

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Воротников И.К., Соколов Н.Ю., Ермилова В.Д., Мочалова А.С., Кушлинский Н.Е.

РАСТВОРИМЫЕ ФОРМЫ РЕЦЕПТОРА И ЛИГАНДА КОНТРОЛЬНОЙ ТОЧКИ ИММУНИТЕТА PD-1/PD-L В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: ВЗАИМОСВЯЗЬ С КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ОСОБЕННОСТЯМИ И МОЛЕКУЛЯРНЫМ ТИПОМ ОПУХОЛИ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115552, Москва, Россия

Представлены результаты иммуноферментного исследования растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L (sPD-1 и sPD-L1) в сыворотке крови 88 больных раком молочной железы (РМЖ) в различных стадиях заболевания в возрасте от 30 до 83 лет. В группу контроля вошли 55 практически здоровых женщин в возрасте от 19 до 82 лет. Уровни sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ высоко значимо ($p < 0,0001$) отличаются от нормы, причем эти изменения разнонаправлены: уровень растворимого рецептора более чем в 6 раз снижен, а уровень растворимого лиганда в 5,5 раза повышен. Каждый из маркеров индивидуально, а также их соотношение обладают очень высокой чувствительностью (94-100%) и специфичностью (95-100%) относительно здорового контроля. Статистически значимых различий уровней sPD-1 и sPD-L1 в зависимости от стадии заболевания в целом, отдельных критериев системы TNM, гистологического строения, степени злокачественности, рецепторного статуса и молекулярного типа опухоли, не обнаружено. Не выявлено, в частности, значимых особенностей уровней данных маркеров при тройном негативном РМЖ, при котором довольно успешно применяются анти-PD-1/PD-L1 препараты. Для оценки независимой от клинико-морфологических факторов прогностической значимости растворимых форм PD-1 и PD-L1 и возможности их использования в качестве малоинвазивных тестов для предсказания чувствительности и мониторинга эффективности соответствующей терапии необходимо длительное наблюдение за больными и исследование уровня маркеров в динамике на фоне лечения.

Ключевые слова: рак молочной железы; sPD-1; sPD-L1; молекулярный тип; сыворотка крови.

Для цитирования: Герштейн Е.С., Короткова Е.А., Воротников И.К., Соколов Н.Ю., Ермилова В.Д., Мочалова А.С., Кушлинский Н.Е. Растворимые формы рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L в сыворотке крови больных раком молочной железы: взаимосвязь с клинико-морфологическими особенностями и молекулярным типом опухоли. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (2): 76-80. DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-2-76-80>

Для корреспонденции: Герштейн Елена Сергеевна, д-р биол. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клин. биохимии; e-mail: esgershtein@gmail.com

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 04.11.2021

Принята к печати 04.12.2021

Опубликовано 23.02.2022

Gershtein E.S., Korotkova E.A., Vorotnikov I.K., Sokolov N.Yu., Ermilova V.D., Mochalova A.S., Kushlinskii N.E.

SOLUBLE FORMS OF PD-1/PD-L IMMUNE CHECKPOINT RECEPTOR AND LIGAND IN BLOOD SERUM OF BREAST CANCER PATIENTS: ASSOCIATION WITH CLINICAL PATHOLOGIC FACTORS AND MOLECULAR TYPE OF THE TUMOR

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of the Russian Federation, 115552, Moscow, Russia

Results of enzyme-linked immunosorbent assay of the soluble forms of PD-1/PD-L immune checkpoint receptor and ligand (sPD-1 and sPD-L1) in pretreatment blood serum of 88 breast cancer patients at various disease stages aged 30–83 years are presented. The control group included 55 practically healthy women aged 19–82 years. Serum sPD-1 and sPD-L1 levels in breast cancer patients highly significantly ($p < 0.0001$) differ from control and these changes are opposite: soluble receptor level is more than 6-fold decreased, while soluble ligand concentration – 5.5 fold increased. Both markers separately, as well as their ratio demonstrate very high sensitivity (94-100%) and specificity (95-100%) in relation to healthy control. No statistically significant associations of sPD-1 and sPD-L1 levels with clinical stage, individual TNM system criteria, tumor histological structure, grade, receptor status, and molecular type were established. In particular, no significant peculiarities of the markers' levels in triple negative breast cancer successfully treated with anti-PD-1/PD-L1 preparations were revealed. Long-term follow-up and dynamic studies of sPD-1 and sPD-L1 serum levels in the course of treatment are required for evaluation of their independent from clinical and morphological factors prognostic significance and the possibility of application as low invasive tests for prediction and monitoring of corresponding targeted therapy efficiency.

