

# Иммуногистохимические факторы прогноза иммунотерапии метастатической меланомы

Л.В. Оганесян<sup>1,2</sup>, Л.Э. Завалишина<sup>1</sup>, Н.А. Огнерубов<sup>3</sup>, Ю.В. Косталанова<sup>4,5</sup>, А.Е. Орлов<sup>4-6</sup>, И.В. Поддубная<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Москва, Россия;

<sup>2</sup>ГБУЗ «Московский клинический научно-практический центр им. А.С. Логинова» Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия;

<sup>3</sup>Пензенский институт усовершенствования врачей – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, Пенза, Россия;

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, Самара, Россия;

<sup>5</sup>ГБУЗ «Самарский областной клинический онкологический диспансер», Самара, Россия;

<sup>6</sup>Министерство здравоохранения Самарской области, Самара, Россия

## Аннотация

**Введение.** Иммунотерапия (ИТ) с применением анти-PD-1-препаратов становится стандартным методом лечения пациентов с метастатической меланомой. Однако ингибиторы контрольных точек иммунного ответа эффективны только у части пациентов, при этом исследований, направленных на изучение биологических маркеров и их корреляции с клинической эффективностью, недостаточно для того, чтобы делать однозначные выводы.

**Цель.** Улучшение результатов 1-й линии терапии диссеминированной меланомы на основании выявления клинических и иммуногистохимических предикторов эффективности ИТ.

**Материалы и методы.** Проанализированы данные 130 пациентов, которые по поводу диссеминированной меланомы в период с 2017 по 2024 г. получали лекарственное лечение ингибиторами контрольных точек иммунного ответа (ниволумаб или пролголимаб) в 1-й линии.

**Результаты.** Положительная динамика отмечена у 24 (18,4% пациентов): полный ответ наблюдался у 18 (13,8%) пациентов, частичный – у 6 (4,6%), стойкая стабилизация отмечена у 71 (54,6%) пациента. Прогрессирование процесса отмечено у 31 (24%) больного. Летальный исход наступил в 4 (3%) случаях при ИТ пролголимабом в связи с прогрессированием заболевания. Двухлетняя безрецидивная выживаемость (БРВ) на фоне ИТ составила 53% (95% доверительный интервал – ДИ 42–67),  $p=0,63$ ; медиана общей выживаемости не достигнута. При иммуногистохимическом исследовании у 47 (63,5%) пациентов наблюдалось преобладание инфильтрации опухоли CD8-лимфоцитами над CD4 независимо от вида ИТ: 2-летняя БРВ – 82% (95% ДИ 70–96) по сравнению с 13% (95% ДИ 2,7–64) при отсутствии преобладания CD8 над CD4,  $p=0,0001$ ; медиана БРВ не достигнута при преобладании инфильтрации опухоли CD8-лимфоцитами над CD4 по сравнению с другой группой – 7,6 мес при отсутствии этой характеристики (95% ДИ 5,8–0),  $p=0,001$ . Перитуморальное расположение иммунного лимфоидного инфильтрата наблюдалась у всех 74 (100%) пациентов, а интратуморальное расположение выявлено реже – у 52 (70%) больных. При наличии одновременно и пери- и интратуморального расположения иммунного инфильтрата 2-летняя БРВ составила 83% (95% ДИ 70–98) по сравнению с группой пациентов, у которых не выявлено интратуморальное расположение – 5,5% (95% ДИ 0,8–36),  $p<0,0001$ . Экспрессия уровня лиганда программированной клеточной смерти 1 (PD-L1)  $>10\%$  установлена нами у 47 (63,5%) наблюдениях. При наличии такого уровня экспрессии PD-L1 однолетняя БРВ равна 91% (95% ДИ 83–100) по сравнению с 29% (95% ДИ 15–57) при меньшем уровне экспрессии PD-L1,  $p<0,0001$ ; медиана БРВ не достигнута, а во 2-й группе БРВ составляет только 6,6 мес. При наличии уровня PD-L1  $>10\%$  2-летняя БРВ была высокой и составила 78% (95% ДИ 63–100),  $p<0,0001$ .

**Заключение.** На основании полученных результатов исследования можно предполагать, что такие иммуногистохимические характеристики, как уровень экспрессии PD-L1  $>10\%$ , одновременное наличие пери- и интратуморальной лимфоидной инфильтрации опухоли и преобладание CD8 над CD4 могут рассматриваться как предикторы эффективности ИТ с использованием ниволумаба и пролголимаба.

**Ключевые слова:** метастатическая меланома, иммунотерапия, ингибиторы иммунных контрольных точек, опухоль-инфильтрирующие лимфоциты, TILs, лиганд программированной клеточной смерти, PD-1, ниволумаб, пролголимаб

**Для цитирования:** Оганесян Л.В., Завалишина Л.Э., Огнерубов Н.А., Косталанова Ю.В., Орлов А.Е., Поддубная И.В. Иммуногистохимические факторы прогноза иммунотерапии метастатической меланомы. Современная Онкология. 2024;26(2):190–196. DOI: 10.26442/18151434.2024.2.202803

© ООО «КОНСИЛИУМ МЕДИКУМ», 2024 г.

