

© Четверяков А.В., Цепелев В.Л., 2023

УДК 616-092.9

Четверяков А.В., Цепелев В.Л.

Концентрация ко-ингибирующих иммунных контрольных точек и их лигандов в крови у пациентов с опухолью толстой кишки

ФГБОУ ВО «Читинская государственная медицинская академия» Минздрава России,
672000, Чита, Россия, Горького ул., д. 39а

Введение. Опухолевые клетки способны модулировать иммунный ответ используя ко-ингибирующие иммунные контрольные точки, что позволяет им «ускользнуть» от иммунного надзора. **Цель** – определение уровня ко-ингибирующих иммунных контрольных точек (CTLA-4, TIM-3, LAG-3, PD-1) и их лигандов (B7-2, Galectin-9, PD-L1) в сыворотке крови у пациентов с опухолью толстой кишки.

Методика. Под наблюдением находились 44 больных с колоректальным раком, 25 – с доброкачественной опухолью толстой кишки и 25 – контрольная группа (пациенты, которым выполняли пластику колостомы, сформированной ранее по поводу травмы толстой кишки). Уровень ко-ингибирующих иммунных контрольных точек (CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3) и их лигандов (B7-2, Galectin-9, PD-L1) определяли в крови методом проточной цитофлуометрии на анализаторе CytoFlex LX (Beckman Coulter, США), используя набор для мультиплексного анализа LEGENDplex™ HU (Immune Checkpoint, США).

Результаты. Установлено, что у больных с раком толстой кишки в крови уровень ко-ингибирующих иммунных контрольных точек (TIM-3, CTLA-4, LAG-3) выше, чем в группе контроля. Уровень белка TIM-3 увеличивается в 11,7 раза ($p < 0,001$), CTLA-4 – в 2,77 раза ($p < 0,001$), LAG-3 – в 2,42 раза ($p = 0,02$). Также у пациентов с колоректальным раком концентрация TIM-3 превышала аналогичный показатель больных с доброкачественной опухолью толстой кишки в 7,1 раза ($p < 0,001$), LAG-3 в 2,4 ($p = 0,01$) раза. У больных со злокачественным новообразованием толстой кишки уровень лиганда TIM-3 (Galectin-9) превышал показатель группы контроля в 33,3 раза ($p < 0,001$), а лиганда CTLA-4 (B7-2) – в 2,51 раза ($p = 0,002$).

Заключение. Увеличение уровня CTLA-4, TIM-3, LAG-3 и их лигандов – B7-2 и Galectin-9 свидетельствует об участии данных ко-ингибирующих молекул в патогенезе колоректального рака. Установлена диагностическая значимость исследования уровня CTLA-4 и его лиганда B7-2 в выявлении онкологической патологии.

Ключевые слова: колоректальный рак; иммунные контрольные точки; TIM-3; CTLA-4; LAG-3

Для цитирования: Четверяков А.В., Цепелев В.Л. Концентрация ко-ингибирующих иммунных контрольных точек и их лигандов у пациентов с опухолью толстой кишки. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2023; 67(1): 56-62.

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.01.56-62

Участие авторов: концепция дизайна исследования – Цепелев В.Л., Четверяков А.В.; сбор материала, анализ и интерпретация данных – Четверяков А.В., Цепелев В.Л.; статистическая обработка данных, подготовка иллюстративного материала, написание текста – Четверяков А.В.; редактирование текста – Цепелев В.Л.; обсуждение окончательной версии статьи – Цепелев В.Л., Четверяков А.В. Утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – все авторы.
Для корреспонденции: Четверяков Андрей Валерьевич, e-mail: yasnogorsk94@gmail.com

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 24.10.2022

Принята к печати 26.01.2023

Опубликована 17.03.2023

Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L.

Concentration of co-inhibiting immune checkpoints and their ligands in blood of patients with colon tumor

Chita State Medical Academy,
Gorky St. 39a, Chita, 672000, Russian Federation

Tumor cells can modulate the immune response using co-inhibiting immune checkpoints, which allows them to “escape” from immunity. **The aim** of this study was to measure concentrations of co-inhibiting immune checkpoints (CTLA-4, TIM-3, LAG-3, PD-1) and their ligands (B7-2, Galectin-9, PD-L1) in blood serum of patients with colon tumor.

