

Стенина М.Б., Царева Е.В., Жаров А.А., Тюляндин С.А.

## ИНФИЛЬТРИРУЮЩИЕ ОПУХОЛЬ ЛИМФОЦИТЫ: БИОЛОГИЧЕСКАЯ СУТЬ И КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, г. Москва, Россия

*В обзоре описаны ключевые этапы развития противоопухолевого иммунного ответа, в том числе представлены современные данные о биологическом и клиническом значении инфильтрирующих опухоль лимфоцитов при раке молочной железы; рассмотрена методика патоморфологической оценки выраженности лимфоидной инфильтрации опухоли; проанализированы результаты клинического изучения прогностической и предсказывающей роли иммунных маркеров, в том числе количества инфильтрирующих опухоль лимфоцитов.*

**Ключевые слова:** обзор; рак молочной железы; инфильтрирующие опухоль лимфоциты; противоопухолевый иммунитет; иммунный генный профиль опухоли; химиотерапия; трастузумаб.

**Для цитирования:** Стенина М.Б., Царева Е.В., Жаров А.А., Тюляндин С.А. Инфильтрирующие опухоль лимфоциты: биологическая суть и клиническое значение при раке молочной железы. *Российский онкологический журнал*. 2016; 21 (1–2): 92–100. DOI: 10.18821/1028-9984-2015-21-1-92-100

**Для корреспонденции:** Стенина Марина Борисовна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения клинической фармакологии и химиотерапии НИИ клинической онкологии; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, д. 24, e-mail: mstenina@mail.ru.

Stenina M.B., Tsareva E.V., Zharov A.A., Tyulyandin S.A.

TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES: BIOLOGICAL ESSENCE AND CLINICAL SIGNIFICANCE IN BREAST CANCER

N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, 115478, Russian Federation

*In the review there are described the key stages of the development of anti-tumor immune response, as well there are presented the modern data on biological and clinical significance of tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer; there is considered the method of pathologic assessment of the pronouncement of lymphoid infiltration of the tumor; the results of clinical studies of prognostic and predictive role of immune markers including tumor infiltrating lymphocytes were analyzed.*

**Key words:** review; breast cancer; tumor infiltrating lymphocytes; antitumor immunity; immune gene profile of the tumor; chemotherapy; trastuzumab.

**For citation:** Stenina M.B., Tsareva E.V., Zharov A.A., Tyulyandin S.A. Tumor infiltrating lymphocytes: biological essence and clinical significance in breast cancer. *Rossiiskii onkologicheskii zhurnal. (Russian Journal of Oncology)* 2016; 21(1–2): 92–100. (In Russ.). DOI: 10.18821/1028-9984-2016-21-1-92-100

**For correspondence:** Marina B. Stenina, MD., PhD, DSc., leading researcher Department of clinical pharmacology and chemotherapy of the Research Institute of Clinical Oncology, Moscow, 115478, Russian Federation, E-mail: mstenina@mail.ru

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

**Funding.** The study had no sponsorship.

Received 19 October 2015  
Accepted 19 November 2015

Развитие биомедицинских технологий позволило существенно продвинуться в понимании закономерностей опухолевого роста и создать большое количество так называемых таргетных препаратов, блокирующих отдельные ключевые звенья канцерогенеза. Однако вопреки нашим ожиданиям этот подход не позволил вплотную приблизиться к решению «проблемы рака». Возможно, именно поэтому к нам стало возвращаться понимание того, что опухоль не существует изолированно, а возникает и развивается в макроорганизме, защитные свойства которого, в том числе способность противостоять раку, могут влиять не только на возникновение и развитие болезни, но и на эффективность терапии.

**Взаимоотношения опухоли и иммунной системы.** Современная концепция возникновения и развития рака предполагает три последовательные фазы:

- элиминация (*elimination*): опухолевые клетки полностью уничтожаются Т-лимфоцитами;
- равновесие (*equilibrium*): появляется популяция иммунорезистентных клеток, одновременно про-

должается мощное иммунологическое давление на нерезистентные опухолевые клетки; эта фаза может длиться годами;

- «побег» (*escape*): опухоль приобретает свойство ускользать от иммунологического контроля; это может происходить за счет потери опухолевых антигенов, секреции ингибирующих цитокинов, подавления презентации антигенов дендритными клетками, что приводит к иммунологической толерантности [1, 2].

В противоопухолевом иммунном ответе принимают участие гуморальная (В-лимфоциты) и клеточная (Т-лимфоциты) системы иммунитета. Контроль над ростом опухоли осуществляют в основном Т-клетки, сведения о противоопухолевой активности В-лимфоцитов противоречивы. Большинство опухолевых антигенов (мутированный белок p53, гиперэкспрессированные рецепторы HER2 и MUC1 и др.) распознается иммунной системой человека, что приводит к активации гуморального иммунитета и выработке специфических антител В-лимфоцитами. С одной стороны, на экспе-

риментальных моделях опухолей было показано, что В-лимфоциты способны оказывать прямое повреждающее действие на опухолевую клетку за счет механизма антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности, активации системы комплемента, а также секреции гранзима В [3]. Кроме того, В-лимфоциты способны продуцировать цитокины (интерферон  $\gamma$ , интерлейкины 2 и 4, фактор некроза опухоли  $\alpha$ ), активирующие CD8+ лимфоциты, и выступать в роли антигенпрезентирующих клеток для CD4+ и CD8+ лимфоцитов [4]. С другой стороны, на примере мутированного белка p53 было показано, что специфические антигены, связываясь с опухолевым антигеном, мешают его распознаванию Т-лимфоцитами, способствуя «ускользанию» опухоли от иммунологического надзора [5]. В-лимфоциты способны также подавлять активность цитотоксических Т-лимфоцитов за счет выброса ингибирующих цитокинов (трансформирующего ростового фактора  $\beta$  и интерлейкина-10).

Противоопухолевая иммунная реакция представляет собой циклический самоподдерживающийся процесс, который приводит к накоплению иммунных стимулирующих факторов, что теоретически должно усиливать и расширять Т-клеточные реакции. Однако влияние ингибирующих факторов, регулирующих иммунные реакции по принципу обратной связи, способно ограничить и даже остановить иммунный ответ. Основные этапы противоопухолевого иммунного цикла представлены на рис. 1, см. вклейку [6].

Таким образом, «центральными игроками» противоопухолевого иммунитета являются дендритные клетки и Т-лимфоциты. Первые работы по изучению цитотоксических лимфоцитов как инструмента адоптивной терапии (от англ. *adoptive* – привнесенный) появились в 80-х годах прошлого века, когда после синтеза рекомбинантного интерлейкина-2 стало возможно культивировать Т-лимфоциты *ex vivo*. Инфильтрирующие опухоль Т-лимфоциты выделяли из ткани опухоли, культивировали *in vitro* с лимфокинами и осуществляли аутологичное введение. Было показано, что клетки, выделенные таким образом, в том числе из опухоли молочной железы, оказывали цитолитическое действие на аутологичные опухолевые клетки и приводили к сокращению размеров опухолевых очагов у мышей [7, 8]. Особенно впечатляли результаты иммунотерапии больных меланомой, у которых применение этого метода позволяло добиться объективных ответов у 49–72% пациентов, причем у 13–40% наблюдался полный регресс опухоли [9]. Однако методика получения цитотоксических лимфоцитов оказалась весьма трудоемкой, а их использование, как правило, требовало введения высоких доз интерлейкина-2, что ассоциировалось с серьезной токсичностью. Поэтому изучение и клиническое применение данного метода ограничилось опухолями, для которых в отличие от рака молочной железы (РМЖ) не существовало альтернативных лечебных подходов (метастатическая меланома, рак почки). Кроме того, РМЖ традиционно не рассматривался как иммунологически опосредованное заболевание во всяком случае на фоне таких иммунологически активных опухолей, как рак почки и меланома.

Несмотря на это, различные аспекты противоопухолевого иммунного ответа при РМЖ все-таки изучались. В частности, S. Aaltomaa и соавт. [10] в 1992 г. сообщили о положительном прогностическом влиянии лимфоидной инфильтрации опухоли, отметив, что эта закономерность прослеживалась только при РМЖ с высокой скоростью пролиферации. Позднее эти данные были подтверждены многими зарубежными, а также отечественными авторами [11–15]. На протяже-

нии последних 5 лет информация о прогностическом и предсказывающем значении иммунологических маркеров накапливается особенно интенсивно. Наиболее интересные и важные факты черпаются из ретроспективных анализов результатов лечения больных, принимавших участие в крупных международных клинических исследованиях. В настоящее время в подобных анализах включены в общей сложности более 10 тыс. больных РМЖ. В данном обзоре рассмотрены наиболее значимые результаты изучения роли иммунологических маркеров, в том числе инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (ИОЛ; в англоязычной литературе – *TILs, Tumor Infiltrating Lymphocytes*).

