

**В.С. Сухін**<sup>1</sup>  
**С.В. Данилюк**<sup>1,2</sup>  
**О.М. Сухіна**<sup>1,2</sup>  
**О.В. Задніпр'яний**<sup>3</sup>  
**Д. Ліндквіст**<sup>4</sup>  
**Г. Гермелін**<sup>5</sup>  
**М. Тар'ян**<sup>5</sup>

<sup>1</sup> ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», Харків

<sup>2</sup> Харківська медична академія післядипломної освіти,

<sup>3</sup> КЗ «Херсонський обласний онкологічний диспансер»

<sup>4</sup> Університет м. Умео, Швеція

<sup>5</sup> Центральна клініка м. Фалунь, Швеція

Надійшла: 13.05.2018

Прийнята: 20.06.2018

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.62-71>

УДК 618.14–006:616–006.06:577.21

## ДОСЛІДЖЕННЯ ЕКСПРЕСІЇ PD-L1 ЯК ПРОГНОСТИЧНОГО МАРКЕРА ПРИ САРКОМІ МАТКИ

*Дана робота є частиною науково-дослідної теми «Визначення ролі молекулярно-біологічних маркерів в оцінці агресивності саркоми матки» (шифр НА-МН.03.17, номер державної реєстрації 0117U001047).*

© Morphologia. – 2018. – Т. 12, № 2. – С. 62-71.

© В.С. Сухін (ORCID 0000-0002-4403-3707), С.В. Данилюк (ORCID 0000-0002-9971-0410), О.М. Сухіна (ORCID 0000-0002-1272-0764), О.В. Задніпр'яний (ORCID 0000-0002-6366-6104), Д. Ліндквіст (ORCID 0000-0002-7507-937X), Г. Гермелін, М. Тар'ян (ORCID 0000-0002-7658-3332), 2018

✉ [suhin\\_vlad@ukr.net](mailto:suhin_vlad@ukr.net)

**Sukhin V.S., Danyliuk S.V., Sukhina O.N., Zadnepryanniy A.V., Lindquist D., Hermelin H., Tarján M. The investigation of PD-L1 expression as a prognostic marker for uterine sarcoma.**

**ABSTRACT. Background.** The uterine sarcoma is a rare tumor with the unpredictable, aggressive clinical behavior. Medical science relies on the development of reliable tumor markers, on the basis of which the optimal treatment program can be chosen, and will be also possible to make a prognosis. The hyperexpression of PD-L1 in many cases correlates with unfavorable prognosis of the disease and is an important prognostic biomarker for some types of tumors: melanoma, kidney cancer, non-small cell lung cancer. The role of PD-L1 expression, as a tumor marker in sarcoma, remains unclear. **Objective.** The investigation of PD-L1 expression as a prognostic tumor marker for uterine sarcoma. **Methods.** There have been selected 30 uterine sarcoma patients stage I-II (T1-2NxM0), for immunohistochemistry analyze of PD-L1 expression. Depending on the morphological tumor types all the patients were distributed: leiomyosarcoma (LMS) - 20.0%, endometrial stromal sarcoma (ESS) - 46.7%, undifferentiated sarcoma (HC) - 33.3%. **Results.** Our results showed that 73.3 % of patients with uterine sarcoma exhibited low expression level of PD-L1. The moderate level and overexpression of PD-L1 were observed in undifferentiated and endometrial stromal sarcoma - 13.3 and 6.7 %, respectively. At further follow-up of patients with PD-L1 expression, the relapse of the disease was detected in 50.0 % of cases. **Conclusion.** The PD-L1 expression in tumor tissue, regardless of its level, is considered to be an unfavorable prognostic factor for uterine sarcoma patients. In case of moderate expression level of PD-L1, so as at its overexpression, the tumor progression was detected in 83.3% of uterine sarcoma patients.

**Key words:** uterine sarcoma, tumor-marker expression, PD-L1, prognostic factor.

### Citation:

Sukhin VS, Danyliuk SV, Sukhina ON, Zadnepryanniy AV, Lindquist D, Hermelin H, Tarján M. [The investigation of PD-L1 expression as a prognostic marker for uterine sarcoma]. Morphologia. 2018;12(2):62-71. Ukrainian. DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2018.2.62-71>.

### Вступ

Клінічний досвід показує, що у повсякденній онкологічній практиці ми отримуємо все більш складні клінічні випадки.

Минулого століття можливо було прогнозувати успішність лікування хворих на підставі стадії захворювання, морфологічного типу пухлини та ступеня її диференціювання. Сьогодні ж, коли персоніфікована медицина займає провідну

позицію, медична наука робить ставку на розробку надійних пухлинних маркерів, на підставі чого можливо обирати оптимальну індивідуальну програму лікування і передбачати прогноз захворювання [1, 2].

Саркома матки є рідкісною пухлиною, яка складає 7,0 % серед усіх сарком м'яких тканин та 3,0 % серед злоякісної патології матки [3]. Основними морфологічними типами є лейоміосарко-

ма (ЛМС), ендометріальна стромальна саркома (ЕСС) та недиференційована саркома (НС) [4].

Взаємодія між імунною системою та злоякісною пухлиною являє собою тонкий баланс між процесами імунної активації та імуносупресії. Імунна система може розпізнавати та елімінувати поодинокі пухлинні клітини, контролювати зріст пухлини, забезпечувати тривалу ремісію захворювання [5, 6]. Порушення регуляції взаємодії активційних та інгібіторних сигналів призводить до нездатності клітин-ефекторів пригнічувати зростання пухлини. Даному порушенню відводять важливу роль у механізмах уникнення пухлиною імунологічного надзору, що у багатьох випадках визначає клінічний результат хвороби [7].

Гіперекспресія PD-L1 в пухлинних клітинах у багатьох випадках корелює із несприятливим прогнозом захворювання.

PD-1 (programmed cell death), синонім CD279, – ген, що кодує мембранний протеїн, який знаходиться на клітинній поверхні, з надродина імуноглобулінів, і відіграє роль в клітинній диференціації імунних клітин [8].

