лучшим показателем выживаемости пациентов с тройным негативным подтипом The markers are correlated with a higher survival rate of triple-negative patients	[22]
Натуральные киллеры Natural killer cells	CD56, CD16	Корреляция с лучшим показателем выживаемости пациентов The markers are correlated with a higher survival rate	[25]
Плазматические клетки Plasma cells	CD38, CD138	Корреляция с лучшим ответом на химиотерапию The markers are correlated with a better response to chemotherapy	[28]
Нейтрофилы Neutrophils	CD66, CD11b, CD170, PDL1	Большая вероятность метастазирования A high probability of metastasizing	[33]

Оценка микроокружения опухоли для анализа роста, метастазирования и формирования устойчивости к терапии

Многие исследователи сравнивают опухоль и ее микроокружение с отдельным органом, содержащим

собственную кровеносную, лимфатическую и нервную системы, собственные иммунные клетки и внеклеточный матрикс, что в совокупности с факторами роста, гормонами и другими молекулярными компонентами обеспечивает опухолевый рост и уклонение

от терапии. Микроокружение опухоли секретирует везикулярные структуры (экзосомы), регуляторные РНК, которые меняют комплексные свойства опухолевых тканей. Аномальные условия гипоксии, нетипичные для организма концентрации различных компонентов, метаболические нарушения — все это влияет на эффективность той или иной линии терапии и часто для эффективной терапии недостаточно воздействовать только на раковые клетки, а необходим комплексный подход, затрагивающий изменение сигнальных путей, моделирование иммунного ответа и многие другие естественные защитные факторы организма [34]. На сегодняшний день известны механизмы, с помощью которых опухоль может приобретать множественную лекарственную устойчивость, например путем экспрессии аденозинтрифосфат-связывающих кассет, активации онкогенов, дерегуляции генов-супрессоров опухоли и т. д. Раковые клетки, которые подвергались воздействию лекарств, приобретают фенотип, который обеспечивает им устойчивость к последующей терапии, а стромальная ткань микроокружения опухоли обеспечивает им защиту от терапии, переводя их в состояние, подобное стволовым клеткам [35, 36].

Ангиогенезу в опухоли способствуют как раковые, так и эндотелиальные клетки. Кровеносная и лимфатическая системы вовлечены в раннее метастазирование. Так, эндотелиальный фактор роста сосудов VEGF-A вызывает пролиферацию сосудистых эндотелиальных клеток, а VEGF-C, VEGF-D и рецептор VEGFR3 усиливают пролиферацию лимфатических эндотелиальных клеток, что помогает питать растущую опухоль. Гипоксия, которая может наблюдаться в различных местах опухоли, запускает процесс локального роста концентрации VEGF, а последующая активация рецептора VEGFR2 на эндотелиальных клетках вызывает продукцию факторов 1 и 2, индуцируемых гипоксией, что в конечном итоге приводит к пролиферации, росту и созреванию эндотелиальных клеток [37]. Это, в свою очередь, приводит к появлению устойчивости опухоли к провоспалительной стимуляции, например к $\text{IFN-}\gamma$, IL-1 и $\text{TNF-}\alpha$. Кроме того, стромальные клетки могут усиливать экспрессию ингибиторов рецепторов Т-лимфоцитов, включая PD-L1, PD-L2, а также повышать концентрацию ингибирующих молекул, таких как IL-6 , IL-10 и $\text{TNF-}\alpha$ [38], тем самым поддерживая постоянное воспаление в опухолевом микроокружении.

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) в ответ на воспаление начинают перемещаться к месту повреждения, чтобы либо дифференцироваться в поврежденные клетки, либо секретировать различные трофические факторы, необходимые для активации местных специфических стволовых клеток, что обуславливает их присутствие в опухолевом микроокру-

жении [39]. МСК продуцируют EGF, IL-6 , IL-8 , хемокины, которые индуцируют пролиферацию клеток, а также ингибируют пролиферацию CD4^{+} - и CD8^{+} -Т-лимфоцитов. Кроме того, МСК также способствуют образованию новых сосудов, продуцируя ангиогенные факторы или дифференцируясь в эндотелиальные клетки [40]. D. Aldinucci и соавт. показали, что МСК вовлечены в синтез воспалительного хемокина CCL5, который отвечает за потенциал метастазирования при РМЖ [41].

