

Мембранные (CD8⁺PD-1⁺ и CD4⁺PD-1⁺) и растворимые (sPD-1 и sPD-L1) формы контрольных точек иммунитета у больных меланомой, раком молочной железы и раком слизистой оболочки полости рта

Т.Н. Заботина[✉], А.И. Черткова, А.А. Борунова, Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн, Е.Н. Захарова, Э.К. Шоуа, В.Т. Циклаури, И.В. Самойленко, М.В. Хорошилов, З.Г. Кадагидзе
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Москва, Россия

Аннотация

Обоснование. PD-1-/PD-L1-путь занимает важное место в ускользании опухоли от иммунологического надзора. Помимо мембранных форм PD-1 и PD-L1 существуют растворимые варианты (soluble) – sPD-1 и sPD-L1. Как мембранные, так и растворимые формы обладают иммунорегуляторными свойствами и могут воздействовать на функцию и количество различных популяций иммунных клеток.

Цель. Изучить взаимосвязь процентного содержания мембранных (CD8⁺PD-1⁺ и CD4⁺PD-1⁺ лимфоцитов) и растворимых форм (sPD-1 и sPD-L1) с уровнем основных эффекторных и регуляторных популяций лимфоцитов периферической крови (ПК) и лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TILs), до лечения.

Материалы и методы. В исследование включены пациенты с меланомой, раком молочной железы и раком слизистой оболочки полости рта. Методом проточной цитофлуориметрии определяли процентное содержание клеток основных популяций лимфоцитов ПК и TILs. Концентрации белков sPD-1 и sPD-L1 исследовали в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. В ПК и опухолевой ткани уровень CD8⁺PD-1⁺ клеток был взаимосвязан с определенными популяциями CD8 лимфоцитов, в ПК у больных меланомой – с популяциями CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ и регуляторных CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток, у больных раком молочной железы – с популяцией CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ лимфоцитов, в опухолевой ткани у всех исследованных больных – с популяцией регуляторных CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток. Подтверждены иммунорегуляторные свойства растворимых форм sPD-1 и sPD-L1: показана положительная взаимосвязь уровня данных маркеров с процентным содержанием супрессорных CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток и отрицательная – с процентным содержанием CD8 лимфоцитов и CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ цитотоксических/памяти Т-клеток, В-клеток и активированных CD25 лимфоцитов.

Заключение. Результаты проведенного исследования могут внести определенный вклад в изучение прогностической значимости мембранных и растворимых форм PD-1 и PD-L1 с учетом особенностей их взаимосвязи с супрессорными и эффекторными популяциями лимфоцитов системного и локального иммунитета.

Ключевые слова: меланома, рак молочной железы, рак слизистой оболочки полости рта, лимфоциты периферической крови, инфильтрирующие опухоль лимфоциты, CD8⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-1⁺, sPD-1, sPD-L1

Для цитирования: Заботина Т.Н., Черткова А.И., Борунова А.А., Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Захарова Е.Н., Шоуа Э.К., Циклаури В.Т., Самойленко И.В., Хорошилов М.В., Кадагидзе З.Г. Мембранные (CD8⁺PD-1⁺ и CD4⁺PD-1⁺) и растворимые (sPD-1 и sPD-L1) формы контрольных точек иммунитета у больных меланомой, раком молочной железы и раком слизистой оболочки полости рта. Современная Онкология. 2023;25(3):301–307. DOI: 10.26442/18151434.2023.3.202443

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2023 г.

Информация об авторах / Information about the authors

[✉]**Заботина Татьяна Николаевна** – д-р биол. наук, зав. отд. клинико-лабораторной диагностики, и.о. зав. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: tatzabotina@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-7631-5699; SPIN-код: 8628-9705

Черткова Антонина Ивановна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: antcher@gmail.com; ORCID: 0000-0001-9146-5986; SPIN-код: 6083-2870

Борунова Анна Анатольевна – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: borunova-a@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-1854-3455; SPIN-код: 1865-1417

Кушлинский Николай Евгеньевич – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., рук. лаб. клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: biochimia@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-3898-4127; SPIN-код: 6225-1487

Герштейн Елена Сергеевна – д-р биол. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клинической биохимии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: esgershtein@gmail.com; ORCID: 0000-0002-3321-801X; SPIN-код: 5317-1433

Захарова Елена Николаевна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: zakharovaen@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-2790-6673; SPIN-код: 9334-0459

Шоуа Эсма Константиновна – врач-онколог лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: essfi_res@gmail.com; ORCID: 0000-0003-3937-474X; SPIN-код: 5928-1121

[✉]**Tatiana N. Zabotina** – D. Sci. (Biol.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: tatzabotina@yandex.ru; ORCID: 0000-0001-7631-5699; SPIN code: 8628-9705

Antonina I. Chertkova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: antcher@gmail.com; ORCID: 0000-0001-9146-5986; SPIN code: 6083-2870

Anna A. Borunova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: borunova-a@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-1854-3455; SPIN code: 1865-1417

Nikolay E. Kushlinskii – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: biochimia@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-3898-4127; SPIN code: 6225-1487

Elena S. Gershtein – D. Sci. (Biol.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: esgershtein@gmail.com; ORCID: 0000-0002-3321-801X; SPIN code: 5317-1433

Elena N. Zakharova – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: zakharovaen@yandex.ru; ORCID: 0000-0003-2790-6673; SPIN code: 9334-0459

Esma K. Shoua – oncologist, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: essfi_res@gmail.com; ORCID: 0000-0003-3937-474X; SPIN code: 5928-1121

Membrane (CD8⁺PD-1⁺ and CD4⁺PD-1⁺) and soluble (sPD-1 and sPD-L1) forms of immune checkpoints in melanoma, breast cancer, and oral mucosal cancer patients: A observational study

Tatiana N. Zabolina✉, Antonina I. Chertkova, Anna A. Borunova, Nikolay E. Kushlinskii, Elena S. Gershtein, Elena N. Zakharova, Esma K. Shoua, Vasily T. Tsiklauri, Igor V. Samoylenko, Maxim V. Khoroshilov, Zaira G. Kadagidze

Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

Abstract

Background. The PD-1/PD-L1 pathway plays an important role in tumor evasion from immunological surveillance. In addition to the membrane forms of PD-1 and PD-L1, there are soluble variants: sPD-1 and sPD-L1. Both membrane and soluble forms have immunoregulatory properties and can affect the function and number of different immune cell populations.