**Состав инфильтрирующей опухоли лимфоцитов.** Инфильтрация опухоли цитотоксическими Т-лимфоцитами происходит на последних этапах противоопухолевого иммунного цикла (см. рис. 1). Наряду с Т-лимфоцитами в состав лимфоидного инфильтрата входят и другие иммунокомпетентные клетки, в том числе макрофаги, естественные киллеры, дендритные клетки, которые могут оказывать как стимулирующее, так и ингибирующее влияние на опухолевый рост, а также имеют различное прогностическое и предсказывающее значение [11, 13, 16–23]. При детальном изучении состава лейкоцитарного инфильтрата С. Gu-Trantein и соавт. [24] показали, что Т-лимфоциты (CD3+) составили примерно 75% клеток, В-лимфоциты (CD20+) – менее 20%, моноциты – менее 10% и естественные киллеры – менее 5% от общего числа ИОЛ. К числу клеток, оказывающих противоопухолевое действие, относятся CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты, CD4+ Т-хелперы 1-го типа (Th1), естественные киллеры, M1 макрофаги и дендритные клетки, в то время как CD4+ Th2, CD4+ Th17 и CD4+ FoxP3+ Т-лимфоциты, а также M2 макрофаги, нейтрофилы и клетки-супрессоры миелоидного происхождения, наоборот, способствуют опухолевому росту [25]. Роль В-клеток (CD20+) в настоящее время интенсивно изучается. Их присутствие чаще всего выявляется при опухолях с выраженной лимфоидной инфильтрацией. Популяция Т-лимфоцитов, входящих в состав ИОЛ, в свою очередь состоит из двух субпопуляций:

- CD8+ Т-лимфоциты (цитотоксические) способны распознавать опухолевые пептидные антигены, презентруемые злокачественными клетками на своей поверхности в составе главного комплекса гистосовместимости I класса, и осуществлять прямой лизис клеток-мишеней, выделяя перфорины и гранзим В. В большинстве исследований было показано, что инфильтрация опухоли CD8+ лимфоцитами ассоциируется с лучшей выживаемостью [20, 26–29]. Однако до начала специфической противоопухолевой терапии (химиотерапии) эти клетки находятся в дремлющем состоянии и активация значительной части CD8+ Т-лимфоцитов наступает лишь в процессе химиотерапии [30]. CD8+ Т-лимфоциты могут утрачивать способность обеспечивать полноценный иммунный ответ в отсутствие поддержки CD4+ Th [31, 32];
- CD4+ Т-лимфоциты взаимодействуют с опухолевыми антигенами, презентруемыми дендритными клетками в составе главного комплекса гистосовместимости II класса, что приводит к их активации и секреции ими различных цитокинов; участвуют в В-клеточном и CD8+ Т-клеточном звеньях иммунного ответа. Подавляющее большинство (> 95%) CD4+ Т-лимфоцитов обладает фенотипом клеток памяти (CD45RO+) [24]. CD4+ Т-лимфоциты включают в себя Th 1-го и 2-го типов, а также Т-регуляторные клетки;

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- CD4<sup>+</sup> Th1 играют ключевую роль в реализации противоопухолевого ответа за счет привлечения, активации и регуляции многих звеньев иммунитета. Эти клетки секретируют интерферон  $\gamma$ , который необходим для индукции и поддержания функции CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов, а также способны активизировать CD8<sup>+</sup> независимые механизмы врожденного иммунитета с помощью естественных киллеров и макрофагов [30, 33, 34];
- CD4<sup>+</sup> Th2 активируют гуморальный (В-клеточный) иммунный ответ, влияют на врожденный иммунитет, формируя выраженность воспалительных реакций [24]. С точки зрения противоопухолевого иммунного ответа активация Th2 менее эффективна, чем Th1 [35];
- Т-регуляторные клетки характеризуются экспрессией CD4, CD25 и FoxP3 и призваны поддерживать иммунный гомеостаз путем регулирования активности Т-клеток [18]. Существует ряд доказательств того, что Т-регуляторные клетки под воздействием хемокинов, продуцируемых опухолевыми клетками и макрофагами микроокружения, могут мигрировать в опухолевую ткань и обеспечивать раннее подавление активации Т-лимфоцитов [36]. Т-регуляторные клетки продуцируют такие иммуносупрессивные цитокины, как трансформирующей ростовой фактор  $\beta$  и интерлейкин-10, которые тормозят действие Th. FoxP3<sup>+</sup> фенотип характеризуется повышенной экспрессией транскрипционного фактора FoxP3, который ингибирует промоторную часть генов провоспалительных цитокинов. На экспериментальных моделях РМЖ было показано, что взаимодействие между активатором рецептора нуклеарного фактора  $\kappa$ B (RANK) и RANK-лигандом, продуцируемым FoxP3<sup>+</sup> лимфоцитами, способствует метастазированию [37]. Несмотря на то что на ранних этапах болезни Т-клеточный иммунитет обеспечивает эффективную противоопухолевую защиту, непропорционально большое количество Т-регуляторных клеток, накапливающихся в микроокружении опухоли вследствие хронической стимуляции (при длительном существовании опухоли), может, наоборот, способствовать опухолевому росту, а не подавлять его [18]. Однозначного мнения о прогностической значимости Т-регуляторных клеток нет, однако имеются данные об их негативном влиянии на показатели выживаемости [38]. Интересно, что цитотоксические агенты могут снижать степень инфильтрации опухоли FoxP3 Т-регуляторными клетками, что коррелирует с благоприятным прогнозом [39].

В последнее время появились данные о том, что важен не столько сам факт выраженной лимфоидной инфильтрации, сколько соотношение между различными подтипами лимфоцитов, например CD8<sup>+</sup>/CD4<sup>+</sup> (эффекторы/хелперы) или CD8<sup>+</sup>/FoxP3<sup>+</sup> (эффекторы/регуляторы) [30, 35]. Многие авторы отмечают зависимость состава ИОЛ от морфологического подтипа, степени дифференцировки, а также распространенности РМЖ [16, 40–46]. Клиническое значение подобных различий требует изучения.

Миграция лимфоцитов из сосудистого русла в периферические ткани происходит благодаря венолам с высоким эндотелием. При различных опухолях, включая РМЖ, установлена взаимосвязь между лимфоцитарной инфильтрацией и фенотипом сосудов с высоким эндотелием, большая плотность которых ассоциируется с увеличением показателей безрецидивной и общей выживаемости и характерна для протоковой карциномы *in situ*, превращение которой в инвазивную карциному сопровождается снижением плотности венул с высо-

ким эндотелием, а также уменьшением количества дендритных клеток и CD3<sup>+</sup> ИОЛ [47].

Количество и состав ИОЛ в первичной опухоли и метастатических очагах могут различаться. А. Cimino-Mathews и соавт. [44] проанализировали образцы ткани первичных опухолей и соответствующих им метастатических очагов у 16 больных РМЖ и показали, что в целом метастазы содержали меньшее количество ИОЛ по сравнению с первичными опухолями, при этом в случае тройных негативных опухолей снижалось содержание CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и FoxP3<sup>+</sup> лимфоцитов, в то время как при люминальных вариантах уменьшалось количество только CD8<sup>+</sup> лимфоцитов. Выраженность лимфоидной инфильтрации в метастатических очагах при тройных негативных опухолях была меньше, чем при люминальных. Метастатические очаги в головном мозге содержали наименьшее количество ИОЛ по сравнению с метастазами других локализаций. Наконец, соотношение CD8<sup>+</sup>/FoxP3<sup>+</sup>, ассоциировавшееся с благоприятным прогнозом, составило 3 и более для первичной опухоли и менее 3 для метастатического очага.

В нормальной ткани молочной железы также встречаются CD3<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> лимфоциты, хотя выраженность инфильтрации ими значительно меньше по сравнению с опухолью; FoxP3<sup>+</sup> клетки не характерны для нормальной железистой ткани молочной железы [30, 39].

Наличие лимфоидной инфильтрации характерно для большинства солидных опухолей. Высокий уровень ИОЛ оказался независимым прогностическим фактором увеличения продолжительности жизни больных при гепатоцеллюлярном раке и раке желчного пузыря [48–50], раке яичников [51, 52], эндометрия [53–56], мочевого пузыря [48] и колоректальном раке [57, 58].

