

Plaučių vėžio imunologiniai mechanizmai

IMMUNOLOGICAL MECHANISMS OF LUNG CANCER

VYTAUTAS ANKUDAVIČIUS¹, BRIGITA ŠITKAUSKIENĖ², MARIUS ŽEMAITIS¹

¹LSMU MA Pulmonologijos klinika, ²LSMU MA Imunologijos ir alergologijos klinika

Santrauka. Pastaruoju metu viena labiausiai tyrinėjamų plaučių vėžio vystymosi sričių – tai imuninė sistema. Pakitę imuninės sistemos gynybos mechanizmai ir mikroaplinka sukuria palankias sąlygas atsirasti navikinėms ląstelėms. Svarbus dėmesys tenka ir užsitęsusiems audinių atitaisymo procesams, pakitusiai audinių mikroaplinkai, kuri keičia imuninių ląstelių aktyvaciją, skatina genetinių pažeidimų atsiradimą ir navikogenezę.

Reikšminiai žodžiai: plaučių vėžys, mikroaplinka, imuninė sistema, programuotos ląstelių žūties baltymas (PD-1), programuotos ląstelių žūties baltymo ligandas (PD-L1).

Summary. Recently, one of the most studied areas for the development of lung cancer is the immune system. Altered immune defence mechanisms and the microenvironment create favourable conditions for the development of tumour cells. Prolonged tissue repair processes, altered tissue microenvironment, which alters immune cell activation, promotes genetic damage and initiates tumorigenesis also receive important attention.

Keywords: lung cancer, microenvironment, immune system, programmed cell death protein-1 (PD-1), programmed cell death ligand-1 (PD-L1).

IVADAS

Plaučių vėžys – tai viena labiausiai paplitusių ir dažniausiai mirtį sąlygojančių onkologinių ligų visame pasaulyje. Pasaulio Sveikatos Organizacijos (PSO) duomenimis, 2018 m. nuo plaučių vėžio mirė apie 1,8 mln. mūsų planetos gyventojų – tai sudaro beveik 19 proc. visų mirčių nuo vėžio atvejų [1]. Lietuvoje mirštamumo nuo plaučių vėžio rodikliai taip pat išlieka aukšti. 2018 m. Higienos instituto duomenimis, Lietuvoje registruota beveik 1250 mirčių atvejų nuo plaučių vėžio [2]. Prognozuojama, kad 2035 m. mirčių skaičius nuo plaučių vėžio visame pasaulyje išaugs iki 3 mln. atvejų per metus [3].

Nesmulkiųjų ląstelių plaučių vėžys (NSLPV) – tai dažniausia plaučių vėžio forma, nustatoma apie 85 proc. visų atvejų [3]. Per pastarąjį dešimtmetį mokslininkai didelį dėmesį skyrė imuninės sistemos ir navikų vystymosi mechanizmams tyrinėti. Susilpnėję imuninės sistemos gynybos veiksniai siejami su vėžio išsivystymu. Vyravo nuomonė, kad plaučių vėžys yra mažai imunogeniškas, nes, klinikinių tyrimų duomenimis, skiriant gydymą nespecifiniais imunoterapijos metodais, tokiais kaip skiepai BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) skiepai nuo tuberkuliozės mikobaterijų, citokinių terapija interleukinu 2 (IL-2) bei interferonu, pacientų išgyvenamumo rodikliai nepagerėjo [4]. Ištyrus somatinių mutacijų dažnį ir atradus imuninės sistemos kontrolės taškus (CTLA4, PD-L1 ir kt.), pasikeitė ir plaučių vėžio gydymo samprata [5].

CITOTOKSINIAI CD8+T LIMFOCITAI

Citotoksiniai CD8+T limfocitai yra būtini tiesiogiai naikinant patogenus ir transformuojant ląsteles. Fizio-

loginėmis sąlygomis nesubrendę CD8+T limfocitai cirkuliuoja kraujotakos sistemoje. Veikiant T limfocitų receptoriui per MHC (angl. *major histocompatibility complex*) kompleksą, jie aktyvuojami ir diferencijuojasi į citotoksinius T limfocitus. Šios efektorinės CD8+T ląstelės jungiasi prie antigeną ekspresuojančių ląstelių – taikinių ir išskiria citotoksinius – perforiną ir granzimą B (GZMB), kurie sukelia ląstelių žūtį. Subrendusių citotoksinių CD8+T limfocitų buvimas naviko regione neužtikrina visiško naviko ląstelių sunaikinimo dėl nuolatinės naviko ir CD8+T limfocitų sąveikos. Pavyzdžiui, CD8+T limfocitai, ekspresuojantys CD103, žinomi kaip prognostinis pacientų išgyvenamumo žymuo, sergant plaučių, kiaušidžių ir šlapimo pūslės vėžiu, tačiau klinikinėje praktikoje naudojamas retai [6, 7].

Efektoriniai CD8+T limfocitai gali žūti apoptozės ir nekrozės būdais po ilgalaikio antigeno poveikio. Tai vienas iš imuninės sistemos apsaugos mechanizmų, kuris padeda išvengti imuninės sistemos klaidos tikimybės. Navikinės ląstelės yra išmokusios „pergudrauti“ imuninę sistemą ir išvengti apsaugos mechanizmų poveikio: ląstelės, turinčios įgimtą genetinį nestabilumą, generuoja naujus, dar imuninei sistemai nepažįstamus antigenus. Užsitęsusi T limfocitų ekspozicija su antigenu skatina naujų signalinių kelių aktyvaciją ir biologškai aktyvių molekulių išsiskyrimą, pavyzdžiui, CTLA-4 (angl. *T-lymphocyte-associated antigen 4*) ir programuotos ląstelių žūties baltymo (PD-1). CTLA-4 jungiasi su CD28 ir taip slopina T limfocitų aktyvaciją. Taip pakinta T limfocitų aktyvacijos slenkstis ir mažai imunogeniški antigenai, pvz., navikinės ląstelės, negali sukelti adekvačios T limfocitų aktyvacijos. Kita ver-

Moksliniai darbai ir apžvalgos

tus, sąveika tarp PD-1 ir programuotos ląstelių žūties baltymo ligando 1/2 (PD-L1/2) slopina efektorinę T limfocitų funkciją ir skatina jų apoptozę [7, 8].