Aim. To study the relationship between the initial level of CD8⁺PD-1⁺ and CD4⁺PD-1⁺ lymphocytes and soluble forms of sPD-1 and sPD-L1 with the percentage of the main effector and regulatory populations of peripheral blood (PB) lymphocytes and tumor-infiltrating lymphocytes.

Materials and methods. The study included melanoma, breast cancer and the oral mucosa cancer patients. The percentage of cell populations of PB lymphocytes and tumor-infiltrating lymphocytes was determined by flow cytometry before treatment. The concentrations of sPD-1 and sPD-L1 proteins were studied in blood serum using enzyme immunoassay.

Results. The relationship of the level of CD8⁺PD-1⁺ cells with certain populations of CD8-lymphocytes in PB and tumor tissue was found. In the PB of melanoma patients with CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ and CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ T cells, in breast cancer patients with a population of CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ lymphocytes. In the tumor tissue of all patients there was a positive correlation with a population of regulatory CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ T cells. The immunoregulatory properties of sPD-1 and sPD-L1 were confirmed. Both sPD-1 and sPD-L1 levels were positively correlated with the number of suppressor CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ T cells and negatively with the level of CD8 lymphocytes, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ cytotoxic/memory T cells, B cells and activated CD25 lymphocytes.

Conclusion. The results of the study can make a certain contribution to the study of the prognostic significance of membrane and soluble forms of PD-1 and PD-L1, taking into account the peculiarities of their relationship with suppressor and effector populations of lymphocytes of systemic and local immunity.

Keywords: melanoma, breast cancer, cancer of the oral mucosa, peripheral blood lymphocytes, tumor-infiltrating lymphocytes, CD8⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-1⁺, sPD-1, sPD-L1

For citation: Zabolina TN, Chertkova AI, Borunova AA, Kushlinskii NE, Gershtein ES, Zakharova EN, Shoua EK, Tsiklauri VT, Samoylenko IV, Khoroshilov MV, Kadagidze ZG. Membrane (CD8⁺PD-1⁺ and CD4⁺PD-1⁺) and soluble (sPD-1 and sPD-L1) forms of immune checkpoints in melanoma, breast cancer, and oral mucosal cancer patients: A observational study. *Journal of Modern Oncology*. 2023;25(3):301–307. DOI: 10.26442/18151434.2023.3.202443

Введение

Опухолевый рост сопровождается как развитием системного иммунного ответа, так и формированием опухолевого микроокружения (локального иммунного ответа), который с помощью различных иммуносупрессивных факторов дезорганизует иммунную систему и обеспечивает ускользание опухоли от иммунологического надзора. Рецептор PD-1 и его лиганд PD-L1 занимают важное место в этом процессе. Взаимодействие PD-1/PD-L1 приводит к подавлению активации и пролиферации антигенспецифических Т-лимфоцитов, нарушению продукции цитокинов, подавлению иммунных ответов и в конечном итоге – к гибели активированных Т-клеток. PD-1 экспрессируется на активированных

Т-, В-клетках, моноцитах, дендритных клетках, регуляторных Т-клетках и естественных Т-киллерах, а PD-L1 – на опухолевых клетках, покоящихся Т-, В-клетках, дендритных клетках и макрофагах [1, 2]. Использование блокаторов контрольных точек иммунитета PD-1/PD-L1 в настоящее время – один из наиболее эффективных иммунотерапевтических методов лечения опухолей. Блокада PD-1/PD-L1-пути повышает противоопухолевую активность эффекторных Т-клеток и увеличивает выживаемость пациентов [1–3]. Показано, что ответ на анти-PD-1/PD-L1-терапию зависит не только от свойств опухолевых клеток, но в значительной степени – от микроокружения опухоли, жизненно важным компонентом которого являются лимфоциты, инфильтрую-

Информация об авторах / Information about the authors

Циклаури Василий Тамазиевич – врач-онколог хирургического отделения №10 (опухолей головы и шеи) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: Tvtsiklauri@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-3090-695X; SPIN-код: 7693-1163

Самойленко Игорь Вячеславович – канд. мед. наук, ст. науч. сотр. отд-ния онкодерматологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: i.samoylenko@ronc.ru; ORCID: 0000-0001-7150-5071; SPIN-код: 3691-8923

Хорошилов Максим Викторович – врач-онколог онкологического отделения лекарственных методов лечения (химиотерапевтическое №1) ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: maximkhoroshilov@gmail.com; ORCID: 0000-0002-3770-5173

Кадагидзе Заира Григорьевна – д-р мед. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». E-mail: kad-zaira@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-0058-0987; SPIN-код: 5799-8977

Vasily T. Tsiklauri – oncologist, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: Tvtsiklauri@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-3090-695X; SPIN code: 7693-1163

Igor V. Samoylenko – Cand. Sci. (Med.), Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: i.samoylenko@ronc.ru; ORCID: 0000-0001-7150-5071; SPIN code: 3691-8923

Maxim V. Khoroshilov – oncologist, Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: maximkhoroshilov@gmail.com; ORCID: 0000-0002-3770-5173

Zaira G. Kadagidze – D. Sci. (Med.), Prof., Blokhin National Medical Research Center of Oncology. E-mail: kad-zaira@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-0058-0987; SPIN code: 5799-8977

Таблица 1. Корреляционная взаимосвязь уровня некоторых популяций лимфоцитов ПК больных меланомой, РМЖ и РСОПР с CD8⁺CD279⁺ и CD4⁺CD279⁺ Т-клетками
Table 1. Correlation between the level of some populations of peripheral blood lymphocytes (PBL) in patients with melanoma, breast cancer (BC), and cancer of the oral mucosa with CD8⁺CD279⁺ and CD4⁺CD279⁺ T cells

Показатель, %	n	ρ (95% ДИ)*	p**
Меланома			
<i>С CD8⁺CD279⁺</i>			
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	10	0,842 (0,403; 1,000)	0,002
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	10	0,867 (0,263; 1,000)	0,002
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	10	0,883 (0,526; 1,000)	0,002
РМЖ			
<i>С CD8⁺CD279⁺</i>			
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	69	0,320 (0,082; 0,538)	0,007
CD4 ⁺ CD25 ⁺	69	0,403 (0,185; 0,560)	0,001
CD4 ⁺ CD279 ⁺	69	0,606 (0,398; 0,765)	0,000
sPD-L1	69	-0,361 (-0,536; -0,143)	0,002
РСОПР			
<i>С CD8⁺CD279⁺</i>			
CD4 ⁺ CD279 ⁺	18	0,744 (0,407; 0,895)	0,000

Примечание. Здесь и далее в табл. 2 и 5: *коэффициент корреляции Спирмена, **статистическая значимость.