**Методика оценки ИОЛ.** В связи с ростом количества исследований, доказывающих прогностическое и предсказывающее значения ИОЛ при РМЖ, возникла необходимость описания и стандартизации методики патоморфологической оценки этого показателя. Согласно рекомендациям Международной рабочей группы по изучению ИОЛ (International TILs-working group), исследование проводят на окрашенных гематоксилином и эозином срезах опухолевой ткани толщиной 4–5 мкм, сделанных с парафиновых блоков, т. е. для оценки пригодны те же гистологические препараты, которые используются при рутинном патоморфологическом исследовании. Лимфоидную инфильтрацию рекомендуют оценивать в пределах инвазивной опухоли, исключая карциному *in situ* и нормальную ткань молочной железы, а также зоны некроза и гиалиноза. Подсчету подлежат только лимфоциты и плазматические клетки; полиморфно-ядерные лейкоциты, макрофаги и дендритные клетки не учитываются. В зависимости от локализации различают 2 типа ИОЛ: *интратуморальные*, непосредственно соприкасающиеся с раковыми клетками, и *стромальные*, расположенные между гнездами опухолевых клеток (рис. 2, см. вклейку). Рекомендуется оценивать количество только стромальных лимфоцитов, так как данный критерий более удобен для измерения и легко воспроизводим. Интратуморальные лимфоциты, как правило, немногочисленны, встречаются реже и для их определения часто требуется дополнительное иммуногистохимическое исследование. В большинстве работ количество интратуморальных и стромальных лимфоцитов коррелировало между собой и имело равнозначное предсказывающее значение. Перитуморальная инфильтрация (вне границ опухолевого узла) и лимфоидные фолликулярные агрегаты, в том числе с герминативными центрами, не включаются

в стандартизованную систему оценки стромальной воспалительной инфильтрации, но тем не менее могут быть учтены как отдельный параметр в исследовательских целях. Степень инфильтрации опухоли определяется как процент поверхности стромы, содержащей лимфоциты. В клинических исследованиях используется термин «лимфоцит-предоминантный» тип опухоли, обозначающий, что 50–60% и более поверхности опухоли занято лимфоцитами (рис. 3, см. вклейку) [59]. Для удобства в тексте будем обозначать вариант с выраженной лимфоидной инфильтрацией, т. е. лимфоцит-предоминантный вариант, как ИОЛ(+), а без нее – как ИОЛ(-).

**Молекулярно-генетические механизмы лимфоидной инфильтрации при РМЖ.** Иммуные реакции макроорганизма, в том числе противоопухолевые, определяются активностью соответствующих генов. С. Denkert и соавт. [60] в рамках проспективного исследования GeparSixto изучили экспрессию мРНК 12 генов, кодирующих иммунные факторы, и сопоставили полученные данные с выраженностью лимфоцитарной инфильтрации и эффективностью химиотерапии. В анализ был включен 481 образец опухоли пациенток, получавших неoadъювантную химиотерапию антрациклинами и таксанами ( $\pm$  карбоплатин); больные тройным негативным РМЖ получали также бевацизумаб, а HER2-позитивным РМЖ – трастузумаб и лапатиниб. Содержание ИОЛ оценивалось при микроскопии обычных гистологических препаратов опухолевой ткани, окрашенных гематоксилином и эозином. Перечень изучаемых мРНК включал Т- и В-клеточные маркеры, хемокины и маркеры иммунных контрольных точек (*checkpoint*), которые в настоящее время изучаются в качестве возможных терапевтических мишеней. Среди изучавшихся маркеров были активирующие (*CXCL9*, *CCL5*, *CD8A*, *CD80*, *CXCL13*, *IGKC*, *CD21*) и предполагаемые супрессирующие (*IDO1*, *PD-1*, *PD-L1*, *CTLA4*, *FOXP3*) гены. На основании полученных результатов авторы выделили 3 иммунных варианта РМЖ: вариант А характеризовался низким уровнем экспрессии всех генов, вариант С – высоким уровнем, а вариант В – средним уровнем экспрессии генов. Деление на варианты было схожим в группах больных тройным негативным и HER2-позитивным РМЖ. Частота ИОЛ(+) РМЖ при различных иммунных вариантах была различной и составила 1,1, 19,1 и 50,4% при вариантах А, В и С соответственно ( $p < 0,001$ ). Эффективность неoadъювантной химиотерапии (оценивалась по частоте полного морфологического эффекта – ПМЭ) также существенно различалась и составила 24, 37,4 и 56,2% при вариантах А, В и С соответственно ( $p < 0,001$ ). Все иммунные маркеры, в том числе иммуносупрессивные (*PD-1*, *PD-L1*, *CTLA4*, *IDO1*), положительно коррелировали друг с другом и с содержанием стромальных ИОЛ ( $p < 0,001$ ), а также с частотой ПМЭ: отношения шансов (ОШ) были максимальными для *PD-L1* (ОШ 1,57; 95% ДИ: 1,34–1,86;  $p < 0,001$ ) и *CCL5* (ОШ 1,41; 95% ДИ: 1,23–1,62;  $p < 0,001$ ). При HER2-позитивных опухолях ОШ было выше в сравнении с тройными негативными, что могло быть связано с воздействием на иммунную систему анти-HER2- терапии (трастузумаб, лапатиниб). При многофакторном анализе, включившем экспрессию мРНК 12 генов, содержание ИОЛ, а также традиционно используемые клинические параметры, для 11 из 12 генов (все гены, кроме *CD21*), в том числе потенциально иммуносупрессивных (*PD-1*, *PD-L1*, *CTLA4* и *IDO1*), была установлена статистически значимая положительная корреляционная связь с эффективностью неoadъювантной химиотерапии, при этом патоморфологический (количество ИОЛ) и моле-

кулярный (экспрессия мРНК) параметры имели сопоставимую информационную ценность [60].

Таким образом, было показано, что выраженность лимфоидной инфильтрации опухоли является генетически детерминированной и отражает интенсивность противоопухолевого иммунного ответа макроорганизма. Это позволяет использовать ИОЛ в качестве суррогатного маркера, подобно тому, как мы это делаем при иммуногистохимическом определении экспрессии рецепторов эстрогенов, прогестерона и HER2 взамен молекулярно-генетического анализа.

**Биологическое и клиническое значение инфильтрирующих опухоль лимфоцитов**

**Лимфоидная инфильтрация и клиничко-морфологические характеристики РМЖ.** Выраженная лимфоидная инфильтрация в целом характерна для агрессивных, быстро пролиферирующих вариантов РМЖ. S. Loi и соавт. [11] при исследовании образцов опухоли 2009 больных ранним РМЖ, принимавших участие в адьювантном исследовании III фазы BIG 02–98, показали, что выраженная лимфоидная инфильтрация ассоциировалась с инфильтративным протоковым вариантом ( $p < 0,001$  и  $p = 0,048$  для стромальных и интрагуморальных лимфоцитов соответственно), высокой степенью злокачественности ( $p < 0,001$ ), отрицательными гормональными рецепторами ( $p < 0,001$ ) и высоким (более 14%) Ki-67 ( $p < 0,001$ ), при этом взаимосвязи с возрастом, овариальной функцией, количеством пораженных подмышечных лимфатических узлов (1–3 против 4), а также размером опухоли выявлено не было. Содержание ИОЛ было выше при РЭ(-)/HER2(-) и HER2(+) опухолях по сравнению с РЭ(+)/HER2(-) опухолями ( $p < 0,001$ ). Частота ИОЛ(+) фенотипа во всей популяции больных составила 5,4% и была максимальной при РЭ(-)/HER2(-) и HER2(+) вариантах (10,6 и 11,1% соответственно) и минимальной – при РЭ(+)/HER2(-) РМЖ (2,9%;  $p < 0,001$ ). Сходные закономерности были получены и другими авторами [13, 61–63].

С. Denkert и соавт. [60] при анализе выраженности лимфоидной инфильтрации в опухолях больных тройным негативным и HER2(+) РМЖ (исследование GeparSixto;  $n = 580$ ) обнаружили ИОЛ(+) вариант у 142 (24,5%) больных: в 19,9% случаев HER2(+) и в 28,3% случаев тройного негативного РМЖ. В то же время в исследованиях GeparDuo ( $n = 218$ ) и GeparTrio ( $n=840$ ), в которых в общей сложности 62% больных имели гормонозависимые опухоли и только 27% больных – HER2(+) РМЖ, ИОЛ(+) вариант составил всего 12% [61].

**Иммунологические эффекты противоопухолевой терапии.** Эффект стандартных цитотоксических и таргетных препаратов традиционно рассматривается как результат прямого повреждающего действия на ДНК опухолевой клетки или влияния на ключевые сигнальные пути канцерогенеза. Однако многие привычные противоопухолевые препараты приводят также к серьезным иммунологическим изменениям в микроокружении опухоли, которые могут оказывать влияние на эффективность терапии. L. Zitvogel и соавт. показали, что антрациклины и производные платины, стимулируя секрецию интерлейкина-1 $\beta$ , могут инициировать каскад иммунных воспалительных реакций, приводящих к активации TLR4 (Toll ligand receptor) на инфильтрирующих дендритных клетках. Кроме того, при разрушении эндоплазматического ретикулума опухолевые клетки экспрессируют на поверхности калретикулин, который служит для дендритных клеток сигналом к захвату апоптотических частиц и инициации антигенной презентации [64]. При назначении таксанов (неoadъювантно) было отмечено увеличение количества ИОЛ в

паренхиме опухоли [65]. При метастатической болезни введение доцетаксела приводило к увеличению концентрации Th1-ассоциированных цитокинов (интерлейкина-2, интерферона  $\gamma$ ) и снижению негативных воспалительных маркеров (фактора некроза опухоли  $\beta$ ) [66]. Алкилирующие агенты (циклофосфамид), особенно при использовании в метрономном режиме, могут истощать активность иммуносупрессивных T-регуляторных клеток, обуславливающих анергию по отношению к опухоли-ассоциированным антигенам [64]. Химиопрепараты, вводимые в определенных дозах и режимах, способны усиливать эффект вакцино- и иммунотерапии, при этом оптимальным с точки зрения повышения эффективности химиотерапии является частое введение химиопрепаратов в небольших дозах, т. е. метрономный режим [67].

