

НЕКОТОРЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ТРИЖДЫ НЕГАТИВНОГО РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

**К.С. Титов², А.М. Казаков¹, М.А. Барышникова¹, Д.А. Рябчиков¹,
С.В. Чулкова^{1,3}, Д.А. Зарьянов²**

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии
имени Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва

² ГБУЗ г. Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова»
Департамента здравоохранения г. Москвы

³ ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, Москва

Цель исследования. Провести анализ данных современной литературы о влиянии ряда молекулярных и иммунологических факторов на прогноз при трижды негативном раке молочной железы (ТНРМЖ). Дать оценку их значимости и потенциальному практическому применению.

Материал и методы. В обзор включены данные, опубликованные в ведущих зарубежных журналах за последние 10 лет.

Результаты. Описано прогностическое значение экспрессии различных маркеров стволовых клеток, а также сочетаний данных маркеров на течение трижды негативного рака молочной железы. Дана оценка влияния элементов клеточного микроокружения — макрофагов и опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов — на прогноз заболевания. Проанализирована возможность определения прогноза заболевания, учитывая комбинированную оценку представленных прогностических факторов.

Заключение. Агрессивное течение и неблагоприятный прогноз при ТНРМЖ диктуют необходимость в более глубоком изучении его биологических особенностей, выявлении новых факторов прогноза заболевания. Изучение фенотипа стволовых клеток опухоли (СКО), степени выраженности и состава лимфоидной инфильтрации, макрофагального статуса опухоли позволит лучше понять биологические свойства ТНРМЖ и выработать новые подходы к прогнозированию, а в дальнейшем — к лечению данного заболевания.

Ключевые слова: тройной негативный рак молочной железы, стволовые клетки опухоли, лимфоидная инфильтрация, макрофаги M2.

SOME MOLECULAR AND IMMUNOLOGIC PROGNOSTIC FACTORS OF TRIPLE NEGATIVE BREAST CANCER

**K.S. Titov², A.M. Kazakov¹, M.A. Baryshnikova¹, D.A. Ryabchikov¹,
S.V. Chulkova^{1,3}, D.A. Zaryanov²**

¹ Federal State Budgetary Institution «N.N.Blokhin National Medical Research Center of Oncology»
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

² State Budgetary Healthcare Institution « A.S.Loginov Moscow Clinical Research Center» of the Moscow
Department of Healthcare

³ Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «N.I.Pirogov Russian National
Research Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation

Objective of the study is to conduct analysis of data of current literature on the influence of a number of molecular and immunologic factors on prognosis in triple negative breast cancer (TNBC) as well as to evaluate their significance and potential practical implementation.

Materials and Methods. The review comprises the data published in major academic periodicals over the past years.

Results. The article describes prognostic significance of the expression of different stem cell markers as well as of various combinations of these markers on the course of triple negative breast cancer (TNBC). The influence of components of the cell microenvironment — macrophages and tumor-infiltrating lymphocytes on the prognosis of the disease is evaluated. The possibility to determine prognosis of the disease considering integrated assessment of the presented prognostic factors, is analyzed in this paper.

Conclusion. Aggressive course and unfavourable prognosis for triple negative breast cancer necessitate more profound study of its biological properties, identification of novel prognostic factors of the disease. Research study of cancer stem cell (CSC) phenotype, expressivity and composition of lymphoid infiltration will provide a better understanding of biological features of triple negative breast cancer (TNBC) and to develop new approaches to prognosis, and later on — to the treatment of this disease.

Keywords: triple negative breast cancer, cancer stem cells, lymphoid infiltration, M2 macrophages.

Введение

Около 20% из всех молекулярных подтипов рака молочной железы приходится на ТНРМЖ, имеющий наихудший прогноз [1]. Это объясняется отсутствием мишеней для гормональной и таргетной терапии, высокой частотой отдаленного метастазирования и рецидивирования, меньшей безрецидивной и общей 5-летней выживаемостью [2, 3]. На прогноз ТНРМЖ влияет множество факторов, некоторые из них давно изучены и рутинно определяются в клинической практике, однако на данный момент активно изучаются новые прогностические факторы, такие как наличие и соотношение маркеров стволовых клеток опухоли (СКО), степень выраженности и состав лимфоидной инфильтрации, а также присутствие в опухолевой ткани макрофагов M2 [4, 5]. Особый интерес в данный момент представляет изучение СКО — клеток, имеющих сходство с нормальной стволовой клеткой (способность к самообновлению и к образованию специализированных типов клеток), но отличающихся способностью формировать и восстанавливать колонии опухолевых клеток, а также участвовать в процессах роста, инвазии, метастазирования и неоангиогенеза [6, 7]. В ряде работ показано, что определение уровня экспрессии маркеров СКО, указывающих на приобретение опухолевыми клетками стволовых свойств, может быть использовано для прогнозирования течения ТНРМЖ, риска рецидивирования и метастазирования [8, 9].

