

РАСТВОРИМЫЕ МОЛЕКУЛЫ ИММУННЫХ КОНТРОЛЬНЫХ ТОЧЕК: МЕХАНИЗМЫ ОБРАЗОВАНИЯ, ФУНКЦИИ, РОЛЬ ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

Глазанова Т.В.¹, Павлова И.Е.¹, Кузьмич Е.В.¹, Бубнова Л.Н.^{1,2}

¹ ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Иммунные контрольные точки (ИКТ) — это обширный комплекс стимулирующих и ингибирующих сигнальных путей, играющих важную роль в точной регуляции иммунных реакций. Традиционно ИКТ считались исключительно связанными с клеточной мембраной системами рецепторов и лигандов, способными запускать или блокировать функционирование иммунных клеток, однако за последнее десятилетие доказано их существование в виде растворимых форм (растворимые молекулы иммунных контрольных точек, или sИКТ). sИКТ — биологически активные регуляторы, участвующие в паракринной и системной модуляции иммунных реакций, подобно цитокинам. В периферической крови здоровых людей присутствуют sИКТ, обладающие свойствами как стимуляторов, так и ингибиторов иммунной системы, и их баланс может нарушаться при многих онкологических заболеваниях, COVID-19, ВИЧ-инфекции. Имеется много данных о связи наличия sИКТ с различными заболеваниями, однако ряд ключевых аспектов их биологии до конца не уточнен. Наиболее широко изучаемыми являются молекулы PD-1 (programmed death receptor-1) и его лиганды PD-L1 и PD-L2, а также CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4), TIM-3 (T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3), VISTA (V-domain Ig-containing suppressor of T cell activation). Механизмы образования растворимых форм сложны и разнообразны и включают альтернативный сплайсинг, отщепление мембранных эктодоменов, протеолитическое расщепление. Среди молекулярных механизмов, лежащих в основе синтеза и высвобождения sPD-1 и sPD-L1, наиболее важными являются альтернативный сплайсинг мРНК и трансляция изоформ, лишенных трансмембранных доменов, а образование растворимой формы TIM-3 происходит путем разрезания внеклеточных участков трансмембранных белков посредством протеазы ADAM10. В обзорной статье приведены данные об основных sИКТ, включая sPD-1, sPD-L1, экзосомальный sPD-L1, sCTLA-4 и ряд других. Описаны молекулярные механизмы их образования, биологические функции в поддержании иммунного гомеостаза, а также прогностическое значение изменения их содержания у больных злокачественными новообра-

Адрес для переписки:

Глазанова Татьяна Валентиновна
ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»
191024, Россия, Санкт-Петербург,
ул. 2-я Советская, 16.
Тел.: 8 (812) 309-79-81.
E-mail: tatyana-glazanova@yandex.ru

Address for correspondence:

Tatiana V. Glazanova
Russian Research Institute of Haematology
and Transfusiology
16 2nd Sovetskaya St
St. Petersburg
191024 Russian Federation
Phone: +7 (812) 309-79-81.
E-mail: tatyana-glazanova@yandex.ru

Образец цитирования:

Т.В. Глазанова, И.Е. Павлова, Е.В. Кузьмич, Л.Н. Бубнова «Растворимые молекулы иммунных контрольных точек: механизмы образования, функции, роль при злокачественных новообразованиях» // Медицинская иммунология, 2025. Т. 27, № 1. С. 21-34. doi: 10.15789/1563-0625-SIC-2965

© Глазанова Т.В. и соавт., 2025

Эта статья распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0

For citation:

T.V. Glazanova, I.E. Pavlova, E.V. Kuzmich, L.N. Bubnova "Soluble immune checkpoint molecules: mechanism of formation, function, role in malignant neoplasms", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2025, Vol. 27, no. 1, pp. 21-34. doi: 10.15789/1563-0625-SIC-2965

© Glazanova T.V. et al., 2025

The article can be used under the Creative Commons Attribution 4.0 License

DOI: 10.15789/1563-0625-SIC-2965

зованиями (включая немелкоклеточный рак легкого, гепатоцеллюлярный рак, рак молочной железы, рак почки, рак кожи, рак желудка и ряд других), а также при злокачественных заболеваниях системы крови (включая лимфомы, хронический лимфолейкоз, острый миелобластный лейкоз, множественную миелому).

Ключевые слова: растворимые молекулы иммунных контрольных точек, механизм образования, sPD-1, sPD-L1, злокачественные новообразования, злокачественные заболевания системы крови

SOLUBLE IMMUNE CHECKPOINT MOLECULES: MECHANISM OF FORMATION, FUNCTION, ROLE IN MALIGNANT NEOPLASMS

Glazanova T.V.^a, Pavlova I.E.^a, Kuzmich E.V.^a, Bubnova L.N.^{a, b}

^a Russian Research Institute of Haematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

^b First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. Immune checkpoints (ICs) represent a broad set of stimulatory and inhibitory signaling pathways playing an important role in regulation of immune responses. Initially, ICs have been considered solely as cell membrane-bound receptor and ligand systems, triggering or blocking immune cell function. Over the past decade they have been proven to exist in soluble forms (sICs). sICs are biologically active regulators involved in paracrine and systemic modulation of immune responses, similar to cytokines. Normally, sICs exert both stimulatory and inhibitory effects on the immune system, and their balance may be disturbed in many malignant neoplasms, COVID-19, HIV infection. There is a lot of data on the connection between sICs and various diseases, but a number of key aspects of their biology have not been fully clarified. The most widely studied are PD-1 (programmed death receptor-1) and its ligands PD-L1 and PD-L2, CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4), TIM-3 (T cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3), VISTA (V-domain Ig-containing suppressor of T cell activation). The mechanisms of soluble form formation are complex and diverse and include alternative splicing, cleavage of membrane ectodomains, and proteolytic cleavage. The most important molecular mechanisms underlying the synthesis and release of sPD-1 and sPD-L1 are alternative splicing of mRNA and translation of isoforms lacking transmembrane domains, while the formation of sTIM-3 occurs by cleaving the extracellular regions of transmembrane proteins by protease ADAM10. The review article provides data on the main sICs, including sPD-1, sPD-L1, exosomal sPD-L1, sCTLA-4, and several others. The molecular mechanisms of their formation, biological functions in maintaining immune homeostasis, prognostic significance of changes in their content are described in patients with solid malignant tumors (non-small cell lung cancer, hepatocellular cancer, breast cancer, kidney cancer, skin cancer, gastric cancer, etc.), as well as for hematologic malignancies (lymphoma, chronic lymphocytic leukemia, acute myeloblastic leukemia, multiple myeloma).

Keywords: immune checkpoint molecules, soluble, formation mechanism, sPD-1, sPD-L1, malignant neoplasms, hematological malignancies

Иммунные контрольные точки (ИКТ) представляют собой обширный и разнообразный комплекс стимулирующих и ингибирующих сигнальных путей, которые осуществляют точную регуляцию иммунных реакций. Молекулы PD-1, CTLA-4 и их лиганды давно привлекли внимание в качестве мишеней противоопухолевой иммунотерапии, другие сигнальные пути контрольных точек также вовлечены в иммунопатогенез заболеваний человека [42, 61, 76].

Традиционно ИКТ считались исключительно связанными с клеточной мембраной системами рецепторов и лигандов, способными запускать или блокировать функционирование иммунных клеток, но за последние годы доказано их существование в виде растворимых форм (растворимые молекулы иммунных контрольных точек или sИКТ). Эти растворимые молекулы являются не просто побочными продуктами протеолитической деградации, но и биологически активными

регуляторами, участвующими в паракринной и системной модуляции иммунных реакций, подобно цитокинам.

Появляется все больше доказательств биологических функций sИКТ, включая регуляцию антибактериального иммунитета, взаимодействие с соответствующими мембранными ИКТ (mИКТ) для регуляции иммунного ответа и конкуренцию с mИКТ за связывание с блокирующими ИКТ антителами, что приводит к снижению эффекта терапии. В периферической крови здоровых людей присутствуют sИКТ, являющиеся как стимуляторами, так и ингибиторами, и их баланс может нарушаться при онкологических заболеваниях, COVID-19, ВИЧ-инфекции, злоупотреблении алкоголем.

Накоплено большое количество данных в пользу наличия связи между sИКТ и различными заболеваниями, при этом ряд ключевых аспектов биологии растворимых контрольных точек до конца не уточнен, в том числе:

- молекулярный механизм, ответственный за их образование (альтернативный сплайсинг, отщепление мембранных эктодоменов, протеолитическое расщепление);
- существование различных изоформ и возможность их обнаружения по отдельности;
- баланс между различными изоформами в норме и при заболеваниях, и специфичность профилей sИКТ для отдельных заболеваний;
- биологическая активность и ее соотношение с активностью соответствующей мембраносвязанной формы;
- молекулярный механизм (механизмы) действия (пути связывания, передача сигнала, образование растворимых комплексов растворимого рецептора с растворимыми лигандами, молекулярные ловушки и т. д.);
- иммуномодулирующие функции рекомбинантных sИКТ.

