

УДК 618.19-006.6:616.155.32
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-88-95>

Субпопуляции В-лимфоцитов у больных раком молочной железы в зависимости от статуса PD-L1

Таширева Л.А., Калинин А.Ю., Геращенко Т.С., Савельева О.Е., Перельмутер В.М.

Научно-исследовательский институт (НИИ) онкологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр (НИМЦ) Российской академии наук
Россия, 634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучить, насколько функциональные потенции и степень зрелости В-лимфоцитов сопряжены со статусом экспрессии PD-L1 опухоли у больных раком молочной железы.

Материалы и методы. В исследование вошли 37 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа (ИКНТ). Статус PD-L1 определялся иммуногистохимически тестом Ventana SP142 (Roche, США). С использованием методов мультисекционной проточной цитофлуориметрии и высокопроизводительного секвенирования микроокружения были определены субпопуляции В-лимфоцитов, их профиль экспрессии CD27 и PD1 с учетом статуса PD-L1 опухоли.

Результаты. В микроокружении опухоли у пациентов независимо от статуса PD-L1 определяются экспрессионные сигнатуры пяти субпопуляций лимфоцитов. Однако у больных с позитивным статусом в микроокружении первичной опухоли уровни В-лимфоцитов и В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig выше по сравнению с пациентами, имеющими негативный статус PD-L1. Оценка количества различных субпопуляций В-лимфоцитов методом проточной цитофлуориметрии показала, что у больных с PD-L1-позитивным статусом опухоли в микроокружении преобладают PD-1-позитивные В-лимфоциты независимо от степени их зрелости.

Заключение. Результаты исследования показывают преобладание зрелых коммитированных В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти, способных к синтезу иммуноглобулинов разных классов и цитокинов, относящихся к спектру иммуновоспалительных реакций Th2 типа в микроокружении PD-L1-позитивных опухолей. Это может являться неблагоприятным признаком при планировании иммунотерапии анти-PD-L1 ингибиторами, поскольку с высокой вероятностью ее применение может активировать клетки микроокружения с проопухолевыми потенциями, что в конечном итоге будет способствовать прогрессии карцином.

Ключевые слова: рак молочной железы, микроокружение, В-лимфоциты, PD-L1

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 20-75-10033).

Соответствие принципам этики. Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 7 от 25.08.2020).

Для цитирования: Таширева Л.А., Калинин А.Ю., Геращенко Т.С., Савельева О.Е., Перельмутер В.М. Субпопуляции В-лимфоцитов у больных раком молочной железы в зависимости от статуса PD-L1. *Бюллетень сибирской медицины*. 2023;22(1):88–95. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-88-95>.

Subpopulations of B lymphocytes in patients with breast cancer depending on the PD-L1 status

Tashireva L.A., Kalinchuk A.Yu., Gerashchenko T.S., Savelyeva O.E., Perelmuter V.M.

Cancer Research Institute, Tomsk National Research Medical Center (NRMC) of the Russian Academy of Sciences 5, Kooperativny Str., Tomsk, 634009, Russian Federation

ABSTRACT

Aim. To study the association between the functional potency and degree of maturity of B lymphocytes and PD-L1 expression in breast cancer patients.

Materials and methods. The study included 37 patients with the morphologically verified diagnosis of invasive breast cancer of no special type (IBC NST). The PD-L1 status was determined immunohistochemically using the Ventana SP142 assay (Roche, USA). Using the multiplex flow cytometry-based assay and high-throughput sequencing of the tumor microenvironment, subpopulations of B lymphocytes and their CD27 and PD1 expression profiles were determined, taking into account the PD-L1 status.

Results. In the tumor microenvironment, regardless of the PD-L1 status, expression signatures of five lymphocyte subpopulations were determined. However, in PD-L1-positive patients, the levels of B lymphocytes and immunoglobulin class-switched B lymphocytes were higher compared with PD-L1-negative patients. Evaluation of the number of different B lymphocyte subpopulations by flow cytometry showed that PD-1-positive B lymphocytes predominated in the tumor microenvironment in PD-L1-positive patients, regardless of the degree of lymphocyte maturity.

Conclusion. The results of the study showed predominance of mature committed B lymphocytes and memory B lymphocytes capable of synthesizing immunoglobulins of different classes and Th2 cytokines involved in type 2 immune response in PD-L-positive tumor microenvironment. It suggests that immunotherapy with PD-L1 inhibitors is highly likely to activate cells with protumor potential and can ultimately contribute to breast cancer progression.