Svarbus dėmesys turėtų būti skiriamas ir ląstelių metabolizmui bei energijos šaltinių paieškai. Norėdami greitai daugintis, aktyvuoti CD8+T limfocitai energijos gavybai naudoja aerobinę glikolizę. Navikinės ląstelės taip pat dažniausiai naudoja šį metabolizmo būdą energijai gauti ir taip konkuruoja su CD8+T limfocitais dėl to paties energijos šaltinio – gliukozės. Naviko mikroaplinka, pasižyminti gliukozės stygiumi, slopinamai veikia fosfopiruvato kinazę, kuri per Ca²⁺ veikia T limfocitus ir sukelia jų aktyvumo sumažėjimą. Taip pat dėl gliukozės stygiaus CD8+T limfocitai blogiau atlieka savo funkcijas ir silpniau reaguoja į uždegimą. Naviko mikroaplinkoje vykstanti aerobinė glikolizė sukuria hipoksinę, daug nuodingų metabolitų turinčią terpę. Dėl pieno rūgšties kaupimosi mikroaplinkoje sukuriamas rūgštis terpė, kuri taip pat blogina T limfocitų receptorių raišką ir slopina jų funkcijas [9].

MAKROFAGŲ RŪŠYS

Makrofagai yra imuninės ląstelės, kurios ne tik atlieka svarbią funkciją, dalyvaudamos imuniniame atsake prieš svetimą organizmą ląsteles, bakterijas ir virusus, bet tarpininkauja ir audinių atitaisymo procesuose. Makrofagai – tai labai plastiškos ląstelės, galinčios atlikti įvairias funkcijas, priklausomai nuo jų fenotipo ir mikroaplinkos. Išskiriami du pagrindiniai makrofagų fenotipai – M1 ir M2. M1 makrofagai skatina imuninį atsaką ir taip kovoja prieš infekciją sąlygojusį veiksnį. M1 fenotipo makrofagai yra antigeną pateikiančios ląstelės, pasižyminčios gausia priešuždegiminių citokinų gamyba ir imuniteto aktyvumu. M2 fenotipo makrofagai sunaikina žvūsius ląsteles, skatina angiogenezę, audinių remodeliaciją ir atitaisymą, todėl, pakitus įprastinėms sąlygoms, gali skatinti naviko vystymąsi. M2 fenotipo makrofagai reguliuoja imuninį atsaką per antrinius tarpininkus, išskirdami biologiškai aktyvias medžiagas, pavyzdžiui, interleukinus (IL) ir citokinus. IL-4 skatina nesubrendusių T limfocitų diferenciaciją į T limfocitus pagalbininkus (Th2), kurie savo ruožtu išskiria IL-4, IL-13 ir taip slopina įprastą makrofagų aktyvavimo kelią. Taip sukuriamas neigiamas grįžtamojo ryšio principas. M2 fenotipo makrofagai pagal genų ekspresijos profilius skirstomi į M2a, M2b ir M2c pogrupius, tačiau jų atliekamos funkcijos žmogaus organizme dar nepakankamai ištirtos. Makrofagų diferenciacija į M1 arba M2 fenotipą priklauso nuo organizmo mikroaplinkos signalų tarp ląstelių. Signalinių kelių pokyčiai lemia makrofagų paviršinių receptorių transformaciją ir atliekamų funkcijų pokyčius [10].

Makrofagai labai plastiškos ląstelės, kurios prisitaisiusios atlikti daugelį funkcijų. Bakterinės infekcijos metu makrofagai migruoja į antigeno patekimo vietą. Ten aktyvuojami M1 fenotipo makrofagai, pašalina-

mos bakterijos ir toliau aktyvinama imuninio atsako kaskada. Vėliau aktyvuojami M2 fenotipo makrofagai, kurie sukelia priešuždegiminį ir atitaisomąjį poveikį. Dažniausiai žaizdų atitaisymas įvyksta laiku, tačiau, užsitęsęs gijimui, toliau tęsiasi uždegiminis procesas, kuris ir sukuria palankią mikroaplinką įvykti navikinei transformacijai [11, 12].

Makrofagai sudaro didžiąją dalį uždegiminio infiltrato navikiniame audinyje. Su naviku susiję makrofagai (angl. *tumor associated macrophages*, TAM) rodo uždegiminės aktyvacijos tęstinumą fiziologijų procesų visumoje. Daugelio vėžio atveju TAM radimas siejamas su blogesne ligos prognoze. Navikiniame infiltrate vyraujant M2 fenotipo makrofagams, išskiriamos biologiškai aktyvios medžiagos, kurios aktyvina angiogenezę, slopina imuninį atsaką ir taip skatina naviko išgyvenimą, progresavimą bei plitimą. M1 fenotipo makrofagai navikinį audinį infiltruoja rečiau, tačiau šių makrofagų radimas navikiniame infiltrate siejamas su geresne onkologinės ligos gydymo ir išgyvenamumo prognoze [13]. Makrofagų fenotipas navikiniame infiltrate priklauso nuo naviko mikroaplinkos ir genetinių veiksnių visumos. Idealiu atveju yra nusistovėjusi pusiausvyra tarp šių veiksnių, tačiau jai sutrikus, skatinama navikogenezė [13, 14].