## Информация об авторах / Information about the authors

✉ **Оганесян Лиана Вацагановна** – аспирант каф. онкологии и паллиативной медицины им. акад. А.И. Савицкого ФГБОУ ДПО РМАНПО, врач-онколог ГБУЗ «МКНЦ им. А.С. Логинова». E-mail: liana15.94@mail.ru

**Завалишина Лариса Эдуардовна** – д-р биол. наук, проф. каф. патологической анатомии ФГБОУ ДПО РМАНПО, член Российского общества патолого-анатомов

**Огнерубов Николай Алексеевич** – д-р мед. наук, канд. юрид. наук, проф., зав. каф. онкологии и урологии Пензенского института усовершенствования врачей – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО, засл. работник высшей школы РФ, засл. врач РФ. E-mail: ognerubov\_n.a@mail.ru; SPIN-код: 3576-3592

**Косталанова Юлия Владимировна** – канд. мед. наук, ассистент каф. онкологии ФГБОУ ВО СамГМУ, зав. химиотерапевтическим отд-нием №2 ГБУЗ СОКОД

✉ **Liana V. Oganessian** – Graduate Student, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Loginov Moscow Clinical Scientific Center. E-mail: liana15.94@mail.ru; ORCID: 0000-0001-7564-7472

**Larisa E. Zavalishina** – D. Sci. (Biol.), Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. ORCID: 0000-0002-0677-7991

**Nikolai A. Ognerubov** – D. Sci. (Med.), Prof., Cand. Sci. (Law), Penza Institute for Further Training of Physicians – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: ognerubov\_n.a@mail.ru; ORCID: 0000-0003-4045-1247

**Liulia V. Kostalanova** – Cand. Sci. (Med.), Samara State Medical University, Samara Regional Clinical Oncology Dispensary. ORCID: 0000-0001-7395-0136

# Immunohistochemical factors of prognosis of immunotherapy for metastatic melanoma: A prospective and retrospective study

Liana V. Oganessian<sup>1,2</sup>, Larisa E. Zavalishina<sup>1</sup>, Nikolai A. Ognerubov<sup>3</sup>, Iuliia V. Kostalanova<sup>4,5</sup>, Andrey E. Orlov<sup>4-6</sup>, Irina V. Poddubnaya<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Loginov Moscow Clinical Scientific Center, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>Penza Institute for Further Training of Physicians – branch of the Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Penza, Russia;

<sup>4</sup>Samara State Medical University, Samara, Russia;

<sup>5</sup>Samara Regional Clinical Oncology Dispensary, Samara, Russia;

<sup>6</sup>Ministry of Healthcare of Samara Region, Samara, Russia

## Abstract

**Introduction.** Anti-PD-1 immunotherapy (IT) is becoming the standard treatment for patients with metastatic melanoma. However, immune checkpoint inhibitors are only effective in a fraction of patients, and studies examining biological markers and their correlation with clinical efficacy are insufficient to draw unambiguous conclusions.

**Aim.** To improve the outcomes of the first-line therapy for disseminated melanoma based on identifying clinical and immunohistochemical predictors of IT efficacy.

**Materials and methods.** Data from 130 patients who were treated with immune checkpoint inhibitors (nivolumab or prolololimab) in the first-line therapy for disseminated melanoma between 2017 and 2024 were analyzed.

**Results.** Improvement was observed in 24 patients (18.4%): complete response in 18 patients (13.8%), partial response in 6 (4.6%), and stabilization in 71 (54.6%) patients. Progression was reported in 31 (24%) patients. Death occurred in 4 (3%) cases during IT with prolololimab due to disease progression. The two-year disease-free survival (DFS) during IT was 53% (95% confidence interval [CI] 42–67),  $p=0.63$ ; the median 2-year overall survival was not reached. In the immunohistochemical study, 47 (63.5%) patients had a predominance of tumor infiltration with CD8 lymphocytes over CD4, regardless of the IT type: 2-year DFS 82% (95% CI 70–96) vs 13% (95% CI 2.7–64) in the absence of CD8 predominance over CD4,  $p=0.0001$ ; the median DFS was not reached in patients with the predominance of CD8 lymphocytes tumor infiltration over CD4 compared to the other group – 7.6 months in the absence of this feature (95% CI 5.8–0),  $p=0.001$ . The peritumoral location of the immune lymphoid infiltrate was observed in all 74 (100%) patients, and the intratumoral location was less common (52 patients, 70%). In the presence of both peri- and intratumoral location of the immune infiltrate, the 2-year DFS was 83% (95% CI 70–98) compared to the group of patients in whom no intratumoral location was detected – 5.5% (95% CI 0.8–36),  $p<0.0001$ . The expression of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) level  $>10\%$  was observed in 47 (63.5%) patients. With this level of PD-L1 expression, the one-year DFS was 91% (95% CI 83–100) compared to 29% (95% CI 15–57) with a lower level of PD-L1 expression,  $p<0.0001$ ; the median DFS is reached, and in the group 2, DFS was only 6.6 months. In the case of PD-L1 $>10\%$ , the 2-year DFS was high at 78% (95% CI 63–100),  $p<0.0001$ .

**Conclusion.** Based on the study's results, it can be assumed that immunohistochemical characteristics such as a PD-L1 expression level  $>10\%$ , the simultaneous presence of peri- and intratumoral lymphoid tumor infiltration, and the predominance of CD8 over CD4 can be considered predictors of IT efficacy with nivolumab and prolololimab.

**Keywords:** metastatic melanoma, immunotherapy, immune checkpoint inhibitors, tumor-infiltrating lymphocytes, TILs, programmed cell death ligand, PD-1, nivolumab, prolololimab

**For citation:** Oganessian LV, Zavalishina LE, Ognerubov NA, Kostalanova IuV, Orlov AE, Poddubnaya IV. Immunohistochemical factors of prognosis of immunotherapy for metastatic melanoma: A prospective and retrospective study. *Journal of Modern Oncology*. 2024;26(2):190–196. DOI: 10.26442/18151434.2024.2.202803

## Введение

Меланома – это злокачественная опухоль нейроэктодермального происхождения, возникающая из меланоцитов – пигментных клеток кожи [1, 2]. Первичная опухоль (меланома) может возникнуть в любом из органов с разной частотой. Опухоль чаще локализуется в коже, реже – в сетчатке глаза, слизистых оболочках [3, 4].

Меланома характеризуется высокой агрессивностью течения, ранним возникновением отдаленных гематогенных

метастазов, крайне неблагоприятным прогнозом и резистентностью к стандартной цитостатической терапии [5].

