

## Биологическое обоснование персонализации лечения рака молочной железы. Клиническое значение определения новых маркеров рака молочной железы

**Р.М. Палтуев**

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова» Минздрава России;  
Россия, 197758 Санкт-Петербург, пос. Песочный, ул. Ленинградская, 68

**Контакты:** Руслан Маликович Палтуев [paltuev@mail.ru](mailto:paltuev@mail.ru)

Рак молочной железы (РМЖ), являясь наиболее часто встречающимся онкологическим заболеванием, остается актуальной проблемой как для клиницистов, так и для фундаментальных исследователей. Положительное влияние в лечении заболевания оказало внедрение программ маммографического скрининга, адъювантной и неoadъювантной системной терапии. Большую актуальность набирает изучение биологических маркеров РМЖ, альтернативных стандартным маркерам, широко вошедшим в рутинную клиническую практику. Целый ряд показателей, таких как p53, CK5/6, SMA, p63, PHH3, E-кадгерин, EGFR, FOXA1, рецепторы андрогенов, TILs и др., в многочисленных исследованиях демонстрируют свою предиктивную и/или прогностическую значимость. Результаты исследований свидетельствуют о том, что изучение новых биологических маркеров при РМЖ требует дальнейшего подробного анализа.

Многочисленные исследования позволили определить роль биомаркеров в выборе тактики лечения РМЖ, отметить прогностическое значение биомаркеров, связанных с пролиферативной активностью опухоли, в частности, циклина D1, G1-циклинзависимых киназ (CDK) 4 и 6, циклинзависимых киназ 8/19, указать важность фосфогистона H3, который является маркером пролиферации и может быть использован для определения степени злокачественности опухоли, изучить также прогностическое значение рецепторов андрогена и других биомаркеров. Были проведены исследования по изучению экспрессии биомаркеров и влияния ее на общую и безрецидивную выживаемость.

**Ключевые слова:** адъювантная химиотерапия, биомаркер, трижды негативный рак молочной железы, FOXA1, p53, EGFR, цитокин

**Для цитирования:** Палтуев Р.М. Биологическое обоснование персонализации лечения рака молочной железы. Клиническое значение определения новых маркеров рака молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы 2019;15(2):10–29.

DOI: 10.17650/1994-4098-2019-15-2-10-29

### Biological rationale for a patient-specific approach in the treatment of breast cancer. Clinical value of novel biomarkers of breast cancer

**R. M. Paltuev**

N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia;  
68 Leningradskaya St., Pesochnyy Settlement, Saint Petersburg 197758, Russia

Breast cancer, being the most common type of malignant diseases, remains a significant challenge for both clinicians and fundamental researchers. The implementation of screening mammography, as well as adjuvant and neoadjuvant systemic therapy has made a significant progress in tackling the disease. The studies aimed at the assessment of novel biomarkers of breast cancer, alternative to standard ones, are becoming increasingly relevant. A number of new markers, such as p53, CK5/6, SMA, p63, PHH3, E-cadherin, EGFR, FOXA1, androgen receptors, TILs etc., have demonstrated their high predictive and/or prognostic value in multiple studies. New findings suggest that evaluation of novel biomarkers in breast cancer requires further thorough analysis.

Recent studies have identified the role of biomarkers in choosing an optimal treatment strategy for breast cancer, estimated the prognostic value of biomarkers associated with tumor proliferative activity (including cyclin D1, G1-cyclin-dependent kinases 4 and 6, and cyclin-dependent kinases 8/19), specified the role of phospho-histone H3 (which is a proliferation marker that can be used to determine tumor grade), and evaluated the prognostic value of androgen receptors and other biomarkers. Multiple studies have also analyzed the expression of various biomarkers and their impact on overall and relapse-free survival.

**Key words:** adjuvant chemotherapy, biomarker, triple-negative breast cancer, FOXA1, p53, EGFR, cytokine

**For citation:** Paltuev R. M. Biological rationale for a patient-specific approach in the treatment of breast cancer. Clinical value of novel biomarkers of breast cancer. Opukholi zhenskoy reproduktivnoy systemy = Tumors of female reproductive system 2019;15(2):10–29.

Рак молочной железы (РМЖ), являясь наиболее часто встречающимся онкологическим заболеванием среди женской популяции, остается актуальной и важной проблемой как для клиницистов, так и для фундаментальных исследователей. Более 1 млн человек ежегодно сталкиваются с этим заболеванием. Несмотря на относительное снижение смертности за прошедшую декаду, РМЖ является 2-й по частоте причиной смерти после рака легкого среди женщин старше 40 лет [1].

Как во всем мире, так и в России РМЖ остается одной из ключевых проблем здравоохранения. Однако положительное влияние в лечении заболевания за последние десятилетия оказало широкое внедрение программ маммографического скрининга, адъювантной и неадъювантной системной терапии [2]. Стоит отметить, что современный подход к адъювантной терапии существенно отличается от принципов лечения в прошлом. Считавшаяся обязательной при определенных клинических параметрах, адъювантная химиотерапия (АХТ) в настоящее время не является единым стандартом лечения. Клинико-морфологическая гетерогенность РМЖ была отмечена В.Ф. Семиглазовым и другими исследователями задолго до формирования современных представлений о вариантах течения РМЖ. Такие параметры, как возраст, гистологическая степень злокачественности, статус аксиллярных лимфатических узлов, в планировании лечения использовались задолго до настоящего времени. С момента открытия в опухолевых клетках рецепторов стероидных гормонов и в последующем – рецептора эпидермального фактора роста HER2 начался этап развития персонализированного подхода к лечению РМЖ. Рецепторы стероидных гормонов, HER2 продемонстрировали свою предиктивную и прогностическую значимость в многочисленных клинических исследованиях, радикально изменили подходы к лечению РМЖ [3–7].

На основании достижений последних генетических исследований получено представление о генетическом многообразии РМЖ [8]. Таким образом, стало возможным выделение молекулярных подтипов РМЖ с характерными для них факторами риска, морфологическими признаками, особенностями ответа на лечение, отдаленными результатами, что впоследствии позволило разработать более точные терапевтические подходы к каждому из них.

В текущий момент методики, направленные на определение молекулярно-генетического профиля опухоли, позволяют подробно охарактеризовать ее свойства, а оценка генной экспрессии дает возможность выделить группу благоприятного прогноза среди больных положительным по рецепторам эстрогенов (РЭ<sup>+</sup>) HER2<sup>-</sup> РМЖ, не нуждающихся в проведении АХТ. Доля таких больных в данной группе может составлять не менее 40 % [9]. Однако внедрение

молекулярно-генетического профилирования в рутинную практику затруднено по причине высокой стоимости методики и отсутствия проспективных свидетельств прогностической и предиктивной ценности при выборе адъювантного лечения. Именно в группе РЭ<sup>+</sup> HER2<sup>-</sup> РМЖ пациенткам может проводиться неоптимальная избыточная химиотерапия. Суррогатное определение подтипов РМЖ на основании определения уровня экспрессии РЭ, рецепторов прогестерона (РП), HER2, Ki-67 с помощью иммуногистохимического (ИГХ) исследования эффективно с точки зрения формирования индивидуального прогноза и выбора адъювантного лечения. Это доказано рядом исследований, в которых определение подтипа опухоли проводилось с помощью суррогатных маркеров одновременно с анализом генетического профиля опухоли [10, 11].

Все большую актуальность приобретает изучение биологических маркеров РМЖ, альтернативных стандартным маркерам, широко вошедшим в рутинную клиническую практику. Целый ряд показателей, таких как p53, цитокератины (cytokeratin, СК) 5 и 6 (СК5/6), гладкомышечный актин (SMA), p63, PNH3, E-кадгерин, EGFR, FOXA1, рецепторы андрогенов (РА), TILs и др., в многочисленных исследованиях демонстрируют свою предиктивную и/или прогностическую значимость [12–21]. Результаты данных исследований свидетельствуют о том, что изучение новых биологических маркеров при РМЖ требует дальнейшего подробного анализа. Подобные исследования в будущем могут существенно повлиять на формирование новых подходов к лечению РМЖ.

#### **Роль биомаркеров в выборе тактики лечения рака молочной железы**

Биомаркеры играют важнейшую роль в лечении РМЖ. В настоящее время значение маркеров начинает выходить за пределы традиционных параметров, таких как РЭ, РП, HER2. Маркером может считаться параметр, отражающий нормальный биологический процесс, патологический или ответ на терапевтическое вмешательство. Физиологические и радиологические, гистологические и ИГХ-параметры могут быть биомаркерами РМЖ и имеют важное значение при выборе адъювантной терапии на ранних стадиях заболевания [22–24]. Отметим, что, несмотря на растущее число маркеров, используемых в клинической практике, их пока существенно меньше, чем маркеров, находящихся на стадии изучения.

#### **Маркеры, связанные с пролиферативной активностью опухоли**

**Прогностическое значение циклина D1.** Циклин D1 играет важнейшую роль в регуляции клеточного цикла. Переход от G1 в S-фазу клеточного цикла осуществляется с помощью образования активных ферментных комплексов с циклинзависимыми киназами

(CDK) 4 и 6. Циклин-D1-CDK-комплексы фосфорилируют и инактивируют супрессор опухолевого роста – белок ретинобластомы pRb. Фосфорилирование pRb посредством CDK4/6 приводит в дальнейшем к инактивации генов *E2F*, включая циклины E-типа, регулирующие прохождение G1-фазы клеточного цикла [25].

Как ключевой регулятор, циклин D1 необходим для формирования определенных тканей. Нарушение экспрессии или функции гена циклина D1 приводит к нарушению контроля над нормальным клеточным циклом при канцерогенезе. Клинические исследования свидетельствуют о том, что гиперэкспрессия циклина D1 наблюдается более чем в 50 % случаев РМЖ. Избыток циклина D1 негативно влияет на общую (ОВ) и безрецидивную выживаемость (БРВ) больных РМЖ. В большинстве случаев опухоли, экспрессирующие циклин D1, положительны к РЭ. Экспрессия РЭ в опухолях с гиперэкспрессией циклина D1 уменьшает выживаемость и увеличивает частоту рецидива заболевания в сравнении с больными РЭ<sup>+</sup> РМЖ без гиперэкспрессии циклина D1 [26, 27].

**Прогностическое значение CDK4/6.** Одной из ключевых особенностей злокачественного новообразования является способность к неконтрольному росту, обусловленному гиперэкспрессией пролиферативных сигнальных путей и утратой контрольных точек клеточного цикла [28]. Белок ретинобластомы pRb является регулятором контрольных точек в клетках

млекопитающих. В дефосфорилированном состоянии он подавляет экспрессию белков, необходимых для перехода клетки в S-фазу и прохождения через клеточный цикл. В норме это строго регулируемый процесс, но в случае злокачественной опухоли регуляция перехода контрольной точки нарушается, и клетка приобретает способность к неконтрольной пролиферации. G1-циклинзависимые киназы 4 и 6 (CDK4/6), которые функционируют совместно с D-циклинами, иницируют и фосфорилируют pRb, преодолевают его супрессорное влияние на клеточный цикл [29]. Таким образом, комплекс циклин-D1-CDK4/6 является ключевым регулятором pRb.

При РМЖ в циклин-CDK-Rb-регуляторном пути возникают отклонения. В частности, циклин D1, кодируемый геном *CCND1*, играет ключевую роль в развитии опухоли. Амплификация гена *CCND1* встречается в 15–20 %, а гиперэкспрессия циклина D1 – почти в 50 % всех случаев РМЖ [30].

Е. Peurala и соавт. (2013) провели оценку экспрессии циклина D1, CDK4 и p16 ИГХ-методом в 102 образцах РМЖ. Высокий уровень экспрессии циклина D1 статистически значимо коррелировал с низкой степенью злокачественности, уровнем экспрессии РЭ и РП, низкой пролиферативной активностью и увеличивал ОВ (рис. 1, 2). Опухоли с высоким уровнем циклина D1 имели экспрессию мРНК циклина D1 в 1,8 раза выше. Корреляцию с экспрессией циклина D1 или выживаемостью CDK4

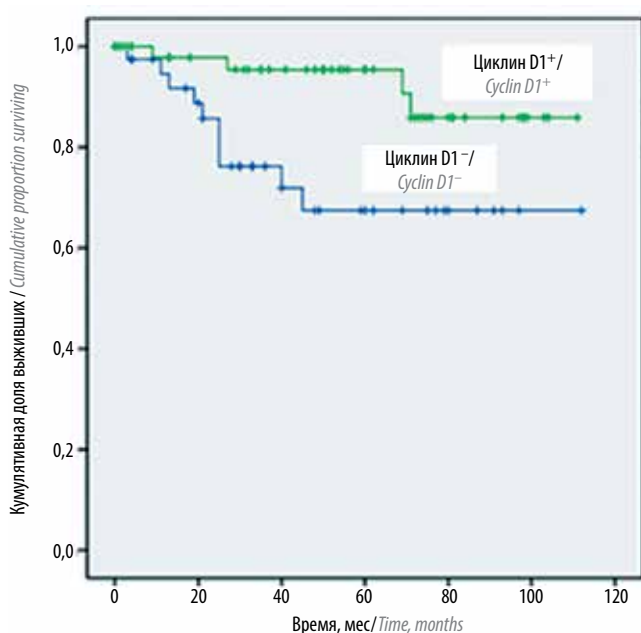


Рис. 1. Раковоспецифическая выживаемость при экспрессии и отсутствии экспрессии циклина D1

Fig. 1. Curves demonstrating breast cancer-specific survival depending on cyclin D1 expression status

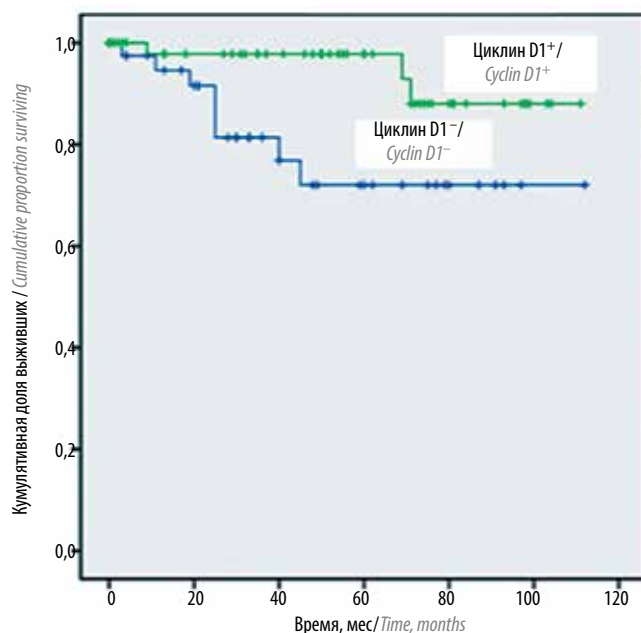


Рис. 2. Общая выживаемость при экспрессии и отсутствии экспрессии циклина D1

Fig. 2. Curves demonstrating overall survival depending on cyclin D1 expression status

не продемонстрировала. Экспрессия p16 была ассоциирована с отсутствием экспрессии HER2 и высокой БРВ [31].