Опухольассоциированные фибробласты могут индуцировать эпителиально-мезенхимальный переход, что меняет клеточный цитоскелет, активность киназ и снижает эффективность иммунного ответа, что, в свою очередь, позволяет опухолевым клеткам мигрировать и индуцирует образование плюрипотентных опухолевых клеток [42]. Также опухольассоциированные фибробласты вызывают репрограммирование макрофагов в фенотип M2, что в конечном итоге вызывает дополнительную блокировку пролиферации Т-лимфоцитов [43].

Большинство опухолевых клеток образуются из опухолевых стволовых клеток (ОСК), которые обладают поверхностными маркерами, сходными с таковыми на поверхности стволовых клеток. B.-B.S. Zhou и соавт. показали, что при подсадке мышам с иммунодефицитом только ОСК приводят к росту родительских раковых клеток [44]. Так как ОСК обладают пластичностью и иммуномодулирующими свойствами, они способны уклоняться от иммунной терапии и, следовательно, являются наиболее злокачественными опухолевыми клетками [45]. В процессе клеточного слияния ОСК с фибробластами, макрофагами и МСК образуются аберрантные клетки, обладающие свойствами стволовых клеток, что тесно коррелирует с инициацией опухолевого роста и метастатическим потенциалом [46]. Опухолевые стволовые клетки способствуют высокой неоднородности опухоли и обладают сложным и изменчивым профилем биомаркеров, что способствует устойчивости опухолей к радио-, химио- и иммунотерапии.

Клетки иммунной системы, инфильтрующие опухоль, оказывают двойной эффект: с одной стороны, макрофаги в состоянии M2, Т-хелперы и Т-регуляторные клетки поддерживают рост опухоли, а с другой — НК, антигенпрезентирующие клетки, Т-лимфоциты и макрофаги в состоянии M1 защищают организм от опухолевого роста. Связанные с опухолью макрофаги происходят из воспалительных моноцитов, классифицируются как провоспалительные макрофаги (M1) и обладают противораковой активностью за счет продукции IL-1 и $\text{TNF-}\alpha$, а противовоспалительные макрофаги (M2) поддерживают рост опухоли за счет выработки иммуносупрессивных цитокинов, таких как IL-10 [47]. Связанные с опухолью

нейтрофилы также представлены 2 подтипами. Нейтрофилы подтипа N1 обладают противоопухолевой активностью, а N2, наоборот, поддерживают ее рост. Трансформирующий фактор роста β (TGF- β), который активно экспрессируется в опухоли, индуцирует переход нейтрофилов в состояние N2, которые, в свою очередь, продуцируют мутагенные факторы — активные формы кислорода и монооксид азота, а также ингибируют пролиферацию Т-лимфоцитов, изменяя активность PD-1/PD-L1-сигнального пути [33, 48]. Т-лимфоциты борются с опухолевым ростом благодаря своей литической активности и IFN- γ -зависимой остановке клеточного цикла. После лизиса клеточные компоненты фагоцитируются и экспрессируются на поверхности антигенпрезентирующих клеток, и лимфоциты приобретают противоопухолевую активность. При этом из-за присутствия IL-6 и факторов стимуляции колоний гранулоцитов антигенпрезентирующие клетки опухолевого микроокружения лишены костимулирующего рецептора B7 и не могут стимулировать цитотоксичность Т-лимфоцитов [49]. НК разрушают раковые клетки, однако их активность ингибируется компонентами микроокружения опухоли, такими как TGF- β , противовоспалительными цитокинами и хемокинами [50]. В-лимфоциты не инфильтруют опухоль, а находятся только в окружающих тканях, и, как правило, их активность направлена против опухоли, однако В-лимфоциты, которые продуцируют IL-10, наоборот, усиливают метастазирование при РМЖ [51]. ДК по своей сути тоже являются антигенпрезентирующими клетками, однако их противоопухолевая активность также сильно снижается из-за того, что опухоль продуцирует большое количество PD-L1 [52].

