

Прогностическая значимость экспрессии PD-L1 и оценка статуса микросателлитной нестабильности у пациентов с забрюшинными неорганными лейомиосаркомами

В.Е. Бугаев¹, М.П. Никулин¹, Н.И. Поспехова¹, В.М. Сафронова¹, Н.В. Кокосадзе¹,
Я.А. Божченко¹, С.Н. Неред¹, Л.Н. Любченко^{1,2}, И.С. Стилиди¹

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

²ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский университет); Россия, 119991 Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Контакты: Владислав Евгеньевич Бугаев vladbugaev@mail.ru

Введение. Лейомиосаркома является одной из самых распространенных злокачественных опухолей мягких тканей. Радикальное хирургическое лечение с последующей адъювантной терапией остается наиболее эффективным методом. Иммунотерапия – перспективный метод противоопухолевого лечения, основанного на использовании антител, блокирующих лиганд PD-L1 (programmed death ligand 1) или рецептор PD-1 (programmed death 1). Уровень экспрессии PD-L1 в клетках опухоли и наличие микросателлитной нестабильности (MSI) могут рассматриваться как прогностический и предиктивный маркер течения заболевания и эффективности иммунотерапевтического лечения.

Цель исследования – определить уровень экспрессии PD-L1 и статус MSI у пациентов с забрюшинными неорганными лейомиосаркомами и оценить их влияние на общую и безрецидивную выживаемость.

Материалы и методы. В исследование были включены 57 пациентов с забрюшинными неорганными лейомиосаркомами, которым выполнялось хирургическое или комбинированное лечение. Проведен анализ клинических и морфологических показателей, изучены результаты хирургического лечения. Оценка экспрессии PD-L1 и MSI проводилась с использованием иммуногистохимического и молекулярно-генетического анализа.

Результаты. У 41 из 57 проанализированных пациентов была проведена оценка экспрессии PD-L1. В 10 (24 %) из 41 случая выявлена положительная экспрессия (уровень экспрессии составил 3–50 %). У 1 (2,4 %) пациента первичная опухоль и метастатический очаг имели низкий уровень MSI (MSI-low, MSI-L). Медиана наблюдения за больными составила 31 мес. У пациентов с положительной экспрессией PD-L1 по сравнению с больными с PD-L1-отрицательными опухолями выявлен более высокий индекс пролиферативной активности Ki-67 (58,8 и 47,8 % соответственно; $p = 0,02$), а также достоверно низкая медиана общей выживаемости при опухолях II степени злокачественности (30 и 105 мес; $p = 0,043$). При лейомиосаркомах III степени злокачественности отмечен тренд к снижению медианы общей выживаемости у больных с PD-L1-отрицательными опухолями (31,0 мес) по сравнению с пациентами с наличием экспрессии PD-L1 (61,2 мес) ($p = 0,11$).

Заключение. Частота экспрессии PD-L1 среди больных забрюшинными лейомиосаркомами в нашем наблюдении составила 24 % (10/41), статус MSI-L определен в 2,4 % (1/41) случаев. У больных с опухолью II степени злокачественности наличие экспрессии PD-L1 связано с достоверным снижением общей выживаемости. PD-L1 у больных забрюшинными лейомиосаркомами следует рассматривать как прогностический маркер и потенциальную терапевтическую мишень.

Ключевые слова: лейомиосаркома, экспрессия PD-L1, микросателлитная нестабильность

Для цитирования: Бугаев В.Е., Никулин М.П., Поспехова Н.И. и др. Прогностическая значимость экспрессии PD-L1 и оценка статуса микросателлитной нестабильности у пациентов с забрюшинными неорганными лейомиосаркомами. Успехи молекулярной онкологии 2019;6(3):37–48.

DOI: 10.17650/2313-805X-2019-6-3-37-48

Prognostic significance of PD-L1 expression and evaluation of microsatellite instability status in patients with retroperitoneal leiomyosarcomas

V.E. Bugaev¹, M.P. Nikulin¹, N.I. Pospekhova¹, V.M. Safronova¹, N.V. Kokosadze¹,
Ya.A. Bozhchenko¹, S.N. Nered¹, L.N. Lyubchenko^{1,2}, I.S. Stilidi¹

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

²Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia; Build. 2, 8 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russia

Background. Leiomyosarcoma is one of the most common types of soft tissue sarcomas. Radical surgical resection with subsequent adjuvant chemotherapy remain the most effective treatment approach. Immunotherapy based on inhibition of PD-L1 (programmed death ligand 1) or its receptor PD1 (programmed death 1) is considered a promising treatment option. Level of PD-L1 expression in tumor cells and presence of microsatellite instability (MSI) could be considered prognostic and predictive markers of disease progression and effectiveness of immunotherapy.

The study objective is to determine PD-L1 expression level and MSI status in patients with retroperitoneal leiomyosarcomas and evaluate their effect on overall and recurrence-free survival.

Materials and methods. The study included 57 patients with retroperitoneal leiomyosarcomas who underwent surgical or combination treatment. Analysis of clinical and morphological characteristics was performed; results of surgical treatment were researched. Evaluation of PD-L1 expression and MSI status was performed using immunohistochemical and molecular genetic analysis.

Results. PD-L1 expression and MSI status were evaluated in 41 patients of 57. In 10 (24 %) of 41 cases, positive PD-L1 expression was observed (expression level 3–50 %). In 1 (2.4 %) patient, the primary tumor and metastatic lesion had low MSI level (MSI-low, MSI-L). Median follow-up was 31 months. In patients with positive PD-L1 expression, higher Ki-67 proliferative index was observed compared to patients with PD-L1 negative tumors (58.8 and 47.8 % respectively; $p = 0.02$), as well as significantly lower median overall survival for grade II tumors (30 and 105 months; $p = 0.043$). In grade III leiomyosarcomas, a trend towards lower median overall survival in patients with PD-L1-negative tumors (31.0 months) compared to patients with PD-L1 expression (61.2 months) ($p = 0.11$) was observed.

Conclusion. Among patients with retroperitoneal leiomyosarcomas, positive expression of PD-L1 was observed in 24 % (10/41) of cases and MSI-low status was found in 2.4 % (1/41) of cases. In patients with grade 2 tumors, positive PD-L1 expression is associated with significantly lower overall survival. PD-L1 expression in patients with retroperitoneal leiomyosarcomas could be considered a prognostic marker and a potential therapeutic target.

Key words: leiomyosarcoma, PD-L1 expression, microsatellite instability

For citation: Bugaev V.E., Nikulin M.P., Pospekhova N.I. Prognostic significance of PD-L1 expression and evaluation of MSI-status in patients with retroperitoneal leiomyosarcomas. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2019;6(3):37–48.

Введение

Лейомиосаркомы — группа опухолей мезенхимального происхождения с гладкомышечной дифференцировкой, которые составляют почти 25 % общего числа мягкотканых сарком [1]. На протяжении нескольких десятилетий основу лекарственного лечения мягкотканых сарком составляет доксорубицин в возможной комбинации с ифосфамидом. Однако, несмотря на внедрение комбинированных методов терапии в клиническую практику, результаты лечения остаются неудовлетворительными — медиана выживаемости больных местно-распространенной и метастатической лейомиосаркомой не превышает 12 мес [2]. В это же время в лекарственном лечении солидных опухолей большой успех связан с внедрением в клиническую практику иммунотерапии [3], которая принята к использованию при опухолях различной локализации. Ингибиторы PD-1 (programmed death 1) и PD-L1 (programmed death ligand 1) предотвращают инактивацию Т-лимфоцитов, тем самым потенцируя противоопухолевый иммунный ответ [4].

