

Растворимые формы рецептора контрольной точки иммунитета PD-1 и его лиганда PD-L1 в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком: клинико-морфологические корреляции

Н.Е. Кушлинский¹, Е.С. Герштейн¹, И.О. Горячева¹, А.А. Морозов², А.А. Алферов¹, С.Д. Бежанова¹,
И.А. Казанцева², В.В. Базаев², В.Б. Матвеев¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России;
Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24;

²ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»;
Россия, 129110 Москва, ул. Щепкина, 61/2, корп. 1

Контакты: Николай Евгеньевич Кушлинский kne3108@gmail.com

Введение. Рак почки — одно из наиболее иммуночувствительных онкологических заболеваний. Значительный прорыв в этой области произошел в результате создания препаратов, направленных на подавление сигнального пути контрольных точек иммунитета — PD-1/PD-L, контролирующего в физиологических условиях аутоиммунную реакцию. Экспрессию PD-1 и/или PD-L1 в опухоли изучают в качестве как предиктора эффективности соответствующей иммунотерапии, так и молекулярного маркера общего прогноза и выживаемости пациентов. С этой же целью можно использовать определение растворимых форм данных белков (sPD-1 и sPD-L1) в сыворотке крови.

Цель исследования — сравнительная оценка уровней содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови практически здоровых лиц, больных раком почки и пациентов с доброкачественными опухолями почки и анализ их взаимосвязи с основными клинико-морфологическими особенностями рака почки.

Материалы и методы. Обследовали 106 больных раком почки (64 мужчины и 42 женщины; возраст 33–81 год) и 11 пациентов с доброкачественными опухолями почки (3 мужчин и 8 женщин; возраст 29–84 года) почки. В контрольную группу вошли практически здоровые 19 мужчин и 18 женщин соответствующего возраста. У 57 больных диагностирована I, у 12 — II, у 15 — III и у 22 — IV стадии рака почки. Содержание sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови определяли с помощью стандартных наборов для иммуноферментного анализа (Affimetrix, eBioscience, США).

Результаты. Содержание sPD-L1 в сыворотке крови первичных больных раком почки и пациентов с доброкачественными новообразованиями почки достоверно выше, чем у лиц контрольной группы ($p < 0,0001$ и $p < 0,05$). Уровень sPD-L1 достоверно возрастает с увеличением стадии заболевания ($p < 0,001$), индекса Т от 1 до 3, снижаясь при T4, достоверно выше при наличии метастазов в лимфатических узлах (N1 или N2), чем у больных с N0, повышен при наличии отдаленных метастазов, а также при опухолях степени злокачественности G₃₋₄ по сравнению с G₁₋₂. Уровни sPD-1 в обследованных группах достоверно не различались, не зависели от стадии рака почки, наличия метастазов в лимфатических узлах и отдаленных органах, но снижались при T4, по сравнению с показателями пациентов с менее распространенной первичной опухолью, и были достоверно ниже при светлоклеточном гистологическом варианте рака почки, чем при хромофобном и папиллярном.

Заключение. Уровень sPD-L1 при раке почки коррелирует с распространенностью процесса и степенью злокачественности опухоли и может рассматриваться в качестве перспективного маркера для мониторинга эффективности анти-PD1/PD-L1-терапии. Вопрос о клиническом значении sPD-1 требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: белки контрольных точек иммунитета, sPD-L1, sPD-1, почечно-клеточный рак, сыворотка крови

Для цитирования: Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Горячева И.О. и др. 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.

DOI: 10.17650/1726-9776-2019-15-1-15-22

Soluble forms of the immune check-point receptor PD-1 and its ligand PD-L1 in blood serum of patients with renal cell carcinoma: clinical and pathologic correlations

N.E. Kushlinski¹, E.S. Gershtein¹, I.O. Goryatcheva¹, A.A. Morozov², A.A. Alferov¹, S.D. Bezhanova¹,
I.A. Kazantseva², V.V. Bazaev², V.B. Matveev¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia;

²M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute; Build. 1, 61/2 Shchepkina St., Moscow 129110, Russia

Background. Renal cancer is one of the most immunosensitive oncologic diseases. A prominent breakthrough in this field was gained with the development of medications directed to the suppression of PD-1/PD-L1 immune check-point signaling pathway that in normal physiologic conditions controls autoimmune reactions. Tumor PD-1 and/or PD-L1 expression is investigated both as a predictor of corresponding immunotherapy efficiency, and as molecular markers of overall prognosis and patients' survival. This goal could be also attained by the measurement of soluble forms of these proteins (sPD-1 and sPD-L1) in blood serum.