Интересно, что химиотерапия может конвертировать ИОЛ(-) варианты РМЖ в ИОЛ(+), причем «постхимиотерапевтический» статус ИОЛ коррелирует с прогнозом [68]. S. Ladoire и соавт. [39] проанализировали количество и соотношение CD3+, CD8+ и FoxP3+ лимфоцитов в образцах опухолевой ткани 56 пациентов первично-операбельным РМЖ до и после проведения антрациклин- и/или таксан-содержащей предоперационной химиотерапии. Больные HER2(+) РМЖ ( $n = 20$ ) получали также трастузумаб. Оказалось, что после лечения количество CD3+ и CD8+ клеток осталось неизменным, в то время как число FoxP3+ лимфоцитов значительно снизилось ( $p = 0,01$ ). Описанный феномен не зависел от режима лекарственной терапии. Исчезновение инфильтрации ткани FoxP3+ клетками и высокий уровень CD8+ лимфоцитов оказались независимыми прогностическими факторами достижения ПМЭ ( $p < 0,05$ ). Впоследствии авторам удалось показать, что высокое соотношение CD8+ лимфоцитов к FoxP3+ клеткам в резидуальной опухоли ассоциировалось с увеличением общей и безрецидивной выживаемости [39, 69].

**Иммунологические маркеры как предсказывающий фактор эффективности химиотерапии.** В ранних исследованиях с участием небольших когорт больных было показано, что исходное количество интраэпителиальных CD3+ ИОЛ и дендритных клеток (CD83+) в опухоли было значительно выше среди больных, у которых в результате химиотерапии был достигнут ПМЭ [70]. В дальнейшем эти данные нашли подтверждение в более крупных ретроспективных анализах.

S. Denkert и соавт. [61] оценили с помощью ИОЛ выраженность иммунной реакции в образцах опухолевой ткани пациенток, получавших неoadъювантную химиотерапию в исследованиях III фазы GeparDuo ( $n = 218$ ) и GeparTrio ( $n = 840$ ). Все пациентки получали антрациклины и таксаны, трастузумаб не назначался. Частота ПМЭ в общей популяции больных в этих исследованиях составила 12,8 и 17%, при этом среди больных с ИОЛ(+) типом опухоли (12% больных) этот показатель составил 42 и 40%, а среди пациенток с ИОЛ(-) (16% больных) – только 3 и 7% в исследованиях GeparDuo и GeparTrio соответственно ( $p < 0,0005$ ). При многофакторном анализе, включившем все известные клинико-морфологические факторы, содержание ИОЛ, особенно CD3+ (Т-лимфоциты) и CD20+ (В-лимфоциты), оказалось независимым предсказывающим фактором достижения ПМЭ.

В исследовании GeparSixto частота ПМЭ у больных тройным негативным и HER2(+) РМЖ составила 59,9% при ИОЛ(+) и 33,8% при ИОЛ(-) вариантах РМЖ ( $p < 0,001$ ); ОШ достижения ПМЭ в зависимости от количества ИОЛ составило 2,92 (95% ДИ: 1,98–4,31) и было сопоставимым с аналогичным показателем для

рецепторов стероидных гормонов (ОШ 2,78; 95% ДИ: 1,84–4,20;  $p < 0,001$ ) [60].

M. Ignatiadis и соавт. [71] провели метаанализ результатов неoadъювантной химиотерапии у 996 больных, при этом для оценки выраженности иммунной реакции использован генный анализ. Авторами были получены схожие результаты: генная сигнатура, детерминирующая высокий уровень иммунного ответа, предсказывала высокую вероятность достижения ПМЭ, причем при всех подтипах РМЖ – тройном негативном, HER2(+) и гормонозависимом HER2(-) ( $p = 0,004$ ).

Y. Mao и соавт. [72] проанализировали данные 13 опубликованных исследований по неoadъювантной химиотерапии с участием в общей сложности 3251 больной. В анализируемых работах оценивалась предсказывающая роль ИОЛ в целом, а также отдельных популяций лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD8+, FoxP3+) и их соотношения. Согласно полученным данным, высокое содержание ИОЛ на момент начала лечения коррелировало с более высокой вероятностью достижения ПМЭ (ОШ 3,93, 95% ДИ: 3,26–4,73), однако эта закономерность обнаруживалась только при тройном негативном (ОШ 2,49, 95% ДИ: 1,61–3,83) и HER2(+) (ОШ 5,05, 95% ДИ: 2,86–8,92), но не гормонозависимом РМЖ (ОШ 6,21, 95% ДИ: 0,86–45,15). При многофакторном анализе содержание ИОЛ оказалось независимым предсказывающим маркером достижения ПМЭ (ОШ 1,41, 95% ДИ: 1,19–1,66). Анализ предсказывающей роли отдельных субпопуляций ИОЛ показал, что более высокое содержание CD8+ и FoxP3+ лимфоцитов до лечения ассоциировалось с большей вероятностью достижения ПМЭ (ОШ 6,44, 95% ДИ: 2,52–16,46; ОШ 2,94, 95% ДИ: 1,05–8,26), а содержание FoxP3+ ИОЛ в резидуальной опухоли, наоборот, ассоциировалось с меньшей эффективностью лечения по данным однофакторного (ОШ 0,41, 95% ДИ: 0,21–0,80) и многофакторного (ОШ 0,36, 95% ДИ: 0,13–0,95) анализом. Наряду с констатацией предсказывающей роли ИОЛ в целом авторами сделан вывод о различной роли подтипов ИОЛ в предсказании эффекта химиотерапии.

**ИОЛ и эффективность производных платины.** Значение производных платины (карбоплатина) у больных тройным негативным и HER2(+) РМЖ было изучено в исследовании GeparSixto, на которое мы уже ссылались выше. В этом исследовании 580 больных получали неoadъювантную химиотерапию антрациклинами и таксанами в сочетании и без карбоплатина; больные тройным негативным РМЖ ( $n = 314$ ; 54,1%) получали также бевацизумаб, а HER2(+) РМЖ ( $n = 266$ ; 45,9%) – трастузумаб и лапатиниб. При однофакторном и многофакторном анализе выраженность лимфоидной инфильтрации оказалась независимым фактором, предсказывающим достижение ПМЭ во всей группе больных. Сравнение результатов лечения в подгруппах больных, получавших и не получавших карбоплатин, показало, что среди пациенток с ИОЛ(+) добавление карбоплатина существенно повышало эффективность лечения, увеличивая шанс достижения ПМЭ в 3,71 раза, в то время как в подгруппе с ИОЛ(-) добавление карбоплатина практически не влияло на эффективность терапии. Среди больных с ИОЛ(+) более высокая эффективность лечения при добавлении карбоплатина была отмечена при обоих фенотипах – тройном негативном (74% против 43% в сочетании с карбоплатином и без него) и HER2(+) (78% против 50% в сочетании с карбоплатином и без него), однако различия достигли статистической значимости только во всей когорте больных ( $p = 0,002$ ) и при HER2(+) подтипе ( $p = 0,006$ ), но не при тройном негативном варианте [60].

**ИОЛ и эффективность трастузумаба.** Известно,

что иммунная система макроорганизма влияет на эффективность трастузумаба, который оказывает противоопухолевое действие как посредством блокирования HER2-сигнального пути, так и через иммунную систему с помощью активации FcR-опосредованной цитотоксичности. Из экспериментов на животных известно, что при подавлении адоптивного и Т-клеточного иммунитета препараты, схожие с трастузумабом, оказываются неэффективными. Ряд исследований показали, что трастузумаб вызывает аттракцию макрофагов и естественных киллеров, т. е. клеток, задействованных в реализации антителозависимой клеточной цитотоксичности, что в свою очередь приводит к активации и пролиферации цитотоксических противоопухолевых Т-лимфоцитов. Существование взаимосвязи между иммунными механизмами и эффективностью трастузумаба было показано R. Gennari и соавт. [73] еще в 2004 г.: в небольшом поисковом исследовании с участием 11 больных выраженной исходной степенью лимфоидной инфильтрации опухоли коррелировала с высокой эффективностью. В настоящее время мы располагаем результатами крупных ретроспективных анализов. S. Loi и соавт. [13] оценили эффективность трастузумаба в зависимости от выраженности лимфоидной инфильтрации у 209 больных, получивших лечение (химиотерапия ± трастузумаб) в рандомизированном клиническом исследовании FinHER. Авторы установили статистически значимую ( $p = 0,025$ ) зависимость между эффективностью трастузумаба и выраженностью лимфоидной инфильтрации: каждое увеличение на 10% количества ИОЛ ассоциировалось со снижением риска возникновения отдаленных метастазов на 18%. Влияние на общую выживаемость не достигло статистической значимости ( $p = 0,08$ ).