Важным вопросом остается поиск биомаркеров, позволяющих спрогнозировать ответ на проведение иммунотерапии. Результаты ряда исследований показали, что наличие положительной экспрессии PD-L1 связано с ослаблением противоопухолевого иммунитета, а значит с худшим прогнозом [5]. При различных солидных опухолях, таких как меланома, немелкоклеточный рак легкого, почечно-клеточный рак, проведение анти-PD-1- и анти-PD-L1-терапии позволило значительно улучшить результаты лечения [6]. Результаты некоторых исследований показали возможность использования экспрессии PD-L1 как предиктивного маркера эффективности лечения [6, 7].

Данные по частоте экспрессии PD-L1 и ее прогностической значимости в мягкотканых саркомах немногочисленны, к тому же в исследования по этому

вопросу были включены лишь единичные пациенты с лейомиосаркомой [8].

В настоящее время также известно, что микросателлитная нестабильность (microsatellite instability, MSI) — независимый прогностический фактор, определяющий степень злокачественности новообразований различной локализации. Изучение применения ингибиторов PD-1 у больных колоректальным раком показало, что наличие высокого уровня MSI (MSI-high, MSI-H) ассоциировано с высоким уровнем экспрессии PD-1/PD-L1, а также с продолжительным ответом на анти-PD-1-терапию [9]. Схожие результаты лечения были получены и при опухолях других локализаций [9, 10]. Это позволило рассматривать MSI-H-фенотип как универсальный биомаркер, предсказывающий потенциальный клинический эффект вне зависимости от гистологической структуры опухоли [10–12].

Частота микросателлитно-нестабильных опухолей среди лейомиосарком и прогностическое значение статуса MSI также остаются практически неизученными, что определяет актуальность исследования.

Цель исследования — определить частоту экспрессии PD-L1 и статус MSI у больных забрюшинными неорганными лейомиосаркомами и оценить их влияние на общую и безрецидивную выживаемость.

Материалы и методы

Нами был проведен ретроспективный анализ результатов лечения пациентов с забрюшинными неорганными лейомиосаркомами, которым выполнялось хирургическое или комбинированное лечение в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина в период с 2003 по 2018 г. Проведен анализ клинических показателей, морфологического исследования опухолей, изучены результаты хирургического лечения. Выполнена оценка экспрессии PD-L1 в опухолевых клетках и/или иммунных клетках опухолевого микроокружения с помощью иммуногистохимического анализа.

Иммуногистохимический анализ проводили на парафиновых срезах опухолевой ткани на автоматическом иммуногистостейнере BenchMark GX Ventana (Roche) с использованием антител Anti-PD-L1 (28–8) ab205921 в разведении 1:300. Положительной считалась экспрессия PD-L1 в более чем 1 % опухолевых и/или иммунных клеток. MSI определяли в образцах ДНК, выделенных из опухолевой ткани, полученных со срезов парафиновых блоков под контролем патоморфолога, методом полимеразной цепной реакции с использованием панели из 5 мононуклеотидных маркеров (BAT25, BAT26, NR21, NR24, NR27), ассоциированных со структурно-функциональными нарушениями системы репарации неспаренных оснований ДНК, с последующим проведением фрагментного анализа на платформе Beckman Coulter GenomeLab GeXP.

На основании полученных данных опухоль классифицировали по 3 фенотипам. При отсутствии нестабильности по всем маркерам опухоль относили к микросателлитно-стабильному фенотипу (microsatellite stable, MSS). Проявление нестабильности по одному из маркеров рассматривали как опухолевый фенотип с низким уровнем MSI (MSI-low, MSI-L). Наличие нестабильности по 2 и более из исследуемых маркеров оценивали как высокогенетически нестабильный фенотип опухоли (MSI-H).

Статистический анализ проводили с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics

(выпуск 22.0) (IBM, США). При анализе отдаленных результатов безрецидивной выживаемостью считали период от оперативного вмешательства до появления признаков рецидива опухоли, последнего наблюдения или смерти по причине, не связанной с основным заболеванием; общей выживаемостью – период от оперативного вмешательства до смерти по любой причине. Анализ выживаемости выполняли по методу Каплана–Майера с использованием *log-rank*-теста. Статистически значимым считали результат при $p < 0,05$.

Результаты

В исследование были включены 57 пациентов: 46 (81 %) женщин, 11 (19 %) мужчин. Медиана возраста составила 54 года (22–86 лет). Распределение больных по степени злокачественности опухоли было следующим: G_1 – 2 (3,5 %), G_2 – 23 (40,4 %), G_3 – 32 (56,1 %). Хирургическое вмешательство выполняли в объеме удаления первичной опухоли у 40 (70,2 %) больных, рецидивной опухоли – у 15 (26,3 %), метастатических очагов – у 2 (3,5 %).

Экспрессия PD-L1. Оценка экспрессии PD-L1 выполнена у 41 пациента. Микроскопическая картина при оценке степени экспрессии PD-L1 представлена на рис. 1. На основании PD-L1-статуса больные были разделены на 2 группы: с отрицательной (PD-L1 < 1 % клеток) и положительной (PD-L1 \geq 1 % клеток)

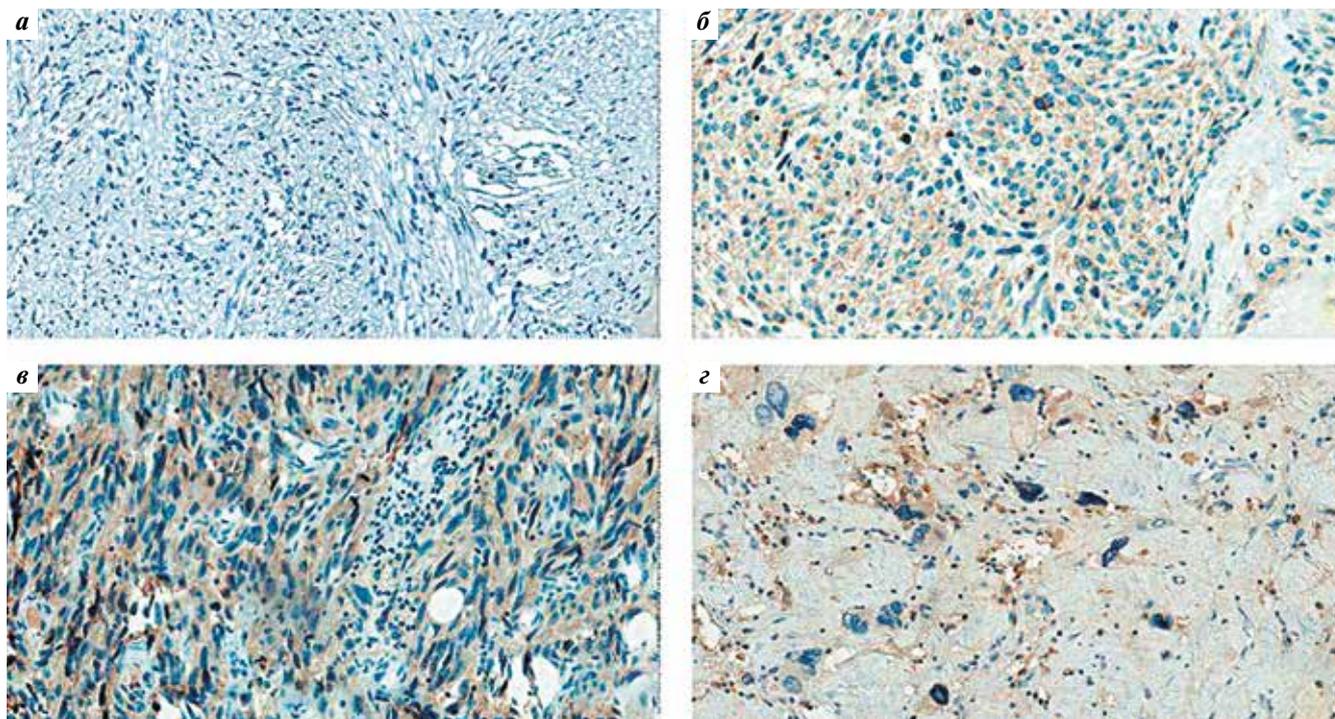


Рис. 1. Микроскопическая картина при оценке степени экспрессии PD-L1: а – экспрессия PD-L1 в клетках опухоли и иммунных клетках 0 %; б – экспрессия PD-L1 в клетках опухоли 15 %; интенсивность окраски 0–1; иммунные клетки до 3 %; в – экспрессия PD-L1 в клетках опухоли 30 %; интенсивность окраски 1+; иммунные клетки 0 %; г – экспрессия PD-L1 в клетках опухоли 50 %; интенсивность окраски 1+; иммунные клетки примерно 1 %