Keywords: breast cancer, tumor microenvironment, B lymphocytes, PD-L1

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The study was supported by the Russian Science Foundation (project No. 20-75-10033).

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to participate in the study. The study was approved by the Ethics Committee at Cancer Research Institute, Tomsk NRMC (Protocol No. 7 of 25.08.2020).

For citation: Tashireva L.A., Kalinchuk A.Yu. Gerashchenko T.S., Savelyeva O.E., Perelmuter V.M. Subpopulations of B lymphocytes in patients with breast cancer depending on the PD-L1 status. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2023;22(1):88–95. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2023-1-88-95>.

ВВЕДЕНИЕ

Прошрое десятилетие было ознаменовано началом активного применения нового класса иммунотерапевтических препаратов – ингибиторов контрольных иммунных точек (ИКИТ), препаратов, блокирующих PD-1/PD-L1-зависимый механизм супрессии иммунного ответа в опухоли. У врачей химиотерапевтов появлялись новые опции, а у пациентов – года жизни. Однако результаты анализа соотношения показаний к назначению и пользы от применения данных препаратов в когорте американских пациентов ярко продемонстрировали рост показаний, но должного роста эффективности не

отмечалось [1]. Более того, оценка эффективности терапии ИКИТ свидетельствует, что продолжительный ответ действительно отмечается только у части пациентов. Другая часть пациентов в лучшем случае имеют стабилизацию процесса, в худшем – прогрессию и гиперпрогрессию [2].

Известно, что тип иммунновоспалительной реакции в микроокружении рака молочной железы может определять ответ на терапию, течение заболевания и прогноз. Однако на сегодняшний день, несмотря на многочисленные исследования, нет приемлемых предикторов ответа на ИКИТ кроме оценки экспрессии PD-L1 и наличия дефицита MMR [3].

Роль В-лимфоцитов в опухоли довольно противоречива. Хорошо известно, что В-лимфоциты способствуют опухолевой прогрессии. Это показано, в частности, при раке яичника человека [4]. Будучи одним из клеточных элементов иммуновоспалительных реакций Th2 типа, В-лимфоциты являются источником соответствующих цитокинов, которые снижают противоопухолевый ответ [5]. В-лимфоциты, синтезируя трансформирующий фактор роста (TGF) β и интерлейкин (IL) 10, могут способствовать дифференцировке и рекрутированию Т-регуляторных лимфоцитов, вследствие чего в опухоли усиливается иммуносупрессорное микроокружение и стимулируется метастазирование рака молочной железы [6]. Противоопухолевые антитела, синтезируемые плазматическими клетками – потомками В-лимфоцитов, могут активировать макрофаги и способствовать инвазивному росту опухоли и ангиогенезу [7].

Однако текущие данные свидетельствуют о том, что инфильтрирующие опухоль В-клетки являются благоприятным прогностическим маркером при раке молочной железы [8]. Кроме того, имеются наблюдения, свидетельствующие о противоопухолевых эффектах субпопуляции В-лимфоцитов с фенотипом CD27 клеток памяти. Наличие в микроокружении таких клеток вместе с CD8⁺ Т-лимфоцитами ассоциировано с благоприятным прогнозом при раке яичников [9]. Известно, что наличие в опухоли В-лимфоцитов в составе третичных лимфоидных структур связано с более благоприятным течением опухолевой болезни [10]. Относительно значения экспрессии PD1 на В-лимфоцитах известно, что это скорее признак зрелости и меньшей способности к пролиферации и переключения класса изотипа антител [11]. Таким образом, в контексте иммунотерапии большое значение имеют проопухолевые или противоопухолевые функциональные характеристики В-лимфоцитов. Важно понять, насколько функциональные потенции и степень зрелости В-лимфоцитов сопряжены со статусом экспрессии PD-L1 и наличием рецептора PD1.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 37 пациентов с морфологически верифицированным диагнозом инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа (ИКНТ). Средний возраст составил $52,7 \pm 9,3$ лет, проходивших лечение на базе НИИ онкологии Томского НИМЦ с эстроген-позитивным (люминальными А и В-1, -2) и трижды негативным подтипами ($T_{1-3}N_{0-3}M_0$). Пациенты не получали неоадьювантную химиотерапию до хирургического этапа

лечения. Свежие образцы первичной опухоли были получены в ходе оперативного вмешательства, затем хранились при температуре -80 °С. Исследование выполнено в соответствии с этическими стандартами (Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правила клинической практики в Российской Федерации», утвержденные Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266). Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом НИИ онкологии Томского НИМЦ (протокол № 7 от 25.08.2020).

