

DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-2-70-77



Экспрессия лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1) при раке желудка: обзор литературы

Т.Н. Сотникова¹, Н.В. Данилова², П.Г. Мальков², Т.В. Полушкина^{1,2}

¹ГБУЗ «Городская клиническая больница им. И.В. Давыдовского Департамента здравоохранения г. Москвы»; Россия, 109240 Москва, ул. Яузская, 11;

²Медицинский научно-образовательный центр ФГБОУ ВО «Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова»; Россия, 119234 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 53

Контакты: Татьяна Валерьевна Полушкина peperonya1173@yandex.ru

Рак желудка в настоящее время является одним из самых распространенных онкологических заболеваний, что обуславливает значимость и актуальность исследований в этой области. Ингибиторы иммунологических контрольных точек ранее продемонстрировали свою эффективность и безопасность при различных солидных опухолях, однако, что касается рака желудка, на сегодняшний день представлены неоднозначные результаты. Клетки опухоли экспрессируют лиганд запрограммированной смерти 1 (PD-L1), который связывается с рецептором запрограммированной смерти 1 (PD-1). Иммунная защита играет ключевую роль в инициации и прогрессировании заболевания. Понимание регуляторного механизма PD-L1 при раке желудка может привести к существенному прогрессу в иммунотерапии, а также способствовать адекватному отбору пациентов для лечения ингибиторами иммунологических контрольных точек. В обзоре мы провели углубленное исследование экспрессии PD-L1 и регуляторных иммуносупрессивных механизмов при раке желудка, методов оценки PD-L1-статуса, а также изучили результаты текущих клинических испытаний, в которых были рассмотрены ингибиторы иммунологических контрольных точек в комбинации с химиотерапией и без нее при данной онкологической патологии.

Ключевые слова: рак желудка, иммунные клетки, лиганд программируемой клеточной гибели 1, опухоль, рецепторы, сигнальные пути

Для цитирования: Сотникова Т.Н., Данилова Н.В., Мальков П.Г., Полушкина Т.В. Экспрессия лиганда рецептора программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1) при раке желудка: обзор литературы. Успехи молекулярной онкологии 2023;10(2):70–7. DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-2-70-77

Programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in gastric cancer: literature review

T.N. Sotnikova¹, N.V. Danilova², P.G. Malkov², T.V. Polushkina^{1,2}

¹I.V. Davydovsky City Clinical Hospital of the Moscow Healthcare Department; 11 Yauzskaya St., Moscow 109240, Russia;

²Medical Scientific and Educational, Lomonosov Moscow State University; Bld. 53, 1 Leninskie Gory, Moscow 119234, Russia

Contacts: Tatiana Valeryevna Polushkina peperonya1173@yandex.ru

Gastric cancer is one of the most common oncological diseases at the present time, so research in this area is very significant and relevant. Immunological checkpoint inhibitors have previously demonstrated their effectiveness and safety in various solid tumors, however, with regard to stomach cancer, to date, ambiguous results have been presented. Tumor cells express programmed death ligand 1 (PD-L1), which binds to its programmed death receptor 1 (PD-1). Immune defense plays a key role in the initiation and progression of the disease. Understanding the regulatory mechanism of PD-L1 in gastric cancer can lead to significant progress in immunotherapy, as well as contribute to the adequate selection of patients treated with checkpoint inhibitors. In the review, we conducted an in-depth study of PD-L1 expression and regulatory immunosuppressive mechanisms in gastric cancer and methods for assessing PD-L1 status, and also studied the results of current clinical trials in which inhibitors of immunological control points were considered in combination with and without chemotherapy for this oncopathology.

Keywords: gastric cancer, immune cells, ligand of programmed cell death, tumor, programmed death ligand 1, receptors, signaling pathways

For citation: Sotnikova T.N., Danilova N.V., Malkov P.G., Polushkina T.V. Programmed death ligand 1 (PD-L1) expression in gastric cancer: literature review. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii* = *Advances in Molecular Oncology* 2023;10(2):70–77. (In Russ.). DOI: 10.17650/2313-805X-2023-10-2-70-77

ВВЕДЕНИЕ

Рак желудка (РЖ) находится на 5-м месте по распространенности и на 3-м — по уровню летальности среди онкологических заболеваний в мире [1]. По данным официальной статистики по злокачественным новообразованиям (ЗНО), в Российской Федерации за последние годы распространенность РЖ составила в среднем 93–95 случаев на 100 тыс. населения [2]. Несмотря на то что показатель заболеваемости к 2018 г. снизился на 12,62 % по сравнению с 2008 г. (25,16 и 28,61 случая на 100 тыс. населения соответственно), абсолютное число новых случаев этой патологии составляет порядка 35–40 тыс. в год [3]. Принимаемые меры по активному выявлению онкологических заболеваний привели к некоторому увеличению доли ранних стадий (I–II) в общей структуре заболеваемости РЖ (с 25,1 до 35,1 % за период с 2008 по 2018 г.), однако по-прежнему значительное число его случаев диагностируется на поздних стадиях (в 2018 г. РЖ обнаружен на III и IV стадиях в 22,9 и 39,9 % случаев соответственно) [2]. Летальность в течение 1-го года после установления диагноза приближается к 50 % [2].