Fig. 1. Microscopic image during evaluation of PD-L1 expression level: а – PD-L1 expression in tumor and immune cells is 0 %; б – PD-L1 expression in tumor cells is 15 %; staining intensity is 0–1; immune cells are up to 3 %; в – PD-L1 expression in tumor cells is 30 %; staining intensity is 1+; immune cells are 0 %; г – PD-L1 expression in tumor cells is 50 %; staining intensity is 1+; immune cells are approximately 1 %

экспрессией PD-L1 для оценки ее клинической значимости. Клинико-морфологические характеристики проанализированных пациентов суммированы в табл. 1. У 10 (24 %) из 41 обследованного пациента определен PD-L1-положительный статус (3–50 % клеток). В 7 случаях экспрессия определялась в 3–15 % клеток, в 2 случаях – в 30 % и в 1 случае – в 50 %.

Пациенты были сопоставимы по клинико-морфологическим характеристикам за исключением индекса

Таблица 1. Клинико-морфологические характеристики исследуемой когорты больных

Table 1. Clinical and morphological characteristics of the studied patient cohort

Характеристика Characteristic	PD-L1 <1 % (n = 31)	PD-L1 ≥1 % (n = 10)	p
Медиана возраста, лет Median age, years	54	61	0,57
Пол, n (%): Gender, n (%):			
мужской male	6 (20)	3 (30)	0,66
женский female	25 (80)	7 (70)	0,52
Степень злокачественности опухоли (grade), n (%): Malignancy grade, n (%):			
G ₁	2 (6)	0	0,71
G ₂	12 (39)	4 (40)	0,43
G ₃	17 (55)	6 (60)	0,65
Индекс пролиферации Ki-67 (медиана), % Ki-67 proliferation index (median), %	47,8	58,8	0,02

пролиферации Ki-67, который был достоверно выше у больных с положительной экспрессией PD-L1. Медиана наблюдения за больными составила 31 мес. В общей когорте больных после хирургического лечения независимо от степени злокачественности опухоли и типа оперативного вмешательства медиана безрецидивной выживаемости у больных с PD-L1-отрицательными опухолями составила 18 мес против 19 мес для PD-L1-положительных опухолей ($p = 0,802$) (рис. 2а), медиана общей выживаемости – 78 и 60 мес для пациентов с PD-L1-отрицательными и PD-L1-положительными опухолями соответственно ($p = 0,62$) (рис. 2б).

Медиана безрецидивной выживаемости среди больных с опухолями II степени злокачественности при отсутствии или наличии экспрессии PD-L1 составила 27,6 и 17,5 мес соответственно, однако различия не были статистически значимыми ($p = 0,88$). Медиана общей выживаемости среди больных с положительной экспрессией PD-L1 была достоверно ниже и составила 30 мес по сравнению со 105 мес среди пациентов, у которых экспрессия PD-L1 отсутствовала ($p = 0,043$) (табл. 2, рис. 3).

У пациентов с опухолью III степени злокачественности медиана безрецидивной выживаемости составила 15,8 мес при отсутствии экспрессии PD-L1 и 19,5 мес при положительном PD-L1-статусе ($p = 0,47$). Медиана общей выживаемости – 31 и 61,2 мес соответственно ($p = 0,11$) (см. табл. 2, рис. 4).

Статус MSI. Оценка статуса MSI проведена у 41 больного. В большинстве случаев (97,6 % (40/41)) лейомиосаркомы были представлены опухолями со стабильной системой репарации (MSS) (рис. 5а). В 1 (2,4 %) случае из 41 первичная опухоль и метастатический очаг были нестабильными по маркеру NR21, что позволило определить их статус MSI как низкий

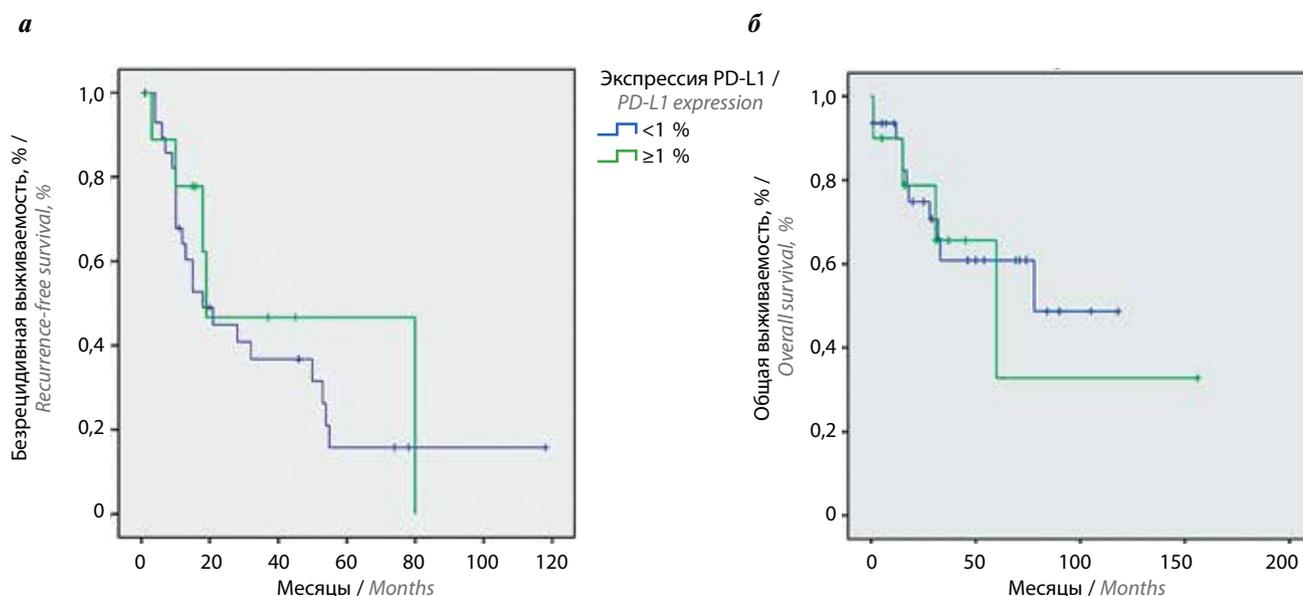


Рис. 2. Безрецидивная (а) и общая (б) выживаемость больных после хирургического лечения в зависимости от экспрессии PD-L1
Fig. 2. Recurrence-free (a) and overall (b) survival of patients after surgical treatment depending in PD-L1 expression

Таблица 2. Показатели общей и безрецидивной выживаемости у больных лейомиосаркомой II и III степени злокачественности в зависимости от наличия экспрессии PD-L1

Table 2. Overall and recurrence-free survival in patients with grade II and III leiomyosarcomas depending on the presence of PD-L1 expression

