

DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-4-48-55



# Иммунологические предикторы терапевтической эффективности применения эрибулина при местно-распространенном или метастатическом раке молочной железы: пилотное исследование

Л.А. Таширева<sup>1</sup>, Н.О. Попова<sup>1</sup>, В.В. Алифанов<sup>1</sup>, В.Е. Гольдберг<sup>1</sup>, Е.И. Коваленко<sup>2</sup>, Е.В. Артамонова<sup>2</sup>, А.Г. Манихас<sup>3</sup>, Д.М. Пономаренко<sup>4,5</sup>, Н.В. Левченко<sup>6</sup>, Е.И. Россоха<sup>7</sup>, С.Ю. Красильникова<sup>8</sup>, М.А. Зафирова<sup>9</sup>, В.М. Перельмутер<sup>1</sup>

<sup>1</sup>НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»; Россия, 634009 Томск, пер. Кооперативный, 5;

<sup>2</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>3</sup>1-е онкологическое (хирургическое) отделение СПб ГБУЗ «Городской клинический онкологический диспансер»; Россия, 198255 Санкт-Петербург, проспект Ветеранов, 56;

<sup>4</sup>ГБУЗ «Иркутский областной онкологический диспансер»; Россия, 665709 Братск, ул. Студенческая, 1;

<sup>5</sup>Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России; Россия, 664049 Иркутск, ул. Юбилейный микрорайон, 100к4;

<sup>6</sup>ГБУЗ «Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический)»; Россия, 197758 Санкт-Петербург, ул. Ленинградская, 68А;

<sup>7</sup>КГБУЗ «Алтайский краевой онкологический диспансер»; Россия, 656049 Барнаул, Социалистический проспект, 50;

<sup>8</sup>ГБУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер»; Россия, 620137 Екатеринбург, ул. Комсомольская, 11;

<sup>9</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 620028 Екатеринбург, ул. Студенческая, 3

**Контакты:** Любовь Александровна Таширева [lkleptsova@mail.ru](mailto:lkleptsova@mail.ru)

**Введение.** Трижды негативный рак молочной железы не имеет специфических точек приложения для химиотерапии и неблагоприятен по прогнозу течения. Одним из препаратов, широко применяемых у данной когорты больных, является эрибулин, обладающий, помимо антимитотического действия, влиянием на микроокружение опухоли. Актуальным представляется поиск биологических критериев, которые позволят предсказать эффективность препарата, что позволило бы отбирать пациентов, которым могут быть наиболее полезны определенные схемы терапии.

**Цель исследования** – выявить иммунологические предикторы терапевтической эффективности применения эрибулина у пациентов с местно-распространенным или метастатическим трижды негативным раком молочной железы.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 20 больных местно-распространенным и метастатическим трижды негативным раком молочной железы, у 50 % наблюдался короткий ответ (выживаемость без прогрессирования <3 мес) на терапию эрибулином, а у 50 % – длительный (выживаемость без прогрессирования >6 мес). Мультиплексная иммунофлуоресценция была использована для определения субпопуляционного состава опухолевых инфильтрирующих лимфоцитов и экспрессии ими PD1. Получение и анализ изображений были проведены с помощью системы Vectra® 3.0 и программного обеспечения InForm® (Akoya Biosciences, США).

**Результаты.** Показано, что отношение количества PD1-отрицательных к количеству PD1-положительных CD20+ В-лимфоцитов <5,5 ассоциировано с длительной эффективностью применения эрибулина у пациентов с местно-распространенным или метастатическим трижды негативным раком молочной железы.

**Заключение.** Соотношение количества PD1-отрицательных и PD1-положительных CD20+ В-лимфоцитов можно рассматривать как возможный маркер для прогнозирования эффективности эрибулина у пациентов с местно-распространенным или метастатическим трижды негативным раком молочной железы.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, эрибулин, опухолевое микроокружение

**Для цитирования:** Таширева Л.А., Попова Н.О., Алифанов В.В. и др. Иммунологические предикторы терапевтической эффективности применения эрибулина при местно-распространенном или метастатическом раке молочной железы: пилотное исследование. Опухоли женской репродуктивной системы 2021;17(4):48–55. DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-4-48-55.

## Microenvironment-related predictive markers of the therapeutic effectiveness of eribulin in patients with locally advanced or metastatic breast cancer: pilot study

L.A. Tashireva<sup>1</sup>, N.O. Popova<sup>1</sup>, V.V. Alifanov<sup>1</sup>, V.E. Goldberg<sup>1</sup>, E.I. Kovalenko<sup>2</sup>, E.V. Artamonova<sup>2</sup>, A.G. Manikhas<sup>3</sup>, D.M. Ponomarenko<sup>4, 5</sup>, N.V. Levchenko<sup>6</sup>, E.I. Rossokha<sup>7</sup>, S. Yu. Krasilnikova<sup>8</sup>, M.A. Zafirova<sup>9</sup>, V.M. Perelmuter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences; 5 Kooperativnyy Per., Tomsk 634009, Russia;