Key words: breast cancer; sPD-1; sPD-L1; tumor molecular type; blood serum.

For citation: Gershtein E.S., Korotkova E.A., Vorotnikov I.K., Sokolov N.Yu., Ermilova V.D., Mochalova A.S., Kushlinskii N.E. Soluble forms of PD-1/PD-L immune checkpoint receptor and ligand in blood serum of breast cancer patients: association with clinical pathologic factors and molecular type of the tumor. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (2): 76-80 (in Russ.). DOI: <https://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-2-76-80>

For correspondence: *Gershtein Elena Sergeevna*, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Clinical Biochemistry; e-mail: esgershtein@gmail.com

Information about authors:

Gershtein E.S., <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>;
Korotkova E.A., <https://orcid.org/0000-0002-2509-5232>;
Vorotnikov I.K., <https://orcid.org/0000-0001-6699-0738>;
Sokolov N.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-0706-9575>;
Ermilova V.D., <https://orcid.org/0000-0003-1601-7782>;
Mochalova A.S., <https://orcid.org/0000-0002-7681-5383>;
Kushlinskii N.E., <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>.

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

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 04.11.2021

Accepted 04.12.2021

Published 23.02.2022

Введение. Рак молочной железы (РМЖ) занимает первое место по заболеваемости среди злокачественных опухолей у женщин. Улучшение ранней диагностики и совершенствование методов терапии РМЖ, в том числе создание и успешное применение специфических молекулярно-направленных («таргетных») препаратов, подавляющих активность ключевых сигнальных путей, стимулирующих пролиферацию опухолевых клеток, существенно повысили эффективность лечения этого тяжелого и социально значимого заболевания. Однако проведение как неоадьювантной, так и адьювантной системной и местной терапии не безразлично для больной, и показания к ее применению должны быть четко определены.

Стандартными факторами, позволяющими прогнозировать клиническое течение РМЖ, до сих пор остаются такие параметры, как размер опухоли, поражение периферических лимфатических коллекторов, гистологическая форма, степень злокачественности. Важными этапами на пути к персонализированному лечению РМЖ стало внедрение в клиническую практику исследования статуса рецепторов стероидных гормонов (эстрогенов – РЭ и прогестерона – РП) для определения показаний к назначению эндокринной терапии и обязательная оценка экспрессии мембранного рецептора HER2/neu или амплификации его гена при решении вопроса о применении герцептина, вошедшая в практику вместе с внедрением этого первого таргетного препарата. В настоящее время используется комплексный подход, в котором все эти три маркера, наряду с маркером пролиферации Ki-67, служат основой современной молекулярной классификации РМЖ, позволяющей разделить его на подтипы, определяющие характер и интенсивность проводимого лечения [1].

В последние годы в дополнение к хорошо известным методам лекарственной, эндокринной и лучевой терапии в практику лечения больших РМЖ активно внедряются иммунотерапевтические подходы, направленные на подавление так называемых «контрольных точек иммунитета», которые в физиологических условиях контролируют выраженность и длительность аутоиммунного ответа, предотвращая повреждение собственных тканей, а при развитии онкологических заболеваний способствуют ускользанию опухоли от иммунной реакции организма.

Одной из ключевых «контрольных точек иммунитета» является белок программируемой клеточной гибели PD-1 (programmed cell death protein 1) и его лиганды –

PD-L1 и PD-L2. PD-1 представляет собой мембранный рецептор I типа, принадлежащий к семейству CD28/CTLA-4 регуляторов Т-клеток и экспрессирующийся на их поверхности. Наиболее значимый лиганд – PD-L1, известный также как кластер дифференцировки 274 (CD274) или гомолог B7 1-го типа (B7-H1), в норме экспрессируется на антигенпрезентирующих дендритных и макрофагоподобных клетках периферических органов, на клетках плаценты, островков поджелудочной железы и сетчатки. В определенных условиях экспрессия PD-L1 может наблюдаться и на Т- и В-лимфоцитах, естественных киллерах, макрофагах, мезенхимальных стволовых и эпителиальных клетках, а также на клетках опухолей.