Заболеваемость меланомой в России (по состоянию на начало 2022 г.) составляет 5–7 человек на 100 тыс. населения. В ряде стран Запада этот показатель в 2–3 раза выше. В Российской Федерации в 2022 г. меланома кожи (МК) выявлена у 12 071 человека (на 2000 человек больше, чем в 2020 г.) с некоторым преобладанием женщин: мужчин – 4722, женщин – 7349. В структуре общей заболеваемости злокачественными

## Информация об авторах / Information about the authors

**Орлов Андрей Евгеньевич** – д-р мед. наук, проф., зав. каф. общественного здоровья и здравоохранения Института профессионального образования ФГБОУ ВО СамГМУ, глав. врач ГБУЗ СОКОД, гл. внештат. онколог Министерства здравоохранения Самарской области

**Поддубная Ирина Владимировна** – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., зав. каф. онкологии и паллиативной медицины им. акад. А.И. Савицкого, проректор по лечебной работе и международному сотрудничеству ФГБОУ ДПО РМАНПО, засл. деят. образования РФ, председатель Российского общества онкогематологов. E-mail: ivprectorat@inbox.ru

**Andrey E. Orlov** – D. Sci. (Med.), Prof., Samara State Medical University, Samara Regional Clinical Oncology Dispensary, Ministry of Healthcare of Samara Region. ORCID: 0000-0001-6145-3343

**Irina V. Poddubnaya** – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Russian Medical Academy of Continuous Professional Education. E-mail: ivprectorat@inbox.ru; ORCID: 0000-0002-0995-1801

новообразованиями МК в 2022 г. среди мужчин составляет 1,7%, среди женщин – 2,2%. Летальность от меланомы в 2022 г. составила 1637 среди мужчин и 1770 среди женщин. Средний возраст умерших – 66,1 года (оба пола); мужчины – 64,7 года, женщины – 67,5 года [6].

Мнения о существовании единого этиологического фактора для развития меланомы сегодня не существует. Основной причиной возникновения меланомы считается воздействие на кожу ультрафиолетового излучения типа В (длина волны 290–320 нм) и типа А (длина волны 320–400 нм) [7, 8].

Появление противоопухолевых препаратов целенаправленного действия (таргетной терапии) при наличии в опухоли мишени, определяемой молекулярно-генетическими методами (мутации в гене *BRAF*), и иммунологических агентов – ингибиторов контрольных точек иммунитета (ИКТИ, анти-PD-1, анти-CTLA-4-ингибиторов) значительно улучшило результативность лечения метастатической меланомы (ММ). Несмотря на понимание механизма действия ИКТИ в литературе не существует однозначного мнения о выраженности терапевтического эффекта в зависимости от степени экспрессии лиганда программированной клеточной смерти (PD-L) PD-L1/PD-L2 на опухолевых клетках [8, 9, 10].

По данным мировых исследований, при МК опухолевая ткань в большинстве случаев имеет следующие особенности: определяется высокая инфильтрация иммунокомпетентными клетками, отмечается уникальность опухолевого микроокружения, выявляется иммуногенность и высокая мутационная нагрузка. В связи с этим внедрение в практику нового варианта иммунотерапии (ИТ) ИКТИ позволило достичь улучшения показателей непосредственной эффективности и отдаленных результатов терапии метастатической МК [11]. Это позволяет обоснованно считать, что более детальное изучение клеточного состава опухоли, выраженности и распределения в опухоли инфильтрации иммунокомпетентными клетками и других особенностей будет способствовать выявлению потенциальных факторов благоприятного и неблагоприятного прогноза МК, что имеет большое значение для клинической практики.

Опухоль-инфильтрирующие лимфоциты (tumor infiltrating lymphocytes – TILs) – один из источников аутологичных цитотоксических Т-клеток для реализации адаптивной ИТ, уже показавшей высокую значимость в оценке эффективности лечения ММ, и могут являться одним из потенциальных биомаркеров прогноза течения данного заболевания. Благодаря разнообразному клеточному составу TILs они могут и подавлять рост опухоли, и способствовать прогрессированию путем селекции иммунорезистентных клонов или посредством создания в микроокружении опухоли условий, способствующих ее росту [12, 13]. TILs представлены в основном Т-лимфоцитами и в меньшей степени В-лимфоцитами и натуральными клетками-киллерами (NK) [14]. В настоящее время известны многочисленные субпопуляции TILs. Т-лимфоциты в основном включают следующие подтипы: CD8<sup>+</sup> – цитотоксические Т-лимфоциты, CD4<sup>+</sup> – Т-хелперные лимфоциты, CD45RO<sup>+</sup> – Т-клетки памяти, регуляторные клетки FOXP3<sup>+</sup> и т.д.

CD8<sup>+</sup> – цитотоксические Т-лимфоциты – обладают противоопухолевой цитолитической активностью, а CD4<sup>+</sup> – Т-хелперные клетки, включая FOXP3<sup>+</sup> (регуляторные Т-лимфоциты), наоборот, подавляют естественный противоопухолевый иммунный ответ, нарушая представление антигена, активность и цитотоксичность других иммунных клеток, тем самым способствуя росту опухоли и развитию иммунной толерантности [3]. Точная роль В-лимфоцитов и NK-клеток до сих пор четко не определена, и трактовка их функции противоречива [12, 14].

Ф. Piras и соавт. в исследовании пришли к выводу о том, что уровень CD8<sup>+</sup> TILs в первичных опухолях МК имел взаимосвязь с повышенной выживаемостью (в когорте из 47 пациентов). При стратификации пациентов на основе уровня инфильтрации Т-клеток CD8<sup>+</sup> отмечено, что 5-летняя общая выживаемость для групп с высокой, умеренной и низкой

инфильтрацией существенно различалась и составила 78, 44 и 25% соответственно [15]. Ф. Maibach и соавт. в 2011 г. в исследовании с более представительной когортой (более чем 180 образцов первичной МК) не обнаружили никакой корреляции между наличием CD8<sup>+</sup> TILs и выживаемостью пациентов [16]. Таким образом, эти исследования наглядно демонстрируют противоречивость мнений исследователей и сложность определения истинной прогностической значимости CD8<sup>+</sup> TILs с помощью иммуногистохимического (ИГХ) исследования.