Изучение этих вопросов важно для уточнения патофизиологических механизмов и последующей разработки терапевтических средств на основе sИКТ.

Работы последних лет по изучению профиля sИКТ у пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ) [30], немелкоклеточным раком легкого (НМРЛ) [79], алкогольным поражением печени [60, 62], COVID-19 и ВИЧ-инфицированных, людей, страдающих алкоголизмом [35], и при ряде других заболеваний проливают свет на роль и функцию этих молекул.

Наиболее широко известными и изучаемыми являются такие молекулы ИКТ, как PD-1 (programmed death receptor-1) и его лиганды PD-L1 и PD-L2, а также CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte antigen-4), TIM-3 (T cell immunoglobulin and

mucin-domain containing-3), VISTA (V-domain Ig-containing suppressor of T cell activation).

Молекулярные механизмы образования ряда sИКТ в настоящее время широко изучаются, включая данные о генерации различных изоформ. Растворимые изоформы могут иметь разные белковые домены, которые влияют на биологическую активность, т. е. способность связывать соответствующие лиганды или рецепторы. Таким образом, молекулярное разнообразие системы sИКТ дополняется ее функциональным разнообразием. Существование различных изоформ для каждого вида sИКТ, а также растворимых комплексов рецептор-лиганд осложняет интерпретацию результатов их количественного определения. В настоящее время неизвестно, являются ли определяемые молекулярные типы индивидуальными или совокупными изоформами одной и той же sИКТ, или же молекулярными комплексами, образуемыми между растворимыми рецептором и лигандом [63].

Среди молекулярных механизмов, лежащих в основе синтеза и высвобождения sPD-1 и sPD-L1, наиболее важными являются альтернативный сплайсинг мРНК и трансляция изоформ, лишенных трансмембранных доменов, тогда как образование растворимой формы TIM-3 происходит путем разрезания внеклеточных участков трансмембранных белков посредством протеазы (шеддазы) ADAM10. Рядом исследователей показано, что sPD-1 может действовать как иммуностимулятор, в отличие от связанного с мембраной PD-1, тогда как sPD-L1 сохраняет супрессорную активность. Возможность sPD-1 и sPD-L1 действовать в качестве ловушек для терапевтических блокирующих антител имеет значимые последствия в плане устойчивости к иммунотерапии и прогрессирования заболевания. Также описана активная экзосомальная форма PD-L1, играющая роль в иммуносупрессии, и есть вероятность существования других sИКТ в виде внеклеточных везикул, что стирает грань между мембраносвязанными и полностью внеклеточными растворимыми изоформами [50].

Результаты определения с помощью мультиплексного анализа содержания в плазме здоровых доноров крови 16 различных видов sИКТ, показали, что большинство исследованных факторов, в том числе sPD-1, sPD-L1, sCTLA-4, sTIM-3, в каком-либо количестве выявлялись у всех здоровых доноров [8]. В плазме больных онкологическими и рядом других заболеваний также присутствуют растворимые формы многих иммунорегуляторных молекул [13, 19]. В общих чертах, определяющей функцией sИКТ является подавление Т-клеточного ответа [49, 54].

Молекула PD-1 представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, кодируемый геном *Pdcd1* на хромосоме 2 человека. Ген *Pdcd1* содержит пять экзонов (экзоны 1-5), кодирующих короткую сигнальную последовательность, домен иммуноглобулина (Ig), стволовой и трансмембранный домен, короткую последовательность из 12 аминокислот, которая маркирует начало цитоплазматического домена, С-концевые внутриклеточные остатки и длинный сегмент 3'UTR соответственно [28]. Помимо полноразмерного PD-1 (fPD-1), из мононуклеарных клеток периферической крови человека (МПК) клонировано четыре варианта сплайсинга мРНК PD-1: PD-1Deltaex2, PD-1Deltaex3, PD-1Deltaex2/3 и PD-1Deltaex2/3/4. У PD-1Deltaex2 отсутствует экзон 2, кодирующий внеклеточный домен; у PD-1Deltaex2/3 отсутствуют экзоны 2 и 3, кодирующие внеклеточный и трансмембранный домены; у PD-1Deltaex2/3/4 отсутствуют экзоны 2, 3 и 4 и имеется преждевременный стоп-кодон в экзоне 5. Все они не способны связываться с лигандом PD-L1 и передавать ингибирующие сигналы, однако лишь PD-1Deltaex3, у которого отсутствует экзон 3, соответствующий трансмембранному региону PD-1, сохраняет внеклеточный домен Ig и может транслироваться с образованием sPD-1 [49].

PD-L1 представляет собой трансмембранный гликопротеин I типа, кодируемый у человека геном *CD274* на хромосоме 9, включающим семь экзонов [64]. В результате транскрипции этого гена может продуцироваться несколько вариантов сплайсинга PD-L1, включая изоформы сплайсинга длинных некодирующих РНК (lncРНК) PD-L1 и укороченный PD-L1 [21, 58]. Было показано, что sPD-L1 продуцируется в основном за счет экзаципации интронного эндогенного ретроэлемента *LINE-2A* (*L2A*) в гене *CD274*, в результате чего sPD-L1, кодируемый *CD274-L2A*, обладает рецепторно-антагонистическим эффектом [48]. Кроме того, варианты, обогащенные экзоном 4, при различных видах злокачественных новообразований способны продуцировать секретлируемую форму PD-L1, которая связывается с PD-1 и осуществляет негативную регуляцию функций Т-клеток [21]. При этом один из вариантов сплайсинга не включает сплайсинг трансмембранного домена, но секретирует PD-L1 с уникальным «хвостом» из 18 аминокислот. Этот вариант способен превратиться в гомодимер и более эффективно угнетать функцию лимфоцитов [40]. В МПК человека был обнаружен вариант без экзона 2, который кодирует домен IgV, он не был способен связывать PD-1 и генерировать sPD-L1 [22].

sPD-L1 образуется в результате протеолитического расщепления mPD-L1 эндогенными матриксными металлопротеиназами (ММП) [11, 23]. PD-L1/PD-L2, экспрессируемые на фибробластах, могут расщепляться под действием ММП-9 и ММП-13, что приводит к отсутствию PD-1-связывающего домена, тем самым делая обратимым истощение Т-клеток и ограничивая их иммуносупрессорную активность [11]. Члены семейства дезинтегринов и металлопротеиназ (ADAM) также участвуют в отщеплении внеклеточных доменов мембранных молекул [3]. Так, обнаружено, что ADAM10 и ADAM17 отщепляют mPD-L1 на опухолевых клетках и внеклеточных везикулах [65]. В этих процессах могут участвовать и другие ферменты. Различия в механизмах, регулирующих продукцию mPD-L1 и sPD-L1, подтверждаются сведения об образовании и высвобождении sPD-L1 из опухолевых клеток и зрелых ДК, но не из незрелых ДК, Т-клеток, макрофагов и моноцитов, хотя повышенный уровень mPD-L1 отмечен как на миелоидных клетках, так и активированных Т-лимфоцитах [16].

sPD-1 способен угнетать все три вида взаимодействий молекулы PD-1 с лигандами: PD-L1/CD80, PD-L1/PD-1 и PDL2/PD-1 [69]. Ингибция опухолевого роста после переноса гена sPD-1 в места инокуляции опухоли может происходить за счет блокирования процессов взаимодействия PD-L1/PD-1 под действием sPD-1. В одном из исследований, посвященных sPD-1, показано, что его присутствие в опухолевой ткани способствует формированию опухолеспецифического иммунитета. Так, у иммунокомпетентных мышей выраженная инфильтрация опухоли иммунными клетками PD-1⁺, предположительно, была связана с более продолжительной выживаемостью [14].

При комбинировании sPD-1 с другими методами лечения было продемонстрировано усиление противоопухолевого эффекта. Так, результаты исследований при онкологических заболеваниях с использованием комбинации вакцины HSP70 и sPD-1 показали, что sPD-1 может не только блокировать PD-L1, но и снижать экспрессию гена IL-10, являющегося негативным регулятором иммунных процессов [18]. У мышей sPD-1 в комбинации с 4-1BBL (представителем суперсемейства лигандов TNF) снижал экспрессию IL-10 и TGF-β, индуцируя таким образом экспрессию IL-2 и IFNγ и аккумуляцию CD8⁺Т-клеток в тканях опухолевого микроокружения [57].