Objective of the study — comparative evaluation of sPD-1 and sPD-L1 content in blood serum of practically healthy persons and patients with renal cancer and benign kidney tumors; analysis of the associations between these markers and clinical and pathologic characteristics of renal cancer.

Materials and methods. 106 renal cancer (64 male and 42 female; age 33–81 years) and 11 patients with benign kidney tumors (3 male and 8 female; age 29–84 years) were included in the study. Control group comprised 19 men and 18 women of matching age. 57 patients had stage I, 12 — II, 15 — III and 22 — stage IV renal cancer. Serum sPD-L1 and sPD-1 concentrations were measured using standard enzyme immunoassay kits (Affimetrix, eBioscience, USA).

Results. sPD-L1 levels in blood serum of patients with primary renal cancer and benign tumors were significantly higher than in control ($p < 0.0001$ and $p < 0.05$ respectively). sPD-L1 level significantly increased with disease stage ($p < 0.001$), with T index increase from 1 to 3 declining at T4, was significantly higher in patients with lymph node metastases (both N1, and N2) than in those without such lesions (N0); it was also increased in M⁺ patients, and in patients with grade III–IV in comparison to grade I–II tumors. sPD-1 levels did not differ significantly between study groups, did not depend on disease stage, presence of lymph node or distant metastases, but were decreased in patients with T4 as compared to those with less advanced primary tumor, and were significantly lower in patients with clear-cell than in those with chromophobic or papillary histologic variants.

Conclusion. Serum sPD-L1 in renal cancer patients correlates with disease progression and tumor grade, and can be regarded as promising marker for monitoring of anti-PD1/PD-L1 treatment efficiency. Potential clinical implications of sPD-1 require further investigations and analysis.

Key words: immune check-point proteins, sPD-L1, sPD-1, renal-cell cancer, blood serum

For citation: Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Goryatcheva I.O. et al. Soluble forms of the immune check-point receptor PD-1 and its ligand PD-L1 in blood serum of patients with renal cell carcinoma: clinical and pathologic correlations. *Onkourologiya = Cancer Urology* 2019;15(1):15–22.

Введение

Рак почки занимает 3-е место среди опухолей мочеполовой системы, составляя около 3 % всех злокачественных новообразований у взрослого населения в мире. Длительное практически бессимптомное течение является причиной поздней диагностики рака почки: около 40 % пациентов на момент постановки диагноза имеют либо большую первичную опухоль, либо отдаленные метастазы. Кроме того, у 30 % пациентов с локализованным почечно-клеточным раком метастазы развиваются после хирургического удаления первичной опухоли. Возможности терапевтического лечения опухолей почки до недавнего времени были ограничены их низкой чувствительностью к стандартной химио- и лучевой терапии, а успехи в лечении, в первую очередь наиболее распространенного светлоклеточного варианта рака почки, достигнутые в последние годы, связаны с использованием антиангиогенных препаратов, ингибирующих активность рецепторов VEGF и некоторых других факторов роста, вовлеченных в процесс ангиогенеза [1].

Рак почки также считают одним из наиболее иммуночувствительных онкологических заболеваний, и в его комплексной терапии начали использовать неспецифические иммуномодуляторы, такие как интерлейкин 2 и интерферон α [2, 3]. Однако наиболее

значительный прорыв в этой области произошел в результате внедрения в клиническую практику современных иммунотерапевтических препаратов, направленных на подавление активности сигнального пути так называемых контрольных точек иммунитета — PD-1/PD-L, который в физиологических условиях контролирует выраженность и длительность иммунного ответа, предотвращая аутоиммунную агрессию и повреждение собственных тканей [4].