Расположение иммунного инфильтрата (ИИ) может быть интратуморальным, стромальным или перитуморальным. Как интратуморальные, так и перитуморальные лимфоциты могут быть оценены и проанализированы на предмет корреляции с различными клиническими параметрами и могут послужить биологическим маркером эффективности терапии при ММ [17].

Биологическая и клиническая значимость исследования интра- и перитуморальной инфильтрации TILs обсуждалась в нескольких исследованиях, однако единых данных для использования в клинической практике до сих пор не получено, поэтому этот вопрос бесспорно является предметом изучения.

Исследования показали, что при МК наличие внутриопухолевых лимфоцитов, как правило, является положительным прогностическим фактором. Однако изучение отдельных популяций с использованием таких антител, как CD3 или CD8, или активированных Т-клеток, может дать противоречивые результаты в меньших когортах пациентов [18].

В исследовании W. Fridman и соавт. проанализированы данные 200 ранее опубликованных исследований при опухолях различного гистогенеза, чтобы получить полное представление о прогностической ценности основных подмножеств иммунных лимфоидных клеток. Подчеркнуто, что при меланоме, по сравнению с другими опухолями, такими как колоректальный рак и рак молочной железы, отмечается несомненная недостаточность количества исследований с данными о прогностической роли подмножества лимфоцитов. Тем не менее отмечено, что в то время как наличие инфильтрации Т-клетками (CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>) и В-клетками (CD20<sup>+</sup>) ассоциируется с благоприятным прогнозом, инфильтрация FOXP3<sup>+</sup> T<sub>reg</sub> связана с ухудшением прогноза [16, 19].

В 2014 г. Р. Tumei и соавт. изучили биопсионный материал ММ (нескольких анатомических участков) до и после лечения у 46 пациентов, получавших пембролизумаб [16, 20]. Авторы смогли показать, что экспрессия CD8<sup>+</sup> Т-клеток на опухолевых клетках может рассматриваться как маркер для прогнозирования положительного ответа на пембролизумаб. Более того, исследователями установлено, что при эффективности ИТ пембролизумабом отмечается увеличение CD8<sup>+</sup> TIL по сравнению с исходным [20], с одной стороны. С другой стороны, наличие инфильтрации CD4<sup>+</sup> Т-клетками не показало прогностически значимых результатов при положительном ответе на пембролизумаб. Это свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения с целью подтверждения мнения о том, что TILs может служить эффективным биомаркером при ИТ.

В настоящее время как в России, так и в мире исследования, где изучалась взаимосвязь между TILs/CD8<sup>+</sup> Т-клетками/CD4<sup>+</sup> Т-клетками и ответом на терапию различными ИКТИ при ММ, очень мало.

А. Daud и соавт. в исследовании при подгрупповом анализе пациентов с ММ, получавших терапию пембролизумабом или ниволумабом, доказали положительную корреляцию между высоким уровнем CD8<sup>+</sup> Т-клеток и высокой экспрессией CTLA-4 и PD-1 [21]. Показано, что экспрессия Т-клеток CTLA-4, PD-1, CD8<sup>+</sup> не зависит от анатомической локализации меланомы или предыдущей терапии, а лечение антигенами против PD-1 привело к увеличению частоты внутриопухолевой инфильтрации CD8<sup>+</sup> Т-клетками с одновременным снижением количества внутриопухолевых CD4<sup>+</sup> Т-клеток [21]. Кроме того, T<sub>reg</sub> (определяемый как CD4<sup>+</sup>, FOXP3, CTLA-4) не

был определенно связан с клиническими реакциями, а лечение антителами против PD-1 привело к увеличению количества CD8<sup>+</sup> Т-клеток [21]. Эти результаты совпадают с данными другого исследования, где P. Tumei и соавт. показали, что исходное количество клеток CD8<sup>+</sup> TILs коррелировало с позитивным клиническим ответом на терапию анти-PD-1 [20].

Эти исследования показывают, что, хотя уровень CD8<sup>+</sup> TILs является ключевым биомаркером для ответа на терапию ИКТИ, оценка поверхностных маркеров, таких как CTLA-4 и PD-1, или функциональных молекул, таких как Granzyme B, может идентифицировать подмножества CD8<sup>+</sup> TILs с улучшенным потенциалом прогнозирования ответа на терапию ИКТИ.

Сейчас для лечения ММ в РФ зарегистрированы несколько иммунопрепаратов (ИП) и их комбинаций: анти-PD-1 – ниволумаб, пембролизумаб, пролголимаб и комбинация анти-PD-1 с анти-CTLA-4 – ниволумаб + ипилимумаб [1].

PD-1 – это белковый рецептор – контрольная точка иммунного ответа, который ограничивает активность Т-лимфоцитов. Опухолевые клетки могут использовать сигнальный путь PD-1 для ингибирования Т-клеточного иммунного ответа. Несмотря на многочисленные исследования по изучению эффективности ИТ и уровня экспрессии PD-1, в настоящий момент нет конкретных данных о корреляции уровня экспрессии PD-1 и результативности ИТ.

Исследования, где сравнивалась эффективность и безопасность ИП при ММ, многочисленны, однако они не отвечают однозначно на вопрос о прогностическом значении уровня экспрессии PD-1 и лимфоидной инфильтрации опухоли основными представителями иммунных лимфоидных клеток.

**Цель исследования** – улучшение результатов 1-й линии терапии диссеминированной меланомы на основании выявления клинических и ИГХ-предикторов эффективности ИТ.

**Материалы и методы**

Нами проанализированы данные 130 пациентов, которые по поводу диссеминированной меланомы в период с 2017 по 2024 г. получали лекарственное лечение ИКТИ в 1-й линии. В 1-й группе терапия пролголимабом (1 мг/кг 1 раз в 2 недели) проведена 60 пациентам; во 2-й группе ниволумаб (240 мг 1 раз в неделю или 480 мг 1 раз в 4 недели) получали 70 пациентов. Средний возраст пациентов – 64 (18–92) года, из них 56 (43%) мужчин и 74 (57%) женщины.