У пациентов с распространенным раком поджелудочной железы и повышенным уровнем маркера системного воспаления, С-реактивного белка (CRP), наблюдалось повышение уровня sPD-1, однако его связи с худшей общей выжи-

ваемостью (ОВ) не отмечено [29]. В другом же исследовании у пациентов с аденокарциномой поджелудочной железы была показана связь повышения уровня sPD-1 со снижением ОВ [5]. У пациентов с вирусным гепатитом В (ВГВ) более высокое содержание sPD-1 свидетельствовало о вирусной активности ВГВ и риске развития гепатоцеллюлярного рака (ГЦР) [8]. При ГЦР, ассоциированном с ВГВ, отмечались более высокие уровни sPD-1 по сравнению с другими клиническими формами ВГВ, а также низкая ОВ [34]. В ретроспективном анализе пациентов с ГЦР, перенесших радикальную резекцию опухоли, более высокий уровень sPD-1 был связан с улучшением выживаемости без прогрессирования (ВБП) и ОВ [6]. У пациентов с диффузной В-клеточной крупноклеточной лимфомой (ДВККЛ) повышение sPD-1 до начала лечения было связано с худшими прогностическими показателями, такими как возраст (≥ 60 лет), клиническая стадия диссеминации, общий статус (ECOG ≥ 2), повышенный уровень ЛДГ в плазме и наличие ≥ 1 экстранодального очага [46]. Также обнаружена связь повышения sPD-1 с определенным генотипом или фенотипом заболевания. Пациенты с ВГВ с генотипом С и ДВККЛ с фенотипом попу- GCB характеризовались более высокими уровнями sPD-1 [8, 46].

У пациентов с ХЛЛ в присутствии sPD-L1 продукция IFN γ Т-лимфоцитами значительно снижалась. Напротив, лечение антителами против PD-L1 приводит к значительному увеличению выработки IFN γ [36], а совместная инкубация CD4 $^{+}$ или CD8 $^{+}$ Т-клеток с происходящими из ДК клетками-продуцентами sPD-L1, и sPD-L1 запускает апоптоз в Т-клетках [16]. По мере того, как sPD-L1 распространяется по организму с кровью и лимфой, взаимодействуя с мембраносвязанным PD-1, он оказывает выраженный ингибирующий эффект [36].

Как известно, полноценная активация Т-клеток обусловлена специфическим связыванием Т-клеточного рецептора (TCR) с молекулами главного комплекса гистосовместимости (МНС) и взаимодействием CD28 на мембране Т-клеток с костимулирующими молекулами CD80/CD86 на антигенпрезентирующих клетках (АПС). Процесс передачи сигналов PD-1/PD-L1 включает рекрутирование домена гомологии Src 2, содержащего фосфатазы 2 (SHP2), в цитоплазматический домен PD-1, который дефосфорилирует сигнальные молекулы путей PI3K-АКТ и MAPK, тем самым ограничивая Т-клеточную пролиферацию, активацию и выживание. При этом sPD-1 подавляет взаимодействие PD-1 с PD-L1 и PD-L2 и взаимодействие PD-L1 с CD80, однако возможно и обратное сигнальное воздей-

ствие на АПС через путь PD-L1/PD-L2 с угнетением функции Т-клеток. sPD-L1, как и mPD-L1, связывается с PD-1 для передачи негативных регуляторных сигналов [50].

Показано, что димерная форма sPD-L1 обладает более высокой иммуносупрессорной активностью по сравнению с мономерной [40]. Однако влияние sPD-L1 на функцию иммунных клеток может также зависеть от степени родства между sPD-L1 и PD-1. Так, обнаружено, что нативный sPD-L1 угнетает активированные Т-клетки, а клонированные варианты растворимого PD-L1, имеющие более высокое (в 20 и более раз) родство к PD-1 по сравнению с нативным sPD-L1, оказались способны ослаблять ингибирующее влияние оси PD-1 на пролиферацию МПК и продукцию IFN γ [36]. Исследования у беременных показали, что на протяжении всего срока развития плода уровень sPD-L1 в материнской крови повышается, возвращаясь к исходным значениям после родов [15]. В процессе плацентарного развития усиленная продукция sPD-L1 трофобластами может приводить к поляризации макрофагов в сторону фенотипа M2, уменьшая тем самым воспаление. Это может по крайней мере частично подавлять материнский иммунитет и играть роль в иммунной толерантности, что имеет решающее значение для развития плода [53].

Прогностическое значение sPD-1

У 34% пациентов с НМРЛ в процессе лечения ингибитором тирозинкиназы эрлотинибом наблюдалось повышение уровня в сыворотке sPD-1, при этом у таких пациентов отмечалась пролонгированная ВБП и ОВ по сравнению с пациентами без повышения уровня sPD-1 [70]. У пациентов с карциномой носоглотки после лучевой терапии с модулированной интенсивностью уровень sPD-1 также был значительно повышен, при этом у пациентов с высоким уровнем sPD-1 ОВ была больше. Лучевая терапия может усиливать процессы презентации антигена, что увеличивает количество опухолеспецифических Т-лимфоцитов и продукцию sPD-1. Кроме того, экспрессия sPD-1 была значительно выше у пациентов со стадией TNM I/II, чем у пациентов с TNM III/IV [67]. У пациентов с НМРЛ с повышенным или стабильным уровнем sPD-1 после терапии анти-PD-1 антителами также наблюдалась тенденция к благоприятным исходам [43]. Ретроспективное исследование у пациентов с ГЦР, перенесших радикальную резекцию, также показало, что усиление выработки sPD-1 было связано с более длительной ОВ [6]. Механизмы, с помощью которых повышается уровень sPD-1 и улучшается ОВ пациентов после специфического лечения, например, таргетной терапии, луче-

вой терапии и иммунотерапии, до конца не изучены. Возможно, это обусловлено увеличением презентации антигена, восстановлением активности опухолеспецифических цитотоксических Т-клеток и усилением противоопухолевого иммунитета на фоне лечения [71, 72].

При этом существуют данные о том, что повышенный уровень sPD-1 у нелеченых онкологических больных может являться предиктором неблагоприятных исходов в отношении ОВ. Так, показано, что у пациентов с впервые диагностированной аденокарциномой протоков поджелудочной железы концентрация sPD-1 в плазме > 8,6 нг/мл была связана с низкой ОВ (< 6 месяцев) [5]. У пациентов с ДВККЛ уровни sPD-1 до лечения могут являться предикторами неблагоприятных исходов после высокодозной иммуно/химиотерапии и позволяют прогнозировать риск прогрессирования заболевания [66].

У пациентов с ГЦР уменьшение объема опухоли приводило к снижению уровня sPD-1, это предполагает, что первичная опухоль и опухолеспецифические Т-клетки являются основным источником циркулирующего sPD-1 [34]. У пациентов с первичной меланомой низкие уровни sPD-1 в плазме были ассоциированы с высокой активностью инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL), средние уровни — с низкой активностью TIL, а высокие уровни — с отсутствием TIL. Это показывает, что вовлеченные в противоопухолевый процесс Т-клетки могут продуцировать больше mPD-1, но низкорастворимые формы и периферические опухолеспецифические Т-клетки могут быть основным источником повышенного содержания sPD-1 [25].

Результаты исследования обширной когорты пациентов с ВГВ показали, что более высокий уровень sPD-1 был предположительно связан с повышенным риском возникновения гепатоцеллюлярного рака [8].

sPD-L1

В целом повышенное содержание sPD-L1 у онкологических больных может свидетельствовать о плохом прогнозе или резистентности к лечению [47, 55]. Так, высокие исходные показатели sPD-L1 были связаны с более низкой ВБП и ОВ у пациентов с раком легкого, получавших ингибиторы ИКТ [9], пациентов с глиомой, получавших лучевую терапию [12], пациентов с местнораспространенным или метастатическим плоскоклеточным раком пищевода, получающих цитотоксическую химиотерапию [17].

Исходно высокий уровень sPD-L1 был связан с повышенной вероятностью прогрессирования заболевания у пациентов со злокачественной меланомой [84], саркомой мягких тканей [1], у пациентов с инвазивным раком мочевого пузы-

ря [75], светлоклеточным почечно-клеточным раком [31], у пациентов с ГЦР, проходящих радикальное лечение [44].

Результаты французского многоцентрового рандомизированного клинического исследования III фазы показали, что у пациентов с ДВККЛ, получавших высокодозную химиотерапию и ритуксимаб, при уровне sPD-L1 выше установленного порогового уровня 1,52 нг/мл прогноз был хуже: 3-летняя ОВ составила 76% по сравнению с 89% у лиц с sPD-L1 ниже порогового значения. При достижении полной ремиссии уровни sPD-L1 возвращались к норме [66]. По данным клинического исследования при злокачественной меланоме ранние изменения уровня sPD-L1 после терапии блокаторами контрольных точек не коррелировали с получаемым клиническим эффектом. Однако возрастание sPD-L1 через 5 месяцев лечения коррелировало с частичным ответом у пациентов, получавших ипилимумаб [87]. Нарастание концентрации sPD-L1 после лечения пембролизумабом также коррелировало с частичным ответом, а высокие уровни до начала лечения — с прогрессированием заболевания. При этом у пациентов с НМРЛ, получавших ниволумаб, более низкие исходные уровни sPD-L1 в плазме были ассоциированы с лучшим клиническим эффектом [52].