Сопоставление генного профиля с результатами лечения 1282 больных, принявших участие в исследовании NCCTG № 9831, позволило E. Perez и соавт. [74] выделить гены, ответственные за иммунную реакцию и ассоциирующиеся с эффективностью трастузумаба (ОР 0,55;  $p = 0,0005$ ). С помощью количественной оценки мРНК 87 генов, ответственных за развитие иммунного ответа (хемотаксис, активация В- и Т-лимфоцитов, цитокиноопосредованные сигнальные пути), HER2(+) опухоли были разделены на иммунологически активные и иммунологически не активные подтипы. Выигрыш в безрецидивной выживаемости (БРВ) от добавления трастузумаба к химиотерапии имели только пациенты с иммунологически активными опухолями (ОР 0,36; 95% ДИ: 0,23–0,56;  $p < 0,001$ ).

Позднее теми же авторами был проведен анализ БРВ в зависимости от содержания ИОЛ у 945 больных HER2(+) РМЖ, принимавших участие в этом же исследовании (NCCTG № 9831). Пациенты получали адьювантную химиотерапию антрациклинами и таксанами в сочетании с трастузумабом ( $n = 456$ ; группа С) или без него ( $n = 489$ ; группа А). У 54% больных опухоли были гормонозависимыми; у 14% больных – без поражения регионарных лимфатических узлов (N0); примерно в 10% случаев опухоли характеризовались как ИОЛ(+). При многофакторном анализе ИОЛ(+) вариант опухоли ассоциировался с увеличением БРВ в группе А (без трастузумаба) (ОР 0,20; 95% ДИ: 0,064–0,65,  $p = 0,007$ ), но не в группе С (с трастузумабом) (ОР 1,1; 95% ДИ: 0,42–2,8,  $p = 0,87$ ); различия оказались статистически значимыми ( $p = 0,042$ ). В группе А (без трастузумаба) расчетная 10-летняя БРВ составила 90,9 и 64,5% при ИОЛ(+) и ИОЛ(-) вариантах опухоли соответственно (ОР 0,23; 95% ДИ 0,073–0,73,  $p = 0,013$ ); в группе С (с трастузумабом) этот показатель существенно не различался и составил 80,0 и 80,1% при ИОЛ(+) и

ИОЛ(-) вариантах (ОР 1,26; 95% ДИ: 0,5–3,2,  $p = 0,63$ ). Таким образом, согласно полученным данным, добавление трастузумаба к химиотерапии влияло на БРВ при ИОЛ(-) подтипе РМЖ (расчетная 10-летняя БРВ составила 80,1 и 64,5% в группах с трастузумабом и без него;  $p < 0,0001$ ) и не привело к существенному улучшению отдаленных результатов лечения больных с ИОЛ(+) типом опухоли: расчетная 10-летняя БРВ в группе химиотерапии без трастузумаба оказалась даже несколько выше и составила 90,9% против 80% в группе с трастузумабом, хотя различия не достигли статистической значимости ( $p = 0,22$ ) [75].

Полученные данные представляют особый интерес, поскольку до настоящего времени все попытки обнаружить какие-либо дополнительные (помимо гиперэкспрессии или амплификации HER2) маркеры эффективности трастузумаба были безуспешными. Дополнительную информацию о предсказывающей роли лимфоидной инфильтрации может дать изучение корреляции между эффективностью лечения, подтипами ИОЛ и иммунным генным профилем опухоли.

Возможно, существует небольшая когорта больных (около 10%) с ИОЛ(+) вариантом опухоли, которые не нуждаются в назначении трастузумаба. Как мы уже упоминали выше, эффект трастузумаба частично реализуется через иммунные механизмы. Вероятно, выраженная лимфоидная инфильтрация, отражая максимальную активность адоптивного иммунитета, свидетельствует о том, что больные уже «аутоиммунизированы» против своей опухоли, поэтому дополнительная стимуляция защитных реакций с помощью трастузумаба не улучшает результатов лечения.

**Прогностическое значение ИОЛ.** Идентификация факторов, ассоциирующихся с высоким риском рецидива, является одним из ключевых моментов при планировании лекарственной терапии раннего РМЖ. Взаимосвязь между выраженностью лимфоидной инфильтрации опухоли и эффективностью химиотерапии создала предпосылки для изучения прогностической роли ИОЛ. S. Loi и соавт. [11] ретроспективно сопоставили отдаленные результаты лечения (БРВ и общую выживаемость – ОВ) с количеством ИОЛ у 2009 больных ранним РМЖ, получивших адьювантную химиотерапию в рамках проспективного рандомизированного исследования BIG 02–98, которое уже упоминалось выше. Напомним, что основной целью исследования было сравнение эффективности антрациклинсодержащих и антрациклин/таксансодержащих режимов адьювантной химиотерапии (в период проведения исследования трастузумаб не использовался рутинно в адьювантной терапии) В исследование включались больные с метастазами в подмышечных лимфатических узлах; у 76% больных опухоли были гормонозависимыми. При анализе степени выраженности и состава ИОЛ (стромальные, интратуморальные, а также ИОЛ(+)) не было выявлено статистически значимых корреляций с БРВ и ОВ во всей группе больных, а также в подгруппах больных с РЭ(+)/HER2(-) и HER2(+) опухолями. В то же время при тройном негативном фенотипе все три варианта лимфоидной инфильтрации оказались прогностически значимыми для БРВ и ОВ: увеличение интратуморальной и стромальной лимфоидной инфильтрации на каждые 10% ассоциировалось со снижением риска рецидива на 17 и 15% ( $p = 0,1$  и  $p = 0,025$  соответственно) и смерти на 27 и 17% ( $p = 0,035$  и  $p = 0,023$  соответственно) независимо от режима адьювантной химиотерапии. В подгруппе тройного негативного РМЖ 5-летняя БРВ составила 92% при ИОЛ(+) в сравнении с 62% при ИОЛ(-) (ОР 0,30; 95% ДИ: 0,11–0,81;  $p = 0,018$ ), а 5-летняя ОВ – 92 и 71% для

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ИОЛ(+) и ИОЛ(-) вариантов соответственно (ОР 0,29; 95% ДИ: 0,091–0,92;  $p = 0,036$ ). Интересно, что 5-летние результаты лечения ИОЛ(+) тройного негативного РМЖ были сопоставимы с аналогичными показателями в прогностически наиболее благоприятной подгруппе больных РЭ(+)/HER2(-) РМЖ.

Аналогичный анализ выраженности лимфоидной инфильтрации опухоли у больных ( $n = 935$ ), получавших адъювантную терапию в исследовании FinHER, также обнаружил корреляцию между стромальными и интрагуморальными ИОЛ и БРВ, но только при тройном негативном варианте РМЖ: в этом исследовании каждому увеличению на 10% количества ИОЛ соответствовало снижение риска возникновения отдаленных метастазов на 13% (ОР 0,77; 95% ДИ: 0,61–0,98,  $p = 0,02$ ); различия по ОВ не достигли статистической значимости, возможно из-за небольшого количества больных [13].

Прогностическое значение стромальной лимфоидной инфильтрации при тройном негативном РМЖ было показано также в объединенной группе больных ( $n = 481$ ), принимавших участие в двух рандомизированных исследованиях III фазы ESOG 2197 и ESOG 1199 [12]. При медиане времени наблюдения 10,6 года увеличение на 10% количества стромальных ИОЛ приводило к снижению риска появления отдаленных метастазов на 18% ( $p = 0,04$ ) и риска смерти на 19% ( $p = 0,01$ ). При многофакторном анализе степень лимфоидной инфильтрации стромы опухоли оказалась независимым прогностическим фактором для БРВ и ОВ.

H. Ali и соавт. [26] проанализировали содержание CD8+ и FoxP3+ лимфоцитов в опухолевой ткани 12 439 больных РМЖ, получавших различные варианты адъювантной лекарственной терапии, и сопоставили полученные данные с выживаемостью. Эта работа объединила данные четырех исследований – трех observationalных и одного рандомизированного и является крупнейшим по числу участниц анализом ИОЛ при РМЖ. Авторами показано, что при РЭ(-) опухолях (тройные негативные, HER2(+)) интрагуморальная и стромальная инфильтрация CD8+ Т-лимфоцитами ассоциировалась со снижением риска смерти от РМЖ на 28% (95% ДИ: 0,62–0,84;  $p = 0,00003$ ) и 21% (95% ДИ: 0,67–0,93;  $p = 0,004$ ) соответственно и, по данным многофакторного анализа, была независимым фактором прогноза. Кроме того, в подгруппе больных с РЭ(-) РМЖ эффективность антрациклинов была выше при наличии CD8+ лимфоидной инфильтрации опухоли по сравнению с ее отсутствием (ОР = 0,54; 95% ДИ: 0,37–0,79). При РЭ(+) опухолях присутствие CD8+ ИОЛ не влияло на показатели специфической выживаемости. Инфильтрации FoxP3+ Т-лимфоцитами не имела прогностического значения независимо от содержания РЭ в опухоли.