Активация PD-1/PD-L1 пути стимулирует апоптоз антигенспецифичных Т-клеток в лимфоузлах и одновременно подавляет апоптоз регуляторных супрессорных Т-клеток, что и позволяет опухоли 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, активно используются в терапии многих онкологических заболеваний [2]. В последние годы предпринимаются и достаточно серьезные попытки применения этого вида иммунотерапии при РМЖ, в первую очередь, при наиболее агрессивном и плохо поддающимся стандартному лечению тройном негативном (РЭ-РП-HER2-) раке [3, 4]. Комбинации ингибиторов PD-1/PD-L1 с ингибиторами полиАДФ-рибозополимеразы (ПАРП), митоген-активируемой протеинкиназы и CTLA-4 используются в лечении РМЖ, обладающего множественной лекарственной устойчивостью [5].

Также как и при других видах молекулярно-направленной терапии, для успешного применения анти-PD-1/PD-L1 препаратов необходимы четкие критерии отбора потенциально чувствительных пациентов. Наиболее очевидным подходом является оценка экспрессии PD-1 и PD-L1 на опухолевых клетках и инфильтрирующих опухоль лимфоцитах иммуногистохимическими (ИГХ) методами или с помощью проточной цитофлуориметрии. Экспрессию PD-1 и PD-L1 рассматривают и в качестве молекулярных маркеров общего прогноза онкологических заболеваний и выживаемости пациентов. Уже продемонстрировано неблагоприятное влияние высокой активности PD-1/PD-L1 пути, в первую очередь, повышенной экспрессии PD-L1 на клиническое течение całego ряда опухолей [6], в том числе РМЖ [7-10].

В то же время, по данным ряда крупных рандомизированных исследований, связь результатов ИГХ опреде-

ления экспрессии PD-1 и PD-L1 с эффективностью соответствующей иммунотерапии оказалась неоднозначной [11]. Скорее всего, наличие этих противоречий связано с трудностями стандартизации ИГХ метода, результаты которого зависят от техники подготовки образцов, применяемых антител, различающихся по специфичности и сроку к различным эпитопам исследуемых белков, а также от критериев, используемых при интерпретации полученных данных. Одной из важнейших проблем ИГХ тестирования PD-1 и PD-L1 является то, что эти молекулы экспрессируются не только на клетках самой опухоли, но и на инфильтрирующих ее клетках иммунной системы, причем на данном этапе исследований неизвестно, какой тип экспрессии более значим для предсказания ответа на иммунотерапию. Другой проблемой является наличие не связанных с мембраной форм данных белков, которые могут давать ложноположительные результаты; при этом их роль в патогенезе опухолей тоже не очень ясна.

В решении хотя бы части проблем, связанных с ИГХ тестированием, может помочь исследование растворимых форм PD-1 (sPD-1) и его лиганда (sPD-L1), обнаруженных относительно недавно в периферической крови, в том числе, и онкологических больных [12]. Происхождение растворимых форм точно не установлено, однако, как и у других мембранных белков, они могут образовываться либо в результате гидролитического отщепления внеклеточного домена мембраносвязанной молекулы, либо на более раннем этапе – при альтернативном сплайсинге мРНК этой нативной мембранной формы. 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 Т-лимфоцитов. sPD-L1 также способен снизить активность PD-1/PD-L1(2) пути, блокируя рецептор, но он может также стимулировать апоптоз Т-лимфоцитов, аналогично мембранному белку, т.е. подавлять противоопухолевый иммунитет.

Большинство публикаций о роли sPD-1 и sPD-L1 при разных онкологических заболеваниях, вышедших в последние несколько лет, суммированы в фундаментальном обзоре [12], а также в мета-аналитических работах [13, 14], однако это направление активно развивается, и еще несколько исследований опубликовано уже после выхода этих обобщающих статей [15, 16].