Methods. The study included 44 patients with colorectal cancer, 25 patients with benign colon tumors, and 25 patients of the control group (patients after plastic surgery for colostomy that had been formed earlier due to colon injury). Blood concentrations of co-inhibiting immune checkpoints (CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3) and their ligands (B7-2, Galectin-9, PD-L1) were measured by flow cytometry with a CytoFlex LX analyzer (Beckman Coulter, USA) using a LEGENDplex™ HU multiplex analysis kit (Immune Checkpoint, USA).

Results. In patients with colon cancer, the serum concentrations of co-inhibiting immune checkpoints (TIM-3, CTLA-4, LAG-3) were higher than in the control group. The level of TIM-3 protein increased by 11.7 times ($p < 0.001$), CTLA-4 by 2.77 times ($p < 0.001$), and LAG-3 by 2.42 times ($p = 0.02$). Also, in patients with colorectal cancer, the concentration of TIM-3 exceeded the value in patients with benign colon tumor by 7.1 times ($p < 0.001$) and LAG-3 by 2.4 ($p = 0.01$) times. In patients with malignant colon neoplasm, the level of TIM-3 ligand (Galectin-9) was higher than in the control group by 33.3 times ($p < 0.001$) and the level of CTLA-4 ligand (B7-2) by 2.51 times ($p = 0.002$).

Conclusion. The increases in CTLA-4, TIM-3, LAG-3, and their ligands B7-2 and Galectin-9 indicate the participation of these co-inhibiting molecules in the pathogenesis of colorectal cancer. When analyzing the data, we identified parameters that may be essential in a diagnostic model for determining the probability of oncological pathology.

Keywords: colorectal cancer; immune checkpoints; TIM-3; CTLA-4; LAG-3

For citation: Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L. Concentration of co-inhibiting immune checkpoints and their ligands in blood serum in patients with colon tumor. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2023; 67(1): 56-62. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2023.01.56-62

Author's contribution: concept design the study – Tsepelev V.L., Chetveryakov A.V.; collection material, analysis and interpretation of data – Chetveryakov A.V., Tsepelev V.L.; statistical processing, preparation illustrative material, writing the text – Chetveryakov A.V.; editing the text, discussion of the article final version – Tsepelev V.L., Chetveryakov A.V. Approval the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all authors

For correspondence: **Andrey V. Chetveryakov**, postgraduate student of the Department of Hospital Surgery of FSBEI VO CHMA, surgeon of Regional Oncologic Dispensary Chita, e-mail: yasnogorsk94@gmail.com

Information about the authors:

Chetveryakov A.V., <https://orcid.org/0000-0002-8472-107X>

Tsepelev V.L., <https://orcid.org/0000-0002-2166-5154>

Financing. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received 24.10.2022

Accepted 26.01.2023

Published 17.03.2023

Введение

Колоректальный рак (КРР) является одной из ведущих причин смертности у онкологических больных во всем мире [1, 2]. Несмотря на комплексное лечение КРР, прогноз для жизни пациентов остается неблагоприятным [3]. Для улучшения показателей выживаемости ведется изучение новых видов лечения, в особенности иммунотерапии [4]. Основным направлением последнего является блокирование иммунных контрольных точек [5]. Иммунные контрольные точки (immune control points, ИКТ) являются регуляторами иммунного ответа, предотвращают развитие гиперреактивности иммунной системы и повреждение собственных тканевых структур [6]. Злокачественные клетки используют ИКТ для «ускользания» от иммунного надзора, что способствует росту и развитию рака [7]. Основными ко-ингибирующими ИКТ, посредством которых опухоль угнетает иммунный ответ, являются белки TIM-3, CTLA-4, LAG-3, PD-1. Цитотоксический Т-лимфоцитарно-ассоциированный бе-