Основные компоненты данного сигнального пути — белок программируемой клеточной гибели (programmed cell death protein) PD-1 — мембранный рецептор 1-го типа, принадлежащий к семейству CD28/CTLA-4 регуляторов Т-клеток, экспрессирующийся на их поверхности, — и 2 его лиганда PD-L1 и PD-L2. Наиболее важен PD-L1, известный также как кластер дифференцировки 274 (CD274) или гомолог B7 1-го типа (B7-H1). В норме он экспрессируется прежде всего на антигенпрезентирующих клетках, дендритных и макрофагоподобных клетках периферических органов, а также на клетках плаценты, островков поджелудочной железы и сетчатки. PD-L1 мРНК обнаруживается в существенно более широком спектре тканей, а индуцированная экспрессия PD-L1 может наблюдаться на Т- и В-лимфоцитах, естественных киллерах, макрофагах, мезенхимальных стволовых клетках, клетках эпителия.

PD-1/PD-L1-путь стимулирует апоптоз антиген-специфичных Т-клеток в лимфатических узлах и одновременно подавляет апоптоз регуляторных супрессорных Т-клеток (Tregs). Активация PD-1/PD-L1-пути позволяет опухоли уйти от иммунного ответа посредством развития толерантности к Т-клеткам, активации апоптоза с последующим истощением пула эффекторных Т-клеток и усиления иммуносупрессивной функции Tregs. В связи с этим моноклональные антитела к PD-1 и PD-L1, предотвращающие их взаимодействие друг с другом и ингибирующие иммуносупрессивные эффекты, находят в последние годы активное применение в терапии многих онкологических заболеваний [5], в том числе почечно-клеточной карциномы [4, 6].

Помимо того, что экспрессию PD-1 и/или PD-L1 в опухоли активно изучают в качестве предиктора эффективности соответствующей иммунотерапии [1], эти белки рассматривают и как молекулярные маркеры общего прогноза течения онкологических заболеваний и выживаемости пациентов. Продemonстрировано неблагоприятное влияние высокой активности PD-1/PD-L-пути на клиническое течение целого ряда опухолей [7–10], в том числе почечно-клеточной карциномы [11, 12].

К сожалению, результаты иммуногистохимического определения экспрессии PD-1 и PD-L1 в опухолях и изучения ее связи с эффективностью анти-PD-1-терапии в ряде крупных рандомизированных исследований оказались неоднозначными и зависящими от вида злокачественного новообразования [13–15]. Скорее всего, это связано с трудностями стандартизации иммуногистохимического тестирования, результаты которого зависят от техники подготовки образцов, применяемых антител, отличающихся по своей аффинности, специфичности и способности связываться с разными эпитопами исследуемых белков, а также от критериев, используемых при интерпретации полученных данных [14]. Одной из важнейших проблем иммуногистохимического тестирования PD-1 и PD-L1 является и то, что они экспрессируются не только на клетках самой опухоли, но и на инфильтрирующих ее клетках иммунной системы, и на данном этапе исследований неизвестно, какой тип экспрессии более клинически значим. Другая проблема — наличие не связанных с мембраной форм данных белков, которые могут давать ложноположительные результаты, при этом их роль в патогенезе опухолей пока не очень ясна.

В решении хотя бы части этих проблем важную роль может сыграть исследование растворимых форм PD-1 (sPD-1) и его лиганда (sPD-L1), обнаруженных относительно недавно в периферической крови, в том числе онкологических больных [16]. Происхождение sPD-1 и sPD-L1 пока не установлено, однако,

как и растворимые формы других мембранных белков, они могут образовываться в результате 2 процессов: гидролитического отщепления внеклеточного домена или альтернативного сплайсинга мРНК нативной мембранной формы. Публикаций о роли sPD-1 и sPD-L1 пока немного, большинство из них суммированы в фундаментальном обзоре [16], а также в метааналитической работе [17], однако это направление активно развивается, и еще несколько работ опубликовано уже после выхода обзорных статей [18–21].

Цель исследования — сравнительная оценка содержания sPD-1 и sPD-L1 в сыворотке крови практически здоровых лиц, больных раком почки и пациентов с доброкачественными опухолями почки, а также анализ взаимосвязи уровня этих маркеров с основными клинико-морфологическими особенностями почечно-клеточного рака.

Материалы и методы

В исследование были включены 106 больных почечно-клеточным раком (64 мужчины и 42 женщины; медиана возраста 59 лет (33–81 год)) и 11 пациентов с доброкачественными новообразованиями почки (3 мужчин и 8 женщин; медиана возраста 52 года (29–84 года)), проходивших обследование и лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина и МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского в 2015 г. При первичном поступлении обследовали 97 больных почечно-клеточным раком, на фоне прогрессирования заболевания — 9. Среди пациентов с доброкачественными новообразованиями у 6 была ангиомиолипома, у 3 — онкоцитомы и у 2 — кисты почек. В контрольную группу вошли практически здоровые 19 мужчин и 18 женщин (медиана возраста 49 лет (22–82 года)).

