

*Л.А. Таширева<sup>1</sup>, Т.С. Геращенко<sup>1</sup>, Е.В. Денисов<sup>1</sup>, О.Е. Савельева<sup>1</sup>, А.В. Бузенкова<sup>1</sup>,  
М.В. Завьялова<sup>1,2</sup>, Н.В. Чердынцева<sup>1</sup>, В.М. Перельмутер<sup>1</sup>*

## **Характеристика способности опухолевых клеток различных морфологических структур инвазивной карциномы молочной железы модулировать иммуно-воспалительные реакции**

<sup>1</sup>НИИ онкологии Томского НИМЦ, г. Томск

<sup>2</sup>Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России, г. Томск

Целью исследования явилась оценка способности опухолевых клеток инвазивной карциномы молочной железы неспецифического типа, формирующих различные морфологические структуры, модулировать свое ближайшее микроокружение.

**Материал и методы.** Был проведен анализ данных по экспрессии генов иммунной системы (цитокинов, в том числе хемокинов, и их рецепторов, паттерн-распознающих молекул и факторов роста) размещенных в базе данных GEO (Gene Expression Omnibus, номер GSE80754).

**Результаты.** Наибольшее количество гиперэкспрессирующихся генов, функционально обеспечивающих паренхиматозно-стромальные отношения, наблюдается в дискретных опухолевых клетках. Для опухолевых клеток, строящих трабекулярные структуры, характерным являлся спектр генов, способствующий поляризации иммуно-воспалительной реакции в Т-хелпер 2 подобный тип. Клетки тубулярных структур характеризуются гиперэкспрессией гена IL15, привлекающего НК клетки. Альвеолярные и солидные структуры не обладают выраженной способностью модулировать свое микроокружение.

**Заключение.** Опухолевые элементы различных морфологических структур инвазивной карциномы неспецифического типа (ИКНТ) характеризуются функциональной гетерогенностью по способности оказывать влияние на тип иммуно-воспалительных реакций в своем микроокружении.

**Ключевые слова:** морфологическая гетерогенность; иммуно-воспалительные реакции; экспрессионный профиль; микроокружение; рак молочной железы

### **Введение**

На долю рака молочной железы (РМЖ) приходится 11,5% в структуре общей онко-

логической заболеваемости в России [1]. Известно, что инвазивные формы РМЖ встречаются гораздо чаще и представляют собой гетерогенную группу опухолей, которые различаются между собой по характеру клинического течения, морфогистологическим и молекулярно-генетическим параметрам [2]. В настоящее время, в соответствии с рекомендациями Всемирной Организации Здравоохранения, в подгруппе инвазивного РМЖ выделяют инвазивную дольковую карциному и инвазивную карциному неспецифического типа (ИКНТ). Последняя является наиболее распространенным вариантом РМЖ и, по разным источникам, занимает от 40 до 75% или от 50 до 80% в структуре этой опухоли [2, 3]. Морфологически ИКНТ представляет собой паренхиму (собственно измененные эпителиальные клетки) и строму (соединительную ткань, инфильтрированную различными иммунными и не иммунными клетками). Два этих компартамента находятся в тесных взаимоотношениях и способны существенно влиять друг на друга [4]. Коммуникации между ними осуществляются за счет широкого спектра продуцируемых ими цитокинов, хемокинов, ростовых факторов и экспрессии соответствующих рецепторов. В классическом представлении формирование микроокружения происходит благодаря синтезу хемокинов и цитокинов, обеспечивающих рекрутирование клеток в строму [5]. Но клеточный состав микроокружения в строме опухоли может зависеть не только от привлечения разного типа клеток. Малоизученным механизмом модулирования инфильтрации опухоли иммунными клетками является формирование биохимического барьера в опухоли за счет веществ – хеморепеллентов [6, 7].

Некоторые свойства опухолевых клеток сопряжены со способностью формировать микроокружение [8]. Так, например, известно, что ключевой регулятор эпителиально-мезенхи-

мального перехода (ЭМП), белок Snail, промотирует экспрессию хемокиновых лигандов CCL2 и CCL5, участвующих в рекрутировании макрофагов [9] и экспрессию лигандов для CXCR2, привлекающих супрессорные миелоидные клетки [10]. Большую роль играет гетерогенность опухоли, которая характерна для рака молочной железы [11]. Известно, что клетки инвазивной карциномы молочной железы являются неоднородными по своим свойствам, в том числе и по степени эпителиально-мезенхимального перехода [12]. Вариабельность морфологического строения ИКНТ, потенциально, может являться одним из возможных факторов, влияющих на плотность инфильтрации стромы клеточными элементами.