лок (Cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4, CTLA-4, CD152) – это трансмембранный гликопротеин, который экспрессируется преимущественно на поверхности CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Лигандами для CTLA-4 является B7-1 (CD80) и B7-2 (CD86) [8]. Белок запрограммированной клеточной гибели (Programmed cell death-1, PD-1, CD279) мембранный рецептор, его роль заключается в регулировании Т-клеточного ответа путем угнетения эффекторных функций Т-лимфоцитов (цитотоксичность, секреция цитокинов) и их пролиферации [9]. Для реализации своих функций PD-1 взаимодействует со своими лигандами PD-L1 (Programmed cell death ligand 1, B7-H1, CD274) и PD-L2 (Programmed cell death ligand 2, B7-DC, CD273) [9]. Белок TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain 3) является трансмембранным белком I типа, функция которого заключается в снижении иммунного ответа путем истощения CD8⁺Т-лимфоцитов. Основным лигандом TIM-3 является Galectin-9 [10]. Ген активации лимфо-

цитов-3 (Lymphocyte-activation gene 3, LAG-3, CD223) — это мембранный белок суперсемейства иммуноглобулинов. Основная функция LAG-3 заключается в подавлении активности Т-лимфоцитов и снижении секреции цитокинов [11]. Для взаимодействия с этими ко-ингибирующими молекулами опухоль способна продуцировать их лиганды на своей поверхности. Высокий уровень белка CTLA-4, TIM-3, PD-1 и LAG-3 отмечался в ткани опухоли у пациентов с раком легкого, щитовидной железы, желудка, молочной железы, при меланоме и других локализациях [12, 13, 14]. В сыворотке крови также отмечается высокая концентрация растворимой формы ко-ингибирующих ИКТ при злокачественных новообразованиях различной локализации [11]. В исследовании Ghorbaninezhad (2022) у больных с раком молочной железы, отмечалось увеличение уровня CTLA-4 в сыворотке крови в 7 раз в сравнении с контрольной группой. В ткани опухоли исследуемый белок также превышал показатели группы контроля [8].

Целью нашего исследования стало изучение уровня ко-ингибирующих иммунных контрольных точек (CTLA-4, TIM-3, LAG-3, PD-1) и их лигандов (B7-2, Galectin-9, PD-L1) в сыворотке крови у пациентов с доброкачественными и злокачественными новообразованиями толстого кишечника.

Методика

Под наблюдением находилось 44 больных с колоректальным раком, 25 — с доброкачественной опухолью толстой кишки, 25 — контрольная группа (пациенты, которым выполняли пластику колостомы, сформированной ранее по поводу травмы толстой кишки). При гистологическом исследовании у пациентов с колоректальным раком в 39 случаях (88,6%) ткань опухоли была представлена умереннодифференцированной аденокарциномой (G2). В 3-х случаях (6,8%) — высокодифференцированной аденокарциномой (G1). В 2-х случаях (4,6%) — низкодифференцированной аденокарциномой (G3). У 6 пациентов диагностирована I стадия процесса, у 24 — II стадия, у 8 — III стадия и у 6 — IV стадия.

Все больные были обследованы в соответствии с клиническими рекомендациями общероссийского национального союза «Ассоциация онкологов России» для пациентов со злокачественными новообразованиями ободочной кишки и ректосигмоидного отдела. В каждом случае получено информированное добровольное согласие пациента. Исследование выполнено согласно требованиям комиссии по этике ФГБОУ ВО Читинской государственной медицинской акаде-

мии Минздрава России, а также в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации всемирной медицинской ассоциации (2013). Критерии включения в исследование: согласие пациента на участие в исследовании, наличие опухоли толстого кишечника. Критерии исключения: пациенты с положительным ВИЧ-статусом; аутоиммунными заболеваниями; вирусными и бактериальными инфекциями; больные, проходившие курс химиотерапевтического или лучевого лечения перед оперативным пособием. Уровень растворимой формы исследуемых иммунных контрольных точек (CTLA-4, PD-1, TIM-3, LAG-3) и их лигандов (B7-2, Galectin-9, PD-L1) определяли в сыворотке крови. Забор осуществляли в утренние часы, за два часа до выполнения оперативного пособия. Концентрацию исследуемых ИКТ в крови определяли методом проточной цитофлуометрии на анализаторе CytoFlex LX (Beckman Coulter, США), используя набор для мультиплексного анализа LEGENDplex™ HU (Immune Checkpoint, США).