<sup>2</sup>N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

<sup>3</sup>Department of Surgical Oncology No. 1, Saint Petersburg Clinical Oncology Dispensary; 56 Prospekt Veteranov, Saint Petersburg 198255, Russia;

<sup>4</sup>Irkutsk Regional Oncology Dispensary; 1 Studencheskaya St., Bratsk 665709, Russia;

<sup>5</sup>Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, a branch of Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Ministry of Health of Russia; 100k4 Yubileynyy District, Irkutsk 664049, Russia;

<sup>6</sup>Saint Petersburg Clinical Research and Practical Center for Specialized Medical Care (Oncological), Ministry of Health of Russia; 68A Leningradskaya St., Pesochnyy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia;

<sup>7</sup>Altai Regional Oncology Dispensary; 50 Sotsialisticheskiy Prospekt, Barnaul 656044, Russia;

<sup>8</sup>Sverdlovsk Regional Oncology Dispensary; 11 Komsomolskaya St., Ekaterinburg 620137, Russia

<sup>9</sup>Ural State Medical University, Ministry of Health of Russia; 3 Studencheskaya St., Ekaterinburg 620028, Russia

**Contacts:** Lyubov Aleksandrovna Tashireva [lkleptsova@mail.ru](mailto:lkleptsova@mail.ru)

**Background.** Triple negative breast cancer has no specific treatment sites for chemotherapy and is unfavorable in terms of prognosis. One of the drugs widely used in this cohort of patients is eribulin, which in addition to its antimetabolic effect has an effect on the tumor microenvironment. The search for biological criteria that will allow predicting the effectiveness of the drug is assumed relevant since it will help to select patients who may receive the most benefit from certain therapy regimens.

**Objective:** identification of immunological predictors of the therapeutic effectiveness of eribulin in patients with locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer.

**Materials and methods.** The study included 20 patients with locally advanced and metastatic triple negative breast cancer. 50 % had a short-term response (progression-free survival <3 months) to eribulin therapy, and 50 % had a long-term response (progression-free survival >6 months). Seven-color immunofluorescence was used to determine the subpopulation composition of tumor-infiltrating lymphocytes and their PD1 expression. Image acquisition and analysis were performed using the Vectra® 3.0 system and InForm® software (Akoya Biosciences, USA).

**Results.** It has been shown that the ratio of the number of PD1-negative to PD1-positive CD20+ B-lymphocytes less than 5.5 associated with the long-term effectiveness of eribulin in patients with locally advanced or metastatic triple negative breast cancer.

**Conclusion.** The results showed that the ratio of the number of PD1-negative to PD1-positive CD20+ B-lymphocytes can be considered as a possible marker to predict the effectiveness of eribulin in patients with breast cancer.

**Key words:** breast cancer, eribulin, tumor microenvironment

**For citation:** Tashireva L.A., Popova N.O., Alifanov V.V. et al. Microenvironment-related predictive markers of the therapeutic effectiveness of eribulin in patients with locally advanced or metastatic breast cancer: pilot study. Oпухоли zhenskoy reproductivnoy systemy = Tumors of female reproductive system 2021;17(4):48–55. (In Russ.). DOI: 10.17650/1994-4098-2021-17-4-48-55.

### Введение

Основным цитотоксическим механизмом действия эрибулина мезилата (эрибулин) является прекращение деления клеток путем ингибирования удлинения микротрубочек [1]. Стоит отметить, что механизм действия эрибулина отличается от такового других антимитотических агентов, таких как таксаны или производные

винкаалкалоидов [2]. Эрибулин связывается с концами микротрубочек и вызывает их сверхстабилизацию (т.е. вынужденное удлинение). Таксаны же действуют внутри микротрубочек и вызывают их укорочение путем деполимеризации. До настоящего времени преимущество данного механизма действия остается неясным [3]. Помимо антимитотического механизма

действия эрибулина выделяют другие. Так, на экспериментальных моделях и клеточных культурах показаны эрибулин-опосредованное подавление эпителиально-мезенхимального перехода опухолевых клеток [4], а также стимуляция сосудистого ремоделирования опухоли [5]. Описаны также эффекты эрибулина на опухолевое микроокружение. Наиболее распространенный индикатор для мониторинга иммунного ответа — доля опухолю-инфильтрирующих лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) в строме опухоли — описан как прогностический фактор и предиктор терапевтической эффективности эрибулина. Так, пациенты с трижды негативным раком молочной железы (РМЖ), имеющие высокий уровень TILs, демонстрировали значительно большую продолжительность безрецидивной выживаемости, чем пациенты с низким уровнем TILs, при этом достоверных различий в продолжительности безрецидивной выживаемости вне зависимости от молекулярно-генетического типа РМЖ или у пациентов, страдающих РМЖ, отличным от трижды негативного типа, обнаружено не было [6]. Показано влияние терапии эрибулином на изменение статуса PD1 и экспрессии лимфоцитарных маркеров. Ответ на эрибулин был достоверно сопряжен со сменной характера экспрессии PD-L1 и FOXP3 на противоположный [7].

