

Молекулярный портрет рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр

Е.О. Игнатова¹, Д.А. Серяк², М.Ю. Федянин¹, А.А. Трякин¹, И.А. Покатаев¹, С.Ф. Меньшикова³,
Ю.В. Вахабова⁴, М.С. Карбышев⁵, К.В. Смирнова^{1,5}, С.А. Тюлядин¹

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

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России; Россия, 119146 Москва, Большая Пироговская ул., 19, стр. 1;

³отделение противоопухолевой лекарственной терапии АО «К 31 Сити»; Россия, 123112 Москва, Тестовская ул., 10;

⁴Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России; Россия, 125284 Москва, 2-й Боткинский проезд, 3;

⁵ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997 Москва, ул. Островитянова, 1

Контакты: Ксения Валерьевна Смирнова skv.lab@yandex.ru

Рак желудка, ассоциированный с вирусом Эпштейна–Барр (ВЭБ), — особая форма онкологического заболевания, возникающая в результате клональной пролиферации ВЭБ-инфицированных эпителиоцитов слизистой оболочки желудка. Данный подтип опухолей имеет уникальные генетические и эпигенетические особенности, определяющие его характерный фенотип. Выявление широкого спектра молекулярных особенностей ВЭБ-ассоциированного рака желудка позволяет описать потенциальные мишени, перспективные для лекарственной терапии данного подтипа опухолей. В обзоре представлены современные данные об эпидемиологии и патогенезе ВЭБ-ассоциированного рака желудка, описаны его уникальные патоморфологические и молекулярные особенности. Особое внимание уделено прогностической роли ВЭБ-инфекции и лекарственной терапии, потенциально применимой для лечения ВЭБ-положительного рака желудка.

Ключевые слова: вирус Эпштейна–Барр, онкоген, мутация, молекулярная диагностика, циркулирующая ДНК, иммунотерапия

Для цитирования: Игнатова Е.О., Серяк Д.А., Федянин М.Ю. и др. Молекулярный портрет рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр. Успехи молекулярной онкологии 2020;7(3):27–36.

DOI: 10.17650/2313-805X-2020-7-3-27-36



Molecular portrait of stomach cancer associated with the Epstein–Barr virus

E.O. Ignatova¹, D.A. Seryak², M.Yu. Fedyanin¹, A.A. Tryakin¹, I.A. Pokataev¹, S.F. Menshikova³,
Yu.V. Vakhobova⁴, M.S. Karbyshev⁵, K.V. Smirnova^{1,5}, S.A. Tulyandin¹

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

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia; Build. 1, 19 Bol'shaya Pirogovskaya St., Moscow 119146, Russia;

³Anticancer Therapies Department, K 31 City; 10 Testovskaya St., Moscow 123112, Russia;

⁴P.A. Herten Moscow Oncology Research Institute — branch of the National Medical Research Radiological Center, Ministry of Health of Russia; 3 2nd Botkinskiy Proezd, Moscow 125284, Russia;

⁵N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russia

Epstein–Barr virus (EBV) associated gastric carcinoma is a special form of gastric adenocarcinoma that arises against the background of clonal growth of EBV-infected epithelial cells of the gastric mucosa. This subtype of tumors has unique genetic and epigenetic features that determine its characteristic phenotype. Determination of the molecular features of EBV-associated gastric cancer made it possible to identify potential targets for drug therapy of this subtype of tumors. The review presents modern data on the epidemiology and pathogenesis of EBV-associated gastric cancer, describes its unique pathomorphological and molecular features. Particular attention is paid to the prognostic role of EBV infection and drug therapy potentially applicable to the treatment of EBV-positive gastric cancer.

Key words: Epstein–Bar virus, oncogene, mutation, molecular diagnosis, circulating DNA, immunotherapy

For citation: Ignatova E.O., Seryak D.A., Fedyanin M.Yu. et al. Molecular portrait of stomach cancer associated with the Epstein–Barr virus. *Uspexhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2020;7(3):27–36. (In Russ.).

Введение

Показано, что рак желудка (РЖ) занимает 5-е место по распространенности и 3-е место в структуре смертности от злокачественных новообразований в мире [1]. При этом хорошо известно, что определенные формы этих злокачественных новообразований имеют инфекционную этиологию. В качестве основного фактора риска рассматривается инфекция *Helicobacter pylori*, а выявление вируса Эпштейна–Барр (ВЭБ) в клетках опухоли наряду с дополнительными специфическими показателями указывает на редкий подтип РЖ — так называемую лимфоэпителиому (LEL-GC) [2]. Основным доказательством этиологической роли ВЭБ в развитии РЖ служит выявление ДНК этого онкогенного вируса исключительно в клетках опухоли, но не в окружающих здоровых клетках, а также моноклональность опухолевых клеток, которые содержат один и тот же вирусный геном [3–7]. Последнее наблюдение убедительно доказывает, что инфицирование ВЭБ предшествует опухолевой трансформации нормальных клеток желудка. Ранее проведенные исследования позволили выявить целый спектр специфических молекулярных признаков ВЭБ-ассоциированного (ВЭБ⁺) РЖ [8]. Помимо микросателлитной нестабильности (microsatellite instability, MSI) для таких подтипов опухолей характерна хромосомная нестабильность (chromosomal instability, CIN), а также целый спектр других черт, которые детально рассмотрим далее.

Молекулярные подтипы рака желудка

Полномасштабный молекулярно-генетический анализ, опубликованный в The Cancer Genome Atlas (TCGA) в 2014 г., позволил выделить 4 молекулярных подтипа РЖ [9]: 1) ВЭБ⁺-РЖ; 2) РЖ с MSI; 3) РЖ с CIN; 4) генетически стабильный РЖ (genomically stable, GS).

В 2018 г. по результатам молекулярного-генетического анализа 921 образца первичной аденокарциномы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), включая РЖ, удалось выделить 5-й подтип опухолей ЖКТ — гипермутированный с одонуклеотидными вариантами (hypermutated-SNV, HM-SNV) [10].

Следующим этапом был выполнен объединенный анализ TCGA для аденокарцином ЖКТ (пищевода, желудка, толстой кишки). В ходе проведения объединенного анализа TCGA первоначально в опухолевых образцах аденокарциномы ЖКТ определялся ВЭБ-статус. Далее ВЭБ-негативные (ВЭБ⁻) опухоли ЖКТ были распределены на 2 группы в соответствии с мутационной нагрузкой: аденокарциномы с высокой и низкой мутационной нагрузкой.

Аденокарциномы с высокой мутационной нагрузкой (hypermutated, содержащие более 10 мутаций на миллион нуклеотидов) были далее классифицированы на MSI-подтип и SNV-подтип. Гипермутированные опухоли с плотностью инсерций и делеций более 1 мутации на миллион нуклеотидов и соотношением

между SNV и инсерциями/делециями, не превышающим 1/150, были отнесены к MSI-подтипу, а остальные аденокарциномы ЖКТ — к SNV-подтипу.

Аденокарциномы с низкой мутационной нагрузкой, в свою очередь, были дифференцированы на 2 группы в зависимости от наличия или отсутствия альтерации числа копий соматических генов (somatic copy-number alterations, SCNAs): опухоли с CIN и генетически стабильный подтип (GS).