PD-1 входить до складу сімейства коstimуляторних рецепторів Т-клітин, що також включає CD28, CTLA-4, індукбельний Т-клітинний коstimулятор та Т- і В-лімфоцитарні атенуатори [9]. PD-1 експресується на активованих Т- і В-клітинах [10]. Існують 2 ліганди (PD-L1 і PD-L2), які є специфічними для PD-1. Як тільки вони зв'язуються з PD-1, відбувається пригнічення активації Т-клітин [11, 12].

PD-L1 (B7-H1 або CD274) – трансмембранний протеїн, який конститутивно виражається на низьких рівнях антиген-презентуючих клітин і може активувати наявні CD4<sup>+</sup> Т-клітини. Експресія PD-L1 також індукується прозапальними цитокінами, включаючи інтерферони типу I і II, фактор некрозу пухлини  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) та фактор росту ендотелію судин (VEGF). PD-L2 (B7-DC або CD273) експресується на дендритних клітинах і макрофагах після їх активації та регулюється переважно тими ж цитокінами, що і PD-L1. Кінетика експресії гену PD-1 в активованих Т-клітинах, послідовна значна експресія PD-L1 в тканинах та індукція лігандів PD-1 за допомогою проінфламаторних сигналів підкреслюють роль шляху PD-1 в пригніченні активності ефекторних Т-клітин. Функції Т-клітин диференційно чутливі до PD-1, що відповідає диференційованим ефектам PD-1 на шляхах передачі сигналу. PD-L1 функціонує як інгібіторний рецептор для передачі антиапоптозних сигналів ракових клітин і для запобігання імунологічно опосередкованому відволіканню ракових клітин [13]. Недостатність пухлино-інфільтруючих імунних клітин, а також мінімальна або відсутня експресія PD-L1 у внутрішньопухлинному імунному інфільтраті корелювала з низькими результатами

лікування хворих та прогресуванням захворювання [14, 15].

PD-L1 є важливим прогностичним біомаркером при деяких типах пухлин - меланомі, нирково-клітинному раку та недрібноклітинному раку легенів [14, 16]. Близько 20,0 % сарком експресують PD-L1 ( $\geq 1$  %). D'Angelo та співавт. висловили припущення, що експресія PD-L1 може корелювати із клінічною поведінкою сарком [17]. Роль експресії PD-L1, як біологічного пухлинного маркера при саркомі, залишається до кінця не вивченою [16, 18].

Визначення прогностичних маркерів, як і оцінка росту та розповсюдження пухлини, є дуже важливими факторами для визначення групи пацієнток високого ризику, а також призначення їм належної індивідуальної схеми лікування.

**Метою** даного дослідження є вивчення експресії протеїну PD-L1 як прогностичного пухлинного маркера при саркомі матки.

#### **Матеріали та методи**

Нами селекційовано 30 випадків сарком матки I-II стадії згідно із класифікацією FIGO [19, 20], для проведення імуногістохімічного дослідження експресії маркера PD-L1. Матеріал для дослідження отримано під час хірургічного лікування пацієнток у відділенні онкогінекології ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України» та КЗ «Херсонський обласний онкологічний диспансер» (на підставі договору про наукову співпрацю) у 2013–2016 рр. із відомим прогнозом захворювання, яких розподілено залежно від морфологічного типу: лейоміосаркома (ЛМС) – 20,0 %, ендометріальна стромальна саркома (ЕСС) – 46,7 %, недиференційована саркома (НС) – 33,3 %, згідно із класифікацією новоутворень матки ВООЗ [20, 21]. Клінічна характеристика хворих на саркому матки надана у таблиці 1.

Для гістологічного дослідження вирізали шматочки з центральних, периферичних відділів пухлинних вузлів, ділянки з прилеглої інтактної тканини міометрія. Фрагменти тканини фіксувалися в 10,0 % розчині нейтрального формаліну, забуференого фосфатним буфером. Потім матеріал піддавався стандартній проводці по етанолам зростаючої концентрації, хлороформом, після чого заливався парафіном. З парафінових блоків виготовлялися серійні зрізи товщиною 3–4 мкм. У всіх випадках використовувалися стандартні методи забарвлення гематоксиліном і еозинном.

Фенотип пухлинних клітин визначали з використанням низькомолекулярних цитокератинів (Cytokeratin PAN, AE1 / AE3), гладком'язового актину (Smooth Muscle Actin, 1A4), міогеніну (Myogenin (F5D)), CD 10 і віментину (Vimentin, V9). Застосовувалися первинні моноклональні антитіла (МКАТ) фірми DAKO (Данія), Ready-to-Use. Для вивчення особливостей стану екстраце-

люлярного матриксу пухлин і потенціалу їх метастазування використовували кролячі концентровані поліклональні антитіла (ПКАТ) до матриксною металопротеїнази-9 (ММП-9, 92kDa Collagenase IV) фірми Thermo scientific (Німеччина) в розведенні 1:50. Визначення експресії протеїну PD-L1 виконано за допомогою мишачого МКАТ до PD-L1 (Clone 130021, R&D Systems, Minneapolis, MN) в розведенні 1:100 [22, 23].

Таблиця 1  
Клінічна характеристика хворих на саркому матки

Змінна величина	Середній вік (діапазон), n = 30 (%)
Середній вік на початку введення інгібіторів ароматази	53,9 роки (28-71)
Гістотип пухлини	
Лейоміосаркома	6 (20,0 %)
Ендометріальна стромальна саркома	14 (46,7 %)
Недиференційована саркома	10 (33,3 %)
Ступінь диференціювання	
G1	7 (23,3 %)
G2	8 (26,7 %)
G3	15 (50,0 %)
Загальний стан	
0	25 (83,3 %)
1	3 (10,0 %)
2	2 (6,7 %)
3	0 (0,0 %)
Стадія при встановленні діагнозу	
1	28 (93,3 %)
2	0 (0,0 %)
3	0 (0,0 %)
4	2 (6,7 %)
Локалізація метастазів	
Легеня	2 (6,7 %)
Таз	0 (0,0 %)
Очеревина	0 (0,0 %)
Кількість метастазів	
Олігометастатичний (невелика кількість метастазів)	0 (0,0 %)
Множинні метастази	2 (6,7 %)

Демаскування антигенів було виконано методом кип'ятіння зрізів в цитратному буфері (pH 6,0). Для візуалізації первинних антитіл застосовувалася система детекції UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific). Як хромоген був використаний DAB (діамінобензидін).