Свидетельства о том, что возможным механизмом противоопухолевого действия эрибулина является модификация микроокружения опухоли, позволяют рассматривать параметры микроокружения в качестве возможных предикторов эффективности терапии эрибулином параметры микроокружения опухоли.

**Цель настоящего исследования** — выявить иммунологические предикторы терапевтической эффективности химиотерапии эрибулином среди пациентов с местно-распространенным или метастатическим трижды негативным РМЖ.

### Материалы и методы

В открытом ретроспективном многоцентровом обсервационном нерандомизированном ассоциативном исследовании после согласования с локальным этическим комитетом (№ 7 от 01.04.2019) при письменном согласии пациентов (п. 3, ст. 13 Федерального закона Российской Федерации № 323-ФЗ от 21 ноября 2011 г.) проведено взятие образцов инвазивного РМЖ пациентов ( $n = 20$ ), проходивших лечение в НИИ онкологии Томского НИМЦ, Санкт-Петербургском клиническом научно-практическом центре специализированных видов медицинской помощи (онкологическом), Свердловском областном онкологическом диспансере, Алтайском краевом онкологическом диспансере, Иркутском областном онкологическом диспансере, Городском клиническом онкологическом диспансере г. Санкт-Петербурга. Критериями включения пациен-

тов в исследование являлись возраст пациентов старше 18 лет, гистологическое подтверждение инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа, трижды негативный молекулярно-биологический подтип. Предшествующая терапия должна была включать антрациклины и препараты таксанового ряда в адьювантном или метастатическом режиме терапии. Предшествующая терапия должна была включать эрибулин по поводу распространенного заболевания. Были сформированы 2 группы: пациенты с длительным ответом на терапию эрибулином (выживаемость без прогрессирования >6 мес) ( $n = 10$ ) и с коротким ответом на терапию эрибулином (выживаемость без прогрессирования <3 мес) ( $n = 10$ ). Были оценены клинико-патологические характеристики пациентов, включая возраст, размер опухоли, степень злокачественности, стадию, наличие гематогенных метастазов.

**Гистологическая оценка.** Все гистопатологические параметры, использованные в этом исследовании, были получены из исходных патологоанатомических заключений и карт больных и рассмотрены 2 независимыми патологами. Количественная оценка TILs в образцах опухоли проводилась с использованием Руководства международной рабочей группы по оценке TILs от 2018 г. [8].

**TSA-ассоциированное мультиплексное иммунофлуоресцентное исследование.** Анализ субпопуляционного состава TILs и экспрессии ими белков PD1 и PD-L1 проводили с помощью метода TSA-ассоциированной мультиплексной иммунофлуоресценции. Автоматизированная система количественной визуализации Vectra<sup>®</sup> 3.0 (Akoya Biosciences, США) использовалась для получения изображений, а программное обеспечение InForm<sup>®</sup> (Akoya Biosciences, США) — для выполнения анализа изображений. В программном обеспечении InForm<sup>®</sup> для фенотипирования использовался подход машинного обучения для идентификации и классификации клеток. В каждом образце были проанализированы изображения всего препарата за исключением областей с искусственным окрашиванием или плохим качеством. Использовалась следующая панель антител: против CD3 (Dako, 4B12), против CD8 (Biocare, SP16), против CD20 человека (Biocare Medical, L26), против PD1 (Origene, UMAB199), против FOXP3 (Biocare, 236A/E7), против PD-L1 (Ventana, SP142). Доля клеток рассчитывалась в процентах от числа всех TILs.

**Статистический анализ.** Статистический анализ был проведен с помощью пакетов программ Statistica 12 (StatSoft Inc.) и Prism 9 (GraphPad). Статистические сравнения проводились с использованием критерия Манна—Уитни или Краскела—Уоллиса для независимых непараметрических переменных. Для категориальных переменных использовался точный критерий Фишера. ROC-анализ был использован для оценки

прогностической эффективности признака. Рассчитывалась площадь под кривой (AUC), доверительный интервал (ДИ), а также значения чувствительности и специфичности для определения точности критерия. Однофакторный и многофакторный регрессионный анализ был использован для оценки предиктивной значимости параметров. Все значения  $p$  были двусторонними, а значения  $<0,05$  считались статистически значимыми.

### Результаты

Когорты пациентов с коротким и длительным ответом на терапию эрибулином были сопоставимы по клиническим характеристикам и патологическим параметрам опухоли (табл. 1).