Таблица 2. Корреляционная взаимосвязь уровня некоторых популяций TILs больных меланомой, РМЖ и РСОПР с CD8⁺CD279⁺ и CD4⁺CD279⁺ Т-клетками
Table 2. Correlation of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma, BC, and oral mucosal cancer patients with CD8⁺CD279⁺ and CD4⁺CD279⁺ lymphocytes

Показатель, %	n	ρ (95% ДИ)*	p**
Меланома			
<i>С CD8⁺CD279⁺</i>			
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	10	0,845 (0,393; 1,000)	0,002
<i>С CD4⁺CD279⁺</i>			
CD4 ⁺ CD25 ⁺	10	0,857 (0,346; 1,000)	0,002
РМЖ			
<i>С CD8⁺CD279⁺</i>			
CD3 ⁺ CD8 ⁺	44	0,436 (0,056; 0,722)	0,003
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	41	0,497 (0,183; 0,713)	0,001
CD4 ⁺ CD279 ⁺	48	0,606 (0,373; 0,757)	0,000
<i>С CD4⁺CD279⁺</i>			
CD4 ⁺ CD25 ⁺	40	0,507 (0,228; 0,710)	0,001
РСОПР			
<i>С CD8⁺CD279⁺</i>			
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	11	0,782 (0,408; 0,923)	0,004

щие опухоль (TILs) [4–6]. Наиболее значимая роль в непосредственном уничтожении опухолевых клеток отводится CD8 TILs, высокое содержание которых при ряде опухолей связано с увеличением продолжительности жизни пациентов [7]. Недавние исследования продемонстрировали то, что, помимо мембранных форм, существуют растворимые варианты (soluble) – sPD-1 и sPD-L1. Они могут образовываться в результате 2 процессов: гидролитического отщепления внеклеточного домена мембраносвязанной молекулы или альтернативного сплайсинга мРНК этой нативной мембранной формы [8]. Показано, что при различных новообразованиях уровень растворимых маркеров в периферической крови (ПК) может иметь важное прогностическое значение [9, 10]. Повышение уровня sPD-1 после лечения по сравнению с исходными значениями может указывать на благоприятное течение заболевания [11, 12]. В то же время высокие уровни sPD-1 и sPD-L1 до лечения предсказывают снижение выживаемости пациентов при многих вариантах солидных опухолей [10, 13]. Растворимые варианты, как и мембранные формы PD-1 и PD-L1, обладают иммунорегуляторными свойствами и могут воздействовать как на функцию, так и на количество различных популяций иммунных клеток [14, 15]. В связи с этим исследование взаимосвязи уровня CD8 и CD4 лимфоцитов, экспрессирующих PD-1, и растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 с эффекторными и регуляторными популяциями лимфоцитов представляется актуальным.

Цель исследования – изучение взаимосвязи исходного (до лечения) уровня CD8⁺PD-1⁺, CD4⁺PD-1⁺ лимфоцитов и растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 с процентным содержанием основных эффекторных и регуляторных популяций лимфоцитов ПК и TILs.

Материалы и методы

Пациенты. В исследование включены пациенты с диссеминированной меланомой (III–IV стадия; Me возраста – 64,5 года; n=10), раком молочной железы (РМЖ, все подтипы опухоли; I–III стадия; Me возраста – 48 лет; n=69) и

раком слизистой оболочки полости рта (РСОПР, I–IV стадия; Me возраста – 58 лет; n=19). Все больные проходили лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина». Больные меланомой получали иммунотерапию, больные РСОПР – хирургическое лечение с последующей радио-/химиотерапией, больные РМЖ – неoadъювантную терапию в стандартном режиме в соответствии с подтипом опухоли с последующим хирургическим лечением.

Иммунологические исследования. До начала лечения у больных определяли субпопуляционный состав лимфоцитов ПК и опухолевой ткани (Core-биопсия или операционный материал). У пациентов с меланомой материал получен из образования в мягких тканях (n=4) и метастатических лимфоузлов (n=6). Поскольку статистически значимых различий в субпопуляционном составе лимфоцитов между этими пациентами не было, их объединили в одну группу. Из ПК и клеточной суспензии, полученной из опухолевой ткани, выделяли лимфоциты по параметрам светорассеяния и экспрессии CD45. Проводили 2-, 3- и 4-цветное окрашивание клеток с использованием моноклональных антител (BD Biosciences, Becton Coulter) к поверхностным [CD3, CD4, CD8, CD28, CD11b, HLA-DR, CD25, CD16, CD56, CD19, CD127, PD-1 (CD279)] и внутриклеточному (Perforin) маркерам лимфоцитов. Процентное содержание лимфоцитов ПК и TILs определяли методом проточной цитофлуориметрии на 5-параметровом проточном цитофлуориметре аналитического типа (FACSCalibur, Becton Dickinson, США) [16]. В составе CD45⁺CD8⁺ лимфоцитов исследовали различия в процентном содержании CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ (эффекторы), CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ (наивные), CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ (цитотоксические/памяти) и CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ (регуляторные) Т-клеток в ПК и опухоли и влияние на уровень этих популяций растворимых форм sPD-1 и sPD-L1. Концентрации белков sPD-1 и sPD-L1 исследовали в сыворотке крови, полученной по стандартной методике до начала специфического лечения, с помощью наборов реактивов для иммуноферментного анализа Human PD-L1 Platinum ELISA, Human PD-1 ELISA kit (Affimetrix, eBioscience, США) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматическом иммуноферментном анализаторе BEP 2000Advance (Siemens Healthcare Diagnostics Products GmbH, Германия). Содержание маркеров выражали в пикограммах (пг) на 1 мл сыворотки крови [8, 9].