Объединенный TCGA анализ аденокарцином ЖКТ показал, что ВЭБ⁺-опухоли локализуются только в желудке и характеризуются наибольшей степенью гиперметилирования генома среди всех типов опухолей [10].

Доля ВЭБ⁺-РЖ среди других молекулярных подтипов составляет около 10 (1,3–20,1) % [11]. Известно, что данный подтип РЖ чаще встречается среди мужчин, чем среди женщин, и в более молодой возрастной группе, чем ВЭБ⁻-опухоли желудка [12]. Несмотря на наличие эндемичных территорий с высокой распространенностью ВЭБ⁺-злокачественных новообразований (лимфома Беркитта, назофарингеальная карцинома), ВЭБ⁺-РЖ встречается повсеместно [13], однако наиболее часто данный подтип встречается в Замбии и Брунее — до 23–30 % [8].

Патогенез и патоморфология рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр

Отмечено, что ВЭБ⁺-РЖ чаще локализуется в проксимальных отделах желудка (кардиальный отдел и тело желудка) и имеет диффузный гистологический тип по классификации Lauren [13]. Макроскопически ВЭБ⁺-РЖ представляет собой, как правило, язвенный или бляшкообразный рак со значительным утолщением стенки желудка [4]. Встречаются также синхронные множественные ВЭБ⁺-карциномы желудка [13].

Среди всех молекулярных подтипов аденокарцином ЖКТ ВЭБ⁺-РЖ характеризуется наибольшей иммуногенностью. При данном подтипе выявлены высокая экспрессия PD-L1 и PD-L2, высокое содержание CD8⁺ опухолинфильтрирующих лимфоцитов (TILs), а также высокий уровень экспрессии генов иммуногенных путей, например сигнального пути IFN [10, 14, 15].

Механизм проникновения ВЭБ в эпителиоциты желудка остается до конца не изученным. Поскольку эпителиальные клетки желудка не экспрессируют молекулу CD21, которая служит рецептором на поверхности В-лимфоцитов для проникновения вирусных частиц, в эпителиоциты желудка вирус проникает иным путем. Известно, однако, что вирусный белок gHgL формирует комплекс с интегринами $\alpha\text{v}\beta 5$, $\alpha\text{v}\beta 6$ или $\alpha\text{v}\beta 8$, что приводит к слиянию вируса с клеткой хозяина [16]. Возможно, что вирус переносится в эпителиальные клетки из ВЭБ-инфицированных В-лимфоцитов слизистой оболочки желудка во время реактивации инфекции [13]. Для ВЭБ⁺-РЖ характерен моноклональный рост вирус-инфицированных клеток.

Клональность вирусного генома указывает на то, что ВЭБ-инфекция представляет собой ранний этап канцерогенеза [17]. Вероятно, первоначально одна или несколько вирус-инфицированных клеток слизистой оболочки желудка подвергается злокачественной трансформации и дает начало клональному росту эпителиоцитов. Поддержанию вирусной инфекции в опухолевых клетках способствует многофункциональный вирусный ядерный белок EBNA1. Данный белок взаимодействует с клеточным комплексом, узнающим точку начала репликации, опосредуя присоединение данного комплекса к точке старта репликации вирусной ДНК (OriP). Таким образом, ВЭБ использует системы клетки хозяина для собственного воспроизводства в S-фазу клеточного цикла [18].

Важная роль в вирусном онкогенезе при развитии ВЭБ⁺-опухолей принадлежит эпигенетической регуляции экспрессии вирусных и клеточных генов. При латентной инфекции ДНК ВЭБ, включая гены литической фазы, в значительной степени метилирована. Во время реактивации инфекции вирусный транскрипционный фактор Zta (ZEBRA, Z, BZLF1) избирательно связывается с метилированными промоторами генов литической фазы, в результате чего латентная инфекция переходит в литическую [19]. Метилирование CpG-динуклеотидов в составе промоторов генов латентной фазы имеет большое значение в поддержании латентной инфекции.

Показано, что при ВЭБ-инфекции с высокой частотой встречается метилирование не только вирусной ДНК, но и CpG-сайтов промоторных участков генов клеток хозяина [20]. Важно, что гиперметилирование при ВЭБ-инфекции носит не случайный, а закономерный характер, однако регуляторные механизмы этого процесса не изучены. Н. Abe и соавт. проанализировали профиль метилирования ДНК аденокарцином желудка и выделили 3 различных эпигенотипа опухолей: ВЭБ⁻-статус/низкое метилирование, ВЭБ⁻-статус/высокое метилирование, ВЭБ⁺-статус/высокое метилирование. ВЭБ⁻-эпигенотип с высоким метилированием отличался метилированием генов, служащих мишенью белков группы polycomb (комплекса, ремоделирующего хроматин), в отличие от подтипа ВЭБ⁺, где было зарегистрировано метилирование других генов (например, *p14*, *p16*, *E-кадгерина*) [17]. Это свидетельствует об уникальном эпигенетическом профиле ВЭБ⁺-опухолей желудка. Полагают, что эпигенетическая инактивация вирусных генов может быть обусловлена защитными механизмами клетки хозяина, цель которых подавить экспрессию генов чужеродной ДНК. По другой гипотезе сам вирус запускает метилирование. Однако в любом случае изменение паттерна метилирования может иметь и отрицательные последствия, среди которых супрессия генов латентной фазы и, как следствие, переход инфекции в активную фазу, а также сайленсинг онкосупрессорных генов [21]. Интересно, что паттерн метилирования, который ни-

когда не включает гены репарации неспаренных оснований (MRR), определяет отличие данного типа опухоли от MSI-H-ассоциированного РЖ [22].

Злокачественной трансформации эпителиоцитов при ВЭБ⁺-РЖ могут также способствовать микроРНК — малые некодирующие РНК, участвующие в регуляции экспрессии генов. МикроРНК комплементарно связываются с участками мРНК-мишени и ингибируют их трансляцию. ВЭБ кодирует собственные микроРНК, мишенями которых являются в том числе гены, ответственные за регуляцию апоптоза [23]. Кроме этого, вирусная инфекция может изменять профиль экспрессии клеточных микроРНК. В частности, снижение экспрессии клеточных микроРНК (*hsa-miR-200a* и *hsa-miR-200b*) подавляет экспрессию E-кадгерина в эпителиоцитах желудка, способствуя эпителиально-мезенхимальному переходу [17]. Полагают также, что вирусные микроРНК в составе экзосом могут играть значимую роль в моделировании опухолевого микроокружения при ВЭБ⁺-РЖ [24].

Молекулярные особенности рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна-Барр

Рак желудка, ассоциированный с ВЭБ, отличается характерными молекулярными особенностями. Анализ TCGA показал, что 80 % ВЭБ⁺-опухолей желудка имеют мутации *PIK3CA*, а также амплификации генов *JAK2*, *CD274 (PD-L1)* и *PDCD1LG2 (PD-L2)*. Распространены также мутации генов *ARID1A* (55 %) и *BCOR* (23 %), в то время как дефекты *TP53* не характерны для этого подтипа РЖ [9].