Внеклеточный матрикс, который состоит из коллагена, протеогликанов, гиалуроновой кислоты и ламелинов, также является значительной частью микроокружения опухоли. Кроме функции поддержания клеток он определяет особенности адгезии и миграции клеток, а также участвует в формировании градиентов концентрации различных растворимых сигнальных молекул, поддерживающих со-

стояние локального воспаления. Таким образом, фенотипирование белковых биомаркеров внеклеточного матрикса может быть использовано для оценки эффективности противоопухолевой иммунотерапии [53]. Многопараметрический анализ содержания экзосом, которые образуются как опухолевыми, так и стромальными клетками и могут в значительной степени влиять на процесс развития опухоли, устойчивости к иммунному ответу и терапии, также может иметь дополнительное клиническое значение в оценке развития опухолевого роста [54].

Заключение

В последние годы особенно важным становится персонализированный подход к выбору эффективной стратегии терапии онкологических заболеваний, в частности РМЖ. При этом успешное использование современных химиотерапевтических и иммунотерапевтических средств определяется возможностью детальной характеристики опухолевой ткани, включающей определение молекулярных подтипов опухоли в совокупности с комплексным фенотипированием опухолевого микроокружения. Прежде всего это связано с высокой гетерогенностью микроокружения опухолей, что может обуславливать образование множественной лекарственной устойчивости и рецидивы заболевания. Многопараметрические иммуногистохимические методы исследования в данном случае более предпочтительны, так как позволяют определить взаимное расположение популяций различных клеток микроокружения и опухолевых клеток, что является важным фактором исследования внутриопухолевых взаимодействий, особенно на малом количестве опухолевой ткани, полученной в ходе биопсии. Таким образом, только комплексная детекция как опухолевых целевых биомаркеров, так и биомаркеров опухолевого микроокружения может позволить провести точную характеристику опухоли, что необходимо для определения правильного прогноза и подбора подходящей терапии, а также поиска новых подходов к эффективной терапии РМЖ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. 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
2. Клинические рекомендации. Рак молочной железы. Министерство здравоохранения Российской Федерации, 2021. Доступно по: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/02/rak-molochnoj-zhelezy-2021.pdf>.
3. Clinical recommendations. Breast cancer. Ministry of Health of Russia, 2021. Available at: <https://oncology-association.ru/wp-content/uploads/2021/02/rak-molochnoj-zhelezy-2021.pdf>.
4. Hanker A.B., Sudhan D.R., Arteaga C.L. Overcoming endocrine resistance in breast cancer. *Cancer Cell* 2020;37(4):496–513. DOI: 10.1016/j.ccell.2020.03.009
5. Wang R., Zhu Y., Liu X. et al. The clinicopathological features and survival outcomes of patients with different metastatic sites

