

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Герштейн Е.С.<sup>1</sup>, Огнерубов Н.А.<sup>2</sup>, Чанг В.Л.<sup>2</sup>, Делекторская В.В.<sup>1</sup>, Короткова Е.А.<sup>1</sup>, Соколов Н.Ю.<sup>1</sup>,  
Поликарпова С.Б.<sup>3</sup>, Стилиди И.С.<sup>1</sup>, Кушлинский Н.Е.<sup>1</sup>

## РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ PD-1 И PD-L1 В ПЛАЗМЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЖЕЛУДКА И ИХ СВЯЗЬ С КЛИНИЧЕСКИМИ И МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115478, Москва, Россия;

<sup>2</sup>Медицинский институт ФГБОУ ВПО «Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина» Министерства науки и высшего образования РФ, 392036, Тамбов, Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский университет), 119435, Москва, Россия

*Представлены результаты иммуноферментного исследования содержания sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови до начала лечения 100 больных раком желудка в различных стадиях заболевания в возрасте от 25 до 81 лет. В группу контроля включили 60 практически здоровых доноров в возрасте от 18 до 68 лет. Концентрации sPD-L1 в плазме крови больных раком желудка не отличались от контроля, а уровень sPD-1 был статистически значимо ниже у пациентов, чем у здоровых доноров ( $p < 0,0001$ ). Выявлена статистически значимая положительная корреляция между показателями sPD-1 и sPD-L1 ( $R = 0,38$ ;  $p = 0,003$ ) в группе контроля и отрицательная – у больных раком желудка ( $R = -0,26$ ;  $p = 0,009$ ). Методом построения кривых ROC выявлен порог концентрации sPD-1 (менее 21 пг/мл), при котором чувствительность составила 77%, специфичность – 63,3%, что недостаточно для использования его в качестве диагностического маркера рака желудка. Обнаружено статистически значимое увеличение уровня sPD-L1 в плазме крови от I до IIIA стадии ( $R = 0,50$ ;  $p = 0,00011$ ). При анализе взаимосвязи уровней маркеров с показателями распространенности рака желудка по системе TNM выявлена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь уровня sPD-L1 в плазме крови с индексами T (глубина инвазии опухоли) и N (количество пораженных лимфоузлов):  $R = 0,33$ ;  $p = 0,00093$  и  $R = 0,27$ ;  $p = 0,0099$  соответственно. Уровень sPD-L1 статистически значимо увеличен при низкодифференцированной аденокарциноме и перстневидноклеточном раке по сравнению с высокодифференцированной аденокарциномой ( $p = 0,02$  и  $p = 0,004$  соответственно); при перстневидноклеточном раке он также выше, чем при умереннодифференцированной аденокарциномой ( $p = 0,043$ ) и недифференцированном раке ( $p = 0,049$ ). Уровень sPD-1 не зависит от стадии и показателей распространенности рака желудка (TNM) и гистологического строения опухоли. Таким образом, растворимый лиганд sPD-L1, но не его рецептор sPD-1, повышен в плазме крови больных раком желудка с неблагоприятными клинико-морфологическими характеристиками заболевания и является потенциально значимым фактором прогноза у этих пациентов, а возможно, и показателем эффективности анти-PD-1/PD-L1 терапии.*

**Ключевые слова:** рак желудка; sPD-1; sPD-L1, плазма крови.

**Для цитирования:** Герштейн Е.С., Огнерубов Н.А., Чанг В.Л., Делекторская В.В., Короткова Е.А., Соколов Н.Ю., Поликарпова С.Б., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е. Растворимые формы PD-1 и PD-L1 в плазме крови больных раком желудка и их связь с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (6): 347-352. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-6-347-352>

Gershtein E.S.<sup>1</sup>, Ognerubov N.A.<sup>2</sup>, Chang V.L.<sup>2</sup>, Delektorskaya V.V.<sup>1</sup>, Korotkova E.A.<sup>1</sup>, Sokolov N.Yu.<sup>1</sup>, Polikarpova S.B.<sup>3</sup>, Stilidi I.S.<sup>1</sup>, Kushlinskiy N.E.<sup>1</sup>

SOLUBLE FORMS OF PD-1 AND PD-L1 IN BLOOD PLASMA OF GASTRIC CANCER PATIENTS AND THEIR ASSOCIATIONS WITH CLINICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE DISEASE

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Medical Institute of G.R. Derzhavin Tambov State University of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation; Tambov, Russia;