***PIK3CA*.** Как отмечено выше, около 80 % случаев ВЭБ⁺-РЖ сопряжено с мутациями *PIK3CA* — гена, кодирующего компонент фосфатидилинозитол-3-киназы (PIK3). Фосфатидилинозитол-3-киназы — семейство ферментов, которые являются ключевыми компонентами сигнального пути *PI3K/Akt/mTOR*, участвующего во многих проонкогенных клеточных процессах, включая уход от апоптоза, рост и пролиферацию клеток. Амплификации гена *PIK3CA* способствуют клеточной пролиферации путем активации *PI3K/Akt/mTOR*-пути. Мутации в гене *PIK3CA* встречаются при опухолях различных локализаций, включая колоректальный рак, рак молочной железы, яичника, эндометрия. При этом мутации, как правило, локализуются в «горячих точках»: экзон 9 (E542K и E545K) и экзон 20 (H1047R) [25]. Однако для ВЭБ⁺-РЖ частота мутаций *PIK3CA* в «горячих точках» составляет лишь 28 %, мутации могут наблюдаться на всем протяжении нуклеотидной последовательности [17]. Отмечается, что появление генетических дефектов *PIK3CA* может предшествовать ВЭБ-инфекции, которая затем усиливает активацию *PI3K/Akt/mTOR*-пути. В инфицированных клетках в активации *PI3K/Akt/mTOR*-пути принимает участие вирусный белок LMP2A, а также ВЭБ-опосредованное метилирование промоторов генов-онкосупрессоров *PTEN* и *INPP4B* — ингибиторов данного сигнального пути [21, 26].

Все исследования оценки эффективности mTOR-ингибиторов не дали желаемого результата, отдельных исследований ВЭБ⁺-опухолей желудка не проводилось [27–29].

ARID1A. Ген *ARID1A* (AT-rich interactive domain 1A) кодирует компонент комплекса ремоделирования хроматина SWI/SNF (SWItch/Sucrose Non-Fermentable), который регулирует структуру хроматина и экспрессию генов. Белковый продукт ARID1A обладает онкосупрессорной активностью. Мутации этого гена обнаруживаются при аденокарциноме желудка [30]. Наиболее часто встречаются миссенс- и нонсенс-мутации, приводящие к значительному снижению или прекращению синтеза белка [30]. При иммуногистохимическом исследовании 857 образцов аденокарциномы желудка, 67 из которых имели ВЭБ⁺-фенотип, было показано, что потеря экспрессии ARID1A наблюдается преимущественно в случае ВЭБ⁺ (34 %) и MLH1-негативного (29 %) РЖ [13]. При ВЭБ⁺-РЖ потеря синтеза ARID1A не коррелировала с глубиной инвазии опухоли, что свидетельствует о появлении данной мутации на ранних стадиях канцерогенеза, возможно, еще до инфицирования клеток ВЭБ. Сам вирус не влияет на уровень экспрессии ARID1A, в то время как мутация этого гена может способствовать проникновению вируса в ядро клетки и метилированию генов-мишеней [31].

BCOR. Ген *BCOR* кодирует белок, известный как корепрессор BCL6. Корепрессор BCL6 представляет собой транскрипционный фактор, избирательно связывающийся с POZ (Pox virus and Zinc finger) доменом BCL6. Данный белок необходим для формирования герминативных центров лимфоидных фолликулов и регуляции апоптоза. Мутации гена *BCOR* ассоциированы также с острым миелобластным лейкозом [32].

JAK2. Янус-киназы (Janus-kinase, JAK) – семейство белков, представляющих собой нерцепторные тирозинкиназы, участвующие в сигнальных путях некоторых цитокинов. Активированные янус-киназы фосфорилируют множество цитоплазматических белков-мишеней, в том числе транскрипционные факторы STAT (signal transducers and activators of transcription). Фосфорилированные STAT димеризуются и проникают в ядро, индуцируя транскрипцию генов, необходимых для клеточной пролиферации и дифференцировки. JAK2 является одним из представителей данного семейства белков, который опосредует сигнализацию рецепторов различных цитокинов (например, интерферонов α , β , γ , интерлейкинов (ИЛ) 6, 11, 22 и др.) и активирует транскрипционный фактор STAT3 [33]. Широко известно, что мутации *JAK2* характерны для миелопролиферативных заболеваний. Кроме этого, гиперэкспрессия данного белка ввиду амплификации гена *JAK2* является одной из молекулярных характеристик ВЭБ⁺-РЖ [8]. Значительную роль в активации *JAK2/STAT3*-пути при РЖ играет важнейший фактор патогенности *H. pylori* CagA (*H. pylori*-индуцирован-

ный цитотоксин-ассоциированный антиген). *H. pylori* доставляет CagA-протеин в мукоцит, используя IV тип бактериальной секреции. CagA-протеин, в свою очередь, индуцирует высвобождение различных цитокинов, в том числе ИЛ-11 и ИЛ-23, которые, связываясь со своими рецепторами на клетках-мишенях, активируют *JAK2/STAT3*-путь. Фосфорилированный STAT3 индуцирует транскрипцию генов-мишеней, опосредующих клеточную пролиферацию, миграцию/инвазию и ангиогенез: циклина D1, матриксной металлопротеиназы 9, CD44v6 и VEGF [34, 35].

Результаты исследования II фазы оценки эффективности молекулы BBI (ингибитора STAT3) в сравнении с плацебо у больных метастатическим РЖ свидетельствовали об отсутствии его эффекта [36].

Статус метилирования генов. Согласно анализу TCGA ВЭБ⁺-опухоли желудка характеризуются высокой частотой гиперметилирования ДНК. В частности, во всех исследуемых образцах ВЭБ⁺-опухолей желудка было отмечено гиперметилирование промотора гена *CDKN2A* (p16INK4A). Этот ген, известный как ингибитор циклинзависимой киназы 2A (cyclin-dependent kinase inhibitor 2A), кодирует онкосупрессор p16, участвующий в регуляции клеточного цикла. Белок p16 ингибирует циклинзависимые киназы 4 и 6 (CDK4 и CDK6), в результате чего другой онкосупрессор Rb блокирует переход клеточного цикла из фазы G1 в фазу S. Инактивирующие соматические мутации *CDKN2A* зарегистрированы для широкого спектра злокачественных опухолей. Для ВЭБ⁺-РЖ характерна именно эпигенетическая инактивация этого гена, наряду с такими онкосупрессорами, как p14, APC и TFAP2E [30, 31], в рамках CIMP-фенотипа (CpG island methylation phenotype) [37].

CIMP-фенотип характеризуется единовременным метилированием множественных генов и играет важную роль в карциногенезе аденокарцином ЖКТ, особенно ВЭБ⁺-РЖ и РЖ с MSI. Более того, этот процесс носит неслучайный характер. Так, оба подтипа имеют характерные отличия по профилю метилированных генов. Например, ген *MLH1* метилирован в опухолях MSI-подтипа, но интактен в ВЭБ⁺-аденокарциномах [38].

Интересно, что CIMP-статус (высокий CIMP-H, низкий CIMP-L, негативный CIMP-) коррелирует с прогнозом. Так, пациенты с CIMP-H чаще имеют относительно благоприятный прогноз, более поверхностные опухоли, диффузный гистологический подтип и раннюю стадию заболевания, чем пациенты с CIMP- -статусом [39].