Результати підраховували в 10 довільно ви-

браних полях зору при збільшенні 400x. Оцінку імуногістохімічної мітки проводили за двома параметрами: ступінь поширення та інтенсивність забарвлення, враховуючи вираженість реакції та її локалізацію. Ступінь поширення мітки враховували за процентним вмістом позитивно забарвлених в коричневий колір структур клітин від загальної кількості клітин в полі зору. Для оцінки ступеня інтенсивності забарвлення використовували якісну шкалу: 0 - відсутність реакції, 1+ - слабе цитоплазматичне забарвлення до 30,0 % пухлинних клітин, 2+ - помірна реакція, від 30,0 до 60,0 % забарвлених клітин, 3+ - виражена цитоплазматична реакція в 60,0-100,0 % клітин пухлини. Комплекс морфологічних досліджень проводився на мікроскопі Primo Star (Carl Zeiss) з використанням програм AxioCam (ERc 5s).

Для гарантії якості імуногістохімічне дослідження проведено в лабораторії Центральної клініки м. Фалунь, Швеція, на підставі договору про наукове співробітництво між ДУ «Інститут медичної радіології ім. С.П. Григор'єва НАМН України», та Університетом Умеа, Швеція. Кодовані зразки були опрацьовані паралельно в Центральній клініці м. Фалунь, Швеція, яка співпрацює із Університетом Умеа, Швеція та в Харківській медичній академії післядипломної освіти, із наступним розкодуванням результатів керівником дослідження та уведенням даних до аналізу тільки у разі наявності консенсусу у висновках з обох центрів.

Імуногістохімічне дослідження експресії маркера ММП-9 проведено нами раніше у цієї ж когорти хворих.

Статистична обробка отриманих даних здійснювалася за допомогою пакета програм «STATISTICA 10.0».

#### Результати дослідження

Аналізуючи рівень експресії маркера PD-L1 при саркомах матки слід зауважити, що у 73,3 % пацієнток спостерігається низький рівень експресії, помірний рівень відмічено у 13,3 %, гіперекспресія - у 6,7 % пацієнток, негативна реакція - у 6,7 %. Експресія маркера PD-L1 залежно від гістологічного типу пухлини представлена у таблиці 2.

З наведених у таблиці даних бачимо, що максимальна частота зустрічальності експресії PD-L1 спостерігається при ЕСС та відповідає низькому рівню експресії даного показника - 33,3 %. У більшості хворих на саркому матки відмічено низький рівень експресії PD-L1 - так, при ЛМС її зареєстровано у 100,0 % випадків (рис. 1), при ЕСС - у 71,4 %, при НС - у 60,0 %.

Помірний рівень експресії PD-L1 та гіперекспресія спостерігаються при НС (рис. 2) та ЕСС (рис. 3) - у 13,3 та 6,7 %, відповідно.

Частота та рівень експресії пухлинного маркера PD-L1 залежно від гістологічного типу саркоми матки

Рівень експресії	Всього n=30 (100,0 %)	ЛМС	ЕСС	НС
0	2 (6,7)	-	2	-
1+	22 (73,3)	6	10	6
2+	4 (13,3)	-	-	4
3+	2 (6,7)	-	2	-

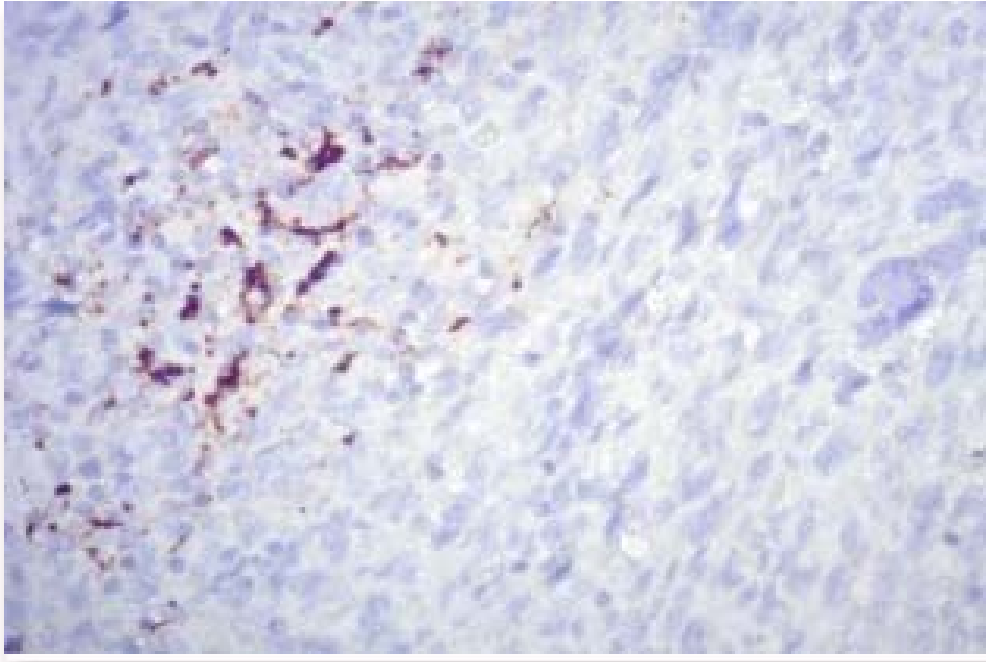


Рис. 1. Низький рівень експресії PD-L1 в клітинах реактивного інфільтрату ЛМС. Реакція з МКАТ до PD-L1 (Clone 130021).  $\times 400$ .