У пациентов с гепатоцеллюлярным раком, связанным с ВГВ, экспрессия sPD-L1 была тесно связана с экспрессией PD-L1 на клетках опухоли, а экспрессия PD-1/PD-L1 — с размером опухоли, инвазией кровеносных сосудов и стадией по BCLC (Барселонская система стадирования рака печени) [84]. В исследовании при лимфоме из естественных киллерных клеток/Т-клеточной лимфоме пациенты с высокой концентрацией sPD-L1 в сыворотке ($\geq 3,4$ нг/мл) или с высоким процентом экспрессии mPD-L1 в образцах опухоли ($\geq 38\%$) показали плохой ответ на лечение и худшую ОВ, чем пациенты с более низкой концентрацией или процентом экспрессии этого фактора. По мнению авторов, повышенные концентрация sPD-L1 в сыворотке и экспрессия mPD-L1 в ткани опухоли могут быть независимыми неблагоприятными прогностическими факторами у пациентов с I-II стадией НК/Т-клеточной лимфомы [4]. У пациентов с множественной миеломой (ММ) и низким уровнем sPD-L1 общая частота ответа на терапию была выше, чем у пациентов с высоким уровнем этого маркера ($> 2,78$ нг/мл), что свидетельствует о худшем прогнозе у пациентов с повышением sPD-L1 [24, 78]. Связь повышенного содержания sPD-L1 с плохим прогнозом также продемонстрирована при плоскоклеточном раке полости рта [85], а при лимфоме Ходжкина уровни sPD-L1 положитель-

но коррелировали с клинической стадией [20]. Однако при распространенной аденокарциноме желудка получены результаты о том, что у пациентов с более высокой экспрессией sPD-L1 наблюдался гораздо лучший прогноз и меньшее метастазирование в лимфатические узлы, чем у пациентов с низкой его экспрессией [86].

При почечно-клеточном раке уровень sPD-L1 в крови не коррелировал ни с экспрессией, ни с мРНК PD-L1 в опухолевой ткани, при этом он значительно возрастал после резекции опухоли. Кроме того, уровень sPD-L1 значимо коррелировал с маркером воспаления — CRP и с уровнем мРНК PD-L1 в крови. Эти результаты показывают, что основным источником sPD-L1 могут быть клетки периферической крови, а не mPD-L1 ткани опухоли. При этом наблюдалось возрастание уровня sPD-L1 после резекции опухоли, по сравнению с исходным состоянием: 76 ± 32 пг/мл и 107 ± 32 пг/мл до и после резекции соответственно, $p < 0,0001$, и, напротив, различий в уровнях sPD-1 не было: 1027 ± 1922 пг/мл и 1097 ± 1849 пг/мл до и после резекции соответственно [27].

Кроме того, положительная корреляция между уровнями sPD-1 и sPD-L1 при распространенном раке поджелудочной железы [5] и ГЦР [13] может свидетельствовать об общем происхождении и одновременном высвобождении этих молекул.

экзоPD-L1

Существует также экзосомальная форма внеклеточного PD-L1, экзоPD-L1 [83]. Экзосомы образуются путем двойной инвагинации клеточной мембраны и секретируются во внеклеточное пространство и микроокружение путем экзоцитоза [26], опосредуя межклеточную передачу сигналов и иммунную регуляцию, так как в состав их содержимого входят нуклеиновые кислоты, липиды и белки, которые таким образом транспортируются к клеткам-мишеням [56]. Экзосомы опухолевого происхождения, несущие PD-L1, обладают иммуносупрессорными свойствами, поскольку способны угнетать активацию Т-лимфоцитов, связываясь с PD-1 на мембране Т-клеток [10]. Также экзосомы могут экспрессировать другие ключевые белки, например, молекулы главного комплекса гистосовместимости, которые взаимодействуют с TCR, передают активационные сигналы и таким образом могут опосредовать более сильные иммуносупрессорные эффекты, чем свободные sPD-L1 [82].

Высокие уровни экзоPD-L1 у пациентов с НМРЛ коррелировали с большим размером опухоли ($> 2,5$ см), поздней стадией, метастазами в лимфатические узлы и отдаленными метастазами [32]. Возрастание уровня экзоPD-L1 у пациен-

тов с аденокарциномой протоков поджелудочной железы также коррелировало с плохим прогнозом [37]. Продемонстрирована большая вероятность успешного ответа на лечение у пациентов с метастатической меланомой, у которых наблюдалось более чем 2,5-кратное изменение уровня экзоPD-L1 в процессе иммунотерапии [7]. Считается, что повышение содержания экзоPD-L1 на фоне лечения препаратами, направленными против PD-1, происходит в результате стимуляции вырабатываемого активированными $CD8^+$ Т-клетками $IFN\gamma$ [45]. У пациентов с меланомой положительный ответ на противоопухолевую терапию был ассоциирован со снижением уровня циркулирующего экзоPD-L1, и, напротив, прогрессия заболевания сопровождалась возрастанием уровня экзоPD-L1 [7]. Выявление экзоPD-L1 в сыворотке больных остеосаркомой позволило прогнозировать прогрессирование легочных метастазов [77], а значительно повышенный уровень экзоPD-L1 в плазме может быть биомаркером прогноза исходов выживания у пациентов с ДВККЛ [33].

При распространенном раке желудка до начала первой линии химиотерапии у пациентов с низким уровнем sPD-L1 ($< 9,32$ пг/мл) наблюдалась значительно более высокая ОБ и ВБП, чем у пациентов с высоким уровнем sPD-L1 ($\geq 9,32$ пг/мл). В группе с низким экзоPD-L1 ($< 10,21$ пг/мл) наблюдалась тенденция к более длительной ВБП, чем в группе с высоким экзоPD-L1 ($\geq 10,21$ пг/мл). Таким образом, при раке желудка уровень сывороточного экзоPD-L1 может отражать состояние иммуносупрессии у пациентов с распространенным заболеванием, а содержание sPD-L1 в плазме до начала лечения можно использовать в качестве прогностического маркера для пациентов, получающих цитотоксическую химиотерапию [68].

Другие растворимые молекулы ИКТ: образование и прогностическое значение

CTLA-4 — цитотоксический белок-4, ассоциированный с Т-лимфоцитами, который наряду с PD-1 принадлежит подсемейству CD28/CTLA-4 суперсемейства иммуноглобулинов, является одним из ключевых регуляторов Т-клеточного иммунного ответа. Основным источником sCTLA-4 считаются Т-регуляторные клетки [39]. Подобно поверхностной молекуле CTLA-4, молекулы sCTLA-4 способны связываться с костимулирующими лигандами на антиген-презентирующих клетках, предотвращая соединение с рецептором CD28 на Т-лимфоцитах и подавляя иммунный ответ. Селективная блокада sCTLA-4 активирует пролиферацию периферических $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клеток и способствует увеличению выработки цитокинов, особенно $IFN\gamma$, что в свою очередь

приводит к усилению противоопухолевого эффекта препаратов на основе анти-CTLA-4 моноклональных антител [80].

TIM-3 как ингибиторная контрольная точка, экспрессируемая различными типами иммунных клеток, активно исследуется в (до)клинической разработке в качестве противоопухолевой мишени с множеством моноклональных антител. Растворимая форма, sTIM-3 обнаружена в плазме больных злокачественными новообразованиями и при ряде других заболеваний. Этот циркулирующий белок образуется в результате протеолитического расщепления двумя ADAM металлопротеазами мембранного рецептора, общего для опухолевых и неопухолевых клеток, а также внеклеточных везикул. Причем в отличие от sPD-L1, который образуется при помощи различных протеаз, а также путем альтернативного сплайсинга, sTIM-3 образуется только при ADAM-зависимом отщеплении, являясь таким образом более гомогенной молекулярной единицей и, возможно, более надежным молекулярным маркером [2]. При большинстве видов злокачественных опухолей гиперэкспрессия TIM-3 на клеточной мембране сопровождается высоким уровнем sTIM-3. Повышенные уровни sTIM-3 обнаружены при хронических аутоиммунных заболеваниях, воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, некоторых вирусных и паразитарных заболеваниях, а также после трансплантации органов и при патологических состояниях, связанных с беременностью.

Недавно было показано, что Ig-содержащий V-домен супрессор активации Т-клеток (VISTA), белок, экспрессируемый Т-клетками, распознает галектин-9, секретируемый клетками ОМЛ, в качестве лиганда. Важно отметить, что секретируемый клетками ОМЛ sVISTA усиливает иммуносупрессорный эффект галектина-9, скорее всего, за счет образования мультибелковых комплексов на поверхности Т-клеток и, возможно, создания молекулярного барьера. Эти события вызывают изменения потенциала плазматической мембраны Т-клеток, приводя к активации гранзима В внутри цитотоксических Т-клеток, что в свою очередь приводит к апоптозу [81].