**Таблица 1.** Характеристика пациентов ( $n = 20$ , все с трижды негативным раком молочной железы)

**Table 1.** Patient characteristics ( $n = 20$ , all with triple negative breast cancer)

Показатель Parameter	Длительный ответ ( $n = 10$ ) Long-term response ( $n = 10$ )	Короткий ответ ( $n = 10$ ) Short-term response ( $n = 10$ )
Возраст, лет Age, years	57 (37–78)	56 (28–76) $p = 0,476$
Размер первичной опухоли, см Primary tumor size, cm	2,4 (1,3–4,7)	2,9 (1,5–4,4) $p = 0,569$
Степень злокачественности, $n$ (%): Grade of malignancy, $n$ (%):		
1	0	0
2	3 (30,0)	2 (20,0)
3	7 (70,0)	8 (80,0) $p > 0,9999$
Стадия, $n$ (%): Stage, $n$ (%):		
I	0	0
II	4 (40,0)	3 (30,0) $p > 0,9999$
III	3 (30,0)	3 (30,0) $p > 0,9999$
IV	3 (30,0)	4 (40,0) $p > 0,9999$
Гематогенные метастазы, $n$ (%) Hematogenous metastases, $n$ (%)	6 (60,0)	5 (50,0) $p > 0,9999$

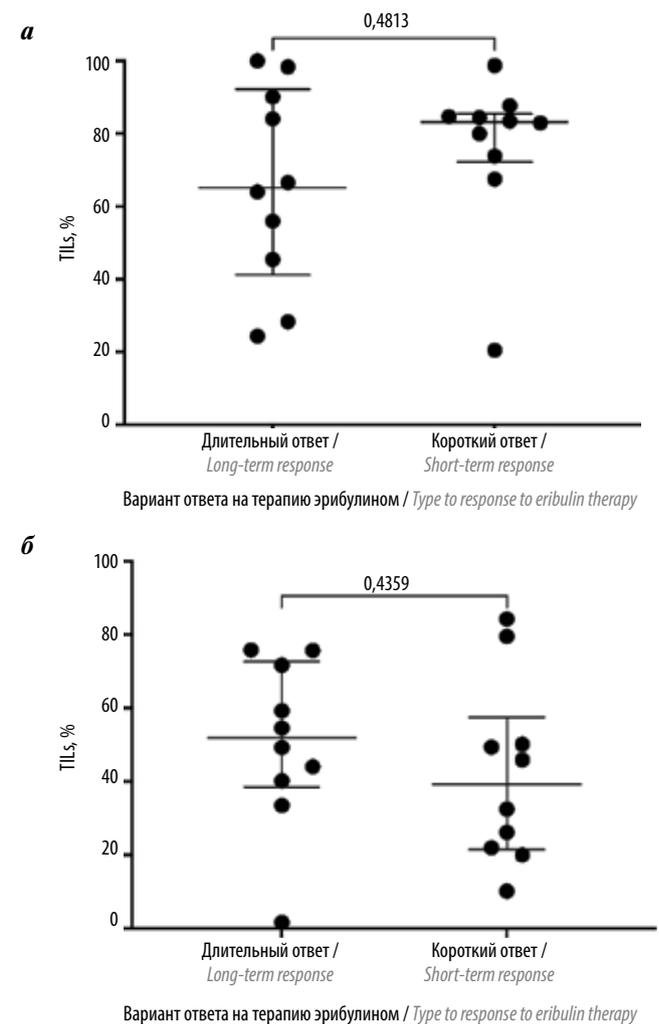
В исследовании был определен уровень TILs, экспрессирующих и не экспрессирующих PD1, в изучаемых когортах пациентов (рис. 1).

Различий в уровне TILs, экспрессирующих и не экспрессирующих PD1, у пациентов с коротким и длительным ответом на терапию эрибулином обнаружено не было. В исследовании определялись следующие субпопуляции лимфоцитов: CD8+ цитотоксические

лимфоциты, FoxP3+ Т-регуляторные (Treg) – лимфоциты, другие CD3+ Т-лимфоциты и CD20+ В-лимфоциты (рис. 2).