Стволовые клетки опухоли при ТНРМЖ

Традиционно СКО при РМЖ, в том числе при ТНРМЖ, считаются клетки, экспрессирующие кластеры дифференцировки CD44^(high)/

CD24^(low) и ALDH1 [10]. Стволовые свойства данных клеток были подтверждены экспериментально, когда из небольшой их популяции, выделенной из злокачественного новообразования женщины, при введении иммунодефицитным мышам образовывалась опухоль, содержащая как СКО, так и нестволовые клетки, идентичные по иммунофенотипу клеткам первичной опухоли [11]. В настоящее время к маркерам СКО также относят PROCR (рецептор протеина С) и ESA (эпителиальный специфический антиген) — (PROCR⁺/ESA⁺ клетки), а также CD49f⁺ (α6 интегрин), CD133⁺ (проминин), CD90⁺ (гликофосфатидилинозитол) [12, 13].

Клеточные линии, имеющие высокий процент экспрессии маркеров СКО, обладают выраженными канцерогенными свойствами, доказанными в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. При введении иммунодефицитным животным такие клеточные линии образуют опухолевую ткань быстрее и больших размеров по сравнению с клеточными линиями, не экспрессирующими СКО, за одинаковый период времени, что демонстрирует высокую способность СКО к самообновлению и пролиферации [12].

Помимо высокой пролиферативной активности СКО также усиливают метастатический потенциал злокачественных опухолей. Экспрессия ALDH1 достоверно коррелирует с наличием отдаленных метастазов и ухудшением прогноза при РМЖ, а также с хеморезистентностью [14, 15].

СКО присутствуют во всех молекулярных подтипах РМЖ, что было доказано экспериментально, однако при ТНРМЖ экспрессия ряда маркеров СКО (CD44^(high)/CD24^(low), ALDH1, CD133) выше, чем при других подтипах, что

является одним из объяснений более высокой злокачественности и наихудшего прогноза при ТНРМЖ [16–18].

Маркер СКО — CXCR2, ассоциирующийся с повышенным метастатическим потенциалом опухоли, резистентностью к цисплатину и лучевой терапии, характерен только для ТНРМЖ. Данный маркер может экспрессироваться как в CD44^(high)/CD24^(low) и ALDH1-позитивных клетках, так и в негативных, однако в 100% случаев коэкспрессируется с *NANOG* (транскрипционный фактор эмбриональных клеток) и в 89% случаев — с *SOX2*, что подтверждает стволовые свойства клеток, экспрессирующих этот маркер [19].

Данный феномен говорит о том, что в пределах одного молекулярного подтипа РМЖ степень выраженности экспрессии того или иного маркера СКО может варьироваться, кроме того, возможны различные сочетания клеток, экспрессирующих разные маркеры СКО и, соответственно, придающих опухоли различные свойства, оказывающие влияние на прогноз заболевания [20, 21]

При ТНРМЖ наиболее хорошо изучена прогностическая роль СКО, экспрессирующих CD44^(high)/CD24^(low) и ALDH1. Например, в работе F. Collina и соавт. в 2015 г. показано, что высокий уровень экспрессии CD44 (более 50% клеток) достоверно коррелировал с повышенной частотой метастазирования ($p = 0,011$) и более коротким периодом 5-летней выживаемости (менее 20% пациентов пережили 5-летний период) по сравнению с отсутствием экспрессии CD44 (более 40% пережили 5-летний период), но при этом данное исследование не выявило связи экспрессии CD44 с общей выживаемостью [22]. Другое исследование, выполненное H. Wang и соавт., показало, что фенотип CD44^(high)/CD24^(low) также ассоциируется с увеличением частоты рецидивирования и метастазирования по сравнению с другими фенотипами при ТНРМЖ, но в отличие от предыдущего исследования была выявлена достоверная связь между уменьшением общей выживаемости и экспрессией клетками CD44^(high)/CD24^(low) ($p=0,005$). В этом же исследовании не было выявлено связи между экспресси-

ей ALDH1 и общей выживаемостью [23]. M.O. Idowu и соавт. также показали связь между экспрессией CD44^(high)/CD24^(low) при ТНРМЖ и повышенной частотой рецидивирования и метастазирования при периоде наблюдения не менее 1 года (41,2% против 28,6%, $p = 0,0308$). Кроме того, была показана связь между экспрессией CD44^(high)/CD24^(low) и более низкой степенью дифференцировки G3 и высоким Ki67 [24].

По данным F. Ma и соавт., при ТНРМЖ экспрессия ALDH1 также ассоциировалась с более короткой 5-летней безрецидивной (50,7% против 70,7%, $p = 0,01$) и общей выживаемостью (64,6% против 86,6%, $p = 0,001$) по сравнению с ALDH1-отрицательными опухолями. Более того, многомерный анализ показал, что экспрессия ALDH1 была независимым прогностическим показателем выживаемости [25].

Интересными являются данные, полученные в исследовании Y. Fang и соавт., в котором независимым негативным предиктором безрецидивной выживаемости была только комбинация экспрессии CD44^(high)/CD24^(low) и ALDH1 ($p=0,002$), тогда как по отдельности экспрессия данных маркеров статистически значимо не влияла на выживаемость [26].