Прогноз при распространенном и метастатическом РЖ остается неблагоприятным: медиана выживаемости колеблется в пределах нескольких месяцев. Препараты платины в сочетании с фторпиримидинами применяются в качестве стандартной терапии 1-й линии для лечения пациентов с этими формами РЖ. При неэффективности или непереносимости данной терапии применяют доцетаксел, паклитаксел или иринотекан в качестве монотерапии, а также рамуцирумаб в качестве монотерапии или в комбинации с паклитакселом. Практически у всех пациентов с РЖ поздних стадий наблюдается прогрессирование заболевания на фоне лечения.

Поиск новых терапевтических возможностей основывается на изучении сложной биологии ЗНО, понимании тонких генетических и иммунологических механизмов их развития и прогрессирования.

МЕХАНИЗМ МОДУЛЯЦИИ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Согласно современным представлениям, степень выраженности иммунного ответа на антиген модулируется системой стимулирующих и ингибирующих корцепторных взаимодействий. Так, для активации Т-лимфоцита, помимо связывания Т-клеточного рецептора со специфическим антигеном, требуется связывание стимулирующего корцептора CD28 с лигандом B7 на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Кроме того, активность иммунной системы контролируется системой ингибирующих корцепто-

ров, так называемых иммунологических контрольных точек (immune checkpoints, ИКТ), что необходимо для регуляции численности пролиферирующих клеточных популяций и элиминации аутореактивных клонов. Цитотоксический Т-лимфоцит-ассоциированный белок 4 (cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4, CTLA-4) — ингибирующий корцептор Т-лимфоцитов — конкурирует с CD28 за лиганды на поверхности антигенпрезентирующих клеток. Таким образом, адекватный иммунный ответ достигается благодаря динамическому балансу между CD28-зависимой костимулирующей активацией и CTLA-4-зависимым ингибированием пролиферации Т-лимфоцитов. В отсутствие костимулирующего сигнала CD28 наблюдается анергия лимфоцитов, а при дефекте гена CTLA-4 — неконтролируемая пролиферация цитотоксических Т-лимфоцитов.

РОЛЬ ЛИГАНДА РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ 1 В ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Рецептор программируемой клеточной гибели 1 (programmed cell death 1, PD-1) был описан группой ученых под руководством Тасуку Хондзэ (Tasuku Honjo) в ходе изучения процессов программируемой клеточной гибели в культурах лимфоидных клеток. Изначально предполагалось, что экспрессия PD-1 служит триггером апоптоза [4]. Позже было показано, что PD-1 неотъемлемо экспрессируется на поверхности Т- и В-лимфоцитов при активации этих клеток антигеном, что не всегда приводит к их гибели, в связи с чем появилась гипотеза о роли данного белка в дифференцировке иммунных клеток [5].

Благодаря структурному сходству с CTLA-4 и наличию в его цитоплазматическом домене ингибирующих тирозинсодержащих аминокислотных последовательностей ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif), PD-1 также был отнесен к ИКТ. Вскоре были открыты специфические лиганды PD-1 PD-L1 и PD-L2 (programmed cell death ligand 1 и 2) [6, 7]. Их экспрессия наблюдается в норме на поверхности клеток жизненно важных органов, в том числе сердца, легких, почек и других, что свидетельствует о роли PD-1/PD-L1-сигнального пути в поддержании периферической ауто-толерантности.

Экспрессия PD-L1 была обнаружена в клетках некоторых опухолей, в связи с чем высказано предположение о возможной роли PD-1/PD-L1-сигнального пути в ускользании опухолевых клеток из-под иммунного надзора и вместе с тем — гипотеза о возможности терапевтического применения специфических антител-блокаторов ИКТ при ряде ЗНО. Вскоре в эксперименте было показано, что при наличии

индуцированной экспрессии PD-L1 на клетках мастоцитомы мыши наблюдается быстрый инвазивный рост опухоли при сниженной цитолитической активности CD8+T-лимфоцитов, а введение анти-PD-L1-антител приводит к существенному замедлению роста опухоли [8]. Это положило начало новому перспективному направлению в лечении ЗНО — иммунотерапии.