Степень злокачественности опухоли (grade) Malignancy grade	Экспрессия PD-L1, % PD-L1 expression, %	n	Медиана безрецидивной выживаемости, мес Median recurrence-free survival, months	p	Медиана общей выживаемости, мес Median overall survival, months	p
G ₁	<1	2	115,0			
G ₂	<1	12	27,6	0,88	105	0,043
	≥1	4	17,5		30	
G ₃	<1	17	15,8	0,47	31	0,11
	≥1	6	19,5		61,2	
Всего Total	<1	31	18,0	0,802	78	0,62
	≥1	10	19,0		60	

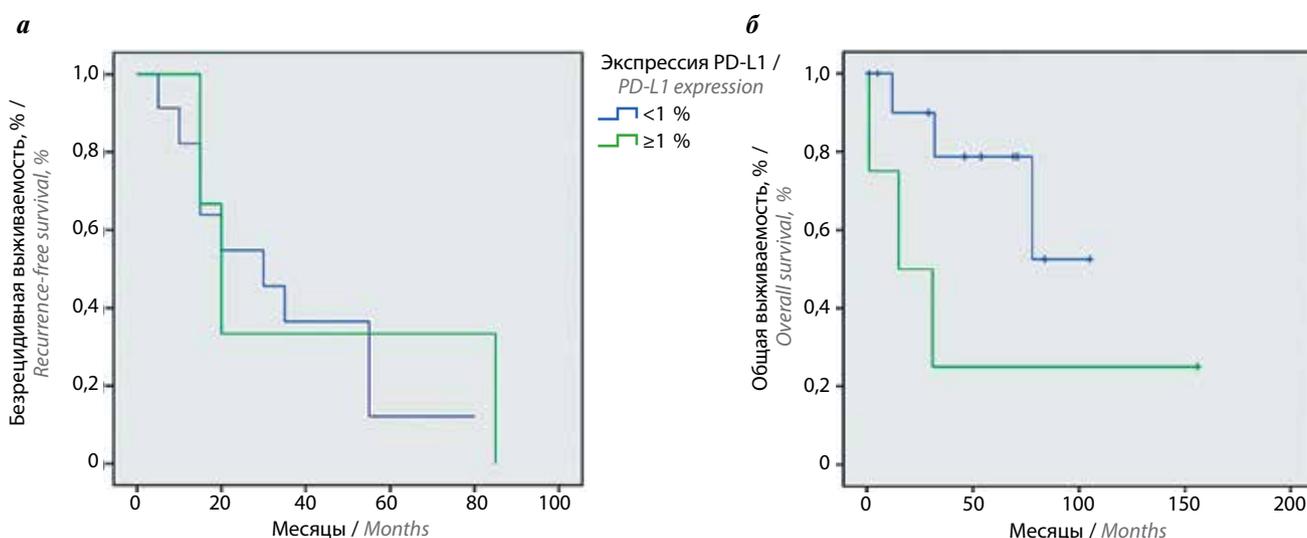


Рис. 3. Безрецидивная (а) и общая (б) выживаемость больных с опухолями II степени злокачественности в зависимости от наличия экспрессии PD-L1

Fig. 3. Recurrence-free (a) and overall (b) survival of patients with grade II tumors depending on the presence of PD-L1 expression

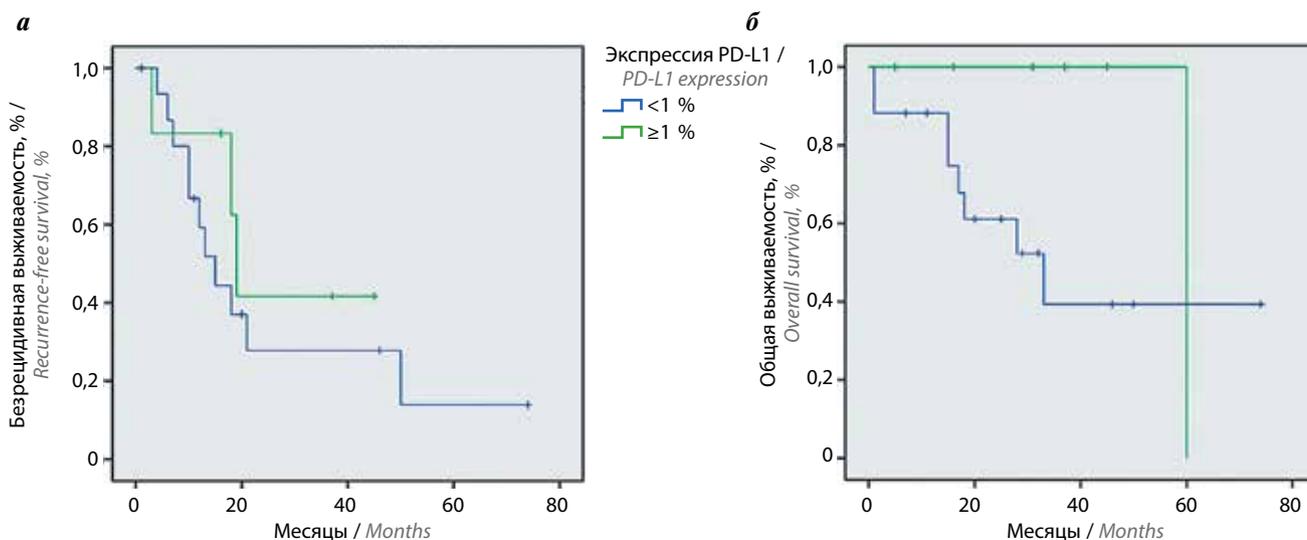


Рис. 4. Безрецидивная (а) и общая (б) выживаемость больных с опухолями III степени злокачественности в зависимости от наличия экспрессии PD-L1

Fig. 4. Recurrence-free (a) and overall (b) survival of patients with grade III tumors depending on the presence of PD-L1 expression