При проведении статистического анализа руководствовались принципами Международного комитета редакторов медицинских журналов (ICMJE) и рекомендациями «Статистический анализ и методы публикуемой литературе» (SAMPL) [15, 16]. Номинальные данные описывали с указанием абсолютных и относительных значений. Сравнение номинальных данных исследования проводили при помощи критерия χ^2 Пирсона [15]. Нормальность распределения количественных признаков при численности исследуемых групп менее 50 человек оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка. Ранговый анализ вариаций проводили по Краскелу—Уоллису (H). Затем, при наличии статистически значимых различий, с учетом поправки Бонферрони, проводили попарное сравнение с помощью критерия Манна—Уитни (U) [16]. Диагностическая модель была построена путем бинарной логистической регрессии. Для установления ценности указанной модели использовался ROC-анализ, что позволило оценить чувствительность, специфичность и точность модели. Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США). Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с помощью пакета программ IBM SPSS Statistics Version 25.0 (International Business Machines Corporation, США).

Результаты

Установлено, что у больных с раком толстой кишки в сыворотке крови уровень TIM-3 увеличивается в 11,7

раза в сравнении с группой контроля ($U=23,0, p<0,001$), белка CTLA-4 – в 2,7 раза ($U=119,0, p<0,001$), LAG-3 – в 2,4 раза ($U=273,5, p=0,02$). Достоверных изменений уровня PD-1 в сыворотке крови у больных с колоректальным раком выявлено не было. У пациентов с КРР по сравнению с группой больных доброкачественными новообразованиями толстого кишечника концентрация TIM-3 была выше в 7,1 раза ($U=59,0, p<0,001$), LAG-3 – в 2,4 раза ($U=266,0, p=0,01$). Достоверных различий уровня CTLA-4 больных со злокачественными и доброкачественными новообразованиями толстой кишки не обнаружено (табл. 1).

В результате проведенных исследований установлено, что уровень лиганда TIM-3 (Galectin-9) в сыворотке крови у пациентов с КРР превышал данный показатель группы контроля в 33,3 раза

($U=0,0, p<0,001$), лиганда CTLA-4 (B7-2) – в 2,5 раза ($U=302,5, p=0,002$). Концентрация Galectin-9 у пациентов с КРР по отношению к группе больных доброкачественной опухолью толстой кишки была выше в 4,4 раза ($U=46,0, p<0,001$). Уровень B7-2 в сыворотке крови у больных со злокачественными и доброкачественными новообразованиями толстого кишечника статистически значимых различий не имеет. В отношении лиганда PD-L1 между исследуемыми группами статистически значимых различий выявлено не было (табл. 2).

Установлена заметная корреляционная связь между уровнем белка CTLA-4 и лигандом B7-2 в сыворотке крови ($\rho=0,57, p<0,01$). Концентрация TIM-3 сыворотки крови коррелирует с уровнем его лиганда Galectin-9 в сыворотке крови ($\rho=0,68, p<0,001$).

Таблица 1. Уровень ко-ингибирующих иммунных контрольных точек в сыворотке крови у больных с опухолью толстой кишки

Table 1. Co-inhibiting immune control points level in the blood serum of patients with colon tumor

Концентрация в сыворотке крови (пг/мл)/Serum concentration (pg/ml)	Группы исследуемых пациентов/Study patient groups			Тестовая статистика/Test statistics df=2
	Контрольная группа/control group n=25	Доброкачественная опухоль/Benign tumor, n=25	Колоректальный рак/Colorectal cancer, n=44	
CTLA-4	4,88 [4,38; 6,22]	10,48 [10,30; 14,50]	13,50 [13,07; 20,80]	H=34,26 p<0,001
TIM-3	58,0 [55,8; 72,8]	95,6 [88,3; 164,2]	677,1 [663,8; 854,1]	H=61,94 p<0,001
PD-1	10,9 [10,6; 13,0]	18,0 [17,6; 23,5]	20,5 [18,6; 27,4]	H=5,52 p=0,06
LAG-3	15,0 [14,5; 20,8]	15,2 [15,1; 23,4]	36,3 [35,1; 49,7]	H=9,3 p=0,009