Степень экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках коррелирует с локальным уровнем интерферона γ (ИФН- γ) и плотностью лимфоцитарной инфильтрации, так же как и в нормальных эпителиальных и стромальных клетках при воспалении. Данная корреляция была показана не только между различными опухолями, но и в разных участках одной и той же опухоли. J.M. Taube и соавт. [9] показали, что в PD-L1+-опухолях наиболее выраженная экспрессия наблюдается в областях, инфильтрированных лимфоцитами, что свидетельствует о наличии непрерывного динамического процесса взаимодействия опухоли и иммунной системы, при котором секреция ИФН- γ эффекторными Т-лимфоцитами стимулирует экспрессию PD-L1 опухолевыми клетками. Такая экспрессия, в свою очередь, подавляет активность PD-1+-Т-лимфоцитов.

ПЕРВЫЕ ЗАРЕГИСТРИРОВАННЫЕ ИММУНОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Первым препаратом для иммунотерапии ЗНО стал ипилимумаб (ipilimumab), представляющий собой рекомбинантные человеческие моноклональные анти-CTLA-4-антитела. Специфических лигандов для CTLA-4 клетки опухолей не экспрессируют, блокирование данного сигнального пути не предполагает прямого воздействия на эти клетки и в целом подразумевает усиление эффекторной активности Т-лимфоцитов. Известно, что мыши, лишённые гена *CTLA-4*, погибают в возрасте 3–4 нед от деструктивного аутоиммунного миокардита и панкреатита [10], однако при частичной блокаде *CTLA-4* в ходе лечения ипилимумабом было показано увеличение показателей общей выживаемости или стабилизация заболевания у больных метастатической меланомой [11–14]. В связи с этим в 2011 г. данный препарат был одобрен Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (Food and Drug Administration) США для лечения меланомы на поздних стадиях, несмотря на развитие тяжелых иммуноассоциированных побочных реакций у 10–15 % пациентов [14].

Ниволумаб (nivolumab, человеческие моноклональные антитела) стал первым анти-PD-1-агентом, продемонстрировавшим в исследовании, завершённом в 2012 г., клиническую эффективность при лечении некоторых видов рака, в том числе меланомы, почечно-клеточного рака и немелкоклеточного рака легкого [15]. Интерес представляет то, что среди пациентов, у которых наблюдался объективный ответ на терапию ингибиторами ИКТ, продолжительность

эффекта значительно превысила период полувыведения препаратов. Больше 2 лет прожили 18 % пациентов, получавших ипилимумаб, тогда как в группе контроля — только 5 % [14]. Продолжительность объективного ответа >1 года после курса ниволумаба наблюдалась также у 20 из 31 длительно наблюдаемых больных [15]. О ресенсибилизирующем воздействии иммунотерапии на иммунную систему свидетельствует также нередко отсроченное наступление эффекта, вплоть до 6 мес после лечения [16].

Ниволумаб был одобрен FDA для лечения меланомы на поздней стадии онкологического процесса 22 декабря 2014 г. В дальнейшем на основании ряда крупных клинических исследований, показавших высокую частоту объективного ответа и статистически значимое увеличение общей выживаемости, применение нескольких ингибиторов PD-1/PD-L1 было одобрено для лечения многих солидных опухолей, меланомы и лимфомы, нечувствительных к общепринятым схемам химиотерапии.

Мишенью для каждого из препаратов являются разные эпитопы PD-1/PD-L1, что определяет различия в их иммуногенных профилях и терапевтических диапазонах. Ниволумаб и пембролизумаб одобрены для лечения распространенного и метастатического РЖ при неэффективности химиотерапии.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ ЛИГАНДА РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТЧНОЙ ГИБЕЛИ 1

Исследования, посвященные поиску возможных биомаркеров эффективности иммунотерапии, показали большую вероятность ответа при положительной экспрессии PD-L1 в различных солидных опухолях [17]. Однако данные клинических исследований свидетельствуют о неоднозначной прогностической ценности PD-L1 в связи с высокой гетерогенностью экспрессии, в том числе в зависимости от ранее проведенного лечения. Недостаток надежности PD-L1 в качестве биомаркера усугубляется большим количеством способов выявления экспрессии и методик оценки и классификации PD-L1-статуса. Один и тот же клон антител может иметь разную способность обнаруживать экспрессию PD-L1 в клетках различных видов опухолей, в свою очередь, различные клоны демонстрируют разные паттерны окрашивания в одной и той же опухоли. Интенсивность окрашивания способна варьировать в рамках даже 1 клинического случая. Неоднородность экспрессии затрудняет выбор наиболее репрезентативного участка опухоли для проведения иммуногистохимического исследования. В большинстве случаев для определения PD-L1-статуса при РЖ используется материал центральной части первичной опухоли, однако есть работы, в которых экспрессию PD-L1 наблюдали преимущественно в области инвазивного фронта опухоли [18]. Экспрессия, обнаруженная в биопсийном материале, может не отражать

PD-L1-статуса опухоли в целом, быть неодинаковой в первичной и рецидивной опухолях, множественных опухолях, метастазах [19].