У подавляющего числа пациентов – 124 (95%) – первичная опухоль локализовалась на коже, у 6 (5%) больных – в слизистых оболочках. При молекулярно-генетическом исследовании у 30 (23%) пациентов из 130 выявлена мутация V600E в BRAF.

Общее состояние по ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) было в пределах 0–2 во всех наблюдениях: ECOG-0 – у 9 пациентов, ECOG-1 – у 116, ECOG-2 – у 5 больных. Уровень лактатдегидрогеназы повышен у 32 (25%) пациентов. ИТ проводили в том числе и пациентам с коморбидностью (наличие таких сопутствующих заболеваний, как ишемическая болезнь сердца, гипертоническая болезнь – артериальная гипертензия, сахарный диабет 2-го типа, трофическая язва стопы, нефросклероз, хроническая почечная недостаточность, гепатит С; табл. 1.

Клиническая картина отягощена наличием метастазов в головной мозгу у 6 (9%) пациентов. Чаще всего наблюдались метастазы в легких – у 43 (31%) больных, печени – у 14 (21,7%) пациентов (табл. 2). Узловая форма меланомы наблюдалась у 40 исследуемых.

ИГХ-исследования проведены 74 пациентам, где оценивался уровень экспрессии PD-L1, CD4 и CD8, а также наличие интратуморальной/перитуморальной инфильтрации лимфоцитами.

Для определения экспрессии CD4 и CD8 в исследовании использованы:

- антитело CD4 (SP35) VENTANA, система визуализации UltraView Universal Alkaline Phosphatase Red (AP Red) Detection Kit VENTANA;

Таблица 1. Клинико-лабораторные характеристики пациентов  
Table 1. Clinical and laboratory characteristics of patients

Параметр	Группы/препарат				
	ниволумаб (n=70)		пролголимаб (n=60)		
	абс.	%	абс.	%	
Пол	Женский	40	57,1	34	56,7
	Мужской	30	42,9	26	43,3
	Всего	70	100,0	60	100,0
ECOG	0	6	8,6	3	5,0
	1	63	90,0	53	88,3
	2	1	1,4	4	6,7
	Всего	70	100,0	60	100,0
Артериальная гипертензия	Да	35	50,0	29	48,3
	Нет	35	50,0	31	51,7
	Всего	70	100,0	60	100,0
Сахарный диабет	Да	7	10,0	7	11,7
	Нет	63	90,0	53	88,3
	Всего	70	100,0	60	100,0
Ишемическая болезнь сердца	Да	7	10,0	12	20,0
	Нет	63	90,0	48	80,0
	Всего	70	100,0	60	100,0
PD-L1>10%	Да	28	75,7	19	51,4
	Нет	9	24,3	18	48,6
	Всего	37	100,0	37	100,0
Мутация гена BRAF	Да	16	22,9	14	23,3
	Нет	54	77,1	46	76,7
	Всего	70	100,0	60	100,0
Уровень инвазии по Кларку	2	0	0,0	0	0,0
	3	9	27,3	9	45,0
	4	17	51,5	10	50,0
	5	7	21,2	1	5,0
	Всего	33		20	
Лактатдегидрогеназа	≤ ВГН	56	65	42	70
	> ВГН	14	35	18	30
	Всего	70		60	

Примечание. ВГН – верхняя граница нормы.

- антитело CD8 (SP57) VENTANA, система визуализации UltraView Universal Alkaline Phosphatase Red (AP Red) Detection Kit VENTANA.

Определение уровня экспрессии PD-L1 проведено с антителом PD-L1 (SP263) Assay VENTANA и системой визуализации OptiView DAB IHC Detection Kit VENTANA.

ИГХ-исследования проводили в автоматизированном режиме по стандартным протоколам на автоматическом иммунофлуоресцентном оборудовании Ventana BenchMark ULTRA.

Для оценки уровня экспрессии CD4 и CD8 использовано определение площади, которую занимают позитивно окрашенные клетки, относительно всей площади опухоли, выраженное в процентах.

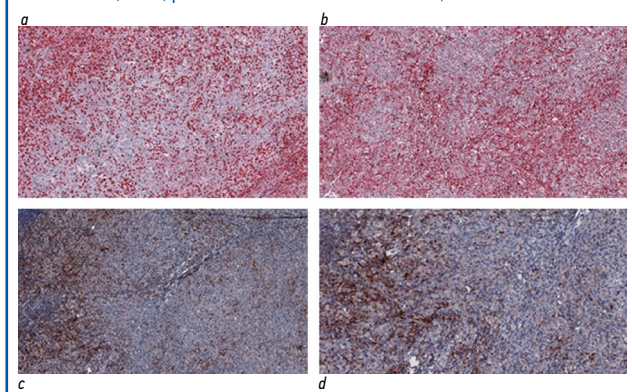
Для оценки экспрессии PD-L1 учитывались клетки опухоли с наличием полного или частичного окрашивания клеточных мембран любой интенсивности. Определяли количество таких позитивных клеток относительно общего

Таблица 2. Гематогенные метастазы  
Table 2. Hematogenous metastasis

Параметр	Группа/препарат			
	ниволумаб		пролголимаб	
	абс.	%	абс.	%
Печень	7	10,0	7	11,7
Легкие	22	31,4	21	35,0
ЦНС	4	5,7	2	3,3
Кости	6	8,6	7	11,7
Почки	1	1,4	1	1,7
Селезенка	2	2,9	3	5,0
Другие органы	19	27,1	21	35,0
Всего	70	100,0	60	100,0

Рис. 1. ИГХ-реакция с антителами: а – к CD8 в меланоме, об.х10; б – к CD4 в меланоме, об.х10; с – к PD-L1 (SP263) положительная реакция в 65% клеток опухоли, об.х10; д – к PD-L1 (SP263) положительная реакция в 65% клеток опухоли, об.х20.