**Прогностическое значение CDK8/19.** CDK8 и ее паралог CDK19 являются регуляторами транскрипции, но, в отличие от других представителей семейства киназ, не участвуют в регуляции клеточного цикла. Низкая экспрессия CDK8 не приводит к подавлению роста нормальных клеток. CDK8 и CDK19 являются субъединицами циклинкиназного модуля медиаторного комплекса, связывающего факторы, инициирующие транскрипцию с РНК-полимеразой II. Изначально считалось, что циклинкиназный модуль участвует в подавлении транскрипции. Однако последние данные свидетельствуют о наличии у циклинкиназного модуля свойств стимулятора транскрипции, инициируемой различными сигналами [32–35]. Циклинкиназный модуль способен фосфорилировать С-терминальный домен РНК-полимеразы II, что способствует элонгации транскрипции (см. рис. 1). CDK8 необходима для фосфорилирования РНК-полимеразы II только в определенных случаях, когда происходит активация спящих генов сигналами, инициирующими транскрипцию. В результате такой селективной активности ингибирование CDK8/19 не приводит практически ни к чему в гомеостатических условиях [36], но может препятствовать транскрипции, инициированной активацией определенных сигнальных путей в опухолевых клетках. CDK8/19 является регулятором транскрипции в ряде сигнальных путей, участвующих в канцерогенезе [34, 35, 37].

E. V. Broude и соавт. (2015) провели метаанализ, продемонстрировавший, что высокая экспрессия CDK8 ассоциирована с меньшей БРВ для всех молекулярных подтипов РМЖ. Подобная корреляция была особенно выражена у пациенток, получавших адъювантную терапию, что позволяет предположить значительное влияние экспрессии CDK8 на эффект АХТ [38].

**Прогностическое значение РНН3.** Фосфогистон H3 (РНН3) – ядерный белок, который в фосфорилированном состоянии является важной составляющей хроматина у эукариотов и участвует в переходе клетки из поздней G2-фазы клеточного цикла в M-фазу. Белок экспрессируется клетками в митотической фазе. Фосфорилирование РНН3 серина-10 и -38 – процесс, задействованный в конденсации хроматина и прохождении по клеточному циклу во время митоза или мейоза [39]. Фосфорилирование происходит с поздней фазы G2 до ранней профазы, дефосфорилирование – медленно с поздней анафазы до ранней телофазы. Таким образом, во время метафазы гистон H3 всегда фосфорилирован и положителен по РНН3, в то время как в интерфазу экспрессии РНН3 не наблюдается. За счет этого свойства РНН3 позволяет

выделять только митотически активные клетки, что делает РНН3 маркером пролиферации [39].

Ценность РНН3 была подтверждена в ряде исследований при разных опухолях, где он продемонстрировал себя как чувствительный и специфичный маркер фигур митоза, а также точно коррелировал с клиническими результатами исследований [40, 41]. В работе X. Cui и соавт. (2015) при РМЖ РНН3 также коррелировал с индексом митотической активности (ИМА) [42]. Авторы работы предположили, что РНН3 может быть использован для определения степени злокачественности опухоли, потому что как показатель позволяет более точно определять фигуры митоза в сравнении с ИМА.

Z. Gerring и соавт. (2015) в микромассах опухолевой ткани 108 пациенток с РМЖ выполняли ИГХ-окрашивание на Ki-67 и РНН3. Исследователи продемонстрировали, что РНН3 является более точным предиктором 5-летней выживаемости в сравнении с Ki-67 после постановки диагноза (относительный риск (ОР) 4,35;  $p < 10^{-5}$  и ОР 2,44;  $p = 0,004$ ) [43].

J.-Y. Kim и соавт. (2017) сравнили Ki-67 и РНН3 ИГХ-методом у 218 больных резектабельным РМЖ, получавших лечение в период с 2012 по 2013 г. РНН3 позволил обнаружить митозы, которые не были выявлены с помощью ИМА, что позволило повысить значение показателя M при оценке степени злокачественности опухоли с помощью технологии секвенирования ( $n = 29/218$ ). РНН3 оказался более воспроизводимым методом в сравнении с Ki-67 (0,904 > 0,712;  $p = 0,008$ ). Кроме того, РНН3 был единственным параметром, продемонстрировавшим корреляцию с БРВ ( $p = 0,043$ ) [44].

Q. Нao и соавт. (2018) провели метаанализ, в котором изучалась прогностическая роль экспрессии белка РНН3 у больных с различными злокачественными новообразованиями. В исследование были включены 4803 пациента. Результаты метаанализа свидетельствуют о том, что высокая экспрессия РНН3 может обладать предиктивным значением для низкой ОВ. Подгрупповой анализ показал, что высокая экспрессия РНН3 наблюдается при РМЖ (ОР 5,66; 95 % доверительный интервал (ДИ) 2,72–11,78;  $p < 0,001$ ) [20].

#### Определение чувствительности к гормональной терапии ESR1

При РМЖ около 70 % опухолей экспрессируют РЭ, что обуславливает их чувствительность к гормональному воздействию. Гормонотерапия играет важную роль как при резектабельном, так и при диссеминированном РМЖ. Существует ряд механизмов развития резистентности к гормонотерапии. Актуальные исследования свидетельствуют, что ключевую роль в развитии резистентности играет мутация гена рецептора эстрогенов ESR1. Большинство мутаций



этого гена (80 %) располагаются в зоне лигандсвязывающего домена, включающей в себя кодоны 534–538: D538G, Y537N/C/S, E380Q [45]. Данные мутации являются приобретенными, практически полностью отсутствуют при первичном РМЖ (<2 %) и возникают в метастатических опухолях в 25–30 % случаев на фоне терапии ингибиторами ароматазы. На первый взгляд, данная мутация может быть маркером резистентности к ингибиторам ароматазы. Однако ряд исследований свидетельствует о том, что выявление мутации *ESR1* является независимым фактором неблагоприятного прогноза как для БРВ, так и для ОВ [46–49].

Несмотря на эффективность гормонотерапии, эндокринная резистентность остается серьезной клинической проблемой [50]. Примерно у 20 % пациенток с ранними стадиями РМЖ впоследствии развивается резистентность к гормонотерапии, что приведет к прогрессированию заболевания в течение или после завершения адъювантной гормонотерапии.

Масштабные генетические исследования («Атлас») ракового генома (TCGA) привели к появлению новых представлений о многогранной генетике РМЖ [51]. Несмотря на ключевую роль РЭ в развитии люминального РМЖ, мутации гена *ESR1* возникают лишь в 0,5 % случаев, а амплификации гена *ESR1* – в 2,6 % [49]. С помощью метода цифровой полимеразной цепной реакции при исследовании 270 случаев раннего РМЖ Т. Takeshita и соавт. (2015) доложили о 2,5 % частоте встречаемости мутации *ESR1*, а Р. Wang и соавт. (2016) обнаружили даже более высокую встречаемость мутации – 7 % [52, 53].

Р. Jeselsohn и соавт. сравнили частоту мутаций при метастатическом и РЭ<sup>+</sup> раннем РМЖ. Частота мутаций всех исследованных генов при метастатическом и РЭ<sup>+</sup> раннем РМЖ была одинаковой, за исключением гена *ESR1*, что позволяет предположить роль данной мутации в развитии метастатической болезни [45].

#### Прогностическое значение рецепторов андрогенов

Прогностическая роль рецепторов стероидных гормонов при РМЖ известна давно. Однако роль РА и его терапевтическая значимость изучены недостаточно, большинство исследований по этой теме было проведено относительно недавно. Экспрессия РА наблюдается при 70 % РМЖ, а положительный по РА статус опухоли статистически значимо сопряжен с низким риском рецидива болезни и смерти [20, 54–58]. Ряд актуальных исследований *in vitro* продемонстрировал значимое влияние экспрессии РЭ на андрогензависимую стимуляцию роста клеток: андрогены ингибируют рост РА<sup>-</sup> и РЭ<sup>+</sup> клеток РМЖ, при этом стимулируют рост РА<sup>+</sup> и РЭ<sup>-</sup> клеток [56, 59]. При РЭ<sup>+</sup> люминальном РМЖ РА играют ингибирующую роль, но при этом их экспрессия может способствовать

росту РЭ<sup>-</sup> и РА<sup>+</sup> клонов клеток РМЖ [60, 61]. На основе этих данных был инициирован ряд клинических исследований по изучению РА при РЭ<sup>-</sup> РМЖ (например, трижды негативном РМЖ (ТНРМЖ)) [59, 62].

ТНРМЖ характеризуется отсутствием экспрессии РЭ, РП, амплификации и/или гиперэкспрессии HER2. Данный молекулярный подтип встречается в 15–20 % всех случаев РМЖ. Для него свойственны более крупные размеры первичной опухоли, более высокая степень злокачественности, большее количество пораженных аксиллярных лимфатических узлов, относительно более низкая выживаемость по сравнению с другими подтипами РМЖ. Появляется все больше свидетельств того, что на молекулярном уровне ТНРМЖ является гетерогенным заболеванием [63–65].

Наличие РА наблюдается при 25–35 % ТНРМЖ. Отсутствие РА было связано с уменьшением БРВ и ОВ в сравнении с РА<sup>+</sup> ТНРМЖ. Снижение экспрессии АР было ассоциировано с возникновением отдаленных метастазов [62, 64, 66–69].

Распределение гетерогенного ТНРМЖ на различные подклассы на основании маркеров в перспективе может позволить выявить новые методики скринирования, прогностические модели, а также потенциальные терапевтические мишени. Для подразделения ТНРМЖ на 2 основных прогностических класса используется ИГХ-панель из 5 маркеров: РЭ, РП, HER2, EGFR, CK5/6. Выделяют базальный (EGFR и/или CK5/6<sup>+</sup>) и 5-негативный типы опухоли [70]. Данных об уровне экспрессии РА при этих вариантах ТНРМЖ относительно немного [18, 71].

В исследовании Р. Gasparini и соавт. (2014) экспрессию РА изучали с помощью ИГХ-метода в 678 случаях РМЖ (ТНРМЖ наблюдался в 396 случаях). Исследовали корреляцию экспрессии РА с течением заболевания, выживаемостью, подтипами ТНРМЖ, стадией заболевания, степенью злокачественности опухоли. Отдельно в 160 случаях ТНРМЖ было проведено профилирование экспрессии мРНК методом микроматричного анализа, проанализированы различия, связанные с экспрессией РА.

В ходе исследований ТНРМЖ был разделен на подтипы на основании ИГХ-профилей: базальный трижды негативный подтип (РЭ<sup>-</sup>, РП<sup>-</sup>, HER2<sup>-</sup>, CK5/6<sup>+</sup> и/или EGFR<sup>+</sup>) и 5-негативный (РЭ<sup>-</sup>, РП<sup>-</sup>, HER2<sup>-</sup>, CK5/6<sup>-</sup>, EGFR<sup>-</sup>). Морфологические результаты оценивались 3 патологами независимо друг от друга.

Из образцов опухоли была выделена РНК. В анализ включили 160 образцов ТНРМЖ, 59 образцов опухолей, соседствующих со здоровыми тканями, 54 образца с поражением аксиллярных лимфатических узлов. С помощью ИГХ-метода, помимо РЭ, РП, HER2, во всех образцах опухолей проводилось определение CK5/6, EGFR, *p53* и РА. При анализе

была изучена степень экспрессии РА в различных подтипах РМЖ. Экспрессия РА была значительно снижена в образцах ТНРМЖ и повышена при HER2<sup>+</sup> подтипах РМЖ, а также при РЭ<sup>-</sup> и РП<sup>-</sup> опухолях (рис. 3–5) [72]. Было проанализировано 678 образцов морфологического материала больных РМЖ (506 – протоковый рак, 44 – дольковый рак, 128 – иной или неопределенный гистологический вариант). При определении ИГХ-профиля было выявлено 396 случаев ТНРМЖ, 276 других подтипов (в 6 случаях данные об экспрессии HER2 отсутствовали).

Более высокая встречаемость РА наблюдалась при HER2<sup>-</sup>, РЭ<sup>-</sup>, РП<sup>+</sup> опухолях. Распространенность последних была ниже при высокой степени злокачественности ( $p < 0,01$ ) и равномерно распределена при всех остальных вариантах; в 98,4 % (300/305) РА<sup>+</sup>

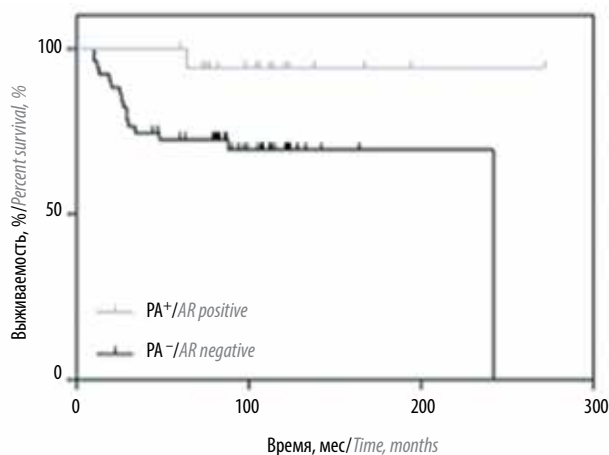


Рис. 3. Кривая выживаемость–время в зависимости от экспрессии рецепторов андрогенов (РА) при 5-негативном раке молочной железы  
Fig. 3. Curves demonstrating survival of patients with penta-negative breast cancer depending on their androgen receptor (AR) expression status

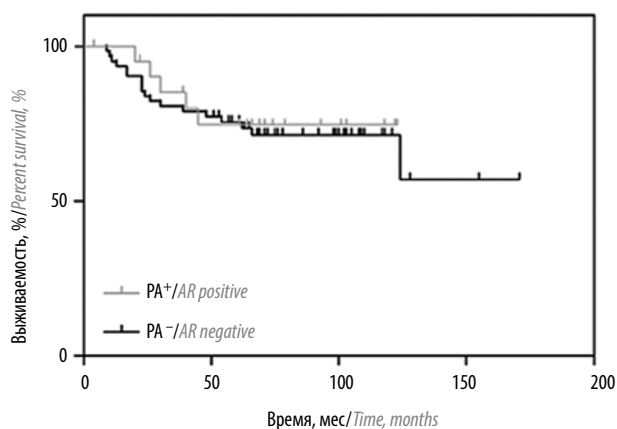


Рис. 4. Кривая выживаемость–время в зависимости от экспрессии рецепторов андрогенов (РА) при 5-негативном раке молочной железы  
Fig. 4. Curves demonstrating survival of patients with penta-negative breast cancer depending on their androgen receptor (AR) expression status

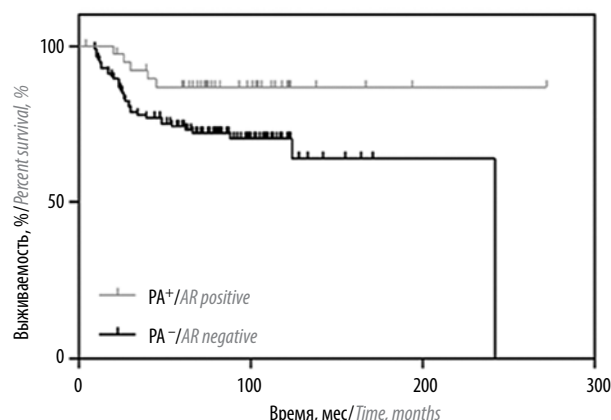


Рис. 5. Кривая выживаемость–время в зависимости от экспрессии рецепторов андрогенов (РА) при трижды негативном раке молочной железы

Fig. 5. Curves demonstrating survival of patients with triple-negative breast cancer depending on their androgen receptor (AR) expression status

образцов (97,8 % при ТНРМЖ и 98,6 % при остальных подтипах) экспрессия РА составила  $\geq 10$  %.