Atlikus nuodugnius tyrimus su imuninėmis ląstelėmis sergantiems NSLPV pacientams, pastebėta gausesnė makrofagų infiltracija navikiniame plaučių audinyje, lyginant su kontroline grupe. Be to, gausesnė M1 ir M2 makrofagų infiltracija buvo rūkančiųjų navikiniame audinyje, lyginant su nerūkusiųjų. Atlikus makrofagų fenotipavimą, pastebėtas skirtingas jų pasiskirstymas navikiniame audinyje priklausomai nuo morfologinio plaučių vėžio tipo. Nustatyta, kad M1 makrofagų buvo žymiai daugiau adenokarcinomos salelėse, palyginus su plokščiųjų ląstelių karcinoma. Pacientams, sergantiems į limfmazgius išplitusiu NSLPV, M1 makrofagai vyravo naviko stromoje, lyginant pacientus, kuriems nebuvo išplitimo į limfmazgius. Išanalizavus bendrą M2 makrofagų skaičių, paaiškėjo, kad jie buvo dažniau aptikti NSLPV su silpna diferenciacija nei vidutinio arba gerai diferencijuoto NSLPV atveju. Nerasta jokio ryšio tarp bendrų naviką infiltruojančių M1 ir M2 makrofagų, taip pat M1 ir M2 makrofagų navikų salelėse arba stromoje bei jų kiekio tarp pacientų lyties, amžiaus, lėtinės obstrukcinės plaučių ligos (LOPL) sunkumo [15].

UŽDEGIMO VAIDMUO ONKOGENEZĖJE

Uždegimas yra normalus ir dažniausiai organizmui naudingas fiziologinis procesas, atsirandantis infekcijos ir žaizdų gijimo metu. Užsitęsęs imuniniam atsakui ir uždegimui tapus lėtiniu, jis tampa žalingas organizmui. Rūkymas, nutukimas, virusinės ligos didina lėtinio uždegimo riziką ir skatina LOPL, cukrinio diabeto ir vėžio

vystymąsi. Uždegimas yra susijęs su visomis naviko formavimosi stadijomis: nuo naviko formavimosi ir transformacijos iki invazijos bei metastazavimo [16, 17].

Lėtinės uždegiminės ligos, tokios kaip plaučių tuberkuliozė, didina plaučių vėžio tikimybę. Lėtinio uždegimo fone susiformavę navikai dažnai būna infiltruoti leukocitais (dominuoja makrofagai), biologiškai aktyviomis medžiagomis: citokinais, chemokinais, augimo veiksniais ir matriksą ardančiais fermentais. M1 fenotipo makrofagai turi įtakos naviko formavimuisi per išskiriamus aktyvius deguonies radikalus (angl. *reactive oxygen species*, ROS) ir tarpinius azoto produktus, kurie indukuoja deoksiribonukleorūgštis (DNR) pažeidimus ląstelėse. Reaguojant į ląstelių pažeidimą, yra sintetinami uždegiminiai citokinai, kurie sąlygoja ląstelių atitaisymo skatinimą. Nepaisant to, šie citokinai gali dar labiau skatinti naviko atsiradimą, slopindami pagrindinius fermentus, apsaugančius DNR nuo žalojančių veiksnių įtakos. Vykstant minėtiems procesams, pažeidžiamas genomo stabilumas ir skatinamas naviko susiformavimas [6, 18].

Manoma, kad infekcijos metu organizme vykstantys imuniniai procesai blogina vėžiu sergančių pacientų būklę ir taip sąlygoja apie 20 proc. mirčių atvejų pasaulyje. Navikai dažniausiai formuojasi tose srityse, kur vyksta lėtinis uždegimas. Jo metu randama leukocitų infiltracija, citokinių, chemokinių, augimo veiksnių ir tarpląstelinę matriksą ardančių fermentų išsiskyrimas. Naviką infiltruojantys leukocitai gali sąlygoti naviko augimą slopinamąjį arba skatinamąjį poveikį, priklausomai nuo naviką infiltravusių imuninių ląstelių tipo ir naviko mikroaplinkos. Dažniausiai naviką infiltruojantys imuninės sistemos elementai: dendritinės ląstelės, T limfocitai ir makrofagai. Makrofagai sudaro didžiąją dalį imuninio infiltrato navikuose ir sukelia skirtingą poveikį naviko formavimuisi, priklausomai nuo jų fenotipo ir mikroaplinkos sąlygų (1 pav.). Tikslūs uždegimo mechanizmai, kurie skatina vėžio vystymąsi, nėra visiškai aiškūs, tačiau šiuo metu daugiausiai tyrinėjamos dvi tarpusavyje susijusios hipotezės. Pirmoji – genetiniai pokyčiai, kurie sąlygoja vėžio vystymąsi, antroji – uždegiminės būklės, kurios didina vėžio riziką [18]. Šiuo atveju svarbus vaidmuo tenka ir lėtiniam neinfekciniam uždegimui, kurio metu padidėja imuninių ląstelių kiekis ir aktyvacija. Neutrofilai, makrofagai ir limfocitai išskiria biologiškai aktyvias medžiagas: citokinus, chemokinus, proteazes. Esant šių medžiagų hiperprodukcijai, sutrikdoma homeostazė, o tai sąlygoja ląstelių ir audinių sisteminius pokyčius. Užsitęsęs lėtinis neinfekcinis uždegimas yra susijęs su didesne plaučių vėžio rizika, gydymo veiksmingumu bei prognoze. Nuodugnesni apatinių kvėpavimo takų sekreto, periferinio kraujo ląstelių sudėties bei uždegimo žymenų tyrimai gali suteikti informatyvesnių žinių apie plaučių vėžio patogenezę [19].