Существует довольно большое количество коммерческих тест-систем, предназначенных для иммуногистохимического определения экспрессии PD-L1 в опухолях. Все они относятся к одной из двух принципиально отличающихся категорий: тест-системы для сопровождающей диагностики и тест-системы для комплементарной диагностики. Классически положительный результат сопровождающего диагностического теста является необходимым условием для назначения определенного препарата, поскольку в случае отрицательного результата его применение может способствовать прогрессированию заболевания. В ситуациях применения тест-системы для комплементарной диагностики отрицательный результат не должен служить противопоказанием к лечению данным препаратом. В этом случае положительный результат может быть лишь предиктором большей вероятности положительного ответа на такую терапию.

Сегодня разработка диагностических тест-систем для определения PD-L1-статуса опухолей ведется в основном в кооперации с производителями тех или иных лекарственных средств, а тестирование их чувствительности и специфичности проводится в рамках клинических исследований соответствующего препарата. Таким образом, сопровождающей тест-системой для определения экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера эффективности конкретного препарата на сегодняшний день считается определенный клон анти-PD-L1-антител с конкретными набором реагентов и методикой применения, апробированный в клинических исследованиях и показавший прогностическую ценность.

Первая тест-система, одобренная FDA для сопровождающей диагностики экспрессии PD-L1 (PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, Dako, США), разрабатывалась параллельно с изучением эффективности пембролизумаба для лечения немелкоклеточного рака легкого в клиническом исследовании I фазы Keynote-001 [20]. Тестирование системы проводилось на диагностическом материале пациентов, включенных в исследование при известном исходе лечения.

При разработке системы концентрация антител (клон 22C3, Dako, США) и время инкубации для каждого реагента подбирались таким образом, чтобы свести к минимуму неспецифическое окрашивание гистологических препаратов [21]. Критерием положительного PD-L1-статуса было выбрано полное циркулярное или частичное окрашивание мембраны клеток интенсивностью от слабой (1+) до выраженной (3+).

МЕТОДИКИ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ЛИГАНДА РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ 1

Были исследованы несколько методик оценки PD-L1-статуса опухоли и их корреляция с эффектив-

ностью лечения: 1) определение процента опухолевых клеток, демонстрирующих окрашивание любой интенсивности (Proportion Score 1, PS1); 2) определение процента опухолевых клеток, демонстрирующих умеренное или выраженное окрашивание (PS2); 3) определение процента опухолевых клеток, демонстрирующих только выраженное окрашивание (PS3) и 4) гистохимический индекс (Histochemical Score, HS) – сумма PS1, PS2 и PS3.

Несмотря на то что несколько лучшие результаты были получены с использованием HS, эта методика сложна для использования в рутинной клинической практике. В связи с этим для дальнейшей разработки тест-системы был выбран наиболее простой метод оценки PD-L1-статуса опухоли – PS1, в дальнейшем получивший название Tumor Proportion Score (TPS). На основании ROC-анализа пороговым значением положительного PD-L1-статуса в этом исследовании был выбран $PS \geq 50\%$.

Экспрессия PD-L1 наблюдалась в опухолевых и иммунных клетках. Скопления иммунных клеток часто наблюдаются на границе между опухолью и здоровыми тканями, а также в опухолевой строме, образуя характерные пограничный или стромальный варианты окрашивания. Пограничное и стромальное окрашивание расценивалось по принципу есть/нет.

В конечном счете окрашенные иммунные клетки, инфильтрирующие опухоль, также как и стромальное и пограничное окрашивание, были исключены из определения PD-L1-статуса опухоли по ряду причин: 1) окрашивание иммунных клеток не увеличивало количества PD-L1-положительных случаев; 2) иммунные клетки были представлены преимущественно макрофагами; 3) экспрессия PD-L1 характерна для макрофагов, в том числе в здоровых тканях; 4) присутствие истинно опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов при немелкоклеточном раке легких незначительно [22].

В исследовании Keynote-012 [23] экспрессию PD-L1 определяли отдельно для опухолевых (TPS) и иммунных (Mononuclear Immune Cell Density Score, MIDS, показатель плотности инфильтрации мононуклеарными иммунными клетками – отношение числа окрашенных иммунных клеток к общему числу опухолевых клеток, умноженное на 100) клеток. Mononuclear Immune Cell Density Score отражает степень инфильтрации опухолевой ткани PD-L1+-иммунными клетками. На практике этот показатель чаще оценивается по шкале от 0 до 4: MIDS0 означает отсутствие окрашивания иммунных клеток, MIDS1 – присутствие в препарате PD-L1+-иммунных клеток в количестве, не достигающем уровня MIDS2. Критерием положительного PD-L1-статуса опухоли является MIDS2, что соответствует наличию 1 PD-L1+-иммунной клетки на 100 опухолевых клеток. Пороговыми значениями для MIDS3 и MIDS4 являются 10 и 100 PD-L1+-иммунных клеток на 100 опухолевых клеток соответственно.