Оценка плотности опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) в первичной опухоли. Плотность TILs в первичной опухоли проводили согласно рекомендациям Международной рабочей группы по оценке опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов [12]. Для этого репрезентативный образец опухоли окрашивали гематоксилином и эозином в соответствии со стандартной операционной процедурой. Далее проводили подсчет доли стромы, занимаемой мононуклеарными лейкоцитами (AxioScoreA1 (Carl Zeiss, Германия)). Зоны с артефактами, зоны некроза и выраженного гиалиноза были исключены из оценки. Количество выражали в процентах от занимаемой площади стромы.

Определение статуса PD-L1. Оценка экспрессии PD-L1 проводилась с помощью теста PD-L1 (SP142, Ventana) в иммуноштейнере BenchMark ULTRA. Оценивали окрашивание инфильтрирующих опухоль иммунных клеток (IC) – иммунных клеток, присутствующих в интратуморальной и прилегающей перитуморальной строме. В это понятие включались лимфоциты, макрофаги, дендритные клетки и полиморфно-ядерные лейкоциты. IC оценивали как долю области опухоли, которую занимают иммунные клетки с окрашиванием PD-L1 любой интенсивности. В качестве контроля использовалась ткань миндалина человека. Тест считался положительным при значении $IC \geq 1\%$.

Проточная цитофлуориметрия. В качестве материала исследования использовали свежемороженные образцы первичной опухоли. Для получения суспензии клеток первичной опухоли ее фрагмент помещали в Medicon (50 мкм, BD Biosciences) и гомогенизировали в 1 мл фосфатно-солевого буфера (BD Biosciences) в течение 1 мин дважды. Затем полученную суспензию фильтровали через сеточки для разделения клеток (70 мкм, Falcon, Япония). Далее клетки дважды отмывали и ресуспендиро-

вали в 100 мкл Stain buffer (Sony Biotechnology) и окрашивали коктейлем моноклональных антител: BV570-анти-CD45 (клон HI30, мышиные IgG1, Sony Biotechnology, Япония), PerCP/Cy5.5-анти-CD3 (клон UCST1, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), APC/Cy7-анти-CD20 (клон 2H7, Mouse IgG2b, Sony Biotechnology, Япония), BV785-анти-CD27 (клон O323, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), BV510-анти-CD28 (клон CD28.2, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), BV605-анти-CD279 (PD-1) (клон EH12.2H7, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония), BV421-анти-CD274 (PD-L1) (клон M1H3, Mouse IgG1, Sony Biotechnology, Япония) и AF647-анти-CD326 (EPCAM) (клон 9C4, Mouse IgG2b, Sony Biotechnology, Япония). Использовали неокрашенный и изотипический контроль. В соответствующий изотипический контроль добавляли изотипические антитела в аналогичной концентрации. Анализ проводили на проточном цитометре NovoCyte 3000 (ACEA Biosciences, Agilent, США). Гейтирование популяций клеток проводили на основе определения параметров малого углового светорассеяния (FSC) и бокового светорассеяния (SSC). Затем клетки анализировали на наличие флуоресценции в режимах Density Plot и Dot Plot. Количество клеток представляли в виде доли от всех лимфоцитов.

Секвенирование микроокружения опухолевых клеток первичной опухоли. Были взяты образцы замороженной опухоли восьми пациентов (PD-L1 негативный статус – четыре пациента, PD-L1 позитивный статус – четыре пациента). Готовились срезы толщиной семь микрометров на предметные стекла PEN-frame (Carl Zeiss, Oberkochen, Германия), предварительно обработанные RNAsap (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, США) и окрашивались гематоксилином и эозином. Микродиссекция с лазерным захватом (PALM, Carl Zeiss, Oberkochen, Германия) использовалась для выделения клеток из микроокружения опухоли. Из каждой опухоли было выделено четыре образца прилегающей к опухолевым клеткам фрагментов стромы. Всего было собрано 32 образца. Выделение РНК проводили с помощью набора Single Cell RNA Purification Kit (Norgen, Канада). кДНК-библиотеки готовили с помощью набора SMARTER Stranded Total RNA-Seq kit v. 2 (Takara, США). Размер кДНК-библиотек оценивался с помощью набора HS D1000 ScreenTape и станции автоматического гель-электрофореза 2200 Tape Station (Agilent, США) и варьировал от 200 до 700 п.н., средний размер пика 340 п.н.