Цель исследования – сравнительная оценка содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ и практически здоровых женщин, анализ взаимосвязи уровня этих маркеров с основными клинико-морфологическими особенностями и молекулярными типами РМЖ.

Материал и методы. В исследование вошли 88 больных РМЖ в возрасте от 30 до 83 лет (медиана – 53 года), проходивших обследование и лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России в период с января 2019 г. по март 2020 г. Группа контроля включала 55 практически здоровых женщин в возрасте от 19 до 82 лет (медиана – 48 лет). Исследование проведено согласно требованиям комиссии по этике ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Определение стадий заболевания и гистологическая классификация РМЖ проведены в соответствии с рекомендациями ВОЗ: ПА стадия выявлена у 12, ПВ – у 16 больных; 11 пациенток имели IIIA, 27 – IIIB и 19

– IIIC стадию заболевания; у 6 пациенток диагностирован первично-множественный рак обеих молочных желез. У 67 (76%) пациенток опухоль охарактеризована как инфильтративный рак неспецифического типа, у 13 выявлена протоковая и у 8 дольковая аденокарцинома. Молекулярную классификацию РМЖ проводили на основании данных ИГХ исследований. Люминальный А тип (PЭ+ПП+ HER2- Ki-67<20%) выявлен у 2 пациенток; люминальный В (PЭ+ПП+/-; HER2- Ki-67>30% или HER2+ Ki-67 любой) – у 46; HER2-положительный (PЭ-ПП- HER2+) – у 8, тройной негативный (базальный; PЭ-ПП- HER2-) – у 28 пациенток.

Концентрацию sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, определяли 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 сыворотки крови.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы «Statistica 7.0». При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, тест корреляции рангов Спирмена. Различия и корреляции считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В таблицах представлены показатели медианы (Me), верхнего и нижнего квартилей (Q1; Q3).

Результаты и обсуждение. Уровень sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ статистически значимо выше, а уровень sPD-1 – ниже, чем в группе контроля: медианы различались соответственно в 5,4 и в 6,3 раза (табл. 1; в обоих случаях $p < 0,0001$). Уровни маркеров в сыворотке крови больных односторонним и первично-множественным РМЖ практически не различались.

У всех больных РМЖ уровень sPD-1 не превышает 20,2 пг/мл, в группе контроля столь низкий уровень маркера встречается только в одном случае, т.е. чувствительность и специфичность теста составляют соответственно 100 и 98%. Для sPD-L1 наилучшее соотношение чувствительности и специфичности – 94 и 95% соответственно достигается при пороговом уровне 15 пг/мл. Соотношение концентраций sPD-L1/sPD-1 у больных РМЖ выше 2,1, в контрольной группе оно не превышает 1,23. При пороговом уровне 1,25 этот тест обладает 99% чувствительностью и 100% специфичностью. Интересно отметить, что при других злокачественных опухолях (рак почки, яичников, желудка, саркомы костей) мы не наблюдали столь выраженных разнонаправленных изменений концентраций растворимых форм PD-1 и PD-L1, циркулирующих в периферической крови [15,16].

В общей группе, включавшей и больных РМЖ, и практически здоровых женщин, выявлены слабые, но статистически значимые корреляции уровней маркеров с возрастом – положительная для sPD-L1 ($r_s = 0,26$; $p < 0,001$) и отрицательная для sPD-1 ($r_s = -0,19$; $p < 0,05$). Такая же тенденция отмечена и в группе больных РМЖ, но она не достигает уровня статистической значимости. Значимых различий в уровнях изучаемых маркеров в сыворотке крови больных РМЖ с сохраненной менструальной функцией и пациенток, находящихся в менопаузе, не выявлено.

Таблица 1

Концентрация sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ и здоровых доноров

Показатель	Больные РМЖ (n=88)		Группа контроля (n=55)	
	Min-max	Me, Q1-Q3	Min-max	Me, Q1-Q3
sPD-1, пг/мл	1,16-20,2	7,46* 6,05-9,13	11,4-138	47,1* 34,7-59,9
sPD-L1, пг/мл	1,57-526	48,7* 37,8-72,5	0-41,8	8,91* 5,61-19,3

Примечание. * - $p_{1,2} < 0,0001$.