Tumor Proportion Score рассчитывается по формуле:

$$TPS = \frac{\text{Количество PD-L1+ опухолевых клеток}}{\text{Общее количество опухолевых клеток}} \times 100.$$

Mononuclear Immune Cell Density Score вычисляется по формуле:

$$MIDS = \frac{\text{Количество PD-L1+ иммунных клеток}}{\text{Общее количество опухолевых клеток}} \times 100.$$

С учетом того что и TPS, и MIDS математически представляют собой частное с одинаковым знаменателем, эти показатели были объединены в один комбинированный показатель для оценки PD-L1-статуса (Combined Positive/Positivity Score, CPS), который рассчитывается по формуле:

$$CPS = \frac{\text{Количество PD-L1+ клеток (опухолевых, лимфоцитов, макрофагов)}}{\text{Общее количество опухолевых клеток}} \times 100.$$

Умножение на 100 было добавлено для того, чтобы избежать дробных значений показателя. Таким образом, например, для препарата, в котором на 100 опухолевых клеток приходится 1 PD-L1+-опухолевая или иммунная клетка, CPS будет равен 1, а не 0,01. В качестве максимального значения CPS принято считать 100. В некоторых публикациях можно встретить показатель CPS в процентах по аналогии с TPS, что не изменяет его сути [24].

Показатель удобен: для его оценки не требуется изучать препарат при разных увеличениях (при небольшом увеличении бывает довольно сложно морфологически отличить клетки низкодифференцированной аденокарциномы от макрофагов, которые в равной степени способны экспрессировать PD-L1 на своей поверхности) и не зависит от архитектуры тканей, как в случае определения экспрессии PD-L1 иммунными клетками по площади. Выявление PD-L1-статуса опухоли методом CPS избавляет от необходимости выбирать между экспрессией PD-L1 опухолевыми или иммунными клетками в качестве возможного биомаркера эффективности иммунотерапии.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИММУНОТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ ЖЕЛУДКА

В мультикогортном исследовании Keynote-059 [25, 26] частота и продолжительность объективного ответа больных РЖ и раком гастроэзофагеального перехода при лечении пембролизумабом были достоверно выше при положительной экспрессии PD-L1 с уровнем CPS ≥ 1 . Преимущество оценки PD-L1-статуса методом CPS по сравнению с TPS при РЖ было показано в исследовании KEYNOTE-059: при пороговом значении CPS ≥ 1 метод позволил выявить 57,6 % опухолей, при этом объективный ответ на терапию пембролизумабом

оказался достоверно ассоциирован с положительным PD-L1-статусом опухоли. Опухоли с TPS ≥ 1 % (12,5 %) не были достоверно ассоциированы с благоприятным исходом лечения [24].

На основании данных исследований [21, 25, 26] пембролизумаб был одобрен FDA [30] в США, а затем и в России в качестве терапии 2-й и более поздних линий для лечения распространенного и метастатического РЖ, рефрактерного к химиотерапии, у пациентов с положительным PD-L1-статусом опухоли в соответствии с протоколами сопроводительной терапии (PD-L1 IHC 22C3 PharmDx, Dako, США; CPS ≥ 1).

В дальнейших исследованиях эффективности иммунотерапии при РЖ (Keynote-061 [27]) не было показано преимуществ применения пембролизумаба по сравнению с паклитакселом у пациентов с CPS ≥ 1 , однако в группе больных с CPS ≥ 10 наблюдался более продолжительный ответ на лечение. Аналогично в Keynote-062 [28] сходные результаты были получены при сравнении пембролизумаба и стандартных химиотерапевтических схем в качестве терапии 1-й линии, применяемых у пациентов с CPS ≥ 1 , однако клинически значимое улучшение показателей общей выживаемости наблюдали у пациентов с CPS ≥ 10 .

Помимо данных клинических исследований, O'Malley и соавт. [29] изучили результаты рутинного определения экспрессии PD-L1 в различных опухолях в крупной референсной лаборатории и отметили, что доля положительных тестов при РЖ возрастает с 50,3 % при оценке методом TPS до 83,6 % при оценке методом CPS (22C3). K. Yamashita и соавт. [30] в 39 (20,4 %) случаях из 191 выявили положительный PD-L1-статус опухоли на основании TPS и в 137 (71,7 %) случаях – на основании CPS.

Клинические исследования эффективности использования ниволумаба у больных РЖ [31, 32] также не показали зависимости между успехом лечения и PD-L1-статусом, определявшимся методом TPS (PD-L1 IHC 28–8 PharmDx, Dako, США). Поскольку РЖ является одной из лидирующих причин смерти среди азиатского населения, а результаты терапии оказались весьма обнадеживающими, этот препарат был одобрен для лечения РЖ в Японии вне зависимости от PD-L1-статуса опухоли, а тест-система PD-L1 IHC 28–8 PharmDx (Dako, США) одобрена для комбинированной диагностики.