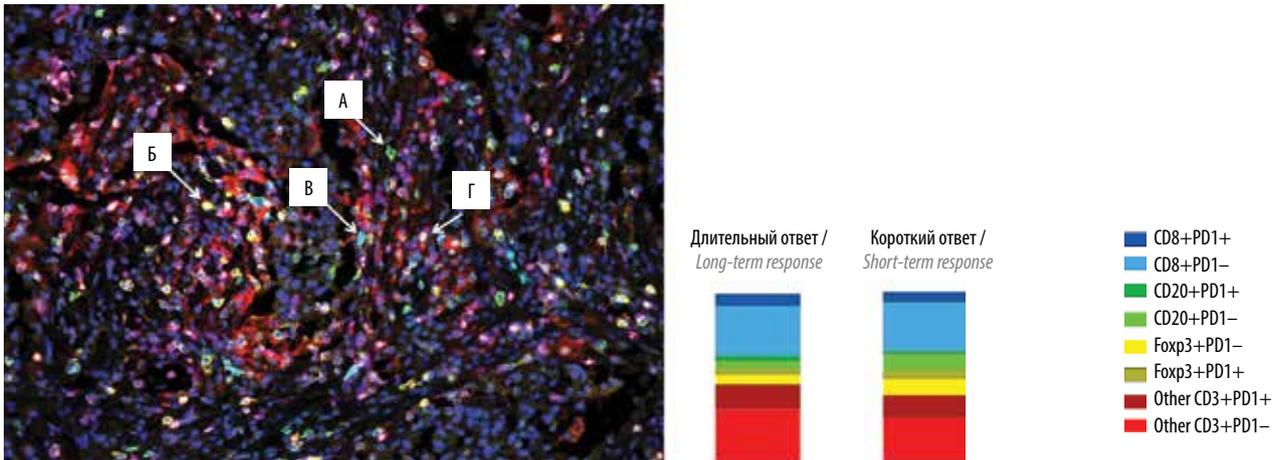
Во всех рассмотренных случаях встречались CD8-лимфоциты и Т-регуляторные лимфоциты. В-лимфоциты с одинаковой частотой встречались в группах пациентов в зависимости от эффективности терапии эрибулином (в 80,0 % (8/10) случаев у пациентов с длительным ответом на терапию эрибулином и в 100 % (10/10) случаев у пациентов с коротким ответом,  $p = 1,000$ ).

Количество клеток различных субпопуляций лимфоцитов не различалось в зависимости от ответа пациентов на терапию эрибулином (см. рис. 2). Затем было рассчитано отношение клеток определяемых субпопуляций без экспрессии PD1 к клеткам, экспрессирующим PD1 на своей поверхности (рис. 3).



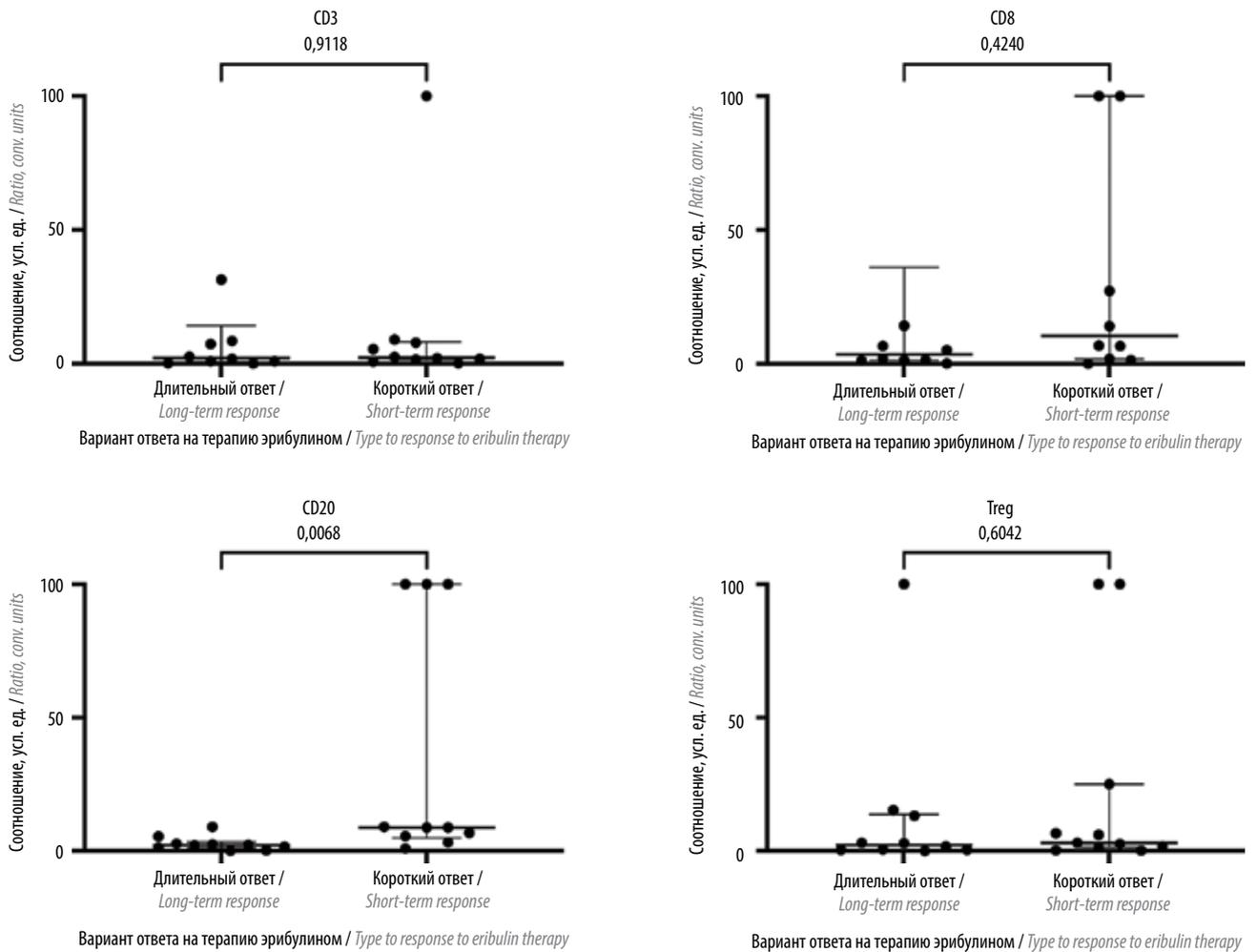
**Рис. 1.** Уровень TILs, экспрессирующих и не экспрессирующих PD1, у пациентов с коротким и длительным ответом на терапию эрибулином: а – PD1-отрицательные TILs; б – PD1-положительные TILs