Гистологические варианты почечно-клеточного рака и доброкачественных новообразований почки выделяли согласно международной классификации Всемирной организации здравоохранения (2016).

У 57 больных раком почки диагностирована I стадия заболевания, у 12 — II, у 15 — III и у 22 — IV. Исследование проведено согласно требованиям комиссии по этике НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина и МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Концентрацию sPD-L1 и sPD-1 определяли в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью стандартных 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 BEP 2000 Advance (Siemens Healthcare Diagnostics, Германия). Содержание маркеров выражали в пикограммах (пг) на 1 мл сыворотки крови.

Полученные данные обрабатывали с помощью программы Statistica 7.0. При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, медианный тест, тест корреляции рангов Спирмена. Различия и корреляции считали достоверными при $p < 0,05$. Во всех таблицах представлены показатели медианы, верхнего и нижнего квартилей.

Результаты

Содержание sPD-L1 в сыворотке крови первичных больных раком почки достоверно повышено по сравнению с таковым в контрольной группе ($p < 0,0001$). У пациентов, обследованных на фоне прогрессирования, уровень маркера также повышен, но различие не достигает уровня статистической значимости (табл. 1). Показатели пациентов с доброкачественными новообразованиями почки достоверно выше, чем таковые в контрольной группе ($p < 0,05$), но ниже, чем у первичных больных раком. Уровни sPD-1 во всех обследованных группах достоверно не различались. Значимых различий между содержанием sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови первичных и обследованных на фоне прогрессирования больных почечно-клеточным раком не обнаружено, поэтому дальнейший анализ клинико-морфологических корреляций проведен в общей группе из 106 пациентов.

Не выявлено значимой взаимосвязи уровня sPD-L1 с возрастом ни у пациентов, ни у лиц контрольной группы, хотя в литературе описано увеличение уровня этого маркера с возрастом [23]. Концентрация sPD-1 достоверно снижалась с возрастом только у лиц контрольной группы ($R = -0,38$; $p < 0,05$), но не у больных с опухолями почки. Среди больных раком почки уровень sPD-L1 в сыворотке крови мужчин был вдвое

выше, чем у женщин (медианы 32,1 и 17,9 пг/мл соответственно; $p < 0,05$), в контрольной группе такой закономерности не обнаружено. Содержание sPD-1 также было выше у мужчин, чем у женщин, но различие статистически значимо только при сравнении всей обследуемой выборки, включая контрольную группу (медианы 60,6 и 49,6 пг/мл соответственно; $p < 0,05$).

При анализе взаимосвязи уровней исследуемых маркеров в сыворотке крови с основными показателями распространенности рака почки установлено (табл. 2), что уровень sPD-L1 достоверно возрастал с увеличением стадии заболевания ($p < 0,001$ по тесту Краскела–Уоллиса), на I стадии (медиана 17,8 пг/мл) практически не отличался от показателей пациентов с доброкачественными опухолями и контрольной группы (см. табл. 1), а на III–IV стадии превышал их соответственно в 2 и 3 раза по медиане. Более сложной оказалась взаимосвязь с размером и распространенностью первичной опухоли (индекс T): наиболее высокие уровни sPD-L1 отмечены при T2 (опухоль >7 см в диаметре, ограниченная почкой) и T3 (опухоль распространяется на главные вены или окружающую ткань, но не прорастает почечную фасцию), а при T4 (опухоль распространяется за пределы фасции Герота) происходило снижение маркера. При наличии метастазов в регионарных лимфатических узлах независимо от их количества (N1 или N2) уровень sPD-L1 достоверно выше, чем у больных без регионарных метастазов (N0), он также повышен при наличии отдаленных метастазов (M+).