CD274 (PD-L1)/PDCD1LG2 (PD-L2). Гены *CD274* и *PDCD1LG2* кодируют иммуносупрессивные молекулы PD-L1 и PD-L2 (лиганды программируемой гибели, programmed death ligands) соответственно. PD-L1 и PD-L2 представляют собой трансмембранные белки, которые экспрессируются на поверхности антигенпрезентирующих клеток. PD-L1 и PD-L2 соединяются с рецептором программируемой смерти PD-1,

находящимся на мембране Т-лимфоцита, после чего Т-лимфоцит теряет способность уничтожить опухолевую клетку. Некоторые злокачественные опухоли обладают высоким уровнем экспрессии PD-L1 и/или PD-L2, что приводит к ингибированию противоопухолевого иммунного ответа [40]. Среди 4 молекулярных подтипов РЖ с повышенной экспрессией PD-L1 и/или PD-L2 характеризуются ВЭБ⁺-опухоли [9, 41]. Повышенная экспрессия PD-L1 отмечается и в других ВЭБ⁺-опухолях [42, 43]. Известно, что у больных с высокой экспрессией PD-L1 отмечается выраженный противоопухолевый эффект на лечение моноклональными антителами к PD-1.

Методы молекулярной диагностики рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна–Барр

Таким образом, с учетом вышесказанного необходимо отметить, что к особенностям ВЭБ⁺-РЖ относят более благоприятный прогноз таких патологий, отсутствие эндемичных территорий, преимущественное выявление среди мужчин в более молодой возрастной группе, при этом такие пациенты составляют ~10 % всех больных аденокарциномами желудка. Кроме этого, такие опухоли преимущественно локализируются в проксимальных отделах желудка (кардиальный отдел, тело), характеризуются высоким содержанием CD8⁺ опухолинфильтрирующих лимфоцитов, а также повышенной экспрессией PD-L1 и PD-L2. К молекулярным особенностям ВЭБ⁺-опухолей желудка относят присутствие в клетках таких патологий мутаций *PIK3CA*, *ARID1A*, *BCOR*, интактного *TP53*, амплификацию *PD-L1* и *PD-L2*, а также *JAK2* и гиперметилирование, в том числе генов *p16*, *p14*, *APC*, *TFAP2E*.

Для обнаружения ВЭБ потенциально могут использоваться такие лабораторные методы, как гибридизация *in situ* (ISH), полимеразная цепная реакция (ПЦР), иммуноферментный анализ (ИФА), иммунофлуоресцентный анализ. Объектами исследования служат образцы резецированной опухолевой ткани и биопсийный материал (для ISH и ПЦР), образцы крови (для ПЦР), образцы плазмы крови пациентов (для ИФА). Возможные диагностические маркеры включают вирусные малые РНК EBER1 и EBER2 (для ISH); вирусные антигены EBNA1, Vam-M, VamHI-W (для ПЦР); антитела к вирусным антигенам EBNA (ядерному антигену), VCA (капсидному антигену), EA-D и EA-R (ранним антигенам) (для ИФА) [44].

Гибридизация *in situ* малых РНК ВЭБ. «Золотым стандартом» определения ВЭБ-инфицирования при РЖ является ISH малых РНК, локализованных в ядрах опухолевых клеток (EBER1/EBER2), в изучаемых образцах ткани (EBER-ISH). Это возможно благодаря тому, что вирусные малые РНК обнаруживаются в ядрах опухолевых клеток в больших количествах (10^{6–7} на клетку), в то время как здоровый эпителий желудка, как правило, имеет отрицательный статус при EBER-ISH [45].

По данным анализа 34 исследований, положительные результаты EBER-ISH были отмечены в 5–17,9 % образцах опухолевой ткани, а в контрольных группах (подлежащий здоровый эпителий, биопсийный материал от здоровых индивидуумов или пациентов с доброкачественными заболеваниями желудка) процент положительных результатов составил около 0 [44].

На сегодняшний день EBER-ISH является наиболее специфичным, хотя и менее чувствительным методом выявления ВЭБ-инфицирования при аденокарциномах желудка. К недостаткам данного метода следует отнести инвазивность и относительную сложность выполнения.

Обнаружение фрагментов ДНК ВЭБ в опухолевых тканях методом ПЦР. Целесообразность применения метода ПЦР для диагностики ВЭБ⁺-РЖ остается спорным вопросом. Результаты исследований показывают, что частота обнаружения фрагментов вирусных нуклеиновых кислот EBNA1 и VamHI-W в тканях РЖ методом ПЦР различна, но в целом выше по сравнению с таковой в подлежащих здоровых тканях [46–49].

Высокая гетерогенность результатов не позволяет судить о надежности данного метода. В настоящее время отсутствуют крупномасштабные исследования по изучению эффективности ПЦР-диагностики ВЭБ⁺-подтипа РЖ. По сравнению с ISH (EBER-ISH) ПЦР является более чувствительным, но менее специфичным методом. В некоторых исследованиях частота положительных результатов EBNA1 ПЦР достигает 80 % [46, 50].

Однако важно учитывать, что в ПЦР могут амплифицироваться вирусные ДНК не только из опухолевых клеток, но и из опухолинфильтрирующих лимфоцитов. При этом источник вирусных генов при ПЦР установить невозможно. Данная особенность является значительным ограничением метода ПЦР, так как известно, что около 90 % людей – носители латентной ВЭБ-инфекции, в результате которой лимфоциты содержат вирусные гены [51].

Таким образом, высокая частота обнаружения ДНК вируса в опухолевых тканях при использовании ПЦР может отражать степень локального воспаления и инфильтрации лимфоцитами, а не степень инфицирования вирусом опухолевых клеток. Следовательно, метод ПЦР для определения ВЭБ-статуса аденокарцином желудка следует использовать с осторожностью.

Серологические исследования. Серологическая диагностика ВЭБ-инфекции включает выявление в плазме крови иммуноглобулинов (Ig) к вирусным антигенам: ядерному EBNA, капсидному VCA и ранним антигенам EA-D/EA-R. Результаты единичных исследований показали, что значения титров антител по данным ИФА значительно варьируют как среди больных РЖ, так и среди здоровых индивидуумов [52–54].

Антитела к капсидному антигену (VCA IgG) обнаруживались чаще среди больных, чем в контрольных

группах, однако статистической значимости, как правило, эти различия не имели. В отношении других Ig были получены противоречивые данные. Тем не менее в одном исследовании показано статистически значимое увеличение серопозитивности в отношении VCA IgA и EA IgG среди пациентов с ВЭБ⁺-РЖ, в отличие от пациентов с ВЭБ⁻-РЖ [55].

Как и в случае ПЦР-диагностики ВЭБ⁺-РЖ, следует принимать во внимание крайне низкую специфичность серологического метода исследования. Необходимо учитывать, что наличие серологических маркеров ВЭБ свидетельствует также о перенесенной ранее ВЭБ-инфекции или ее реактивации. В силу высокой распространенности в популяции латентной ВЭБ-инфекции интерпретация результатов серодиагностики ВЭБ⁺-РЖ представляет собой сложную задачу.

Таким образом, антитела к ВЭБ нельзя считать специфичными диагностическими маркерами, а их применение для определения ВЭБ-статуса при РЖ остается сомнительным.