Статистический анализ данных проводили с помощью программы Statistica 7.0. Для установления характера распределения показателей при $p < 50$ использовали критерий Шапиро–Уилка, при $n \geq 50$ – Колмогорова–Смирнова. В связи с тем, что сравниваемые группы различались по виду распределения показателей, для характеристики каждой выборки использовали медиану (Me) и квартили (25 и 75-й процентиля), а для определения статистической значимости различий между группами – непараметрические критерии: для независимых групп двусторонний U-критерий Манна–Уитни (U); для зависимых групп (ПК и опухоль; до и после лечения) – критерий знаковых рангов Вилкоксона. Взаимосвязь между показателями определяли с помощью корреляционного анализа Спирмена [коэффициент корреляции r и 95% доверительный интервал ρ (95% ДИ)]. Значение вероятности $p = 0,05$.

Результаты

Проведенное исследование показало, что у больных меланомой в ПК уровень $CD8^+CD279^+$ Т-лимфоцитов положительно коррелировал с процентным содержанием $CD3^+HLA-DR^+$, $CD8^+CD11b^+CD28^+$ и $CD8^+CD11b^+CD28^-$ Т-клеток. У больных РМЖ эти клетки положительно коррелировали с активированными $CD4^+CD25^+$ лимфоцитами и с $CD8^+CD11b^+CD28^+$ популяцией (табл. 1). При РМЖ в ПК и опухоли и при РСОПР в ПК наблюдалась положительная взаимосвязь $CD8^+CD279^+$ и $CD4^+CD279^+$ друг с другом (табл. 1 и 2).

В опухолевой ткани отмечалась положительная взаимосвязь между повышением уровня $CD8^+CD279^+$ лимфоцитов у больных меланомой, РМЖ и РСОПР и увеличением процентного содержания $CD8^+CD11b^+CD28^-$ Т-клеток. Наблюдалась корреляция $CD4^+CD279^+$ лимфоцитов с активированными $CD4^+CD25^+$ Т-клетками (см. табл. 2).

Влияние уровня растворимых форм sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных на популяции лимфоцитов обнаружено только при РМЖ и РСОПР (табл. 3 и 4).

При РМЖ на фоне более высокой концентрации ($\geq Me$) sPD-L1 отмечалось увеличение процентного содержания $CD8^+CD11b^+CD28^-$ лимфоцитов и снижение уровня $CD8^+CD11b^+CD28^+$ Т-клеток в составе CD8 лимфоцитов (см. табл. 3). У больных РСОПР повышенный уровень sPD-L1 ($\geq Me$), как и при РМЖ, сочетался с повышенным процентом $CD8^+CD28^+CD11b^-$ Т-клеток в ПК и снижением общего числа CD8 клеток (см. табл. 4). При РМЖ и РСОПР отмечена отрицательная взаимосвязь концентрации растворимой формы sPD-1 с процентным содержанием лимфоцитов ПК, экспрессирующих эту молекулу ($CD8^+CD279^+$ и $CD4^+CD279^+$); см. табл. 3 и 4.

Исследование функционального потенциала CD8 популяций лимфоцитов показало, что в ПК $CD8^+Perforin^+$ клетки статистически значимо положительно коррелировали с $CD8^+CD11b^+CD28^-$ Т-лимфоцитами только при РМЖ и РСОПР (табл. 5, а), а в опухолевой ткани – только при меланоме (см. табл. 5, б). Взаимосвязь $CD8^+CD11b^+CD28^+$ лимфоцитов с $CD8^+Perforin^+$ популяцией во всех случаях отсутствовала (см. табл. 5).

Процентное содержание эффекторных $CD8^+CD11b^+CD28^-$ Т-клеток у всех исследованных больных в составе TILs было снижено, а регуляторных $CD8^+CD11b^+CD28^+$ Т-лимфоцитов – повышено по сравнению с ПК. В составе TILs процентное содержание $CD8^+PD-1^+$ лимфоцитов также было значительно выше, чем в ПК (табл. 6).

У 7 пациентов с меланомой и 8 пациентов с РМЖ исследовали уровень растворимых форм sPD-L1 и sPD-1 до и после лечения (табл. 7).

У больных меланомой после лечения отмечалось повышение уровня sPD-L1 и sPD-1 по сравнению с исходными показателями (см. табл. 7). Наиболее значительным было повышение уровня sPD-1: медиана возросла в 4 раза. У пациентов с РМЖ изменения этих маркеров после лечения не наблюдалось. У больных РСОПР растворимые формы исследовали только до лечения.

Таблица 3. Процентное содержание популяций лимфоцитов ПК в зависимости от уровня sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных РМЖ
Table 3. Percentage of PBL populations depending on the level of sPD-L1 and sPD-1 in the blood serum of BC patients

Лимфоциты ПК, %	РМЖ		p^{***}
	Me (квартили), пг/мл*		
	sPD-L1 < Me**, n=35	sPD-L1 \geq Me**, n=35	
CD19	5,3 (1,1–7,3)	1,3 (0,6–5,0)	0,006
CD25	22,7 (15,4–29,8)	17,0 (14,2–21,1)	0,016
CD8⁺CD11b⁺CD28⁻	5,9 (3,4–8,3)****	9,1 (5,7–15,6)****	0,015
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	10,3 (6,7–14,0)****	7,1 (5,2–10,1)****	0,030
CD8 ⁺ CD279 ⁺	3,3 (1,0–5,4)	1,6 (0,7–3,0)	0,028
sPD-1, пг/мл	44,3 (32,5–54,7)	54,2 (49,2–99,7)	0,000
Показатель	sPD-1 < Me** n=35	sPD-1 \geq Me** n=35	p
CD19	5,7 (1,2–8,4)	1,2 (0,6–3,8)	0,000
CD25	22,5 (16,2–29,8)	17,5 (14,3–21,2)	0,027
CD8⁺CD11b⁺CD28⁻	5,9 (3,3–8,1)****	9,8 (5,7–15,2)****	0,005
sPD-L1, пг/мл	6,1 (4,8–7,3)	8,4 (6,7–11,0)	0,000

Примечание. Здесь и далее в табл. 4: *медиана (25 и 75-й процентиля), **Me sPD-L1=7,0 пг/мл, Me sPD-1=49,7 пг/мл, ***статистическая значимость, ****данные представлены в виде процентного содержания популяции в составе CD8 лимфоцитов.