- in stage IV breast cancer. *BMC Cancer* 2019;19(1):1091. DOI: 10.1186/s12885-019-6311-z
5. Caswell-Jin J.L., Lorenz C., Curtis C. Molecular heterogeneity and evolution in breast cancer. *Ann Rev Cancer Biol* 2021;5(1):79–94. DOI: 10.1146/annurev-cancerbio-060220-014137
 6. Lundgren C., Bendahl P.-O., Ekholm M. et al. Tumour-infiltrating lymphocytes as a prognostic and tamoxifen predictive marker in premenopausal breast cancer: data from a randomised trial with long-term follow-up. *Breast Cancer Res* 2020;22(1):140. DOI: 10.1186/s13058-020-01364-w
 7. 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
 8. Zhao X., Qu J., Sun Y. et al. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in breast cancer: a meta-analysis of the literature. *Oncotarget* 2017;8(18):30576–86. DOI: 10.18632/oncotarget.15736
 9. Soto-Perez-de-Celis E., Chavarri-Guerra Y., Leon-Rodriguez E., Gamboa-Dominguez A. Tumor-associated neutrophils in breast cancer subtypes. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017;18(10):2689–93. DOI: 10.22034/apjcp.2017.18.10.2689
 10. Szpor J., Streb J., Glajcar A. et al. Dendritic cells are associated with prognosis and survival in breast cancer. *Diagnostics (Basel)* 2021;11(4):702. DOI: 10.3390/diagnostics11040702
 11. Galván Morales M.A., Barrera Rodriguez R., Santiago Cruz J.R., Teran L.M. Overview of new treatments with immunotherapy for breast cancer and a proposal of a combination therapy. *Molecules* 2020;25(23):5686. DOI: 10.3390/molecules25235686
 12. Palazón-Carrión N., Jiménez-Cortegana C., Sánchez-León M.L. et al. Circulating immune biomarkers in peripheral blood correlate with clinical outcomes in advanced breast cancer. *Sci Rep* 2021;11(1):14426. DOI: 10.1038/s41598-021-93838-w
 13. Petitprez F., Meylan M., de Reyniès A. et al. The tumor microenvironment in the response to immune checkpoint blockade therapies. *Front Immunol* 2020;11:784. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00784
 14. Hachim M.Y., Hachim I.Y., Talaat I.M. et al. M1 polarization markers are upregulated in basal-like breast cancer molecular subtype and associated with favorable patient outcome. *Front Immunol* 2020;11:560074. DOI: 10.3389/fimmu.2020.560074
 15. Bobrie A., Massol O., Ramos J. et al. Association of CD206 protein expression with immune infiltration and prognosis in patients with triple-negative breast cancer. *Cancers (Basel)* 2022;14(19):4829. DOI: 10.3390/cancers14194829
 16. Klingen T.A., Chen Y., Aas H. et al. Tumor-associated macrophages are strongly related to vascular invasion, non-luminal subtypes, and interval breast cancer. *Hum Pathol* 2017;69:72–80. DOI: 10.1016/j.humpath.2017.09.001
 17. Karthaus N., Torensma R., Tel J. Deciphering the message broadcast by tumor-infiltrating dendritic cells. *Am J Pathol* 2012;181(3):733–42. DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.05.012
 18. Buisseret L., Garaud S., de Wind A. et al. Tumor-infiltrating lymphocyte composition, organization and PD-1/PD-L1 expression are linked in breast cancer. *Oncoimmunology* 2017;6(1):e1257452. DOI: 10.1080/2162402x.2016.1257452
 19. Duan Q., Zhang H., Zheng J., Zhang L. Turning cold into hot: firing up the tumor microenvironment. *Trends Cancer* 2020;6(7):605–18. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.02.022
 20. Caparica R., Bruzzzone M., Agostinetto E. et al. Tumour-infiltrating lymphocytes in non-invasive breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Breast (Edinburgh)* 2021;59:183–92. DOI: 10.1016/j.breast.2021.07.007
 21. Wang Z.Q., Milne K., Derocher H. et al. CD103 and intratumoral immune response in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2016;22(24):6290–7. DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-16-0732
 22. Savas P., Virassamy B., Ye C. et al. Single-cell profiling of breast cancer T cells reveals a tissue-resident memory subset associated with improved prognosis. *Nat Med* 2018;24(7):986–93. DOI: 10.1038/s41591-018-0078-7
 23. Frazao A., Messaoudene M., Nunez N. et al. CD16⁺NKG2A^{high} natural killer cells infiltrate breast cancer-draining lymph nodes. *Cancer Immunol Res* 2019;7(2):208–18. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-18-0085
 24. Wang R., Jaw J.J., Stutzman N.C. et al. Natural killer cell-produced IFN- γ and TNF- α induce target cell cytotoxicity through up-regulation of ICAM-1. *J Leukoc Biol* 2012;91(2):299–309. DOI: 10.1189/jlb.0611308
 25. Nersesian S., Schwartz S.L., Grantham S.R. et al. NK cell infiltration is associated with improved overall survival in solid cancers: a systematic review and meta-analysis. *Transl Oncol* 2021;14(1):100930. DOI: 10.1016/j.tranon.2020.100930
 26. Poropatich K., Dominguez D., Chan W.C. et al. OX40⁺ plasmacytoid dendritic cells in the tumor microenvironment promote antitumor immunity. *J Clin Invest* 2020;130(7):3528–42. DOI: 10.1172/jci131992
 27. Sharonov G.V., Serebrovskaya E.O., Yuzhakova D.V. et al. B cells, plasma cells and antibody repertoires in the tumour microenvironment. *Nat Rev Immunol* 2020;20(5):294–307. DOI: 10.1038/s41577-019-0257-x
 28. Sakaguchi A., Horimoto Y., Onagi H. et al. Plasma cell infiltration and treatment effect in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer Res* 2021;23(1):99. DOI: 10.1186/s13058-021-01477-w
 29. Qin G., Wang X., Ye S. et al. NPM1 upregulates the transcription of PD-L1 and suppresses T cell activity in triple-negative breast cancer. *Nat Commun* 2020;11(1):1669. DOI: 10.1038/s41467-020-15364-z
 30. Johansson A.L.V., Trewin C.B., Hjerkind K.V. et al. Breast cancer-specific survival by clinical subtype after 7 years follow-up of young and elderly women in a nationwide cohort. *Int J Cancer* 2019;144(6):1251–61. DOI: 10.1002/ijc.31950
 31. Yersal O., Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *World J Clin Oncol* 2014;5(3):412–24. DOI: 10.5306/wjco.v5.i3.412
 32. Hurvitz S.A., McAndrew N.P., Bardia A. et al. A careful reassessment of anthracycline use in curable breast cancer. *NPJ Breast Cancer* 2021;7(1):134. DOI: 10.1038/s41523-021-00342-5
 33. Saraiva D.P., Correia B.F., Salvador R. et al. Circulating low density neutrophils of breast cancer patients are associated with their worse prognosis due to the impairment of T cell responses. *Oncotarget* 2021;12(24):2388–403. DOI: 10.18632/oncotarget.28135
 34. Khalaf K., Hana D., Chou J.T.-T. et al. Aspects of the tumor microenvironment involved in immune resistance and drug resistance. *Front Immunol* 2021;12:656364. DOI: 10.3389/fimmu.2021.656364
 35. Castells M., Thibault B., Delord J.P., Couderc B. Implication of tumor microenvironment in chemoresistance: tumor-associated stromal cells protect tumor cells from cell death. *Int J Mol Sci* 2012;13(8):9545–71. DOI: 10.3390/ijms13089545
 36. Dauer P., Nomura A., Saluja A., Banerjee S. Microenvironment in determining chemo-resistance in pancreatic cancer: neighborhood matters. *Pancreatology* 2017;17(1):7–12. DOI: 10.1016/j.pan.2016.12.010
 37. Tang N., Wang L., Esko J. et al. Loss of HIF-1 α in endothelial cells disrupts a hypoxia-driven VEGF autocrine loop necessary for tumorigenesis. *Cancer Cell* 2004;6(5):485–95. DOI: 10.1016/j.ccr.2004.09.026
 38. Taflin C., Favier B., Baudhuin J. et al. Human endothelial cells generate Th17 and regulatory T cells under inflammatory conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(7):2891–96. DOI: 10.1073/pnas.1011811108
 39. Komarova S., Kawakami Y., Stoff-Khalili M.A. et al. Mesenchymal progenitor cells as cellular vehicles for delivery of oncolytic adenoviruses. *Mol Cancer Ther* 2006;5:755–66. DOI: 10.1158/1535-7163.mct-05-0334