Дополнительно был изучен статус РА в метастатически пораженных лимфатических узлах при ТНРМЖ с помощью анализа мРНК и экспрессии белка. Для оценки экспрессии РНК было проанализировано 160 образцов опухолевого материала, 59 здоровых лимфатических узлов, 54 образца метастатически пораженных лимфатических узлов. Экспрессия мРНК РА при ТНРМЖ была существенно снижена как в первичной опухоли, так и в пораженных лимфатических узлах по сравнению со здоровой тканью молочной железы ( $p < 0,001$  для обеих оценок). При этом уровень экспрессии мРНК был существенно выше в метастатических лимфатических узлах по сравнению с первичными опухолями ( $p = 0,02$ ).

Для определения прогностической значимости определения экспрессии РА с помощью ИГХ-метода была проанализирована ОВ 173 пациенток с ТНРМЖ. Положительная экспрессия РА была связана с улучшением ОВ ( $p = 0,032$ ) при ТНРМЖ ( $n = 153$ ); изменения ОВ не отмечалось в группе опухолей базального типа ( $p$  незначимо;  $n = 86$ ); экспрессия РА позволяла выделить подкласс с наилучшей ОВ среди 5-негативных опухолей ( $n = 69$ ;  $p = 0,026$ ). При проведении многофакторного анализа не наблюдалось никакой связи между положительной экспрессией РА и благоприятным прогнозом в зависимости от категории TNM, степени гистологической злокачественности, гистологического типа и молекулярного подтипа.

Профили экспрессии мРНК в 160 случаях ТНРМЖ были стратифицированы в соответствии с ИГХ-статусом РА – отрицательным либо положительным. Как и ожидалось, мРНК РА была существенно более высокой при РА<sup>+</sup> опухолях (logFC 2,33;  $p < 0,01$ ).

Определение профиля экспрессии генов позволило дополнительно классифицировать ТНРМЖ на различные прогностические классы [29]. ИГХ-панель из 5 маркеров, которая включает РЭ, РП, HER2, EGFR и CK5/6, является наиболее широко применяемым подходом и позволяет разделять ТНРМЖ на 5NP и базальный варианты [70].

Значимой разницы экспрессии РА в первичной опухоли и метастазах отмечено не было. Тем не менее наличие 11 случаев с РА<sup>-</sup> лимфатическими узлами и РА<sup>+</sup> первичными опухолями позволяет предположить, что утрата РА может быть связана с процессом метастазирования. Эту гипотезу подтверждает тот факт, что экспрессия *p53* была одинаковой в первичной опухоли и метастазах во всех 11 случаях.

С прогностической точки зрения экспрессия РА была связана с улучшением ОВ ( $p = 0,032$ ). Все же при многофакторном анализе данный результат не был подтвержден. Это может быть обусловлено относительно небольшим количеством проанализированных случаев ( $n = 153$ ). Существуют данные других исследований, где наличие РА в опухоли также улучшает ОВ [71].

Никакого существенного различия в экспрессии РА между первичными и метастатическими опухолями не наблюдалось. Одиннадцать РА<sup>-</sup> метастатических опухолей в сочетании с РА<sup>+</sup> первичными опухолями могут указывать на то, что потеря РА может быть связана с метастатическим процессом. Это подтверждается наличием одинаковой экспрессии *p53* в парных образцах.

Вышеуказанные данные говорят в пользу прогностической значимости экспрессии РА при ТНРМЖ. Различный уровень экспрессии при подтипах ТНРМЖ подчеркивает их фенотипическую и молекулярную гетерогенность.

### Прогностическое значение FOXA1

Одним из актуальных прогностических маркеров и новой терапевтической мишенью является белок FOXA1. Целый ряд исследований свидетельствует о том, что экспрессия FOXA1 наблюдается при многих видах злокачественных новообразований, включая РМЖ. Высокая его экспрессия ассоциирована с благоприятным прогнозом, кроме того, экспрессия FOXA1 коррелирует с РЭ<sup>+</sup> статусом опухоли, в особенности при люминальном А-подтипе РМЖ [73–76].

FOXA1, известный еще как ядерный фактор гепатоцитов 3 $\alpha$ , изначально был выделен как транскрипционный фактор регуляции специфических для печени генов транстретина (Ttr) и  $\alpha$ 1-антитрипсина (Serpin A1) [77]. FOXA1, как член семейства транскрипционных факторов FOX, экспрессируется не только в ткани печени, но и в тканях молочной и поджелудочной желез, мочевого пузыря, предстательной железы, толстой кишки и легкого. Белок

способен соединяться с промоторами более чем 100 генов, участвующих в регуляции клеточных сигналов и клеточного цикла [78]. FOXA1 содержит в себе ДНК-связывающий домен, который находится в центре белка и состоит из 3  $\alpha$ -цепей и 2 крупных петель, или «крыльев», подобных форме бабочки. FOXA1 содержит ядерные последовательности, гомологичные N- и C-концевым доменам. Таким образом, присоединение FOXA1 к нуклеосомам индуцирует формирование интерхроматина, что обеспечивает вовлечение других транскрипционных факторов [19].

Способность FOXA1 к ремоделированию гетерохроматина обеспечивает механическую поддержку для того, чтобы FOXA1 запускал транскрипционные каскады, участвующие как в обычной, так и в патологической пролиферации. FOXA1 необходим для формирования ткани молочной железы и РЭ<sup>+</sup> клеток. Суммируя его значимость, отметим, что белок необходим для экспрессии 50 % РЭ-ассоциированных генов [79]. В том случае, когда FOXA1 находится в неактивном состоянии в клетках РЭ<sup>+</sup> РМЖ, возникает существенное снижение доступности хроматина вместе с нарушением связывания РЭ с более чем 90 % РЭ-ассоциированных факторов.

Спектр различных исследований продемонстрировал, что FOXA1 может проявлять себя как индуктор и супрессор роста. В качестве стимулятора FOXA1 функционирует как иницирующий фактор, соединяющийся с хроматином, деконъюгирующий хроматин и способствующий присоединению РЭ- $\alpha$  к своим таргетным генам, таким как *TFF1* [80]. В дополнение к активности, модулирующей РЭ, FOXA1 также непосредственно связывается с промотором рецептора РЭ-1 и необходим для экспрессии мРНК РЭ в клетках РМЖ, причем он нужен не только для активности РЭ, но и для их экспрессии [81]. В качестве супрессора для FOXA1 были обнаружены 2 механизма: подавление метастатической прогрессии и дифференциальная регуляция РЭ-зависимого сигнального пути [78]. Продемонстрировано, что гиперэкспрессия FOXA1 может подавлять метастатическое прогрессирование за счет влияния на *BRCA*-ассоциированный регулятор клеточного цикла белок *p27* и усиления экспрессии Е-кадгерина. FOXA1 связывается с промотором *p27* и содействует действию *BRCA1*. Аналогично этому, FOXA1 непосредственно стимулирует транскрипцию гена Е-кадгерина, индукция экспрессии которого снижает миграционную способность опухолевых клеток. Активация *CDH1* обнаруживается и в отсутствие экспрессии РЭ, что поддерживает версию о том, что FOXA1 имеет РЭ-независимую роль в формировании более дифференцированного люминального клеточного фенотипа. С другой стороны, FOXA1 ингибирует РЭ-зависимый сигнальный путь в РЭ- $\alpha$ <sup>+</sup> клетках и подавляет клеточный рост.

Двойственная роль FOXA1 при РМЖ демонстрирует противоречивые результаты: белок имеет свойство опухолевого промотора на начальных стадиях заболевания и опухолевого супрессора в более позднем периоде. Хотя все факторы, способствующие повышению активности РЭ- $\alpha$ , могут считаться негативными для опухолевого роста, FOXA1 не попадает в данную категорию [82]. В связи со сложным взаимодействием между РЭ и ассоциированными сигнальными путями пересечение между FOXA1 и РЭ способствует экспрессии генов, ассоциированных с дифференцировкой [82]. Таким образом, FOXA1 благоприятствует возникновению высокодифференцированного РМЖ с высокой экспрессией РЭ, что является положительным прогностическим фактором. Кроме того, FOXA1 является обязательным для ответа на тамоксифен даже в тех случаях, когда имеется резистентность [83].

Экспертный совет консенсуса Сан-Галлен рекомендовал исследование маркеров пролиферации или определение генетических профилей для определения прогноза и выбора надлежащего системного лечения в дополнение к традиционным стандартным параметрам, таким как стадия заболевания, степень злокачественности, рецепторный статус, HER2-статус [84]. Несмотря на превосходные результаты использования таких методик, как Oncotype Dx и MammaPrint, для оценки генетического профиля, данная методика является дорогостоящей и невалидизированной процедурой для использования в рутинной практике [85]. На основании того, что наблюдалась отрицательная корреляция экспрессии FOXA1 с частотой рецидива болезни, авторы предположили, что белок может являться более экономически эффективным маркером, нежели Oncotype Dx.

Клиническая значимость экспрессии FOXA1 изучалась в различных когортах пациенток. Отмечено, что экспрессия белка в здоровой ткани молочной железы наблюдается в ядрах небольшого количества люминальных клеток и отсутствует в цитоплазме [86]. Уровень экспрессии в опухолевых клетках находится в диапазоне от слабой (11,5 %) до высокой (55,1 %). Частота экспрессии в опухоли – 41,51–85,90 %, медиана частоты – 77,97 %.

По данным упомянутых исследований, экспрессия FOXA1 тесно связана с экспрессией РЭ. Кроме того, имеются положительная корреляция экспрессии FOXA1 с люминальным подтипом и отрицательная корреляция с базальным подтипом. Фактически экспрессия FOXA1 оказалась важным предиктором выживаемости в дополнение к очевидной связи с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. Как показал однофакторный анализ, определение уровня экспрессии FOXA1 имеет существенное значение при оценке прогностического риска у больных РМЖ при таких стандартных факторах, как размер

первичной опухоли, статус аксиллярных лимфатических узлов, степень злокачественности, экспрессия РЭ и HER2. Однако является ли экспрессия FOXA1 независимым предиктором при многофакторном анализе, на данный момент не определено [87, 88].

Высокая экспрессия FOXA1 значимо коррелирует с благоприятным прогнозом независимо от уровня Ki-67 при гормоноположительном РМЖ. Любопытно, что среди больных гормоноположительным и HER2<sup>-</sup> РМЖ с высокой экспрессией FOXA1 не наблюдалось значимой разницы в БРВ между больными, получавшими адъювантную гормонотерапию и АХТ с последующей гормонотерапией [89]. Такие результаты позволяют предположить, что FOXA1 является полезным маркером выявления когорты пациенток с благоприятным прогнозом при гормоноположительном, HER2<sup>-</sup> РМЖ, которые не нуждаются в проведении АХТ.

В исследовании М. Kawase и соавт. (2013) была проанализирована экспрессия FOXA1 (наряду с другими прогностическими факторами, такими как РЭ и Ki-67) до и после лечения с целью изучения прогностической и предиктивной значимости у больных РЭ<sup>+</sup> HER2<sup>-</sup> ранним РМЖ, получавших антрациклин- и таксансодержащие режимы неадъювантной химиотерапии (НАХТ). Значимого снижения экспрессии FOXA1 на фоне НАХТ, в отличие от остальных параметров, не наблюдалось. Высокая экспрессия FOXA1 в постнеоадъювантных образцах опухоли демонстрировала значимую корреляцию с увеличением БРВ [75].

В большинстве исследований не наблюдалось корреляции между экспрессией FOXA1 и такими клинико-морфологическими параметрами, как возраст, размер первичной опухоли, статус аксиллярных лимфатических узлов, экспрессия HER2. Но была выявлена положительная корреляция между экспрессией FOXA1 и РЭ, РП и отрицательная корреляция со степенью злокачественности, Ki-67, CK5/6, CK15 [73, 74, 76, 88]. Анализ выживаемости в прошлом продемонстрировал, что экспрессия РЭ и РП в опухоли ассоциирована с улучшением выживаемости. Опухоли с более высокой степенью злокачественности, большим размером, поражением аксиллярных лимфатических узлов, высоким уровнем Ki-67, CK5/6 и CK14 значимо коррелировали с низкой выживаемостью при РМЖ [8]. К тому же экспрессия FOXA1 отрицательно коррелировала с другими клинико-морфологическими параметрами, такими как СК17, Е-кадгерин и Ноттингемский прогностический индекс, которые свидетельствуют о неблагоприятном прогнозе. На основании упомянутой корреляции высокий уровень экспрессии указывает на то, что данный маркер может занять самостоятельную предиктивную роль при РМЖ.

Гиперэкспрессия FOXA1 изучалась при различных новообразованиях и продемонстрировала корреляцию с благоприятным прогнозом. Общий период



наблюдения составил 44–185 мес. В ряде одних исследований FOXA1 оказался значимым предиктором ОВ, в других он продемонстрировал себя как значимый предиктор БРВ [73, 74, 76, 88].

С. Хи и соавт. (2015) провели ретроспективное исследование предиктивной значимости FOXA1 для оценки чувствительности опухоли к химиотерапии у больных РМЖ, нуждавшихся в проведении неoadъювантного лечения. Было изучено 123 случая РЭ<sup>+</sup> РМЖ за период с 2002 по 2012 г., при которых больным проводили биопсию опухоли до начала лечения, НАХТ, а в последующем оценивался морфологический ответ.

Экспрессия FOXA1 до проведения терапии коррелировала с низкой чувствительностью опухоли к НАХТ при РЭ<sup>+</sup> (люминальном А и В типов) РМЖ ( $p = 0,002$ ;  $0,001$  и  $0,049$  соответственно). Была обнаружена существенная взаимосвязь между изменением экспрессии FOXA1 после НАХТ и химиочувствительностью ( $p = 0,024$ ). Многофакторный анализ выявил: экспрессия FOXA1 до проведения НАХТ является независимым предиктором химиочувствительности при РЭ<sup>+</sup> люминальном типе А РМЖ (ОР 0,163, 95 % ДИ 0,053–0,500,  $p = 0,002$ ; ОР 0,055, 95 % ДИ 0,008–0,353,  $p = 0,002$ ). Кроме того, изменение экспрессии FOXA1 после НАХТ оказалось независимым предиктором химиочувствительности при люминальном типе В (ОР 0,153; 95 % ДИ 0,035–0,665;  $p = 0,012$ ). Таким образом, уровень экспрессии FOXA1 может являться независимым предиктором ответа [90].