Концентрация sPD-1 достоверно не зависела от стадии почечно-клеточного рака, наличия метастазов в лимфатических узлах и отдаленных органах, но как и уровень sPD-L1, снижалась при распространении опухоли за пределы фасции Герота (T4)

Таблица 1. Содержание sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных с опухолями почки и лиц контрольной группы, пг/мл

Table 1. Serum sPD-L1 and sPD-1 levels in patients with renal cell carcinoma and control subjects, pg/ml

Обследованная группа Examined group	n	sPD-L1		sPD-1	
		медиана median	25–75 %	медиана median	25–75 %
Больные первичным раком почки (группа 1) Patients with primary renal cell carcinoma (group 1)	97	28,6 ¹	12,2–45,3	58,8	43,8–78,0
Больные раком почки на фоне прогрессирования (группа 2) Patients with progressive renal cell carcinoma (group 2)	9	18,1	10,7–35,2	58,2	52,1–63,2
Больные с доброкачественными опухолями почки (группа 3) Patients with benign kidney tumors (group 3)	11	19,3 ²	14,6–42,2	46,7	33,0–51,8
Контроль (K) Control (K)	37	13,0	0,9–19,3	55,4	39,2–67,2

¹ $p_{1-K} < 0,0001$; ² $p_{3-K} < 0,05$.

Таблица 2. Содержание sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных раком почки в зависимости от показателей распространенности опухоли, пг/мл

Table 2. Serum sPD-L1 and sPD-1 levels in patients with renal cell carcinoma depending on tumor advancement, pg/ml

Показатель распростра- ненности Advancement indicator	n	sPD-L1		sPD-1	
		медиана median	25–75 %	медиана median	25–75 %
Стадия: Stage:					
I	57	18,0	10,7–32,9	55,1	40,9–74,5
II	12	27,4	14,7–40,6	60,8	40,8–77,9
III	15	38,4 ¹	4,9–69,3	66,9	50,2–81,3
IV	22	41,6 ²	28,6–60,6	63,0	56,0–72,7
Размер и распространение первичной опухоли: Size and advancement of primary tumor:					
T1	55	18,0	10,7–32,5	55,0	41,5–74,5
T2	18	35,7 ³	27,0–46,9	66,7	48,5–79,9
T3	30	38,4 ⁴	17,7–66,5	63,7 ⁵	51,0–78,0
T4	3	25,3	20,9–32,1	27,7	11,6–61,9
Метастазы в лимфатиче- ских узлах: Lymph node metastases:					
N0	88	24,3	12,0–37,2	58,5	44,4–75,9
N1	8	42,0 ⁶	28,7–63,7	58,8	37,9–76,9
N2	10	40,5 ⁷	26,6–56,7	62,5	48,5–108
Отдаленные метастазы: Distant metastases:					
M0	95	26,6	11,9–38,7	58,6	43,8–79,9
M+	11	40,5 ⁸	26,9–65,7	62,9	45,5–69,7

¹ $p_{I-III} < 0,05$; ² $p_{I-IV} < 0,01$.

³ $p_{2-1} < 0,01$; ⁴ $p_{3-1} < 0,01$; ⁵ $p_{3-4} < 0,05$.

⁶ $p_{1-0} < 0,05$; ⁷ $p_{2-0} < 0,05$; ⁸ $p_{M+ - M0} < 0,05$.

по сравнению с показателями пациентов с менее распространенной первичной опухолью (различие между T3 и T4 достоверно; $p < 0,05$).

По гистологическому строению большинство злокачественных опухолей почки (85,0 %) представляли собой светлоклеточный, 6,4 % – хромофобный, 8,2 % – папиллярный рак. Достоверных различий сывороточных уровней sPD-L1 в зависимости от гистологического строения опухоли не обнаружено (табл. 3). Следует отметить только относительно более высокий уровень маркера при папиллярном раке 2-го типа, а также его статистически значимое повышение при опухолях III–IV (G_{3-4}) степени злокачественности по сравнению с I–II (G_{1-2}) ($p < 0,05$). Уровни sPD-1 не были связаны со степенью злокачественности рака почки, но были достоверно ниже при светлоклеточном гистологическом варианте, чем при хромофобном и папиллярном (см. табл. 3).

Обсуждение

Таким образом, уровень sPD-L1 – растворимой формы ключевого лиганда белка контролируемой

клеточной гибели PD1 – в сыворотке крови больных почечно-клеточным раком повышен по сравнению с контрольной группой, увеличивается по мере нарастания распространенности процесса, а также при опухолях высокой степени злокачественности. Эти данные соответствуют результатам единственной опубликованной до настоящего времени работы, посвященной исследованию sPD-L1 (sB7-H1) у больных светлоклеточным раком почки [24], в которой продемонстрировано также уменьшение выживаемости пациентов с высоким уровнем sB7-H1.