Исходя из результатов вышеперечисленных исследований, можно сделать вывод о том, что маркеры СКО имеют свою прогностическую ценность, однако данные некоторых работ различаются, а иногда и противоречат друг другу. Эти различия могут быть связаны со многими факторами, один из которых — отсутствие стандартизированных критериев разделения уровней экспрессии маркеров СКО на высокий или низкий (в различных работах за высокий уровень экспрессии маркеров СКО принимается разный процент экспрессирующих их клеток). Еще одной причиной противоречий может являться то, что для полноценной детекции СКО необходимо определять коэкспрессию всех ассоциированных с ней маркеров, тогда как определение одного или нескольких из них может указывать на присутствие в опухоли не самой СКО, а ее потомков.

Очевидно, что при ТНРМЖ наличие и высокий уровень экспрессии маркеров СКО, отража-

ющий их присутствие в опухоли, должны негативно влиять на прогноз и в целом данная тенденция подтверждается результатами большинства исследований. Отрицательную прогностическую роль маркеров СКО подтверждает и доказанная *in vivo* и *in vitro* их способность влиять на опухолевую прогрессию.

Во многом эта способность является следствием прямого участия СКО в формировании так называемой васкулогенной мимикрии (ВМ), которая представляет собой образование микро-васкулярной сети *de novo* самими опухолевыми клетками без участия эндотелиальных клеток. По данным А.А. Вартамян, около 15–18% такого альтернативного кровоснабжения опухоли при РМЖ приходится на васкулогенную мимикрию [27].

Процесс формирования ВМ тесно связан с эпителиально-мезенхимальным переходом (ЭМП) — динамическим процессом, при котором эпителиальные клетки рака приобретают мезенхимальные свойства. ЭМП ассоциирован с увеличением агрессивности опухоли, усилением инвазии и метастатического потенциала за счет потери клетками адгезивных свойств, потери полярности и изменений их цитоскелета [28]. В клетках, подвергнутых ЭМП, активируется ряд сигнальных путей, характерных также и для СКО — TGF- β , WNT, NOTCH, NF- κ B и других, что подтверждает их взаимосвязь [29].

Наличие ВМ статистически значимо сочетается с экспрессией маркеров СКО, таких как CD133, CD44^(high)/CD24^(low), ALDH1, что еще раз подтверждает значимость их прогностической роли, учитывая то, что уже наличие одной ВМ является самостоятельным неблагоприятным фактором прогноза заболевания [30, 31].

Таким образом, можно заключить, что экспрессия различных маркеров СКО клетками ТНРМЖ является отрицательным прогностическим признаком, ассоциирующимся с рецидивированием, метастазированием и уменьшением общей выживаемости, в зависимости от вида экспрессируемого маркера. Участие СКО в таких процессах как ЭМП и ВМ подтверждает их отрицательное прогностическое значение, делая определение маркеров СКО

перспективным направлением в прогнозировании не только при ТНРМЖ, но и при других молекулярных подтипах РМЖ.

Лимфоцитарная инфильтрация при ТНРМЖ

Лимфоцитарная инфильтрация (tumor infiltrating lymphocytes — TIL) является одним из важных прогностических признаков при многих злокачественных опухолях, в том числе при РМЖ. Лимфоцитарная инфильтрация (ЛИ) представляет собой наличие в ткани опухоли или в ее строме различных субпопуляций Т- и В-лимфоцитов, а также НК-клеток и подразделяется на стромальную и интратуморальную в зависимости от локализации. При ТНРМЖ не выявлено разницы в прогностическом значении между интратуморальной и стромальной ЛИ [32, 33]. ЛИ при РМЖ также разделяется на выраженную — инфильтрация лимфоцитами опухолевой стромы от 40 до 60% (лимфоцитарно-предоминантный РМЖ) и слабую инфильтрацию, менее 40% [34, 35].

Определение ЛИ при ТНРМЖ приобретает особенное значение, поскольку является одним из предикторов ответа не только на неоадьювантную и адьювантную химиотерапию, но и на иммунотерапию, успешно внедряемую для лечения ТНРМЖ [36, 37].

По данным исследования С. Herrero-Vicent и соавт., пациенты с лимфоцитарно-предоминантной формой ТНРМЖ значительно чаще имели полный патоморфологический ответ (pCR) на неоадьювантную химиотерапию (антрациклины + таксаны) по сравнению с группой пациентов с невыраженной ЛИ (88% pCR против 9% pCR, соответственно) [38]. Повышение pCR также наблюдалось в исследовании С.А. Castaneda и соавт. [39].

Помимо предиктивного значения при использовании химиотерапии выраженность ЛИ также играет предиктивную роль при использовании иммунотерапии (ингибиторов контрольных точек иммунитета — анти-PD-1, PD-L1/L2) [40]. По данным метаанализа, включавшему пять крупных исследований с более 2500 больных РМЖ, было показано, что сам по себе высокий уровень экспрессии PD-L1 является неблаго-

приятным фактором прогноза у больных РМЖ и чаще всего ассоциируется с тройным негативным фенотипом и более высокой метастатической активностью опухоли [41].