J. Shou и соавт. (2016) провели крупный метаанализ для оценки прогностической значимости FOXA1 при РМЖ. Было изучено 9 крупных исследований, суммарно включавших 6386 больных РМЖ. В 5 исследованиях целью изучения стала БРВ, в остальных 4 – ОВ. Метаанализ продемонстрировал, что высокая экспрессия FOXA1 имела положительную корреляцию с БРВ (ОР 0,43; 95 % ДИ 0,23–0,81;  $p < 0,05$ ) и ОВ (ОР 0,39; 95 % ДИ 0,26–0,60;  $p < 0,05$ ) у больных РМЖ, при этом экспрессия FOXA1 имеет обратную корреляцию со статусом HER2. Таким образом, высокая экспрессия FOXA1 связана с благоприятными результатами лечения РМЖ [91].

S. Guiu и соавт. (2018) провели ретроспективную оценку прогностической значимости FOXA1 и РА при нематастатическом РМЖ. Экспрессию РА и FOXA1 оценивали с помощью ИГХ-метода в 333 случаях нематастатического ТНРМЖ. Положительным считался уровень экспрессии  $\geq 1$  %. Дополнительно оценивали лимфоцитарную инфильтрацию, экспрессию PD-L1, мутации *PIK3CA*, дефекты гена *PTEN* и метилирование промотора *BRCA1*.

У наибольшего числа пациенток (42,4 %) отмечалась экспрессия РА и FOXA1. Для этой когорты больных были характерны более зрелый возраст, высокая

степень злокачественности опухоли, высокая частота мутаций *PIK3CA*. У них реже встречались метилирование промотора *BRCA1*, дефекты гена *PTEN*, экспрессия PD-L1. БРВ и ОВ при РА<sup>+</sup> FOXA1<sup>+</sup> ТНРМЖ при медиане наблюдения 7,8 года в сравнении с опухолями РА<sup>+</sup>/FOXA1<sup>-</sup> и РА<sup>-</sup> были значительно ниже: 66,8; 79,1 и 79,7 % ( $p = 0,020$ ) и 76,6; 76,4 и 84,8 % соответственно ( $p = 0,024$ ).

Наличие экспрессии РА и FOXA1 при ТНРМЖ определяет неблагоприятное течение заболевания, характеризующееся снижением БРВ и ОВ [92].

### Прогностическое значение *p53*

Ген *p53* был первым обнаруженным геном-супрессором опухолевого роста. Функция его заключается в подавлении пролиферации и уничтожении атипичных клеток. В условиях нормального функционирования клеток ген находится в неактивном состоянии. Активация же его происходит в условиях клеточного стресса, она приводит к увеличению уровня белка *p53*, связывающей ДНК активности, усилению транскрипции ряда генов. Несколько независимых сигнальных путей активации гена *p53* зависят от регуляторных киназ.

Герминальные мутации *p53* часто встречаются при наследственном синдроме Ли–Фраумени, который приводит к повышению риска развития РМЖ [93]. Это свидетельствует о значительной роли инактивации гена *p53* в возникновении РМЖ и является основанием для его изучения. Распространенное явление при РМЖ – потеря гомозиготности *p53*. P. D. Pharoah и соавт. (1999) провели подробный метаанализ, позволивший установить, что только в 20 % случаев РМЖ экспрессирует мутантный ген *p53*. Как отметили T. Sorlie и соавт. (2001), мутация *p53* встречается в 30 % случаев у больных РМЖ [94]. Хотя общая частота мутаций гена *p53* составляет 20–30 %, отдельные варианты РМЖ сопровождаются их более высокой частотой, которая, например, отмечена у носителей герминальной мутации генов *BRCA1* и *BRCA2* [95, 96]. При медулярном РМЖ мутация *p53* встречается в 100 % случаев [97].

Несмотря на подробное изучение гена, абсолютное число мутаций *p53* при РМЖ значительно ниже, чем при других злокачественных опухолях. Существуют данные, свидетельствующие о том, что при «диком» типе гена *p53* в части случаев окрашивается только цитоплазма [98]. Отсутствие белка *p53* в ядре клетки является следствием механизма инактивации гена *p53*, не зависящего от мутации. Инактивация может происходить на уровне белков, как подавляющих, так и стимулирующих транскрипцию гена. Одним из таких механизмов может являться ген *ATM*, мутация которого приводит к возникновению синдрома атаксии-телеангиэктазии. Его мутация часто

встречается при злокачественных новообразованиях, в том числе при РМЖ [99]. Низкая экспрессия гена *ATM* или ее отсутствие часто бывают отмечены при спорадическом РМЖ, а в небольшой части случаев наблюдаются как низкая экспрессия *ATM*, так и мутация гена *p53* [100]. Уровень мРНК гена *p53* при РМЖ значительно ниже, чем в нормальных клетках эпителия молочной железы. Детальный анализ промотора *p53* выявил наличие нескольких гомеодоменов для белка гомеобокса *HoxA5*, регулирующего экспрессию гена *p53*. В значительной части случаев РМЖ экспрессия *HoxA5* существенно снижена. Снижение активности *HoxA5*, приводящее к уменьшению экспрессии *p53*, является еще одним из механизмов подавления функции гена [101].

Взаимосвязь нарушения функции *p53* и клинических результатов при РМЖ является предметом множества исследований. Способность этого гена влиять на биологические особенности заболевания была описана R. Mazars и соавт. (1992) в работе, продемонстрировавшей наличие мутации *p53* при агрессивном течении РМЖ. Данная взаимосвязь подтверждена и в крупном метаанализе, посвященном влиянию соматических мутаций *p53* на прогноз при РМЖ [102, 103].

Описана возможная корреляция между вариантами мутации гена *p53* и вариантами клинического течения РМЖ. В исследовании J. Alsner и соавт. (2000) продемонстрировано, что мутации, затрагивающие аминокислоты, необходимые для связывания ДНК, ассоциированы с крайне агрессивным течением заболевания, в то время как нулевые или миссенс-мутации не показали определенных результатов [104].

Исследования, посвященные оценке влияния *p53* на чувствительность опухоли к химиотерапии, демонстрируют противоречивые результаты. При РМЖ определенные мутации коррелируют с первичной резистентностью к антрациклинам и, соответственно, могут являться предиктивным фактором раннего прогрессирования заболевания [105, 106]. В исследовании D. Kandioler-Eckersberger и соавт. (2000) опухоли с наличием мутации *p53* лучше отвечали на химиотерапию паклитакселом [107].

A. Dumay и соавт. (2013) изучили статус мутации гена *p53* в 572 случаях РМЖ, разделенных на люминальную, базальную и молекулярную апокринную подгруппы. Наименьшая частота мутаций (26 %) наблюдалась в подгруппе люминальных опухолей, а наибольшая – в подгруппе базальных (88 %). При люминальных опухолях наблюдалась существенно высокая частота замен (82 % против 65 %), преимущественно А/Т на G/C (31 % против 15 %), тогда как при апокринных и базальных опухолях наблюдалась гораздо более высокая частота сложных мутаций (делаций, инсерций) (36 и 33 % соответственно против 18 %).

Миссенс-мутации встречались чаще при люминальных опухолях (75 % против 54 %), в то время как при базальных чаще встречались мутации с иссечением (43 % против 25 %), приводящие к потере функции или экспрессии [108].

T. Maeda и соавт. (2015) провели и оценили ИГХ-экспрессию СК5/6, РА и *p53* в качестве потенциальных прогностических маркеров для проведения АХТ при ТНРМЖ. Экспрессия параметров оценивалась с помощью ИГХ-исследования. Низкая экспрессия РА коррелировала с поздними стадиями заболевания ( $p < 0,05$ ) и малой степенью дифференцировки ( $p < 0,05$ ). Экспрессия СК5/6 и *p53* не имела корреляций с клинико-морфологическими характеристиками опухоли. При ИГХ-профиле экспрессии СК5/6<sup>-</sup>, РА<sup>-</sup>, *p53*<sup>+</sup> БРВ и ОВ были наихудшими. И наоборот, при РА<sup>+</sup> и *p53*<sup>-</sup> ТНРМЖ наблюдался благоприятный прогноз. Анализ экспрессии показал, что не было ни одного образца, где бы наблюдалась экспрессия РА и СК5/6 одновременно. Экспрессия *p53* была выше у пациенток с РА<sup>-</sup> ТНРМЖ ( $p < 0,05$ ) в сравнении с другими когортами. Результаты исследования позволяют предположить, что гиперэкспрессия *p53* коррелирует с неблагоприятным прогнозом [109].

L. Peng и соавт. (2016) провели метаанализ 4288 случаев РМЖ из 16 различных исследований, среди которых была 681 носительница мутации гена *BRCA1*, 336 носительниц мутации *BRCA2*. Мутация *BRCA1* была значимо ассоциирована с гиперэкспрессией гена *p53* в сравнении с *BRCA2* (ОР 1,851; 95 % ДИ 1,393–2,458) или с пациентками с отсутствием мутаций (ОР 2,503; 95 % ДИ 0,670–1,158). Значимой разницы в экспрессии *p53* между группой пациенток с мутациями *BRCA2* и группой без мутаций не отмечалось (ОР 0,881; 95 % ДИ 0,670–1,158) [110].

#### Прогностическое значение маркеров базального рака молочной железы: СК5/6, EGFR

**СК5/6.** Цитоскелет клеток молочной железы состоит из 3 типов филаментов: актиновых микрофиламентов, промежуточных филаментов и микротрубочек [111]. Экспрессия белков промежуточных филаментов, в частности СК, характерна для клеток эпителиального типа.

В здоровой ткани молочной железы в люминальных эпителиальных и в миоэпителиальных клетках бывают различные типы СК. В миоэпителиальных/базальных клетках встречаются SMA и СК5, СК14, СК17 [111]. В нормальной ткани молочной железы может быть небольшое количество клеток, положительных по СК5/6 и отрицательных по СК8, СК18, СК19, SMA. Они располагаются в люминальном слое и имеют морфологические признаки стволовых клеток, которые обладают способностью дифференцироваться в железистый или базальный фенотип.

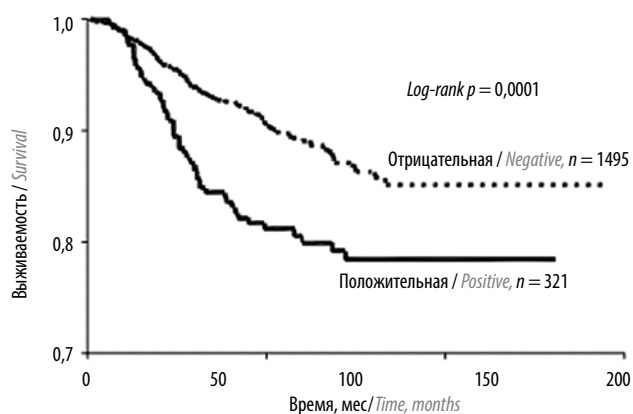


Рис. 6. Кривая выживаемость–время в зависимости от экспрессии CK5/6

Fig. 6. Curves demonstrating survival depending on CK5/6 expression status

Современные технологии анализа генома позволили выделить 4 различных подтипа РМЖ. В 2 из них имеется генетический профиль, характерный для базального и люминального фенотипов [8]. В последующих исследованиях была выявлена статистически значимая связь подтипа РМЖ с ОВ и БРВ [94].

С целью изучения экспрессии базальных и люминальных СК D. M. Abd El-Rehim и соавт. (2004) провели ретроспективное ИГХ-исследование 1994 случаев инвазивного РМЖ. Целями исследования были оценка частоты экспрессии каждого подтипа кератинов, выяснение связи с другими факторами, прогностическая значимость. Дополнительно оценивали экспрессию SMA и РЭ. Для большинства образцов опухолей, положительных по СК7/8, СК18 и СК19, характерных для дифференцированного железистого фенотипа, были свойственны благоприятный прогноз, РЭ<sup>+</sup>-статус и более пожилой возраст. Экспрессия же базальных маркеров была связана с неблагоприятным прогнозом, РЭ<sup>-</sup>-статусом и более молодым возрастом пациенток. Многофакторный анализ продемонстрировал, что СК5/6 является независимым предиктором уменьшения БРВ и ОВ (рис. 6) [112].

М. Kaуahaп и соавт. (2014) провели ретроспективное исследование экспрессии PA, СК5/6, Ki-67 при 86 случаях инвазивного РМЖ со стадиями I, IIa, IIb. В когорте пациенток присутствовали 4 молекулярных подтипа РМЖ. Люминальный A ( $n = 41$ ), люминальный B ( $n = 14$ ), HER2<sup>+</sup> ( $n = 14$ ), трижды негативный ( $n = 17$ ). Среднее время наблюдения составило  $17,46 \pm 11,7$  мес. Положительная экспрессия СК5/6 чаще встречалась в группе с HER2<sup>+</sup> и в группе ТНРМЖ ( $p = 0,001$ ). Влияния экспрессии СК5/6 на выживаемость в исследуемой когорте пациенток выявлено не было [113].

Y. Yue и соавт. (2016) провели проспективное исследование 192 случаев резектабельного ТНРМЖ у пациенток, получавших хирургическое лечение в период с 2008 по 2012 г. Оценивалась взаимосвязь БРВ и ОВ с экспрессией таких факторов, как p53, Ki-67, СК5/6 и EGFR. Учитывался также ряд клиничко-морфологических параметров: возраст, размер опухоли, степень злокачественности, статус аксиллярных лимфатических узлов, стадия заболевания. Медиана возраста составила 57 лет (28–92 года). EGFR и СК5/6 были значимыми прогностическими параметрами при пороговых значениях 15 % ( $p = 0,001$ , AUC = 0,723) и 50 % ( $p = 0,006$ , AUC = 0,675) соответственно. На основе пороговых значений когорта была разделена на 2 группы: EGFR  $\leq 15\%$ ; СК5/6  $\leq 50\%$  и EGFR  $> 15\%$ ; СК5/6  $> 50\%$ . В группе пациенток с высокой экспрессией обоих маркеров наблюдалась более низкая выживаемость (средняя БРВ – 25 мес, частота события – 41,7 %) в сравнении с группой пациенток, где наблюдалась высокая экспрессия одного из маркеров (средняя БРВ – 34 мес, частота события – 25,5 %) [114].

A. E. Abdelrahman и соавт. (2017) провели исследование экспрессии EGFR и СК5/6, а также оценку влияния уровня экспрессии на эффект НАХТ и выживаемость у больных ТНРМЖ. Была проанализирована экспрессия EGFR и СК5/6 у 35 больных ТНРМЖ с помощью метода ИГХ: 57,1 % случаев ТНРМЖ были положительны по СК5/6. Установлена статистически значимая связь экспрессии СК5/6 со степенью злокачественности опухоли, малой эффективностью НАХТ, низкой БРВ и ОВ ( $p = 0,07$ ; 0,048; 0,043;  $< 0,001$  соответственно) [115].