Выявление циркулирующей ДНК ВЭБ методом ПЦР. Детекция опухольспецифичных биомаркеров в периферической крови и других биологических жидкостях лежит в основе жидкостной биопсии. Данный метод представляет собой анализ нуклеиновых кислот опухолевых клеток, свободно циркулирующих в плазме крови (цДНК).

С учетом моноклонального характера роста раковых клеток при ВЭБ⁺-РЖ вирусный геном может служить надежным опухолевым биомаркером. Возможность использования цДНК ВЭБ в качестве маркера ВЭБ⁺-РЖ была показана еще в 2001 г. [56]. При этом авторы описали корреляцию цДНК ВЭБ с выявлением EBER методом флуоресцентной ISH. В исследовании K. Shoda и соавт. оценили клиническую значимость жидкостной биопсии ВЭБ⁺-РЖ [57]. Чувствительность метода составила 71,4 % (10/14), специфичность — 97,1 % (135/139). Ложноотрицательные результаты (EBER-ISH⁺/цДНК ВЭБ⁻) были зафиксированы у пациентов, размеры аденокарцином которых составляли менее 70 мм. При этом была выявлена значительная корреляция размера опухоли с количеством цДНК ВЭБ. Следовательно, более низкая чувствительность метода может быть обусловлена недостаточным количеством цДНК вируса для детекции методом ПЦР в реальном времени при малом размере опухоли.

В отличие от ПЦР-анализа на вирусную ДНК в опухолевых тканях или серологического исследования, жидкостная биопсия не выявляет латентную ВЭБ-инфекцию, так как источниками цДНК считаются опухолевые клетки, погибшие в результате некроза или апоптоза. Этот факт и объясняет высокую специфичность метода.

Важным клиническим преимуществом жидкостной биопсии является также возможность неинвазивного мониторинга эффективности терапии и опухолевой прогрессии. Действительно, после хирургического

лечения ВЭБ⁺-РЖ вирусной ДНК в плазме крови ранее цДНК-ВЭБ-положительных пациентов обнаружено не было [57]. Однако эффективность жидкостной биопсии в диагностике и мониторинге ВЭБ⁺-РЖ необходимо подтвердить в проспективных исследованиях с участием большего числа пациентов.

Прогностическое значение выявления положительного статуса вируса Эпштейна-Барр при раке желудка

На сегодняшний день активно изучается клиническое значение TCGA классификации РЖ. На основе данных TCGA В.Н. Sohn и соавт. разработали первую прогностическую модель, установив статистически значимые корреляции определенных молекулярных подтипов РЖ с показателями выживаемости пациентов, а также с эффективностью адъювантной химиотерапии [58].

Оказалось, что ВЭБ⁺-РЖ имел наилучший прогноз в отношении как безрецидивной выживаемости ($p = 0,006$), так и общей выживаемости ($p = 0,004$), в то время как наихудший прогноз был связан с генетически стабильным подтипом (GS). Остальные 2 подтипа (MSI и CIN) заняли промежуточное положение по показателям выживаемости. Кроме этого, было подтверждено, что ВЭБ⁺-РЖ встречается чаще среди мужчин (79 %) и в более молодом возрасте, чем остальные подтипы (средний возраст 53 года; $p = 0,01$).

Наибольшая эффективность адъювантной химиотерапии была отмечена в подгруппе пациентов с CIN-подтипом РЖ, в которой наблюдалось значительное увеличение безрецидивной выживаемости (относительный риск (ОР) 0,39; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,16–0,94; $p = 0,03$). В группе пациентов с генетически стабильным РЖ (GS), напротив, статистически значимого эффекта от адъювантной химиотерапии не выявлено (ОР 0,83; 95 % ДИ 0,36–1,89; $p = 0,65$). Оценить эффективность адъювантной химиотерапии в подгруппе ВЭБ⁺-РЖ не удалось ввиду отсутствия контрольной группы. Авторы также разработали единую модель оценки риска рецидива после лечения (integrated risk assessment model, TRS), которая была успешно использована для определения прогноза безрецидивной выживаемости (ОР 1,5; 95 % ДИ 1,2–1,9; $p = 0,001$).

О том, что ВЭБ⁺-РЖ имеет более благоприятный прогноз, чем ВЭБ⁻-опухоли, свидетельствует также международный анализ 13 крупных многоцентровых исследований, объединивший данные 4599 пациентов с аденокарциномой желудка. Большинство злокачественных опухолей было диагностировано на поздних стадиях (52 % III–IV стадии). При этом присутствие ВЭБ определяло снижение относительного риска смерти по сравнению с ВЭБ⁻-статусом на 28 % (ОР 0,72; 95 % ДИ 0,61–0,86) [59]. Медиана выживаемости пациентов с ВЭБ⁺-РЖ составила 8,5 года, в то время как среди пациентов с ВЭБ⁻-РЖ этот показатель был 5,3 года ($p = 0,0006$).

Таким образом, наряду со стадированием TNM и степенью дифференцировки опухоли ВЭБ-статус являлся важным прогностическим фактором. Стоит отметить, что, несмотря на статистически значимые корреляции ВЭБ⁺-статуса с показателями выживаемости, ретроспективный характер проводимых ранее исследований не позволяет сделать окончательный вывод о прогностической роли ВЭБ-инфекции при злокачественных новообразованиях желудка, так же как остается неизученным вопрос влияния различных схем химиотерапии на ответ ВЭБ⁺-метастатического РЖ.

Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа в терапии рака желудка, ассоциированного с вирусом Эпштейна-Барр

Применение иммунотерапии, ингибиторов рецептора PD-1, его лиганда (PD-L1) и ингибиторов CTLA-4 позволило достичь значительных успехов в лечении ряда солидных опухолей, включая меланому и рак легкого. Показано, что гиперэкспрессия PD-L1 в опухолевых клетках желудка статистически значимо коррелирует с таким неблагоприятным клиническим параметром, как большой размер опухоли, наличием отдаленных метастазов и низкой выживаемостью [60]. Иммунотерапия представляет наибольший клинический интерес для ВЭБ⁺-РЖ в связи с повышенной экспрессией PD-L1. Эффективность и безопасность анти-PD-антитела пембролизумаба в лечении рецидивирующей или метастатической PD-L1-положительной аденокарциномы желудка были изучены в клиническом исследовании I фазы KEYNOTE-012 [61]. Общая частота ответов составила 22 %, выживаемость без прогрессирования и общая выживаемость — 1,9 и 11,4 мес соответственно. В целом пембролизумаб продемонстрировал приемлемый профиль токсичности и перспективную противоопухолевую активность. Однако в рандомизированном исследовании III фазы KEYNOTE-061 не было показано значительных преимуществ пембролизумаба перед паклитакселем во 2-й линии терапии у больных распространенным РЖ или раком пищевода-желудочного перехода. При этом подгрупповой анализ показал, что пациенты со статусом по шкале ECOG 0 больше выигрывали от применения пембролизумаба (ОР 0,69), как и больные раком пищевода-желудочного перехода (ОР 0,61). Пациенты с комбинированным показателем позитивности (CPS) ≥ 5 тоже имели преимущество при использовании пембролизумаба (ОР 0,73), как и пациенты с CPS ≥ 10 (ОР 0,64). Напротив, пациенты с CPS < 1 лучше отвечали на терапию паклитакселем

(ОР 1,20) [62]. Результаты другого исследования III фазы KEYNOTE-062 продемонстрировали, что для комбинированного лечения пембролизумабом и химиотерапией (цисплатин с фторпиримидинами) в 1-й линии общая выживаемость и выживаемость без прогрессирования были сопоставимы с таковыми при применении только химиотерапии независимо от значения CPS [63]. Также не дали значимых результатов исследования по использованию анти-CTLA4- и анти-PD-L1-антител при метастатическом РЖ [64, 65].