Таблица 2. Уровень лигандов ко-ингибирующих иммунных контрольных точек в сыворотке крови у пациентов с опухолью толстой кишки

Table 2. Ligands of co-inhibiting immune control points level in the blood serum of patients with colon tumor

Концентрация в сыворотке крови (пг/мл)/Serum concentrations (pg/ml)	Группы исследуемых пациентов/Study patient groups			Тестовая статистика/Test statistics df=2
	Контрольная группа/control group n=25	Доброкачественная опухоль/Benign tumor n=25	Колоректальный рак/Colorectal cancer, n=44	
B7-2	33,00 [30,08; 40,11]	79,00 [78,68; 97,46]	82,93 [76,70; 113,26]	H=23,08 p<0,001
Galectin-9	1789,1 [1742,6; 2091,9]	13527,1 [12988,3; 14902,9]	59528,6 [55839,2; 66722,0]	H=75,88 p<0,001
PD-L1	23,2 [22,1; 27,5]	25,9 [24,1; 33,7]	27,9 [27,5; 40,1]	H=0,17 p=0,92

При анализе данных определены параметры, которые могут иметь значимость в структуре диагностической модели для определения вероятности наличия онкологической патологии (табл. 3).

На основании этих параметров получено уравнение вида:

$$K = \frac{1}{1 + e^{3,25 - 0,42 * CTLA4_{сыв} - 0,03 * B7-2_{сыв}}}$$

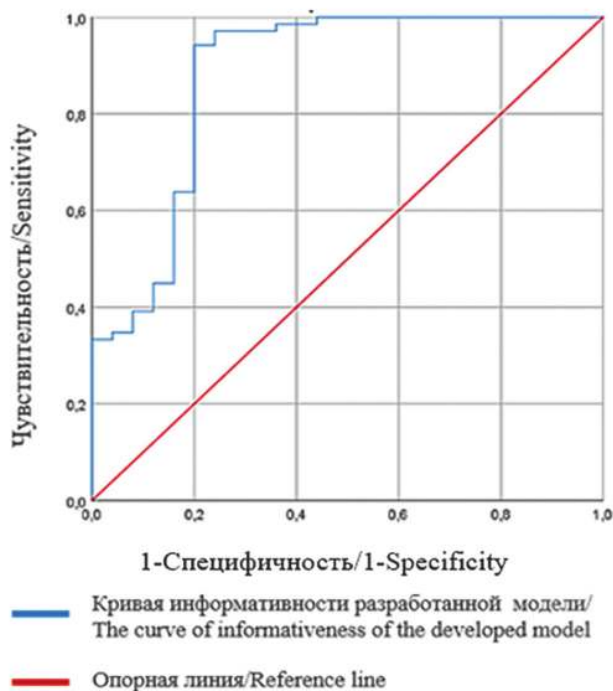
где: CTLA-4_{сыв} – уровень белка CTLA-4 в сыворотке крови; B7-2_{сыв} – уровень B7-2 в сыворотке

крови; 3,25 – константа уровня логистической регрессии; 0,42 и 0,03 – нестандартизированные коэффициенты B, e-экспонента ~ 2,72.

При значении коэффициента $K \geq 0,59$ диагностируется развитие онкологической патологии толстого кишечника. Для группы контроля данный показатель (K) составляет 0,40 [0,36; 0,50], для пациентов с онкологической патологией – 0,86 [0,82; 0,87]. В группе контроля $K \geq 0,59$ встречалось в 20% случаев (5/25), у больных онкологической патологией – в 94,2% (65/69) случаев ($\chi^2 = 53,14$, $df = 1$, $p < 0,001$). Чувствительность данного заключения составляет 0,94, специфичность – 0,80, точность – 0,90 (AUC = 0,88 [95% CI 0,79-0,97], $p < 0,001$).

Оценка информативности разработанной модели представлена на рисунке.