<sup>3</sup>Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

*Results of comparative ELISA investigation of pretreatment sPD-1 and sPD-L1 content in blood plasma of 100 gastric cancer patients at various disease stages aged 25 to 81 years are presented. Control group included 60 practically healthy donors aged 18 – 68 years. Plasma sPD-L1 concentrations did not differ between gastric cancer patients and control group, and sPD-1 levels were statistically significantly lower in patients than in healthy donors ( $p < 0.0001$ ). Positive correlation ( $R = 0.38$ ;  $p = 0.003$ ) was revealed between plasma sPD-1 and sPD-L1 levels in control group and negative ( $R = -0.26$ ;  $p = 0.009$ ) – in gastric cancer patients. ROC curve revealed the best sPD-1 cut-off level ( $< 21$  pg/ml) with 77% sensitivity and 63.3% specificity, which is not sufficient for its application as diagnostic marker. Statistically significant increase of plasma sPD-L1 from stage I to stage IIIA ( $R = 0.50$ ;  $p = 0.00011$ ) was found. Analysis of associations between the evaluated markers' levels and indices of gastric cancer expansion according to TNM system revealed statistically significant positive associations of plasma sPD-L1 levels with T (tumor invasion depth) and N (number of affected lymph nodes) indices:  $R = 0.33$ ;  $p = 0.00093$ , and  $R = 0.27$ ;  $p = 0.0099$  respectively. sPD-L1 level was significantly increased in patients with low differentiated adenocarcinoma and cricoid-cell cancer as compared to highly differentiated adenocarcinoma ( $p = 0.02$  and  $p = 0.004$  respectively); in patients with cricoid-cell cancer it was also higher than in those with moderately differentiated adenocarcinoma ( $p = 0.043$ ) and undifferentiated cancer ( $p = 0.049$ ). Plasma sPD-1 level did not depend on disease stage, TNM system indices and tumor histological structure. Thus, soluble ligand sPD-L1, but not its receptor sPD-1, plasma level is increased in patients with unfavorable clinical and morphological characteristics, may be regarded*

**Для корреспонденции:** Кушлинский Николай Евгеньевич, д-р мед. наук, проф., академик РАН, зав. лаб. клинической биохимии; e-mail: [biochimia@yandex.ru](mailto:biochimia@yandex.ru)

*as potentially valuable prognostic factor for gastric cancer patients' survival, and probably as a predictor of anti – PD-1/PD-L1 treatment efficiency.*

**Key words:** *gastric cancer; sPD-1; sPD-L1; blood plasma.*

**For citation:** *Gershtein E.S., Ognerubov N.A., Chang V.L., Delektorskaya V.V., Korotkova E.A., Sokolov N.Yu., Polikarpova S.B., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. The content of the soluble forms PD-1 and PD-L1 in blood serum of patients with gastric cancer and their relationship with clinical and morphological characteristics of the disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65 (6): 347-352 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-6-347-352>*

**For correspondence:** *Kushlinskii Nikolay Evgenievich*, Doctor of Medical Sciences, professor, academician of RAS, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry; e-mail: [biochimia@yandex.ru](mailto:biochimia@yandex.ru)

**Information about authors:**

Gershtein E.S. – <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>  
Ognerubov N.A. – <https://orcid.org/0000-0003-4045-1247>  
Chang V.L. – <https://orcid.org/0000-0003-4799-2687>  
Delektorskaya V.V. – <https://orcid.org/0000-0002-4550-2069>  
Korotkova E.A. – <https://orcid.org/0000-0002-2509-5232>  
Sokolov N.Yu. – <https://orcid.org/0000-0002-0706-9575>  
Polikarpova S.B. – <https://orcid.org/0000-0003-3621-7394>  
Stilidi I.S. – <https://orcid.org/0000-0002-0493-1166>  
Kushlinskii N.E. – <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

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

**Acknowledgment.** *The study supported by RFBR grant 18-03-00793.*

Received 06.04.2020  
Accepted 10.04.2020

**Введение.** Несмотря на то, что хирургический метод является ведущим в лечении больных раком желудка, современные стандарты терапии этого заболевания включают различные схемы неoadъювантной и адъювантной химиотерапии. Это связано с тем, что большинство пациентов с впервые выявленным раком желудка уже на этапе обследования имеют регионарные и отдаленные метастазы, поэтому химиотерапия во многих случаях оказывается мало эффективной, а процент рецидивов и показатели смертности от рака желудка остаются высокими [1, 2].