Таким образом, с позиции современных иммунологических представлений активация иммунной системы служит своеобразным медиатором эффективности противоопухолевых методов лечения, включая цитотоксическую, лучевую и биотерапию (терапию антителами), которые в свою очередь запускают механизмы «иммуногенной» гибели опухолевых клеток, активизирующие иммунную систему. Если эта гипотеза верна, то, во-первых, традиционные виды противоопухолевой терапии должны быть эффективными только при определенной степени выраженности иммунной реакции вблизи опухоли. Во-вторых, сохраняющаяся после лечения иммунная активация должна коррелировать с прогнозом и, следовательно, может помочь выделить пациентов, не нуждающихся в дополнительных видах лечения. Наконец, это предположение делает обоснованным

поиск препаратов, способных обеспечить адекватную иммунную реакцию у тех пациентов, у которых она не возникает самостоятельно в ответ на стандартное противоопухолевое лечение [68]. Направленность иммунного взаимодействия между макроорганизмом и опухолью заложена на генном уровне: в одних случаях внутренние свойства опухоли (генотип) определяют синергизм действия иммунной системы и противоопухолевой терапии. В других случаях влияние опухоли на воспалительные сигнальные пути, наоборот, способствует росту и метастазированию. Поскольку генный анализ все еще остается малодоступной методикой, мы можем косвенно оценить состояние иммунной системы макроорганизма по количеству иммунокомпетентных клеток (главным образом, ИОЛ), концентрирующихся вблизи опухоли. Методика оценки этого показателя сегодня стандартизирована.

Ряд крупных ретроспективных анализов показал, что количество ИОЛ коррелирует с эффективностью химиотерапии, в частности вероятностью достижения ПМЭ, и прогнозом заболевания по крайней мере при тройном негативном и HER2(+) РМЖ. Это может помочь выделить подгруппу больных с ИОЛ(+) вариантом РМЖ и ожидаемой высокой эффективностью химиотерапии, у которых объем лечения (например, нео- или адъювантного) может быть сокращен без ущерба эффективности. Возможно, при отсутствии или низком содержании ИОЛ в опухоли рассчитывать на достижение ПМЭ не стоит и больных с первично операбельным процессом, которым сегодня зачастую проводится предоперационная химиотерапия, лучше оперировать на первом этапе. В ряде исследований выраженность лимфоидной инфильтрации оказалась независимым предсказывающим фактором эффективности некоторых препаратов, в частности трастузумаба и карбоплатина. Безусловно, все эти результаты являются ретроспективным материалом, однако их практическая и теоретическая значимость обосновывает целесообразность проведения соответствующих проспективных исследований. Это может дать нам дополнительные предсказывающие и прогностические инструменты, а также пополнить перечень стратификационных признаков при проведении клинических исследований. Наконец, коль скоро РМЖ с выраженной лимфоидной инфильтрацией поддается лечению лучше, стоит попытаться найти способ превращения ИОЛ(-) опухолей в ИОЛ(+).

В настоящее время активно развивается новое направление в иммунотерапии рака – внедрение в клиническую практику препаратов анти-PD1- и анти-PDL1-направленности. PD-1 является трансмембранным белком и экспрессируется на эффекторных Т-лимфоцитах, в норме служит для защиты нормальных клеток от аутоиммунной реакции в условиях инфекции и воспаления. PD-1 имеет два лиганда – PD-L1 и PD-L2, экспрессирующихся на поверхности антигенпрезентирующих клеток. PD-L1 присутствует также на клетках большинства опухолей. При взаимодействии PD-1 с лигандом угнетается активность Т-лимфоцитов, запускается апоптоз. В доклинических работах было показано, что блокирование взаимодействия рецептора и лиганда приводит к активации противоопухолевого цитотоксического действия лимфоцитов. Новый таргетный препарат ниволумаб, представляющий собой моноклональное антитело к PD-1, показал свою эффективность при лечении диссеминированного почечно-клеточного рака, немелкоклеточного рака легкого, меланомы [76]. Ведется активный поиск молекулярных маркеров, предсказывающих эффективность новых иммунонаправленных препаратов. J. Taube и соавт. [77] показали, что выраженность лимфоидной инфильтра-

ции напрямую связана с уровнем экспрессии PD-L1 в опухоли ( $p < 0.01$ ). Увеличение числа ИОЛ в опухоли в процессе лечения положительно коррелирует с эффективностью ипилимумаба [78]. Оценка ИОЛ может быть полезна при отборе пациентов, которые могут иметь наибольший выигрыш от назначения таргетных иммунопрепаратов и в будущем способствовать внедрению иммунотерапии в лечение РМЖ.

Необходимо подчеркнуть также, что в большинстве работ, которые были проанализированы в данном обзоре, оценка выраженности лимфоидной инфильтрации проводилась по обычным гистологическим препаратам, окрашенным гематоксилином и эозином, что не требовало дорогостоящих реактивов и сложных методик подсчета, поэтому в случае валидации данного показателя он может без труда быть включен в перечень обязательных характеристик опухоли, оцениваемых морфологом при плановом гистологическом исследовании.