Таблица 2

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от показателей распространенности опухоли

Показатель распространенности	n	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Me	Q1-Q3	Me	Q-Q3
Стадия					
IIA	12	7,16	5,02-9,98	46,9	39,7-65,2
IIB	15	7,26	6,17-8,40	49,9	36,6-72,5
IIIA	11	8,8	5,23-11,9	51,0	44,5-113
IIIB	27	6,91	5,61-8,95	45,8	26,7-80,9
IIIC	19	7,65	6,54-10,1	48,7	39,6-61,9
Размер первичной опухоли (T)					
T ₁	5	8,77	8,42-11,7	41,4	27,0-48,1
T ₂	31	6,73	5,23-8,40	47,4	38,9-67,3
T ₃	9	8,77	6,17-10,8	49,9	35,3-61,9
T ₄	40	7,46	6,00-8,86	49,9	37,6-81,4
Метаастазы в регионарных лимфоузлах (N)					
N ₀	21	6,67	5,28-8,40	46,4	38,9-59,8
N ₁	29	7,47	5,84-8,77	50,6	37,4-82,2
N ₂	17	7,46	5,80-9,14	48,1	38,5-55,4
N ₃	18	7,56	6,54-9,04	48,6	39,6-61,2

Примечание. Здесь и в табл. 3 – 5: n – число больных.

Таблица 3

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Степень дифференцировки опухоли	n	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3
G2	59	7,26	5,44-9,04	49,3	37,6-61,9
G3	22	8,03	6,67-9,14	46,1	38,5-74,2

Таблица 4

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ с учетом статуса рецепторов стероидных гормонов и HER2

Рецепторы	n	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3
PЭ+	48	6,89	5,53-8,86	48,2	35,1-55,0
PЭ-	36	8,08	6,40-9,09	49,4	41,0-89,3
РП+	42	7,01	5,61-8,95	46,3*	33,5-54,2
РП-	42	7,85	6,26-9,03	50,9*	41,4-82,2
HER2+	20	8,30	6,70-8,97	53,3	38,1-89,0
HER2-	64	7,21	5,70-8,99	48,0	38,1-61,5

Примечание. * - $p < 0,05$.

При анализе взаимосвязи уровней исследуемых маркеров в сыворотке крови с показателями распространенности РМЖ статистически значимых различий в зависимости от стадии заболевания в целом и отдельных критериев системы TNM не обнаружено (табл. 2).

По гистологическому строению опухоли в 76% случаев представляли собой инфильтративный рак неспецифического типа, у 13 пациенток выявлена протоковая и у 8 дольковая аденокарцинома. Значимых различий сывороточного содержания sPD-L1 и sPD-1 в зависимости от гистологического типа, а также от степени злокачественности опухоли также не наблюдали. Нужно отметить при этом, что все опухоли имели либо умеренную (G2), либо высокую (G3) степень злокачественности (табл. 3).

Одной из важнейших характеристик РМЖ, определяющих как общий прогноз заболевания, так и персонализированный подход к выбору стратегии и тактики лекарственного лечения, является рецепторный статус опухоли, включающий в настоящее время рецепторы стероидных гормонов (PЭ и РП) и рецептор эпидермального фактора роста 2 типа (HER2), а также молекулярный тип РМЖ, формирующийся на основе этих показателей и уровня экспрессии маркера пролиферации Ki-67. В обследованной группе больных PЭ-положительными оказались 57%, РП-положительными – 50%, HER2-положительными – 24% опухолей. Низкая экспрессия Ki-67 (< 20%) отмечена только в 2-х случаях; соответственно наиболее благоприятный люминальный А тип РМЖ был только у двух пациенток. Преобладающим был люминальный В тип (46 пациенток: 72% HER2-, 28% HER2+). Наиболее неблагоприятный тройной негативный вариант РМЖ диагностирован у 28 (33%) пациенток.