В настоящее время многие исследователи и практические онкологи связывают возможность дальнейшего прогресса в повышении эффективности терапии этого заболевания не только с рациональным использованием существующих методов комбинированного и комплексного лечения, но и с разработкой принципиально новых патогенетических подходов, основанных на современных достижениях биохимии, молекулярной биологии и иммунологии опухолей. Одним из современных направлений таких исследований считается возможность иммунотерапевтического воздействия на рак желудка, направленного на подавление активности одного из сигнальных путей т.н. «контрольных точек иммунитета» – PD-1/PD-L, который в физиологических условиях контролирует выраженность и длительность аутоиммунного ответа, предотвращая повреждение собственных тканей [3, 4]. Основными компонентами этого сигнального пути являются белок программируемой клеточной гибели PD-1 (programmed cell death protein 1) и два его лиганда PD-L1 и PD-L2. PD-1 представляет собой мембранный рецептор I типа, принадлежащий к семейству CD28/CTLA-4 регуляторов T-клеток и экспрессирующийся на их поверхности [5]. Из лигандов наиболее значим PD-L1, известный также как кластер дифференцировки 274 (CD274) или гомолог B7 1 типа (B7-H1) [3].

Активация PD-1/PD-L1 пути стимулирует апоптоз антиген-специфичных T-клеток в лимфоузлах и одновременно подавляет апоптоз регуляторных супрессор-

ных T-клеток, что позволяет клетке уйти от иммунного ответа организма. В связи с этим моноклональные антитела к PD-1 и PD-L1, предотвращающие их взаимодействие друг с другом и ингибирующие иммуносупрессивные эффекты опухолей, находят сейчас активное применение в терапии многих онкологических заболеваний: при меланоме [5], почечно-клеточной карциноме [3, 6], раке легкого [7], раке яичников [8]. В связи с этим, экспрессию PD-1 и/или PD-L1 в опухолях и инфильтрирующих опухоли лимфоцитах активно изучают иммуногистохимическими методами в качестве предиктора эффективности анти-PD-1/PD-L1 иммунотерапии [3, 9]. Эти белки рассматривают и как молекулярные маркеры общего прогноза и выживаемости пациентов с онкологическими заболеваниями [7, 10-12], в том числе, больных раком желудка [13, 14].

В последнее время, пристальный интерес исследователей привлекают растворимые формы рецептора PD-1 (sPD-1) и его лиганда (sPD-L1), обнаруженные относительно недавно в периферической крови, в том числе, и онкологических больных [14-20]. Происхождение sPD-1 и sPD-L1 пока точно не установлено. Имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что sPD-L1 образуется преимущественно в результате протеолитического отщепления внеклеточной части трансмембранного белка, тогда как sPD-1 – в результате альтернативного сплайсинга. В экспериментальных исследованиях показана способность sPD-1 подавлять активность PD-1/PD-L1(2) пути, блокируя связывание находящегося на опухолевых клетках лиганда с мембранным рецептором T-лимфоцитов. sPD-L1 также способен снизить активность PD-1/PD-L1(2) пути, блокируя рецептор, но, по некоторым данным, может также стимулировать апоптоз T-лимфоцитов, аналогично мембранному белку, т.е. подавлять противоопухолевый иммунитет [3]. Это направление исследований активно развивается в последние годы, в том числе и у больных раком желудка [14, 21, 22].

Цель настоящего исследования – анализ содержания растворимых форм PD-1 и PD-L1 в плазме крови боль-

ных раком желудка и их связи с клиническими и морфологическими характеристиками заболевания.

**Материал и методы.** Обследовали 100 больных с впервые выявленным раком желудка в различных стадиях заболевания в возрасте от 25 до 81 лет (65 мужчин, 35 женщин). Все пациенты обследовались и получали лечение в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ и в Тамбовском областном онкологическом клиническом диспансере. Группу контроля составили 60 практически здоровых доноров в возрасте от 18 до 68 лет, из них 46 женщин и 14 мужчин. Клинико-рентгенологический диагноз у всех больных подтвержден данными морфологического исследования опухоли и регионарных лимфоузлов согласно Международной гистологической классификации опухолей пищеварительной системы (ВОЗ, 2019). Опухоль поражала различные отделы желудка: у 46% пациентов локализовалась в теле, у 20% – в проксимальном, у 19% в дистальном отделе желудка; тотальное поражение желудка было у 19% больных, и у 3% диагностирован кардиоэзофагеальный рак. У половины обследованных (50 наблюдений) выявлена низкодифференцированная аденокарцинома, у 18 умеренно дифференцированная, у 9 – высокодифференцированная, у 21 – перстневидноклеточный рак желудка и в 2-х случаях – недифференцированный рак. Пациенты были в различных стадиях опухолевого процесса: IA – 16, IB – 6, IIA – 8, IIB – 8, IIIA – 10, IIIB – 12, IIIC – 11, у 29 больных выявлена IV стадия.