NEUTROFILAI

Neutrofilai sudaro didžiąsą dalį žmogaus kraujyje cirkuliuojančių leukocitų. Tai yra įgimtos imuninės ląstelės, dalyvaujančios pirminėje gynybos linijoje, kovojant su infekcija sukėlusiu veiksniu [20]. Imuninio atsako metu aktyvuoti neutrofilai išskiria ne tik citokinus ir chemokinus, kurie skatina imuninę atsaką bei kitų imuninių ląstelių migraciją į infekcijos židinį, bet ir proteinazes, kurios pažeidžia aplinkinius audinius. Su naviku susiję neutrofilai (angl. *tumor-associated neutrophils*, TAN) skirstomi į atskirus fenotipus [21]:

- N1 tipo neutrofilai pasižymi labiau išreikštu priešūždegiminiu ir priešnavikiniu veikimu,
- N2 neutrofilai pasižymi naviko progresavimą ir metastazavimą skatinančiu poveikiu. Jie skatina angiogenezę, išskirdami kraujagyslių endotelio augimo veiksnius (angl. *vascular endothelial growth factors*, VEGF) ir slopina arginazės-1 ekspresiją, dėl to sumažėja citotoksinių T limfocitų poveikis prieš navikines ląsteles.

Neutrofilai dalyvauja daugelyje naviko formavimosi etapų, įskaitant naviko vystymosi skatinimą, proliferaciją ir metastazavimą. Neutrofilai išskiria aktyvius deguonies ir azoto junginius, kurie normaliomis fiziologinėmis sąlygomis naikina mikroorganizmus ir navikines ląsteles. Esant nepakankamam neutrofilų poveikiui, jų išskirti junginiai netiesiogiai sąlygoja navikinių ląstelių augimą dėl DNR pažeidimo ir genotoksinio poveikio. Su naviku susiję neutrofilai taip pat išskiria ir vandenilio peroksido junginius, kurie pažeidžia T limfocitus ir taip slopina imuninę atsaką prieš navikines ląsteles. Vandensilio peroksidas slopina T limfocitų citokinių gamybą ir mažina T limfocitų receptoriaus zeta grandinės ekspresiją. Tyrimai parodė, kad aktyvūs deguonies junginiai gali sukelti CD8+T limfocitų nitrinimo reakcijas, kurios pakeičia T limfocitų paviršinių receptorių konfigūraciją. Dėl to prie CD8+T limfocitų negali prisijungti specifinis MHC dimeras. Dėl šios priežasties susilpnėja T limfocitų atliekama gynybinė funkcija ir navikinės ląstelės gali lengviau daugintis bei plisti [6, 22].

B LIMFOCITAI

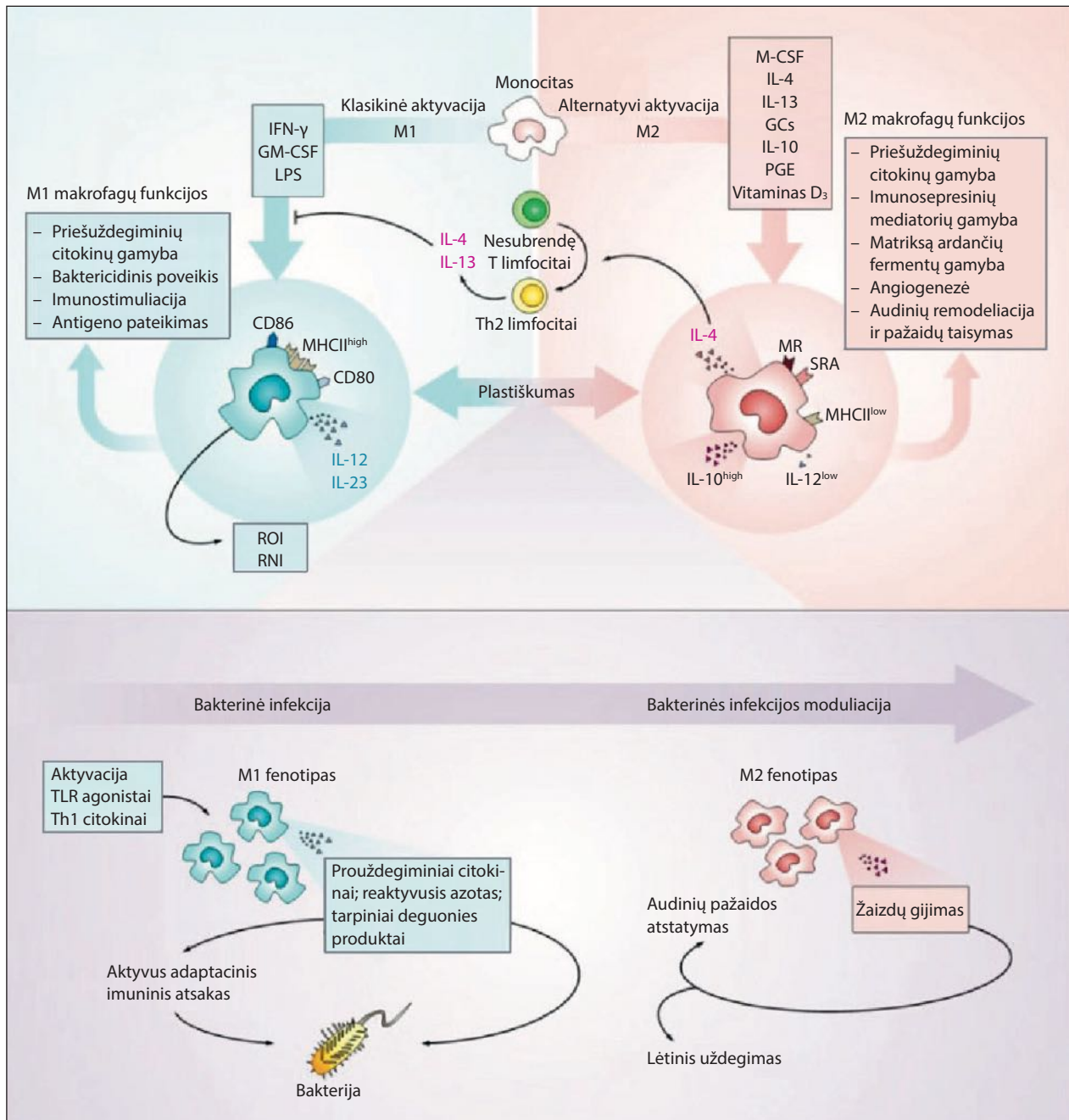
B ląstelės turi naviko augimą slopinančių ir aktyvinančių mechanizmų, todėl, atsižvelgiant į jų potipius, galima teigti, kad B limfocitai atlieka gan svarbų vaidmenį vėžio patogenezėje.