Таким образом, в силу существующей гетерогенности опухоли (как молекулярной, так и морфологической) в пределах одной опухоли стромально-паренхиматозные отношения могут варьировать. В представленной работе предпринята попытка с учетом морфологической гетерогенности рака молочной железы оценить способность опухолевых клеток воспринимать цитокиновые сигналы микроокружения и в ответ влиять на него.

## Материал и методы

В работе использованы данные экспрессионного профилирования пяти морфологических структур ИКНТ, размещенные в базе данных GEO (Gene Expression Omnibus, номер GSE80754) [12]. Исследование проведено на материале от 3 пациентов ( $T_{1-2}N_{0-1}M_0$ , люминальный B молекулярный тип, возраст от 42 до 65 лет, средний возраст  $56.42 \pm 8.75$  лет) с гистологически верифицированным диагнозом ИКНТ, не получавших неоадьювантную химиотерапию. Для получения образцов пяти морфологических структур ИКНТ использовалась технология лазерной микродиссекции PALM (Carl Zeiss, Германия). Тотальная РНК была экстрагирована из образцов тубулярных, альвеолярных, солидных, трабекулярных структур опухоли, дискретных групп опухолевых клеток, а также морфологически неизменного эпителия протоков молочной железы, полученных в ходе лазерной микродиссекции (n=18) с использованием RNeasy Plus Micro Kit (Qiagen, USA). Показатель целостности RIN варьировал от 2,5 до 7,7 (средняя ~5,6). Для амплификации РНК был использован набор Ovation PicoSL WTA System V2 kit (NuGEN, USA). Полнотранскриптомное профилирование было проведено с применением микрочипов SurePrint G3 Human GE v2, 8x60K microarrays (Agilent, USA), которые сканировались на SureScan Microarray Scanner (Agilent, USA).

Данные нормализовали относительно нормального эпителия молочной железы. В анализ включали гены, вовлеченные в иммунные процессы, с уровнем экспрессии  $|\log_2 \text{fold change}| \geq \log_2 1.5$  и статистической значимости  $P < 0.05$ .

Таблица 1. Гены, гиперэкспрессирующиеся в различных морфологических структурах ИКНТ

Ген	Полное название	Морфологические структуры				
		Туб	Альв	Сол	Траб	ДГОК
C1QTNF3	C1q and tumor necrosis factor related protein 3, transcript variant 2	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	5,35
C1QTNF6	C1q and tumor necrosis factor related protein 6, transcript variant 1	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	3,28
CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	3,54
CCL3L3	chemokine (C-C motif) ligand 3-like 3	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2,37
IGF2R	insulin-like growth factor 2 receptor	N.C.	N.C.	2,96	N.C.	N.C.
IGFBP5	insulin-like growth factor binding protein 5	3,88	N.C.	N.C.	3,35	3,18
IGFBP7	insulin-like growth factor binding protein 7	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	3,28
IGSF8	immunoglobulin superfamily, member 8	N.C.	N.C.	N.C.	2,59	N.C.
IL12RB2	interleukin 12 receptor, beta 2	N.C.	N.C.	N.C.	2,23	N.C.
IL13RA1	interleukin 13 receptor, alpha 1	N.C.	N.C.	N.C.	2,07	N.C.
IL15	interleukin 15, transcript variant 2	1,80	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
IL17RA	interleukin 17 receptor A, transcript variant 1	N.C.	4,51	N.C.	N.C.	N.C.
IL1B	interleukin 1, beta	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2,30
IL37	interleukin 37, transcript variant 1	N.C.	2,06	N.C.	N.C.	N.C.
TGFB2	transforming growth factor, beta 2, transcript variant 2	N.C.	N.C.	N.C.	3,23	3,28
TGFBR3L	transforming growth factor, beta receptor III-like	N.C.	3,20	N.C.	N.C.	N.C.
TLR3	toll-like receptor 3	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	4,34
TNFRSF10A	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 10a	2,92	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
TNFRSF12A	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 12A	3,16	3,22	N.C.	N.C.	N.C.
TNFRSF6B	tumor necrosis factor receptor superfamily, member 6b	N.C.	N.C.	N.C.	2,11	N.C.
VEGFC	vascular endothelial growth factor C	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	2,63

Примечание (здесь и в табл. 2): Туб – тубулярные структуры, Альв – альвеолярные структуры, Сол – солидные структуры, Траб – трабекулярные структуры, ДГОК – дискретные группы опухолевых клеток. N.C. – не изменены относительно нормы.