Периферические моноциты человека постоянно выделяют sVISTA, который регулируется матриксными металлопротеиназами, однако стимуляция моноцитов цитокинами, которые индуцируют дифференцировку макрофагов, такими как гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) и макрофагальный колониестимулирующий фактор (M-CSF), существенно снижает высвобождение sVISTA. На высвобождение sVISTA также влияли различные про- и противовоспалительные

стимулы, которые приводили к поляризации макрофагов, при этом активированные макрофаги M1 обычно высвобождали больше sVISTA, чем макрофаги M2. Кроме того, стимуляция активированных макрофагов липополисахаридом Toll-подобного рецептора 4 приводила к дальнейшему снижению высвобождения sVISTA. Обнаружено, что sVISTA снижает цитотоксическую активность Т-клеток, не вызывая их апоптоза, он также подавляет продукцию IL-2 CD4⁺Т-клетками. Белок VISTA постоянно вырабатывается и выходит в периферическую кровь, где может способствовать формированию периферической толерантности [51].

Результаты комплексной оценки изменений уровня 16 растворимых белков ИКТ у пациентов с ГЦР в процессе лечения сорафенибом (на 1-й, 2-й и 4-й неделе) показали корреляцию между повышенными уровнями sCTLA-4 и sPD-1 [13]. У пациентов с впервые выявленным неметастатическим РМЖ наблюдались подавление как стимулирующих, так и ингибирующих путей действия sИКТ и генерализованная иммуносупрессия, не зависящая от подтипа и распространенности опухоли [59]. У пациентов с НМРЛ на фоне таргетной терапии ингибиторами PD-1/PD-L1 наблюдалась достоверная связь между исходными уровнями sИКТ и клиническими исходами, носящая для различных sИКТ разнонаправленный характер [73].

В другом исследовании у больных НМРЛ с использованием мультиплексного анализа Lumiplex показано, что уровни sPDL2 были достоверно выше при инвазивной аденокарциноме по сравнению с аденокарциномой *in situ*, при этом уровни sPDL1 и sPDL2 достоверно увеличены в общей группе НМРЛ по сравнению с контрольной группой и повышение sPDL2 значимо коррелировало с риском инвазирования заболевания [79].

Результаты изучения содержания sPD1, sPDL1 и sTIM3 методом ИФА у пациентов с меланомой в процессе лечения ингибиторами sИКТ показали корреляцию уровней изученных показателей с ответом на терапию и ВБП, а резистентность к ипилимумабу (анти-CTLA4) в сочетании с ниволумабом была связана с высокими исходными уровнями sPD1, но не sPDL1 или sTIM3. Обе схемы лечения были ассоциированы со значительным повышением уровня sPD1 в сыворотке крови на фоне лечения [38].

В когорте пациентов с базальноклеточной карциномой, наиболее инвазивным и резистентным к лечению вариантом рака кожи, уровни sCTLA-4, sPD-1/sPD-L1 и sTIM-3 были значительно выше нормальных значений, что свидетельствует о наличии значительной системной

иммуносупрессии, при этом наблюдалась выраженная корреляция между sCTLA-4 и sPD-1 [41].

Таким образом, хотя традиционно молекулы иммунных контрольных точек исследовались как связанные с клеточной мембраной системы рецепторов и лигандов, способные запускать или блокировать функционирование иммунных клеток, на настоящий момент накоплено достаточно сведений о том, что они широко представлены в

растворимых формах (сИКТ), и молекулы сИКТ являются биологически активными регуляторами, участвующими в системной модуляции иммунных реакций. Уровень сИКТ в сыворотке крови пациентов с различными злокачественными новообразованиями, в том числе с заболеваниями системы крови, может иметь важное прогностическое значение.

Список литературы / References

1. Asanuma K., Nakamura T., Hayashi A., Okamoto T., Iino T., Asanuma Y., Hagi T., Kita K., Nakamura K., Sudo A. Soluble programmed death-ligand 1 rather than PD-L1 on tumor cells effectively predicts metastasis and prognosis in soft tissue sarcomas. *Sci. Rep.*, 2020, Vol. 10, no. 1, 9077. doi: 10.1038/s41598-020-65895-0.
2. Bailly C., Thuru X., Goossens L., Goossens J.F. Biochemical soluble TIM-3 as a biomarker of progression and therapeutic response in cancers and other of human diseases. *Pharmacology*, 2023, Vol. 209, 115445. doi: 10.1016/j.bcp.2023.115445.
3. Bailly C., Thuru X., Quesnel B. Soluble programmed death ligand-1 (sPD-L1): A pool of circulating proteins implicated in health and diseases. *Cancers (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 12, 3034. doi: 10.3390/cancers13123034.
4. Bi X., Wang H., Zhang W., Wang J., Liu W., Xia Z., Huang H., Jiang W., Zhang Y., Wang L. PD-L1 is upregulated by EBV-driven LMP1 through NF-kappaB pathway and correlates with poor prognosis in natural killer/T-cell lymphoma. *J. Hematol. Oncol.*, 2016, Vol. 9, no. 1, 109. doi: 10.1186/s13045-016-0341-7.
5. Bian B., Fanale D., Dusetti N., Roque J., Pastor S., Chretien A.S., Incorvaia L., Russo A., Olive D., Iovanna J. Prognostic significance of circulating PD-1, PD-L1, pan-BTN3As, BTN3A1 and BTLA in patients with pancreatic adenocarcinoma. *OncolImmunology*, 2019, Vol. 8, no. 4, e1561120. doi: 10.1080/2162402x.2018.1561120.
6. Chang B., Huang T., Wei H., Shen L., Zhu D., He W., Chen Q., Zhang H., Li Y., Huang R., Li W., Wu P. The correlation and prognostic value of serum levels of soluble programmed death protein 1 (sPD-1) and soluble programmed death-ligand 1 (sPD-L1) in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2019, Vol. 68, no. 3, pp. 353-363.
7. Chen G., Huang A.C., Zhang W., Zhang G., Wu M., Xu W., Yu Z., Yang J., Wang B., Sun H., Xia H., Man Q., Zhong W., Antelo L.F., Wu B., Xiong X., Liu X., Guan L., Li T., Liu S., Yang R., Lu Y., Dong L., McGettigan S., Somasundaram R., Radhakrishnan R., Mills G., Lu Y., Kim J., Chen Y.H., Dong H., Zhao Y., Karakousis G.C., Mitchell T.C., Schuchter L.M., Herlyn M., Wherry E.J., Xu X., Guo W. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response. *Nature*, 2018, Vol. 560, no. 7718, pp. 382-386.
8. Cheng H., Kang P.J., Chuang Y., Wang Y., Jan M., Wu C., Lin C., Liu C., Liaw Y., Lin S., Chen P., Lee S., Yu M. Circulating programmed death-1 as a marker for sustained high hepatitis B viral load and risk of hepatocellular carcinoma. *PLoS One*, 2014, Vol. 9, no. 11, e95870. doi: 10.1371/journal.pone.0095870.
9. Cheng Y., Wang C., Wang Y., Dai L. Soluble PD-L1 as a predictive biomarker in lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Future Oncol.*, 2022, Vol. 18, no. 2, pp. 261-273.
10. Cordonnier M., Nardin C., Chanteloup G., Derangere V., Algros M.P., Arnould L., Garrido C., Aubin F., Gobbo J. Tracking the evolution of circulating exosomal-pd-l1 to monitor melanoma patients. *J. Extracell. Vesicles*, 2020, Vol. 9, no. 1, 1710899. doi: 10.1080/20013078.2019.1710899.
11. Dezutter-Dambuyant C., Durand I., Alberti L., Bendriss-Vermare N., Valladeau-Guilemond J., Duc A., Magron A., Morel A.-P., Sisirak V., Rodriguez C., Cox D., Olive D., Caux D. A novel regulation of PD-1 ligands on mesenchymal stromal cells through MMP-mediated proteolytic cleavage. *Oncoimmunology*, 2016, Vol. 5, no. 3, e1091146. doi: 10.1080/2162402x.2015.1091146.
12. Ding X., Wang L., Zhu Y., Li Y., Nie S., Yang J., Liang H., Weichselbaum R., Yu J., Hu M. The Change of soluble programmed cell death-ligand 1 in glioma patients receiving radiotherapy and its impact on clinical outcomes. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 580335. doi: 10.3389/fimmu.2020.580335.
13. Dong M., Enomoto M., Le T., Hai H., Hieu V., Hoang D., Iida-Ueno A., Odagiri N., Amano-Teranishi Y., Hagihara A., Fujii H., Uchida-Kobayashi S., Tamori A., Kawada N. Clinical significance of circulating soluble immune checkpoint proteins in sorafenib-treated patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Sci. Rep.*, 2020, Vol. 10, no. 1, 3392. doi: 10.1038/s41598-020-60440-5.
14. Elhag O., Hu X.J., Wen-Ying Z., Li X., Yuan Y.Z., Deng L.F., Liu D.L., Liu Y.L., Hui G. Reconstructed adeno-associated virus with the extracellular domain of murine PD-1 induces antitumor immunity. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2012, Vol. 13, no. 8, pp. 4031-4036.
15. Enninga E., Harrington S., Creedon D., Ruano R., Markovic S., Dong H., Dronca R. Immune checkpoint molecules soluble program death ligand 1 and galectin-9 are increased in pregnancy. *Am. J. Reprod. Immunol.*, 2018, Vol. 79, no. 2, e12795. doi: 10.1111/aji.12795.
16. Frigola X., Inman B., Krco C.J., Liu X., Harrington S., Bulur P., Dietz A., Dong H., Kwon E. Soluble B7-H1: differences in production between dendritic cells and T cells. *Immunol. Lett.*, 2012, Vol. 142, no. 1-2, pp. 78-82.