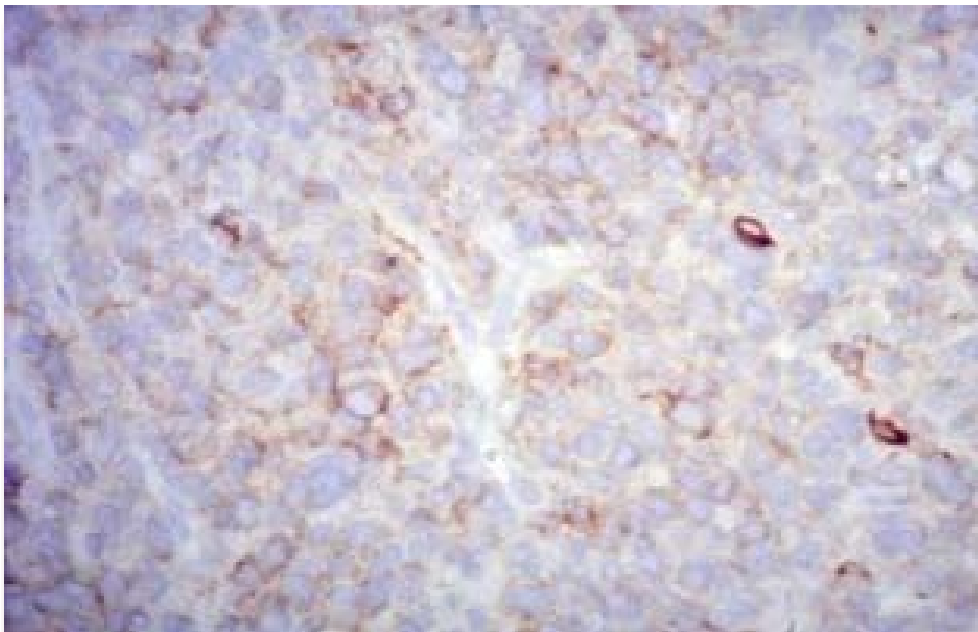


Рис. 2. Помірний рівень експресії PD-L1 в клітинах ЕСС. Реакція з МКАТ до PD-L1 (Clone 130021).  $\times 400$ .

Як відомо з даних літератури, гіперекспресія PD-L1 в пухлинних клітинах (рис. 3) в багатьох випадках корелює із несприятливим прогнозом

захворювання та сприяє метастазуванню пухлини шляхом вивільнення матриксних металопротеїназ (ММП) [24, 25].

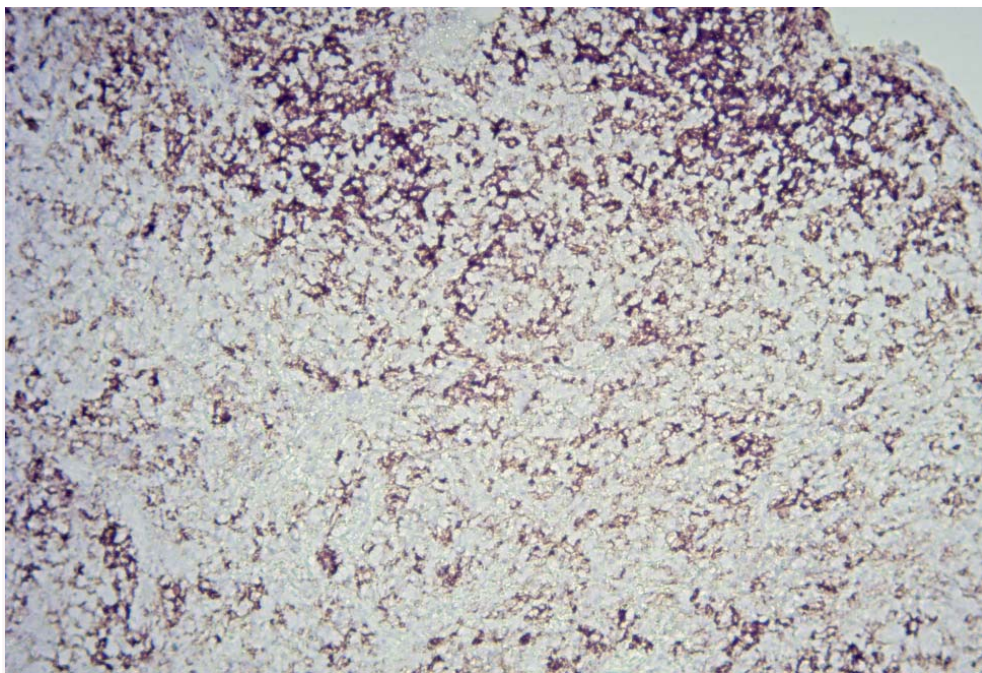


Рис. 3. Високий рівень експресії PD-L1 в клітинах НС. Реакція з МКАТ до PD-L1 (Clone 130021).  $\times 100$ .

Аналіз експресії ММП-9 залежно від наявності рівня експресії PD-L1 показав, що з 30 хворих на саркому матки лише у 13,3 % спостеріга-

ється низький та помірний рівень експресії ММП-9 (рис. 4) і відмічається це лише при НС.

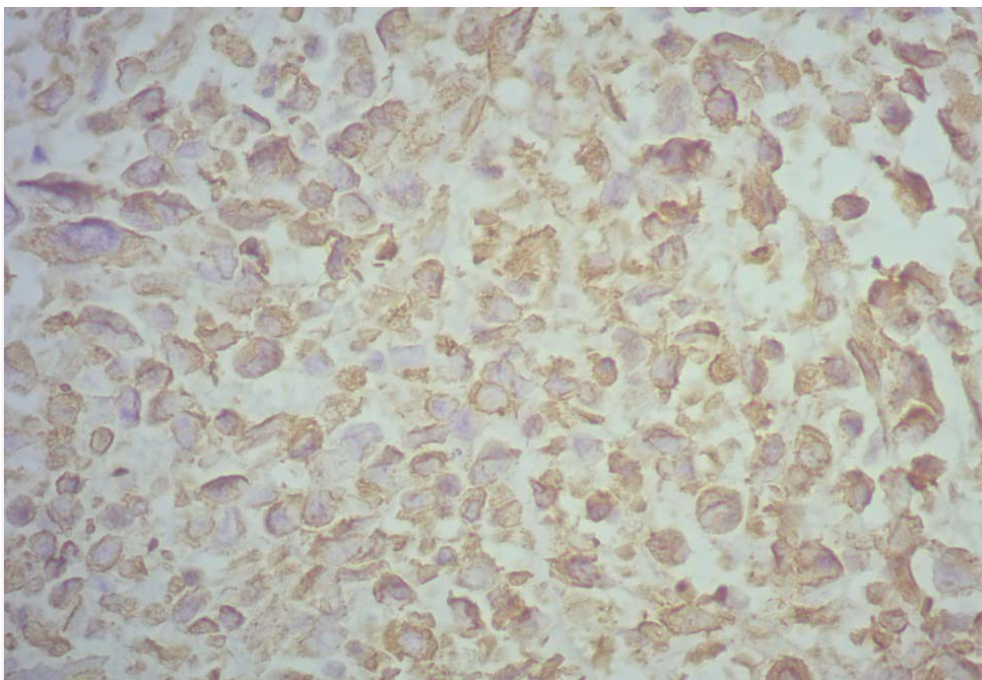


Рис. 4. Помірний рівень експресії MMP-9 в клітинах НС. Реакція з ПКАТ до MMP-9, 92kDa Collagenase IV.  $\times 400$ .