Интересно, что, по данным ряда исследований, существует связь между экспрессией маркеров СКО ($CD44^+/CD24^-$ и $ALDH1^+$) и выраженностью экспрессии PD-L1 при ТНРМЖ. Экспрессия PD-L1 была повышена в клетках, несущих $CD44^+$ и $ALDH1$, одновременно с активацией в них WNT-сигнального пути, характерного для СКО. Использование активаторов или ингибиторов WNT-сигнального пути соответственно увеличивало и уменьшало экспрессию PD-L1, что говорит о влиянии активации данного сигнального пути на уровень экспрессии PD-L1 [42, 43]. Результаты исследований подтверждают данные метаанализа, представленного выше, о неблагоприятном прогностическом значении повышенной экспрессии PD-L1, ассоциируя его с наличием СКО.

Отношение к прогностическому статусу PD-1 является противоречивым. Наличие экспрессии PD-1, по данным одних исследований, является положительным прогностическим признаком, ассоциирующимся с более длительным периодом безрецидивной выживаемости у пациентов с ТНРМЖ, а, по данным других, является неблагоприятным фактором прогноза, связанным именно со снижением выживаемости [44–46]. Так или иначе, наличие экспрессии мишеней для ингибиторов контрольных точек иммунитета открывает новые возможности терапевтического воздействия на ТНРМЖ. Очевидно, что для успешного применения ингибиторов PD-1 необходимым условием является экспрессия PD-L1 опухолевыми клетками и опухолевым микроокружением. Однако на примере иммунотерапии анти-PD-L1 препаратами было показано, что частота ответа зависела больше от выраженности ЛИ, чем от выраженности экспрессии PD-L1 опухолевыми клетками. Данный феномен объясняется тем, что экспрессия PD-L1 является динамическим показателем, меняющимся во времени, тогда как выраженность ЛИ — более стабильный показатель, коррелирующий с выраженной экспрессией PD-L1 [44]. Такая же закономерность прослеживается и относительно экспрессии PD-1 [44–46].

Помимо степени выраженности ЛИ значение имеет и ее состав: $CD8^+$ цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки обладают выраженной противоопухолевой активностью, тогда как Т-регуляторные $FoxP3^+$ клетки могут ингибировать киллерные свойства клеток-эффекторов, приводя к подавлению противоопухолевого иммунитета [47]. В отношении РМЖ это подтверждается данными двух крупных метаанализов, которые показали отрицательное прогностическое значение повышенной инфильтрации опухоли Т-регуляторными $FoxP3^+$ клетками. По данным этих исследований, высокое содержание Т-регуляторных $FoxP3^+$ клеток в лимфоидном инфильтрате опухоли статистически значимо соответствовало снижению медианы общей выживаемости и безрецидивной выживаемости [48, 49]. Однако для колоректального рака, рака пищевода и других повышенный показатель Т-регуляторных $FoxP3^+$ клеток коррелировал с более высокой общей выживаемостью, что говорит о не изученном до конца механизме влияния данной субпопуляции Т-лимфоцитов на опухоль [50]. Тем не менее для РМЖ данный показатель является плохим прогностическим фактором.

Макрофаги M2 опухоли при ТНРМЖ

Помимо ЛИ, множество других представителей клеточного микроокружения злокачественного новообразования играет важную роль в развитии опухолевого процесса. Одной из важнейших частей микроокружения опухоли являются макрофаги. Данные клетки — потомки мигрировавших из кровяного русла моноцитов и относятся к воспалительному компоненту клеточного микроокружения. Макрофаги в составе опухолевого микроокружения могут демонстрировать как противоопухолевые M1, так и онкогенные свойства, стимулирующие рост опухоли M2, потенцируя такие процессы как васкулогенная мимикрия, инвазия и метастазирование, а также модулируя свойства иммуноцитов [51].

Как уже было сказано выше, неоангиогенез — один из важнейших процессов выживаемости, роста и развития опухоли. Макрофаги являются непосредственными участниками этого процесса, выделяя VEGF (васкулоэндотелиальный фактор роста), MMPs (матрикс-

ные металлопротеиназы), HIF-1 (фактор, индуцируемый гипоксией) и др. Образование HIF-1 индуцируется тканевой гипоксией и запускает гиперпродукцию VEGF.

VEGF является одним из важнейших индукторов той стадии ангиогенеза, которая заключается в образовании новых сосудов из уже существующих. Такой вид ангиогенеза осуществляется путем миграции и пролиферации нормальных эндотелиоцитов, несущих рецепторы к VEGF: VEGFR1 (пролиферирующие эндотелиоциты) и VEGFR2 (мигрирующие эндотелиоциты) [52]. Помимо запуска процесса пролиферации и миграции эндотелиоцитов необходимым условием для формирования новых сосудов является разрушение базальной мембраны в месте формирования будущего сосуда. Эту функцию выполняют матриксные металлопротеиназы, выделяемые макрофагами, фибробластами и самими опухолевыми клетками, однако основным источником данных ферментов — макрофаги [53]. Кроме того, выделение макрофагами MMP и последующее модифицирование межклеточного матрикса играет важную роль в образовании опухолевых сосудов посредством VM. Кроме того, повышенная инфильтрация опухолевой ткани макрофагами ассоциируется с пониженной экспрессией E-кадгерина и активацией ЭМП. Таким образом, макрофаги принимают участие как в VEGF-зависимом неоангиогенезе, так и в VEGF-независимом — васкулогенной мимикрии [54].