Naviko mikroaplinkoje imuninės ląstelės sudaro nevienalytę populiaciją. Dėl padidėjusių priešūždegiminių mediatorių, tokių kaip tumoro augimo veiksnio ir IL-10 sekrecijos, B limfocitai gali reguliuoti imuninius mechanizmus – slopinti autoimunines ir uždegimines reakcijas. Naviko mikroaplinką infiltravę B limfocitai slopina efektorinių T limfocitų ir natūralių žudikių (angl. *natural killers*, NK) ląstelių atliekamas funkcijas, skatina imuninių kontrolės taškų (PD-L1) raišką. Taip

Moksliniai darbai ir apžvalgos

pat B limfocitai dalyvauja susidarant citotoksiniams CD8+ ir CD4+ limfocitams (angl. *cytotoxic CD8+ T cells and CD4+ regulatory T cells*, Tregs). Mokslinių tyrimų duomenimis, B limfocitai ir TAM gali skatinti M2 fenotipo makrofagus aktyvinti fosfatidilinozitolio 3-kinazę (angl. *phosphatidylinositol-3-kinase*, PI3K) ir taip skatinti naviko progresavimą [23, 24]. Tačiau yra

ir B limfocitų potipių, kurie gali sukelti priešnavikinį poveikį, veikdami kaip antigenus pateikiančios ląstelės ir taip prisideda prie navikus infiltruojančių T limfocitų išgyvenimo ir proliferacijos. B limfocitų sunaikinimas ir išsekimas sunkina CD4+T limfocitų aktyvaciją ir gamybą. Optimalus antigenui specifinių T limfocitų aktyvavimas galimas tik dalyvaujant B limfocitams.



1 pav. Makrofagų fenotipai ir jų atliekamos funkcijos (modifikuota pagal EM. Conway ir kt., 2016) [18]

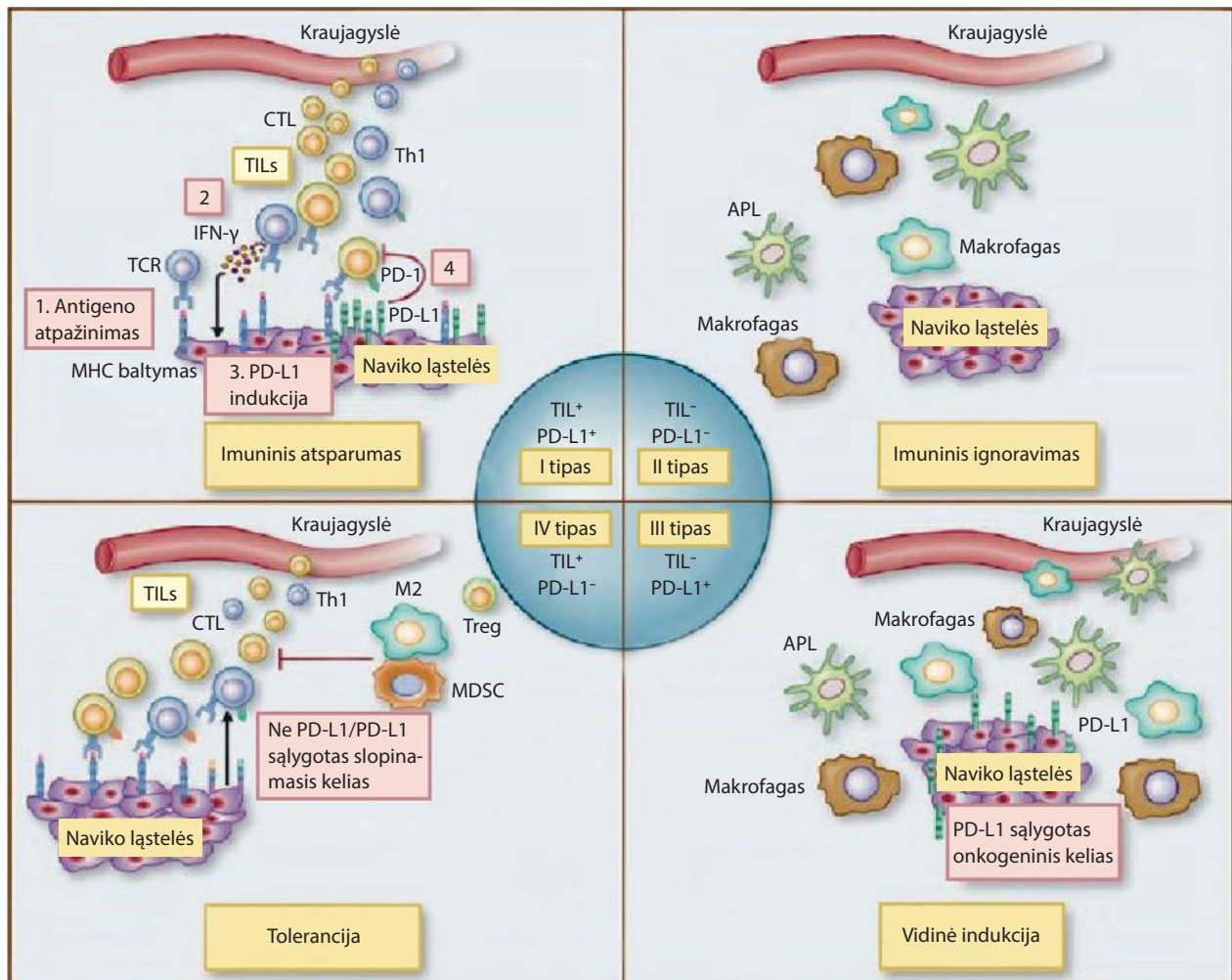
Santrumpos: CD (angl. *cluster of differentiation*) – kraujo ląstelių imunofenotipas; GM-CSF (angl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) – granulocitų-makrofagų kolonijas stimuliuojantis vienetasis; IFN- γ (angl. *interferon gamma*) – interferonas γ ; IL (angl. *interleukin*) – interleukinas; LPS (angl. *lipopolysaccharide*) – lipopolisacharidas; M-CSF (angl. *macrophage colony-stimulating factor*) – makrofagų kolonijas stimuliuojantis vienetasis; MHCII (angl. *major histocompatibility complex*) – pagrindinis audinių suderinamumo kompleksas; MR (angl. *mannose receptor*) – manozės receptorius; M1, M2 – makrofagų fenotipai; PGE (angl. *prostaglandin*) – prostaglandinai; RNI (angl. *reactive nitrogen intermediates*) – aktyvus azoto radikalai; ROI (angl. *reactive oxygen intermediates*) – aktyvūs deguonies radikalai; SRA (angl. *scavenger receptor*) – B klasės I tipo receptorius-surinkėjas; Th1 (angl. *T-helper type 1 cell*) – T limfocitų pagalbininkų 1 tipas; TLR (angl. *Toll-like receptor*) – transmembraninis atpažinimo receptorius.