Але необхідно зауважити, що в групі НС експресія ММП-9 зустрічається у 60,0 % пацієнтів при наявності експресії PD-L1. Це відповідає клінічному перебігу НС, які вважаються найбільш агресивними та здатними до метастазу-

вання пухлинами.

Подальший моніторинг 30 хворих на саркому матки, у яких відмічено експресію PD-L1, показав наявність рецидиву пухлини у 50,0 % випадків (табл. 3).

Таблиця 3

Частота рецидивування саркоми матки в залежності від рівня експресії PD-L1

Рівень експресії	Кількість хворих, n=30	Частота рецидивування, абс. (%)			
		Всього	ЛМС	ЕСС	НС
0	2	0	-	-	-
1+	22	10 (45,5)	4	4	2
2+	4	4 (100,0)	-	-	4
3+	2	1	-	1	-

Слід зазначити, що одна хвора, у якої відмічено гіперекспресію PD-L1, загинула не від саркоми матки, а інша – від прогресування основного захворювання.

Не зважаючи на низький рівень експресії PD-L1, у 45,5 % відмічено рецидивування саркоми матки. Серед них при ЛМС – у 66,7 % (4 з 6 випадків), при ЕСС – у 40,0 % (4 з 10), і при НС – у 33,3 % (2 з 6 пацієнток). При помірному рівні та гіперекспресії PD-L1 прогресування пухлини відмічено у 83,3 % (5 з 6 хворих). При негативному рівню експресії PD-L1, що відмічено у двох хворих на ЕСС, рецидиву захворювання на встановлено.

Таким чином, наявність експресії PD-L1 у пухлинній тканині сарком матки, незалежно від її рівня, є несприятливим прогностичним фактором перебігу захворювання.

#### Обговорення

При багатьох видах пухлин значний відсоток лімфоцитів, що інфільтрують пухлину, експресує PD-1, а в клітинах солідних пухлин визначається підвищена експресія ліганда PD-L1 [7, 26].

Оцінка рівня експресії молекули PD-L1 розглядається як потенційний біомаркер прогнозу ефективності лікування злоякісних новоутворень [27, 28].

Гіперекспресія PD-L1 на пухлинних клітинах у багатьох випадках корелює із несприятливим прогнозом захворювання. Взаємодія PD-1 з PD-L1 призводить до пригнічення проліферації, ефекторних функцій Т-клітин, які індуюють апоптоз антигенспецифічних Т-клітин [29, 30].

Клітинний склад мікрооточення пухлини також відіграє важливу роль у блокуванні проти-пухлинної імунної відповіді і прогресії новоутворення. Пухлина здатна пригнічувати імунну відповідь, підвищуючи експресію блокуючих молекул, таких як PD-L1, як в клітинах самої пухлини, так і в пухлиноінфільтруючих клітинах [27, 31, 32].

Експресія PD-L1 підтверджена динамічними змінами у процесі природного перебігу пухлин-

ного процесу, який зображає взаємодію пухлини та імунної системи, також вона може змінюватись під дією протипухлинною терапії, наприклад, зміна експресії PD-L1 може відбуватись на тлі застосування тирозин-кіназних інгібіторів, які пригнічують активність EGFR або ALK [27, 33, 34]. Схожим чином експресія PD-L1 може змінюватись при проведенні променевої терапії та хіміотерапії – загибель злоякісних клітин призводить до масивного вивільнення антигенів, які можуть бути розпізнані імунною системою організму, з наступним розвитком у пухлині запальних процесів та її інфільтрації лімфоцитами [35, 36, 37].

Експресувати PD-L1 здатні не лише клітини самої пухлини, але й клітини імунної системи, що інфільтрують пухлину. На даний час не відомо, який характер експресії володіє найбільшою клінічною значущістю і повинен враховуватись при визначенні PD-L1 статусу пухлини [38, 39]. Окрім мембранної експресії PD-L1 описано цитоплазматичну експресію цього ліганда у пухлинних клітинах, яка не володіє клінічною значимістю, так як у цьому випадку PD-L1 не здатен зв'язуватись із своїми рецепторами на поверхні імунних клітин. Свій внесок має і феномен пухлинної гетерогенності – наприклад, при метастатичній меланомі показано, що експресія PD-L1 у первинній пухлині і у метастазах може різнитись [33, 40]. Проведені клінічні дослідження Quezada S.A. та співавт. вказують на те, що гіперекспресія PD-L1 є важливою умовою для пухлинного зросту і метастазування та виявляється приблизно у 50,0 % пухлин людини [41, 42]. Chan Kim та співавт. у своєму дослідженні експресії PD-L1 при різних типах сарком м'яких тканин дійшли висновку, що даний маркер є прогностичним, але відіграє негативну роль [22].

Chu F. та співавт. довели, що рівень експресії PD-L1 пухлинними клітинами і клітинами пухлинного мікрооточення є потенційним біомаркером прогнозування перебігу злоякісних новоутворень і може бути використаний як предиктор відповіді на анти-PD-1/PD-L1 імунотерапію [43,

44].

Високий ефект від проведення анти-PD-1/PD-L1 імунотерапії при лікуванні хворих із пухлинами інших локалізацій [29, 45] є цікавим для дослідження застосування цієї терапії й при саркомі матки, яка вважається високо агресивною [46, 47].

Клінічні дослідження PD-1/PD-L1 при саркомі матки ще не розпочато, але розмови про це ведуться провідними фахівцями під час професійних мітингів. Тому на сьогодні ще не має ніякої інформації щодо експресії цих пухлинних маркерів при саркомі матки.