Повышение сывороточной концентрации sPD-L1 и его связь с распространенностью процесса отмечены также у больных раком желудка, печени, немелкоклеточным раком легкого, некоторыми видами лимфом [16]. Для этих заболеваний продемонстрировано неблагоприятное влияние высоких уровней sPD-L1 на выживаемость пациентов. В то же время данные по плоскоклеточному раку головы и шеи противоречивы, а при раке поджелудочной железы и раке шейки матки достоверного увеличения уровня sPD-L1 и его

Таблица 3. Содержание sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных раком почки в зависимости от гистологического строения и степени злокачественности опухоли, пг/мл

Table 3. Serum sPD-L1 and sPD-1 levels in patients with renal cell carcinoma depending on tumor histological structure and malignancy, pg/ml

Показатель распространенности Advancement indicator	n	sPD-L1		sPD-1	
		медиана median	25–75 %	медиана median	25–75 %
Гистологическое строение: Histological structure:					
светлоклеточный рак clear-cell carcinoma	90	26,8	12,2–40,7	55,4	40,9–72,6
хромофобный рак chromophobe carcinoma	7	18,0	12,2–47,1	76,0 ¹	60,6–209
папиллярный рак 1-го типа papillary type 1	6	27,7	12,2–33,6	97,1 ²	79,9–123
папиллярный рак 2-го типа papillary type 2	3	77,2	29,6–78,8	87,0 ³	72,7–107
Степень злокачественности: Malignancy grade:					
G ₁	8	23,8	4,9–79,3	74,4 ⁴	50,6–118
G ₂	60	24,7	10,7–36,0	55,1	40,9–75,8
G _{1–2}	68	24,3 ⁵	10,7–36,0	56,8	42,7–78,0
G ₃	17	32,1	19,5–69,3	62,4	37,9–79,9
G ₄	14	35,5	9,3–51,0	62,6	53,1–73,2
G _{3–4}	31	32,3	18,1–56,7	62,4	45,5–73,9

¹ $p_{ce vs xp} < 0,01$; ² $p_{ce vs pap1} < 0,001$; ³ $p_{ce vs pap2} < 0,05$; ⁴ $p_{G1 vs G2} < 0,05$; ⁵ $p_{G1-2 vs G3-4} < 0,05$.

¹ $p_{cl vs chr} < 0,01$; ² $p_{cl vs pap1} < 0,001$; ³ $p_{cl vs pap2} < 0,05$; ⁴ $p_{G1 vs G2} < 0,05$; ⁵ $p_{G1-2 vs G3-4} < 0,05$.

Примечание. Степень злокачественности оценивали только для светлоклеточного и папиллярного рака.

Note. Malignancy grade was evaluated only for clear-cell and papillary carcinomas.

взаимосвязи с клинико-морфологическими факторами не выявлено [16].

В отличие от лиганда, уровень растворимого рецептора sPD-1 практически не зависит от распространенности и степени злокачественности рака почки, но связан с его гистологическим строением — он значительно ниже при наиболее распространенном светлоклеточном варианте, чем при других типах рака почки. Исследований, посвященных клиническому значению sPD-1 при почечно-клеточном раке, до настоящего времени не опубликовано. Описано повышение уровня sPD-1 на фоне успешного лечения больных немелкоклеточным раком легкого эрлотинибом, его взаимосвязь с риском развития гепатоцеллюлярного рака у больных гепатитом С, а при исследовании больных раком поджелудочной железы, шейки матки, головы и шеи взаимосвязи уровней sPD-1 с распространенностью процесса и прогнозом заболевания не обнаружено [16].

Необходимо отметить, что по большинству локализаций опубликованы только единичные исследования (особенно это касается sPD-1), в которых использованы разнообразные тест-системы. В частности, X. Frigola и соавт. [24], изучавшие sB7-H1 при раке почки, использовали систему, разработанную непосредственно в их лаборатории, тогда как представленное нами ис-

следование выполнено с помощью стандартизованных наборов реагентов для иммуноферментного анализа. Все это приводит к значительному разбросу получаемых результатов, невозможности на данном этапе определить четкие пороговые значения для предиктивных, прогностических и диагностических целей.