Выраженных различий в уровнях sPD-L1 и sPD-1 в зависимости от статуса PЭ и HER2 не обнаружено, однако уровень sPD-L1 был статистически значимо выше у пациенток с РП-отрицательными опухолями по сравнению с теми, у кого опухоль была РП-положительной ($p < 0,05$; табл. 4). Можно также отметить тенденцию к повышению уровня обоих маркеров при HER2+ опухолях (см. табл. 4). Не удалось выявить и статистически значимых различий в зависимости от молекулярного типа опухоли, хотя медиана концентрации sPD-L1 в сыворотке крови 8 больных с HER2- опухолями почти вдвое превышает этот показатель при всех других молекулярных вариантах РМЖ (табл. 5).

В большинстве работ, посвященных клиническому значению PD-1/PD-L1 сигнального пути при РМЖ, изучали экспрессию этих молекул на инфильтрирующих опухоль лимфоцитах (TILs). В некоторых исследованиях было показано, что наличие PD-1+ TILs ухудшает прогноз заболевания [8, 10], другие авторы пришли к противоположному заключению [7, 17]. Достаточно противоречивые данные опубликованы и о прогностическом значении экспрессии PD-L1 на опухолевых клетках, ее корреляции с клинико-морфологическими и молекулярно-генетическими факторами, соотношении с экспрессией PD-1 на TILs [9, 18]. Результатов исследования растворимых форм PD-1 и PD-L1 при РМЖ не представлено. Можно, однако, отметить две работы, в которых исследовали уровни мРНК этих маркеров в плазме крови [19, 20]. В одной из них [19] продемонстрировано ухудшение прогноза заболевания при высоких уровнях мРНК PD-1 в плазме крови, в другом [20] – предложена диагностическая панель маркеров, включающая PD-1 и PD-L1, которая позволяет

Таблица 5

Содержание sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови больных РМЖ в зависимости от молекулярного типа опухоли

Молекулярный тип РМЖ	n	sPD-1, пг/мл		sPD-L1, пг/мл	
		Me	Q1-Q3	Me	Q1-Q3
Люминальный А	2	7,60	4,41-10,8	44,5	39,0-49,9
Люминальный В (HER2-отрицательный)	33	6,91	5,44-8,95	48,0	29,9-56,8
Люминальный В (HER2-положительный)	13	6,87	6,54-8,40	48,5	37,8-54,7
HER2-положительный (нелюминальный)	8	8,69	7,85-10,8	89,0	43,9-220
Трижды негативный (РЭ- РП- HER2-)	28	7,56	6,26-8,90	47,8	41,0-82,1

различить рак и доброкачественные заболевания молочных желез. В целом, вопрос о клиническом значении различных подходов к исследованию маркеров контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L при РМЖ остается дискуссионным и требует дальнейшего изучения.

Заключение. Уровни растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L в сыворотке крови больных РМЖ высоко значимо отличаются от нормы, причем эти изменения разнонаправлены: уровень растворимого рецептора более чем в 6 раз снижен, а уровень растворимого лиганда в 5,5 раза повышен. Каждый из маркеров индивидуально, а также их соотношение обладают очень высокой чувствительностью (94-100%) и специфичностью (95-100%) относительно здорового контроля, однако возможность их использования для дифференциации больных РМЖ и пациенток с доброкачественными новообразованиями молочных желез требует дальнейшего изучения.

Уровни sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови не зависят от основных клинических, морфологических и молекулярных характеристик РМЖ. В частности, не выявлено значимых особенностей уровней данных маркеров при тройном негативном РМЖ, при котором довольно успешно применяются анти-PD-1/PD-L1 препараты. Для оценки независимой от клинико-морфологических факторов прогностической значимости растворимых форм PD-1 и PD-L1 и возможности их использования в качестве малоинвазивных тестов для предсказания чувствительности и мониторинга эффективности соответствующей терапии необходимо длительное наблюдение за больными и исследование уровня маркеров в динамике на фоне лечения.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-15, 17-20 см. REFERENCES)

16. Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Чанг В.Л., Короткова Е.А., Алферов А.А., Контрорщиков М.М. и др. Прогностическая значимость растворимых форм рецептора и лиганда контрольной точки иммунитета PD-1/PD-L1 в плазме крови больных раком желудка. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66(3):139-46.