Для адекватной оценки экспрессии PD-L1, по мнению большинства производителей тест-систем, необходимо наличие в препарате как минимум 100 жизнеспособных опухолевых клеток. Положительным PD-L1-статус считается при мембранном (линейном) окрашивании опухолевых клеток любой степени интенсивности, необязательно на всем протяжении мембраны. Гранулярное окрашивание цитоплазмы опухолевых клеток при оценке экспрессии PD-L1 не учитывается.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ЛИГАНДА РЕЦЕПТОРА ПРОГРАММИРУЕМОЙ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ 1 НА СЕГОДНЯШНИЙ ДЕНЬ

В настоящее время не утверждено единой методики определения уровня экспрессии PD-L1 при РЖ. С одной стороны, требования к сопровождающей диагностике при назначении того или иного препарата направлены на повышение воспроизводимости получаемых результатов исследования экспрессии PD-L1, а с другой — они ограничивают доступность данного вида диагностики для лабораторий разного уровня и, соответственно, возможность лечения пациентов.

В 2018 г. J. Ma и соавт. опубликовали результаты исследования [33], в котором ретроспективно сравнивали экспрессию PD-L1 в препаратах РЖ, окрашенных с использованием 3 тест-систем: SP142 (Ventana, США), 28–8 (Dako, США) и E1L3N (Cell Signaling Technology, США). Срезы были получены из операционного материала 315 пациентов с РЖ I–III стадии, не получавших ранее какого-либо лечения. Экспрессия PD-L1 в каждом случае оценивалась 3 методами: в клетках опухоли (процент опухолевых клеток, демонстрирующих мембранное окрашивание любой степени интенсивности), иммунных клетках (процент площади опухоли (включая прилежащую строму), занятой окрашенными иммунными клетками) и среди всех клеток (процент окрашенных опухолевых/иммунных клеток от общего числа клеток).

Тест-система E1L3N показала низкую способность окрашивать препараты РЖ. Экспрессия PD-L1 $>1\%$ (среди всех клеток) наблюдалась в 38,73 и 33,65 % случаев при окрашивании SP142 и 28–8 соответственно, при этом SP142 демонстрировал большую способность окрашивать иммунные клетки по сравнению с 28–8: 18,41 и 7,62 % соответственно (с пороговым значением положительного ответа $>1\%$ по площади). Экспрессия PD-L1 $>5\%$ (среди всех клеток) при окрашивании SP142 была ассоциирована с наихудшим прогнозом в данной группе наблюдений.

В настоящее время готовятся к публикации результаты первого анализа взаимозаменяемости тест-систем 22C3 (Dako, США) и SP263 (Ventana, США) для оценки PD-L1-статуса при РЖ, проведенного Y. Park и соавт. [34]. В исследование были включены 379 пациентов с РЖ II–III стадии без предшествующей химиотерапии. Отдельно изучались образцы из центра опухоли и области ее инвазивного края.

При использовании SP263 отмечалось более яркое окрашивание образцов с сильнее выраженным окрашиванием клеточных мембран. Для каждого образца были посчитаны CPS и TPS. Обе тест-системы продемонстрировали схожие, хорошо воспроизводимые результаты независимо от локализации образца и метода оценки экспрессии. Количество опухолей с положительным PD-L1-статусом при CPS >1 /TPS $>1\%$ оказалось несколько выше при использовании SP263, однако при пороговом значении CPS ≥ 10 22C3 позволил выявить больше положительных случаев. В целом в данной группе больных экспрессия PD-L1 с CPS ≥ 10 была ассоциирована с менее агрессивным характером опухоли.

Имеющиеся данные о влиянии экспрессии PD-L1 на прогноз при РЖ противоречивы. Чаще экспрессия данного маркера ассоциируется с плохим прогнозом при этой патологии [35, 36], хотя есть сообщения о хорошем [18] и нейтральном [37] значении экспрессии PD-L1 для прогноза. Кардинальные различия в оценке анализируемого показателя отчасти могут быть объяснены разными подходами к определению положительного PD-L1-статуса опухоли, а отчасти — высокой степенью гетерогенности опухолей и наличием или отсутствием предшествующего лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как справедливо отметила группа ученых [38] в 2011 г., через 13 лет после открытия его группой первого PD-L1, успехи клинического применения блокады PD-1 и PD-L1 заметно опережают наше понимание многогранных механизмов действия этого сигнального пути. Все больший объем данных свидетельствует о том, что помимо сложности морфологического строения системы ИКТ значение имеет также динамический характер взаимодействия опухоли и иммунной системы.