Помимо участия макрофагов в опухолевом неоангиогенезе они также активно модулируют иммунный ответ на опухоль. Приобретение вновь прибывшим к опухоли из системного кровотока макрофагом того или иного фенотипа зависит от влияния различных факторов. Под воздействием IL-4, IL-10, TGF- β , M-CSF (макрофагальный колониестимулирующий фактор) наивные макрофаги приобретают M2-фенотип.

При ТНРМЖ секреция M-CSF выше, чем при других типах РМЖ, что определяет повышенное содержание M2-макрофагов в опухолевом инфильтрате, ассоциирующееся с более агрессивным течением болезни и более выраженной сосудистой инвазией по сравнению с другими молекулярными подтипами РМЖ [55]. Макрофаги, имеющие фенотип M2, подавляют эффекторные свойства Т-лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль, активируют образование Т-регуляторных клеток, а также оказывают воздействие на экспрессию PD-1 и PD-1L посредством выделения IFN- γ , TGF- β , TNF- α и IL-6. Данные цитокины повышают экспрессию PD-L1 и PD-1, что, как было сказано выше, является отрицательным прогностическим фактором [56].

Повышенная инфильтрация опухоли M2-макрофагами является независимым неблагоприятным фактором прогноза, снижающим общую и безрецидивную выживаемости при РМЖ, что подтверждается данными крупного метаанализа 2017 г. Влияние макрофагального статуса на иммунный ответ при ТНРМЖ открывает возможность комбинированного воздействия на опухоль с помощью иммунотерапии ингибиторами PD-1 и макрофаг-ингибирующей противовоспалительной терапии для повышения общей эффективности лекарственного лечения [57].

Заключение

Для улучшения прогнозирования течения ТНРМЖ перспективным является изучение новых прогностических факторов как по отдельности, так и в их комбинации. Это позволит более глубоко понять биологию данной опухоли, выявить группы больных с более или менее благоприятным прогнозом. Все это в дальнейшем поможет улучшить стратификацию пациентов и, возможно, станет прикладной точкой для новых методов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gonçalves H. Jr, Guerra M.R., Duarte Cintra J.R., Fayer V.A., Brum I.V., Bustamante Teixeira M.T. Survival Study of Triple-Negative and Non-Triple-Negative Breast Cancer in a Brazilian Cohort // Clin Med Insights Oncol. 2018;12:1179554918790563. doi: 10.1177/1179554918790563.
2. Sumayah Al.-M., Sapiezynski J., Garbuzenko O.B., Minko T. Metastatic and triple-negative breast cancer: challenges and treatment options // Drug Deliv Transl Res. 2018;8(5):1483–1507.
3. Qiu J., Xue X., Hu C., Xu H., Kou D., Li R., Li M. Comparison of Clinicopathological Features and Prognosis in Triple-Negative and Non-Triple Negative Breast Cancer // J Cancer. 2016;7(2):167–173.