### Результаты и обсуждение

Из массива данных, полученных при микроматричном анализе, нами были отобраны сведения, касающиеся экспрессии 200 генов, ассоциированных с иммунной системой: цитокинов, включая хемокины (CX), интерлейкинов (IL), ростовых факторов (GF), интерферонов (IFN) и их рецепторов, а также Toll-подобных рецепторов. Следует отметить, что все 200 изученных генов, экспрессировались и в нормальной ткани молочной железы. Гиперэкспрессия соответствующих генов в опухоли рассматривалась как аргумент в пользу активации и большей вероятности синтеза соответствующих белков, в то время как гипоекспрессия – наоборот, в пользу снижения или даже отсутствия синтеза белка в клетках на момент исследования.

Перечень гиперэкспрессирующихся в различных морфологических структурах генов представлен в табл. 1.

Экспрессионные профили морфологически различных структур ИКНТ включали также и гипоекспрессирующиеся гены (табл. 2).

Наибольшее количество гиперэкспрессирующихся генов было обнаружено в дискретных группах опухолевых клеток. Среди них были гены цитокинов *CCL3L3*, *VEGFC*, *IGFBP7*, *TGFB2*, *CIQTNF6*, *CCL2* и *CIQTNF3*. Показано, что *CCL3L3* усиливает инфильтрацию опухоли CD8+ Т-лимфоцитами [13]. Известны исследования роли белка *IGFBP7* на мышинных моделях. Так, показано, что *IGFBP7* переключает профиль цитокинов на Т-хелпер 1 (T-helper – Th) тип в ткани матки [14].

Показано, что *TGFβ* (кодируется геном *TGFB2*) переключает иммунный ответ в направлении Th2 [15]. Однонаправленный эффект с *TGFβ*, имеет и *CCL2*, опосредующий накопление Th2-лимфоцитов при раке молочной железы [16].

Отдельно стоит отметить обнаруженную гиперэкспрессию гена *IL1B* в дискретных группах опухолевых клеток. *IL1* является цитокином, запускающим каскад реакций, приводящих к развитию острой местной воспалительной реакции. Показано, что *IL1*, источником которого являются клетки рака молочной железы, способен усиливать метастазирование и модулировать микроокружение в костном мозге [17].

Среди гиперэкспрессирующихся генов цитокинов были гены, не влияющие на поляризацию иммуно-воспалительной реакции (ИВР) в микроокружении, но изменяющие свойства опухолевых клеток. *VEGFC* приводит к индукции лимфангиогенеза в опухоли и усилению метастазирования при раке молочной железы [18]. Ген *CIQTNF6* вовлечен в пролиферацию и миграцию клеток карциномы желудка [19]. Помимо этого, в дискретных группах опухолевых клеток (ДГОП) гиперэкспрессирующимся оказался ген *TLR3*. Лигандом для *TLR3* служит двухцепочечная молекула РНК, их взаимодействие приводит к активации NF-κB, транскрипционного фактора, ответственного за синтез ряда провоспалительных цитокинов [20]. Гипоекспрессирующихся генов, связанных с иммунным ответом, в дискретных группах опухолевых клеток не было обнаружено.

Таким образом, экспрессионный профиль дискретных групп опухолевых клеток позволяет полагать, что в их микроокружении способна развиваться острая воспалительная реакция с потенциями к поляризации как в Th1, так и Th2 тип.