#### Підсумок

Наявність експресії PD-L1 при саркомі матки, незалежно від її рівня, є несприятливим прогностичним фактором для перебігу захворювання. При помірному рівні експресії та гіперекспресії PD-L1 прогресію пухлини відмічено у 83,3

% хворих на саркому матки.

Експресія ММП-9 зустрічається у 60,0 % пацієнток при наявності експресії PD-L1 при недиференційованих саркомах матки, які є найбільш злоякісними.

#### Перспективи подальших розробок

Вивчення змін експресії маркерів ММП-9 та PD-L1 в пухлинній тканині сарком матки є перспективним, адже їх рівень може бути корисним для моніторингу перебігу неопластичного процесу та відповідної реакції на проведене лікування, а також для розробки таргетної специфічної терапії.

#### Подяка

Висловлюємо слова подяки співробітникам Інституту та Університету Умеа, КЗ «Херсонський обласний онкологічний диспансер», які брали участь у лікуванні вище зазначених хворих, а також у проведенні наукових досліджень.

### Літературні джерела

#### References

1. Liao Y, Feng Y, Shen J, Hornicek FJ, Duan Zh. The roles and therapeutic potential of cyclin-dependent kinases (CDKs) in sarcoma. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2016;35(2):151-63. <https://doi.org/10.1007/s10555-015-9601-1>.
2. Nakamura T, Hamuro J, Takaishi M, Simmons S, Maruyama K, Zaffalon A, Bentley AJ, Kawasaki S, Nagata-Takaoka M, Fullwood NJ, Itami S, Sano S, Ishii M, Barrandon Y, Kinoshita S. LRIG1 inhibits STAT3-dependent inflammation to maintain corneal homeostasis. *J. Clin. Invest*. 2014;124:385-97. <http://doi.org/10.1172/JCI71488>.
3. D'Angelo E, Prat J. Uterine sarcomas: a review. *Gynecol Oncol*. 2010;116:131-9. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2009.09.023>.
4. Sukhin VS, Dolhaia OV. [Features of morphology of uterine sarcoma]. *Problems of continuous medical training and science*. 2017;4(27):79-87. Ukrainian.
5. Brinkkoetter PT, Pippin JW, Shankland SJ. Cyclin I-Cdk5 governs survival in post-mitotic cells. *Cell Cycle*. 2010;9:1729-31. <https://doi.org/10.4161/cc.9.9.11471>.
6. Rondahl V, Holmlund C, Karlsson T, Wang B, Faraz M, Henriksson R, Hedman H. Lrig2-deficient mice are protected against PDGFB-induced glioma. *PLoS One*. 2013;8(9):e73635. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0073635>.
7. Kadagidze ZG, Chertkova AI. [New approaches to increasing the effectiveness of the antitumor immune response]. *Immunology*. 2015;1:66-70. Russian.
8. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int. Immunol*. 2007;19(7):813-24. <https://doi.org/10.1093/intimm/dxm057>.
9. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, Fitz LJ, Malenkovich N, Okazaki T, Byrne MC, Horton HF, Fouser L, Carter L, Ling V, Bowman MR, Carreno BM, Collins M, Wood CR, Honjo T. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med*. 2000;192(7):1027-34. PMID: 11015443.
10. Nishimura H, Honjo T. PD-1: an inhibitory immunoreceptor involved in peripheral tolerance. *Trends Immunol*. 2001;22(5):265-8. PMID: 11323285.
11. Carter L, Fouser LA, Jussif J, Fitz L, Deng B, Wood CR, Collins M, Honjo T, Freeman GJ, Carreno BM. PD-1: PD-L inhibitory pathway affects both CD4+ and CD8+ T cells and is overcome by IL-2. *Eur. J. Immunol*. 2002;32(3):634-43. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200203\)32:3<634::AID-IMMU634>3.0.CO;2-9](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200203)32:3<634::AID-IMMU634>3.0.CO;2-9).
12. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, Iwai Y, Long AJ, Brown JA, Nunes R, Greenfield EA, Bourque K, Boussiotis VA, Carter LL, Carreno BM, Malenkovich N, Nishimura H, Okazaki T, Honjo T, Sharpe AH, Freeman GJ. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat. Immunol*. 2001;2(3):261-8. <https://doi.org/10.1038/85330>.
13. Boussiotis VA. Molecular and Biochemical Aspects of the PD-1 Checkpoint Pathway. *N. Engl. J. Med*. 2016;375:1767-78. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1514296>.
14. Herbst RS, Soria JC, Kowanzetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, Sosman JA, McDermott DF, Powderly JD, Gettinger SN, Kohrt HE, Horn L,