Очевидно, объем иммуногистохимических исследований экспрессии PD-L1 в качестве биомаркера будет увеличиваться пропорционально расширению показаний к иммунотерапии. Исследования, выполняемые в определенном, согласованном порядке с применением антител, демонстрирующих наилучшую способность выявлять экспрессию PD-L1 для данного вида опухолей, позволят уменьшить вариабельность субъективной оценки PD-L1-статуса опухоли разными специалистами и усовершенствовать отбор пациентов, наиболее перспективных в отношении эффективного применения иммунотерапии.

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

- Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J Clin* 2018;68(6): 394–424. DOI: 10.3322/caac.21492
- Состояние онкологической помощи населению России в 2018 году. Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 236 с.
The state of oncological care to the population of Russia in 2018. Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute — branch of the Federal State Budgetary Institution “NMIC of Radiology” of the Ministry of Health of Russia, 2019. 236 p. (In Russ.).
- Злокачественные новообразования в России в 2018 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, Г.В. Петровой. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена — филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2019. 250 с.
Malignant neoplasms in Russia in 2018 (morbidity and mortality). Ed. by A.D. Kaprin, V.V. Starinsky, G.V. Petrova. Moscow: P.A. Herzen Moscow State Medical Research Institute — branch of the Federal State Budgetary Institution “NMIC of Radiology” of the Ministry of Health of Russia, 2019. 250 p.
- Ishida Y., Agata Y., Shibahara K., Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* 1992;11(11):3887–95. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1992.tb05481.x
- Agata Y., Kawasaki A., Nishimura H. et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol* 1996;8(5):765–72. DOI: 10.1093/intimm/8.5.765
- Nishimura H., Nose M., Hiai H. et al. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999;11(2): 141–51. DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80089-8
- Freeman B.G.J., Long A.J., Iwai Y. et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000;192(7):1028–34. DOI: 10.1084/jem.192.7.1027
- Iwai Y., Ishida M., Tanaka Y. T. Okazaki et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(19):12293–7. DOI: 10.1073/pnas.192461099
- Taube J.M., Anders R.A., Young G.D. et al. Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med* 2012;4(127):127ra37. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003689
- Tivol E.A., Borriello F., Schweitzer A.N. et al. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* 1995;3(5):541–7. DOI: 10.1016/1074-7613(95)90125-6
- Weber J., Thompson J.A., Hamid O. et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma. *Clin Cancer Res* 2009;15(17):5591–8. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1024
- Wolchok J.D., Neyns B., Linette G. et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncol* 2010;11(2):155–64. DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70334-1
- O’Day S.J., Maio M., Chiarion-Sileni V. et al. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study. *Ann Oncol* 2010;21(8):1712–7. DOI: 10.1093/annonc/mdq013
- Hodi F.S., O’Day S.J., McDermott D.F. et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363(8):711–23. DOI: 10.1056/NEJMoa1003466
- Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R. et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366(26):2443–54. DOI: 10.1056/NEJMoa1200690
- Fuchs C.S., Doi T., Jang R.W. et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: phase 2 clinical KEYNOTE-059 trial. *JAMA Oncol* 2018;4(5):e180013. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.0013
- Ott P.A., Bang Y.-J., Piha-Paul S.P. et al. T-cell-inflamed gene-expression profile, programmed death ligand 1 expression, and tumor mutational burden predict efficacy in patients treated with pembrolizumab across 20 cancers: KEYNOTE-028. *J Clin Oncol* 2019;37(4):318–27. DOI: 10.1200/JCO.2018.78.2276
- Böger C., Behrens H.M., Mathiak M. et al. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients. *Oncotarget* 2016;7(17):24269–83. DOI: 10.18632/oncotarget.8169
- Frank G.A., Kuznetsova O.A., Zavalishina L.E. et al. PD-L1 status in breast cancer. *Arkh Patol* 2019;81(2):3–9. DOI: 10.17116/patol2019810213
- Garon E.B., Rizvi N.A., Hui R. et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;372(21):2018–28. DOI: 10.1056/NEJMoa1501824
- Dolled-Filhart M., Locke D., Murphy T. et al. Development of a prototype immunohistochemistry assay to measure programmed death ligand-1 expression in tumor tissue. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(11):1259–66. DOI: 10.5858/arpa.2015-0544-OA
- Dolled-Filhart M., Roach C., Toland G. et al. Development of a companion diagnostic for pembrolizumab in non-small cell lung cancer using immunohistochemistry for programmed death ligand-1. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140(11):1243–9. DOI: 10.5858/arpa.2015-0542-OA
- Muro K., Chung H.C., Shankaran V. et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol* 2016;17(6):717–26. DOI: 10.1016/S1470-2045(16)00175-3
- Kulangara K., Zhang N., Corigliano E. et al. Clinical utility of the combined positive score for programmed death ligand-1 expression and the approval of pembrolizumab for treatment of gastric cancer. *Arch Pathol Lab Med* 2019;143(3):330–7. DOI: 10.5858/arpa.2018-0043-OA
- Fuchs C.S., Doi T., Jang R.W. et al. Safety and efficacy of pembrolizumab monotherapy in patients with previously treated advanced gastric and gastroesophageal junction cancer: phase 2 clinical KEYNOTE-059 trial. *JAMA Oncol* 2018;4(5):1–8. DOI: 10.1001/jamaoncol.2018.0013
- Bang Y.J., Kang Y.-K., Catenacci D.V. et al. Pembrolizumab alone or in combination with chemotherapy as first-line therapy for patients with advanced gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma: results from the phase II nonrandomized KEYNOTE-059 study. *Gastric Cancer* 2019;22(4):828–37. DOI: 10.1007/s10120-018-00909-5
- Shitara K., Özgüroğlu 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
- Tabernero K.S.J., Van Cutsem E., Bang Y. et al. Pembrolizumab with or without chemotherapy versus chemotherapy for first-line treatment of advanced gastric or gastroesophageal junction (G/GJ) adenocarcinoma: the phase 3 KEYNOTE-062 study. *Ann Oncol* 2019;30(Suppl. 4):iv152. DOI: 10.1093/annonc/mdz183