Концентрацию sPD-L1 и SPD-1 определяли в плазме крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью наборов реактивов для прямого иммуноферментного анализа «Human PD-L1 Platinum ELISA» и «Human PD-1 ELISA kit» (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркеров выражали в пикограммах (пг) на 1 мл плазмы крови.

При сравнении и анализе взаимосвязи полученных показателей использовали непараметрические критерии

Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, медианный тест, тест корреляции рангов Спирмена (R). Пороговые уровни определяли методом построения кривых ROC. Данные обрабатывали с помощью программ «Statistica 7.0» (StatSoft Inc) и SPSS 20. Различия и корреляции считали достоверными при  $p < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** Результаты определения концентрации sPD-1 и SPD-L1 в плазме крови больных раком желудка и здоровых доноров представлены в табл.1.

Концентрации sPD-L1 в плазме крови больных раком желудка и группы контроля не отличались, тогда как уровень SPD-1 у больных раком желудка был статистически значимо ниже, чем в контроле (медианы 12,1 и 28,9 пг/мл соответственно;  $p < 0,0001$ ). При этом пределы колебаний концентраций sPD-1 и SPD-L1 в плазме крови в обеих группах совпадали, в связи с чем 95% ДИ в качестве порогового значения при разделении групп оказался неэффективным.

Методом построения кривых ROC выявлен порог концентрации sPD-1, соответствующий уровню маркера ниже 21 пг/мл, при котором чувствительность составила 77% (77 из 100), специфичность – 63,3% (38 из 60). Таким образом, данный показатель не может служить самостоятельным серологическим маркером рака желудка.

Выявлена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь между показателями sPD-1 и SPD-L1 ( $R=0,38$ ;  $p=0,003$ ) в группе контроля и отрицательная – у больных раком желудка ( $R=-0,26$ ;  $p=0,009$ ).

Установлено, что в контрольной группе оба показателя sPD-1 и SPD-L1 были значимо выше в плазме крови женщин, чем у мужчин. У больных раком желудка различий в уровнях исследованных маркеров с учетом пола не выявлено (табл. 2).

Не получено данных, указывающих на связь sPD-1 с возрастом обследованных обеих групп, однако можно отметить слабую обратную зависимость между возрастом и концентрациями sPD-L1 в плазме крови у здоровых доноров ( $R=0,59$ ;  $p=0,027$ ).

В целом, можно отметить, что пол и возраст не оказывали существенного влияния на концентрацию sPD-1 и SPD-L1 в плазме крови больных раком желудка.

Таблица 1

Концентрация sPD-1 и SPD-L1 в плазме крови больных раком желудка и здоровых доноров

Показатель	Рак желудка			Контрольная группа		
	Медиана	Диапазон	Квартили	Медиана	Диапазон	Квартили
sPD-1, пг/мл	11,8*	0,89-66,8	7,61-19,7	29,3*	3,48-66,4	15,1-45,3
sPD-L1 пг/мл	24,6	0-145,8	10,1-71,9	36,2	1,49-149,5	9,92-73,0

Примечание. \* –  $p < 0,00000$  (тест Манн -Уитни) по сравнению с контролем.

Таблица 2

Концентрации sPD-1 и SPD-L1 в плазме крови больных раком желудка и в группе контроля в зависимости от пола

Группы	Пол	n	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл
			Медианы; квартили	Медианы; квартили
Контроль	Муж.	14	13,9; 8,5-19,3	9,2; 4,3-35,7
	Жен.	46	35,5; 22,7-49,4	47,4; 15,9-82,8
<i>p</i> (тест Манна -Уитни)			0,0006	0,0012
Рак желудка	Муж.	57	11,3; 6,6-18,3	24,9; 10,1-77,3
	Жен.	43	13,1; 9,0-21,5	13,6; 6,5-51,0
<i>p</i> (тест Манна -Уитни)			>0,05	0,11

Таблица 3

Содержание (пг/мл) sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных раком желудка в зависимости от стадии заболевания