V. Adamo и соавт. (2017) провели ретроспективное исследование прогностической роли 4 молекулярных факторов: PA, E-кадгерина, Ki-67 и базального цитокератина СК5/6. В исследование были включены 99 больных ТНРМЖ, получивших НАХТ или АХТ. Экспрессия факторов проводилась с помощью метода ИГХ. У пациенток с отсутствием экспрессии СК5/6 при однофакторном и многофакторном анализах отмечалось уменьшение БРВ ( $p = 0,2$  и  $p = 0,002$  соответственно) [114].

Экспрессия СК5/6 может служить маркером выявления больных ТНРМЖ с низкой ожидаемой выживаемостью и неэффективностью НАХТ.

**EGFR.** EGFR и HER2 – рецепторы тирозинкиназы из семейства ErbB, наиболее часто участвующие в канцерогенезе. EGFR – трансмембранный рецептор, состоящий из экстрацеллюлярного лигандсвязывающего домена и внутриклеточного домена, обладающего тирозинкиназной активностью. EGFR активируется посредством присоединения его лигандов: эпидермального фактора роста (EGF) и трансформирующего фактора роста альфа (TGF- $\alpha$ ). Гиперэкспрессия EGFR

при РМЖ наблюдается в 14–91 % случаев [116]. Чаще всего EGFR встречается при ТНРМЖ и воспалительном РМЖ [117].

Гиперэкспрессия EGFR при РМЖ ассоциирована с исходно большим размером первичной опухоли, низкой дифференцировкой и неблагоприятным прогнозом [118]. Хотя гиперэкспрессия EGFR встречается при всех подтипах РМЖ, наибольшая частота ее наблюдается при ТНРМЖ и первичном отечно-инфильтративном РМЖ [119].

G. Gonzalez-Conchas и соавт. (2017) провели мета-анализ с целью оценки влияния EGFR на БРВ и ОВ у больных ранним РМЖ. Всего было проанализировано 53 исследования, 21 418 случаев РМЖ. Гиперэкспрессия EGFR была обнаружена у 27 % изученной популяции. В основной анализ были включены 4587 пациенток с соотношением рисков для ОВ и 8747 больных с соотношением рисков для БРВ. Гиперэкспрессия была ассоциирована со снижением ОВ (ОР 1,98; 95 % ДИ 1,59–2,47;  $p < 0,001$ ) и БРВ (ОР 1,59; 95 % ДИ 1,30–1,95;  $p < 0,001$ ). Негативное влияние гиперэкспрессии EGFR на БРВ было наибольшим для больных ТНРМЖ (ОР 2,35 против ОР 1,45 соответственно;  $p = 0,01$ ) [120].

Гиперэкспрессия EGFR ассоциирована со снижением БРВ и ОВ при раннем РМЖ. У больных ТНРМЖ с гиперэкспрессией EGFR показатели БРВ и ОВ существенно хуже в сравнении с ТНРМЖ без гиперэкспрессии EGFR.

#### Прогностическое значение иммунологических маркеров, связанных с TILs: CD4, CD8, PD-L1, FOXP3

Лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (TILs), широко изучены при различных злокачественных новообразованиях. TILs являются следствием ответа иммунной системы больного на злокачественную опухоль. Они представляют гетерогенную популяцию мононуклеарных клеток: CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup> Т-клеток, В-клеток, миелоидных супрессорных клеток, макрофагов и пр. Иммуносупрессивные факторы микроокружения опухоли, ингибирующие функцию TILs, включают в себя иммуносупрессивные клетки, цитокины, продуцируемые опухолевыми и мезенхимальными клетками, коингибирующие лиганды, продуцируемые опухолевыми клетками. Высокая плотность TILs связана с благоприятным прогнозом при некоторых подтипах РМЖ, включая HER2<sup>+</sup> подтип, ТНРМЖ. Стромальные TILs ассоциированы с большей частотой полного морфологического ответа на фоне НАХТ, уменьшением риска рецидива болезни, увеличением ОВ при ранних стадиях ТНРМЖ и HER2<sup>+</sup> РМЖ у пациенток, получающих системную адъювантную терапию.

Впервые TILs были описаны при медуллярном РМЖ – гистологическом варианте рака, характеризу-

ющемся лимфоцитарной инфильтрацией, отсутствием РЭ, экспрессией РП, гиперэкспрессией HER2 и относительно благоприятным прогнозом [121]. Лимфоцитарная инфильтрация наиболее характерна для HER2<sup>+</sup> РМЖ и ТНРМЖ. Выделяют внутриопухолевую и стромальную лимфоцитарную инфильтрацию [122]. Существует ряд фактов, которые свидетельствуют о наличии значимой взаимосвязи TILs (в особенности стромальных) со снижением риска рецидива заболевания и смертности как при HER2<sup>+</sup> РМЖ, так и при ТНРМЖ [71, 153]. Кроме того, есть данные о связи TILs в остаточной опухоли после проведения НАХТ с прогнозом заболевания [123]. Более высокая плотность TILs в материале трепанобиопсии до начала лечения является прогностическим маркером полного морфологического ответа при проведении НАХТ [124]. Очевидная связь между высокой плотностью TILs и благоприятными клиническими результатами привела к тому, что экспертная группа сформулировала рекомендации для оценки и подсчета TILs при РМЖ, которые позволят тщательно собирать данные для анализа и их последующего клинического применения [36].

Хотя клетки, инфильтрирующие опухоль, названы лимфоцитами, морфологически они мононуклеарные, а фактически состоят из смешанной популяции клеток, включающей в себя не только цитотоксические и супрессорные Т- и В-лимфоциты, но и НК-клетки, плазматические клетки, макрофаги, дендритные клетки и миелоидные клетки-предшественники. С момента появления ингибиторов контрольных точек широкий интерес проявляется к более точному определению состава популяции TILs с целью определения предиктивных маркеров, которые позволят идентифицировать опухоли, наиболее восприимчивые к терапии, с помощью ингибиторов контрольных точек.

Международная рабочая группа по изучению TILs создала рекомендации по оценке TILs при РМЖ [125]. Прежде всего группа рекомендует идентифицировать все мононуклеарные клетки в пределах первичной опухоли как TILs, за исключением областей с некрозом, артефактами или гиалинозом. Трепанобиопсия может быть использована для оценки TILs до проведения НАХТ. Убедительных данных относительно значимости оценки TILs в остаточной опухоли после проведенной НАХТ не существует. Кроме того, рабочая группа рекомендовала различать внутриопухолевые и стромальные TILs и для оценки плотности изучать в первую очередь строму. Стромальные TILs – это лимфоциты, располагающиеся в строме между опухолевыми клетками, не контактирующие с ними непосредственно. Количество их оценивается как процент стромы, занятой TILs. Рабочая группа указывает на то, что передвижение клеток между опухолью и микроокружением стромы является динамическим процессом,



запечатленным статически на гистологическом препарате, и потому различия между внутриопухолевыми и стромальными TILs являются условными.

Определение стромальных TILs является более обоснованным из-за их преобладания, относительной легкости подсчета, а также на основании прогностической значимости. В качестве единицы измерения стромальных TILs рабочая группа рекомендует использовать полуквантили (например, <10 %, 10–20 % и т. д.), а не определенное количество процентов.

Несмотря на наличие убедительных данных, подтверждающих наличие связи между стромальными TILs и прогнозом при ранних стадиях РМЖ, требующих АХТ, и ТНРМЖ, требующего НАХТ, возможность клинического применения данного показателя остается неопределенной. В настоящее время нет достаточного уровня доказательности для применения параметра в качестве показателя для определенного вида лечения (например, для АХТ).

При опухолях, возникающих у пациенток с герминальной мутацией гена *BRCA1*, наблюдается большее количество TILs в сравнении со спорадическим РМЖ [126] в связи с нарушением гомологичной рекомбинации и, как следствие, репарации ДНК. Это приводит к большей неоантигенной нагрузке, что индуцирует иммунный ответ. Для *BRCA*-неассоциированного ТНРМЖ также характерно нарушение механизмов репарации ДНК из-за дефектов в других путях репарации (*PALB2*, *RAD51*) и повышенного уровня метилирования промотора *BRCA1*. Для опухолей с такими геномными дефектами характерна высокая плотность TILs, что является лишним подтверждением связи мутационной нагрузки и иммунного ответа [127]. С другой стороны, опухоли, которым свойственен дефект механизмов репарации ДНК вследствие герминальной или соматической мутации, более чувствительны к агентам, разрушающим ДНК (препаратам платины, алкилирующим агентам и антрациклинам). Потому в настоящее время нет ясности, обусловлен ли более благоприятный прогноз заболевания, связанный с TILs, эффективным иммунным ответом, большей чувствительностью опухоли к цитотоксическим агентам или же обеими причинами одновременно.

Несмотря на то что возникновение злокачественного новообразования происходит по причине ускользания опухоли от иммунной системы, связь между TILs и прогнозом заболевания свидетельствует о том, что иммунитет хозяина не перестает играть определенную роль даже после возникновения злокачественного новообразования. TILs состоят из гетерогенной популяции клеток, которые обладают как иммуностимулирующими, так и иммуносупрессивными свойствами, определенный баланс данных эффектов способствует устойчивости опухоли [128].

Некоторые клетки популяции TILs подавляют прогрессирование опухоли –  $CD8^+$  Т-клетки, клетки-хелперы  $CD4^+$  (Th1), NK-клетки. Другая часть популяции способствует прогрессированию опухоли – Th2, стволовые клетки, регуляторные Т-клетки. Субпопуляции макрофагов и дендритных клеток могут обладать подавляющим действием (M1, DC1) или стимулирующим (M2, DC2), в то время как популяции других клеток могут обладать или подавляющим, или стимулирующим действием, включая В-клетки и клетки Th17 [125].

Субпопуляции TILs могут оцениваться с помощью различных методик, таких как ИГХ, гибридизация РНК *in situ*, проточная цитофлуориметрия. Анализ уровня экспрессии генов позволяет идентифицировать иммунные сигнатуры, отражающие состав популяции. К настоящему времени для классификации субпопуляций используется в основном ИГХ (в первую очередь антитела к  $CD4$ ,  $CD8$ ,  $CD25$ ,  $FOXP3^+$ ). На основании этой методологии основными типами иммуносупрессивных клеток, входящих в состав TILs, являются регуляторные Т-клетки ( $CD4^+$ ,  $CD25^+$ ,  $FOXP3$ ) и миелоидные супрессорные клетки [129]. Регуляторные Т-клетки продуцируют RANK-лиганд, который связывается рецептором активатора фактора транскрипции каппа (RANK) [240]. Миелоидные супрессорные клетки подавляют пролиферацию Т-клеток путем продукции активных форм кислорода, нарушают связывание антиген-специфических белков с  $CD8$ -Т-клетками путем инактивации тирозинкиназ в  $CD8$ -рецепторах Т-клеток и ингибируют представление антигена опухолевыми клетками путем подавления экспрессии опухолевого главного комплекса гистосовместимости [129].

TILs – это только один из компонентов микроокружения опухоли, помимо мезенхимальных клеток и внеклеточного матрикса. Внеклеточный матрикс функционирует как структурный каркас, обеспечивает передачу биохимических и биомеханических сигналов, влияющих на рост, выживание, миграцию, дифференцировку клеток [131]. Взаимное влияние субпопуляций TILs и других компонентов микроокружения опухоли за счет цитокинов и хемокинов приводит к сложному взаимодействию, способному влиять как на стимуляцию, так и на подавление роста опухоли.

**Цитокины и хемокины:** клетки стромы и иммунной системы продуцируют различные цитокины, оказывающие регуляторное влияние на разные субпопуляции иммунных клеток. Например, TGF- $\beta$  подавляет транскрипцию генов в  $CD8^+$  Т-клетках, что приводит к нарушению цитолитической активности [132]. Опухолевые клетки выделяют лиганды (полипептидная последовательность главного комплекса гистосовместимости), которые приводят к истощению рецепторов Т-клеток и ослабляют реакции специфических

эффекторных клеток в ответ на опухолевые антигены [133]. Таким образом, цитокины, секретируемые в микроокружении опухоли, препятствуют презентации антигенов Т-клеткам и способны подавлять ответ последних на опухоль.

**Коингибирующие и костимулирующие рецепторы и лиганды:** активация Т-клеток зависит от распознавания антигенпредставляющих клеток хозяина и наличия коингибирующего или костимулирующего сигнала семейства CD28-B7 путем взаимодействия рецепторов и лигандов между Т-клетками, антигенпредставляющими или злокачественными клетками. Ряд B7-лигандов (PD-L1, B7-H3, B7х, HHLA2) ингибирует ответы Т-клеток в отношении опухолевых клеток. Экспрессия данных лигандов при РМЖ ассоциирована с неблагоприятными клиническими признаками [134]. Например, доказано, что экспрессия коингибирующего рецептора PD-1 связана с уменьшением ОВ при РМЖ [135].

На стимуляцию и функцию TILs влияет сложное взаимодействие неоантигенов, коингибирующих лигандов для опухоли, коингибиторных рецепторов для TILs, субпопуляций клеток в микроокружении опухоли.

S. Loi и соавт. (2013) впервые описали многообразие TILs в зависимости от подтипа РМЖ и взаимосвязь между TILs и прогнозом заболевания при ТНРМЖ. В исследовании 2 независимых патоморфолога оценивали TILs в образцах опухоли у 2009 больных РМЖ с поражением аксиллярных лимфатических узлов, участвовавших в исследовании BIG 02-98. Было установлено, что внутриопухолевые и стромальные TILs значительно выше при ТНРМЖ и HER2<sup>+</sup> РМЖ в сравнении с РЭ<sup>+</sup> РМЖ. При анализе не было выявлено взаимосвязи между TILs и прогнозом при РЭ<sup>+</sup> РМЖ. При этом увеличение внутриопухолевых и стромальных TILs на каждые 10 % в группе больных ТНРМЖ сопровождалось уменьшением риска рецидива болезни на 17 и 15 % ( $p = 0,1$  и  $p = 0,025$ ) соответственно и уменьшением риска смерти на 27 и 17 % ( $p = 0,035$  и  $0,023$ ) соответственно независимо от режима химиотерапии [153]. В другом исследовании было проведено изучение 481 случая ТНРМЖ I–III стадии, включенного в 2 крупных исследования III фазы (ECOG 2197 и ECOG 1199). На каждое 10 % увеличение стромальных TILs наблюдалось снижение риска рецидива болезни на 14 %, снижение риска прогрессирования болезни на 18 %, снижение риска смертности на 19 %. Упомянутые исследования продемонстрировали, что стромальные TILs являются независимым прогностическим маркером улучшения БРВ и ОВ у больных с I–III стадиями ТНРМЖ.