Заключение

Результаты исследования sPD-L1, накопившиеся за последние несколько лет, свидетельствуют о перспективности дальнейшего углубленного изучения роли этого маркера при опухолях различных локализаций. На основании этих данных, включая результаты настоящего исследования, можно предположить, что циркулирующий в крови sPD-L1, связываясь с PD-1 на лимфоцитах, способствует ускользанию опухоли от иммунного ответа и прогрессированию заболевания, хотя существование такого механизма пока не доказано. Более сложным и неоднозначным представляется вопрос о клиническом значении sPD-1, который требует дальнейшего накопления материала и его анализа. Особый интерес может представлять изучение динамики сывороточных маркеров сигнального пути контрольных точек иммунитета на фоне специфической анти-PD-1/PD-L-терапии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ainsworth N.L., Lee J.S., Eisen T. Impact of anti-angiogenic treatments on metastatic renal cell carcinoma. *Expert Rev Anti-cancer Ther* 2009;9(12):1793–805. DOI: 10.1586/era.09.144. PMID: 19954291.
2. Bracarda S., Porta C., Boni C. et al. Could interferon still play a role in metastatic renal cell carcinoma? A randomized study of two schedules of sorafenib plus interferon-alpha 2a (RAPSODY). *Eur Urol* 2013;63(2):254–61. DOI: 10.1016/j.eururo.2012.08.027. PMID: 22964169.
3. Procopio G., Verzoni E., Bracarda S. et al. Overall survival for sorafenib plus interleukin-2 compared with sorafenib alone in metastatic renal cell carcinoma (mRCC): final results of the ROSORC trial. *Ann Oncol* 2013;24(12):2967–71. DOI: 10.1093/annonc/mdt375. PMID: 24063860.
4. Кушлинский Н.Е., Фридман М.В., Морозов А.А. и др. Современные подходы к иммунотерапии рака почки. *Онкоурология* 2018;14(2):54–67. DOI: 10.17650/1726-9776-2018-14-2-54-67. [Kushlinskii N.E., Fridman M.V., Morozov A.A. et al. Modern approaches to kidney cancer immunotherapy. *Cancer Urology* 2018;14(2):54–67. (In Russ.)].
5. Hamanishi J., Mandai M., Matsumura N. et al. PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues. *Int J Clin Oncol* 2016;21(3):462–73. DOI: 10.1007/s10147-016-0959-z. PMID: 26899259.
6. Massari F., Santoni M., Ciccicarese C. et al. PD-1 blockade therapy in renal cell carcinoma: current studies and future promises. *Cancer Treat Rev* 2015;41(2):114–21. DOI: 10.1016/j.ctrv.2014.12.013. PMID: 25586601.
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. DOI: 10.1001/jamaoncol.2016.0639. PMID: 27310809.
8. Tsang J.Y., Au W.L., Lo K.Y. et al. 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. DOI: 10.1007/s10549-016-4095-2. PMID: 28058578.
9. Wang Y., Lin J., Cui J. et al. Prognostic value and clinicopathological features of PD-1/PD-L1 expression with mismatch repair status and desmoplastic stroma in Chinese patients with pancreatic cancer. *Oncotarget* 2017;8(6):9354–65. DOI: 10.18632/oncotarget.14069. PMID: 28030840.
10. Zhu X., Lang J. The significance and therapeutic potential of PD-1 and its ligands in ovarian cancer: A systematic review. *Gynecol Oncol* 2016;142(1):184–9. DOI: 10.1016/j.ygyno.2016.04.002. PMID: 27063803.
11. Kim K.S., Sekar R.R., Patil D. et al. 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. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1413519. PMID: 29632730.
12. Erlmeier F., Weichert W., Schrader A.J. et al. Prognostic impact of PD-1 and its ligands in renal cell carcinoma. *Med Oncol* 2017;34(6):99. DOI: 10.1007/s12032-017-0961-y. PMID: 28432616.
13. Yuasa T., Masuda H., Yamamoto S. et al. Biomarkers to predict prognosis and response to checkpoint inhibitors. *Int J Clin Oncol* 2017;22(4):629–34. DOI: 10.1007/s10147-017-1122-1. PMID: 28382562.
14. Topalian S.L., Taube J.M., Anders R.A. et al. Mechanism-driven biomarkers to guide immune checkpoint blockade in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2016;16(5):275–87. DOI: 10.1038/nrc.2016.36. PMID: 27079802.
15. Yun S., Vincelette N.D., Green M.R. et al. 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. DOI: 10.1002/cam4.732. PMID: 27167347.
16. Zhu X., Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget* 2017;8(57):97671–82. DOI: 10.18632/oncotarget.18311. PMID: 29228642.
17. Ding Y., Sun C., Li J. et al. 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. DOI: 10.1111/sji.12596. PMID: 28930374.
18. Theodoraki M.N., Yerneni S.S., Hoffmann T.K. et al. Clinical significance of PD-L1(+) exosomes in plasma of head and neck cancer patients. *Clin Cancer Res* 2018;24(4):896–905. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2664. PMID: 29233903.
19. Guo X., Wang J., Jin J. et al. High serum level of soluble programmed death ligand 1 is associated with a poor prognosis in Hodgkin lymphoma. *Transl Oncol* 2018;11(3):779–85. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.03.012. PMID: 29698935.
20. Kim H.J., Park S., Kim K.J. et al. Clinical significance of soluble programmed cell death ligand-1 (sPD-L1) in hepatocellular carcinoma patients treated with radiotherapy. *Radiother Oncol* 2018;129(1):130–5. DOI: 10.1016/j.radonc.2017.11.027. PMID: 19954291.
21. Huang X., Zhang W., Zhang Z. et al. 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. DOI: 10.7150/jca.25011. PMID: 30026851.
22. Moch H., Humphrey P.A., Ulbright T.M., Reuter V.E. WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs. IARC, Lyon, 2016.
23. Chen Y., Wang Q., Shi B. et al. Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1+ cell lines. *Cytokine* 2011;56(2):231–8. DOI: 10.1016/j.cyt.2011.06.004. PMID: 21733718.
24. Frigola X., Inman B.A., Lohse C.M. et al. Identification of a soluble form of B7-H1 that retains immunosuppressive activity and is associated with aggressive renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2011;17(7):1915–23. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-0250. PMID: 21355078.