Naviką infiltravusių B limfocitų buvimas naviko mikroaplinkoje yra susijęs su geresne NSLPV gydymo ir pacientų išgyvenamumo prognoze [24]. Išsamūs tyrimai parodė B limfocitų citotoksišką potencialą. Aktyvuoti B limfocitai, jungdamiesi prie citozino ir guanino nukleotidų (CpG) DNR metilinimo salelių, gali sunaikinti navikines ląsteles per Apo2 ligandams (angl. *tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*, *Apo2 ligand*, TRAIL/Apo-2L) priklausomus mechanizmus [25].

PD1 IR PD-L1

PD-1 yra 1 tipo transmembraninis baltymas, kurį koduoja *PDCD1* genas. Šis genas yra CD28/CTLA-4 imunoglobulino šeimos narys ir koduoja vieną svarbiausių slopinančių receptorių, esančių T limfocitų paviršiuje. PD-1 struktūra sudaryta iš tarpląstelinio IgV domeno, hidrofobinės membranos ir intraląstelinio

domeno. PD-1 ekspresuojamas ant T ir B limfocitų, monocitų, NK limfocitų, dendritinių ląstelių ir naviką infiltruojančių limfocitų (angl. *tumor infiltrating lymphocytes*, TIL). PD-1 turi du ligandus: PD-L1 (dar vadinamą B7-H1; CD274) ir PD-L2 (dar vadinamą B7-DC; CD273), kurie yra koinhibitoriai. PD-L1 ekspresuojamas ant T ir B limfocitų, dendritinių ląstelių, makrofagų, kraujagyslių endotelio ląstelių ir kasos salelės ląstelių. PD-L1 aptinkamas įvairių rūšių vėžinėse ląstelėse, tačiau labiausiai išreikštas esant NSLPV, melanomai, inkstų karcinomai, skrandžio vėžiui, hepatoceliulinei karcinomai, dauginėi mielomai, limfomai [26]. PD-L1 raišką indukuoja uždegimo mediatorių molekulės, įskaitant I ir II tipo interferoną (IFN) γ , TNF- α , lipopolisacharidus (angl. *lipopolysaccharide*, LPS), granulocitų-monocitų kolonijas stimuliuojantį veiksnį (angl. *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*, GM-CSF) ir VEGF, taip pat citokinai



2 pav. Naviko mikroaplinkos potipiai, atsižvelgiant į TILs pasiskirstymą ir PD-L1 raišką (modifikuota pagal MW. Teng ir kt., 2015) [35]

Santrumpos: APL – antigeną pateikianti ląstelė; MDSC – mieloidinės kilmės supresinės ląstelės; M2 – M2 makrofagai; Th1 (angl. *T-helper type 1 cell*) – T limfocitų pagalbininkų 1 tipas; TILs (angl. *tumor infiltrating lymphocytes*) – naviką infiltruojantys limfocitai; Treg (angl. *regulatory T cells*) – reguliatorinės T ląstelės; PD-1 (angl. *programmed cell death protein-1*) – programuotos ląstelės mirties baltymas 1; PD-L1 (angl. *programmed cell death ligand-1*) – programuotos ląstelės mirties ligandas-1.