Такие противоречивые результаты по применению чекпойнт-ингибиторов при РЖ определили необходимость поиска биомаркеров их эффективности. В недавно опубликованном проспективном исследовании II фазы впервые была показана очень высокая частота ответов на терапию пембролизумабом среди пациентов с метастатическим ВЭБ⁺-РЖ и MSI-подтипом РЖ (общая частота ответов — 100 и 85,7 % соответственно). Авторы исследования сделали вывод о том, что ВЭБ⁺-статус и высокая MSI служат дополнительными достоверными предикторами ответа на иммунотерапию наряду с высокой экспрессией PD-L1 в опухоли по данным иммуногистохимического исследования. Было предложено ввести в клиническую практику рутинное определение ВЭБ⁺-статуса в целях выявления пациентов с аденокарциномами желудка, для которых иммунотерапия была бы наиболее эффективна [66].

Заключение

Рак желудка, ассоциированный с ВЭБ, является отдельным подтипом опухолей ЖКТ. Этот подтип чаще встречается в более молодой возрастной группе, преимущественно среди мужчин. ВЭБ⁺-РЖ, как правило, включает аденокарциномы диффузного типа, локализованные в проксимальных отделах желудка, и имеет лучший прогноз среди всех 5 подтипов аденокарцином ЖКТ. Кроме характерного клинико-патологического фенотипа ВЭБ⁺-аденокарциномы желудка имеют отличительные молекулярные особенности: уникальный мутационный статус (частые мутации генов *PIK3CA*, *ARID1A* и *BCOR*, амплификации *PD-L1* и *PD-L2*) и эпигенетический профиль. Этот подтип характеризуется наибольшей иммуногенностью среди всех опухолей ЖКТ. Данные характеристики позволяют предположить, что успешным терапевтическим подходом для этого подтипа может стать иммунотерапия. Дальнейшие исследования по идентификации молекулярных характеристик ВЭБ⁺-РЖ позволят выявить потенциальные терапевтические мишени для персонализированного лечения этой патологии.

Л И Т Е Р А Т У Р А / R E F E R E N C E S

1. Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R. et al. Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int J Cancer* 2015;136(5):E359–86. DOI: 10.1002/ijc.29210.
2. Burke A.P., Yen T.S., Shekitka K.M., Sobin L.H. Lymphoepithelial carcinoma of the stomach with Epstein–Barr virus demonstrated by polymerase chain reaction. *Mod Pathol* 1990;3(3):377–80.
3. Shibata D., Weiss L.M. Epstein–Barr virus-associated gastric adenocarcinoma. *Am J Pathol* 1992;140(4):769–74.
4. Hoshikawa Y., Satoh Y., Murakami M. et al. Evidence of lytic infection of Epstein–Barr virus (EBV) in EBV-positive gastric carcinoma. *J Med Virol* 2002;66(3):351–9. DOI: 10.1002/jmv.2152.
5. Imai S., Koizumi S., Sugiura M. et al. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein–Barr virus latent infection protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91(19):9131–5. DOI: 10.1073/pnas.91.19.9131.
6. Fukayama M., Hayashi Y., Iwasaki Y. et al. Epstein–Barr virus-associated gastric carcinoma and Epstein–Barr virus infection of the stomach. *Lab Invest* 1994;71(1):73–81.
7. Ott G., Kirchner T., Muller-Hermelink H.K. Monoclonal Epstein–Barr virus genomes but lack of EBV-related protein expression in different types of gastric carcinoma. *Histopathology* 1994;25(4):323–9. DOI: 10.1111/j.1365-2559.1994.tb01350.x.
8. Naseem M., Barzi A., Brezden-Masley C. et al. Outlooks on Epstein–Barr virus associated gastric cancer. *Cancer Treat Rev* 2018;66:15–22. DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.03.006.
9. The Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive molecular characterization of gastric adenocarcinoma. *Nature* 2014;513(7517):202–9. DOI: 10.1038/nature13480.
10. Hinoue T., Bass A.J., Laird P.W. Comparative molecular analysis of gastrointestinal comparative molecular analysis of gastrointestinal adenocarcinomas. *Cancer Cell* 2018;33(4):721–35. DOI: 10.1016/j.ccell.2018.03.010.
11. Akiba S., Koriyama C., Herrera-Goepfert R., Eizuru Y. Epstein–Barr virus associated gastric carcinoma: epidemiological and clinicopathological features. *Cancer Sci* 2008;99(2):195–201. DOI: 10.1111/j.1349-7006.2007.00674.x.
12. Lee J.H., Kim S.H., Han S.H. et al. Clinicopathological and molecular characteristics of Epstein–Barr virus associated gastric carcinoma: a meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24(3):354–65. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05775.x.
13. Abe H., Maeda D., Hino R., Otake Y. ARID1A expression loss in gastric cancer: pathway-dependent roles with and without Epstein–Barr virus infection and microsatellite instability. *Virchows Arch* 2012;461(4):367–77. DOI: 10.1007/s00428-012-1303-2.
14. Koh J., Ock C.Y., Kim J.W. et al. Clinicopathologic implications of immune classification by PD-L1 expression and CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes in stage II and III gastric cancer patients. *Oncotarget* 2017;8(16):26356–67. DOI: 10.18632/oncotarget.15465.
15. Derks S., Liao X., Chiaravalli A.M. et al. Abundant PD-L1 expression in Epstein–Barr virus-infected gastric cancers. *Oncotarget* 2016;7(22):32925–32. DOI: 10.18632/oncotarget.9076.
16. Chesnokova L.S., Hutt-Fletcher L.M. Epstein–Barr virus infection mechanisms. *Chin J Cancer* 2014;33(11):545–8. DOI: 10.5732/cjc.014.10168.
17. Abe H., Kaneda A., Fukayama M. Epstein–Barr virus-associated gastric carcinoma: use of host cell machineries and somatic gene mutations. *Pathobiology* 2015;82(5):212–23. DOI: 10.1159/000434683.
18. Frappier L. Contributions of Epstein–Barr nuclear antigen 1 (EBNA1) to cell immortalization and survival. *Viruses* 2012;4(9):1537–47. DOI: 10.3390/v4091537.
19. Chen C., Li D., Guo N. Regulation of cellular and viral protein expression by the Epstein–Barr virus transcriptional regulator Zta: implications for therapy of EBV associated tumors. *Cancer Biol Ther* 2009;8(11):987–95. DOI: 10.4161/cbt.8.11.8369.
20. Kang G.H., Lee S., Kim W.H. et al. Demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. *Am J Pathol* 2002;160(3):787–94. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64901-2.
21. Hino R., Uozaki H., Murakami N. et al. Activation of DNA methyltransferase 1 by EBV latent membrane protein 2A leads to promoter hypermethylation of *PTEEN* gene in gastric carcinoma. *Cancer Res* 2009;69(7):2766–74. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3070.
22. Shinozaki-Ushiku A., Kunita A., Fukayama M. Update on Epstein–Barr virus and gastric cancer. *Int J Oncol* 2015;46(4):1421–34. DOI: 10.3892/ijo.2015.2856.
23. Shinozaki-Ushiku A., Kunita A., Isogai M. et al. Profiling of virus-encoded microRNAs in Epstein–Barr virus-associated gastric carcinoma and their roles in gastric carcinogenesis. *J Virol* 2015;89(10):5581–91. DOI: 10.1128/JVI.03639-14.
24. Gu J., Qian H., Shen L. et al. Gastric cancer exosomes trigger differentiation of umbilical cord derived mesenchymal stem cells to carcinoma-associated fibroblasts through TGF- β /Smad pathway. *PLoS One* 2012;7(12):e52465. DOI: 10.1371/journal.pone.0052465.
25. Samuels Y., Waldman T. Oncogenic mutations of PIK3CA in human cancers. *Curr Top Microbiol Immunol* 2010;347:21–41. DOI: 10.1007/82_2010_68.
26. Yuen J.W., Chung G.T., Lun S.W. et al. Epigenetic inactivation of inositol polyphosphate 4-phosphatase B (INPP4B), a regulator of PI3K/AKT signaling pathway in EBV-associated nasopharyngeal carcinoma. *PLoS One* 2014;9(8):e105163. DOI: 10.1371/journal.pone.0105163.
27. Ohtsu A., Ajani J.A., Bai Y.X. et al. Everolimus for previously treated advanced gastric cancer: results of the randomized, double-blind, phase III GRANITE-1 study. *J Clin Oncol* 2013;31(31):3935–43. DOI: 10.1200/JCO.2012.48.3552.
28. Al-Batran S.E., Riera-Knorrenschild J., Pauligk C. et al. A randomized, doubleblind, multicenter phase III study evaluating paclitaxel with and without RAD001 in patients with gastric cancer who have progressed after therapy with a fluoropyrimidine/platinum-containing regimen (RADPAC). *J Clin Oncol* 2017;35(4_suppl):4.
29. Ramanathan R.K., McDonough S.L., Kennecke H.F. et al. Phase 2 study of MK-2206, an allosteric inhibitor of AKT, as second-line therapy for advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: a SWOG cooperative group trial (S1005). *Cancer* 2015;121(13):2193–7. DOI: 10.1002/cncr.29363.
30. Wang K., Law S., Wang K. et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer Exome sequencing identifies frequent mutation of ARID1A in molecular subtypes of gastric cancer. *Nat Genet* 2011;43(12):1219–23. DOI: 10.1038/ng.982.
31. Day L., Chau C.M., Nebozhyn M. et al. Chromatin profiling of Epstein–Barr virus latency control region. *J Virol* 2007;81(12):6389–401. DOI: 10.1128/JVI.02172-06.
32. Grossmann V., Tiaci E., Holmes A.B. et al. Whole-exome sequencing identifies somatic mutations of BCOR in acute myeloid leukemia with normal karyotype. *Blood* 2011;118(23):6153–63. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365320.
33. Yu H., Lee H., Herrmann A. et al. Revisiting STAT3 signaling in cancer: new