Fig. 1. IHC reaction with antibodies: a – to CD8 in melanoma, x10; b – to CD4 in melanoma, x10; c – to PD-L1 (SP263) positive reaction in 65% of tumor cells, x10; d – to PD-L1 (SP263) positive reaction in 65% of tumor cells, x20.



числа опухолевых клеток и выражали данное соотношение в процентах. В качестве порогового значения позитивного статуса принимали 1% позитивно окрашенных клеток опухоли (рис. 1).

Статистические расчеты проведены с использованием программы Statistica 10 для Windows.

Пациенты разделены на 2 группы в зависимости от вида ИТ. Группы оказались сопоставимы по всем проанализированным характеристикам, что позволило нам на этом этапе исследования объединить их для анализа эффективности ИТ в 1-й линии. Клиническая эффективность определялась на основании критериев оценки для солидных опухолей RECIST1.1 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors). Медиана числа проведенных курсов ИТ составила 17 введений (4–100). Медиана наблюдения равна 8,8 (0,9; 51,6) мес.

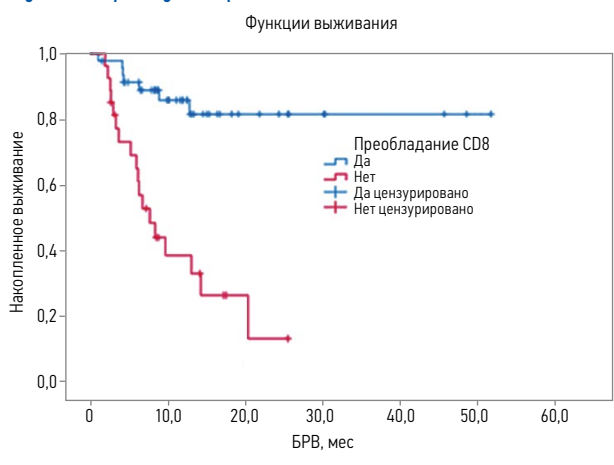
## Результаты

Общая эффективность в целом оказалась невысокой: положительная динамика отмечена у 24 (18,4%) пациентов: полный ответ наблюдался у 18 (13,8%) пациентов, частичный (ЧР) – у 6 (4,6%) пациентов.

Основным результатом проведенной терапии на этапе осуществления оценки была стойкая стабилизация – 71 (54,6%) пациент. В настоящее время (апрель 2024 г.) 52 (40%) пациента продолжают ИТ ниволумабом и пролголимабом.

Прогрессирование процесса отмечено почти в 1/4 наблюдений – у 31 (24%) пациента. Летальный исход наступил в 4 (3%) случаях при ИТ пролголимабом в связи с прогрессированием заболевания; 2-летняя безрецидивная выживаемость (БРВ)

Рис. 2. БРВ в зависимости от преобладания CD8 над CD4.  
Fig. 2. DFS depending on the predominance of CD8 over CD4.



на фоне ИТ составила 53% (95% ДИ 42–67),  $p=0,63$ , медиана 2-летней общей выживаемости не достигнута.

При ИГХ-исследовании у 47 (63,5%) пациентов из 74 наблюдалось преобладание инфильтрации опухоли CD8-лимфоцитами над CD4 независимо от вида ИТ. Следует подчеркнуть, что у этих пациентов был значительно больше показатель 2-летней БРВ: 82% (95% ДИ 70–96) по сравнению с 13% (95% ДИ 2,7–64) при отсутствии преобладания CD8 над CD4,  $p=0,0001$ ; показатель медианы имел такую же тенденцию – медиана БРВ не достигнута при преобладании инфильтрации опухоли CD8-лимфоцитами над CD4 по сравнению с 7,6 мес при отсутствии этой характеристики (95% ДИ 5,8–0),  $p=0,001$  (рис. 2).

Изучение гистологического расположения лимфоидного ИИ показало, что перитуморальное его расположение наблюдалось у всех 74 (100%) больных, а интратуморальное расположение выявлено реже – у 52 (70%) пациентов. Установлено, что благоприятное влияние на течение болезни наблюдалось при наличии одновременно и пери- и интратуморального расположения ИИ – 2-летняя БРВ составила 83% (95% ДИ 70–98) по сравнению с группой пациентов, у которых не выявлено интратуморальное расположение – 5,5% (95% ДИ 0,8–36),  $p<0,0001$ , медиана БРВ не достигнута.

При отсутствии одновременно и пери- и интратуморального расположения ИИ медиана БРВ составила только 6,1 мес (рис. 3).

При исследовании уровня экспрессии PD-L1 пороговым значением считалось PD-L1>10%. Экспрессия уровня PD-L1>10% установлена нами в 47 (63,5%) случаях. При наличии такого уровня экспрессии PD-L1 однолетняя БРВ равна 91% (95% ДИ 83–100) по сравнению с 29% (95% ДИ 15–57) при меньшем уровне экспрессии PD-L1,  $p<0,0001$ ; медиана БРВ не достигнута, а во 2-й группе БРВ составляет только 6,6 мес (рис. 4).

При наличии уровня PD-L1>10% 2-летняя БРВ была высокой и составила 78% (95% ДИ 63–100),  $p<0,0001$ .

## Обсуждение

Интенсивное внедрение ИТ в клинической онкологии при неоплазиях различного гистогенеза обуславливает необходимость изучения предикторов ее эффективности. В мировой литературе эта проблема недостаточно освещена при ММ.

Нами предпринята попытка изучения таких ИГХ-характеристик ММ, как уровень PD-L1, лимфоидная инфильтрация опухоли и соотношение CD8 и CD4, с целью определения их предиктивной значимости при использовании пролголимаба и ниволумаба.