Moksliniai darbai ir apžvalgos

IL-10 ir IL-4. PD-1/ PD-L1 kelias reguliuoja imuniteto slopinimą įvairiais mechanizmais [6]:

- Per PD-1 receptorius aktyvuoja apoptozinius genus ir sukelia T limfocitų žūtį.
- Sąlygoja greitesnę T limfocitų išsekimą dėl lėtinės infekcijos.
- PD-L1, veikdami per žinduolių rapamicino taikinių (angl. *mammalian target of rapamycin*, mTOR) signalinį kelią, baltymo kinazės B (angl. *protein kinase B*, AKT) ir tarpląstelinį signalą reguliuojančios kinazės 2 (angl. *extracellular signal-regulated kinases 2*, ERK2) fosforilinimą, sumažina T limfocitų susidarymą ir blogina jų atliekamą funkciją.
- Veikiant per PD-1 receptorius, mažėja baltymų kinazės C teta (angl. *protein kinase C theta type*, PKC-teta) fosforilinimas, IL-2 gamyba, o tai sąlygoja T limfocitų proliferacijos slopinimą G1 fazėje.
- PD-1/PD-L1 blokuoja ląstelių signalų kelius, veikiant didžiajam audinių suderinamumo kompleksui (angl. *major histocompatibility complex*, MHC) ir CD28, dėl to sumažėja T limfocitų aktyvacija ir IL-2 gamyba.

Remiantis TIL pasiskirstymu bei PD-L1 raiška, navikus galima skirstyti į keturis pagrindinius tipus. I tipas – prisitaikančio imuninio atsparumo (angl. *adaptive immune resistance*), esant PD-L1+/TIL+; II tipas – imuninio ignoravimo (angl. *immunological ignorance*), esant PD-L1-/TIL-; III tipas – vidinės indukcijos (angl. *intrinsic induction*), esant PD-L1+/TIL-; IV tipas – tolerancijos (angl. *tolerance*), esant PD-L1-/TIL+ (2 pav.) [35].

PD-1 ir PD-L1 inhibitorių atsiradimas klinikoje praktikoje tapo revoliuciniu įvykiu gydant vėžį, tačiau nuoseklus atsakas ir ilgalaikiai rezultatai pastebimi tik daliai pacientų. Šiuo metu tiesioginis PD-L1 ekspresijos vertinimas navikiniame audinyje laikomas biologiškai patikimu ir geriausiai prieinamu žymeniu prognozuojant naviko atsaką ir išgyvenamumo prognozė. Daugybė tyrimų parodė ilgesnį pacientų bendrą išgyvenamumą, geresnį gydymo atsaką pacientams, sergantiems PD-L1 teigiamu NSLPV taikant gydymą imunoterapija, lyginant su standartine chemoterapija. Klinikinių tyrimų duomenimis, nustatytas statistiškai reikšmingas bendrojo išgyvenamumo bei išgyvenamumo be ligos progresavimo prailgėjimas taikant imunoterapiją, lyginant su standartiniu gydymu chemoterapija. Nepaisant to, teigiamas klinikinis poveikis, gydant NSLPV anti-PD-1 arba anti-PD-L1, taip pat nustatytas beveik 50 proc. tiriamųjų. Svarbus mokslinis indėlis tenka ir KEYNOTE-001 tyrimui, kurio metu buvo atlikti išsamūs PD-L1 raiškos vertinimai ir nustatyta, kad PD-L1 ekspresija laikoma teigiama, kai ne mažiau kaip 50 proc. ląstelių reaguoja su imuniniu žymeniu. Pažymėtina, kad bendrojo penkerių metų išgyvenamumo dažnis, skiriant gydymą nonoterapija pembrolizumabu ir esant didesnei nei 50 proc. PD-L1

ekspresijai, viršijo 25 proc. Deja, šiuo metu nėra publikuotų klinikinių tyrimų, kuriuose būtų įvertintas ryšis tarp PD-1 arba PD-L1 inhibitorių veiksmingumo bei PD-L1 raiškos procentinės vertės [27–29].

IMUNOMETABOLIZMAS

Vienas iš ląstelių piktybiškumo požymių yra medžiagų apykaitos procesų persitvarkymas ir persiskirstymas. Navikinės ląstelės, siekdamos kuo ilgiau išgyventi, proliferuoti ir daugintis hipoksinėje mikroaplinkoje, turi perprogramuoti savo medžiagų apykaitos procesus. Imunometabolizmas apibūdina imunologinių ir metabolinių procesų sąveiką, kai imuninė sistema tarpininkauja navikinių ląstelių vystymuisi ir dauginimuisi [30]. Imuninės ląstelės dažniausiai energija apsirūpina oksidacinio fosforilinimo būdu, sintetindamos adenzinotrifosfatą (ATP), kuris yra pagrindinis visų ląstelių energijos šaltinis. Metabolinių kelių persitvarkymas – tai procesų visuma, kurios metu pakinta energinių medžiagų gavybos būdas, kai vietoje oksidacinio fosforilinimo aktyvinama glikolizė. Dažniausiai glikolizei naudojamos naviko mikroaplinkoje esančios maistinės medžiagos – gliukozė ir glutaminas. Imunometabolizmo persiskirstymas, nukreipiant jį glikolizės keliu, yra kone veiksmingiausias būdas kontroliuoti imuninių ląstelių išgyvenamumą ir užtikrinti efektorinių funkcijų atlikimą. Naviko mikroaplinkoje aptinkama cisteino, katepino proteazių, kurios apsaugo navikines ląsteles nuo sunaikinimo. Dėl šios priežasties sumažėja ir chemoterapijos poveikis [31, 32].