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

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Kim R., Emi M., Tanabe K. Cancer immunoediting from immune surveillance to immune escape. *Immunology*. 2007; 121: 1–14.
- Stewart T.J., Abrams S.I. How tumors escape mass destruction. *Oncogene*. 2008; 27: 5894–903.
- Li Q., Teitz-Tennenbaum S., Donald E.J. et al. In vivo sensitized and in vitro activated B cells mediate tumor regression in cancer adoptive immunotherapy. *J. Immunol*. 2009. 183: 3195–203.
- Nelson B.H. CD20+ B cells: the other tumor-infiltrating lymphocytes. *J. Immunol*. 2010; 185 (9): 4977–82.
- Manson L.A. Does antibody-dependent epitope masking permit progressive tumor growth in the face of cell-mediated cytotoxicity? *Immunol. Today*. 1991; 12: 352–5.
- Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013; 39: 1–10.
- Yannelli J.R., Hyatt C., McConnell S. et al. Growth of tumor-infiltrating lymphocytes from human solid cancers: summary of a 5-year experience. *Int. J. Cancer*. 1996; 65: 413–21.
- Rosenberg S.A., Spiess P., Lafreniere R. A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with tumor-infiltrating lymphocytes. *Science*. 1986; 233: 1318–21.
- Rosenberg S., Yang J., Sherry R. et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin. Cancer Res*. 2011; 17 (13): 4550–7.
- Aaltomaa S., Lipponen P., Eskelinen M. et al. Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *Eur. J. Cancer*. 1992; 28A: 859–64.
- Loi S., Sirtaine N., Piette F. et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in a phase III randomized adjuvant breast cancer trial in node-positive breast cancer comparing the addition of docetaxel to doxorubicin with doxorubicin-based chemotherapy: BIG 02–98. *J. Clin. Oncol*. 2013; 31: 860–7.
- Adams S., Demaria S., Goldstein L. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers from two phase III randomized adjuvant breast cancer trials: ECOG 2197 and ECOG 1199. *J. Clin. Oncol*. 2014; 32: 2959–66.
- Loi S., Michiels S., Salgado R. et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann. Oncol*. 2014; 25 (8): 1544–50.
- Артамонова Е.В. Роль иммунофенотипирования опухолевых клеток в диагностике и прогнозе рака молочной железы: Дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 2003. Artamonova E.V. *The Role of Immunophenotyping of Tumor Cells in the Diagnosis and Prognosis of Breast Cancer*: Diss. Moscow; 2003. (in Russian)
- Жукова Л.Г. Клинические и фундаментальные аспекты прогноза и рационального лечения рака молочной железы с тройным негативным фенотипом: Дисс. ... д-ра мед. наук. М.; 2015. Zhukova L.G. *Clinical and Fundamental Aspects of the Prognosis and Rational Treatment of Breast Cancer with Triple Negative Phenotype*: Diss. Moscow; 2015. (in Russian)
- West N.R., Kost S.E., Martin S.D. et al. Tumor-infiltrating FOXP3(+) lymphocytes are associated with cytotoxic immune responses and good clinical outcome in oestrogen receptor-negative breast cancer. *Br. J. Cancer*. 2013; 108 (1): 155–62.
- Yamaguchi R., Tanaka M., Yano A. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are important pathologic predictors for neoadjuvant chemotherapy in patients with breast cancer. *Hum. Pathol*. 2012; 43 (10): 1688–94.
- Lee S., Cho E.Y., Park Yh. et al. Prognostic impact of FOXP3 expression in triple-negative breast cancer. *Acta Oncol*. 2013; 52 (1): 73–81.
- Demir L., Yigit S., Ellidokuz H. et al. Predictive and prognostic factors in locally advanced breast cancer: effect of intratumoral FOXP3+ Tregs. *Clin. Exp. Metastas*. 2013; 30 (8): 1047–62.
- Melichar B., Studentova H., Kalabová H. et al. Predictive and prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with breast cancer treated with neoadjuvant systemic therapy. *Anticancer Res*. 2014; 34 (3): 1115–25.
- Koh Y.W., Lee H.J., Ahn J.H. et al. Prognostic significance of the ratio of absolute neutrophil to lymphocyte counts for breast cancer patients with ER/PR positivity and HER2-negativity in neoadjuvant setting. *Tumor Biol*. 2014; 35 (10): 9823–30.
- Schatton T., Scolyer R.A., Thompson J.F. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and their significance in melanoma prognosis. *Meth. Mol. Biol*. 2014; 1102: 287–324.
- García-Martínez E., Gil G.L., Asunción Chaves Benito A.C. et al. Tumor-infiltrating immune cell profiles and their change after neoadjuvant chemotherapy predict response and prognosis of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2014; 16 (6): 488.
- Gu-Trantien C., Loi S., Garaud S. et al. CD4(+) follicular helper T cell infiltration predicts breast cancer survival. *J. Clin. Invest*. 2013; 123 (7): 2873–92.
- Emens L.A. Breast cancer immunobiology driving immunotherapy: vaccines and immune checkpoint blockade. *Expert Rev. Anticancer Ther*. 2012; 12 (12): 1597–611.
- Ali H.R., Provenzano E., Dawson S.J. et al. Association between CD8+ T-cell infiltration and breast cancer survival in 12439 patients. *Ann. Oncol*. 2014; 25: 1536–43.
- Mahmoud S.M., Paish E.C., Powe D.G. et al. Tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes predict clinical outcome in breast cancer. *J. Clin. Oncol*. 2011; 29 (15): 1949–55.
- Mahmoud S., Lee A., Ellis I., Green A. CD8(+) T lymphocytes infiltrating breast cancer: A promising new prognostic marker? *Oncoimmunology*. 2012; 1 (3): 364–5.
- Godet Y. et al. Analysis of spontaneous tumor-specific CD4 T-cell immunity in lung cancer using promiscuous HLA-DR telomerase derived epitopes: potential synergistic effect with chemotherapy response. *Clin. Cancer Res*. 2012; 18 (10): 2943–53.
- Ruffell B., Au A., Rugo H.S. et al. Leukocyte composition of human breast cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2012; 109: 2796–801.
- Bos R., Marquardt K.L., Cheung J., Sherman L.A. Functional differences between low- and high-affinity CD8(+) T cells in the tumor environment. *Oncoimmunology*. 2012; 1 (8): 1239–47.
- Bos R., Sherman L.A. CD4+ T-cell help in the tumor milieu is required for recruitment and cytolytic function of CD8+ T lymphocytes. *Cancer Res*. 2010; 70 (21): 8368–77.
- Faghhih Z., Erfani N., Haghshenas M.R. et al. Immune profiles of CD4+ lymphocyte subsets in breast cancer tumor draining lymph nodes. *Immunol. Lett*. 2014; 158 (1–2): 57–65.
- Droeser R., Zlobec I., Kilic E. et al. Differential pattern and prognostic significance of CD4+, FOXP3+ and IL-17+ tumor infiltrating lymphocytes in ductal and lobular breast cancers. *BMC Cancer*. 2012; 12: 134.
- Gooden M.J.M., de Bock G.H., Leffers N. et al. The prognostic influence of tumor-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br. J. Cancer*. 2011; 105 (1): 93–103.
- de Leeuw R.J., Kost S.E., Kakal J.A., Nelsonde B.H. The prognostic value of FoxP3+ tumor-infiltrating lymphocytes in cancer: a critical review of the literature. *Clin. Cancer Res*. 2012; 18 (11): 3022–9.
- Tan W., Zhang W., Strasner A. et al. Fibroblast-recruited, tumor-infil-

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

- trating CD4+ T-cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signaling. *Nature*. 2011; 470: 548–53.
38. Bates G.J., Fox S.B., Han C. et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *J. Clin. Oncol.* 2006; 24: 5373–80.
39. Ladoire S., Arnould L., Apetoh L. et al. Pathologic complete response to neoadjuvant chemotherapy of breast carcinoma is associated with the disappearance of tumor-infiltrating FOXP3+ regulatory T cells. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 2413–20.
40. Liu S., Lachapelle J., Leung S. et al. CD8+ lymphocyte infiltration is an independent favorable prognostic indicator in basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2012; 14 (2): R48.
41. Ono M., Tsuda H., Shimizu C. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2012; 132 (3): 793–805.
42. Krell J., Frampton A.E., Stebbing J. The clinical significance of tumor infiltrating lymphocytes in breast cancer: does subtype matter? *BMC Cancer.* 2012; 12: 135–6.
43. Loi S., Sirtaine N., Piette F. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes, breast cancer subtypes and therapeutic efficacy. *Oncoimmunology.* 2013; 2 (7): e24720.
44. Cimino-Mathews A., Ye X., Meeker A. et al. Metastatic triple-negative breast cancers at first relapse have fewer tumor-infiltrating lymphocytes than their matched primary breast tumors: a pilot study. *Hum. Pathol.* 2013; 44 (10): 2055–63.
45. Kim S.T., Jeong H., Woo O.H. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes, tumor characteristics, and recurrence in patients with early breast cancer. *Am. J. Clin. Oncol.* 2013; 36 (3): 224–31.
46. Jia Y., Xu L., Lin Q. et al. Levels of lymphocyte subsets in peripheral blood prior treatment are associated with aggressive breast cancer phenotypes or subtypes. *Med. Oncol.* 2014; 31 (6): 981.
47. Martinet L., Filleron T., Guellec S.L. et al. High endothelial venule blood vessels for tumor-infiltrating lymphocytes are associated with lymphotoxin beta producing dendritic cells in human breast cancer. *J. Immunol.* 2013; 191: 2001–8.
48. Nakakubo Y., Miyamoto M., Cho Y. et al. Clinical significance of immune cell infiltration within gallbladder cancer. *Br. J. Cancer.* 2003; 89: 1736–42.
49. Gao Q., Qiu S.J., Fan J. et al. Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection. *J. Clin. Oncol.* 2007; 25: 2586–93.
50. Kobayashi N., Hiraoka N., Yamagami W. et al. FOXP3+ regulatory T cells affect the development and progression of hepatocarcinogenesis. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 902–11.
51. Tomsova M., Melichar B., Sedlakova I., Steiner I. Prognostic significance of CD3+ tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian carcinoma. *Gynecol. Oncol.* 2008; 108: 415–20.
52. Zhang L., Conejo-Garcia J.R., Katsaros D. et al. Intratumoral T-cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer. *N. Engl. J. Med.* 2003; 348: 203–13.
53. Yamagami W., Susumu N., Tanaka H. et al. Immunofluorescence-detected infiltration of CD4+FOXP3+ regulatory T cells is relevant to the prognosis of patients with endometrial cancer. *Int. J. Gynecol. Cancer.* 2011; 21: 1628–34.
54. Ino K., Yamamoto E., Shibata K. et al. Inverse correlation between tumoral indoleamine-2,3-dioxygenase expression and tumor-infiltrating lymphocytes in endometrial cancer: Its association with disease progression and survival. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14: 2310–7.
55. Kondratiev S., Sabo E., Yakirevich E., Lavie O., Resnick M.B. Intratumoral CD8+ T lymphocytes as a prognostic factor of survival in endometrial carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 4450–6.
56. de Jong R.A., Leffers H.M., ten Hoor K.A. et al. Presence of tumor-infiltrating lymphocytes is an independent prognosis factor in type I and II endometrial cancer. *Gynecol. Oncol.* 2009; 114: 105–10.
57. Naito Y., Saito K., Shiiba K. et al. CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998; 58 (16): 3491–4.
58. Menon A.G., Janssen-Van Rhijn C.M., Morreau H. et al. Immune system and prognosis in colorectal cancer: a detailed immunohistochemical analysis. *Lab. Invest.* 2004; 84 (4): 493–501.
59. Salgado R., Denkert C., Demaria S., Sirtaine N. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann. Oncol.* 2015; 26: 259–71.
60. Denkert C., von Minckwitz G., Brase J.C. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J. Clin. Oncol.* 2015; 33: 983–91.
61. Denkert C., Loibl S., Noske A. et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 105–13.
62. Mohammed Z., Going J.J., Edwards J. et al. The relationship between components of tumor inflammatory cell infiltrate and clinicopathological factors and survival in patients with primary operable invasive ductal breast cancer. *Br. J. Cancer.* 2012; 107: 864–73.
63. Seo A.N., Lee H.J., Kim E.J. et al. Tumour-infiltrating CD8+ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *Br. J. Cancer.* 2013; 109: 2705–13.
64. Zitvogel L., Kepp O., Kroemer G. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2011; 8 (3): 151–60.
65. Demaria S., Volm M.D., Shapiro R.L. et al. Development of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer after neoadjuvant paclitaxel chemotherapy. *Clin. Cancer Res.* 2001; 7 (10): 3025–30.
66. Tsavaris N., Kosmas C., Vadiaka M. et al. Immune changes in patients with advanced breast cancer undergoing chemotherapy with taxanes. *Br. J. Cancer.* 2002; 87 (1): 21–7.
67. Emens L.A., Asquith J.M., Leatherman J.M. et al. Timed sequential treatment with cyclophosphamide, doxorubicin, and an allogeneic granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-secreting breast tumor vaccine: a chemotherapy dose-ranging factorial study of safety and immune activation. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27 (35): 5911–8.
68. Andre F., Dieci M.V., Dubsky P. et al. Molecular Pathways: Involvement of Immune Pathways in the Therapeutic Response and Outcome in Breast Cancer. *Clin. Cancer Res.* 2013; 19 (1): 28–33.
69. Ladoire S., Mignot G., Dabakuyo S. et al. In situ immune response after neoadjuvant chemotherapy for breast cancer predicts survival. *J. Pathol.* 2011; 224: 389–400.
70. Hornychova H., Melichar B., Tomsova M. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to neoadjuvant chemotherapy in patients with breast carcinoma. *Cancer Invest.* 2008; 26: 1024–31.
71. Ignatiadis M., Singhal S.K., Desmedt C. et al. Gene modules and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer subtypes: a pooled analysis. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30: 1996–2004.
72. Mao Y., Qu Q., Zhang Y. et al. The value of tumor infiltrating lymphocytes (TILs) for predicting response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014; 9 (12): e115103.
73. Gennari R., Menard S., Fagnoni F. et al. Pilot study of the mechanism of action of preoperative trastuzumab in patients with primary operable breast tumors overexpressing HER2. *Clin. Cancer Res.* 2004; 10: 5650–5.
74. Perez E.A., Thompson E.A., Ballman K.V. et al. Genomic analysis reveals that immune function genes are strongly linked to clinical outcome in the North Central Cancer Treatment Group n9831 Adjuvant Trastuzumab Trial. *J. Clin. Oncol.* 2015; 33 (7): 701–8.
75. Perez E.A., Ballman K.V., Anderson S.K. et al. Stromal tumor-infiltrating lymphocytes (S-TILs): In the alliance N9831 trial S-TILs are associated with chemotherapy benefit but not associated with trastuzumab benefit. In: *San Antonio Breast Cancer Symposium*. 2014: S1–06.
76. Brahmer J.R., Tykodi S.S., Chow L.Q. et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N. Engl. J. Med.* 2012; 366 (26): 2455–65.
77. Taube J.M., Klein A., Brahmer J.R. et al. Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin. Cancer Res.* 2014; 20 (19): 5064–74.
78. Hamid O., Schmidt H., Nissan A. et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J. Transl. Med.* 2011; 9: 204–19.