**Fig. 1.** Levels of TILs expressing and not expressing PD1 in patients with a short-term and long-term response to eribulin therapy: а – PD1-negative TILs; б – PD1-positive TILs



**Рис. 2.** Субпопуляционный состав лимфоцитов ( $CD8^+$  (А),  $CD3^+$  (Б),  $CD20^+$  (В) и  $Foxp3^+$  (Г)) в микроокружении опухоли больных с длительным и коротким ответом на терапию эрибулином

**Fig. 2.** Subpopulation composition of lymphocytes ( $CD8^+$  (A),  $CD3^+$  (B),  $CD20^+$  (B) and  $Foxp3^+$  (Г)) in the tumor microenvironment of patients with a long-term and short-term response to eribulin therapy



**Рис. 3.** Отношение количества клеток инфильтрата без экспрессии  $PD1$  к клеткам, экспрессирующим  $PD1$  на своей поверхности, в зависимости от ответа пациентов на терапию эрибулином

**Fig. 3.** The ratio of the number of cells of the infiltrate without  $PD1$  expression to cells expressing  $PD1$  on their surface depending on the response of patients to eribulin therapy

Было показано, что отношение количества CD20+ лимфоцитов без экспрессии PD1 к CD20+ лимфоцитам, экспрессирующим PD1 на своей поверхности, было меньше у больных с длительным ответом на терапию эрибулином по сравнению с больными, имеющими короткий ответ (2,19 (1,02–3,39) и 8,87 (4,97–100) соответственно,  $p = 0,0068$ ). Для оценки предиктивной ценности обнаруженного различия и порогового значения параметра был проведен ROC-анализ (рис. 4).

Было показано, что отношение количества CD20+ лимфоцитов без экспрессии PD1 к клеткам, экспрессирующим PD1 на своей поверхности, ассоциировано с вариантом ответа на терапию эрибулином у пациентов с трижды негативным РМЖ. Площадь под кривой составила 0,85 (95 % ДИ 0,66–1,00;  $p = 0,0082$ ), а пороговое значение эффективности предсказательного маркера (отношения количества PD1-отрицательных CD20+ лимфоцитов к количеству PD1-положительных CD20+ лимфоцитов) равнялось 5,5. Чувствительность предиктивного критерия составила 80,0 %, а специфичность – 90,0 %.

У пациентов, в ткани первичной опухоли которых отношение количества PD1-отрицательных CD20+ лимфоцитов к количеству PD1-положительных CD20+ лимфоцитов было  $>5,5$ , длительный эффект терапии эрибулином наблюдался в 20,0 % (2/10) случаев, в то время как у пациентов, имевших значение данного параметра  $<5,5$ , – в 90,0 % (9/10) ( $p = 0,0027$ ). При этом относительный риск короткого ответа на терапию эрибулином при отношении количества PD1-отрицательных CD20+ лимфоцитов к количеству PD1-положительных CD20+ лимфоцитов  $>5,5$  составил 8,00 (95 % ДИ 1,21–52,69).

Для оценки предиктивной ценности клинических, патологических и иммунологических параметров использовался однофакторный и многофакторный регрессионный анализ (табл. 2). Изучаемые параметры были последовательно испытаны в качестве предикторов эффективности терапии эрибулином в однофакторном регрессионном анализе. Далее все параметры, показавшие свою статистическую значимость, были включены в многофакторный анализ для подтверждения предиктивной состоятельности.

При проведении однофакторного регрессионного анализа выявлено, что с длительным ответом на терапию эрибулином ассоциированы такие факторы, как сохранное состояние менструальной функции, параметр T1–2 и отношение количества PD1-отрицательных CD20+ лимфоцитов к количеству PD1-положительных CD20+ лимфоцитов  $<5,5$ . Однако многофакторный регрессионный анализ подтвердил потенциальную предиктивную значимость только параметра отношения количества PD1-отрицательных CD20+ лимфоцитов к количеству PD1-положительных CD20+ лимфоцитов ( $p = 0,024$ ).