Для трабекулярных структур была характерна гиперэкспрессия генов *TNFRSF6B*, *IL13RA1* и *IL12RB2*. Белковый продукт гена *TNFRSF6B* является растворимым рецептором, способным нейтрализовать эффекты Fas лиганда (FasL), и белков-членов суперсемейства TNF – TNFSF14 и TNFSF15, являющихся ингибиторами цитокин-индуцированной пролиферации [21]. Кроме того, обработанные *TNFRSF6B* дендритные клетки стимулировали дифференцировку Т-лимфоцитов в фенотип Th2, а обработанные макрофаги приобретали фенотип M2 [22]. Рецепторы *IL12RB2* и *IL13RA1* функционируют на лимфоидных клетках, их экспрессия на опухолевых клетках скорее (при наличии в микроокружении соответствующих лигандов) приводит к изменению свойств самих опухолевых клеток. Так, известно, что гиперэкспрессия гена *IL12RB2* в клетках рака молочной железы линии 4T1 в мышинной модели сопряжена с реверсией эпителиально-мезенхимального перехода в метастатических сайтах [23]. Кроме того, трабекулярные структуры характеризовались сниженным уровнем

Таблица 2. Гены, гипоекспрессирующиеся в различных морфологических структурах ИКНТ

Ген	Полное название	Морфологические структуры				
		Туб	Альв	Сол	Траб	ДГОК
CXCR2	chemokine (C-X-C motif) receptor 2	-1,88301	-2,08453	N.C.	N.C.	N.C.
CXCR4	chemokine (C-X-C motif) receptor 4, transcript variant 1	N.C.	-3,44934	N.C.	N.C.	N.C.
CXCR5	chemokine (C-X-C motif) receptor 5, transcript variant 2	N.C.	N.C.	N.C.	-3,62487	N.C.

экспрессии гена *CXCR5*, ассоциированного с усилением пролиферации опухолевых клеток по данным J. Meijer [24].

Изложенные факты позволяют полагать, что трабекулярные структуры обладают потенциями к модуляции своего микроокружения скорее в направлении ИВР Th2-подобного типа (за счет секреции TNFRSF6B).

В солидных структурах только один ген, *IGF2R*, был гиперэкспрессирован по сравнению с нормальным эпителием молочной железы. Данный белок является рецептором к инсулин-подобному ростовому фактору. Высокие уровни экспрессии *IGF2R* характерны для богатых стволовыми клетками первичных опухолей молочной железы [25].

Способность альвеолярных структур моделировать свое микроокружение, по данным нашего исследования, опосредуется гиперэкспрессирующимся геном *IL37*. Хорошо известна его иммуносупрессорная активность в отношении врожденного иммунитета [26]. Остальные, характерные для альвеолярных структур гиперэкспрессирующиеся гены, являлись рецепторами к цитокинам – *TGFBR3L*, *TNFRSF12A* и *IL17RA* – и, по данным литературы, скорее способны изменять свойства самих опухолевых клеток. Так, показано, что TGFβRIII участвует в миграции и инвазии опухолевых клеток *in vitro* и росте ксенографтов *in vivo* [27]. Высокий уровень TNFRSF12A ассоциирован с гиперэкспрессией металлопротеиназы-9 (MMP-9) (в нашем исследовании уровень экспрессии MMP-9 от нормы не отличался) и связан с неблагоприятным прогнозом при раке молочной железы [28]. Показано, что *IL17RA* участвует в регуляции опухолевого роста и ангиогенеза, а также играет важную роль в прогрессии колоректальной карциномы [29]. Помимо этого, в альвеолярных структурах отмечалась сниженная экспрессия двух генов, кодирующих рецепторы к хемокинам – *CXCR2* и *CXCR4*. Известно, что экспрессирующийся на опухолевых клетках *CXCR2* опосредует ангиогенный эффект IL8 в эндотелиальных клетках [30]. Белок *CXCR4* является рецептором для SDF1 (stromal derived factor 1). Считается, что миграция по этой оси свойственна тканевым стволовым клеткам, а не иммунным [31].

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что альвеолярные структуры способны подавлять врожденные иммунные реакции, при этом, не имеют особых потенций к модуляции микроокружения в направлении Th1 или Th2.

В тубулярных структурах были обнаружены два гиперэкспрессирующихся гена – *TNFRSF10A* и *IL15*. Ген *TNFRSF10A* остается малоизученным, однако показано, что он является участником внешнего пути запуска апоптоза [32]. О его

способности модулировать ИВР к настоящему моменту не известно ничего. Белковый продукт другого гена, *IL15*, приводит к накоплению и активации натуральных киллеров (НК) в модели рака молочной железы [33]. Кроме того, в тубулярных структурах была снижена экспрессия гена *CXCR2*, ассоциированного с плохим прогнозом и промоцией инвазии и метастазирования при раке легкого [34]. Основываясь на представленных данных, можно полагать, что тубулярные структуры способны формировать в своем микроокружении реакции врожденного типа с цитотоксическим потенциалом. Быть может это отчасти обуславливает благоприятную прогностическую значимость наличия тубулярных структур в опухоли.