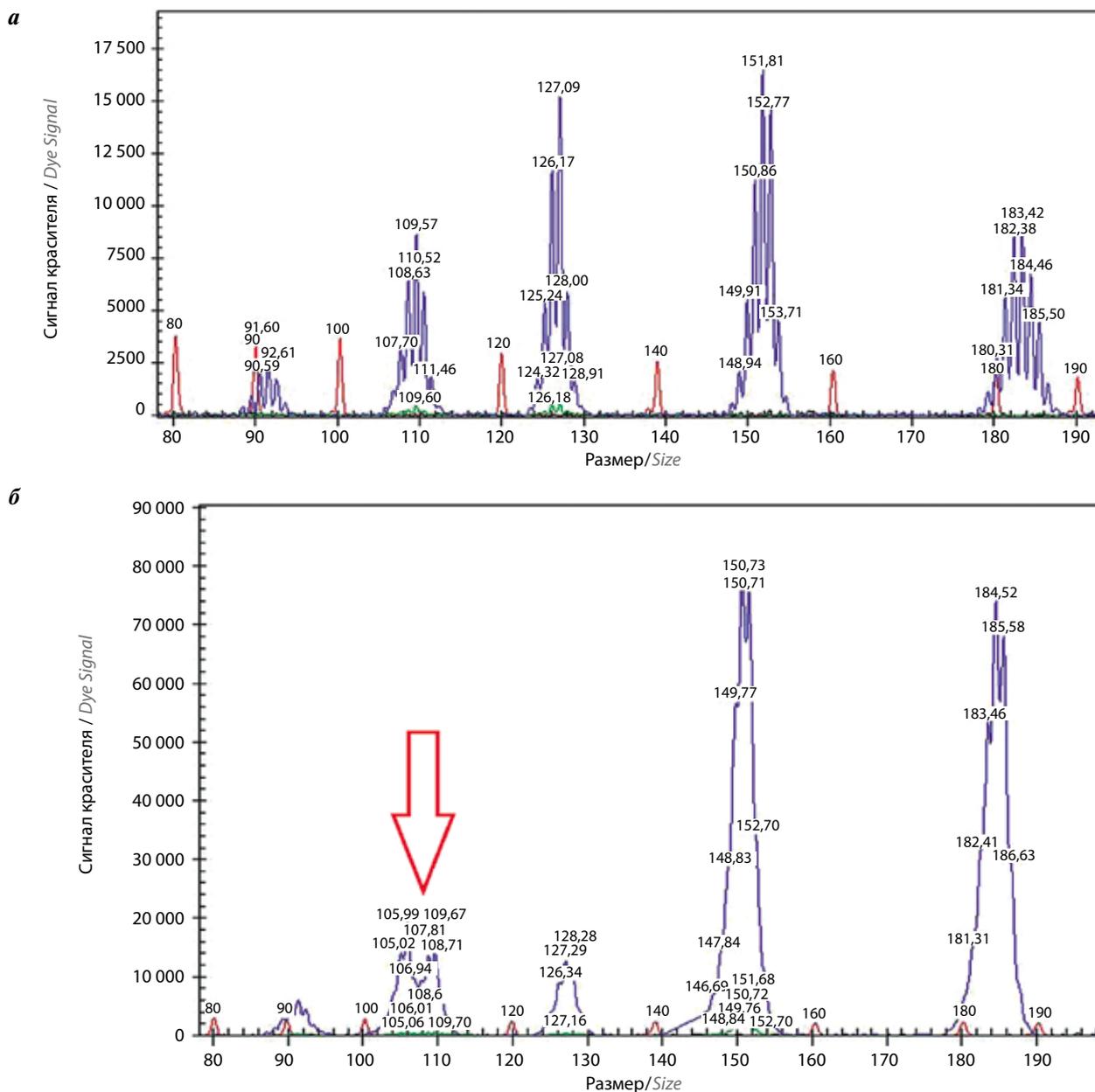


Рис. 5. Результаты фрагментного анализа с использованием маркеров NR27, NR21, NR24, BAT25, BAT26: а – пример микросателлитно-стабильной опухоли (MSS); б – пример опухоли с микросателлитной нестабильностью низкого уровня (MSI-L). Маркер NR21 имеет 2 фрагмента разной длины

Fig. 5. Results of fragment analysis using NR27, NR21, NR24, BAT25, BAT26 markers: а – example of microsatellite stable tumor (MSS); б – example of a tumor with low microsatellite instability (MSI-L). NR21 marker has 2 fragments of different lengths

(MSI-L) (рис. 5б). При этом у данной пациентки отмечен различный уровень содержания клеток, экспрессирующих PD-L1 в первичной опухоли (0 %) и метастатическом очаге (15 %). Изначально данная пациентка была прооперирована по поводу лейомиосаркомы G₃ размером 25 см; адъювантная терапия не проводилась. Безрецидивный период составил 19 мес, после чего было отмечено прогрессирование в виде появления 2 метастатических очагов в печени, неоднократно подвергнутых сеансам радиочастотной абляции. Через 38 мес после первичной операции пациентка была прооперирована по поводу метастатического очага

в подкожной жировой клетчатке, на материале которого и было проведено иммуногистохимическое и молекулярно-генетические исследования. Через 60 мес пациентка скончалась от прогрессирования заболевания.

Общая и безрецидивная выживаемость после удаления первичной опухоли. Вне зависимости от PD-L1-статуса и степени злокачественности опухоли, медиана общей выживаемости в группе больных, прооперированных по поводу первичной опухоли, составила 101 мес по сравнению с 22 мес в группе больных, прооперированных по поводу рецидивной опухоли ($p = 0,094$) (табл. 3,

Таблица 3. Медиана общей выживаемости у больных лейомиосаркомой различной степени злокачественности в зависимости от характера удаляемой опухоли

Table 3. Median overall survival in patients with leiomyosarcoma of various grades depending on the type of resected tumor

Степень злокачественности опухоли (grade) Malignancy grade	Тип опухоли Tumor type	Медиана общей выживаемости, мес Median overall survival, months	<i>p</i>
G ₁	Первичная Primary	115	0,88
G ₂	Первичная Primary	83,5	
	Рецидив Recurrent	76,9	
G ₃	Первичная Primary	100,4	<0,001
	Рецидив Recurrent	16,3	
Всего Total	Первичная Primary	101	0,09
	Рецидив Recurrent	22	

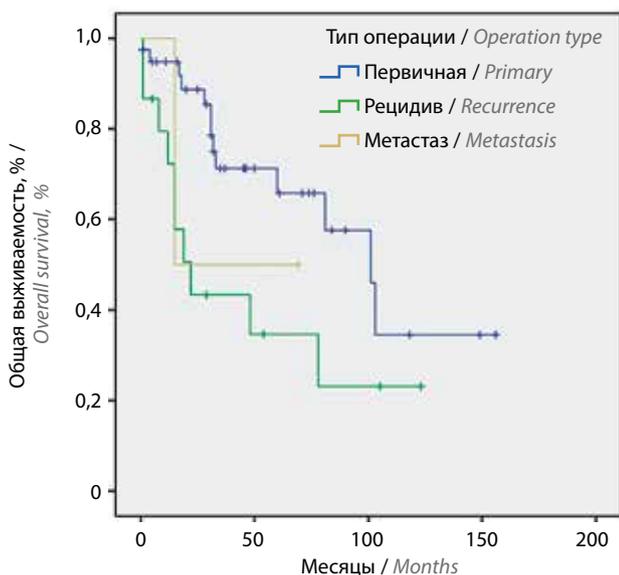


Рис. 6. Общая выживаемость в зависимости от характера удаляемой опухоли (первичная/рецидивная/метастатическая)
Fig. 6. Overall survival depending in the type of resected tumor (primary/recurrent/metastatic)

рис. 6). В основном эти различия были обусловлены статистически достоверной разницей в общей выживаемости в подгруппе больных с низкодифференцированными опухолями G₃ ($p < 0,001$). Среди пациентов с опухолью II степени злокачественности медиана общей выживаемости после операции по поводу

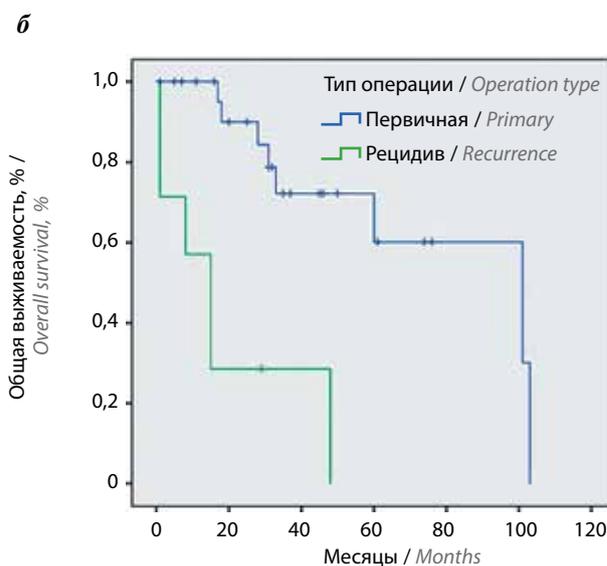
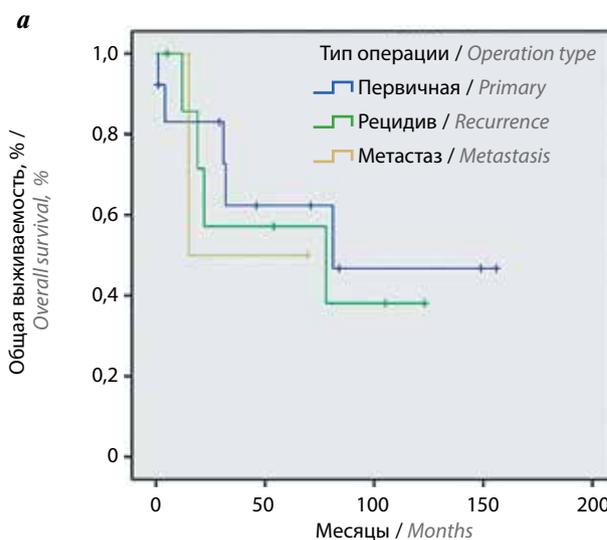


Рис. 7. Общая выживаемость в зависимости от характера удаляемой опухоли у больных лейомиосаркомой II (а) и III (б) степеней злокачественности

Fig. 7. Overall survival depending on the type of resected tumor in patients with grade II (a) and III (b) leiomyosarcomas

первичной или рецидивной опухоли составила 83,5 и 76,8 мес соответственно ($p = 0,879$) (рис. 7). Двое больных были прооперированы по поводу метастазов лейомиосаркомы.