Таблица 4. Процентное содержание популяций лимфоцитов ПК в зависимости от уровня sPD-L1 и sPD-1 в сыворотке крови больных РСОПР
Table 4. Percentage of PBL populations depending on the level of sPD-L1 and sPD-1 in the blood serum of oral mucosal cancer patients

Лимфоциты ПК, %	РСОПР		p^{***}
	Me (квартили), пг/мл*		
	sPD-L1 < Me**, n=9	sPD-L1 \geq Me**, n=10	
CD8	33,4 (30,0–36,5)	26,7 (22,8–28,4)	0,010
CD8⁺CD28⁻CD11b⁻	5,3 (4,0–7,1)****	7,9 (7,0–10,3)****	0,035
sPD-1, пг/мл	49,7 (44,8–61,4)	67,1 (38,5–90,3)	0,000
	sPD-1 < Me** n=9	sPD-1 \geq Me** n=10	
CD8 ⁺ CD279 ⁺	4,6 (3,2–6,3)	0,85 (0,5–2,7)	0,015
CD4 ⁺ CD279 ⁺	7,1 (5,9–9,1)	4,1 (2,3–4,4)	0,015
sPD-L1, пг/мл	6,8 (6,3–8,4)	8,9 (5,8–13,4)	0,000

Обсуждение

Проведенное исследование посвящено изучению взаимосвязи исходного уровня $CD8^+PD-1^+$, $CD4^+PD-1^+$ лимфоцитов и растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 с процентным содержанием основных эффекторных и регуляторных популяций лимфоцитов ПК и TILs у больных меланомой, РМЖ и РСОПР.

Обнаружено, что в ПК и в опухолевой ткани уровень $CD8^+PD-1^+$ клеток положительно взаимосвязан с определенными популяциями CD8 лимфоцитов, в ПК у больных меланомой – с $CD8^+CD11b^+CD28^+$ и $CD8^+CD11b^+CD28^-$ популяциями, а при РМЖ – с $CD8^+CD11b^+CD28^+$ популяцией лимфоцитов. Популяция $CD8^+CD11b^+CD28^+$ Т-клеток, по данным S. Fiorentini и соавт. [17], в норме обладает всеми функциями эффекторных клеток: продуцирует интерферон γ , экспрессирует гранулы перфорина *in vivo* и проявляет мощную цитолитическую активность. Однако в настоящем исследовании мы не выявили статистически значимой взаимосвязи этих клеток с $CD8^+Perforin^+$ лимфоцитами при всех вариантах опухолей ни в ПК, ни в составе TILs, что, возможно, указывает на нарушение их функциональной активности.

В опухолевой ткани отмечалась положительная корреляция $CD8^+PD-1^+$ лимфоцитов с популяцией $CD8^+CD11b^+CD28^-$ Т-клеток при всех включенных в исследование нозологиче-

Таблица 5. Корреляция CD8⁺Perforin⁺ лимфоцитов с CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ и CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ Т-лимфоцитами в ПК (а) и в опухолевой ткани (b)
Table 5. Correlation of CD8⁺Perforin⁺ lymphocytes with CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ and CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ T-lymphocytes in PB (a) and in tumor tissue (b)

	Меланома		РМЖ		PCOPP	
а) Корреляция CD8⁺Perforin⁺ лимфоцитов ПК						
	<i>p</i> (95% ДИ)* n=10	<i>p</i> **	<i>p</i> (95% ДИ)* n=69	<i>p</i> **	<i>p</i> (95% ДИ)* n=19	<i>p</i> **
C CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	0,389 (-0,097; 0,862)	0,144	0,578 (0,391; 0,730)	0,000	0,654 (0,228; 0,860)	0,002
C CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	0,167 (-0,455; 0,758)	0,532	0,125 (-0,146; 0,366)	0,308	-0,111 (-0,569; 0,377)	0,652
б) Корреляция CD8⁺Perforin⁺ TILs						
	<i>p</i> (95% ДИ)* n=9	<i>p</i> **	<i>p</i> (95% ДИ)* n=16	<i>p</i> **	<i>p</i> (95% ДИ)* n=9	<i>p</i> **
C CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	0,556 (0,097; 0,935)	0,037	0,278 (-0,284; 0,723)	0,297	-0,427 (-0,947; 0,351)	0,252
C CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	0,222 (-0,354; 0,714)	0,404	-0,187 (-0,653; 0,358)	0,488	-0,268 (-0,852; 0,403)	0,486

Таблица 6. Уровень CD8⁺CD11b⁺CD28⁻, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ и CD8⁺CD279⁺ лимфоцитов в ПК и опухолевой ткани
Table 6. Level of CD8⁺CD11b⁺CD28⁻, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ and CD8⁺CD279⁺ PBL and tumor tissue

Популяции лимфоцитов в составе CD45 ⁺ CD8 ⁺ клеток, %	Лимфоциты ПК		<i>p</i>
	TILs	Me (квартили), %	
Меланома, n=10			
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	51,4 (36,2–69,6)	15,2 (4,9–24,0)	0,000
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	10,1 (7,3–13,2)	38,0 (26,7–45,1)	0,002
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	28,2 (16,6–32,2)	34,1 (29,3–54,7)	0,000
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	5,6 (2,8–8,3)	10,5 (8,3–11,4)	0,029
CD8 ⁺ CD279 ⁺	2,0 (1,3–3,7)	10,7 (6,0–25,1)	0,004
РМЖ, n=43			
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	44,9 (35,0–51,3)	18,3 (12,5–27,3)	0,000
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	7,0 (3,9–11,3)	44,4 (30,4–53,2)	0,000
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	37,2 (26,2–49,1)	24,0 (15,7–30,0)	0,000
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	8,9 (6,3–12,4)	11,9 (7,2–15,8)	0,016
CD8 ⁺ CD279 ⁺	1,6 (0,8–3,9)	13,1 (6,1–23,2)	0,000
PCOPP, n=13			
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁻	52,3 (43,6–62,6)	11,5 (8,9–18,5)	0,001
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	7,1 (4,2–7,5)	40,9 (31,3–52,8)	0,001
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	30,2 (23,8–38,4)	37,9 (18,6–52,4)	0,753
CD8 ⁺ CD11b ⁺ CD28 ⁺	8,8 (6,5–10,7)	8,2 (6,4–19,2)	0,600
CD8 ⁺ CD279 ⁺	2,9 (0,7–4,6)	12,5 (6,1–22,5)	0,004