- Lawrence DP, Rost S, Leabman M, Xiao Y, Mokkatrin A, Koeppen H, Hegde PS, Mellman I, Chen DS, Hodi FS. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*. 2014;515:563-7. <https://doi.org/10.1038/nature14011>.
15. Skubitz KM, Skubitz AP. Differential gene expression in leiomyosarcoma. *Cancer*. 2003;98:1029-38. <http://doi.org/10.1002/cncr.11586>.
16. Kim JR, Moon YJ, Kwon KS, Bae JS, Wagle S, Kim KM, Park HS, Lee H, Moon WS, Chung MJ, Kang MJ, Jang KY. Tumor infiltrating PD1-positive lymphocytes and the expression of PD-L1 predict poor prognosis of soft tissue sarcomas. *PLoS ONE*. 2013;8(12):e82870. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082870>.
17. D'Angelo SP, Tap WD, Schwartz GK, Carvajal RD. Sarcoma immunotherapy: past approaches and future directions. Review Article. *Sarcoma*. 2014;39:1967. <http://doi.org/10.1155/2014/391967>.
18. Mitsis D, Francescutti V, Skitzki J. Current Immunotherapies for Sarcoma: Clinical Trials and Rationale. Review Article. *Sarcoma*. 2016;97:57219. <http://doi.org/10.1155/2016/9757219>.
19. Figo committee on gynecologic oncology. FIGO staging for uterine sarcomas. *Int. J. Gynaecol. Obstet*. 2009;104(3):177-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2008.12.008>.
20. Sukhin VS. Surgical treatment of uterine sarcoma patients. Review. *Women's Health*. 2014;91(5):46-9.
21. Cadoo KA, Gucalp A, Traina TA. Palbociclib: an evidence-based review of its potential in the treatment of breast cancer. *Breast Cancer*. 2014;6:123-33. <https://doi.org/10.2147/BCTT.S46725>.
22. Kim C, Kim EK, Jung H, Chon HJ, Han JW, Shin KH, Hu H, Kim KS, Choi YD, Kim S, Lee YH, Suh JS, Ahn JB, Chung HC, Noh SH, Rha SY, Kim SH, Kim HS. Prognostic implications of PD-L1 expression in patients with soft tissue sarcoma. *BMC Cancer*. 2016;16:434. <https://doi.org/10.1186/s12885-016-2451-6>.
23. Matsumura N, Mandai M, Miyanishi M, Fukuhara K, Baba T, Higuchi T, Kariya M, Takakura K, Fujii S. Oncogenic property of acrogranin in human uterine leiomyosarcoma: direct evidence of genetic contribution in in vivo tumorigenesis. *Clin. Cancer Res*. 2006;12(5):1402-11. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-05-2003>.
24. Benassi MS, Gamberi G, Magagnoli G, Molendini L, Ragazzini P, Merli M, Chiesa F, Balladelli A, Manfrini M, Bertoni F, Mercuri M, Picci P. Metalloproteinase expression and prognosis in soft tissue sarcomas. *Ann. Oncol.*, 2001;12:75-8. <https://doi.org/10.1023/A:1008318614461>.
25. Elinav E, Nowarski R, Thaiss CA, Hu B, Jin C, Flavell RA. Inflammation- induced cancer: crosstalk between tumours, immune cells and microorganisms. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(11):759–71. <https://doi.org/10.1038/nrc3611>.
26. Malumbres M, Barbacid M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm. *Nat. Rev. Cancer*. 2009;9:153-66. <http://doi.org/10.1038/nrc2602>.
27. Kljuchagina JI, Sokolova ZA, Baryshnikova MA. [Role of PD-1 receptor and its ligands PD-L1 and PD-L2 in cancer immunotherapy]. *Oncopediatry*. 2017;4(1):49-55. <https://doi.org/10.15690/onco.v4i1.1684>.
28. Toulmonde M, Adam J, Bessede A, Ranchère-Vince D, Velasco V, Brouste V, Blay J-Y, Mir O, Italiano A. Integrative assessment of expression and prognostic value of PDL1, IDO, and kynurenine in 371 primary soft tissue sarcomas with genomic complexity. *J. Clin. Oncol*. 2016;34(15):11008. [http://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15\\_suppl.11008](http://doi.org/10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.11008).
29. Callahan MK, Wolchok JD. At the Bedside: cTLA-4- and PD-1-blocking antibodies in cancer immunotherapy. *J. Leukoc. Biol*. 2013;94:41-53. <https://doi.org/10.1189/jlb.1212631>.
30. Nakanishi J, Wada Y, Matsumoto K, Azuma M, Kikuchi K, Ueda S. Overexpression of B7-H1 (PD-L1) significantly associates with tumor grade and postoperative prognosis in human urothelial cancers. *Cancer Immunol. Immunother*. 2007;56(8):1173-82. <http://doi.org/10.1007/s00262-006-0266-z>.
31. Liokumovich P, Goldberg I, Davidson B, Gotlieb WH, Zahavi T, Ben-Baruch G, Reder I, Kopolovic J. Expression of metalloproteinases endometrial stromal sarcoma: immunohistochemical study using image analysis. *J. Clin. Pathol*. 1999;52:198-202. PMID: 10450179.
32. Sabah M, Cummins R, Leader M, Kay E. Aberrant expression of the Rb pathway proteins in soft tissue sarcomas. *Appl Immunohistochem. Mol. Morphol*. 2006;14(4):397-403. <http://doi.org/10.1097/01.pai.0000190176.06200.68>.
33. Rumjancev AA, Tjuljandin SA. [Efficacy of inhibitors of immune response control points in the treatment of solid tumors]. *Practical oncology*. 2016;17(2):74-89. Russian.
34. Swaika A, Hammond WA, Joseph RW. Current state of anti-PD-L1 and anti-PD-1 agents in cancer therapy. *Mol. Immunol*. 2015;67(2 Pt. A):4–17. <http://doi.org/10.1016/j.molimm.2015.02.009>.
35. Bhattacharyya T, Purushothaman K, Puthiyottil SS, Bhattacharjee A, Muttah G. Immunological interactions in radiotherapy – opening a new window of opportunity. *Ann. Transl. Med*. 2016;4(3):51. PMID:26904573.
36. Contreras-Vallejos E, Utreras E, Gonzalez-Billault C. Going out of the brain: non-nervous system physiological and pathological functions of Cdk5. *Cellular Signalling*. 2012;24:44-52. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2011.08.022>.
37. Davidson B, Abeler VM, Førsvund M, Holth



A, Yang Y, Kobayashi Y, Chen L, Kristensen GB, Shih I-M, Wang T-L. Gene expression signatures of primary and metastatic uterine leiomyosarcoma. *Hum Pathol.* 2014;45(4):691-700. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2013.11.003>.

38. Keir ME, Liang SC, Guleria I, Latchman YE, Qipo A, Albacker LA, Koulmanda M, Freeman GJ, Sayegh MH, Sharpe AH. Tissue expression of PD-L1 mediates peripheral T-cell tolerance. *J. Exp. Med.* 2006;203(4):883-95. <https://doi.org/10.1084/jem.20051776>.

39. Tang X, Wang X, Gong X, Tong M, Park D, Xia Z, Mao Z. Cyclin-dependent kinase 5 mediates neurotoxin-induced degradation of the transcription factor myocyte enhancer factor 2. *J. Neurosci.* 2005;25(19):4823-34. <http://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1331-05.2005>.

40. Benassi MS, Magagnoli G, Ponticelli F, Pazzaglia L, Zanella L, Gamberi G, Ragazzini P, Ferrari C, Mercuri M, Picci P. Tissue and serum loss of metalloproteinase inhibitors in high grade soft tissue sarcomas. *Histol. Histopathol.* 2003;18(4):1035-40. <https://doi.org/10.14670/HH-18.1035>.