REFERENCES

1. Trop I., LeBlanc S.M., David J., Lalonde L., Tran-Thanh D., Labelle M., El Khoury M.M. Molecular classification of infiltrating breast cancer: toward personalized therapy. *Radiographics : a review pub-*

lication of the Radiological Society of North America, Inc. 2014; 34(5):1178-95.

2. Hamanishi J., Mandai M., Matsumura N., Abiko K., Baba T., Koniishi I. PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues. *Int. J. Clin. Oncol.* 2016; 21(3):462-73.

3. Setordzi P., Chang X., Liu Z., Wu Y., Zuo D. The recent advances of PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for breast cancer immunotherapy. *Eur. J. Pharmacol.* 2021; 895:173867.

4. Noguchi E., Shien T., Iwata H. Current status of PD-1/PD-L1 blockade immunotherapy in breast cancer. *Japan J. Clin. Oncol.* 2021; 51(3):321-32.

5. Liu S., Chen S., Yuan W., Wang H., Chen K., Li D., Li D. PD-1/PD-L1 interaction up-regulates MDR1/P-gp expression in breast cancer cells via PI3K/AKT and MAPK/ERK pathways. *Oncotarget.* 2017; 8(59):99901-12.

6. Zhang Y., Kang S., Shen J., He J., Jiang L., Wang W., Guo Z., Peng G., Chen G., He J. et al. 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.* 2015; 94(6):e515.

7. Matikas A., Zerdes I., Lovrot J., Sifakis E., Richard F., Sotiriou C. et al. -1 protein and gene expression as prognostic factors in early breast cancer. *ESMO open.* 2020; 5(6):e001032.

8. Sun S., Fei X., Mao Y., Wang X., Garfield D.H., Huang O. et al. PD-1(+) immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients. *Cancer Immunol. Immunother. Clin* 2014; 63(4):395-406.

9. Tsang J.Y., Au W.L., Lo K.Y., Ni Y.B., Hlaing T., Hu J. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1+ lymphocytes associated with outcome in HER2+ breast cancer patients. *Breast Cancer Res. Treat.* 2017; 162(1):19-30.

10. Muenst S., Soysal S.D., Gao F., Obermann E.C., Oertli D., Gilanders W.E. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2013; 139(3):667-76.

11. 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.

12. Zhu X., Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget.* 2017; 8(57):97671-82.

13. 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.* 2018; 97(3):e9617.

14. 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. *Scan. J. Immunol.* 2017; 86(5):361-7.

15. 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.

16. Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Chang V.L., Korotkova E.A., Alferov A.A., Kontorshchikov M.M., Sokolov N.Y., Karamysheva E.I., Ognorubov N.A., Stilidi I.S. Prognostic significance of soluble forms of immune checkpoint PD-1/PDL1 receptor and ligand in blood plasma of gastric cancer patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2021; 66(3):139-46. (in Russian)

17. Noske A., Mobus V., Weber K., Schmatloch S., Weichert W., Kohne C.H. et al. Relevance of tumour-infiltrating lymphocytes, PD-1 and PD-L1 in patients with high-risk, nodal-metastasised breast cancer of the German Adjuvant Intergroup Node-positive study. *Eur. J. Cancer.* 2019; 114:76-88.

18. Vidula N., Yau C., Rugo H.S. Programmed cell death 1 (PD-1) receptor and programmed death ligand 1 (PD-L1) gene expression in primary breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2021; 187(2):387-95.

19. Noda M., Masuda T., Ito S., Tobo T., Kitagawa A., Hu Q. et al. Circulating PD-1 mRNA in Peripheral Blood is a Potential Biomarker for Predicting Survival of Breast Cancer Patients. *Ann. Surg. Oncol.* 2020; 27(10):4035-43.

20. Liu C., Sun B., Xu B., Meng X., Li L., Cong Y. et al. A panel containing PD-1, IL-2Ralpha, IL-10, and CA15-3 as a biomarker to discriminate breast cancer from benign breast disease. *Cancer Management Res.* 2018; 10:1749-61.