Стадия	n	PD-1	PD-L1
IA	16	13,1	10,1 <sup>3,4,5</sup>
		9,47-25,0	3,47-17,5
IB	6	23,7 <sup>1</sup>	10,0 <sup>2,6</sup>
		14,4-29,7	5,32-13,6
IIA	8	9,72	26,7
		3,03-17,5	9,65-50,2
IIIB	8	10,4	21,6
		7,87-15,5	8,73-70,8
IIIA	10	10,6	43,6
		9,16-12,5	3,44-80,6
IIIB	12	6,44 <sup>1</sup>	54,3 <sup>3,6</sup>
		5,58-12,9	23,2-110
IIIC	11	11,6	71,6 <sup>2,4</sup>
		5,91-23,5	16,5-133
IV	29	13,6	24,6 <sup>5</sup>
		9,03-18,3	10,9-51,3

Примечание. <sup>1</sup> -  $p < 0,001$  при сравнении больных IB и IIIB стадиями; <sup>2</sup> -  $p < 0,005$  при сравнении больных IB и IIIC стадиями; <sup>3</sup> -  $p < 0,005$  при сравнении больных IA и IIIB стадиями; <sup>4</sup> -  $p < 0,005$  при сравнении больных IA и IIIC стадиями; <sup>5</sup> -  $p < 0,005$  при сравнении больных IA и IV стадиями; <sup>6</sup> -  $p < 0,005$  при сравнении больных IB и IIIB стадиями (тест Манна - Уитни).

При анализе взаимосвязи уровня исследуемых маркеров в плазме крови со стадией рака желудка (табл. 3) обнаружено статистически значимое увеличение уровня sPD-L1 в плазме крови от I до IIIC стадии ( $R=0,50$ ;  $p=0,000011$ ).

При попарном сравнении отдельных групп значимое (по тесту Манна - Уитни) увеличение концентрации sPD-L1 по сравнению с IA стадией отмечено не только при IIIB и IIIC, но и при IV стадии, хотя показатели при IV стадии были явно, но не статистически значимо ниже, чем при IIIA-C стадиях (медианы соответственно 24,6 против 43,6; 54,3 и 71,6 пг/мл; см. табл. 3).

Уровень sPD-1 в плазме крови практически не зависел от стадии рака желудка и даже был статистически значимо ниже при IIIB, чем при IB стадии (медианы 6,44 и 23,7 пг/мл соответственно;  $p < 0,001$ ; см. табл. 3).

При анализе взаимосвязи уровней исследованных маркеров с показателями распространенности рака желудка по системе TNM (табл. 4) статистически значимых различий между отдельными подгруппами не выявлено, за исключением увеличения концентрации sPD-L1 у больных с N<sub>3a</sub> (поражение более 7 регионарных лимфатических узлов) по сравнению с пациентами без метастазов в лимфоузлах (N<sub>0</sub>): медианы 88,4 и 14,4 пг/мл соответственно ( $p < 0,001$ ). В то же время выявлена статистически значимая положительная корреляционная взаимосвязь уровня sPD-L1 в плазме крови с индексами T (глубина инвазии опухоли в стенку желудка и выход за ее границы) и N (количество лимфоузлов, пораженных метастазами):  $R=0,33$ ;  $p=0,00093$  и  $R=0,27$ ;  $p=0,0099$  соответственно.

Уровень sPD-L1 также был в 1,55 раза выше по медиане у больных с отдаленными метастазами, чем у пациентов без метастазов (32,9 и 21,2 пг/мл соответственно), но это различие не достигало уровня статистической значимости ( $p=0,52$ ).

Уровень sPD-1 не зависел ни от одного из показателей распространенности рака желудка по системе TNM.

Таблица 4

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных раком желудка с учетом показателей распространенности опухоли по системе TNM

Показатель распространенности	n	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл
<b>Глубина инвазии опухоли (T)</b>			
T <sub>1</sub>	18	15,4	10,1
		10,6-25,7	4,32-14,4
T <sub>2</sub>	4	17,5	10,5
		11,7-25,1	6,42-22,3
T <sub>3</sub>	20	12,1	26,7
		4,98-20,9	9,65-72,9
T <sub>4a</sub>	49	10,7	36,6
		7,61-14,9	145,8-88,4
T <sub>4b</sub>	9	14,1	32,5
		9,67-23,8	10,9-71,9
<b>Метастазы в лимфатических узлах (N)</b>			
N <sub>0</sub>	45	11,8	14,4*
		6,44-19,7	8,36-46,5
N <sub>1</sub>	17	11,3	32,9
		7,74-14,9	6,69-57,4
N <sub>2</sub>	22	10,4	32,2
		6,57-18,3	16,2-78,3
N <sub>3a</sub>	11	14,9	88,4*
		7,74-23,5	32,5-133
N <sub>3b</sub>	1	13,1	10,9
		13,1-13,1	10,9-10,9
<b>Отдаленные метастазы (M)</b>			
M <sub>0</sub>	76	11,7	21,2
		6,57-20,5	9,36-74,3
M+	24	11,4	32,9
		8,52-16,7	14,6-66,5

Примечание. \* -  $p=0,0047$  (тест Манна - Уитни).