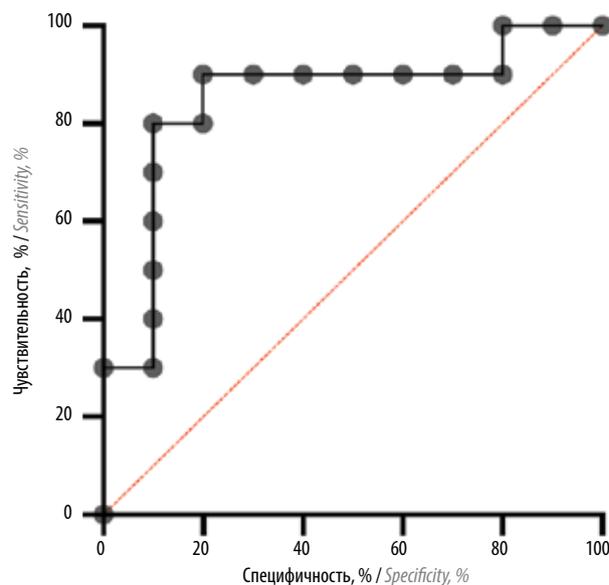


Рис. 4. ROC-кривая значимости отношения количества PD1-отрицательных CD20+ лимфоцитов к количеству PD1-положительных CD20+ лимфоцитов в качестве предиктора эффективности терапии эрибулином

Fig. 4. ROC curve of the significance of the ratio of the number of PD1-negative CD20+ lymphocytes to the number of PD1-positive CD20+ lymphocytes as a predictor of the effectiveness of eribulin therapy

### Обсуждение

Поиск дополнительных критериев прогноза эффективности терапии эрибулином у больных РМЖ является актуальным. В нашем исследовании мы оценивали предиктивную значимость иммунологических параметров микроокружения опухоли как маркеров терапевтической эффективности применения эрибулина у пациентов с местно-распространенным или метастатическим трижды негативным РМЖ. Известно, что высокий уровень TILs у больных трижды негативным РМЖ сопряжен с лучшей общей выживаемостью (отношение рисков 0,58 (95 % ДИ 0,48–0,71)) и выживаемостью без болезни (отношение рисков 0,66 (95 % ДИ 0,57–0,76)) [9]. Более того, подобная связь справедлива для TILs, экспрессирующих PD1. Полагают, что экспрессия PD1 указывает на повышенную иммунологическую противоопухолевую активность и является благоприятным прогностическим признаком [10]. Однако в нашем исследовании уровень TILs не различался у пациентов с длительным и коротким ответом на терапию эрибулином, как не различалась и частота встречаемости различных субпопуляций лимфоцитов, при этом значение имело отношение количества PD1-отрицательных к количеству PD1-положительных В-лимфоцитов. Большая доля PD1-положительных В-лимфоцитов в микроокружении опухоли являлась независимым предиктором длительного ответа на терапию эрибулином у больных местно-распространенным или метастатическим трижды негативным РМЖ. Известно, что эрибулин обладает иммуномодулирующим

**Таблица 2.** Однофакторный и многофакторный регрессионный анализ значимости клинических, патологических и иммунологических параметров как предикторов длительного ответа на терапию эрибулином у больных с местно-распространенным или метастатическим трижды негативным раком молочной железы

**Table 2.** Univariate and multivariate regression analysis of the significance of clinical, pathological and immunological parameters as predictors of long-term response to eribulin therapy in patients with locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer

Параметр Parameter	Однофакторный анализ Univariate analysis			Многофакторный анализ Multivariate analysis		
	Отношение шансов Odds ratio	95 % доверительный интервал 95 % confidence interval	<i>p</i>	Отношение шансов Odds ratio	95 % доверительный интервал 95 % confidence interval	<i>p</i>
Менструальная функция (менопауза против сохранной) Menstrual function (menopause vs preserved)	19,60	2,25–167,23	0,009	2,54	0,41–15,87	0,398
Параметр Т (3–4 против 1–2) T parameter (3–4 vs 1–2)	3,02	1,10–9,19	0,032	0,78	0,45–2,86	0,287
Параметр N (1–3 против 0) N parameter (1–3 vs 0)	1,00	0,67–3,08	1,000	–	–	–
Параметр М (1 против 0) M parameter (1 vs 0)	0,18	0,01–1,98	0,245	–	–	–
Уровень Ki-67 (>50 против <50) Ki-67 level (>50 vs <50)	0,81	0,76–1,17	0,998	–	–	–
Неoadъювантная терапия («есть» против «нет») Neoadjuvant therapy (yes vs no)	0,34	0,02–4,52	0,367	–	–	–
Отношение количества PD1– CD20+ лимфоцитов к количеству PD1+ CD20+ лимфоцитов (>5,5 против <5,5) The ratio of the number of PD1– CD20+ lymphocytes to PD1+ CD20+ lymphocytes (>5.5 vs <5.5)	6,00	1,54–43,11	0,012	15,32	1,66–158,33	0,024