17. Fu R., Jing C., Li X., Tan Z., Li H. Prognostic significance of serum PD-L1 level in patients with locally advanced or metastatic esophageal squamous cell carcinoma treated with combination cytotoxic chemotherapy. *Cancer Manag. Res.*, 2021, Vol. 13, pp. 4935-4946.
18. Geng H., Zhang G.M., Xiao H., Yuan Y., Li D., Zhang H., Qiu H., He Y.F., Feng Z.H. HSP70 vaccine in combination with gene therapy with plasmid DNA encoding sPD-1 overcomes immune resistance and suppresses the progression of pulmonary metastatic melanoma. *Int. J. Cancer.*, 2006, Vol. 118, no. 11, pp. 2657-2664.
19. Gu D., Ao X., Yang Y., Chen Z., Xu X. Soluble immune checkpoints in cancer: production, function and biological significance. *J. Immunother. Cancer*, 2018, Vol. 6, no. 1, 132. doi: 10.1186/s40425-018-0449-0
20. Guo X., Wang J., Jin J., Chen H., Zhen Z., Jiang W., Lin T., Huang H., Xia Z., Sun X. High serum level of soluble programmed death ligand 1 is associated with a poor prognosis in Hodgkin lymphoma. *Transl. Oncol.*, 2018, Vol. 11, no. 3, pp. 779-785.
21. Hassounah N., Malladi V.S., Huang Y., Freeman S.S., Beauchamp E.M., Koyama S., Souders N., Martin S., Dranoff G., Wong K.-K., Pedomallu C.S., Hammerman P.S. Identification and characterization of an alternative cancer-derived PD-L1 splice variant. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2019, Vol. 68, no. 3, pp. 407-420.
22. He X., Xu L.H., Liu Y. Identification of a novel splice variant of human PD-L1 mRNA encoding an isoform-lacking Igv-like domain. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2005, Vol. 26, no. 4, pp. 462-468.
23. Hira-Miyazawa M., Nakamura H., Hirai M., Kobayashi Y., Kitahara H., Bou-Gharios G., Kawashiri S.. Regulation of programmed-death ligand in the human head and neck squamous cell carcinoma microenvironment is mediated through matrix metalloproteinase-mediated proteolytic cleavage. *Int. J. Oncol.*, 2018, Vol. 52, no. 2, pp. 379-388.
24. Huang S., Lin H., Lin C.-W., Li C., Yao M., Tang J., Hou H., Tsay W., Chou S., Cheng C., Tien H. Soluble PD-L1: a biomarker to predict progression of autologous transplantation in patients with multiple myeloma. *Oncotarget*, 2016, Vol. 7, no. 38, pp. 62490-62502.
25. Incorvaia L., Badalamenti G., Rinaldi G., Iovanna J.L., Olive D., Swayden M., Terruso L., Vincenzi B., Fulfarò F., Bazan V., Russo A., Fanale D. Can the plasma PD-1 levels predict the presence and efficiency of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with metastatic melanoma? *Ther. Adv. Med. Oncol.*, 2019, Vol. 11, 1758835919848872. doi: 10.1177/1758835919848872.
26. Kalluri R., LeBleu V.S. The Biology, function, and biomedical applications of exosomes. *Science*, 2020, Vol. 367, no. 6478, eaau6977. doi: 10.1126/science.aau6977.
27. Keber C., Derigs M., Schultz C., Wegner M., Lingelbach S., Wischmann V., Hofmann R., Denkert C., Hegele A., Hânze J. Cellular and soluble immune checkpoint signaling forms PD-L1 and PD-1 in renal tumor tissue and in blood. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2022, Vol. 71, no. 10, pp. 2381-2389.
28. Keir M., Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu. Rev. Immunol.*, 2008, Vol. 26, pp. 677-704.
29. Kruger S., Legenstein M.L., Rösger V., Haas M., Modest D.P., Westphalen C.B., Ormanns S., Kirchner T., Heinemann V., Holdenrieder S., Boeck S. Serum levels of soluble programmed death protein 1 (sPD-1) and soluble programmed death ligand 1 (sPD-L1) in advanced pancreatic cancer. *OncolImmunology*, 2017, Vol. 6, no. 5, e1310358. doi: 10.1080/2162402X.2017.1310358.
30. Landeira-Viñuela A., Arias-Hidalgo C., Juanes-Velasco P., Alcoceba M., Navarro-Bailón A., Pedreira C., Lecrevisse Q., Díaz-Muñoz L., Sánchez-Santos J., Hernández A., García-Vaquero M., Góngora R., De Las Rivas J., González M., Orfao A., Fuentes M. Unravelling soluble immune checkpoints in chronic lymphocytic leukemia: Physiological immunomodulators or immune dysfunction. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 965905. doi: 10.3389/fimmu.2022.965905.
31. Larrinaga G., Solano-Iturri J., Errarte P., Unda M., Loizaga-Iriarte A., Pérez-Fernández A., Echevarría E., Asumendi A., Manini C., Angulo J.C., López J.I. Soluble PD-L1 is an independent prognostic factor in clear cell renal cell carcinoma. *Cancers (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 4, 667. doi: 10.3390/cancers13040667.
32. Li C., Li C., Zhi C., Liang W., Wang X., Chen X., Lv T., Shen Q., Song Y., Lin D., Liu H. Clinical significance of PD-L1 expression in serum-derived exosomes in NSCLC patients. *J. Transl. Med.*, 2019, Vol. 17, no. 1, 355. doi: 10.1186/s12967-019-2101-2.
33. Li J., Shi D., Wan X.C., Hu J., Su Y., Zeng Y., Hu Z., Yu B., Zhang Q., Wei P., Zhou X. Universal extracellular vesicles and PD-L1⁺ extracellular vesicles detected by single molecule array technology as circulating biomarkers for diffuse large B cell lymphoma. *OncolImmunology*, 2021, Vol. 10, no. 1, 1995166. doi: 10.1080/2162402x.2021.1995166.
34. Li N., Zhou Z., Li F., Sang J., Han Q., Lv Y., Zhao W., Li C., Liu Z. Circulating soluble programmed death-1 levels may differentiate immune-tolerant phase from other phases and hepatocellular carcinoma from other clinical diseases in chronic hepatitis B virus infection. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, no. 28, pp. 46020-46033.
35. Li W., Syed F., Yu R., Yang R., Xia Y., Relich R., Russell P., Zhang S., Khalili M., Huang L., Kacena M., Zheng X., Yu Q. Soluble immune checkpoints are dysregulated in COVID-19 and heavy alcohol users with HIV infection. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 833310. doi: 10.3389/fimmu.2022.833310.
36. Li Y., Xiao Y., Su M., Zhang R., Ding J., Hao X., Ma Y. Role of soluble programmed death-1 (sPD-1) and sPD-ligand 1 in patients with cystic echinococcosis. *Exp. Ther. Med.*, 2016, Vol. 11, no. 1, pp. 251-256.
37. Lux A., Kahlert C., Grützmann R., Pilarsky C. C-Met and PD-L1 on circulating exosomes as diagnostic and prognostic markers for pancreatic cancer. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 13, 3305. doi: 10.3390/ijms20133305.