- and unexpected biological functions. *Nat Rev Cancer* 2014;14(11):736–46. DOI: 10.1038/nrc3818.
34. Kim D.Y., Cha S.T., Ahn D.H. et al. STAT3 expression in gastric cancer indicates a poor prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2009;24(4):646–51. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05671.x.
 35. Han J., Zhang K., Chen X. et al. Expression of seven gastric cancer-associated genes and its relevance for Wnt, NF- κ B and Stat3 signaling. *APMIS* 2007;115(12):1331–43. DOI: 10.1111/j.1600-0643.2007.00695.x.
 36. Sonbol M.B., Bekaii-Saab T. A clinical trial protocol paper discussing the BRIGHTER study. *Future Oncol* 2018;14(10):901–6. DOI: 10.2217/fon-2017-0406.
 37. Geddert H., Zur Hausen A., Gabbert H.E., Sarbia M. EBV-infection in cardiac and non-cardiac gastric adenocarcinomas is associated with promoter methylation of p16, p14 and APC, but not hMLH1. *Anal Cell Pathol (Amst)* 2010;33(3):143–9. DOI: 10.3233/ACP-CLO-2010-0540.
 38. Chang M., Uozaki H., Chong J. et al. Human cancer biology CpG island methylation status in gastric carcinoma with and without infection of Epstein–Barr virus. *Clin Cancer Res* 2006;12(10):2995–3002. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1601.
 39. dos Jacome A.A.A., de Lima E.M., Kazzi A.I. et al. Epstein–Barr virus-positive gastric cancer: a distinct molecular subtype of the disease? *Rev Soc Bras Med Trop* 2016;49(2):150–7. DOI: 10.1590/0037-8682-0270-2015.
 40. Dong H., Strome S., Salomao D. et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002;8(8):793–800. DOI: 10.1038/nm730.
 41. Pereira M.A., Ramos M.F., Faraj S.F. et al. Clinicopathological and prognostic features of Epstein–Barr virus infection, microsatellite instability, and PD-L1 expression in gastric cancer. *J Surg Oncol* 2018;117:829–39. DOI: 10.1002/jso.25022.
 42. Chen B.J., Chapuy B., Ouyang J. et al. PD-L1 expression is characteristic of a subset of aggressive B-cell lymphomas and virus-associated malignancies. *Clin Cancer Res* 2013;19(13):3462–73. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-0855.
 43. Green M.R., Rodig S., Juszczynski P. et al. Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-L1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: implications for targeted therapy. *Clin Cancer Res* 2012;18(6):1611–8. DOI: 10.1158/1078-0432.
 44. Chen X.Z., Chen H., Castro F.A. et al. Epstein–Barr virus infection and gastric cancer: a systematic review. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(20):e792. DOI: 10.1097/MD.0000000000000792.
 45. Tokunaga M., Land C.E., Uemura Y. et al. Epstein–Barr virus in gastric carcinoma. *Am J Pathol* 1993;143(5):1250–4.
 46. Shukla S.K., Prasad K.N., Tripathi A. et al. Epstein–Barr virus DNA load and its association with *Helicobacter pylori* infection in gastroduodenal diseases. *Braz J Infect Dis* 2011;15(6):583–90.
 47. Martinez-Lopez J.L., Torres J., Camorlinga-Ponce M. et al. Evidence of Epstein–Barr virus association with gastric cancer and non-atrophic gastritis. *Viruses* 2014;6(1):301–18. DOI: 10.3390/v6010301.
 48. Lee M.A., Hong Y.S., Kang J.H. et al. Detection of Epstein–Barr virus by PCR and expression of LMP1, p53, CD44 in gastric cancer. *Korean J Intern Med* 2004;19(1):43–7. DOI: 10.3904/kjim.2004.19.1.43.
 49. Oda K., Koda K., Takiguchi N. et al. Original article detection of Epstein–Barr virus in gastric carcinoma cells and surrounding lymphocytes. *Gastric Cancer* 2003;6(3):173–8. DOI: 10.1007/s10120-003-0247-2.
 50. Shukla S., Prasad K., Tripathi A. et al. Expression profile of latent and lytic transcripts of Epstein–Barr virus in patients with gastroduodenal diseases: a study from northern India. *J Med Virol* 2012;84(8):1289–97. DOI: 10.1002/jmv.23322.
 51. Rowlands D.C., Ito M., Mangham D.C. et al. Epstein–Barr virus and carcinomas: rare association of the virus with gastric adenocarcinomas. *Br J Cancer* 2016;114(12):e15. DOI: 10.1038/bjc.2016.156.
 52. Kim Y., Shin A., Gwack J. et al. Epstein–Barr virus antibody level and gastric cancer risk in Korea: a nested case-control study. *Br J Cancer* 2009;101(3):526–9. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605146.
 53. Koshiol J., Qiao Y.L., Dawsey S.M. et al. Epstein–Barr virus serology and gastric cancer incidence and survival. *Br J Cancer* 2007;97(11):1567–9. DOI: 10.1038/sj.bjc.6604063.
 54. Levine P.H., Stemmermann G., Lennette E.T. et al. Elevated antibody titers to Epstein–Barr virus prior to the diagnosis of Epstein–Barr-virus-associated gastric adenocarcinoma. *Int J Cancer* 1995;60(5):642–4. DOI: 10.1002/ijc.2910600513.
 55. Shinkura R., Yamamoto N., Koriyama C. et al. Epstein–Barr virus-specific antibodies in Epstein–Barr virus-positive and -negative gastric carcinoma cases in Japan. *J Med Virol* 2000;60(4):411–6. DOI: 10.1002/(sici)1096-9071(200004)60:4<411::aid-jmv8>3.0.co;2-8.
 56. Lo Y.M., Chan W.Y., Ng E.K. et al. Circulating Epstein–Barr virus DNA in the serum of patients with gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7(7):1856–9.
 57. Shoda K., Ichikawa D., Fujita Y. et al. Clinical utility of circulating cell-free Epstein–Barr virus DNA in patients with gastric cancer. *Oncotarget* 2017;8(17):28796–804. DOI: 10.18632/oncotarget.15675.
 58. Sohn B.H., Hwang J.E., Jang H.J. et al. Clinical significance of four molecular subtypes of gastric cancer identified by the cancer genome atlas project. *Clin Cancer Res* 2017. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2211.
 59. Camargo M.C., Kim W.H., Chiaravalli A.M. et al. Improved survival of gastric cancer with tumour Epstein–Barr virus positivity: an international pooled analysis. *Gut* 2014;63(2):236–43. DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304531.
 60. Qing Y., Li Q., Ren T. et al. Upregulation of PD-L1 and APE1 is associated with tumorigenesis and poor prognosis of gastric cancer. *Drug Des Devel Ther* 2015;16(9):901–9. DOI: 10.2147/DDDT.S75152.
 61. Muro K., Bang Y.J., Shankaran V. et al. Relationship between PD-L1 expression and clinical outcomes in patients (Pts) with advanced gastric cancer treated with the anti-PD-1 monoclonal antibody pembrolizumab (Pembro; MK-3475) in KEYNOTE-012. *J Clin Oncol* 2015;33(3 suppl):3.
 62. Shitara K., Ozguroglu M., Bang Y.J. et al. Pembrolizumab versus paclitaxel for previously treated, advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (KEYNOTE-061): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2018;392(10142):123–33. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31257-1.
 63. Tabernero J., Van Cutsem E., Bang Y.J. et al. Pembrolizumab with or without chemotherapy versus chemotherapy for advanced gastric or gastroesophageal junction (G/GEJ) adenocarcinoma: the phase III KEYNOTE-062 study. *J Clin Oncol* 2019;37(18). DOI: 10.1200/JCO.2019.37.18_suppl.LBA4007.
 64. Bang Y.J., Cho J.Y., Kim Y.H. et al. Efficacy of sequential ipilimumab monotherapy versus best supportive care for unresectable locally advanced/metastatic gastric or gastroesophageal junction cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23(19):5671–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-0025.
 65. Bang Y.J., Ruiz E.Y., van Cutsem E. Phase III, randomised trial of avelumab versus physician's choice of chemotherapy as third-line treatment of patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer: primary analysis of JAVELIn Gastric 300. *Ann Oncol* 2018;29(10):2052–60. DOI: 10.1093/annonc/mdy264.
 66. Kim S.T., Cristescu R., Bass A.J. et al. Comprehensive molecular characterization of clinical responses to PD-1 inhibition in metastatic gastric cancer. *Nat Med* 2018;24(9):1449–588. DOI: 10.1038/s41591-018-0101-z.