Вне зависимости от степени злокачественности опухоли, медиана безрецидивной выживаемости после первичной операции при положительной экспрессии PD-L1 составила 19,6 мес по сравнению с 29,9 мес у пациентов с отсутствием экспрессии PD-L1 (рис. 8), однако различия не были статистически значимы ($p = 0,796$).

Медиана общей выживаемости не зависела достоверно от наличия экспрессии PD-L1 у больных с опухолью II и III степеней злокачественности: при опухолях G₂ – 80,0 и 32,5 мес при отсутствии или наличии экспрессии PD-L1 ($p = 0,103$), при опухолях G₃ – 70 и 61,2 мес соответственно ($p = 0,311$) (табл. 4, рис. 9).

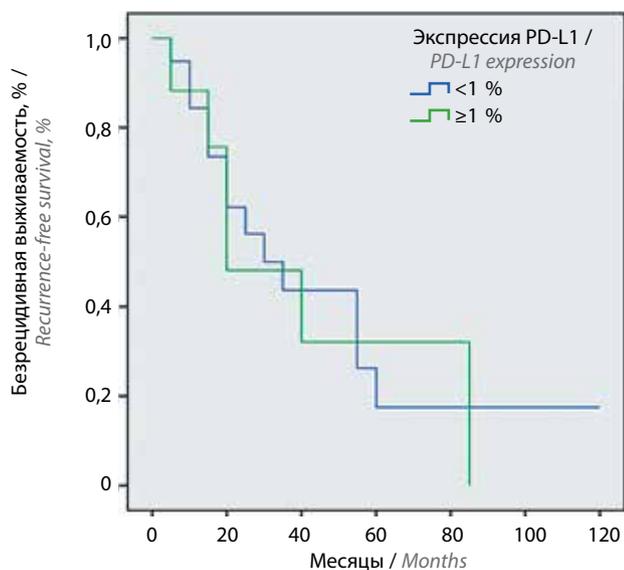


Рис. 8. Безрецидивная выживаемость после операции по поводу первичной опухоли в зависимости от наличия экспрессии PD-L1
Fig. 8. Recurrence-free survival after surgery for primary tumor depending on the presence of PD-L1 expression

Таблица 4. Медиана общей выживаемости после первичной операции в зависимости от степени злокачественности опухоли и наличия экспрессии PD-L1

Table 4. Median overall survival after primary surgery depending on the tumor grade and presence of PD-L1 expression

Степень злокачественности опухоли (grade) Malignancy grade	Экспрессия PD-L1, % PD-L1 expression, %	Медиана общей выживаемости, мес Median overall survival, months	<i>p</i>
G ₂	<1	80,0	0,103
	≥1	32,5	
G ₃	<1	70,0	0,311
	≥1	61,2	

Обсуждение

PD-1 и его лиганд PD-L1 играют важную роль в антиген-специфическом Т-клеточном ответе, опосредующем противоопухолевый иммунный ответ. В последнее время у больных с опухолями различной локализации активно изучается экспрессия этих белков. Крайне актуальным остается определение их прогностической значимости в определении прогноза заболевания и возможного ответа на терапию ингибиторами контрольных точек [9, 13].

В целом полученные нами данные по частоте экспрессии PD-L1 сопоставимы с описанными в литературе. По данным M. Kostine и соавт., изучивших 106 образцов лейомиосарком, в том числе лейомиом, частота экспрессии PD-L1 в лейомиосаркомах составляет 30 % [14]. Обращало на себя внимание, что в основном это

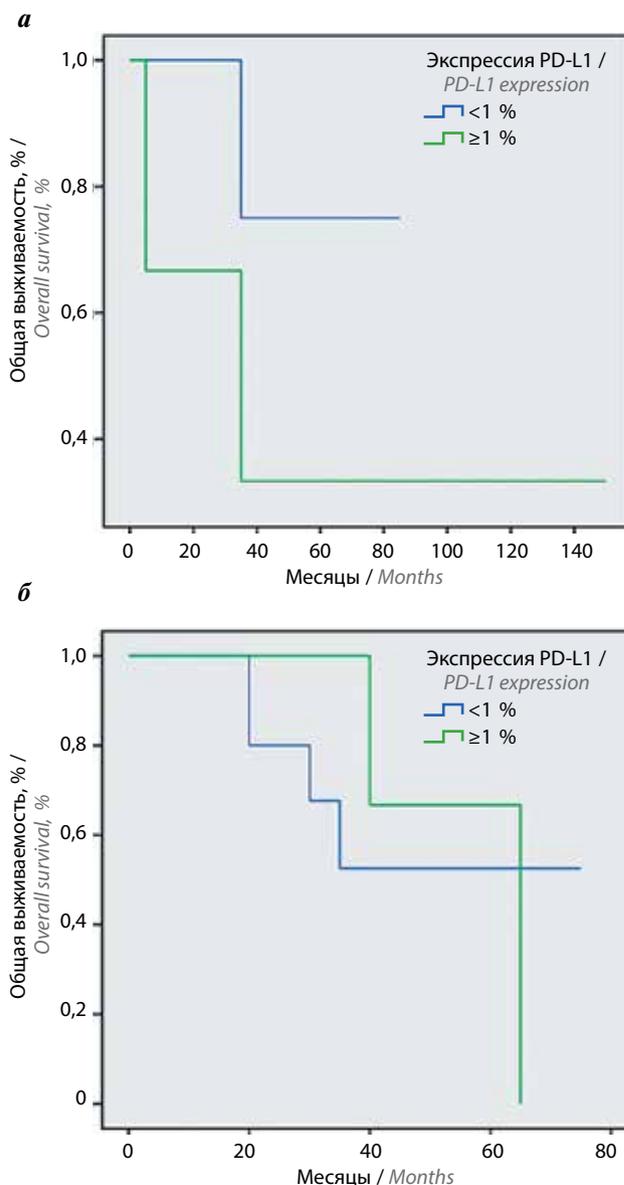


Рис. 9. Общая выживаемость после операции по поводу первичной опухоли в зависимости от степени злокачественности опухоли и наличия экспрессии PD-L1: а – II степень злокачественности; б – III степень злокачественности

Fig. 9. Overall survival after surgery for primary tumor depending on the tumor grade and presence of PD-L1 expression: a – grade II; б – grade III

были опухоли II и III степеней злокачественности, в то время как из всех PD-L1-положительных опухолей только в 1 случае была опухоль I степени злокачественности ($p = 0,005$). Тем не менее значимого влияния на показатели выживаемости в этом исследовании не выявлено, в то время как при эпителиальных опухолях обнаружена достоверная связь положительной экспрессии PD-L1 с плохим прогнозом выживаемости [6]. S. Paydas и соавт. проводили исследование по оценке экспрессии PD-1 и PD-L1 среди 65 больных с различными вариантами мягкотканых сарком, в том числе у 9 больных лейомиосаркомой различной локализации [8]. Только у 1 больного была выявлена

положительная экспрессия PD-L1 (≥ 1 % клеток) в опухоли и опухолевом микроокружении. Суммарно среди пациентов с мягкоткаными саркомами частота экспрессии PD-1 в опухоли и опухолевом микроокружении составляла 17 и 12 % соответственно, а PD-L1 – 29 и 30 % соответственно. Детальное распределение представлено в табл. 5.