Вклад авторов

Н.Е. Кушлинский: разработка дизайна исследования, руководство выполнением работы, редактирование рукописи;
Е.С. Герштейн: обзор публикаций по теме статьи, анализ результатов лабораторных исследований, написание текста рукописи;
И.О. Горячева, А.А. Алферов: выполнение иммуноферментных исследований sPD-1, sPD-L1;
А.А. Морозов: анализ данных историй болезни;
С.Д. Бежанова, И.А. Казанцева: пересмотр и анализ гистологических препаратов;
В.В. Базасев, В.Б. Матвеев: клиническая работа с пациентами, сбор материала для исследования.

Authors' contributions

N.E. Kushlinskii: developing the research design, job management, article editing;
E.S. Gershtein: reviewing of publications of the article's theme, analysis of laboratory results, article writing;
I.O. Goryatcheva, A.A. Alferov: immunoassay studies sPD-1, sPD-L1;
A.A. Morozov: case study data analysis;

S.D. Bezhanova, I.A. Kazantseva: revision and analysis of histological preparations;
V.V. Bazaev, V.B. Matveev: clinical work with patients, collection of material for the study.

ORCID авторов/ORCID of authors

Н.Е. Кушлинский/N.E. Kushlinskii: <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>

Е.С. Герштейн/E.S. Gershtein: <https://orcid.org/0000-0002-3321-801X>

И.О. Горячева/I.O. Goryatcheva: <https://orcid.org/0000-0001-5522-291X>

А.А. Морозов/A.A. Morozov: <https://orcid.org/0000-0003-4292-0801>

А.А. Алферов/A.A. Alferov: <https://orcid.org/0000-0003-3585-5693>

С.Д. Безанова/S.D. Bezhanova: <https://orcid.org/0000-0001-7336-9210>

И.А. Казанцева/I.A. Kazantseva: <https://orcid.org/0000-0002-3091-1513>

В.В. Базаев/V.V. Bazaev: <https://orcid.org/0000-0003-0124-1001>

В.Б. Матвеев/V.B. Matveev: <https://orcid.org/0000-0001-7748-9527>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 20.09.2018. Принята к публикации: 23.01.2019.

Article received: 20.09.2018. Accepted for publication: 23.01.2019.