38. Machiraju D., Wiecken M., Lang N., Hülsmeier I., Roth J., Schank T., Eurich R., Halama N., Enk A., Hassel J.C. Soluble immune checkpoints and T-cell subsets in blood as biomarkers for resistance to immunotherapy in melanoma patients. *OncoImmunology*, 2021, Vol. 10, no. 1, 1926762. doi: 10.1080/2162402X.2021.1926762.
39. Magistrelli G., Jeannin P., Herbault N., Benoit De Coignac A., Gauchat J.F., Bonnefoy J.Y., Delneste Y. A soluble form of CTLA-4 generated by alternative splicing is expressed by nonstimulated human T cells. *Eur. J. Immunol.*, 1999, Vol. 29, no. 11, pp. 3596-3602.
40. Mahoney K., Shukla S.A., Patsoukis N., Chaudhri A., Browne E.P., Arazi A., Eisenhaure T., Pendergraft 3rd W.F., Hua P., Pham H.C., Bu X., Zhu B., Hacohen N., Fritsch E.F., Boussiotis V.A., Wu C.J., Freeman G.J. A secreted PD-L1 splice variant that covalently dimerizes and mediates immunosuppression. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2019, Vol. 68, no. 3, pp. 421-432.
41. Malinga N., Siwele S., Steel H., Kwofie L., Meyer P., Smit T., Anderson R., Rapoport B., Kgekolo M. Systemic levels of the soluble co-inhibitory immune checkpoints, CTLA-4, LAG-3, PD-1/PD-L1 and TIM-3 are markedly increased in basal cell carcinoma. *Transl. Oncol.*, 2022, Vol. 19, 101384. doi: 10.1016/j.tranon.2022.101384.
42. Mazzarella L., Duso B.A., Trapani D., Belli C., D'Amico P., Ferraro E., Viale G., Curigliano G. The evolving landscape of 'next-generation' immune checkpoint inhibitors: A review. *Eur. J. Cancer*, 2019, Vol. 117, pp. 14-31.
43. Meyo T., Jouinot A., Giroux-Leprieur E., Fabre E., Wislez M., Alifano M., Leroy K., Boudou-Rouquette P., Tlemsani C., Khoudour N., Arrondeau J., Thomas-Schoemann A., Blons H., Mansuet-Lupo A., Damotte D., Vidal M., Goldwasser F., Alexandre J., Blanchet B. Predictive value of soluble PD-1, PD-L1, VEGFA, CD40 ligand and CD44 for nivolumab therapy in advanced non-small cell lung cancer: A case-control study. *Cancers (Basel)*, 2020, Vol. 12, no. 2, 473. doi: 10.3390/cancers12020473.
44. Mocan T., Ilies M., Nenu I., Craciun R., Horhat A., Susa R., Minciuna I., Rusu I., Mocan L.P., Seicean A., Iuga C., Hajjar N., Sparchez M., Leucuta D., Sparchez Z. Serum levels of soluble programmed death-ligand 1 (sPD-L1): A possible biomarker in predicting post-treatment outcomes in patients with early hepatocellular carcinoma. *Int. Immunopharmacol.*, 2021, Vol. 94, 107467. doi: 10.1016/j.intimp.2021.107467.
45. Morrissey S., Yan J. Exosomal PD-L1: Roles in tumor progression and immunotherapy. *Trends Cancer*, 2020, Vol. 6, no. 7, pp. 550-558.
46. Mortensen J., Hansen I.M., Clausen M.R., Bjerre M., Amore F. Elevated pre-therapeutic serum levels of soluble programmed death 1 protein (sPD-1) identify DLBCL patients with adverse prognostic features. *Blood*, 2017, Vol. 130, Suppl 1, 4148. doi: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.4148.4148.
47. Murakami S., Shibaki R., Matsumoto Y., Yoshida T., Goto Y., Kanda S., Horinouchi H., Fujiwara Y., Yamamoto N., Ohe Y. Association between serum level soluble programmed cell death ligand 1 and prognosis in patients with non-small cell lung cancer treated with anti-PD-1 antibody. *Thorac. Cancer*, 2020, Vol. 11, no. 12, pp. 3585-3595.
48. Ng K., Attig J., Young G.R., Ottina E., Papamichos S.I., Kotsianidis I., Kassiotis G. Soluble PD-L1 generated by endogenous retroelement exaptation is a receptor antagonist. *eLife*, 2019, Vol. 8, e50256. doi: 10.7554/eLife.50256.
49. Nielsen C., Ohm-Laursen L., Barington T., Husby S., Lillevang S.T. Alternative splice variants of the human PD-1 gene. *Cell. Immunol.*, 2005, Vol. 235, no. 2, pp. 109-116.
50. Niu M., Liu Y., Yi M., Jiao D., Wu K. Biological characteristics and clinical significance of soluble PD-1/PD-L1 and exosomal PD-L1 in cancer. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 827921. doi: 10.3389/fimmu.2022.827921.
51. Noubissi Nzeteu G., Schlichtner S., David S., Ruppenstein A., Fasler-Kan E., Raap U., Sumbayev V., Gibbs B., Meyer H. Macrophage differentiation and polarization regulate the release of the immune checkpoint protein V-Domain Ig suppressor of T Cell activation. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 837097. doi: 10.3389/fimmu.2022.837097.
52. Okuma Y., Wakui H., Utsumi H., Sagawa Y., Hosomi Y., Kuwano K., Homma S. Soluble programmed cell death ligand 1 as a novel biomarker for Nivolumab therapy for non-small-cell lung cancer. *Clin. Lung Cancer*, 2018, Vol. 19, no. 5, pp. 410-477.e1.
53. Okuyama M., Mezawa H., Kawai T., Urashima M. Elevated soluble PD-L1 in pregnant women's serum suppresses the immune reaction. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 86. doi: 10.3389/fimmu.2019.00086.
54. Ostrand-Rosenberg S., Horn L.A., Alvarez J.A. Novel strategies for inhibiting PD-1 pathway-mediated immune suppression while simultaneously delivering activating signals to tumor-reactive T cells. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2015, Vol. 64, no. 10, pp. 1287-1293.
55. Pawłowska A., Kwiatkowska A., Suszczyk D., Chudzik A., Tarkowski R., Barczyński B., Kotarski J., Wertel I. Clinical and prognostic value of antigen-presenting cells with PD-L1/PD-L2 expression in ovarian cancer patients. *Int. J. Mol. Sci.*, 2021, Vol. 22, no. 21, 11563. doi: 10.3390/ijms222111563.
56. Pegtel D., Gould S.J. Exosomes. *Annu. Rev. Biochem.*, 2019, Vol. 88, pp. 487-514.
57. Qiu H., Liu S., Xie C., Long J., Feng Z. Regulating immunity and inhibiting tumor growth by the recombinant peptide sPD-1-CH50. *Anticancer Res.*, 2009, Vol. 29, no. 12, pp. 5089-5094.
58. Qu S., Jiao Z., Lu G., Yao B., Wang T., Rong W., Xu J., Fan T., Sun X., Yang R., Wang J., Yao Y., Xu G., Yan X., Wang T., Liang H., Zen K. PD-L1 lncRNA splice isoform promotes lung adenocarcinoma progression via enhancing c-Myc activity. *Genome Biol.*, 2021, Vol. 22, no. 1, 104. doi: 10.1186/s13059-021-02331-0.
59. Rapoport B., Steel H., Smit T., Heyman L., Theron A., Hlatswayo N., Kwofie L., Jooste L., Benn C., Nayler S., Anderson R. Dysregulation of soluble immune checkpoint proteins in newly diagnosed early breast cancer patients. *Ann. Oncol.*, 2020, Vol. 31, Suppl. 5, 1228. doi: 10.1016/j.annonc.2020.08.2196.