29. O'Malley D.P., Yang Y., Boiso S. et al. Immunohistochemical detection of PD-L1 among diverse human neoplasms in a reference laboratory: observations based upon 62,896 cases. *Mod Pathol* 2019;32(7):929–42. DOI: 10.1038/s41379-019-0210-3
30. Yamashita K., Iwatsuki M., Harada K. et al. Prognostic impacts of the combined positive score and the tumor proportion score for programmed death ligand-1 expression by double immunohistochemical staining in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* 2020;23(1):95–104. DOI: 10.1007/s10120-019-00999-9
31. Kang Y.K., Boku N., Satoh T. et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017;390(10111):2461–71. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)31827-5
32. Janjigian Y.Y., Bendell J., Calvo E. et al. CheckMate-032 study: efficacy and safety of nivolumab and nivolumab plus ipilimumab in patients with metastatic esophagogastric cancer. *J Clin Oncol* 2018;36(28):2836–44. DOI: 10.1200/JCO.2017.76.6212
33. Ma J., Li J., Qian M. et al. PD-L1 expression and the prognostic significance in gastric cancer: a retrospective comparison of three PD-L1 antibody clones (SP142, 28-8 and E1L3N). *Diagn Pathol* 2018;13(1):1–10. DOI: 10.1186/s13000-018-0766-0
34. Park Y., Koh J., Na H.Y. et al. PD-L1 testing in gastric cancer by the combined positive score of the 22C3 PharmDx and SP263 assay with clinically relevant cut-offs. 2020 *Cancer Res Treat* 2020;52(3):661–70. DOI: 10.4143/crt.2019.718
35. Zhang M., Dong Y., Liu H. et al. The clinicopathological and prognostic significance of PD-L1 expression in gastric cancer: a meta-analysis of 10 studies with 1,901 patients. *Sci Rep* 2016;6:37933. DOI: 10.1038/srep37933
36. Chang H., Jung W.Y., Kang Y. et al. Programmed death-ligand 1 expression in gastric adenocarcinoma is a poor prognostic factor in a high CD8+ tumor infiltrating lymphocytes group. *Oncotarget* 2016;7(49):80426–34. DOI: 10.18632/oncotarget.12603
37. Harada K., Dong X., Estrella J.S. et al. Tumor-associated macrophage infiltration is highly associated with PD-L1 expression in gastric adenocarcinoma. *Gastric Cancer* 2018;21(1):31–40. DOI: 10.1007/s10120-017-0760-3
38. Li Y., Wang J., Ke X.Y. Research update on PD-1/PD-L1 pathway in hematological diseases. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi* 2011;19(6):1523–7. (In Chinese).

Вклад авторов

Н.В. Данилова, Т.Н. Сотникова: сбор и обработка данных;
Т.Н. Сотникова, Т.В. Полушкина: написание текста статьи;
Н.В. Данилова, П.Г. Мальков: редактирование.

Author's contributions

N.V. Danilova, T.N. Sotnikova: data collection and processing;
T.N. Sotnikova, T.V. Polushkina: article writing;
N.V. Danilova, P.G. Malkov: editing.

ORCID авторов / ORCID authors

Т.Н. Сотникова / T.N. Sotnikova: <https://orcid.org/0000-0002-6482-1110>
Н.В. Данилова / N.V. Danilova: <https://orcid.org/0000-0001-7848-6707>
П.Г. Мальков / P.G. Malkov: <https://orcid.org/0000-0001-5074-3513>
Т.В. Полушкина / T.V. Polushkina: <https://orcid.org/0000-0001-7458-991X>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.
Funding. The study was performed without external funding.