Описанный способ можно использовать у пациентов для определения вероятности наличия онкологической патологии толстого кишечника. Для упрощения способа при использовании в клинической практике разработана программа для операционной системы Windows в среде разработки Object Pascal (Borland Delphi). Набор действий создается в специальном режиме работы пользовательского окна, в котором пользователь получает доступ к вводу данных об уровне в сыворотке крови цитотоксического Т-лимфоцитарно-ассоциированного белка 4 (CTLA-4, пг/мл) и его лиганда B7-2 (B7-2, пг/мл) у пациентов с жалобами на функциональные расстройства кишечника. Программа носит прикладной характер, обеспечивает возможность определения вероятности онкологической патологии толстого кишечника, что позволяет выделить группу риска и оптимизировать тактику их обследования и лечения.



Оценка информативности разработанной модели путем ROC-анализа. Evaluation of the informativeness of the developed model by ROC analysis.

Обсуждение

Нами установлено, что в сыворотке крови у пациентов с колоректальным раком наблюдается увеличение уровня ко-ингибирующих контрольных точек (TIM-3, LAG-3, CTLA-4) и их лигандов (B7-2, Galec-

Таблица 3. Значимость параметров CTLA-4 и B7.2 в структуре диагностической модели

Table 3. Significance of CTLA-4 and B7.2 parameters in the structure of the diagnostic model

Параметр/Parameter	B	Среднеквадратичная ошибка/Quare Error	Вальд	Степень свободы ErrorSquare df	Значимость Significance, p	Exp (B)	95% DI для Exp B
CTLA-4 сыворотки крови/of blood serum	0,42	0,132	9,98	1	0,002	1,52	1,17-1,96
B7-2 сыворотки крови/of blood serum	0,03	0,013	3,78	1	0,05	1,03	1,01-1,05
Константа/Constanta	-3,25	0,968	11,28	1	0,001	0,04	

tin-9). Кроме того, были установлены корреляционные связи между исследуемыми молекулами в сыворотке крови и ткани опухоли. Стоит отметить, что увеличение концентрации TIM-3, LAG-3 и Galectin-9 отмечалось у больных с доброкачественной опухолью толстой кишки. Увеличение уровня ко-ингибирующих иммунных контрольных точек в сыворотке крови у пациентов с КРР свидетельствует о развитии системного снижения иммунного ответа, что способствует росту и развитию злокачественного новообразования. Наиболее вероятная причина повышения концентрации растворимых форм контрольных точек иммунитета в кровотоке, является миграция из опухолевого микроокружения, а также с поверхности различных иммунных клеток. Мы полагаем, что исследуемые ИКТ являются важнейшим звеном канцерогенеза при колоректальном раке. Иммунные контрольные точки реализуют свои эффекты посредством регуляторных Т-клеток (Treg), которые выполняют функцию ингибиторов иммунного ответа [17]. В настоящее время доказано, что LAG-3 способствует дифференцировке регуляторных Т-клеток (Treg), а белок CTLA-4 повышает функциональную активность последних [18, 19]. Белок CTLA-4 блокирует активацию антигенпрезентирующих клеток (АПК), макрофагов и дендритных клеток, а также нарушает пролиферацию цитотоксических Т-лимфоцитов (cytotoxic T-cell, CTL), которые играют основную роль в сдерживании роста и развития опухоли [18]. Следует уделить внимание факту высокой экспрессии LAG-3 на различных опухоль-инфильтрирующих лимфоцитах (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs). Роль LAG-3 в патогенезе развития злокачественного новообразования обусловлена взаимодействием вышеуказанной молекулы с МНС-II, подавлением сигнала TCR, что приводит к нарушению пролиферации Т-клеток и секреции цитокинов. Высокая экспрессия LAG-3 на TILs обнаружена при меланоме, раке молочной железы, колоректальном раке, особенно в случаях агрессивного течения процесса, раннего метастазирования и отсутствия периода ремиссии заболевания [20].