60. Riva A., Adams H., Patel V., Azarian S., Wright G., Tarff S., Katzarov K., Simonova M., Hadzhiolova T., Pavlova S., Williams R., Evans A., Chokshi S. The TIM3-Gal9 immune checkpoint axis is inter-linked with severity of alcoholic liver disease. *J. Hepatol.*, 2018, Vol. 68, pp. S810-S811.
61. Riva A., Chokshi S. Immune checkpoint receptors: homeostatic regulators of immunity. *Hepatol. Int.*, 2018, Vol. 12, no 3, pp. 223-236.
62. Riva A., Palma E., Devshi D., Corrigall D., Adams H., Heaton N., Menon K., Preziosi M., Zamalloa A., Mique R., Ryan J., Wright G., Fairclough S., Evans A., Shawcross D., Schierwagen R., Klein S., Uschner F., Praktijnjo M., Katzarov K., Hadzhiolova T., Pavlova S., Simonova M., Trebicka J., Williams R., Chokshi S. Soluble TIM3 and its ligands galectin-9 and CEACAM1 are in disequilibrium during alcohol-related liver disease and promote impairment of anti-bacterial immunity. *Front. Physiol.*, 2021, Vol. 12, 632502. doi: 10.3389/fphys.2021.632502.
63. Riva A. Editorial: Soluble immune checkpoints: Novel physiological immunomodulators. *Front. Immunol.*, 2023, Vol. 14, 1178541. doi: 10.3389/fimmu.2023.1178541.
64. Roemer M., Redd R.A., Cader F.Z., Pak C.J., Abdelrahman S., Ouyang J., Sasse S., Younes A., Fanale M., Santoro A., Zinzani P.L., Timmerman J., Collins G.P., Ramchandren R., Cohen J.B., De Boer J.P., Kuruvilla J., Savage K., Trneny M., Ansell S., Kato K., Farsaci B., Sumbul A., Armand P., Neuberg D., Pinkus G.S., Ligon A.H., Rodig S.J., Shipp M.A. Major histocompatibility complex class II and programmed death ligand 1 expression predict outcome after programmed death 1 blockade in classic Hodgkin lymphoma. *J. Clin. Oncol.*, 2018, Vol. 36, no. 10, pp. 942-950.
65. Romero Y., Wise R., Zolkiewska A. Proteolytic processing of PD-L1 by ADAM proteases in breast cancer cells. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2020, Vol. 69, no. 1, pp. 43-55.
66. Rossille D., Gressier M., Damotte D., Maucourt-Boulch D., Pangault C., Semana G., Le Gouill S., Haioun C., Tarte K., Lamy T., Milpied N., Fest T. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial. *Leukemia*, 2014, Vol. 28, no. 12, pp. 2367-2375.
67. Ruan Y., Hu W., Li W., Lu H., Gu H., Zhang Y., Zhu S., Chen Q. Analysis of plasma EBV-DNA and soluble checkpoint proteins in nasopharyngeal carcinoma patients after definitive intensity-modulated radiotherapy. *Biomed Res. Int.*, 2019, Vol. 2019, 3939720. doi: 10.1155/2019/3939720
68. Shin K., Kim J., Park S., Lee M., Park J., Choi M., Kang D., Song K., Seo H., Lee S., Kim B., Kim O., Park J., Kang N., Kim I. Prognostic value of soluble PD-L1 and exosomal PD-L1 in advanced gastric cancer patients receiving systemic chemotherapy. *Sci. Rep.* 2023, Vol. 13, no. 1, 6952. doi: 10.1038/s41598-023-33128-9.
69. Song M., Park S., Nam H., Choi D., Sung Y. Enhancement of vaccine-induced primary and memory CD8(+) T-cell responses by soluble PD-1. *J. Immunother.*, 2011, Vol. 34, no. 3, pp. 297-306.
70. Sorensen S., Demuth C., Weber B., Sorensen B.S., Meldgaard P. Increase in soluble PD-1 is associated with prolonged survival in patients with advanced EGFR-mutated non-small cell lung cancer treated with erlotinib. *Lung Cancer*, 2016, Vol. 100, pp. 77-84.
71. Spiotto M., Fu Y.X., Weichselbaum R.R. The intersection of radiotherapy and immunotherapy: mechanisms and clinical implications. *Sci. Immunol.*, 2016, Vol. 1, no. 3, EAAG1266. doi: 10.1126/sciimmunol.aag1266.
72. Srivastava R., Trivedi S., Concha-Benavente F., Hyun-Bae J., Wang L., Seethala R.R., Branstetter 4th B.F., Ferrone S., Ferris R.L. STAT1-induced HLA class I upregulation enhances immunogenicity and clinical response to anti-EGFR mAb cetuximab therapy in HNC patients. *Cancer Immunol. Res.*, 2015, Vol. 3, no. 8, pp. 936-945.
73. Tarhoni I., Fhied C., Gerard D., Borgia J. Multiplexed evaluation of soluble immune-checkpoint molecules in sera from metastatic NSCLC patients receiving immunotherapy. Available at: <https://www.oxfordglobal.co.uk/wp-content/uploads/2023/03/Merck-Millipore-Multiplexed-Evaluation-of-Soluble-Immune-Checkpoint-Molecules>.
74. Vajavaara H., Mortensen J., Leivonen S., Hansen I., Ludvigsen M., Holte H., Jørgensen J., Bjerre M., d'Amore F., Leppä S. Soluble PD-1 but not PD-L1 levels predict poor outcome in patients with high-risk diffuse large B-cell lymphoma. *Cancers (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 3, 398. doi: 10.3390/cancers13030398.
75. Vikerfors A., Davidsson S., Frey J., Jerlström T., Carlsson J. Soluble PD-L1 in serum and urine in urinary bladder cancer patients. *Cancers (Basel)*, 2021, Vol. 13, no. 22, 5841. doi: 10.3390/cancers13225841.
76. Vivarelli S., Falzone L., Torino F., Scandurra G., Russo G., Bordonaro R., Russo G., Bordonaro R., Pappalardo F., Spandidos D., Raciti G., Libra M. Immune-checkpoint inhibitors from cancer to COVID-19: A promising avenue for the treatment of patients with COVID-19 (Review). *Int. J. Oncol.*, 2021, Vol. 58, no. 2, pp. 145-157.
77. Wang J., Zhang H., Sun X., Wang X., Ren T., Huang Y., Zhang R., Zheng B., Guo W. Exosomal PD-L1 and N-cadherin predict pulmonary metastasis progression for osteosarcoma patients. *J. Nanobiotechnol.*, 2020, Vol. 18, no. 1, 151. doi: 10.1186/s12951-020-00710-6.
78. Wang L., Wang H., Chen H., Wang W., Chen X., Geng Q., Xia Z., Lu Y. Serum levels of soluble programmed death ligand 1 predict treatment response and progression free survival in multiple myeloma. *Oncotarget*, 2015, Vol. 6, no. 38, pp. 41228-41236.
79. Wang Q., He1 Y., Li W., Xu X., Hu Q., Bian Z., Xu A., Tu H., Wu M., Wu X. Soluble immune checkpoint-related proteins in blood are associated with invasion and progression in non-small cell lung cancer. *Front. Immunol.*, 2022, Vol. 13, 887916. doi: 10.3389/fimmu.2022.887916.
80. Ward F., Dahal L., Khanolkar R., Shankar S., Barker R. Targeting the alternatively spliced soluble isoform of CTLA-4: prospects for immunotherapy? *Immunotherapy*, 2014, Vol. 6, no. 10, pp. 1073-1084. doi: 10.2217/imt.14.73.

81. Yasinska I., Meyer H., Schlichtner S., Hussain R., Siligardi G., Casely-Hayford M., Fiedler W., Wellbrock J., Desmet C., Calzolari L., Varani L., Berger S., Raap U., Gibbs B., Fasler-Kan E., Sumbayev E. Ligand-receptor interactions of Galectin-9 and VISTA suppress human T lymphocyte cytotoxic activity. *Front. Immunol.*, 2020, Vol. 11, 580557. doi: 10.3389/fimmu.2020.580557.
82. Yin Z., Yu M., Ma T., Zhang C., Huang S., Karimzadeh M.R., Momtazi-Borojeni A.A., Chen S. Mechanisms underlying low-clinical responses to PD-1/PD-L1 blocking antibodies in immunotherapy of cancer: A key role of exosomal PD-L1. *J. Immunother. Cancer*, 2021, Vol. 9, no. 1, e001698. doi: 10.1136/jitc-2020-001698
83. Ying H., Zhang X., Duan Y., Lao M., Xu J., Yang H., Liang T., Bai X. Non-cytomembrane PD-L1: an atypical target for cancer. *Pharmacol. Res.*, 2021, Vol. 170, 105741. doi: 10.1016/j.phrs.2021.105741.
84. Zeng Z., Shi F., Zhou L., Zhang M., Chen Y., Chang X., Lu Y., Bai W., Qu J., Wang C., Wang H., Lou M., Wang F., Lv J., Yang Y. Upregulation of circulating PD-L1/PD-1 is associated with poor post-cryoablation prognosis in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma. *PLoS One*, 2011, Vol. 6, no. 9, e23621. doi: 10.1371/journal.pone.0023621.
85. Zhang P., Ouyang S., Wang J., Huang Z., Wang J., Liao L. Levels of programmed death-1 and programmed death ligand-1 in the peripheral blood of patients with oral squamous cell carcinoma and its clinical implications. *West China J. Stomatology*, 2015, Vol. 33, no. 5, pp. 529-533.
86. Zheng Z., Bu Z., Liu X., Zhang L., Li Z., Wu A., Wu X., Cheng X., Xing X., Du H., Wang X., Hu Y., Ji J. Level of circulating PD-L1 expression in patients with advanced gastric cancer and its clinical implications. *Chin. J. Cancer Res.*, 2014, Vol. 26, no. 1, pp. 104-111.
87. Zhou J., Mahoney K., Giobbie-Hurder A., Zhao F., Lee S., Liao X., Rodig S., Li J., Wu X., Butterfield L., Piesche M., Manos M., Eastman L., Dranoff G., Freeman G., Hodi F. Soluble PD-L1 as a biomarker in malignant melanoma treated with checkpoint blockade. *Cancer Immunol. Res.*, 2017, Vol. 5, no. 6, pp. 480-492.

Авторы:

Глазанова Т.В. — д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Павлова И.Е. — д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Authors:

Glazanova T.V., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Laboratory of Immunology, Russian Research Institute of Haematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Pavlova I.E., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Laboratory of Immunology, Russian Research Institute of Haematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Кузьмич Е.В. — к.м.н., ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Россия

Бубнова Л.Н. — д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории иммунологии ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии Федерального медико-биологического агентства»; профессор кафедры иммунологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Kuzmich E.V., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Immunology, Russian Research Institute of Haematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Bubnova L.N., PhD, MD (Medicine), Professor, Honored Scientist of the Russian Federation, Chief Research Associate, Laboratory of Immunology, Russian Research Institute of Haematology and Transfusiology, Federal Medical and Biological Agency; Professor, Department of Immunology, First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Поступила 29.02.2024
Принята к печати 17.03.2024

Received 29.02.2024
Accepted 17.03.2024