Концентрация кДНК-библиотек оценивалась с помощью флуориметра Qubit 4.0 (Thermo Fisher

Scientific, США) и варьировала от 2,5 до 14 нг/мкл в зависимости от количества клеток в микродиссектированных образцах. Образцы кДНК-библиотек пулировали, денатурировали и секвенировали на приборе NextSeq 500 (Illumina, США) в режиме одноконцевого прочтения 75 циклов. Количество кластеров составляло 220 К/мм² (93% кластеров после фильтрации), количество прочтений ~ 12 млн на образец. Биоинформатический анализ включал картирование прочтений (ридов) с помощью программы STAR (референс-геномная сборка GRCh38 и аннотация GENCODE.R27). Количество ридов в кодирующих и некодирующих участках генома в каждом из образцов оценивалось с помощью инструмента featureCounts. Определение типа клеток в микроокружении проводилось с помощью алгоритма xCell [13]. Данные секвенирования опубликованы в базе GEO (номер GSE184196).

Статистический анализ. Сравнение категориальных признаков проводили с помощью точного критерия Фишера. Различия независимых количественных признаков оценивали с помощью критерия Манна – Уитни. Все критерии были двухсторонними и принимались значимыми при уровне $p < 0,05$. Анализ был выполнен в программе GraphPad Prism 9.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика пациентов. Среди всех включенных в исследование пациентов у 54% (20/37) опухоль была PD-L1 позитивной, у 46% (17/37) – негативной. Клинико-патологические характеристики двух групп пациентов были сопоставимы. Преобладали пациенты старше 50 лет, в состоянии менопаузы, с размером опухоли 20–50 мм, стадией процесса ПА, 2-й степени злокачественности, люминального В-подтипа.

Экспрессионные сигнатуры В-лимфоцитов в микроокружении РМЖ. xCell анализ позволяет определить сигнатуры пяти форм В-лимфоцитов. В микроокружении опухоли у пациентов независимо от статуса PD-L1 определялись сигнатуры всех пяти субпопуляций лимфоцитов (рис. 1).

Уровни субпопуляций В-лимфоцитов в пределах групп исследования были не равны (таблица). Так, у больных с негативным статусом PD-L1 уровень наивных В-лимфоцитов был меньше по сравнению с уровнем В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти. У больных с позитивным статусом PD-L1 уровни В-лимфоцитов различались выраженнее. Так, преобладающими являлись две субпопуляции: В-лимфоциты и В-лимфоциты с переключаемым классом Ig.

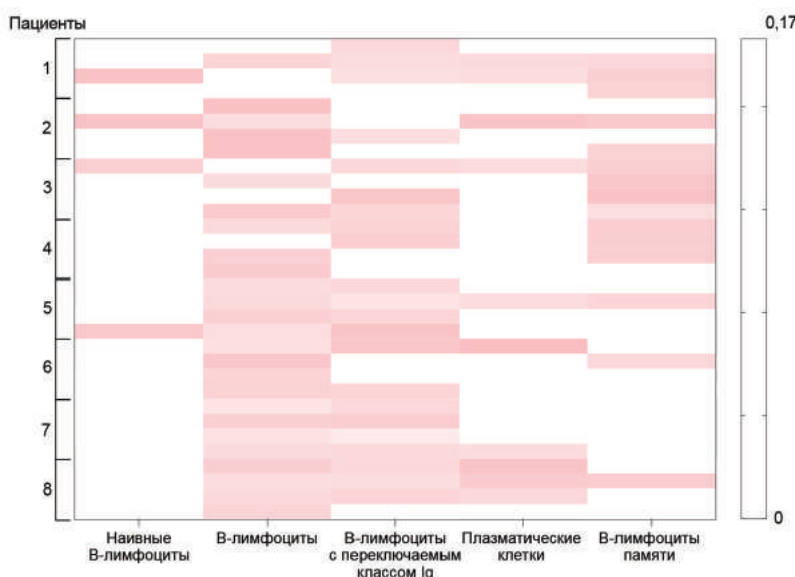


Рис. 1. Тепловая карта сигнатур субпопуляций В-лимфоцитов в микроокружении первичной опухоли у пациентов с РМЖ, $Me(Q_1-Q_3)$