Наш существенный небольшой опыт поиска и прогнозирования возможного ответа при использовании ИП при ММ в 1-й линии терапии позволяет сделать некоторые предварительные выводы. Данные нашего исследования показали статистически значимую корреляцию между эффективностью ИТ

Рис. 3. БРВ в зависимости от интра- и перитуморального расположения лимфоидного инфильтрата.  
Fig. 3. DFS depending on the intra- and peritumoral location of the lymphoid infiltrate.

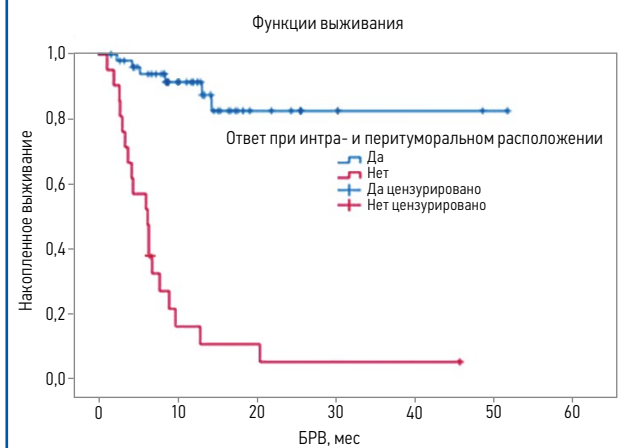
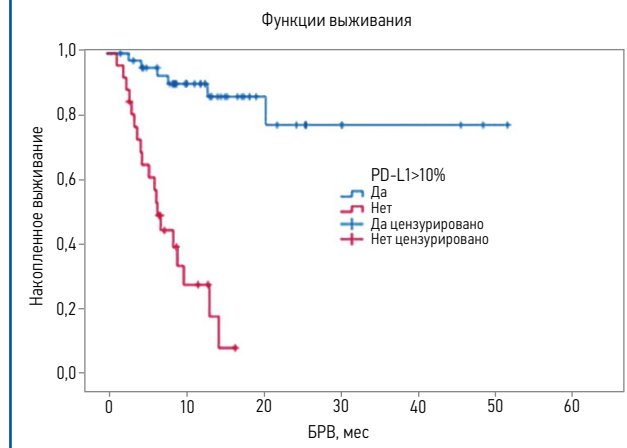


Рис. 4. БРВ в зависимости от экспрессии PD-L1 >10%.  
Fig. 4. DFS depending on PD-L1 expression >10%.



и степенью экспрессии PD-L1 (не менее 10%) на опухолевых клетках ММ независимо от используемого препарата.

Существует мнение о том, что TILs могут являться одним из потенциальных биомаркеров прогноза течения ММ. Этот феномен изучается при многих неоплазиях, достоверность выводов неоднозначна, не всегда осуществляется одновременный анализ гистологических данных и соотношения основных подмножеств иммунных лимфоидных клеток. По нашим данным, более выраженная эффективность ИТ при ММ наблюдается при одновременном наличии и пери-, и интратуморального расположения лимфоидной инфильтрации. Нами также установлено, что эффективность ИТ достоверно выше при преобладании экспрессии CD8-лимфоцитов над CD4-лимфоцитами.

### Заключение

В настоящее время ИТ при ММ становится все разнообразнее и используется все чаще как в виде монотерапии, так и в виде комбинации нескольких препаратов на разных этапах развития болезни. Безусловно, очень важным является оптимальный выбор лечения ММ в 1-й линии. Сегодня отсутствуют однозначно трактуемые данные о наличии предиктивных и прогностических факторов эффективности ИТ как в этой, так и в других клинических ситуациях при ММ. С этой целью в мире проведен целый ряд исследований, и в литературе обсуждаются результаты поиска различных методов прогнозирования эффективности использования ИКТИ.

Результаты проведенного нами исследования позволяют высказать обоснованное мнение о том, что такие ИГХ-характеристики, как уровень экспрессии PD-L1 >10%, одновременное наличие пери- и интратуморальной лимфоидной инфильтрации опухоли и преобладание CD8 над CD4, могут

рассматриваться как предикторы эффективности ИТ с использованием ниволумаба и пролголимаба.

**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 в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

**Authors' contribution.** The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the 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 and all of accompanying images within 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.

### ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Меланома кожи и слизистых оболочек. Клинические рекомендации Минздрава России, 2023. Режим доступа: [http://disuria.ru/\\_ld/13/1312\\_kr20MelanomaMZ.pdf?ysclid=lwt41l4rui325470133](http://disuria.ru/_ld/13/1312_kr20MelanomaMZ.pdf?ysclid=lwt41l4rui325470133). Ссылка активна на 12.03.2024 [Melanoma kozhi i slizistykh obolochek. Klinicheskie rekomendatsii Minzdrava Rossii, 2023. Available at: [http://disuria.ru/\\_ld/13/1312\\_kr20MelanomaMZ.pdf?ysclid=lwt41l4rui325470133](http://disuria.ru/_ld/13/1312_kr20MelanomaMZ.pdf?ysclid=lwt41l4rui325470133). Accessed: 12.03.2024 (in Russian)].
- Clark WH Jr, Elder DE, Guerry Dt, et al. A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum Pathol*. 1984;15(12):1147-65. DOI:10.1016/s0046-8177(84)80310-x
- Plonka PM, Passeron T, Brenner M, et al. What are melanocytes really doing all day long. *Exp Dermatol*. 2009;18(9):799-819. DOI:10.1111/j.1600-0625.2009.00912.x
- Лернер М.Ю., Гришина Е.Е., Поддубная И.В. Дифференциальная диагностика увеальной меланомы, сочетающейся с раком молочной железы, и метастазов рака молочной железы в сосудистую оболочку глаза. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2005;2. Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/differentsialnaya-diagnostika-uvealnoy-melanomy-sochetayusheysya-s-rakom-molochnoy-zhelezy-i-metastazov-raka-molochnoy-zhelezy-v>. Ссылка активна на 12.03.2024 [Lerner MY, Grishina EE, Poddubnaya IV. Differential diagnostics of uveal melanoma combined with breast cancer and breast cancer metastases to the ocular vasculature. *Bulletin of the Smolensk State Medical Academy*. 2005;2. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/differentsialnaya-diagnostika-uvealnoy-melanomy-sochetayusheysya-s-rakom-molochnoy-zhelezy-i-metastazov-raka-molochnoy-zhelezy-v>. Accessed: 12.03.2024 (in Russian)].
- Ali Z, Yousaf N, Larkin J. Melanoma epidemiology, biology and prognosis. *EJC Suppl*. 2013;11(2):81-91. DOI:10.1016/j.ejcsup.2013.07.012
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2022 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2023 [Kaprin AD, Starinskii VV,