К ст. М.Б. Стениной и соавт.

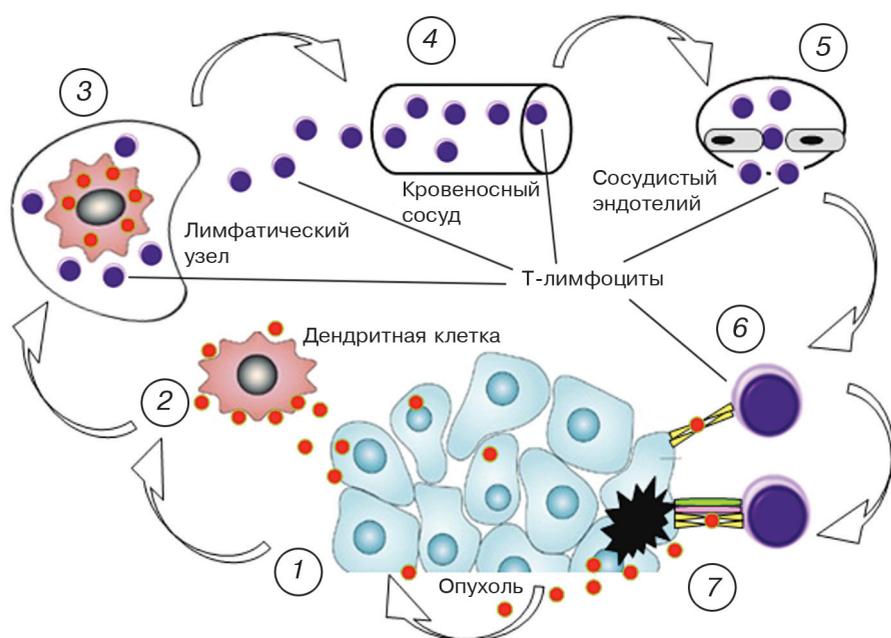


Рис. 1. Основные этапы противоопухолевого иммунного цикла.

1 – высвобождение опухолевых антигенов в результате гибели опухолевых клеток; 2 – захват высвободившихся опухолевых антигенов антигенпрезентирующими/дендритными клетками; 3 – миграция дендритных клеток в лимфатические узлы, презентация опухолевых антигенов дендритными клетками в составе комплексов гистосовместимости Т-лимфоцитам, стимуляция пролиферации и дифференцировки антигенспецифических Т-лимфоцитов; 4 – миграция «обученных» и активированных эффекторных Т-лимфоцитов (цитотоксических лимфоцитов) к опухоли; 5 – инфильтрация опухоли цитотоксическими Т-лимфоцитами; 6 – распознавание опухолевых клеток и связывание с ними; 7 – уничтожение опухолевых клеток с высвобождением дополнительного количества антигенов (цит. по Chen D. и Mellman I. [6]).

Рис. 2. Интрамуральные лимфоциты, непосредственно соприкасающиеся с опухолевыми клетками (1), и стромальные лимфоциты, расположенные между скоплениями опухолевых клеток (2) [59].

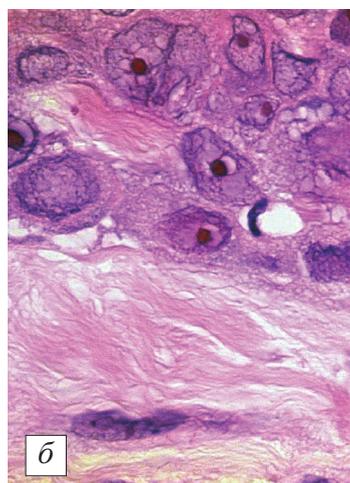
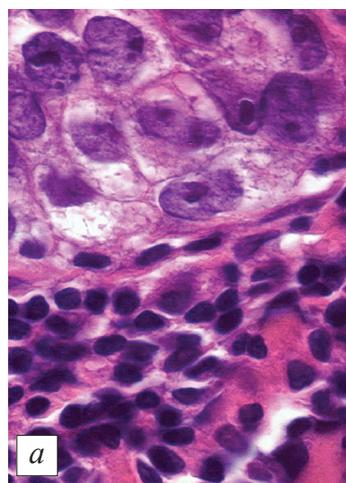
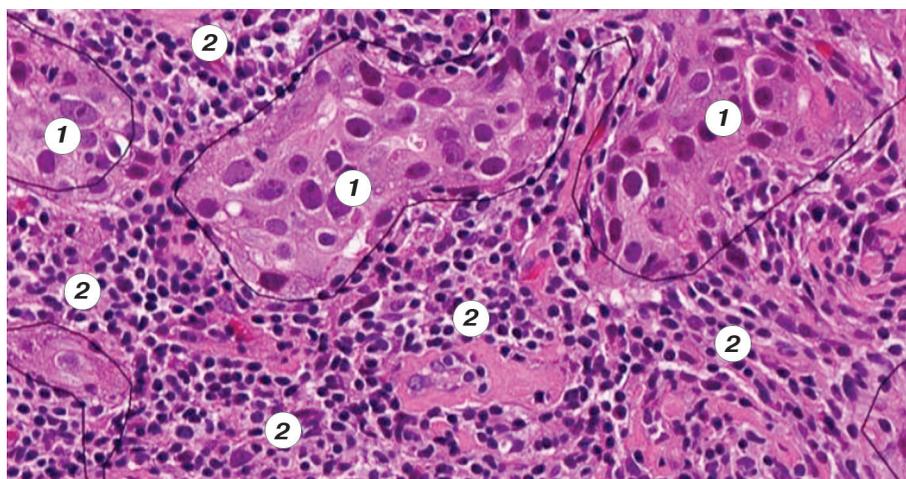


Рис. 3. Образцы лимфоцит-предоминантного типа опухоли (а) и опухоли с минимальным содержанием инфильтрирующих лимфоцитов (б) [59].