Таблица

Количество клеток в микроокружении первичной опухоли больных ИКНТ в зависимости от статуса PD-L1 по данным xCell анализа, усл. ед., $Me(Q_1-Q_3)$				
Тип клеток		Статус PD-L1		<i>p</i> (межгрупповая)
		негативный	позитивный	
Наивные В-лимфоциты	а	0,0000 (0,0000–0,0001) <i>p</i> (а–б) = 0,0075 <i>p</i> (а–д) = 0,0323	0,0000 (0,0000–0,0001) <i>p</i> (а–б) < 0,0001 <i>p</i> (а–в) < 0,0001	0,7876
В-лимфоциты	б	0,0092 (0,0000–0,0362)	0,0530 (0,0299–0,0713) <i>p</i> (б–г) < 0,0001 <i>p</i> (б–д) < 0,0001	0,0001
В-лимфоциты с переключаемым классом Ig	в	0,0168 (0,0000–0,0482)	0,0388 (0,0107–0,0506) <i>p</i> (в–г) = 0,0005 <i>p</i> (в–д) < 0,0001	0,0490
Плазматические клетки	г	0,0001 (0,0000–0,0087)	0,0008 (0,0000–0,0159)	0,9170
В-лимфоциты памяти	д	0,0213 (0,0046–0,0310)	0,0000 (0,0000–0,0029)	0,0847

Сравнение уровней В-лимфоцитов между группами пациентов в зависимости от их статуса PD-L1 позволило обнаружить, что у больных с позитивным статусом в микроокружении первичной

опухоли уровни В-лимфоцитов и В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig выше по сравнению с пациентами, имеющими негативный статус PD-L1 (рис. 2).

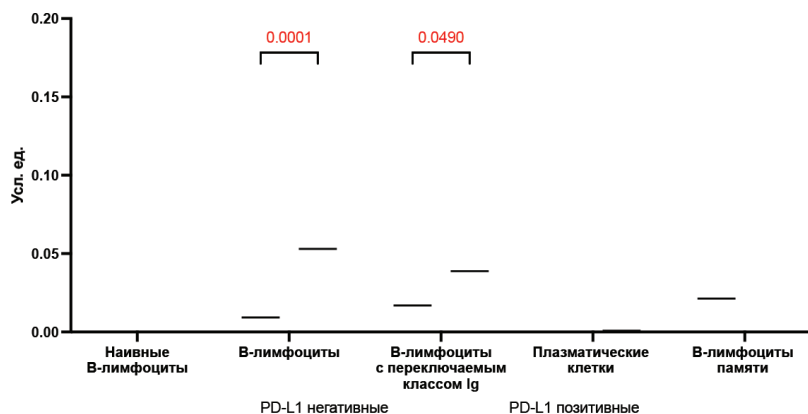


Рис. 2. Уровень субпопуляций В-лимфоцитов в группах пациентов с негативным и позитивным статусом PD-L1

Оценка степени зрелости В-лимфоцитов и экспрессии PD1. Как и при транскриптомном анализе, у всех пациентов в микроокружении первичной опу-

холи мы обнаружили В-лимфоциты. Вариабельность определяемого популяционного состава представле- на на рис. 3.