эффектом в ткани опухоли. Показано, что терапия эрибулином приводит к снижению количества Т-регуляторных лимфоцитов и М2-макрофагов, а кроме того, может вызывать смену PD-L1 статуса опухоли с положительного на отрицательный [7]. Наличие В-лимфоцитов в микроокружении является свидетельством течения неблагоприятной иммуновоспалительной реакции Th2-типа. Судя по большому количеству функционально неактивных В-лимфоцитов, экспрессирующих PD1, в группе пациентов с лучшей выживаемостью, возможно предположить, что мишенью действия эрибулина является неблагоприятная иммуновоспалительная реакция Th2-типа, проявления которой подавляются препаратом. Проведенное нами исследование позволило выявить возможный простой

предиктивный критерий эффективности терапии эрибулином у больных местно-распространенным или метастатическим трижды негативным РМЖ. Для подтверждения предиктивной ценности обнаруженного маркера требуется проведение проспективных исследований.

### Заключение

Исследование показало, что с чувствительностью 80,0 % и специфичностью 90,0 % эффективность терапии эрибулином при трижды негативном инвазивном РМЖ можно прогнозировать на основе оценки соотношения количества PD1-отрицательных и PD1-положительных В-лимфоцитов в микроокружении опухоли.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Kuznetsov G., Towle M.J., Cheng H. et al. Induction of morphological and biochemical apoptosis following prolonged mitotic blockage by halichondrin B macrocyclic ketone analog E7389. *Cancer Res* 2004;64(16):5760–6.
2. Jordan M.A., Wilson L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer* 2004;4(4):253–65.
3. Hüsemann L.C., Reese A., Radine C. et al. The microtubule targeting agents eribulin and paclitaxel activate similar signaling pathways and induce cell death predominantly in a caspase-independent manner. *Cell Cycle* 2020;19(4):464–78. DOI: 10.1080/15384101.2020.1716144.
4. Yoshida T., Ozawa Y., Kimura T. et al. Eribulin mesilate suppresses experimental metastasis of breast cancer cells by reversing phenotype from epithelial-mesenchymal transition (EMT) to mesenchymal-epithelial transition (MET) states. *J Br J Cancer* 2014;110(6):1497–505.
5. Funahashi Y., Okamoto K., Adachi Y. et al. Eribulin mesylate reduces tumor microenvironment abnormality by vascular remodeling in preclinical human breast cancer models. *Cancer Sci* 2014;105(10):1334–42. DOI: 10.1111/cas.12488.
6. Kashiwagi S., Asano Y., Goto W. et al. Use of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) to predict the treatment response to eribulin chemotherapy in breast cancer. *PLoS One* 2017;12(2):e0170634. DOI: 10.1371/journal.pone.0170634.
7. Goto W., Kashiwagi S., Asano Y. et al. Eribulin promotes antitumor immune responses in patients with locally advanced or metastatic breast cancer. *Anticancer Res* 2018;38(5):2929–38.
8. Dieci M.V., Radošević-Robin N., Fineberg S. et al. International Immunology Biomarker Working Group on Breast Cancer. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immunology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol* 2018;52(Pt 2):16–25. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.10.003.
9. Gao G., Wang Z., Qu X., Zhang Z. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with triple-negative breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer* 2020;20(1):179. DOI: 10.1186/s12885-020-6668-z.
10. Brockhoff G., Seitz S., Weber F. et al. 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):6201–12. DOI: 10.18632/oncotarget.23717.

**Вклад авторов**

Л.А. Таширева: разработка дизайна исследования, получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи; Н.О. Попова, В.В. Алифанов, В.Е. Гольдберг, Е.И. Коваленко, Е.В. Артамонова, А.Г. Манихас, Д.М. Пономаренко, Н.В. Левченко, Е.И. Россоха, С.Ю. Красильникова, М.А. Зафирова: набор клинического материала, получение данных для анализа; В.М. Перельмутер: анализ полученных данных, научное редактирование рукописи.

**Authors' contribution**

L.A. Tashireva: development of research design, obtaining data for analysis, analyzing the data obtained, writing the text of the article; N.O. Popova, V.V. Alifanov, V.E. Goldberg, E.I. Kovalenko, E.V. Artamonova, A.G. Manikhas, D.M. Ponomarenko, N.V. Levchenko, E.I. Rossokha, S.Yu. Krasilnikova, M.A. Zafirova: selection of clinical material, obtaining data for analysis; V.M. Perelmutter: analysis of the data obtained, scientific editing of the article.

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

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

**Финансирование.** Данная публикация подготовлена при финансовой поддержке компании «Эйсай». Авторы несут полную ответственность за содержание публикации и редакционные решения.

**Financing.** The article was published with the financial support of Eisai Co., Ltd. The authors bear full responsibility for the content of the article and editorial decisions.

**Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики.** Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике НИИ онкологии ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (протокол № 7 от 01.04.2019). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

**Compliance with patient rights and principles of bioethics.** The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of Research Institute of Oncology, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (protocol No. 7 dated 01.04.2019). All patients signed written informed consent to participate in the study.