Таблица 7. Изменение уровня sPD-L1 и sPD-1 у больных меланомой и РМЖ после лечения
Table 7. Changes in the level of sPD-L1 and sPD-1 in melanoma and BC patients after treatment

Показатель	Me (квартили), пг/мл		<i>p</i>
Меланома			
	до лечения, n=7	после лечения, n=7	
sPD-L1	8,77 (8,0–9,7)	10,3 (8,8–14,3)	0,018
sPD-1	70,7 (62,3–93,0)	294,0 (238,0–462,6)	0,018
РМЖ			
	до лечения, n=8	после лечения, n=8	
sPD-L1	7,9 (6,3–11,1)	7,7 (6,1–12,1)	0,779
sPD-1	57,9 (49,7–74,6)	36,0 (19,4–87,3)	0,575

ских формах опухолей. CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-лимфоциты, по-видимому, представляют собой терминальную дифференцированную популяцию CD8⁺ Т-клеток с нарушенными цитотоксическими свойствами, и, по данным M. Freedman и соавт., способными проявлять супрессорную активность [18, 19]. Показано, что экспрессия PD-1 на Т-лимфоцитах – один из признаков истощения и неблагоприятного изменения их функциональных характеристик [20]. Обнаруженная в работе положительная ассоциация CD8⁺CD279⁺ и CD4⁺CD279⁺ Т-лимфоцитов с Т-клетками, экспрессирующими активационные маркеры HLA-DR и CD25, вполне закономерна: CD279 является активационным маркером и отсутствует на наивных или находящихся в покое Т-клетках.

Растворимые варианты sPD-1 и sPD-L1, как и мембранные формы, обладают иммунорегуляторными свойствами [14, 15]. Показано, что sPD-1 и sPD-L1 могут обеспечивать негативные сигналы и эффективно подавлять функцию и

пролиферацию Т- и В-клеток, снижать их количество, подавлять секрецию цитокинов: интерлейкина-2, интерлейкина-10 и интерферона γ – и связываться с растворимыми рецепторами или лигандами, предотвращая их связывание с молекулами мембранного типа [14–16, 21]. Полученные результаты показали, что повышенный уровень растворимых форм sPD-1 или sPD-L1 при РМЖ и PCOPP сочетался с повышенным количеством супрессорных CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-лимфоцитов в составе CD8⁺ клеток. Повышение процентного содержания клеток этой популяции на фоне высокого уровня растворимой формы sPD-L1 сочеталось со снижением общего числа CD8⁺ лимфоцитов (за счет несупрессорных популяций) при PCOPP и процента CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ Т-клеток в составе CD8⁺ лимфоцитов при РМЖ. Кроме того, при РМЖ уровень обеих растворимых форм был отрицательно взаимосвязан также с процентом CD19 В-клеток. Значительное число исследований продемонстрировало благоприятное значение В-клеток для прогноза заболевания при различных типах злокачественных опухолей, и снижение их числа может являться негативным фактором [22–24]. Снижение количества CD8⁺ Т-клеток и В-лимфоцитов при высоком уровне sPD-L1 продемонстрировано Y. Xing и соавт. у больных раком легкого [14]. При высоких исходных уровнях sPD-1 и sPD-L1 при РМЖ наблюдалось также снижение процентного содержания активированных CD25 лимфоцитов. Ранее мы обнаружили, что снижение количества лимфоцитов ПК, экспрессирующих маркер ранней активации CD25⁺, до начала химиотерапии являлось неблагоприятным фактором и сочеталось со статистически значимым уменьшением безрецидивной и общей выживаемости пациентов с трижды негативным РМЖ [25].

Наиболее значимая роль в непосредственном уничтожении опухолевых клеток отводится CD8⁺ Т-клеткам. При этом значение имеет не только их уровень в ПК, и особенно в опу-

холевой ткани, но и их функциональная активность [7]. Мы исследовали функциональный потенциал CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток: определялась корреляция CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток с CD8⁺Perforin⁺ лимфоцитами. По данным различных авторов, CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-лимфоциты, экспрессирующие маркер CD11b, обладают высокой цитотоксической активностью [17, 26, 27]. В ПК у больных РМЖ и РСОРП отмечалась статистически значимая положительная корреляция CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток с CD8⁺Perforin⁺ популяцией, однако в опухоли эта взаимосвязь исчезала. Таким образом, при РМЖ и РСОРП CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клетки, по-видимому, теряют свою эффективность в опухолевом микроокружении, которое при различных опухолях в значительном числе случаев является иммуносупрессивным. В то же время при меланоме взаимосвязь CD8⁺Perforin⁺ лимфоцитов с CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клетками в ПК отсутствовала, но обнаружена в опухолевой ткани. Злокачественная меланома – высокоиммуногенная опухоль из-за невероятно высокой геномной мутационной нагрузки, которая обладает наивысшим потенциалом вызывать специфические адаптивные противоопухолевые иммунные ответы [28]. Возможно, с этим в определенной степени связано то, что только при меланоме в опухолевой ткани наблюдалась положительная корреляция CD8⁺Perforin⁺ лимфоцитов с CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клетками. Между тем число пациентов с меланомой было небольшим, и для подтверждения полученного результата требуется большее число наблюдений. Следует отметить, что у всех обследованных больных в опухолевой ткани менялся состав CD8 лимфоцитов в сторону значительного снижения процента цитотоксических CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток и повышения числа регуляторных CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-лимфоцитов по сравнению с ПК. Отмечалось также повышение при меланоме и РМЖ процента функционально неактивных CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ Т-клеток. Важно подчеркнуть, что в составе TILs процентное содержание CD8⁺PD-1⁺ лимфоцитов значительно выше, чем в ПК, что указывает на преимущественно дисфункциональное состояние этих клеток.