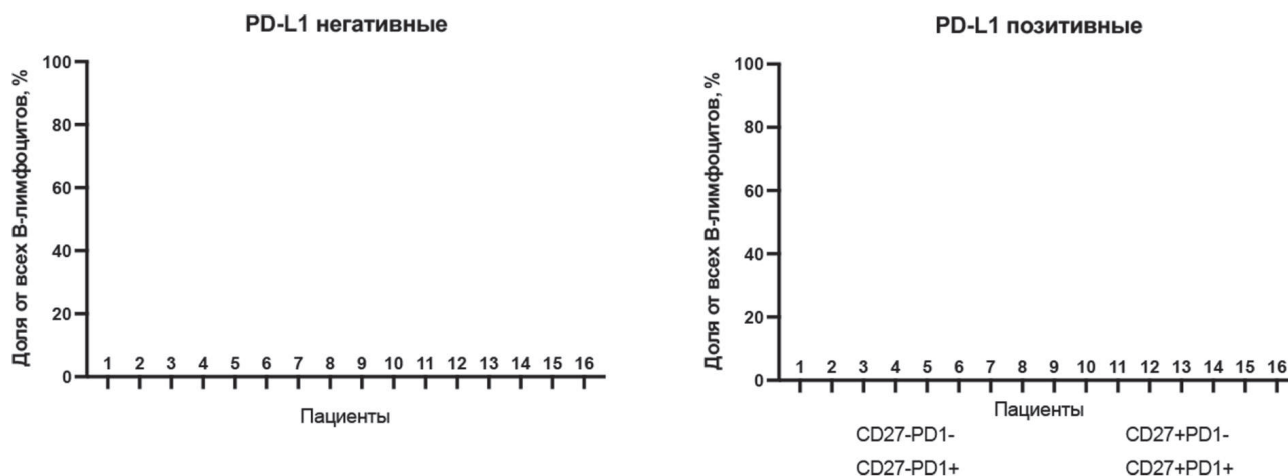


Рис. 3. Внутриперсональная гетерогенность субпопуляционного состава В-лимфоцитов в группах пациентов с негативным и позитивным статусом PD-L1

Оценка экспрессии CD27 (маркера зрелости лимфоцитов) и PD1 (функциональной молекулы – рецептора для PD-L1) показала, что среди В-лимфоцитов в ткани первичной опухоли у всех пациентов независимо от статуса PD-L1 в первичной опухоли не встречаются CD27+PD1- В-лимфоциты. Наиболее редко встречались CD27-PD1- В-лимфоциты (у 12,5% (2/16) пациентов обеих групп).

С сопоставимой частотой при этом в ткани первичной опухоли обнаруживались CD27+PD1+ и CD27-PD1+ В-лимфоциты (81,2% (13/16) и 81,2% (13/16), $p > 0,9999$). Оценка количества различных субпопуляций В-лимфоцитов у пациентов в

зависимости от их статуса PD-L1 показала, что у больных с PD-L1-позитивным статусом опухоли в микроокружении преобладали PD-1-позитивные В-лимфоциты независимо от степени зрелости (рис. 4).

Количество CD27+PD1+ В-лимфоцитов у пациентов с негативным статусом PD-L1 составляло 0,09 (0,00–0,89) против 1,67 (0,61–3,22)% у пациентов с позитивным статусом ($p = 0,0233$). Количество CD27-PD1+ В-лимфоцитов равнялось 0,05 (0,00–1,53)% у пациентов с негативным статусом PD-L1 и 1,41 (0,25–7,23)% у пациентов с позитивным статусом ($p = 0,0016$).

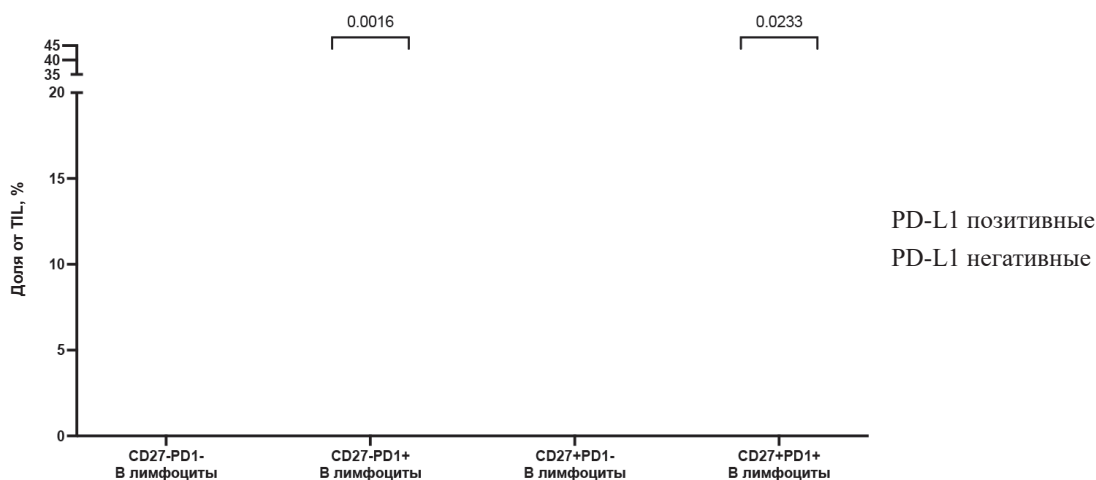


Рис. 4. Количество В-лимфоцитов с различным сочетанием экспрессии CD27 и PD1 у пациентов в зависимости от статуса PD-L1