4. Mao Y., Qu Q., Chen X., Huang O., Wu J., Shen K. The Prognostic Value of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. Published: April 13, 2016. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152500>.
5. Zhao X., Qu J., Sun Y., Wang J., Liu X., Wang F., Zhang H., Wang W., Ma X., Gao X., Zhang S. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in breast cancer: a meta-analysis of the literature // *Oncotarget*. 2017;8(18):30576–30586.
6. Battle E., Clevers H. Cancer stem cells revisited // *Nat. Med.* 2017;23:1124–1134.
7. Liu X., Feng D., Liu D., Wang S., Yu X., Dai E., Wang J., Wang L., Jiang W. Dissecting the Origin of Breast Cancer Subtype Stem Cell and the Potential Mechanism of Malignant Transformation // *PLoS One*. 2016;11(10): e0165001.7.
8. Chang J.C. Cancer stem cells: Role in tumor growth, recurrence, metastasis, and treatment resistance // *Medicine*. 2016;95(1S):20–25.
9. O'Connor C.J., Chen T., González I., Cao D., Peng Y. Cancer stem cells in triple-negative breast cancer: a potential target and prognostic marker // *Biomark Med*. 2018;12(7):813–820.
10. Thomas W.O., Matthew J.N. Breast cancer stem cells // *Front Physiol*. 2013;4:225.
11. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A., Morrison S.J., Clarke M.F. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(7):3983–3988.
12. Hwang-Verslues W.W., Kuo W.H., Chang P.H., Pan C.C., Wang H.H., Tsai S.T., Jeng Y.M., Shew J.Y., Kung J.T., Chen C.H., Lee E.Y., Chang K.J., Lee W.H. Multiple Lineages of Human Breast Cancer Stem/Progenitor Cells Identified by Profiling with Stem Cell Markers. Published: December 21, 2009. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008377>.
13. Crabtree J.S., Miele L. Breast Cancer Stem Cells // *Biomedicines*. 2018;6(3):77.
14. Velasco-Velázquez M.A., Popov V.M., Lisanti M.P., Pestell R.G. The Role of Breast Cancer Stem Cells in Metastasis and Therapeutic Implications // *Am J Pathol*. 2011;179(1):2–11.
15. Moreb J.S., Ucar D., Han S., Amory J.K., Goldstein A.S., Ostmark B., Chang L.J. The enzymatic activity of human aldehyde dehydrogenases 1A2 and 2 (ALDH1A2 and ALDH2) is detected by Aldefluor, inhibited by diethylaminobenzaldehyde and has significant effects on cell proliferation and drug resistance // *Chem Biol Interact*. 2012;195(1):52–60.
16. Li W., Ma H., Zhang J., Zhu L., Wang C., Yang Y. Unraveling the roles of CD44/CD24 and ALDH1 as cancer stem cell markers in tumorigenesis and metastasis // *Sci Rep*. 2017;7:13856.
17. Liu T.J., Sun B.C., Zhao X.L., Zhao X.M., Sun T., Gu Q., Yao Z., Dong X.Y., Zhao N., Liu N. CD133⁺ cells with cancer stem cell characteristics associates with vasculogenic mimicry in triple-negative breast cancer // *Oncogene*. 2013;32:544–553.
18. Ma F., Li H., Wang H., Shi X., Fan Y., Ding X., Lin C., Zhan Q., Qian H., Xu B. Enriched CD44(+)/CD24(-) population drives the aggressive phenotypes presented in triple-negative breast cancer (TNBC) // *Cancer Lett*. 2014;353(2):153–159.
19. Wang Y., Tu L., Du C., Xie X., Liu Y., Wang J., Li Z., Jiang M., Cao D., Yan X., Luo F. CXCR2 is a novel cancer stem-like cell marker for triple-negative breast cancer // *Onco Targets Ther*. 2018;11:5559–5567.
20. Meyer M.J., Fleming J.M., Lin A.F., Hussnain S.A., Ginsburg E., Vonderhaar B.K. CD44posCD49fhiCD133/2hi defines xenograft-initiating cells in estrogen receptor-negative breast cancer // *Cancer Res*. 2010;70(11):4624–4733.
21. Liu M., Liu Y., Deng L., et al. Transcriptional profiles of different states of cancer stem cells in triple-negative breast cancer // *Mol Cancer*. 2018;17(1):65.
22. Collina F., Di Bonito M., Li Bergolis V., De Laurentiis M., Vitagliano C., Cerrone M., Nuzzo F., Cantile M., Botti G. Prognostic value of cancer stem cells markers in triple-negative breast cancer // *Biomed. Res. Int*. 2015; 2015:158682. doi: 10.1155/2015/158682.
23. Wang H., Wang L., Song Y., Wang S., Huang X., Xuan Q., Kang X., Zhang Q. CD44+/CD24-phenotype predicts a poor prognosis in triple-negative breast cancer // *Oncol. Lett*. 2017;14(5):5890–5898.
24. Idowu M.O., Kmieciak M., Dumur C., Burton R.S., Grimes M.M., Powers C.N., Manjili M.H. CD44+/CD24-/low cancer stem/progenitor cells are more abundant in triple-negative invasive breast carcinoma phenotype and are associated with poor outcome // *Human Pathology*. 2012;43(3), 364–373.
25. Ma F., Li H., Li Y., Ding X., Wang H., Fan Y., Lin C., Qian H., Xu B. Aldehyde dehydrogenase 1 (ALDH1) expression is an independent prognostic factor in triple negative breast cancer (TNBC) // *Medicine*. 2017;96(14):e6561.
26. Yang F., Cao L., Sun Z., Jin J., Fang H., Zhang W., Guan X. Evaluation of Breast Cancer Stem Cells and Intratumor Stemness Heterogeneity in Triple-negative Breast Cancer as Prognostic Factors // *Int J Biol Sci*. 2016;12(12):1568–1577.
27. Вартамян А.А. Молекулярные механизмы васкулогенной мимикрии при злокачественных заболеваниях: дис. ... д-ра биол. наук. — М., 2012.
28. Liu Q., Qiao L., Liang N., Xie J., Zhang J., Deng G., Zhang J. The relationship between vasculogenic mimicry and epithelial-mesenchymal transitions // *J Cell Mol Med*. 2016;20(9):1761–1769.
29. Piasecka D., Braun M., Kordek R., Sadej R., Romanska H. MicroRNAs in regulation of triple-negative breast cancer progression // *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*. 2018;144(8):1401–1411.