### Заключение

Морфо-функциональная гетерогенность ИКНТ, продемонстрированная во многих исследованиях [11], позволяет обсуждать полученные результаты в двух аспектах: с точки зрения топической гетерогенности опухоли, проявляющейся различным уровнем экспрессии генов в разных локусах опухоли, обусловленных совокупностью случайных факторов и с точки зрения закономерных различий в уровне экспрессии генов между опухолевыми клетками, принадлежащими разным типам структур. Результаты настоящего исследования позволяют полагать, что опухолевые элементы в зависимости от их принадлежности к разным типам морфологических структур характеризуются неодинаковой способностью как модифицировать микроокружение, так и отвечать на цитокиновые сигналы, источником которых является микроокружение. Причем, такой способностью в убывающем порядке обладают дискретные группы опухолевых клеток, трабекулярные, альвеолярные, тубулярные и солидные структуры.

Наибольшее количество гиперэкспрессирующихся генов, функционально обеспечивающих паренхиматозно-стромальные отношения, наблюдается в дискретных опухолевых клетках. Этот результат соответствует ранее полученным нами данным. В исследованиях М.В. Завьяловой [35] показано, что в дискретных группах опухолевых клеток отмечено максимальное количество корреляционных связей между параметрами опухолевых клеток (пролиферативная активность, экспрессия P53, BCL2 и b-катенина) и экспрессией CD4, CD8, CD20, CD117 и CD138 в клетках инфильтрата. В работе Е.В. Денисова и соавт. на основании оценки профиля генной экспрессии, показано, что дискретные группы опухолевых клеток проявляют большую степень

эпителиально-мезенхимального перехода по сравнению с другими типами структур [12]. Совокупность этих данных позволяет полагать, что из всех типов морфологических структур опухолевые элементы дискретных структур находятся в более тесном взаимодействии с клеточными элементами микроокружения, в частности, обладают большими потенциями к модификации иммуно-воспалительных реакций. Причем относительно широкий спектр гиперэкспрессированных генов говорит о способности ДГОП формировать как Th1-, так и Th2-подобный тип иммуно-воспалительных реакций. В связи с этим представляет интерес изучение механизма, посредством которого клетки дискретных групп приобретают такие способности. Один из механизмов – эпителиально-мезенхимальный переход с приобретением выраженного мезенхимального фенотипа – это предположение подтверждается нашими ранее опубликованными результатами [12]. Второй механизм может быть обусловлен гибридизацией опухолевых клеток с лимфоцитами/макрофагами. Известно, что гибридные клетки (экспрессирующие маркеры эпителиальных клеток и лейкоцитов) присутствуют среди циркулирующих опухолевых клеток при раке молочной железы [36].

В отличие от ДГОП клеточные элементы трабекулярных структур, судя по профилю гиперэкспрессирующихся генов, имеют высокие потенции к стимуляции дифференцировки Т-лимфоцитов в фенотип Th2, и макрофагов в фенотип M2, таким образом способствуя формированию иммуно-воспалительной реакции Th2-подобного типа.

Судя по гиперэкспрессии гена *IL37*, клетки альвеолярных структур характеризуются способностью подавлять развитие иммунных реакций врожденного типа. В отличие от дискретных опухолевых клеток и трабекулярных структур, клеточные элементы альвеолярных не обладают значимой способностью к модуляции Th1- или Th2-подобных ИВР. Гипоэкспрессия *CXCR2* характеризует низкую способность альвеолярных структур к стимуляции неоангиогенеза, а сниженная экспрессия *CXCR4* позволяет предполагать, что опухолевые клетки, отделяющиеся от альвеолярных структур, обладают низкой способностью к задержке в тканях, содержащих SDF1, а значит и потенцией к метастазированию.

В отличие от описанных выше структур клеточные элементы тубулярных структур гиперэкспрессируют ген *IL15*, способствующий привлечению и активации НК клеток. Гипоэкспрессия *CXCR2* может быть ассоциирована с низкой ангиогенной способностью тубулярных и альвеолярных структур.

В клетках солидных структур уровень экспрессии генов, ассоциированных с иммунной системой, не отличается от нормы, что можно трактовать как снижение потенции к избирательной модификации ИВР в своем микроокружении.