40. Chen L., Tredget E.E., Wu P.Y., Wu Y. Paracrine factors of mesenchymal stem cells recruit macrophages and endothelial lineage cells and enhance wound healing. *PloS One* 2008;3(4):e1886. DOI: 10.1371/journal.pone.0001886
41. Aldinucci D., Colombatti A. The inflammatory chemokine CCL5 and cancer progression. *Mediators Inflamm* 2014;2014:292376. DOI: 10.1155/2014/292376
42. Kuperwasser C., Chavarria T., Wu M. et al. Reconstruction of functionally normal and malignant human breast tissues in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101(14):4966–71. DOI: 10.1073/pnas.0401064101
43. Takahashi H., Sakakura K., Kudo T. et al. Cancer-associated fibroblasts promote an immunosuppressive microenvironment through the induction and accumulation of protumoral macrophages. *Oncotarget* 2017;8(5):8633–47. DOI: 10.18632/oncotarget.14374
44. Zhou B.-B.S., Zhang H., Damelin M. et al. Tumour-initiating cells: challenges and opportunities for anticancer drug discovery. *Nat Rev Drug Discov* 2009;8(10):806–23. DOI: 10.1038/nrd2137
45. Boyd A.S.; Rodrigues N.P. Stem cells cycle toward immune surveillance. *Immunity* 2018;48(2):187–90. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.02.006
46. Jiang E., Yan T., Xu Z., Shang Z. Tumor microenvironment and cell fusion. *Biomed Res Int* 2019;2019:5013592. DOI: 10.1155/2019/5013592
47. Solinas G., Germano G., Mantovani A., Allavena P. Tumor-associated macrophages (TAM) as major players of the cancer-related inflammation. *J Leukoc Biol* 2009;86(5):1065–73. DOI: 10.1189/jlb.0609385
48. Haqqani A.S., Sandhu J.K., Birnboim H.C. Expression of interleukin-8 promotes neutrophil infiltration and genetic instability in mutator tumors. *Neoplasia* 2000;2(6):561–8. DOI: 10.1038/sj.neo.7900110
49. Bharadwaj U., Li M., Zhang R. et al. Elevated interleukin-6 and G-CSF in human pancreatic cancer cell conditioned medium suppress dendritic cell differentiation and activation. *Cancer Res* 2007;67(11):5479–88. DOI: 10.1158/0008-5472.can-06-3963
50. Wilson E.B., El-Jawhari J.J., Neilson A.L. et al. Human tumour immune evasion via TGF- β blocks NK cell activation but not survival allowing therapeutic restoration of anti-tumour activity. *PloS One* 2011;6(9):e22842. DOI: 10.1371/journal.pone.0022842
51. Olkhanud P.B., Damdinsuren B., Bodogai M. et al. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4⁺ T cells to T-regulatory cells. *Cancer Res* 2011;71(10):3505–3515. DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-4316
52. Fujimura T., Kambayashi Y., Aiba S. Crosstalk between regulatory T cells (Tregs) and myeloid derived suppressor cells (MDSCs) during melanoma growth. *Oncoimmunology* 2012;1(8):1433–4. DOI: 10.4161/onci.21176
53. Lu H., Clauser K.R., Tam W.L. et al. A breast cancer stem cell niche supported by juxtacrine signalling from monocytes and macrophages. *Nat Cell Biol* 2014;16(11):1105–17. DOI: 10.1038/ncb3041
54. Li I., Nabet B.Y. Exosomes in the tumor microenvironment as mediators of cancer therapy resistance. *Mol Cancer* 2019;18(1):32. DOI: 10.1186/s12943-019-0975-5