30. Liu T.J., Sun B.C., Zhao X.L., Zhao X.M., Sun T., Gu Q., Yao Z., Dong X.Y., Zhao N., Liu N. CD133(+) cells with cancer stem cell characteristics associates with vasculogenic mimicry in triple-negative breast cancer // *Oncogene*. 2012;32(5). doi:10.1038/onc.2012.85.
31. Xing P., Dong H., Liu Q., Zhao T., Yao F., Xu Y., Chen B., Zheng X., Wu Y., Jin F., Li J. ALDH1 Expression and Vasculogenic Mimicry Are Positively Associated with Poor Prognosis in Patients with Breast Cancer // *Cell Physiol Biochem*. 2018;49:961–970.
32. Khoury T., Nagrale V., Opyrchal M., Peng X., Wang D., Yao S. Prognostic Significance of Stromal Versus Intratumoral Infiltrating Lymphocytes in Different Subtypes of Breast Cancer Treated With Cytotoxic Neoadjuvant Chemotherapy // *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2018;26(8):523–532.
33. Рябчиков Д.А. Люминальный рак молочной железы. Клинические, молекулярно-биологические, генетические особенности и прогноз: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. — М.: НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, 2018.
34. Lee I D.Y., Park S.E., Cha C., Yoon C., Bae S.J., Ahn S.G., Jeong J. Lymphocyte-predominant breast cancer has a significant lower mean of absolute neutrophil counts compared to non-lymphocyte-predominant breast cancer // *Annals of Oncology*. 2018;29(8):viii58–viii86.
35. Ohtani H., Mori-Shiraishi K., Nakajima M., Ueki H. Defining lymphocyte-predominant breast cancer by the proportion of lymphocyte-rich stroma and its significance in routine histopathological diagnosis // *Pathol Int*. 2015;65(12):644–651.
36. Salimi M. Future of Triple Negative Breast Cancer: Can Immunotherapy Treat This Deadly Subtype of Breast Cancer? // *Iran Biomed J*. 2018;22(2):76–77.
37. Wimberly H., Brown J.R., Schalper K., Haack H., Silver M.R., Nixon C., Bossuyt V., Pusztai L., Lannin D.R., Rimm D.L. PD-L1 expression correlation with tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer // *Cancer Immunol Res*. 2015;3(4):326–332.
38. Herrero-Vicent C., Guerrero A., Gavilá J., Gozalbo F., Hernández A., Sandiego S., Algarra M.A., Calatrava A., Guillem-Porta V., Ruiz-Simón A. Predictive and prognostic impact of tumour-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancer treated with neoadjuvant chemotherapy // *Ecancermedalscience*. 2017;11:759.
39. Castaneda C.A., Mittendorf E., Casavilca S., Wu Y., Castillo M., Arboleda P., Nunez T., Guerra H., Barrionuevo C., Dolores-Cerna K., Belmar-Lopez C., Abugattas J., Calderon G., De La Cruz M., Cotrina M., Dunstan J., Gomez H.L., Vidaurre T. Tumor infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancer receiving neoadjuvant chemotherapy // *World J Clin Oncol*. 2016;7(5):387–394.
40. Lehmann B.D., Bauer J.A., Chen X., Sanders M.E., Chakravarthy A.B., Shyr Y., Pietenpol J.A. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies // *Clin Invest*. 2011;121(7):2750–2767.
41. Zhang M., Sun H., Zhao S., Wang Y., Pu H., Wang Y., Zhang Q. Expression of PD-L1 and prognosis in breast cancer: a meta-analysis // *Oncotarget*. 2017;8(19):31347–31354.
42. Castagnoli L., Cancila V., Cordoba-Romero S.L., Faraci S., Talarico G., Belmonte B., Iorio M.V., Milani M., Volpari T., Chiodoni C., Hidalgo-Miranda A., Tagliabue E., Tripodo C., Sangaletti S., Di Nicola M., Pupa S.M. WNT signaling modulates PD-L1 expression in the stem cell compartment of triple-negative breast cancer // *Oncogene*. Received: 5 May 2018. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0700-2>.
43. Di Nicola M., Castagnoli L., Cancila V. Role of PD-L1 expression in triple-negative breast cancer stem cells // *Journal of Clinical Oncology*. 2018; 36(15):12081.
44. Brockhoff G., Seitz S., Weber F., Zeman F., Klinkhammer-Schalke M., Ortmann O., Wege A.K. The presence of PD-1 positive tumor infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancers is associated with a favorable outcome of disease // *Oncotarget*. 2017; 9(5):6201–6212.
45. Ren X., Wu H., Lu J., Zhang Y., Luo Y., Xu Q., Shen S., Liang Z. PD1 protein expression in tumor infiltrated lymphocytes rather than PDL1 in tumor cells predicts survival in triple-negative breast cancer // *Cancer Biol Ther*. 2018;19(5):373–380.
46. Sun S., Fei X., Mao Y., Wang X., Garfield D.H., Huang O., Wang J., Yuan F., Sun L., Yu Q., Jin X., Wang J., Shen K. PD-1(+) immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients // *Cancer Immunol Immunother*. 2014;63:395–406.
47. García-Tejido P., Cabal M.L., Fernández I.P., Pérez Y.F. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Triple Negative Breast Cancer: The Future of Immune Targeting // *Clin Med Insights Oncol*. 2016;10(1): 31–39.
48. Рябчиков Д.А., Воротников И.К., Тутов К.С., Казаков А.М. Зависимость прогноза и лечения рака молочной железы от клеточного микроокружения опухоли // *Journal of N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*. — 2018. — Т. 29. — С. 3–4.
49. Zhou Y., Shao N., Aierken N., Xie C., Ye R., Qian X., Hu Z., Zhang J., Lin Y. Prognostic value of tumor-infiltrating Foxp3+ regulatory T cells in patients with breast cancer: a meta-analysis // *J Cancer*. 2017;8(19):4098–4105.
50. Shang B., Liu Y., Jiang S.J., Liu Y. Prognostic value of tumor-infiltrating FoxP3+ regulatory T cells in cancers: a systematic review and meta-analysis // *Scientific Reports*. 2018;5. Article number: 15179. doi: <https://doi.org/10.1038/srep15179>.