Таким образом, можно заключить, что уровень растворимого лиганда sPD-L1 в плазме крови больных раком желудка возрастает по мере увеличения распространенности процесса, относительно снижаясь при IV стадии заболевания, тогда как уровень растворимого рецептора sPD-1 с распространенностью рака желудка не связан и достоверно снижен у больных раком желудка по сравнению с группой здорового контроля.

Не обнаружено различий в концентрации sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных раком желудка в зависимости от анатомической локализации опухоли в пораженном органе, однако наименьшая медиана sPD-L1 выявлена при поражении дистального отдела (14,9 пг/мл), а наибольшая – при тотальном поражении желудка (31,6 пг/мл).

При сопоставлении содержания sPD-1 и sPD-L1 в плазме крови больных с гистологическим строением опухоли и степенью ее дифференцировки (табл. 5) выявлено статистически значимое увеличение уровня sPD-L1 при низкодифференцированной аденокарциноме и перстневидноклеточном раке по сравнению с высокодифференцированным вариантом аденокарциномы ( $p=0,02$  и  $p=0,004$  соответственно). При перстневидноклеточном раке желудка уровень маркера был также значимо выше, чем при умереннодифференцированной аденокарциноме ( $p=0,043$ ) и при недифференцированном варианте опухоли ( $p=0,049$ ).

Содержание (пг/мл) sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных раком желудка в зависимости от гистологического типа опухоли

Гистологический вариант рака желудка и степень его дифференцировки	n	sPD-1, пг/мл	sPD-L1, пг/мл
Высокодифференцированная аденокарцинома	9	14,0 9,03-20,5	10,1 <sup>1,2</sup> 2,62-13,6
Умереннодифференцированная аденокарцинома	17	11,8 8,39-23,5	10,1 <sup>4</sup> 4,77-75,3
Низкодифференцированная аденокарцинома	50	11,3 7,61-19,7	24,7 <sup>2</sup> 11,5-71,6
Перстневидноклеточный рак	21	10,2 5,51-16,3	51,0 <sup>1,3,4</sup> 32,9-75,6
Недифференцированный рак	2	16,1 12,1-20,1	6,08 <sup>3</sup> 1,17-11,0

Примечание. <sup>1</sup> – p=0,004; <sup>2</sup> – p=0,02; <sup>3</sup> – p=0,049; <sup>4</sup> – p=0,043 (тест Манна-Уитни).

В целом, следует отметить, что наиболее высокие уровни sPD-L1 выявлены у пациентов с перстневидноклеточным (медиана 51,0 пг/мл), а наиболее низкие – у 2-х пациентов с недифференцированным (медиана 6,08 пг/мл) раком желудка. Содержание sPD-1 в плазме крови больных раком желудка не было связано с гистологическим строением и степенью дифференцировки опухоли.

**Заключение.** На основании проведенного сравнительного иммуноферментного исследования содержания растворимых форм компонентов сигнального пути одной из ключевых контрольных точек иммунитета PD-1/PD-L1 в плазме крови больных раком желудка и здоровых доноров можно сделать вывод о том, что уровень растворимого лиганда sPD-L1 в общей группе пациентов достоверно не отличается от контроля, но статистически значимо возрастает по мере увеличения распространенности процесса, а также при уменьшении степени дифференцировки аденокарциномы желудка и при перстневидноклеточном раке, имеющем высоко агрессивное течение. Таким образом, повышение уровня данного маркера характерно для пациентов с прогностически неблагоприятными клиническими и морфологическими показателями, что соответствует результатам нескольких исследований, продемонстрировавших снижение общей выживаемости больных раком желудка при высоких уровнях sPD-L1, циркулирующего в периферической крови [14, 21]. В пилотном исследовании K.Ando и соавт. [22] показано также, что уровень sPD-L1 в плазме крови может служить показателем эффективности анти-PD-1 терапии.

В то же время, уровень растворимого рецептора sPD-1 в плазме крови больных раком желудка был статистически значимо ниже, чем в контроле и не зависел ни от показателей распространенности процесса, ни от гистологического строения и степени дифференцировки опухоли. Следует отметить, что данных о роли sPD-1 при раке желудка до настоящего времени не опубликовано. Ранее мы показали, что и при некоторых других типах опухолей (рак почки [15], рак яичников [14]) только растворимый лиганд сигнального пути PD-1/PD-L1 связан с клинико-морфологическими особенностями заболевания.