41. Moffatt P, Thomas GP. Osteocrin – beyond just another bone protein? *Cell Mol. Life Sci.* 2009;66:1135-9.

42. Quezada SA, Peggs KS. Exploiting CTLA-4, PD-1 and PD-L1 to reactivate the host immune

response against cancer. *Br. J. Cancer.* 2013;108(8):1560-5.

<http://doi.org/10.1038/bjc.2013.117>.

43. Chu F, Neelapu SS. Anti-PD-1 antibodies for the treatment of B-cell lymphoma: Importance of PD-1+ T-cell subsets. *Oncoimmunology.* 2014;3(1):e28101. <https://doi.org/10.4161/onci.28101>.

44. Patsoukis N, Li L, Sari D, Petkova V, Boussiotis VA. PD-1 increases PTEN phosphatase activity while decreasing PTEN protein stability by inhibiting casein kinase 2. *Mol. Cell Biol.* 2013;33:3091-8. <http://doi.org/10.1128/MCB.00319-13>.

45. Zhang J, Krishnamurthy PK, Johnson GV. Cdk5 phosphorylates p53 and regulates its activity. *J. Neurochem.* 2002;81(2):307-13. PMID: 12064478.

46. VanArsdale T, Boshoff C, Arndt KT, Abraham RT. Molecular pathways: targeting the cyclin D-CDK4/6 axis for cancer treatment. *Clin. Cancer Res.* 2015;21(13):2905-10. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-14-0816>.

47. Zhai YL, Nikaido T, Toki T, Shiozawa A, Oritani A, Fujii S. Prognostic significance of bcl-2 expression in leiomyosarcoma of the uterus. *Br. J. Cancer.* 1999;80:1658-64. <http://doi.org/10.1038/sj.bjc.6690578>.

**Сухін В.С., Данилюк С.В., Сухіна О.М., Задніпрський О.В., Ліндквіст Д., Гермелін Г., Гар'ян М. Дослідження експресії PD-L1 як прогностичного маркера при саркомі матки.**

**РЕФЕРАТ. Обґрунтування.** Саркома матки є рідкісною пухлиною із непередбачуваною агресивною клінічною поведінкою. Медична наука робить ставку на розробку надійних пухлинних маркерів, на підставі яких можливо обрати оптимальну програму лікування і передбачати прогноз захворювання. Гіперекспресія PD-L1 на пухлинних клітинах в багатьох випадках корелює із несприятливим прогнозом захворювання і є важливим прогностичним біомаркером при деяких типах пухлин: меланома, нирково-клітинний, недрібноклітинний рак легень. Роль експресії PD-L1, як пухлинного маркера при саркомі, залишається до кінця невизначеною. **Метою** даного дослідження є вивчення експресії протеїну PD-L1 як прогностичного пухлинного маркера при саркомі матки. **Матеріали та методи.** Було селекційовано 30 хворих на саркому матки I-II стадії (T1-2NxM0) для проведення імуногістохімічного дослідження експресії маркера PD-L1. Залежно від морфологічного типу пухлини усіх хворих було розподілено: лейоміосаркома (ЛМС) – 20,0 %, ендометріальна стромальна саркома (ЕСС) – 46,7 %, недиференційована саркома (НС) – 33,3 %. **Результати.** У 73,3% хворих спостерігається низький рівень експресії PD-L1. Помірний рівень і гіперекспресія PD-L1 спостерігаються при недиференційованих і ендометріальних стромальних саркомах – у 13,3 і 6,7%, відповідно. При подальшому моніторингу хворих, у яких відмічено експресію PD-L1, виявлено рецидив захворювання у 50,0 % випадків. **Підсумок.** Незалежно від рівня експресії PD-L1, її наявність виступає несприятливим прогностичним фактором при саркомі матки. При помірному рівні експресії та гіперекспресії PD-L1 прогресію пухлини відмічено у 83,3 % хворих на саркому матки.

**Ключові слова:** саркома матки, експресія пухлинного маркера, PD-L1, прогностичний фактор.

**Сухин В.С., Данилюк С.В., Сухина О.М., Заднипрский А.В., Линдквист Д., Хермелин Х., Гарьян М. Исследование экспрессии PD-L1 как прогностического маркера при саркоме матки.**

**РЕФЕРАТ. Обоснование.** Саркома матки является редкой опухолью с непредсказуемым агрессивным клиническим течением. Медицинская наука делает ставку на разработку надежных опухолевых маркеров, на основе которых возможно выбрать оптимальную программу лечения и предвидеть прогноз заболевания. Гиперэкспрессия PD-L1 на опухолевых клетках в большинстве случаев коррелирует с не-

благоприятным прогнозом заболевания и является важным прогностическим биомаркером при некоторых типах опухолей: меланома, почечно-клеточный, немелкоклеточный рак легких. Роль экспрессии PD-L1, как опухолевого маркера при саркоме, остается до конца не определенной. **Целью** данного исследования является изучение экспрессии белка PD-L1 как прогностического опухолевого маркера при саркоме матки. **Материалы и методы.** Нами отобрано 30 больных саркомой матки I-II стадий (T1-2NxM0) для проведения иммуногистохимического исследования экспрессии маркера PD-L1. В зависимости от морфологического типа опухоли всех больных распределили: лейомиосаркома (ЛМС) – 20,0 %, эндометриальная стромальная саркома (ЭСС) – 46,7 %, недифференцированная саркома (НС) – 33,3 %. **Результаты.** У 73,3 % больных отмечен низкий уровень экспрессии PD-L1. Умеренный уровень и гиперэкспрессия PD-L1 наблюдаются при недифференцированной и эндометриальной стромальной саркоме – у 13,3 и 6,7 % пациенток, соответственно. При дальнейшем мониторинге больных, у которых отмечено экспрессию PD-L1, выявлен рецидив заболевания в 50,0 % случаев. **Заключение.** Независимо от уровня экспрессии PD-L1, ее наличие является неблагоприятным прогностическим фактором при саркоме матки. При умеренном уровне экспрессии та гиперэкспрессии PD-L1 прогрессию опухоли отмечено у 83,3 % больных саркомой матки.

**Ключевые слова:** саркома матки, экспрессия опухолевого маркера, PD-L1, прогностический фактор.