Таким образом, результаты исследования дают основания полагать, что опухолевые элементы различных морфологических структур ИКНТ характеризуются функциональной гетерогенностью по способности оказывать влияние на тип иммуно-воспалительных реакций в своем микроокружении. В связи с этим следует ожидать, что само наличие в опухоли того или иного типа опухолевых структур позволяет в определенной степени предполагать характер взаимоотношений с микроокружением, а количество разных типов структур в опухоли является одним из факторов, определяющих разнообразие сценариев паренхиматозно-стромальных отношений в опухоли.

*Вклад авторов. Авторы внесли равнозначный вклад в написание статьи.*

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

*Финансирование. Исследование было поддержано грантом РФФ №19-75-30016.*

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. – М.: МНИ-ОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России. – 2019. – илл. – 250 с.
2. Masood S. Breast Cancer Subtypes: Morphologic and Biologic Characterization // *Women's Health*. – 2016. – № 1. – P. 103-119. – doi: 10.2217/whe.15.99.
3. Sinn H.P., Kreipe H. A Brief Overview of the WHO Classification of Breast Tumors, 4th Edition, Focusing on Issues and Updates from the 3rd Edition // *Breast Care (Basel)*. – 2013. – № 2. – P. 149-154. – doi:10.1159/000350774.
4. Hill B.S., Sarnella A., D'Avino G., Zannetti A. Recruitment of stromal cells into tumour microenvironment promote the metastatic spread of breast cancer // *Semin Cancer Biol.* – 2019. – pii: S1044-579X(19)30211-1. – doi: 10.1016/j.semcancer.2019.07.028.
5. Horsman M.R., Vaupel P. Pathophysiological Basis for the Formation of the Tumor Microenvironment // *Front Oncol.* – 2016. – № 6. – P. 66. – doi:10.3389/fonc.2016.00066.
6. Zboralski D., Hoehlig K., Eulberg D. et al. Increasing tumor infiltrating T cells through inhibition of CXCL12 with NOX-A12 synergizes with PD-1 blockade // *Cancer Immunol Res.* – 2017. – № 5. – P. 950-956.
7. Li X., Gruosso T., Zuo D. et al. Infiltration of CD8+ T cells into tumor cell clusters in triple-negative breast cancer // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2019. – Vol. 116. – № 9. – P. 3678-3687. – doi: 10.1073/pnas.1817652116.
8. Dongre A., Weinberg R.A. New insights into the mechanisms of epithelial-mesenchymal transition and implica-