Вклад авторов

Е.О. Игнатова: разработка дизайна публикации, обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;
 Д.А. Серяк: поиск и анализ данных литературы;
 М.Ю. Федянин, А.А. Трякин: разработка дизайна рукописи;
 И.А. Покатаев, С.Ф. Меньшикова, М.С. Карбышев: обзор публикаций по теме статьи;
 Ю.В. Вахабова: обзор и анализ публикаций по теме статьи;
 К.В. Смирнова: обзор публикаций по теме статьи, написание текста рукописи;
 С.А. Тюляндин: разработка дизайна публикации, редактирование текста рукописи.

Authors' contributions

E.O. Ignatova: developing the publication design, reviewing of publications of the article's theme, article writing;
 D.A. Seryak: search and analysis of literature data;
 M.Yu. Fedyanin, A.A. Tryakin: developing the publication design;
 I.A. Pokataev, S.F. Menshikova, M.S. Karbyshev: reviewing of publications of the article's theme;
 Yu.V. Vakhobova: review and analysis of publications of the article's theme;
 K.V. Smirnova: reviewing of publications of the article's theme, article writing;
 S.A. Tulyandin: developing the publication design, article editing.

ORCID авторов / ORCID of authors

Е.О. Игнатова / E.O. Ignatova: <https://orcid.org/0000-0002-8114-7885>
 Д.А. Серяк / D.A. Seryak: <https://orcid.org/0000-0003-3884-9256>
 М.Ю. Федянин / M.Yu. Fedyanin: <https://orcid.org/0000-0001-5615-7806>
 А.А. Трякин / A.A. Tryakin: <https://orcid.org/0000-0003-2245-214X>
 И.А. Покатаев / I.A. Pokataev: <https://orcid.org/0000-0001-9864-3837>
 Ю.В. Вахабова / Yu.V. Vakhobova: <https://orcid.org/0000-0002-2209-4410>
 М.С. Карбышев / M.S. Karbyshev: <https://orcid.org/0000-0001-5969-3874>
 К.В. Смирнова / K.V. Smirnova: <https://orcid.org/0000-0001-6209-977X>
 С.А. Тюляндин / S.A. Tulyandin: <https://orcid.org/0000-0001-9807-2229>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование. Исследование выполнено в рамках экспериментального государственного задания Минздрава России при координации ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА, а также поддержано грантом Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 18-015-00505А).

Financing. Research is conducted under the auspices of the experimental governmental assignment of the Ministry of Health of Russia and coordinated by the Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Medical and Biological Agency, also it was financially supported by the grant of the Russian Foundation for Basic Research (project No. 18-015-00505A).

Статья поступила: 14.10.2020. **Принята к публикации:** 28.10.2020.

Article submitted: 14.10.2020. **Accepted for publication:** 28.10.2020.