В целом, можно констатировать, что растворимый лиганд sPD-L1, но не его рецептор sPD-1, является потенциально значимым фактором, связанным с основными клиническими и морфологическими характеристиками рака желудка, а стало быть и прогнозом клинического течения заболевания. Актуален также вопрос о

показателе sPD-L1 в оценке эффективности анти-PD-1/PD-L1 терапии, однако это требует дальнейшего изучения и наблюдения за пациентами.

**Финансирование.** Исследование поддержано РФФИ, грант 18-03-00793.

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

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1,2, 5-14, 17-22  
см. REFERENCES)

- Кушлинский Н.Е., Фридман М.В., Морозов А.А., Герштейн Е.С., Кадагидзе З.Г., Матвеев В.Б. Современные подходы к иммунотерапии рака почки. *Онкоурология*. 2018; 14(2):54-67.
- Кадагидзе З.Г., Чертова А.И., Заботина Т.Н., Хуламханова М.М., Кушлинский Н.Е. CTLA-4, PD-1/PD-L1 негативные регуляторы Т-клеточного иммунитета в терапии рака яичников. *Онкогинекология*. 2019; 2(30):4-15.
- Герштейн Е.С., Уткин О.Д., Горячева И.О., Хуламханова М.М., Петрикова Н.А., Виноградов И.И., Алферов А.А., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е. Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганда PD-L1 в плазме крови больных новообразованиями яичников. *Альманах клинической медицины*. 2018; 46(7):690-8.
- Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Горячева И.О., Морозов А.А., Алферов А.А., Бежанова С.Д., Казанцева И.А., Базаев В.В., Матвеев В.Б. Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганда PD-L1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком: клинико-морфологические корреляции. *Онкоурология*. 2019; 15(1):15-22.

REFERENCES

- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I., Siegel R.L., Torre L.A., Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2018; 68:394-424.
- Poorolajal J., Moradi L., Mohammadi Y., Cheraghi Z., Gohari-Ensaf F. Risk factors for stomach cancer: a systematic review and meta-analysis. *Epidemiol. Health*. 2020; 42:e2020004. doi:10.4178/epih.e2020004.
- Kushlinskii N.E., Fridman M.V., Morozov A.A., Gershtein E.S., Kadagidze Z.G., Matveev V.B. Modern approaches to the immunotherapy of kidney cancer. *Onkourologiya*. 2018; 14(2):54-67. (in Russian)
- Kadagidze Z.G., Chertkova A.I., Zabolina T.N., Khulamkhanova M.M., Kushlinskii N.E. CTLA-4, PD-1/PD-L1 negative regulators of T-cell immunity in the treatment of ovarian cancer. *Onkoginecologiya*. 2019; 2(30):4-15. (in Russian)
- Yun S., Vincelette N.D., Green M.R., Wahner Hendrickson A.E., Abraham I. Targeting immune checkpoints in unresectable metastatic cutaneous melanoma: a systematic review and meta-analysis of anti-CTLA-4 and anti-PD-1 agents trials. *Cancer Med.* 2016; 5(7):1481-91.