ОБСУЖДЕНИЕ

Воспалительная инфильтрация в микроокружении карцином отражает совокупность иммунных реакций врожденного типа и специфических эффекторных иммунных реакций множества адаптивных иммуногенозов на разнообразные антигены: опухолевые, тканевые и антигены патогенов, контаминирующих опухолевую ткань. Соотношение этих составляющих иммуновоспалительных реакций в микроокружении индивидуально в каждом случае. В-лимфоциты являются ключевым звеном в антителогенезе, источником цитокинов, относящихся к цитокиновому спектру «противовоспалительного» («проопухолевого») иммуногеноза по Th2 типу. Соответственно этому, влияние В-клеточного звена иммунного ответа на опухолевые элементы возможно благодаря синтезу специфических к опухолевым антигенам антител. При этом эффект зависит от типа иммуноглобулинов. Теоретически возможны как антителозависимые цитотоксические реакции с участием гранулоцитов и макрофагов, так и «маскировка» антигенов опухоли антителами, препятствующая цитотоксическим эффектам CD8⁺ Т-лимфоцитов. Второй механизм влияния на опухолевые клетки – цитокиновый. Причем независимо от специфичности В-лимфоцитов к опухолевому или неопухолевому антигену активация таких клеток соответствующим антигеном вызывает секрецию цитокинов Th2 спектра с эффектами, способствующими прогрессии карцином: эпителиально-мезенхимальному переходу, инвазии, ангиогенезу и, в конечном итоге, метастазированию.

Результаты нашего исследования позволили оценить наличие и активность В-лимфоцитов на разных стадиях функциональной дифференцировки от наивных В-лимфоцитов, В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig до В-лимфоцитов памяти. Главные результаты исследования: 1) В-лимфоциты экспрессируют PD1 и PD-L1, 2) количество дифференцированных форм В-лимфоцитов зависит от статуса PD-L1. Количество В-лимфоцитов с переключаемым классом Ig и В-лимфоцитов памяти больше при экспрессии в инфильтрате опухоли PD-L1. Причем среди CD27⁺ В-лимфоцитов отсутствуют клетки без экспрессии PD1. Эти результаты означают, что активно участвующие в антителогенезе В-лимфоциты (со способностью к переключению с ранних IgM на IgG, IgA или IgE иммуноглобулины), а также В-лимфоциты памяти (с потенцией к развитию вторичных иммунных реакций на повторно воздействующие антигены), вероятнее, заблокированы через PD1/PD-L1 путь. Этот феномен соответствует нормально протекающему

воспалению, когда наблюдается усиление экспрессии PD-L1 на разных клетках в очагах воспаления [5]. Это предотвращает неспецифическое повреждение тканей, на территории которых протекают воспалительные реакции, и обеспечивает избирательную локальную активацию В-лимфоцитов при блокаде лиганда.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показывают преобладание зрелых коммитированных В-лимфоцитов и В-лимфоцитов памяти, способных к синтезу иммуноглобулинов разных классов и цитокинов, относящихся к спектру ИВР Th2 типа в микроокружении PD-L1-позитивных опухолей. Это может являться неблагоприятным признаком при планировании иммунотерапии анти-PD-L1 ингибиторами, поскольку с высокой вероятностью ее применение может активировать клетки микроокружения с проопухолевыми потенциями, что в конечном итоге будет способствовать прогрессии карцином.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Haslam A., Prasad V. Estimation of the percentage of US patients with cancer who are eligible for and respond to checkpoint inhibitor immunotherapy drugs. *JAMA Netw. Open.* 2019;2(5):e192535. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.2535.
2. Adashek J.J., Subbiah I.M., Matos I., Garralda E., Menta A.K., Ganesan D.M. et al. Hyperprogression and Immunotherapy: fact, fiction, or alternative fact? *Trends Cancer.* 2020;6(3):181–191. DOI: 10.1016/j.trecan.2020.01.005.
3. Tray N., Weber J.S., Adams S. Predictive biomarkers for checkpoint immunotherapy: current status and challenges for clinical application. *Cancer Immunol. Res.* 2018;6(10):1122–1128. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-18-0214.
4. Dong H.P., Elstrand M.B., Holth A., Silins I., Berner A., Trope C.G. et al. NK- and B-cell infiltration correlates with worse outcome in metastatic ovarian carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 2006;125(3):451–458.
5. Tan T.T., Coussens LM. Humoral immunity, inflammation and cancer. *Curr. Opin. Immunol.* 2007;19(2):209–216. DOI: 10.1016/j.coi.2007.01.001.
6. Olkhanud P.B., Damdinsuren B., Bodogai M., Gress R.E., Sen R., Wejksza K. et al. Tumor-evoked regulatory B cells promote breast cancer metastasis by converting resting CD4⁺ T cells to T-regulatory cells. *Cancer Res.* 2011;71(10):3505–3515. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-4316.
7. Barbera-Guillem E., Nelson M.B., Barr B., Nyhus J.K., May K.F. Jr., Feng L. et al. B lymphocyte pathology in human colorectal cancer. Experimental and clinical therapeutic effects of partial B cell depletion. *Cancer Immunol. Immunother.* 2000;48(10):541–549. DOI: 10.1007/pl00006672.
8. Qin Y., Peng F., Ai L., Mu S., Li Y., Yang C. et al. Tumor-infiltrating B cells as a favorable prognostic biomarker in breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Cell Int.* 2021;21(1):310. DOI: 10.1186/s12935-021-02004-9.