Особое внимание следует уделить CD8⁺Т-клеткам, которые в свою очередь включают в себя популяцию цитотоксических лимфоцитов. Цитотоксические лимфоциты участвуют в уничтожении клеток-мишеней, которыми являются клетки рака. Выявлена статистически значимая корреляция экспрессии TIM-3 на CD4⁺Т-клетках с клинико-морфологическими особенностями опухоли (стадия, размер опухоли, лимфогенное и гематогенное метастазирование) [21]. Повышенная экспрессия TIM-3 на иммунных клетках отмечалась при раке лёгкого, щитовидной железы, молочной железы, эндометрия и раке

других локализаций [21, 22]. Мембранный белок TIM-3 регулирует иммунный ответ и играет прямую роль в патогенезе роста и прогрессирования злокачественного новообразования [21]. Молекула TIM-3 взаимодействует со своим лигандом (Galectin-9), который находится на поверхности опухолевых клеток, что приводит к снижению продукции цитокинов и истощению Т-клеток [21]. Роль исследуемых ИКТ в механизмах «ускользания» злокачественных клеток от иммунного надзора при колоректальном раке заслуживает дальнейшего изучения.

Результаты наших исследований уровня ко-ингибирующих ИКТ у больных с колоректальным раком могут стать основанием для применения комбинированной таргетной терапии направленной на блокирование соответствующих ИКТ моноклональными антителами. В настоящее время особое внимание уделяется изучению двойного блокирования ко-ингибирующих контрольных точек, например, LAG-3/TIM-3 [23]. Эффективность такого способа заключается в предупреждении развития устойчивости опухолевой клетки и поиску другого патогенного пути для ингибирования иммунного ответа.

Полученные нами данные в отношении белка CTLA-4 и его лиганда В7-2 позволили создать диагностическую модель в виде программы для операционной системы Windows. Программа обеспечивает возможность ввода значений белка CTLA-4 и В7-2 в сыворотке крови, на основании этого происходит определение вероятности онкологической патологии толстого кишечника, что позволяет выделить группу риска и оптимизировать тактику обследования и лечения пациентов [URL: <https://new.fips.ru/ofpstorage/Doc/PrEVM/RUNWPR/000/002/022/613/721/2022613721-00001/document.pdf>].

Заключение

Увеличение уровня CTLA-4, TIM-3, LAG-3 и их лигандов – В7-2 и Galectin-9 свидетельствует об участии данных ко-ингибирующих молекул в патогенезе колоректального рака. Установлена диагностическая значимость исследования уровня CTLA-4 и его лиганда в выявлении онкологической патологии.

Литература

(п.п. 1-14; 17-23 см. References)

15. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа качественных признаков в биомедицинских исследованиях с помощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2020; 1: 151-63.
16. Мудров В.А. Алгоритмы статистического анализа количественных признаков в биомедицинских исследованиях с по-

мощью пакета программ SPSS. *Забайкальский медицинский вестник*. 2013; 1: 140-50.