Взаимосвязь TILs и прогноза заболевания оценивалась ретроспективно в работе M.V. Dieci и соавт. (2014). Было проанализировано 817 случаев РМЖ

с поражением или без такового аксиллярных лимфатических узлов, включенных в 2 крупных рандомизированных исследования. В группе случаев с ТНРМЖ внутриопухолевые и стромальные TILs были ассоциированы с ростом БРВ. Увеличение TILs на 10 % было значимо связано с уменьшением риска рецидива болезни на 14 и 13 % (ОР 0,86; 95 % ДИ 0,78–0,94 и ОР 0,87; 95 % ДИ 0,80–0,94) соответственно. TILs оказались прогностически благоприятным фактором как при проведении АХТ, так и в ее отсутствие [123]. В другом многоцентровом исследовании III фазы FinHER, посвященном проведению АХТ, были включены 1010 больных РМЖ высокого риска с поражением или без таковых аксиллярных лимфатических узлов. В анализируемой группе пациенток с ТНРМЖ ( $n = 134$ ) повышение уровня TILs на каждые 10 % сопровождалось снижением риска рецидива болезни на 13 % (ОР 0,77; 95 % ДИ 0,61–0,98;  $p = 0,02$ ). Таким образом, ряд независимых исследований подтвердил прогностическую роль TILs при резектабельном ТНРМЖ.

У пациенток с экспрессией PD-L1  $\geq 1$  % при применении атезолизумаба 840 мг в дни 1 и 15 каждого 28-дневного цикла с последовательным введением наб-паклитаксела в дозе 100 мг/м<sup>2</sup> и только наб-паклитаксела в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла было показано достоверное снижение риска прогрессирования или смерти на 29 %, а также клинически значимое увеличение ОВ почти на 7 мес (25 мес против 18 мес) в группе терапии атезолизумабом в комбинации с наб-паклитакселом по сравнению с монотерапией наб-паклитакселом (P. Schmid и соавт., ASCO 2019, Impassion130: updated overall survival from a global, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study of atezolizumab + nab-paclitaxel in previously untreated locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer).

Влияние TILs на прогноз при HER2<sup>+</sup> подтипе РМЖ продемонстрировано в ряде исследований. В упомянутое рандомизированное многоцентровое исследование III фазы FinHER были включены 209 пациенток с HER2<sup>+</sup> РМЖ. Увеличение числа стромальных TILs на каждые 10 % сопровождалось улучшением БРВ (ОР 0,77; 95 % ДИ 0,61–0,98) [136]. Также связь между TILs и прогнозом заболевания была проанализирована в исследовании NCCTG-9831, где проводилась оценка эффективности АХТ отдельно или в сочетании с трастузумабом при HER2<sup>+</sup> РМЖ [137]. Лимфоцит-доминирующий РМЖ (ЛДРМЖ) с высокой плотностью стромальных TILs (>60 %), составивший 9,9 % ( $n = 94$ ), был независимо связан с улучшением БРВ у пациенток, получивших только химиотерапию, но не в группе пациенток, получивших химиотерапию с трастузумабом. У пациенток, получивших только химиотерапию, 10-летняя БРВ составила 90 и 64,5 % для групп с ЛДРМЖ и без такового соответственно (ОР 0,23; 95 % ДИ 0,073–0,73). Анализ

подгруппы больных HER2<sup>+</sup> РМЖ с поражением аксиллярных лимфатических узлов в исследовании III фазы BIG 02-98 продемонстрировал значимое положительное влияние увеличения плотности TILs (с шагом 10 %) в группе больных HER2<sup>+</sup> РМЖ, получивших АХТ антрациклинами без трастузумаба. В группе пациенток, получавших лечение антрациклинами и доцетакселом, такого результата не наблюдалось. На основании перечисленных исследований можно сделать вывод о том, что высокая плотность TILs является прогностически благоприятным фактором при HER2<sup>+</sup> РМЖ.

Данные о благоприятном значении TILs у пациенток с РЭ<sup>+</sup> HER2<sup>-</sup> РМЖ ограничены. Опубликованные результаты рандомизированного исследования M. V. Dieci и соавт. (2014) свидетельствуют об отсутствии положительного прогностического влияния TILs у больных с РЭ<sup>+</sup> HER2<sup>-</sup> РМЖ [138].

Неoadьювантная химиотерапия местно-распространенного РМЖ сопровождается высокой частотой клинического ответа (70–90 %). Несмотря на это, полная морфологическая ремиссия (ПМР), являющаяся полным отсутствием резидуальной опухоли, наблюдается лишь у 10–25 % пациенток [139]. ПМР – показатель, связанный с долгосрочным благоприятным прогнозом, в особенности при HER2<sup>+</sup> РМЖ и ТНРМЖ [140]. В связи со своей прогностической значимостью этот показатель принят FDA для ускоренного одобрения новых препаратов при лечении больных местнораспространенным РМЖ, нуждающихся в НАХТ [141]. Пациентки с резидуальной болезнью имеют различный прогноз, однако известно, что наличие резидуальной опухоли при ТНРМЖ и HER2<sup>+</sup> РМЖ обуславливает высокий риск рецидива болезни [142].

C. Denkert и соавт. (2010) проанализировали TILs в 1058 образцах опухолевой ткани, полученной до начала лечения у пациенток, участвовавших в исследованиях Gepar Duo и Gepar Trio (III фаза клинических испытаний по изучению эффективности НАХТ). Наличие >10 % стромальных TILs оказалось независимым предиктивным фактором для ПМР в обеих группах [143]. Частота ПМР составила 42 и 40 % соответственно. При опухолях с низким уровнем TILs частота ПМР составила 3 и 7 % соответственно. В другом исследовании НАХТ с добавлением карбоплатина к комбинации таксанов и антрациклинов – GeparSixto – у 580 пациенток ПМР составила 76,2 % для ЛДРМЖ (>60 % внутриопухолевых и стромальных TILs) по сравнению с 52,2 % случаев без ЛДРМЖ ( $p = 0,01$ ) у больных ТНРМЖ [124].

Y. Mao и соавт. (2014) провели метаанализ, в который было включено 13 исследований НАХТ, 3251 случай ТНРМЖ. Исследование продемонстрировало более высокую частоту ПМР при высоком уровне TILs в морфологическом материале, полученном до начала терапии [144]. Более высокая плотность TILs была связана с увеличением частоты ПМР при проведении НАХТ

(коэффициент риска (КР) 3,93; 95 % ДИ 3,26–4,73;  $p < 0,001$ ), для внутриопухолевых TILs (КР 4,15; 95 % ДИ 2,95–5,84;  $p < 0,001$ ), для стромальных TILs (КР 3,58; 95 % ДИ 2,50–5,13;  $p < 0,001$ ). Уровень TILs имел прогностическое значение для ТНРМЖ, HER2<sup>-</sup> РМЖ.

В исследовании N. Oda и соавт. (2012) при РМЖ II–III стадий ( $n = 180$ ) наличие в опухоли FOXP3 и CD8 у больных II–III стадии РМЖ было связано с высокой частотой ПМР ( $p < 0,001$  и  $p = 0,007$  соответственно) [145]. Инфильтрация FOXP3 оказалась значимым независимым предиктивным фактором для ПМР ( $p = 0,014$ ), инфильтрация CD8 такой взаимосвязи не продемонстрировала. В другом исследовании A. N. Seo и соавт. (2013) при изучении 153 образцов опухолевой ткани было установлено, что высокий уровень CD8<sup>+</sup> TILs в материале биопсии до начала лечения являлся независимым прогностическим фактором эффекта НАХТ [146].

В исследовании GeparQuattro изучалась связь ответа на неoadьювантное лечение трастузумабом в комбинации с химиотерапией и TILs у 156 больных HER2<sup>+</sup> РМЖ. Увеличение уровня TILs на каждые 10 % сопровождалось возрастанием частоты ПМР (КР 1,14; 95 % ДИ 1,01–1,29) [147]. В исследовании GeparSixto изучалось влияние добавления карбоплатина к комбинации таксанов и антрациклинов у 580 больных ТНРМЖ и HER2<sup>+</sup> РМЖ [65]. Частота ПМР была значительно выше в группе с ЛДРМЖ в сравнении с группой без ЛДРМЖ (59,9 % против 33,8 %;  $p = 0,001$ ). ПМР была значительно выше в группе с ЛДРМЖ как при использовании карбоплатина, так и без этого препарата (46,6 % против 33,5 %,  $p = 0,05$ ; >75 % против 38,1 %,  $p = 0,05$ ) [148].

Крупный метаанализ, в который было включено 13 клинических исследований (3555 случаев РМЖ), продемонстрировал, что высокий уровень TILs в материале биопсии до начала НАХТ при ТНРМЖ и HER2<sup>+</sup> РМЖ был ассоциирован с высокой частотой ПМР. Корреляции между частотой ПМР и TILs не наблюдалось при РЭ<sup>+</sup> HER2<sup>-</sup> РМЖ [144]. Высокий уровень CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в опухоли до начала лечения (КР 3,36, 95 % ДИ 1,15–9,85) и после неoadьювантной терапии (КР 4,71, 95 % ДИ 1,29–17,27) был ассоциирован с высокой частотой ПМР. При HER2<sup>+</sup> РМЖ высокий уровень TILs позволяет предсказывать положительный эффект не только неoadьювантного лечения трастузумабом, но и НАХТ [144]. Также в исследовании V. West и соавт. (2011) изучалось влияние TILs на эффект химиотерапии в 368 образцах ткани опухоли, взятых до начала лечения в 2 группах с РЭ<sup>-</sup> РМЖ (исследования EORTC 10994 и BIG 00-01), высокий уровень CD8<sup>+</sup> TILs оказался независимым предиктивным фактором эффективности антрациклинов [149].

Влияние TILs на прогноз эффективности эндокринологической терапии изучено недостаточно. В исследовании M. S. Chan и соавт. (2012) у больных РЭ<sup>+</sup> РМЖ,

получавших неoadъювантную гормонотерапию ингибиторами ароматазы, изменения соотношения CD8<sup>+</sup> Т-клеток/FOXP3<sup>+</sup> или регуляторных Т-клеток до и после терапии коррелировали с ответом на эндокринотерапию. Значимое увеличение соотношения CD8<sup>+</sup>/регуляторных Т-клеток отмечалось при наличии эффекта гормонотерапии ( $p = 0,028$ ), однако оно отсутствовало при неэффективности гормонотерапии [150]. Таким образом, данное соотношение может являться суррогатным предиктивным маркером эффективности неoadъювантой гормонотерапии.

M.V. Dieci и соавт. (2014) провели ретроспективное исследование 304 случаев ТНРМЖ с наличием резидуальной опухоли после НАХТ, где наличие TILs в опухоли было связано с более благоприятным прогнозом. Стромальные TILs, как и внутриопухолевые,

оказались благоприятными прогностическими факторами для БРВ и ОВ. Пятилетняя ОВ составила 91 % для подгруппы с высокой плотностью TILs и 55 % для подгруппы с низкой плотностью TILs (ОР 0,19; 95 % ДИ 0,06–0,61). Прогностическое влияние TILs было наиболее значимым для пациенток с размером первичной опухоли >2 см или наличием метастазов в аксиллярных лимфатических узлах [123].

На основании перечисленных данных можно говорить о том, что плотность TILs является достоверным прогностическим, а также предиктивным биомаркером эффективного неoadъювантного лечения при ТНРМЖ и HER2<sup>+</sup> РМЖ. Оценка плотности стромальных TILs – воспроизводимый и практически удобный метод в сравнении с оценкой внутриопухолевых TILs.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Giordano S.B., Gradishar W. Breast cancer: updates and advances in 2016. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2017;29(1):12–7. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000343.
- Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG) Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet* 2005;365(9472):1687–17. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)66544-0.
- Bollet M.A., Sigal-Zafrani B., Mazeau V. et al. Age remains the first prognostic factor for loco-regional breast cancer recurrence in young (<40 years) women treated with breast conserving surgery first. *Radiother Oncol* 2007;82(3):272–80. DOI: 10.1016/j.radonc.2007.01.001.
- Schwartz A.M., Henson D.E., Chen D., Rajamathanandan S. Histologic grade remains a prognostic factor for breast cancer regardless of the number of positive lymph nodes and tumor size: a study of 161 708 cases of breast cancer from the SEER Program. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138(8):1048–52. DOI: 10.5858/arpa.2013-0435-OA.
- Schaapveld M., de Vries E.G., van der Graaf W.T. et al. The prognostic effect of the number of histologically examined axillary lymph nodes in breast cancer: stage migration or age association? *Ann Surg Oncol* 2006;13(4):465–74. DOI: 10.1245/ASO.2006.02.020.
- Beith J., Burslem K., Bell R. Hormone receptor positive, HER2 negative metastatic breast cancer: A systematic review of the current treatment landscape. *Asia Pac J Clin Oncol* 2016;(12 Suppl 1):3–18. DOI: 10.1111/ajco.12491.
- Pegram M.D. Treating the HER2 pathway in early and advanced breast cancer. *Hematol Oncol Clin North Am* 2013;27(4):751–65. DOI: 10.1016/j.hoc.2013.05.007.
- Perou C.M., Sørlie T., Eisen M.B. et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000;406(6797):747–52. DOI: 10.1038/35021093.
- Albain K.S., Barlow W.E., Shak S. Prognostic and predictive value of the 21-gene recurrence score assay in postmenopausal women with node-positive, oestrogen-receptor-positive breast cancer on chemotherapy: a retrospective analysis of a randomised trial. *Lancet Oncol* 2010;11(11):55–65. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70314-6.
- Blows F.M., Driver K.E., Schmidt M.K. et al. Subtyping of breast cancer by immunohistochemistry to investigate a relationship between subtype and short and long term survival: a collaborative analysis of data for 10,159 cases from 12 studies. *PLoS Med* 2010;7(5):1000279. DOI: 10.1371/journal.pmed.1000279.
- Cuzick J., Dowsett M., Pineda S. et al. Prognostic value of a combined estrogen receptor, progesterone receptor, Ki-67, and human epidermal growth factor receptor 2 immunohistochemical score and comparison with the Genomic Health recurrence score in early breast cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(32):4273–8. DOI: 10.1200/JCO.2010.31.2835.
- Lee S.K., Bae S.Y., Lee J.H. et al. Distinguishing low-risk luminal a breast cancer subtypes with Ki-67 and p53 is more predictive of long-term survival. *PloS One* 2015;10(8):0124658. DOI: 10.1371/journal.pone.0124658.
- Abdelrahman A.E., Rashed H.E., Abdelgawad M. et al. Prognostic impact of EGFR and cytokeratin 5/6 immunohistochemical expression in triple-negative breast cancer. *Ann Diagn Pathol* 2017;(28):43–53. DOI: 10.1016/j.anndiagnpath.2017.01.009.
- Chang H.Y., Nuyten D.S., Sneddo J.B. et al. Robustness, scalability, and integration of a wound-response gene expression signature in predicting breast cancer survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(10):3738–43. DOI: 10.1073/pnas.0409462102.
- Di Franco S., Sala G., Todaro M. p63 role in breast cancer. *Aging* 2016;8(10):2256–7. DOI: 10.18632/aging.101042.
- Hao Q., Cong D., Yujiao D. et al. Pooling analysis on prognostic value of PHH3 expression in cancer patients. *Cancer Manag Res* 2018;10:2279–88. DOI: 10.2147/CMAR.S167569.
- Ionescu Popescu C., Giuscă S.E., Liliac L. et al. E-cadherin expression in molecular types of breast carcinoma. *Rom J Morphol Embryol* 2013;54(2):267–73.
- Masuda H., Zhang D., Bartholomeusz C. et al. Role of epidermal growth factor receptor in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;136(2):331–45. DOI: 10.1007/s10549-012-2289-9.
- Bernardo G.M., Keri R.A. FOXA1: a transcription factor with parallel functions in development and cancer. *Biosci Rep* 2012;32(2):113–30. DOI: 10.1042/BSR20110046.
- Higgins M.J., Wolff A.C. The androgen receptor in breast cancer: learning from the past. *Breast Cancer Res Treat* 2010;124(3):619–21. DOI: 10.1007/s10549-010-0864-5.
- Dieci M.V., Radosevic-Robin N., Fineberg S. et al. 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 Immuno-Oncology



- Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol* 2018; 52(Pt 2):16–25. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.10.003.
22. Amur S., Becker R.L., Chakravarty A.G. et al. FDA-NIH Biomarker Working Group. *BEST Res* 2016.
  23. Axelsson C.K., Mouridsen H.T., Zedeler K. Axillary dissection of level I and II lymph nodes is important in breast cancer classification. The Danish Breast Cancer Cooperative Group (DBCG). *Eur J Cancer* 1992;28(8–9):1415–8. DOI: 10.1016/0959-8049(92)90534-9.
  24. Harris L.N., Ismaila N., McShane L.M. et al. Use of Biomarkers to Guide Decisions on Adjuvant Systemic Therapy for Women With Early-Stage Invasive Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol* 2016;34(10):1134–50. DOI: 10.1200/JCO.2015.65.2289.
  25. Sherr C.J. Mammalian G1 cyclins. *Cell* 1993;73(6):1059–65. DOI: 10.1016/0092-8674(93)90636-5.
  26. Rudas M., Lehnert M., Huynh A. et al. Cyclin D1 expression in breast cancer patients receiving adjuvant tamoxifen-based therapy. *Clin Cancer Res* 2008;14(6):1767–74. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-4122.
  27. Umekita Y., Ohi Y., Sagara Y., Yoshida H. Overexpression of cyclin D1 predicts for poor prognosis in estrogen receptor-negative breast cancer patients. *Int J Cancer* 2002;98(3):415–8. DOI: 10.1002/ijc.10151.
  28. Lange C.A., Yee D. Killing the second messenger: targeting loss of cell cycle control in endocrine-resistant breast cancer. *Endocr Relat Cancer* 2011;18(4):19–24. DOI: 10.1530/ERC-11-0112.
  29. Finn R.S., Aleshin A., Slamon D.J. Targeting the cyclin-dependent kinases (CDK) 4/6 in estrogen receptor-positive breast cancers. *Breast Cancer Res* 2016;18(1):17. DOI: 10.1186/s13058-015-0661-5.
  30. Barnes D.M., Gillett C.E. Cyclin D1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 1998;52(1–3):1–15.
  31. Peurala E., Koivunen P., Haapasaari K.M. et al. The prognostic significance and value of cyclin D1, CDK4 and p16 in human breast cancer. *Breast Cancer Res* 2013;15(1):5. DOI: 10.1186/bcr3376.
  32. Feng Y., Sun B., Li X., Zhang L. et al. Differentially expressed genes between primary cancer and paired lymph node metastases predict clinical outcome of node-positive breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2007;103(3):319–29. DOI: 10.1007/s10549-006-9385-7.
  33. Westerling T., Kuuluvainen E., Mäkelä T.P. CDK8 is essential for preimplantation mouse development. *Mol Cell Biol* 2007;27(17):6177–82. DOI: 10.1128/MCB.01302-06.
  34. Zhao X., Feng D., Wang Q. Regulation of lipogenesis by cyclin-dependent kinase 8-mediated control of SREBP-1. *J Clin Invest* 2012;122(7):2417–27. DOI: 10.1172/JCI61462.
  35. Galbraith M.D., Donner A.J., Espinosa J.M. CDK8: a positive regulator of transcription. *Transcription* 2010;1(1):4–12. DOI: 10.4161/trns.1.1.12373.
  36. Porter D.C., Farmaki E., Altilla S. Cyclin-dependent kinase 8 mediates chemotherapy-induced tumor-promoting paracrine activities. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(34):13799–804. DOI: 10.1073/pnas.1206906109.
  37. Donner A.J., Ebmeier C.C., Taatjes D.J., Espinosa J.M. CDK8 is a positive regulator of transcriptional elongation within the serum response network. *Nat Struct Mol Biol* 2010;17(2):194–201. DOI: 10.1038/nsmb.1752.
  38. Broude E.V., Györfy B., Chumanevich A.A. et al. Expression of CDK8 and CDK8-interacting Genes as Potential Biomarkers in Breast Cancer. *Curr Cancer Drug Targets* 2015;15(8):739–49. DOI: 10.2174/156800961508151001105814.
  39. Lee L.H., Yang H., Bigras G. Current breast cancer proliferative markers correlate variably based on decoupled duration of cell cycle phases. *Sci Rep* 2014;4:5122. DOI: 10.1038/srep05122.
  40. Casper D.J., Ross K.I., Messina J.L. et al. Use of anti-phosphohistone H3 immunohistochemistry to determine mitotic rate in thin melanoma. *Am J Dermatopathol* 2010;32(7):650–4. DOI: 10.1097/DAD.0b013e3181cf7cc1.
  41. Tetzlaff M.T., Curry J.L., Ivan D. Immunodetection of phosphohistone H3 as a surrogate of mitotic figure count and clinical outcome in cutaneous melanoma. *Mod Pathol* 2013;26(9):1153–60. DOI: 10.1038/modpathol.2013.59.
  42. Cui X., Harada S., Shen D. et al. The Utility of Phosphohistone H3 in Breast Cancer Grading. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2015;23(10):689–95. DOI: 10.1097/PAI.0000000000000137.
  43. Gerring Z., Pearson J.F., Morrin H.R. et al. Phosphohistone H3 outperforms Ki-67 as a marker of outcome for breast cancer patients. *Histopathology* 2015;67(4):538–47. DOI: 10.1111/his.12678.
  44. Kim J.-Y., Jeong H.S., Chung T. et al. The value of phosphohistone H3 as a proliferation marker for evaluating invasive breast cancers: A comparative study with Ki-67. *Oncotarget* 2017;8(39):65064–76. DOI: 10.18632/oncotarget.17775.
  45. Jeselsohn R., Yelensky R., Buchwalter G. Emergence of constitutively active estrogen receptor- $\alpha$  mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20(7):1757–67. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2332.
  46. Jeselsohn R., Buchwalter G., de Angelis C. et al. *ESR1* mutations – a mechanism for acquired endocrine resistance in breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2015;12(10):573–83. DOI: 10.1038/nrclinonc.2015.117.
  47. Chandarlapaty S., Chen D., He W. et al. Prevalence of *ESR1* mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 clinical trial. *JAMA Oncol* 2016;2(10):1310–5. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.1279.
  48. Fribbens C., O’Leary B., Kilburn L. et al. Plasma *ESR1* mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2016;34(25):2961–8. DOI: 10.1200/JCO.2016.67.3061.
  49. Clatot F., Perdrix A., Augusto L. et al. Kinetics, prognostic and predictive values of *ESR1* circulating mutations in metastatic breast cancer patients progressing on aromatase inhibitor. *Oncotarget* 2016;7(46):74448–59. DOI: 10.18632/oncotarget.12950.
  50. Williams N., Harris L.N. The renaissance of endocrine therapy in breast cancer. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2014;26(1):41–7. DOI: 10.1097/GCO.0000000000000039.
  51. Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012;490(7418):61–70. DOI: 10.1038/nature11412.
  52. Takeshita T., Yamamoto Y., Yamamoto-Ibusuki M. et al. Droplet digital polymerase chain reaction assay for screening of *ESR1* mutations in 325 breast cancer specimens. *Transl Res* 2015;166(6):540–53. DOI: 10.1016/j.trsl.2015.09.003.
  53. Wang P., Bahreini A., Gyanchandani R. et al. Sensitive detection of mono- and polyclonal *ESR1* mutations in primary tumors, metastatic lesions, and cell-free DNA of breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2016;22(5):1130–37. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1534.
  54. Moe R.E., Anderson B.O. Androgens and androgen receptors: A clinically neglected sector in breast cancer biology. *J Surg Oncol* 2007;95(6):437–9. DOI: 10.1002/jso.20722.
  55. Park S., Koo J., Park H.S. et al. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol* 2010;21(3):488–92. DOI: 10.1093/annonc/mdp510.
  56. Hickey T.E., Robinson J.L., Carroll J.S., Tilley W.D. Minireview: The androgen receptor in breast tissues: growth inhibitor, tumor suppressor, oncogene? *Mol Endocrinol* 2012;26(8):1252–67. DOI: 10.1210/me.2012-1107.
  57. Peters K.M., Edwards S.L., Nair S.S. Androgen receptor expression predicts breast cancer survival: the role of genetic and epigenetic events. *BMC Cancer* 2012;12(1):132. DOI: 10.1186/1471-2407-12-132.

58. Secretò G., Zumoff B. Role of androgen excess in the development of estrogen receptor-positive and estrogen receptor-negative breast cancer. *Anticancer Res* 2012;32(8):3223–8.
59. Gucalp A., Traina T.A. Triple-negative breast cancer: role of the androgen receptor. *Cancer J* 2010;16(1):62–5. DOI: 10.1097/PPO.0b013e3181ce4ae1.
60. Ni M., Chen Y., Lim E. Targeting androgen receptor in estrogen receptor-negative breast cancer. *Cancer Cell* 2011;20(1):119–31. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.05.026.
61. Park S., Koo JS, Kim M.S. et al. Androgen receptor expression is significantly associated with better outcomes in estrogen receptor-positive breast cancers. *Ann Oncol* 2011;22(8):1755–62. DOI: 10.1093/annonc/mdq678.
62. Sutton L.M., Cao D., Sarode V. et al. Decreased androgen receptor expression is associated with distant metastases in patients with androgen receptor-expressing triple-negative breast carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2012;138(4):511–6. DOI: 10.1309/AJCP8AVF8FDPTZLH.
63. Cascione L., Gasparini P., Lovat F. et al. Integrated MicroRNA and mRNA Signatures Associated with Survival in Triple Negative Breast Cancer. *PLoS One* 2013;8(2):55910. DOI: 10.1371/journal.pone.0055910.
64. Guler G., Himmertoglu C., Jimenez R.E. Aberrant expression of DNA damage response proteins is associated with breast cancer subtype and clinical features. *Breast Cancer Res Treat* 2011;129(2):421–32. DOI: 10.1007/s10549-010-1248-6.
65. Foulkes W.D., Smith I.E., Reis-Filho J.S. Triple-Negative Breast Cancer. *New Eng J Med* 2010;363(20):1938–48. DOI: 10.1056/NEJMra1001389.
66. Hudis C.A., Gianni L. Triple-negative breast cancer: an unmet medical need. *Oncologist* 2011;(Suppl 1):1–11. DOI: 10.1634/theoncologist.2011-S1-01.
67. McNamara K.M., Yoda T., Miki Y. et al. Androgenic pathway in triple negative invasive ductal tumors: its correlation with tumor cell proliferation. *Cancer Sci* 2013;104(5):639–46. DOI: 10.1111/cas.12121.
68. McNamara K.M., Yoda T., Takagi K. et al. Androgen receptor in triple negative breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;133:66–76. DOI: 10.1016/j.jsmb.2012.08.007.
69. McGhan L.J., McCullough A.E., Protheroe C.A. et al. Androgen receptor-positive triple negative breast cancer: a unique breast cancer subtype. *Ann Surg Oncol* 2014;21(2):361–7. DOI: 10.1245/s10434-013-3260-7.
70. Cheang M.C., Voduc D., Bajdik C. et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res* 2008;14(5):1368–76. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1658.
71. Thihe A.A., Yong-Zheng Chong L., Cheok P.Y. et al. Loss of androgen receptor expression predicts early recurrence in triple-negative and basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 2014;27(3):352–60. DOI: 10.1038/modpathol.2013.145.
72. Gasparini P., Fassan M., Cascione L. et al. Androgen receptor status is a prognostic marker in non-basal triple negative breast cancers and determines novel therapeutic options. *PLoS One* 2014;9(2):88525. DOI: 10.1371/journal.pone.0088525.
73. Hisamatsu Y., Tokunaga E., Yamashita N. et al. Impact of FOXA1 expression on the prognosis of patients with hormone receptor-positive breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2012;19(4):1145–52. DOI: 10.1245/s10434-011-2094-4.
74. Ijichi N., Shigekawa T., Ikeda K. et al. Association of double-positive FOXA1 and FOXP1 immunoreactivities with favorable prognosis of tamoxifen-treated breast cancer patients. *Horm Cancer* 2012;3(4):147–59. DOI: 10.1007/s12672-012-0111-0.
75. Kawase M., Toyama T., Takahashi S. et al. FOXA1 expression after neoadjuvant chemotherapy is a prognostic marker in estrogen receptor-positive breast cancer. *Breast Cancer* 2015;22(3):308–16. DOI: 10.1007/s12282-013-0482-2.
76. Liu N., Niu Y., Wang S.L. et al. Diagnostic and prognostic significance of FOXA1 expression in molecular subtypes of breast invasive ductal carcinomas. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2010;90(20):1403–7.
77. Costa R.H., Grayson D.R., Darnell J.E. Multiple hepatocyte-enriched nuclear factors function in the regulation of transthyretin and alpha 1-antitrypsin genes. *Mol Cell Biol* 1989;9(4):1415–25. DOI: 10.1128/mcb.9.4.1415.
78. Wolf I., Bose S., Williamson E.A. et al. FOXA1: Growth inhibitor and a favorable prognostic factor in human breast cancer. *Int J Cancer* 2007;120(5):1013–22. DOI: 10.1002/ijc.22389.
79. Carroll J.S., Brown M. Estrogen receptor target gene: an evolving concept. *Mol Endocrinol* 2006;20(8):1707–14. DOI: 10.1210/me.2005-0334.
80. Beck S., Sommer P, dos Santos Silva E. et al. Hepatocyte nuclear factor 3 (winged helix domain) activates trefoil factor gene TFF1 through a binding motif adjacent to the TATAA box. *DNA Cell Biol* 1999;18(2):157–64. DOI: 10.1089/104454999315547.
81. Bernardo G.M., Bebek G., Ginther C.L. et al. FOXA1 represses the molecular phenotype of basal breast cancer cells. *Oncogene* 2013;32(5):554–63. DOI: 10.1038/onc.2012.62.
82. Nakshatri H., Badve S. FOXA1 as a therapeutic target for breast cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2007;11(4):507–14. DOI: 10.1517/14728222.11.4.507.
83. Hurtado A., Holmes K.A., Ross-Innes C.S. et al. FOXA1 is a key determinant of estrogen receptor function and endocrine response. *Nat Genet* 2011;43(1):27–33. DOI: 10.1038/ng.730.
84. Goldhirsch A., Ingle J.N., Gelber R.D. et al. Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the primary therapy of early breast cancer 2009. *Ann Oncol* 2009;20(8):1319–29. DOI: 10.1093/annonc/mdp322.
85. Kim C., Paik S. Gene-expression-based prognostic assays for breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2010;7(6):340–7. DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.61.
86. Badve S., Turbin D., Thorat M.A. et al. FOXA1 expression in breast cancer – correlation with luminal subtype A and survival. *Clin Cancer Res* 2007;13(15 Pt 1):4415–21. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-0122.
87. Albergeria A., Paredes J., Sousa B. et al. Expression of FOXA1 and GATA-3 in breast cancer: the prognostic significance in hormone receptor-negative tumours. *Breast Cancer Res* 2009;3(11):40. DOI: 10.1186/bcr2327.
88. Mehta R.J., Jain R.K., Leung S. et al. FOXA1 is an independent prognostic marker for ER-positive breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2012;131(3):881–90. DOI: 10.1007/s10549-011-1482-6.
89. Yerushalmi R., Woods R., Ravdin P.M. Ki-67 in breast cancer: prognostic and predictive potential. *Lancet Oncol* 2010;11(2):174–83. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70262-1.
90. Xu C., Wei Q., Guo J. et al. FOXA1 expression significantly predict response to chemotherapy in estrogen receptor-positive breast cancer patients. *Ann Surg Oncol* 2015;22(6):2034–9. DOI: 10.1245/s10434-014-4313-2.
91. Shou J., Lai Y., Xu J., Huang J. Prognostic value of FOXA1 in breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Breast* 2016;27:35–43. DOI: 10.1016/j.breast.2016.02.009.
92. Guiu S., Mollevi C., Charon-Barra C. et al. Prognostic value of androgen receptor and FOXA1 co-expression in non-metastatic triple negative breast cancer and correlation with other biomarkers. *Br J Cancer* 2018;119(1):76–9. DOI: 10.1038/s41416-018-0142-6.
93. Malkin D., Li F.P., Strong L.C. et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science* 1990;250(4985):1233–8. DOI: 10.1126/science.1978757.
94. Sorlie T., Perou C.M., Tibshirani R. et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98(19):10869–74. DOI: 10.1073/pnas.191367098.