Вклад авторов

П.М. Соколов: сбор и анализ данных литературы, написание текста статьи;

А.В. Караулов: анализ данных литературы;

А.В. Суханова: анализ источников литературы;

И.Р. Набиев: дизайн обзора, экспертный анализ текста.

Authors contributions

P.M. Sokolov: collection and analysis of literature data, article writing;

A.V. Karaulov: analysis of literature data;

A.V. Sukhanova: analysis of literature data;

I.R. Nabiev: design of the review, final expertize of the text.

ORCID авторов / ORCID of authors

П.М. Соколов / P.M. Sokolov: <https://orcid.org/0000-0001-5321-3753>

А.В. Караулов / A.M. Karaulov: <https://orcid.org/0000-0002-1930-5424>

А.В. Суханова / A.V. Sukhanova: <https://orcid.org/0000-0003-2796-7898>

И.Р. Набиев / I.R. Nabiev: <https://orcid.org/0000-0002-8391-040X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Данная работа была поддержана грантом № 075-15-2021-937 (проект NanoToBio) Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Funding. This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation through the grant No. 075-15-2021-937 (NanoToBio project).

Статья поступила: 28.08.2022. Принята к публикации: 05.12.2022.

Article received: 28.08.2022. Accepted for publication: 05.12.2022.