6. Massari F., Santoni M., Ciccarese C., Santini D., Alfieri S., Martignoni G., Brunelli M., Piva F., Berardi R., Montironi R., Porta C., Cascinu S., Tortora G. PD-1 blockade therapy in renal cell carcinoma: current studies and future promises. *Cancer Treat. Rev.* 2015; 41(2):114-21.
7. Sacher A.G., Gandhi L. Biomarkers for the Clinical Use of PD-1/PD-L1 Inhibitors in Non-Small-Cell Lung Cancer: A Review. *JAMA Oncol.* 2016; 2(9):1217-22.
8. Inayama Y., Hamanishi J., Matsumura N., Murakami R., Abiko K., Yamaguchi K., Baba T., Horie K., Konishi I., Mandai M. Antitumor Effect of Nivolumab on Subsequent Chemotherapy for Platinum-Resistant Ovarian Cancer. *Oncologist.* 2018; 23(11):1382-4.
9. Yuasa T., Masuda H., Yamamoto S., Numao N., Yonese J. Biomarkers to predict prognosis and response to checkpoint inhibitors. *Int J Clin Oncol.* 2017; 22(4):629-34.
10. Zhang Y., Kang S., Shen J., He J., Jiang L., Wang W., Guo Z., Peng G., Chen G., He J., Liang W. Prognostic significance of programmed cell death 1 (PD-1) or PD-1 ligand 1 (PD-L1) Expression in epithelial-originated cancer: a meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2015; 94(6):e515.
11. Kim K.S., Sekar R.R., Patil D., Dimarco M.A., Kissick H.T., Bilen M.A., Osunkoya A.O., Master V.A. Evaluation of programmed cell death protein 1 (PD-1) expression as a prognostic biomarker in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncoimmunology.* 2018; 7(4):e1413519.
12. Huang X., Zhang W., Zhang Z., Shi D., Wu F., Zhong B., Shao Z. Prognostic Value of Programmed Cell Death 1 Ligand-1 (PD-L1) or PD-1 Expression in Patients with Osteosarcoma: A Meta-Analysis. *J Cancer.* 2018; 9(14):2525-31.
13. Choi Y.Y., Kim H., Shin S.J., Kim H.Y., Lee J., Yang H.K., Kim W.H., Kim Y.W., Kook M.C., Park Y.K., Kim H.H., Lee H.S., Lee K.H., Gu M.J., Choi S.H., Hong S., Kim J.W., Hyung W.J., Noh S.H., Cheong J.H. Microsatellite Instability and Programmed Cell Death-Ligand 1 Expression in Stage II/III Gastric Cancer: Post Hoc Analysis of the CLASSIC Randomized Controlled study. *Ann. Surg.* 2019; 270(2):309-16.
14. Shigemori T., Toiyama Y., Okugawa Y., Yamamoto A., Yin C., Narumi A., Ichikawa T., Ide S., Shimura T., Fujikawa H., Yasuda H., Hiro J., Yoshiyama S., Ohi M., Araki T., Kusunoki M. Soluble PD-L1 Expression in Circulation as a Predictive Marker for Recurrence and Prognosis in Gastric Cancer: Direct Comparison of the Clinical Burden Between Tissue and Serum PD-L1 Expression. *Ann. Surg. Oncol.* 2019; 26(3):876-83.
15. Gershtein E.S., Utkin O.D., Goryacheva I.O., Khulamkhanova M.M., Petrikova N.A., Vinogradov I.I., Alferov A.A., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. Soluble forms of the PD-1 immunity reference point receptor and its PD-L1 ligand in the blood plasma of patients with ovarian neoplasms. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny.* 2018; 46(7):690-8. (in Russian)
16. Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Goryacheva I.O., Morozov A.A., Alferov A.A., Bezhanova S.D., Kazantseva I.A., Bazaev V.V., Matveev V.B. Soluble forms of the PD-1 immunity control point receptor and its PD-L1 ligand in the blood serum of patients with renal cell carcinoma: clinical and morphological correlations. *Onkourologiya.* 2019 15(1):15-22. (in Russian)
17. Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Morozov A.A., Goryacheva I.O., Filipenko M.L., Alferov A.A., Bezhanova S.D., Bazaev V.V., Kazantseva I.A. Soluble Ligand of the Immune Checkpoint Receptor (sPD-L1) in Blood Serum of Patients with Renal Cell Carcinoma. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2019; 166(3):353-7.
18. Zhu X., Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(57):97671-82.
19. Ding Y., Sun C., Li J., Hu L., Li M., Liu J., Pu L., Xiong S. The Prognostic Significance of Soluble Programmed Death Ligand 1 Expression in Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis. *Scand. J. Immunol.* 2017; 86(5):361-7.
20. Wei W., Xu B., Wang Y., Wu C., Jiang J., Wu C. Prognostic significance of circulating soluble programmed death ligand-1 in patients with solid tumors: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2018; 97(3):e9617.
21. Takahashi N., Iwasa S., Sasaki Y., Shoji H., Honma Y., Takashima A., Okita N.T., Kato K., Hamaguchi T., Yamada Y. Serum levels of soluble programmed cell death ligand 1 as a prognostic factor on the first-line treatment of metastatic or recurrent gastric cancer. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2016; 142(8):1727-38.
22. Ando K., Hamada K., Watanabe M., Ohkuma R., Shida M., Onoue R., Kubota Y., Matsui H., Ishiguro T., Hirasawa Y., Ariizumi H., Tsurutani J., Yoshimura K., Tsunoda T., Kobayashi S., Wada S. Plasma Levels of Soluble PD-L1 Correlate With Tumor Regression in Patients With Lung and Gastric Cancer Treated With Immune Checkpoint Inhibitors. *Anticancer Res.* 2019; 39(9):5195-201.

Поступила 06.04.20

Принята к печати 10.04.20