У 7 пациентов с меланомой и пациентов с РМЖ исследовали уровень растворимых форм sPD-L1 и sPD-1 до и после лечения. У больных с меланомой после лечения отмечалось повышение уровня sPD-L1 и sPD-1 по сравнению с исходными значениями. Наиболее значительным было повышение уровня sPD-1: медиана возросла в 4 раза. У пациентов с РМЖ изменения этих маркеров после лечения не наблюдалось. В нашу задачу не входило определение значения изменений уровня этих факторов для эффекта терапии. В то же время полученные результаты согласуются с данными литературы о возможном влиянии противоопухолевой терапии на уровень растворимых форм sPD-L1 и sPD-1. По данным авторов [11, 12], высокий уровень sPD-1 после лечения является благоприятным прогностическим фактором.

Заключение

Экспрессия PD-1 на Т-лимфоцитах является одним из признаков истощения и снижения их функциональных свойств. Обнаружены различия во взаимосвязи CD8⁺PD-1⁺ клеток с популяциями CD8 лимфоцитов у больных с разными нозологическими формами в ПК. У пациентов с меланомой CD8⁺PD-1⁺ клетки положительно коррелировали с популяциями CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ и CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-лимфоцитов, а при РМЖ – с CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ лимфоцитами. В опухолевой ткани при всех нозологических формах отмечалась положительная

корреляция CD8⁺PD-1⁺ клеток с регуляторными терминально дифференцированными CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клетками. Полученные данные подтверждают также наличие у растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 иммунорегуляторных свойств: положительная взаимосвязь уровня данных маркеров с процентным содержанием супрессорных CD8⁺CD11b⁺CD28⁻ Т-клеток и отрицательная – с уровнем CD8 лимфоцитов, CD8⁺CD11b⁺CD28⁺ Т-клеток цитотоксических/памяти, В-клеток и активированных CD25 лимфоцитов. Результаты проведенного исследования могут внести определенный вклад в изучение прогностической значимости мембранных и растворимых форм sPD-1 и sPD-L1 с учетом особенностей их взаимосвязи с супрессорными и эффекторными популяциями лимфоцитов системного и локального иммунитета.

Раскрытие интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Disclosure of interest. The authors declare that they have no competing interests.

Вклад авторов. Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы. Т.Н. Заботина – разработка плана исследования, работа над текстом статьи; утверждение текста статьи; А.И. Черткова – анализ и интерпретация данных, написание текста рукописи; А.А. Борунова, Е.Н. Захарова, Э.К. Шоуа – статистическая обработка результатов, редактирование текста статьи; Н.Е. Кушлинский, Е.С. Герштейн – анализ полученных данных; В.Т. Циклаури, И.В. Самойленко, М.В. Хорошилов – сбор клинических данных для анализа; З.Г. Кадагидзе – работа с литературой; научное редактирование рукописи.

Authors' contribution. The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors contributed substantially to the study and preparation of the paper, approved the final version of the paper prior to publication, and agreed to be responsible for all aspects of the work, implying proper review and resolution of issues related to the accuracy or integrity of any part of the study. T.N. Zaborina – development of a research plan, work on the text of the article; approval of the text of the article; A.I. Chertkova – analysis and interpretation of data, writing the text of the manuscript; A.A. Borunova, E.N. Zakharova, E.K. Shoua – statistical processing of the results, editing the text of the article; N.E. Kushlinskii, E.S. Gershtein – analysis of the obtained data; V.T. Tsiklauri, I.V. Samoylenko, M.V. Khoroshilov – collection of clinical data for analysis; Z.G. Kadagidze – work with literature; scientific editing of the manuscript.

Источник финансирования. Авторы декларируют отсутствие внешнего финансирования для проведения исследования и публикации статьи.

Funding source. The authors declare that there is no external funding for the exploration and analysis work.

Информированное согласие на публикацию. Пациенты подписали форму добровольного информированного согласия на публикацию медицинской информации.