Таблица 5. Частота экспрессии PD-1 и PD-L1 в мягкотканых саркомах (по данным S. Paydas и соавт.)

Table 5. PD-1 and PD-L1 expression frequency in soft-tissue sarcomas (per S. Paydas et al.)

Гистологический вариант опухоли Histological type of tumor	n	Положительная экспрессия PD-L1, n (%) Positive PD-L1 expression, n (%)	
		в опухоли in tumor	в микроокружении in microenvironment
Липосаркома Liposarcoma	6	1 (16,7)	2 (33,3)
Лейомиосаркома Leiomyosarcoma	9	1 (11,1)	1 (11,1)
Остеосаркома Osteosarcoma	10	3 (30,0)	0
Саркома Юинга Ewing sarcoma	8	1 (12,5)	1 (12,5)
Злокачественная шваннома Malignant schwannoma	4	1 (25,0)	2 (50,0)
Саркома Капоши Kaposi's sarcoma	5	4 (80,0)	4 (80,0)
Синовиальная саркома Synovial sarcoma	4	1 (25,0)	0
Плеоморфная саркома Pleomorphic sarcoma	6	3 (50,0)	3 (50,0)
Фибросаркома Fibrosarcoma	3	1 (33,3)	3 (100)
Другие виды сарком Other sarcomas	11	4	5

Полученная нами тенденция к снижению общей выживаемости у больных с наличием экспрессии PD-L1 (в первую очередь при анализе данных больных после операций по поводу первичной опухоли), а также статистически значимая разница в общей выживаемости у больных лейомиосаркомой II степени злокачественности в целом соответствуют гипотезе исследования. Однако полученные данные о противоположном, пусть

и недостоверном влиянии экспрессии PD-L1 на выживаемость больных лейомиосаркомой III степени злокачественности не совсем ясны. Возможно, при увеличении степени злокачественности, когда молекулярно-генетические нарушения в опухоли лавинообразно нарастают, изменения в экспрессии PD-L1 перестают быть единственными, влияющими на прогноз. Другим объяснением может быть то, что в нашей работе мы не исследовали влияние на прогноз таких важных факторов, как полихимиотерапия и ее варианты.

В нашем исследовании лишь у 1 (2,4 %) из 41 больного был выявлен статус MSI-L, причем и в первичной опухоли, и в метастатическом очаге. Опухолей с MSI-H в нашей выборке больных не обнаружено.

Данные литературы на этот счет противоречивы. Считается, что наличие MSI – редкое явление среди мягкотканых сарком. К. Kawaguchi и соавт. провели анализ опухолевой ткани у 40 больных мягкоткаными саркомами и в 10 (25 %) случаях выявили MSI (2 больных с MSI-H и 8 больных с MSI-L) [15]. Согласно другим данным статус MSI-H не был определен ни у одного пациента с мягкотканой саркомой (0 случаев из 71) [16]. Сводные данные литературы представлены в табл. 6.

Прогностическая значимость статуса MSI у больных мягкоткаными саркомами остается спорной. Наиболее изучено влияние статуса MSI на прогноз заболевания у больных раком толстой кишки. Опухоли толстой кишки с MSI-H не склонны к метастазированию и имеют благоприятный прогноз, что было подтверждено результатом метаанализа 32 исследований [17]. В нашем исследовании у 1 пациентки с MSI-L (по маркеру NR21) прогрессирование заболевания было отмечено через 19 мес после удаления первичной опухоли, летальный исход – через 60 мес. Таким образом, наше исследование оставляет открытым вопрос о прогностической значимости статуса MSI у больных лейомиосаркомой.

В настоящее время проводятся исследования по оценке возможности применения иммунотерапии у больных лейомиосаркомой. Согласно предварительным результатам исследования II фазы ALLIANCE, в котором больные метастатической или нерезектабельной саркомой мягких тканей во 2-й линии терапии получали комбинацию ниволумаба и ипилимумаба в дозе 1 мг/кг, частота объективных ответов составила 16 % при приемлемом профиле токсичности [18]. В 1-й же линии терапии изучается добавление пембролизумаба к доксорубину, однако исследование пока проводится в I/II фазе (NCT02888665). В уже опубликованном исследовании SARC028, в которое наряду с другими саркомами были включены 10 больных лейомиосаркомой после 1-й линии терапии, назначался пембролизумаб до прогрессирования [19]. Среди больных лейомиосаркомой ни в одном случае не было отмечено клинического ответа, однако и ни у одного больного не было положительной экспрессии PD-L1.

Таблица 6. Оценка статуса MSI среди больных мягкоткаными саркомами

Table 6. Evaluation of MSI status among patient with soft-tissue sarcomas

Автор Author	Число больных, n Number of patients, n	Метод исследования Study method	Результат Result
R. Wooster и соавт. [20] R. Wooster et al. [20]	18	ПЦР (ди-, три- и тетра-нуклеотидные маркеры) PCR (di-, tri- and tetranucleotide markers)	11 % (2/18) – MSI-H и MSI-L 11 % (2/18) – MSI-H and MSI-L
T. Saito и соавт. [21] T. Saito et al. [21]	8	ИГХ (экспрессия MSH2 и MLH1) IHC (MSH2 and MLH1 expression)	25 % (2/8) – MSI-H и MSI-L 25 % (2/8) – MSI-H and MSI-L
K. Ericson и соавт. [22] K. Ericson et al. [22]	209	ИГХ (экспрессия MLH1, MSH2 и MSH6) IHC (MLH1, MSH2 and MSH6 expression)	0,9 % (2/209) – MSI-H и MSI-L 0,9 % (2/209) – MSI-H and MSI-L
M. Rucińska и соавт. [23] M. Rucińska et al. [23]	16	ПЦР (ди- и тринуклеотидные маркеры) PCR (di- and trinucleotide markers)	25 % (4/16) – опухоли MSI-L 18,7 % (3/16) – опухоли MSI-H 25 % (4/16) – MSI-L tumors 18,7 % (3/16) – MSI-H tumors
K. Kawaguchi и соавт. [15] K. Kawaguchi et al. [15]	40	ПЦР (динуклеотидные маркеры) ИГХ (экспрессия MLH1 и MSH2) PCR (dinucleotide markers) IHC (MLH1 and MSH2 expression)	20 % (8/40) – опухоли MSI-L 5 % (2/40) – опухоли MSI-H 20 % (8/40) – MSI-L tumors 5 % (2/40) – MSI-H tumors
N.C. Campanella и соавт. [16] N.C. Campanella et al. [16]	71	ПЦР (моно- и динуклеотидные маркеры) ИГХ (экспрессия MLH1, MSH2, MSH6 и PMS2) PCR (mono- and dinucleotide markers) IHC (MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 expression)	Все опухоли MSS All tumors were MSS
Оценка статуса MSI среди больных лейомиосаркомами <i>Evaluation of MSI status among patients with leiomyosarcomas</i>			
Данные НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина, 2019 N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology data, 2019	41	ПЦР (моноклеотидные маркеры) PCR (mononucleotide markers)	2,4 % (1/41) – опухоль с MSI-L по маркеру NR21 2,4 % (1/41) – MSI-L tumor per the NR21 marker

Примечание. MSI – микросателлитная нестабильность; MSI-H (MSI-high) – высокий уровень MSI; MSI-L (MSI-low) – низкий уровень MSI; ПЦР – полимеразная цепная реакция; ИГХ – иммуногистохимическое исследование; MSS – микросателлитно-стабильный фенотип.