- tions for cancer // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2019. – Vol. 20. – № 2. – P. 69-84. – doi: 10.1038/s41580-018-0080-4.
9. Hsu D.S., Wang H.J., Tai S.K. et al. Acetylation of snail modulates the cytokinome of cancer cells to enhance the recruitment of macrophages // *Cancer Cell.* – 2014. – Vol. 26. – № 4. – P. 534-48. – doi: 10.1016/j.ccell.2014.09.002.
  10. Taki M., Abiko K., Baba T. et al. Snail promotes ovarian cancer progression by recruiting myeloid-derived suppressor cells via CXCR2 ligand upregulation // *Nat Commun.* – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 1685. – doi:10.1038/s41467-018-03966-7.
  11. Zavyalova M.V., Denisov E.V., Tashireva L.A. et al. Phenotypic drift as a cause for intratumoral morphological heterogeneity of invasive ductal breast carcinoma not otherwise specified // *Biores Open Access.* – 2013. – № 2. – P. 148-54. – doi: 10.1089/biores.2012.0278.
  12. Denisov E.V., Skryabin N.A., Gerashchenko T.S. et al. Clinically relevant morphological structures in breast cancer represent transcriptionally distinct tumor cell populations with varied degrees of epithelial-mesenchymal transition and CD44+CD24-stemness // *Oncotarget.* – 2017. – Vol. 8. – № 37. – P. 61163-61180. – doi: 10.18632/oncotarget.18022.
  13. Allen F., Bobanga I.D., Rauhe P. et al. CCL3 augments tumor rejection and enhances CD8+ T cell infiltration through NK and CD103+ dendritic cell recruitment via IFN $\gamma$  // *Oncimmunology.* – 2017. – Vol. 7. – № 3. – P. e1393598. –doi:10.1080/2162402X.2017.1393598.
  14. Liu Z.-K., Wang R.-C., Han B.-C. et al. A Novel Role of IGFBP7 in Mouse Uterus: Regulating Uterine Receptivity through Th1/Th2 Lymphocyte Balance and Decidualization // *PLoS ONE.* – 2012. – Vol. 7. – № 9. – P. e45224. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045224>.
  15. Maeda H., Shiraishi A. TGF-beta contributes to the shift toward Th2-type responses through direct and IL-10-mediated pathways in tumor-bearing mice // *J Immunol.* – 1996. – Vol. 156. – № 1. – P. 73-78.
  16. Mandal P.K., Biswas S., Mandal G. et al. CCL2 conditionally determines CCL22-dependent Th2-accumulation during TGF- $\beta$ -induced breast cancer progression // *Immunobiology.* – 2018. – Vol. 223. – № 2. – P. 151-161. – doi: 10.1016/j.imbio.2017.10.031.
  17. Tulotta C., Lefley D.V., Freeman K. et al. Endogenous production of IL-1B by breast cancer cells drives metastasis and colonisation of the bone microenvironment // *Clin Cancer Res [Internet].* – 2019. – doi: clincanres.2202.2018.
  18. Skobe M., Hawighorst T., Jackson D.G. et al. Induction of tumor lymphangiogenesis by VEGF-C promotes breast cancer metastasis // *Nat Med.* – 2001. – Vol. 7. – № 2. – P. 192-198.
  19. Qu H., Cui L., Meng X. et al. C1QTNF6 is overexpressed in gastric carcinoma and contributes to the proliferation and migration of gastric carcinoma cells // *International Journal of Molecular Medicine.* – 2019. – Vol. 43. – № 1. – P. 621-629. –<https://doi.org/10.3892/ijmm.2018.3978>.
  20. Alexopoulou L., Holt A.C., Medzhitov R., Flavell R.A. Recognition of double-stranded RNA and activation of NF-kappaB by Toll-like receptor 3 // *Nature: journal.* – 2001. – Vol. 413. – № 6857. – P. 732-738. – doi:10.1038/35099560.
  21. Takahashi M., Miura Y., Hayashi S. et al. DcR3-TL1A signalling inhibits cytokine-induced proliferation of rheumatoid synovial fibroblasts // *Int J Mol Med.* – 2011. – Vol. 28. – № 3. – P. 423-427. – doi: 10.3892/ijmm.2011.687.
  22. Hsieh S.L., Lin W.W. Decoy receptor 3: an endogenous immunomodulator in cancer growth and inflammatory reactions // *J Biomed Sci.* – 2017. – Vol. 24. – № 1. – P. 39. – doi: 10.1186/s12929-017-0347-7.
  23. Lee C.C., Lin J.C., Hwang W.L. et al. Macrophage-secreted interleukin-35 regulates cancer cell plasticity to facilitate metastatic colonization // *Nat Commun.* – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 3763. – doi: 10.1038/s41467-018-06268-0.
  24. Meijer J., Zeelenberg I.S., Sipos B., Roos E. The CXCR5 chemokine receptor is expressed by carcinoma cells and promotes growth of colon carcinoma in the liver // *Cancer Res.* – 2006. – Vol. 66. – № 19. – P. 9576-9582.
  25. Tominaga K., Shimamura T., Kimura N. et al. Addiction to the IGF2-ID1-IGF2 circuit for maintenance of the breast cancer stem-like cells // *Oncogene.* – 2017. – Vol. 36. – № 9. – P. 1276-1286. – doi: 10.1038/onc.2016.293.
  26. Nold M.F., Nold-Petry C.A., Zepp J.A. et al. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity // *Nat Immunol.* – 2010. – Vol. 11. – № 11. – P. 1014-1022. – doi:10.1038/ni.1944.
  27. Jovanovic B., Beeler J.S., Pickup M.W. et al. Transforming growth factor beta receptor type III is a tumor promoter in mesenchymal-stem like triple negative breast cancer // *Breast Cancer Res.* – 2014. – Vol. 16. – № 4. – P. R69. – doi:10.1186/bcr3684.
  28. Yang J., Min K.W., Kim D.H. et al. High TNFRSF12A level associated with MMP-9 overexpression is linked to poor prognosis in breast cancer: Gene set enrichment analysis and validation in large-scale cohorts // *PLoS One.* – 2018. – Vol. 13. – № 8. – P. e0202113. – doi: 10.1371/journal.pone.0202113.
  29. Yang C., Lin C., Jiang J. The expression of interleukin 17 receptor A is associated with poor prognosis in patients with colorectal cancer and its knockdown inhibits tumor growth and modulates tumor-infiltrating immune cells in mice tumor // *Annals of Oncology.* – 2017. – Vol. 28. – Sup. 5. – doi: mdx393.106.
  30. Heidemann J., Ogawa H., Dwinell M.B. et al. Angiogenic effects of interleukin 8 (CXCL8) in human intestinal microvascular endothelial cells are mediated by CXCR2 // *J Biol Chem.* – 2003. – Vol. 278. – № 10. – P. 8508-8515.
  31. Miller R.J., Banisadr G., Bhattacharyya B.J. CXCR4 signaling in the regulation of stem cell migration and development // *J Neuroimmunol.* – 2008. – Vol. 198. – № 1-2. – P. 31-38. – doi: 10.1016/j.jneuroim.2008.04.008.
  32. Qu Y., Liao Z., Wang X., et al. EFLDO sensitizes liver cancer cells to TNFSF10-induced apoptosis in a p53-dependent manner // *Mol Med Rep.* – 2019. – Vol. 19. – № 5. – P. 3799-3806. – doi: 10.3892/mmr.2019.10046.
  33. Gillgrass A.E., Chew M.V., Krneta T., Ashkar A.A. Overexpression of IL-15 promotes tumor destruction via NK1.1+ cells in a spontaneous breast cancer model // *BMC Cancer.* – 2015. – № 15. – P. 293. – doi: 10.1186/s12885-015-1264-3.
  34. Saintigny P., Massarelli E., Lin S. et al. CXCR2 expression in tumor cells is a poor prognostic factor and promotes invasion and metastasis in lung adenocarcinoma // *Cancer Res.* – 2013. – Vol. 73. – № 2. – P. 571-582. – doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0263.
  35. Завьялова М.В. Взаимосвязь морфологического фенотипа опухоли, лимфогенного и гематогенного метастазирования при инфильтрирующем протоковом