Consent for publication. Written consent was obtained from the patients for publication of relevant medical information.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Кушлинский Н.Е., Фридман М.В., Морозов А.А., и др. PD-1-путь: биологическая значимость, клиническое применение и существующие проблемы. *Молекулярная медицина*. 2019;(1) [Kushlinskii NE, Fridman MV, Morozov AA, et al. PD-1-path: biological significance, clinical application, and existing problems. *Molecular Medicine*. 2019;(1) (in Russian)]. DOI:10.29296/24999490-2019-01-01
- Ai L, Xu A, Xu J. Roles of PD-1/PD-L1 pathway: Signaling, cancer, and beyond. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1248:33-59. DOI:10.1007/978-981-15-3266-53
- Jiang Y, Chen M, Nie H, Yuan Y. PD-1 and PD-L1 in cancer immunotherapy: Clinical implications and future considerations. *Hum Vaccin Immunother*. 2019;15(5):1111-22. DOI:10.1080/21645515.2019.1571892
- Li HY, McSharry M, Bullock B, et al. The tumor microenvironment regulates sensitivity of murine lung tumors to PD-1/PD-L1 antibody blockade. *Cancer Immunol Res*. 2017;5(9):767-77. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-16-0365
- Smyth MJ, Ngiew SF, Ribas A, Teng MW. Combination cancer immunotherapies tailored to the tumour microenvironment. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016;13(3):143-58. DOI:10.1038/nrclinonc.2015.209
- Paijens ST, Vledder A, de Bruyn M, Nijman HW. Tumor-infiltrating lymphocytes in the immunotherapy era. *Cell Mol Immunol*. 2021;18(4):842-59. DOI:10.1038/s41423-020-00565-9
- Solomon B, Young RJ, Bressel M, et al. Prognostic significance of PD-L1(+) and CD8(+) immune cells in HPV(+) oropharyngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Immunol Res*. 2018;6(3):295-304. DOI:10.1158/2326-6066.CIR-17-0299
- Кушлинский Н.Е., Герштейн Е.С., Горячева И.О., и др. Растворимый лиганд рецептора контрольной точки иммунитета (sPD-L1) в сыворотке крови при почечно-клеточном раке. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2018;166(9):325-9 [Kushlinskii NE, Gershtein ES, Goryacheva IO, et al. Soluble ligand of the immune checkpoint receptor (sPD-L1) in blood serum of patients with renal cell carcinoma. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2018;166(9):325-9 (in Russian)].
- Ковалева О.В., Грачев А.Н., Макарова Э.И., и др. Прогностическая значимость sPD-1/sPD-L1 при раке почки в зависимости от фенотипа опухолевых и стромальных клеток. *Онкоурология*. 2022;18(2):17-28 [Kovaleva OV, Gratchev AN, Makarova EI, et al. Prognostic significance of sPD-1/sPD-L1 in renal cancer depending on the phenotype of tumor and stromal cells. *Onkourologiya = Cancer Urology*. 2022;18(2):17-28 (in Russian)]. DOI:10.17650/1726-9776-2022-18-2-17-28
- Li X, Zheng Y, Yue F. Prognostic value of soluble programmed cell death ligand-1 (sPD-L1) in various cancers: A meta-analysis. *Target Oncol*. 2021;16(1):13-26. DOI:10.1007/s11523-020-00763-5
- Ruan Y, Hu W, Li W, et al. Analysis of plasma EBV-DNA and soluble checkpoint proteins in nasopharyngeal carcinoma patients after definitive intensity-modulated radiotherapy. *BioMed Res Int*. 2019;2019:3939720. DOI:10.1155/2019/3939720
- Sorensen SF, Demuth C, Weber B, et al. Increase in soluble PD-1 is associated with prolonged survival in patients with advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Lung Cancer*. 2016;100:77-84. DOI:10.1016/j.lungcan.2016.08.001
- Bian B, Fanale D, Dusetti N, et al. Prognostic significance of circulating PD-1, PD-L1, pan-BTN3As, BTN3A1 and BTLA in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Oncoimmunology*. 2019;8(4):e1561120. DOI:10.1080/2162402x.2018.1561120
- Xing YF, Zhang ZL, Shi MH, et al. The level of soluble programmed death-1 in peripheral blood of patients with lung cancer and its clinical implications. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2012;35(2):102-6 (in Chinese). PMID:22455965
- Shi MH, Xing YF, Zhang ZL, et al. Effect of soluble PD-L1 released by lung cancer cells in regulating the function of T lymphocytes. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi*. 2013;35(2):85-8 (in Chinese). DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2013.02.002
- Заботина Т.Н., Черткова А.И., Борунова А.А., и др. Взаимосвязь субпопуляций лимфоцитов больных раком молочной железы с результатами лечения. *Российский биотерапевтический журнал*. 2021;20(3):25-33 [Zabotina TN, Chertkova AI, Borunova AA, et al. Relationship of lymphocyte subpopulations in breast cancer patients with treatment results. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Journal of Biotherapy*. 2021;20(3):25-33 (in Russian)]. DOI:10.17650/1726-9784-2021-20-3-25-33
- Fiorentini S, Licenziati S, Alessandri G, et al. CD11b expression identifies CD8+CD28+ T lymphocytes with phenotype and function of both naive/memory and effector cells. *J Immunol*. 2001;166(2):900-7. DOI:10.4049/jimmunol.166.2.900
- Caruso A, Fiorentini S, Licenziati S, et al. Expansion of rare CD8+ CD28- CD11b- T cells with impaired effector functions in HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000;24(5):465-74. DOI:10.1097/00126334-200008150-00012
- Freedman MS, Ruijs TC, Blain M, Antel JP. Phenotypic and functional characteristics of activated CD8+ cells: a CD11b-CD28- subset mediates noncytolytic functional suppression. *Clin Immunol Immunopathol*. 1991;60(2):254-67. DOI:10.1016/0090-1229(91)90068-1
- Beltra JC, Manne S, Abdel-Hakeem MS, et al. Developmental relationships of four exhausted CD8+ T cell subsets reveals underlying transcriptional and epigenetic landscape control mechanisms. *EJ Immunity*. 2020;52(5):825-41. DOI:10.1016/j.immuni.2020.04.014
- Schnell A, Schmid C, Herr W, Siska PJ. The peripheral and intratumoral immune cell landscape in cancer patients: a proxy for biology and a tool for outcome prediction. *Biomedicines*. 2018;6(1):25. DOI:10.3390/biomedicines6010025
- Cillo AR, Kürten CHL, Tabib T, et al. Immune landscape of viral- and carcinogen-driven head and neck cancer. *Immunity*. 2020;52(1):183-99.e9. DOI:10.1016/j.immuni.2019.11.014
- Garaud S, Buisseret L, Solinas C, et al. Tumor infiltrating B-cells signal functional humoral immune responses in breast cancer. *JCI Insight*. 2019;5(18):e129641. DOI:10.1172/jci.insight.129641
- Helms BA, Reddy SM, Gao J, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response. *Nature*. 2020;577(7791):549-55. DOI:10.1038/s41586-019-1922-8
- Кадагидзе З.Г., Черткова А.И., Заботина Т.Н., и др. Взаимосвязь маркеров ранней и поздней активации лимфоцитов с эффективностью неоадьювантной химиотерапии больных трижды негативным раком молочной железы. *Иммунология*. 2021;42(2):112-24 [Kadagidze ZG, Chertkova AI, Zabotina TN, et al. The relationship of markers of early and late lymphocytes activation with the effectiveness of neoadjuvant chemotherapy in patients with triple negative breast cancer with the efficiency of neoadjuvant chemotherapy in triple negative breast cancer patients. *Immunologiya = Immunology*. 2021;42(2):112-24 (in Russian)]. DOI:10.33029/0206-4952-2021-42-2-112-124
- McFarland HI, Nahill SR, Maciaszek JW, Welsh RM. CD11b (Mac-1): A marker for CD8+ cytotoxic T cell activation and memory in virus infection. *J Immunol*. 1992;149(4):1326-3310. PMID:1500720
- Christensen JE, Andreasen SO, Christensen JP, Thomsen AR. CD11b expression as a marker to distinguish between recently activated effector CD8(+) T cells and memory cells. *Int Immunol*. 2001;13(4):593-600. DOI:10.1093/intimm/13.4.593
- Marzagalli M, Ebel ND, Manuel ER. Unraveling the crosstalk between melanoma and immune cells in the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol*. 2019;59:236-50. DOI:10.1016/j.semcancer.2019.08.002

Статья поступила в редакцию / The article received: 08.05.2023

Статья принята к печати / The article approved for publication: 10.10.2023