95. Phillips K.A., Nichol K., Ozelik H. et al. Frequency of p53 mutations in breast carcinomas from Ashkenazi Jewish carriers of *BRCA1* mutations. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(5):469–73. DOI: 10.1093/jnci/91.5.469.
96. Smith P.D., Crossland S., Parker G. et al. Novel p53 mutants selected in *BRCA*-associated tumours which dissociate transformation suppression from other wild-type p53 functions. *Oncogene* 1999;18(15):2451–9. DOI: 10.1038/sj.onc.1202565
97. Cremoux P., Salomon A.V., Liva S. et al. p53 mutation as a genetic trait of typical medullary breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1999;91(7):641–3. DOI: 10.1093/jnci/91.7.641.
98. Moll U.M., Riou G., Levine A.J. Two distinct mechanisms alter p53 in breast cancer: mutation and nuclear exclusion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89(15):7262–6. DOI: 10.1073/pnas.89.15.7262.
99. Stankovic T., Kidd A.M., Sutcliffe A. et al. *ATM* mutations and phenotypes in ataxia-telangiectasia families in the British Isles: expression of mutant *ATM* and the risk of leukemia, lymphoma, and breast cancer. *Am J Hum Genet* 1998;62(2):334–45. DOI: 10.1086/301706.
100. Angèle S., Treilleux I., Tanière P. et al. Abnormal expression of the *ATM* and *TP53* genes in sporadic breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000;6(9):3536–44.
101. Raman V., Martensen S.A., Reisman D. et al. Compromised *HOXA5* function can limit p53 expression in human breast tumours. *Nature* 2000;405(6789):974–8. DOI: 10.1038/35016125.
102. Mazars R., Spinardi L., BenCheikh M. p53 mutations occur in aggressive breast cancer. *Cancer Res* 1992;52(14):3918–23.
103. Pharoah P.D., Day N.E., Caldas C. Somatic mutations in the p53 gene and prognosis in breast cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 1999;80(12):1968–73. DOI: 10.1038/sj.bjc.6690628.
104. Alsnér J., Yilmaz M., Guldberg P. et al. Heterogeneity in the clinical phenotype of *TP53* mutations in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000;6(10):3923–31. DOI: 10.1186/bcr109.
105. Aas T., Børresen A.L., Geisler S. et al. Specific *P53* mutations are associated with de novo resistance to doxorubicin in breast cancer patients. *Nat Med* 1996;7(2):811–4.
106. Geisler S., Lønning P.E., Aas T. et al. Influence of *TP53* gene alterations and c-erbB-2 expression on the response to treatment with doxorubicin in locally advanced breast cancer. *Cancer Res* 2001;61(6):2505–12.
107. Kandioler-Eckersberger D., Ludwig C., Rudas M. et al. *TP53* mutation and p53 overexpression for prediction of response to neoadjuvant treatment in breast cancer patients. *Clin Cancer Res* 2000;6(1):50–6.
108. Dumay A., Feugeas J.P., Wittmer E. et al. Distinct tumor protein p53 mutants in breast cancer subgroups. *Int J Cancer* 2013;132(5):1227–31. DOI: 10.1002/ijc.27767.
109. Maeda T., Nakanishi Y., Hirotani Y. et al. Immunohistochemical co-expression status of cytokeratin 5/6, androgen receptor, and p53 as prognostic factors of adjuvant chemotherapy for triple negative breast cancer. *Med Mol Morphol* 2016;49(1):11–21. DOI: 10.1007/s00795-015-0109-0.
110. Peng L., Xu T., Long T., Zuo H. Association between *BRCA* status and p53 status in breast cancer: a meta-analysis. *Med Sci Monit* 2016;22:1939–45. DOI: 10.12659/msm.896260.
111. Taylor-Papadimitriou J., Stampfer M., Bartek J. et al. Keratin expression in human mammary epithelial cells cultured from normal and malignant tissue: relation to in vivo phenotypes and influence of medium. *J Cell Sci* 1989;94(Pt 3):403–13.
112. Abd El-Rehim D.M., Pinder SE, Paish C.E. et al. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast carcinoma. *J Pathol* 2004;203(2):661–71. DOI: 10.1002/path.1559.
113. Kayahan M., İdiz U.O., Gucin Z. et al. Clinical significance of androgen receptor, CK-5/6, Ki-67 and molecular subtypes in breast cancer. *J Breast Health* 2014;10(4):201–8. DOI: 10.5152/tjbh.2014.1777.
114. Yue Y., Astvatsaturyan K., Cui X. et al. Stratification of Prognosis of Triple-Negative Breast Cancer Patients Using Combinatorial Biomarkers. *PLoS One* 2016;11(3):0149661. DOI: 10.1371/journal.pone.0149661.
115. Adamo B., Ricciardi G.R., Ieni A. et al. The prognostic significance of combined androgen receptor, E-Cadherin, Ki-67 and CK5/6 expression in patients with triple negative breast cancer. *Oncotarget* 2017;44(8):76974–86. DOI: 10.18632/oncotarget.20293.
116. Fox S.B., Smith K., Hollyer J. et al. The epidermal growth factor receptor as a prognostic marker: results of 370 patients and review of 3009 patients. *Breast Cancer Res Treat* 1994;29(1):41–9.
117. Rakha E.A., El-Sayed M.E., Green A.R. et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer* 2007;109(1):25–32. DOI: 10.1002/cncr.22381.
118. Salomon D.S., Brandt R., Ciardiello F., Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19(3):183–232.
119. Burness M.L., Grushko T.A., Olopade O.I. Epidermal growth factor receptor in triple-negative and basal-like breast cancer: promising clinical target or only a marker? *Cancer J* 2010;16(1):23–32. DOI: 10.1097/PPO.0b013e3181d24fc1.
120. Gonzalez-Conchas G.A., Rodriguez-Romo L., Hernandez-Barajas D. Epidermal growth factor receptor overexpression and outcomes in early breast cancer: A systematic review and a meta-analysis. *Cancer Treat Rev* 2018;(62):1–8. DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.10.008.
121. Bloom H.J., Richardson W.W., Field J.R. et al. Host resistance and survival in carcinoma of breast: a study of 104 cases of medullary carcinoma in a series of 1,411 cases of breast cancer followed for 20 years. *Br Med J* 1970;3(5716):181–8. DOI: 10.1136/bmj.3.5716.181.
122. 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(7):860–7. DOI: 10.1200/JCO.2011.41.0902.
123. Dieci M.V., Criscitello C., Goubar A. et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes on residual disease after primary chemotherapy for triple-negative breast cancer: a retrospective multicenter study. *Ann Oncol* 2014;25(3):611–8. DOI: 10.1093/annonc/mdt556.
124. 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(9):983–91. DOI: 10.1200/JCO.2014.58.1967.
125. Salgado R., Denkert C., Demaria S. et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* 2015;26(2):259–71. DOI: 10.1093/annonc/mdl450.
126. Lakhani S.R., Jacquemier J., Sloane J.P. et al. Multifactorial analysis of differences between sporadic breast cancers and cancers involving *BRCA1* and *BRCA2* mutations. *J Natl Cancer Inst* 1998;90(15):1138–45. DOI: 10.1093/jnci/90.15.1138.
127. Telli M.L., Jensen K.C., Vinayak S. et al. Phase II Study of gemcitabine, carboplatin, and iniparib as neoadjuvant therapy for triple-negative and *BRCA1/2* mutation-associated breast cancer with assessment of a tumor-based measure of genomic instability: PrECOG 0105. *J Clin Oncol* 2015;33(17):1895–901. DOI: 10.1200/JCO.2014.57.0085.
128. Quezada S.A., Peggs K.S., Simpson T.R., Allison J.P. Shifting the equilibrium in cancer immunoeediting: from tumor tolerance to eradication. *Immunol Rev* 2011;241(1):104–18. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2011.01007.x.
129. Jiang X., Shapiro D.J. The immune system and inflammation in breast cancer. *Mol Cell Endocrinol* 2014;382(1):673–82. DOI: 10.1016/j.mce.2013.06.003.

130. Tan W., Zhang W., Strasner A. et al. Tumor-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signaling. *Nature* 2011;470(7335):548–53. DOI: 10.1038/nature09707.
131. Pickup M.W., Mouw J.K., Weaver V.M. The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep* 2014;15(12):1243–53. DOI: 10.15252/embr.201439246.
132. Thomas D.A., Massagué J. TGF- $\beta$  directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance. *Cancer Cell* 2005;8(5):369–80. DOI: 10.1016/j.ccr.2005.10.012.
133. Groh V., Wu J., Yee C., Spies T. Tumor-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature* 2002;419(6908):734–8. DOI: 10.1038/nature01112.
134. Janakiram M., Chinai J.M., Fineberg S. Expression, Clinical Significance, and Receptor Identification of the Newest B7 Family Member HHLA2 Protein. *Clin Cancer Res* 2015;21(10):2359–66. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1495.
135. Sun S., Fei X., Mao Y. et al. PD-1<sup>+</sup> immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2014;63(4):395–406. DOI: 10.1007/s00262-014-1519-x.
136. 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):61544–50. DOI: 10.1093/annonc/mdu112.
137. Perez E.A., Ballman K.V., Anderson K. et al. Abstract S1-06: Stromal tumor-infiltrating lymphocytes (S-TILs). In the alliance N9831 trial S-TILs are associated with chemotherapy benefit but not associated with trastuzumab benefit. *Cancer Res* 2015;75(suppl 9):S1-06-S1-06. DOI: 10.1158/1538-7445.SABCS14-S1-06.
138. Dieci M.V., Mathieu M.C., Guarneri V. et al. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in two phase III randomized adjuvant breast cancer trials. *Ann Oncol* 2015;26(8):1698–704. DOI: 10.1093/annonc/mdv239.
139. Smith I.C., Heys S.D., Hutcheon A.W. et al. Neoadjuvant chemotherapy in breast cancer: significantly enhanced response with docetaxel. *J Clin Oncol* 2002;20(6):1456–66. DOI: 10.1200/JCO.2002.20.6.1456.
140. Cortazar P., Geyer C.E.J. Pathological complete response in neoadjuvant treatment of breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2015;22(5):1441–6. DOI: 10.1245/s10434-015-4404-8.
141. Prowell T.M., Pazdur R. Pathological complete response and accelerated drug approval in early breast cancer. *N Engl J Med* 2012;366(26):2438–41. DOI: 10.1056/NEJMp1205737.
142. Symmans W.F., Peintinger F., Hatzis C. et al. Measurement of residual breast cancer burden to predict survival after neoadjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007;25(28):4414–22. DOI: 10.1200/JCO.2007.10.6823.
143. 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(1):105–13. DOI: 10.1200/JCO.2009.23.7370.
144. 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):115103. DOI: 10.1371/journal.pone.0115103.
145. Oda N., Shimazu K., Naoi Y. et al. Intratumoral regulatory T cells as an independent predictive factor for pathological complete response to neoadjuvant paclitaxel followed by 5-FU/epirubicin/cyclophosphamide in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2012;136(1):107–16. DOI: 10.1007/s10549-012-2245-8.
146. Seo A.N., Lee H.J., Kim E.J. et al. Tumor-infiltrating CD8<sup>+</sup> lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *Br J Cancer* 2013;109(10):2705–13. DOI: 10.1038/bjc.2013.634.
147. Loi S., Michiels S., Salgado R. et al. Abstract S1-05: Tumor infiltrating lymphocytes (TILs) indicate trastuzumab benefit in early-stage HER2-positive breast cancer (HER2<sup>+</sup> BC). *Cancer Res* 2013;24 (Suppl 73):1–5. DOI: 10.1158/0008-5472.SABCS13-S1-05.
148. Salgado R., Denkert C., Campbell C. et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Associations With Pathological Complete Response and Event-Free Survival in HER2-Positive Early-Stage Breast Cancer Treated With Lapatinib and Trastuzumab: A Secondary Analysis of the NeoALTTO Trial. *JAMA Oncol* 2015;1(4):448–55. DOI: 10.1001/jamaoncol.2015.0830.
149. West N.R., Milne K., Truong P.T. et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to anthracycline-based chemotherapy in estrogen receptor-negative breast cancer. *Br Cancer Res* 2011;13(6):126. DOI: 10.1186/bcr3072.
150. Chan M.S., Wang L., Felizola S.J. et al. Changes of tumor infiltrating lymphocyte subtypes before and after neoadjuvant endocrine therapy in estrogen receptor-positive breast cancer patients – an immunohistochemical study of CD8<sup>+</sup> and FOXP3<sup>+</sup> using double immunostaining with correlation to the pathological response of the patients. *Int J Biol Markers* 2012;27(4):295–304. DOI: 10.5301/JBM.2012.10439.

**ORCID автора/ORCID of author**

P.M. Палтуев/P.M. Paltuev: <https://orcid.org/0000-0002-0871-9453>

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The author declares no conflict of interest.

**Статья поступила:** 24.06.2019. **Принята к публикации:** 21.08.2019.

**Article received:** 24.06.2019. **Accepted for publication:** 21.08.2019.