Note. MSI – microsatellite instability; MSI-H (MSI-high) – high MSI level; MSI-L (MSI-low) – low MSI level; PCR – polymerase chain reaction; IHC – immunohistochemistry; MSS – microsatellite stable phenotype.

Заключение

Частота экспрессии PD-L1 среди больных брюшинными лейомиосаркомами в нашем наблюдении составила 24 % (10/41), статус MSI-L определен в 2,4 % (1/41) случаев. У больных с опухолью II степени зло-

качественности наличие экспрессии PD-L1 связано с достоверным снижением общей выживаемости. PD-L1 у больных брюшинными лейомиосаркомами следует рассматривать как прогностический маркер и потенциальную терапевтическую мишень.

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

1. Lamm W., Natter C., Schur S. et al. Distinctive outcome in patients with non-uterine and uterine leiomyosarcoma. *BMC Cancer* 2014;14:981. DOI: 10.1186/1471-2407-14-981.
2. Jacobs A.J., Michels R., Stein J., Levin A.S. Improvement in overall survival from extremity soft tissue sarcoma over twenty years. *Sarcoma* 2015;2015:279601. DOI: 10.1155/2015/279601.
3. Emens L.A., Emens L.A., Butterfield L.H., Hodi F.S. Jr et al. Cancer immunotherapy trials: leading a paradigm shift in drug development. *J Immunother Cancer* 2016;4:42. DOI: 10.1186/s40425-016-0146-9.
4. Chen D.S., Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013;39(1):1–10. DOI: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
5. Reiss K.A., Forde P.M., Brahmer J.R. Harnessing the power of the immune system via blockade of PD-1 and PD-L1: a promising new anticancer strategy. *Immunotherapy* 2014;6(4):459–75. DOI: 10.2217/imt.14.9.
6. Zhang Y., Kang S., Shen J. et al. Prognostic significance of programmed cell death 1 (PD-1) or PD-1 ligand 1 (PD-L1) Expression in epithelial-originated cancer: a meta-analysis. *Medicine* 2015;94(6):515. DOI: 10.1097/MD.0000000000000515.
7. 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.
8. Paydas S., Bagir E.K., Devenci M.A., Gonlusen G. Clinical and prognostic significance of PD-1 and PD-L1 expression in sarcomas. *Med Oncol* 2016;33(8):93. DOI: 10.1007/s12032-016-0807-z.
9. Chen K., Cheng G., Zhang F. et al. Prognostic significance of programmed death-1 and programmed death-ligand 1 expression in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016;7(21):30772. DOI: 10.18632/oncotarget.8956.
10. Le D.T., Uram J.N., Wang H. et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372(26):2509–20. DOI: 10.1056/NEJMoa1500596.
11. Dudley J.C., Lin M.T., Le D.T., Eshleman J.R. Microsatellite instability as a biomarker for PD-1 blockade. *Clin Cancer Res* 2016;22(4):813–20. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-15-1678.
12. Nabouh A., Roman C.A.J., Shapira I. Immune checkpoint inhibitors in malignancies with mismatch repair deficiency: a review of the state of the current knowledge. *J Investig Med* 2017;65(4):754–8. DOI: 10.1136/jim-2016-000342.
13. Schmidt L.H., Kummel A., Görlich D. et al. PD-1 and PD-L1 expression in NSCLC indicate a favorable prognosis in defined subgroups. *PLoS One* 2015;10(8):0136023. DOI: 10.1371/journal.pone.0136023.
14. Kostine M., Briaire-de Bruijn I.H., Cleven A.H.G. et al. Increased infiltration of M2-macrophages, T-cells and PD-L1 expression in high grade leiomyosarcomas supports immunotherapeutic strategies. *Oncoimmunology* 2018;7(2):1386828. DOI: 10.1080/2162402X.2017.1386828.
15. Kawaguchi K., Oda Y., Takahira T. et al. Microsatellite instability and hMLH1 and hMSH2 expression analysis in soft tissue sarcomas. *Oncol Rep* 2005;13(2):241–6.
16. Campanella N.C., Penna V., Ribeiro G. et al. Absence of microsatellite instability in soft tissue sarcomas. *Pathobiology* 2015;82(1):36–42. DOI: 10.1159/000369906.
17. Popat S., Hubner R., Houlston R.S. Systematic review of microsatellite instability and colorectal cancer prognosis. *J Clin Oncol* 2005;23(3):609–18.
18. D'Angelo S.P., Mahoney M.R., van Tine B.A. et al. Nivolumab with or without ipilimumab treatment for metastatic sarcoma (Alliance A091401): two open-label, non-comparative, randomised, phase 2 trials. *Lancet Oncol* 2018;19(3):416–26. DOI: 10.1016/S1470-2045(18)30006-8.
19. Tawbi H.A., Burgess M., Bolejack V. et al. Pembrolizumab in advanced soft-tissue sarcoma and bone sarcoma (SARC028): a multicentre, two-cohort, single-arm, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017;18(11):1493–501. DOI: 10.1016/S1470-2045(17)30624-1.
20. Wooster R., Cleton-Jansen A.M., Collins N. Instability of short tandem repeats (microsatellites) in human cancers. *Nat Genet* 1994;6(2):152. DOI: 10.1038/ng0294-152.
21. Saito T., Oda Y., Kawaguchi K. et al. Possible association between tumor-suppressor gene mutations and hMSH2/hMLH1 inactivation in alveolar soft part sarcoma. *Hum Pathol* 2003;34(9):841–9. DOI: 10.1016/s0046-8177(03)00343-5.
22. Ericson K., Engellau J., Persson A. et al. Immunohistochemical loss of the DNA mismatch repair proteins MSH2 and MSH6 in malignant fibrous histiocytomas. *Sarcoma* 2004;8(4):123–7. DOI: 10.1080/13577140400010856.
23. Rucińska M., Kozłowski L., Pepiński W. et al. High grade sarcomas are associated with microsatellite instability (chromosome 12) and loss of heterozygosity (chromosome 2). *Med Sci Monit* 2005;11(2):65–8.

Вклад авторов

В.Е. Бугаев: получение данных для анализа, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
 М.П. Никулин: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных, написание текста рукописи;
 Н.И. Поспехова, Н.В. Кокосадзе: получение данных для анализа, анализ полученных данных;
 В.М. Сафронова, Я.А. Божченко: получение данных для анализа;
 С.Н. Неред: анализ полученных данных;
 Л.Н. Любченко, И.С. Стилиди: разработка дизайна исследования, анализ полученных данных.

Authors' contributions

V.E. Bugaev: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data, article writing;
 M.P. Nikulin: developing the research design, analysis of the obtained data, article writing;
 N.I. Pospekhova, N.V. Kokosadze: obtaining data for analysis, analysis of the obtained data;
 V.M. Safronova, Ya.A. Bozhchenko: obtaining data for analysis;
 S.N. Nered: analysis of the obtained data;
 L.N. Lyubchenko, I.S. Stilidi: developing the research design, analysis of the obtained data.

ORCID авторов/ORCID of authors

В.Е. Бугаев/V.E. Bugaev: <https://orcid.org/0000-0002-2410-7801>
 М.П. Никулин/M.P. Nikulin: <https://orcid.org/0000-0002-9608-4696>

Н.И. Поспехова/N.I. Pospekhova: <https://orcid.org/0000-0001-5255-5065>

Л.Н. Любченко/L.N. Lyubchenko: <https://orcid.org/0000-0003-4775-3299>

И.С. Стилиди/I.S. Stilidi: <https://orcid.org/0000-0002-5229-8203>

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

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

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.
Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.