раке молочной железы: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Томск, 2009. – 41 с.

36. Lustberg M.B., Balasubramanian P., Miller B. et al. Heterogeneous atypical cell populations are present in blood of metastatic breast cancer patients // Breast Cancer Research. – 2014. – № 16. – P. R23.

Поступила в редакцию 30.10.2019 г.

*L.A. Tashireva<sup>1</sup>, T.S. Gerashchenko<sup>1</sup>, E.V. Denisov<sup>1</sup>,  
O.E. Savelieva<sup>1</sup>, A.V. Buzenkova<sup>1</sup>, M.V. Zavyalova<sup>1,2</sup>,  
N.V. Cherdyntseva<sup>1</sup>, V.M. Perelmuter<sup>1</sup>*

**Characterization of the ability of tumor cells  
of various morphological structures  
to modulate immune-inflammatory reactions  
in invasive breast carcinoma**

<sup>1</sup>Cancer Research Institute, Tomsk NRMC, Tomsk,  
<sup>2</sup>Siberian State Medical University Russian Ministry of  
Health, Tomsk

**The aim** of the study was to assess the ability of tumor cells of invasive breast carcinoma of a non-specific type (IC NST) which forming various morphological structures to modulate their nearest microenvironment.

**Material and methods.** An analysis was carried out of the data on the expression of the immune system (cytokines, including chemokines, and their receptors, pattern-recognizing molecules and growth factors) genes placed in the GEO database (Gene Expression Omnibus, number GSE80754).

**Results.** The largest number of overexpressing genes that functionally provide parenchymal-stromal relationships is observed in discrete tumor cells. The spectrum of genes that contributed to the polarization in Th2 type of the immuno-inflammatory response was a characteristic for tumor cells building trabecular structures. Cells of tubular structures are characterized by overexpression of the IL15 gene, which attracts NK cells. Alveolar and solid structures do not have a pronounced ability to modulate their microenvironment.

**Conclusion.** Tumor elements of various morphological structures of IC NST are characterized by functional heterogeneity in their ability to influence the type of immuno-inflammatory reactions in their microenvironment.

Key words: morphological heterogeneity; immuno-inflammatory reactions; expression profile; microenvironment; breast cancer