- Petrova GV. Sostoianie onkologicheskoi pomoshchi naseleniiu Rossii v 2022 godu. Moscow: MNIOL im. P.A. Gertsena – filial FGBU “NMITs radiologii” Minzdrava Rossii, 2023 (in Russian)].
- Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol.* 1988;124(6):869-71. DOI:10.1001/archderm.124.6.869
  - Оганесян Л.В., Карнаухов Н.С., Феоктистова П.С. Новое в иммунотерапии метастатической меланомы: пролголимаб в клинической практике (собственный опыт). *Современная Онкология.* 2023;25(3):325-8 [Oganesyan LV, Karnaukhov NS, Feoktistova PS. News in immunotherapy for metastatic melanoma: prolgolimab in clinical practice (authors' experience). *Journal of Modern Oncology.* 2023;25(3):325-8 (in Russian)]. DOI:10.26442/18151434.2023.3.202382
  - Cybulska-Stopa B, Ziętek M, Czarnecka AM, et al. Comparison of the efficacy and toxicity of anti-PD-1 monoclonal antibodies (nivolumab versus pembrolizumab) in treatment of patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2021;39(15 Suppl.):e21514. DOI:10.1200/JCO.2021.39.15\_suppl.e21514
  - Франк Г.А., Завалишина Л.Э., Кекеева Т.В., и др. Первое Всероссийское молекулярно-эпидемиологическое исследование меланомы: результаты анализа мутаций в гене BRAF. *Архив патологии.* 2014;76(3):65-73 [Frank GA, Zavalishina LE, Kekeeva TV, et al. First Russian nationwide molecular epidemiological study for melanoma: results of BRAF mutation analysis. *Russian Journal of Archive of Pathology.* 2014;76(3):6573 (in Russian)].
  - Титов К.С., Маркин А.А., Шурьгина Е.И., и др. Морфологический и иммуногистохимический анализ опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов, M2-макрофагов, BCL6 и SOX10 в опухолевом микроокружении узловой меланомы кожи. *Опухоли головы и шеи.* 2023;13(1):65-74 [Titov KS, Markin AA, Schurygina EI, et al. Morphological and immunohistochemical analysis of tumor-infiltrating lymphocytes, M2 macrophages, BCL 6 and SOX10 in the tumor microenvironment of nodular cutaneous melanoma. *Head and Neck Tumors (HNT).* 2023;13(1):65-74 (in Russian)]. DOI:10.17650/2222-1468-2023-13-1-65-74
  - Хорошилов М.В., Коваленко Е.И., Артамонова Е.В., и др. Субпопуляционный состав опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов при раннем и местнораспространенном тройном негативном раке молочной железы и его влияние на эффективность неoadъювантной химиотерапии. *Злокачественные опухоли.* 2023;13(4):28-36 [Khoroshilov MV, Kovalenko EI, Artamonova EV, et al. Subpopulation structure of tumor-infiltrating lymphocytes in early and locally advanced triple negative breast cancer and its effect on the efficiency of neoadjuvant chemotherapy. *Malignant Tumours.* 2023;13(4):28-36 (in Russian)]. DOI:10.18027/2224-5057-2023-13-4-28-36
  - Castrellon AB, Pidhorecky I, Valero V, Raez LE. The role of carboplatin in the neoadjuvant chemotherapy treatment of triple negative breast cancer. *Oncol Rev.* 2017;11(1):324. PMID: 28382189
  - Sikov WM, Berry DA, Perou CM, et al. Impact of the addition of carboplatin and/or bevacizumab to neoadjuvant once-per-week paclitaxel followed by dose-dense doxorubicin and cyclophosphamide on pathologic complete response rates in stage II to III triple-negative breast cancer: CALGB 40603 (Alliance). *J Clin Oncol.* 2015;33(1):13-21. DOI:10.1200/JCO.2014.57.0572
  - Piras F, Colombari R, Minerba L, et al. The predictive value of CD8, CD4, CD68 and human leukocyte antigen-D-related cells in the prognosis of cutaneous malignant melanoma with vertical growth phase. *Cancer.* 2005;104:1246-54. DOI:10.1002/cncr.21283
  - Maibach F, Sadozai H, Seyed Jafari SM, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and their prognostic value in cutaneous melanoma. *Front Immunol.* 2020;11:2105. DOI:10.3389/fimmu.2020.02105
  - Barnes TA, Amir E. HYPE or HOPE: The prognostic value of infiltrating immune cells in cancer. *Br J Cancer.* 2017;117(4):451-60. DOI:10.1038/bjc.2017.220
  - Fu Q, Chen N, Ge C, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma: A systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology.* 2019;8(7):1593806. DOI:10.1080/2162402X.2019.1593806
  - Fridman WH, Zitvogel L, Sautès-Fridman C, Kroemer G. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14(12):717-34. DOI:10.1038/nrclinonc.2017.101
  - Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014;515(7528):568-71. DOI:10.1038/nature13954
  - Daud AI, Loo K, Pauli ML, et al. Tumor immune profiling predicts response to anti-PD-1 therapy in human melanoma. *J Clin Invest.* 2016;126(9):3447-52. DOI:10.1172/JCI87324

Статья поступила в редакцию / The article received: 04.04.2024

Статья принята к печати / The article approved for publication: 20.06.2024



OMNIDOCTOR.RU