9. Nielsen J.S., Sahota R.A., Milne K., Kost S.E., Nessler N.J., Watson P.H. et al. CD20+ tumor-infiltrating lymphocytes have an atypical CD27- memory phenotype and together with CD8+ T cells promote favorable prognosis in ovarian cancer. *Clin. Cancer Res.* 2012;18(12):3281–3292. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0234.
10. Germain C., Gnjatic S., Tamzalit F., Knockaert S., Remark R., Goc J. et al. Presence of B cells in tertiary lymphoid structures is associated with a protective immunity in patients with lung cancer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2014;189(7):832–844. DOI: 10.1164/rccm.201309-1611OC.
11. Nishimura H., Minato N., Nakano T., Honjo T. Immunological studies on PD-1 deficient mice: implication of PD-1 as a negative regulator for B cell responses. *Int. Immunol.* 1998;10(10):1563–1572. DOI: 10.1093/intimm/10.10.1563.
12. Dieci M.V., Radosevic-Robin N., Fineberg S., van den Eynden G., Ternes N., Penault-Llorca F. et al. International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin. Cancer Biol.* 2018;52(Pt2):16–25. DOI: 10.1016/j.semcancer.2017.10.003.
13. Aran D. Cell-type enrichment analysis of bulk transcriptomes using xCell. *Methods Mol. Biol.* 2020;2120:263–276. DOI: 10.1007/978-1-0716-0327-7_19.

Вклад авторов

Таширева Л.А. – разработка концепции и дизайна, анализ и интерпретация результатов, написание рукописи. Калинин А.Ю., Герашенко Т.С., Савельева О.Е. – проведение исследования. Перельмутер В.М. – окончательное утверждение для публикации рукописи.

Информация об авторах

Таширева Любовь Александровна – канд. мед. наук, ст. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, tashireva@oncology.tomsk.ru, <http://orcid.org/0000-0003-2061-8417>

Калинчук Анна Юрьевна – лаборант-исследователь, отделение общей и молекулярной патологии, Томский НИМЦ, г. Томск, anya98.tomsk@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-2106-3513>

Герашенко Татьяна Сергеевна – канд. мед. наук, науч. сотрудник, лаборатория опухолевой прогрессии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, t_gerashenko@list.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7283-0092>

Савельева Ольга Евгеньевна – д-р мед. наук, вед. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, olga_chechina@mail.ru, <http://orcid.org/0000-0002-0301-8455>

Перельмутер Владимир Михайлович – д-р мед. наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, гл. науч. сотрудник, отделение общей и молекулярной патологии, НИИ онкологии, Томский НИМЦ, г. Томск, pvm@ngs.ru, <http://orcid.org/0000-0002-7633-9620>

(✉) **Таширева Любовь Александровна**, tashireva@oncology.tomsk.ru

Поступила в редакцию 09.03.2022;
одобрена после рецензирования 17.03.2022;
принята к публикации 12.05.2022