51. Frey D.M., Droeser R.A., Viehl C.T., Zlobec I., Lugli A., Zingg U., Oertli D., Kettelhack C., Terracciano L., Tornillo L. High frequency of tumor-infiltrating FOXP3(+) regulatory T cells predicts improved survival in mismatch repair-proficient colorectal cancer patients // *Int J Cancer*. 2010;126(11), 2635–2643.
52. Yang L., Zhang Y. Tumor-associated macrophages: from basic research to clinical application // *Journal of Hematology & Oncology*. 2017;10(1):58.
53. Knopik-Skrocka A., Kreplewska P., Jarmolowska-Jurczyszyn D. Tumor Blood Vessels and Vasculogenic Mimicry — Current Knowledge and Searching for New Cellular/Molecular Targets of Anti-Angiogenic Therapy // *Advances in Cell Biology*. 2017;5(1). doi: 10.1515/acb-2017-0005.
54. DerYugin A.E., Quigle Y.J. Pleiotropic roles of matrix metalloproteinases in tumor angiogenesis: contrastin, overlapping and compensatory functions // *Biochim Biophys Acta* 2010;1803:103–120.
55. Zhang W.J., Wang X.H., Gao S.T., Chen C., Xu X.Y., Sun Q., Zhou Z.H., Wu G.Z., Yu Q., Xu G., Yao Y.Z., Guan W.X. Tumor-associated macrophages correlate with phenomenon of epithelial-mesenchymal transition and contribute to poor prognosis in triple-negative breast cancer patients // *J Surg Res*. 2018;222:93–101.
56. Santoni M., Romagnoli E., Saladino T., Foghini L., Guarino S., Capponi M., Giannini M., Cognigni P.D., Ferrara G., Battelli N. Triple negative breast cancer: Key role of Tumor-Associated Macrophages in regulating the activity of anti-PD-1/PD-L1 agents. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2018;1869(1):78–84.
57. Zhao X., Qu J., Sun Y., Wang J., Liu X., Wang F., Zhang H., Wang W., Ma X., Gao X., Zhang S. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in breast cancer: a meta-analysis of the literature // *Oncotarget*. 2017;8(18):30576–30586.

АВТОРЫ

Титов Константин Сергеевич, доктор медицинских наук, доцент, заместитель председателя АНО «Национальная академия дерматологов и онкологов», заведующий онкохирургическим отделением опухолей кожи и мягких тканей ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова ДЗМ», 111123, Москва, шоссе Энтузиастов, 86, e-mail: ks-titov@mail.ru

Titov Konstantin S., MD, RhD, Dsc, Deputy Chairman of the National Academy of Dermatologists and Oncologists, Head of the oncological surgery department of skin and soft tissue tumors of the Moscow Clinical Research Center of the Moscow Health Department, 111123, Moscow, shosse Enthusiasts, 86, e-mail: ks-titov@mail.ru

Казаков Алексей Михайлович, клинический ординатор, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23, e-mail: kazakovich873@gmail.com

Kazakov Aleksey M., clinical intern, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 23, e-mail: kazakovich873@gmail.com

Барышникова Мария Анатольевна, кандидат фармакологических наук, заведующая лабораторией экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23, e-mail: ma_ba@mail.ru

Baryshnikova Maria A., Candidate of Pharmaceutical Science, Head of the Laboratory for Experimental Diagnosis and Biotherapy of Tumors, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 23, e-mail: ma_ba@mail.ru

Рябчиков Денис Анатольевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник хирургического отделения № 5 опухолей молочной железы, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23, e-mail: dr.denisr@mail.ru

Ryabchikov Denis Anatolyevich, MD, RhD, DSc, Leading Researcher of the surgical Department No. 5, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 23, e-mail: dr.denisr@mail.ru

Чулкова Светлана Васильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии гемопоэза, ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Москва, Каширское шоссе, 23; доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1, e-mail: chulkova@mail.ru

Chulkova Svetlana V., MD, PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Hematopoiesis, Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 23; assistant professor of the Oncology and Radiotherapy Department of the N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, 117997, Moscow, Ostrovityanova str., 1, e-mail: chulkova@mail.ru

Зарьянов Дмитрий Альбертович, клинический ординатор, ГБУЗ «Московский клинический научный центр им. А.С. Логинова ДЗМ», 111123, Москва, шоссе Энтузиастов, 86, e-mail: dmitry.zaryanov@yandex.ru

Zaryanov Dmitry A., clinical intern, Moscow Clinical Research Center of the Moscow Health Department, 111123, Moscow, shosse Enthusiasts, 86, e-mail: dmitry.zaryanov@yandex.ru