References

- Cao M., Isaac R., Yan W., Ruan X. Cancer-cell-secreted extracellular vesicles suppress insulin secretion through miR-122 to impair systemic glucose homeostasis and contribute to tumour growth. *Nature Cell Biology*. 2022; 1(2): 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41556-022-00919-7>
- Richards J., Chambers T., Hales S., Joy M. Nitrate contamination in drinking water and colorectal cancer: Exposure assessment and estimated health burden in New Zealand. *Environmental Research*. 2022; 14: 112322. doi: 10.1016/j.envres.2021.112322
- Sung H. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021; 71(3): 209-49. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- Kalyan A. Updates on immunotherapy for colorectal cancer. *Journal of gastrointestinal oncology*. 2018; 9(1): 160. <https://doi.org/10.21037/jgo.2018.01.17>
- Xie Y. H., Chen Y. X., Fang J.Y. Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer. *Signal transduction and targeted therapy*. 2020; 5(1): 1-30. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-0116-z>
- Reticker-Flynn N.E. Lymph node colonization induces tumor-immune tolerance to promote distant metastasis. *Cell*. 2022; 185(11): 1924-42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.04.019>
- Al-Mterin M.A. Associations of different immune checkpoints-expressing CD4+ Treg/T cell subsets with disease-free survival in colorectal cancer patients. *BMC cancer*. 2022; 22(1): 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12885-022-09710-1>
- Ghorbaninezhad F., Masoumi J., Bakhshvand M., Baghbanzadeh A. CTLA-4 silencing in dendritic cells loaded with colorectal cancer cell lysate improves autologous T-cell responses in vitro. *Front Immunol*. 2022; 1(13):931316. doi: 10.3389/fimmu.2022.931316
- Li X., Zhou X., Liu J., Zhang J., Feng Y., Wang F. Liposomal Co-delivery of PD-L1 siRNA/Anemoside B4 for Enhanced Combinational Immunotherapeutic Effect. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2022; 14(25): 28439-54. <https://doi.org/10.1021/acsami.2c01123>
- Joller N., Kuchroo K. Tim-3, Lag-3, and TIGIT. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017; 410: 127-56. <https://doi.org/10.1007/82.2017.62>
- Liao X. A Review of emerging biomarkers for immune checkpoint inhibitors in tumors of the gastrointestinal tract. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2022; 28: 935348-1. <https://doi.org/10.12659/MSM.935348>
- Wu J., Sun Y., Li J., Ai M., You L., Shi J., Yu F. Analysis of prognostic alternative splicing reveals the landscape of immune microenvironment in thyroid cancer. *Front Oncol*. 2021; 18(11): 763886. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.763886>
- Ju M.H., Byun K.D., Park E.H., Lee J.H., Han S.H. Association of Galectin 9 expression with immune cell infiltration, programmed cell death ligand-1 expression and patient's clinical outcome in triple-negative breast cancer. *Biomedicines*. 2021; 9(10): 1383. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9101383>
- Cao W., Ma X., Fischer J.V., Sun C., Kong B., Zhang Q. Immunotherapy in endometrial cancer: rationale, practice and perspectives. *Biomark Res*. 2021; 9(1): 49. <https://doi.org/10.1186/s40364-021-00301-z>
- Mudrov V.A. Algorithms for statistical analysis of qualitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaikalskiy meditsinskiy vestnik*. 2020; 1: 151-63. (in Russian)
- Mudrov V.A. Algorithms for statistical analysis of quantitative features in biomedical research using the SPSS software package. *Zabaikalskiy meditsinskiy vestnik*. 2020; 1: 140-50. (in Russian)
- O'Donnell J.S., Teng M.W.L., Smyth M.J. Cancer immunoediting and resistance to T cell-based immunotherapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol*. 2019; 16(3): 151-67. <https://doi.org/10.1038/s41571-018-0142-8>
- Bagbudar S., Karanlik H., Cabioglu N., Bayram A., Ibis K., Aydin E., Yavuz E., Onder S. Prognostic implications of immune infiltrates in the breast cancer microenvironment: the role of expressions of CTLA-4, PD-1, and LAG-3. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2022; 30(2): 99-107.
- Toor S. M. Immune checkpoints in circulating and tumor-infiltrating CD4+ T cell subsets in colorectal cancer patients. *Frontiers in immunology*. 2019; 10: 2936. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02936>
- Guo X.J., Lu J.C., Zeng H.Y., Zhou R., Sun Q.M., Yang G.H., et al. CTLA-4 synergizes with PD1/PD-L1 in the Inhibitory tumor microenvironment of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Front Immunol*. 2021; 12: 705378. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.705378>
- Ahmed S., Shaikh F. Increased Tim-3 and Gal-9 expression are related to poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. 2022; <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1418045/v1>
- Peng Y.A comprehensive profiling of soluble immune checkpoints from the sera of patients with non-small cell lung cancer. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2022; 36(2):24224. <https://doi.org/10.1002/jcla.24224>
- Li J., Wang J. Serum t cell immunoglobulin mucin 3 predicts worse prognosis in hepatocellular carcinoma patients undergoing transcatheter arterial chemoembolization. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2022; 28: 935326-1.

Сведения об авторах:

Четверяков Андрей Валерьевич, аспирант каф. госпитальной хирургии ФГБОУ ВО ЧГМА, врач-хирург Краевого Онкологического Диспансера г. Чита, e-mail: yasnogorsk94@gmail.com;

Целев Виктор Львович, доктор мед. наук, проф., зав. каф. госпитальной хирургии ФГБОУ ВО ЧГМА, e-mail: viktorsepelev@mail.ru