Tam tikras navikų infiltravusių makrofagų fenotipas turi metastazinių poveikį, kuris aktyvina angiogenezę, epitelio-mezenchimos transformaciją ir ekstravazaciją. Glikolizės metu kaip žaliavą naudojant 2-deoksigliukozę, slopinamas tokio fenotipo makrofagų veikimas. Žinios apie imuninių ląstelių metabolizmą gali suteikti galimybę pakeisti pusiausvyrą tarp uždegimą skatinančių ir slopinančių veiksnių, imuninių reakcijų, vėžio formavimosi mechanizmų [33]. Praktinė šių mechanizmų supratimo nauda neabejotina. Manoma, kad ateityje gydymas imunoterapija taps lengviau prieinamu ir vienu iš pagrindinių onkologinių, uždegiminių ir infekcinių ligų gydymo būdų.

GENETINIAI VEIKSNIAI

Genetiniai veiksniai, kurie aktyvina onkogenus ir inaktyvuoja naviko augimą slopinančius genus, skatina naviko formavimąsi. Minėti genetiniai veiksniai sutrikdo normalius ląstelės reguliavimo procesus, dauginimąsi, išgyvenimą, diferenciaciją ir DNR pažeidimų taisymą. Šiuo metu gerai žinoma tik keletas onkogenų, kurie yra susiję su uždegimo reguliavimu. Onkogenai veikdami per antrinius tarpininkus skatina naviko kraujagyslių augimą, tarpląstelinio matrikso

remodeliaciją, metastazavimą bei imuninio atsako slopinimą. Genetiniai pokyčiai dažnai ne tik sutrikdo normalų įgimto imuninio ir uždegiminio atsako veikimą, bet skatina ir naviko formavimąsi. Išsamesni klinikiniai tyrimai parodė, kad aktyvinant endotelio augimo veiksnio receptorių (angl. *epidermal growth factor receptor*, EGFR) navikiniame audinyje didėja ir PD-L1 ekspresija, kuri sąlygoja sumažėjusį imuninį atsaką. Manoma, kad makrofagai gali turėti įtakos naviko formavimuisi ir progresavimui dėl onkogenų aktyvacijos. Navikinės ląstelės per antrinius tarpininkus skatina monocitų pirmtakus ir makrofagus išskirti chemokinus, CC chemokino ligando 2 (angl. *C-C motif ligand 2*, CCL2) ir GM-CSF. Navikinės ląstelės, veikiančios per signalo keitiklio ir transkripcijos 3 (angl. *signal transducer and activator of transcription 3*, STAT3) aktyvatoriaus geną, gamina IL-4, IL-10 ir IL-13. Šių veiksnių visuma lemia monocitų diferenciaciją į aktyvuotus ir su naviku susijusius M2 fenotipo makrofagus [18, 26].

IŠVADA

Plaučių vėžio formavimasis yra daugiapakopis procesas, kuris vyksta sąveikaujant navikinėms ir imuninėms ląstelėms. Dėl pakitusių mikroaplinkos sąlygų ir imuninių ląstelių aktyvacijos skatinama navikogenezė. Nustačius tikslus šių transformacijų imuninius mechanizmus, būtų galima individualizuoti ir optimizuoti plaučių vėžio gydymą.

Gauta 2020 08 07
Priimta 2020 08 12

LITERATŪRA

1. The International Agency for Research on Cancer. Latest global cancer data. 2018. Available at: <https://www.who.int/cancer/PRGLOBocanFinal.pdf>
2. Higienos institutas. Statistinių duomenų apie mirties priežastis paieškos priemonė. 2018 Prieiga per internetą: 2018. http://hi.lt/lt/paieskos_priemone.html
3. Didkowska J, Wojciechowska U, Koskinen HL, Łobaszewski J. Lung cancer epidemiology: contemporary and future challenges worldwide. *Ann Transl Med*. 2016; 4(8):150.
4. Usher NT, Chang S, Howard RS, Martinez A, Harrison LH, Santosham M, et al. Association of BCG vaccination in childhood with subsequent cancer diagnoses. A 60-year follow-up of a clinical trial. *JAMA Netw Open*. 2019; 2(9):e1912014.
5. Lawrence M, Stojanov P, Polak P, Kryukov GV, Cibulskis K, Sivachenko A. Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer-associated genes. *Nature*. 2013; 499(7457):214-8.
6. Gun SY, Lee SWL, Sieow JL, Wong SC. Targeting immune cells for cancer therapy. *Redox Biol*. 2019; 25:101174.
7. Tsou P, Katayama H, Ostrin EJ, Hanash SM. The emerging role of B cells in tumor immunity. *Cancer Res*. 2016; 76(19):5597-601.
8. Kalia V, Sarkar S. Regulation of effector and memory CD8 T cell differentiation by IL-2-a balancing act. *Front Immunol*. 2018; 9:2987.
9. Gropper Y, Feferman T, Shalit T, Salame TM, Porat Z, Shakhar G. Culturing CTLs under hypoxic conditions enhances their cytotoxicity and improves their anti-tumor function. *Cell Rep*. 2017; 12(20):2547-55.
10. Bader JE, Voss K, Rathmell JC. Targeting metabolism to im-

prove the tumor microenvironment for cancer immunotherapy. *Mol Cell*. 2020;78(6):1019-33.

11. Ruffell B, Coussens LM. Macrophages and therapeutic resistance in cancer. *Cancer Cell*. 2015; 27(4):462-72.
12. Almatroodi SA, McDonald CF, Darby IA, Pouniotis DS. Characterization of M1/M2 tumour-associated macrophages (TAMs) and Th1/Th2 cytokine profiles in patients with NSCLC. *Cancer Microenviron*. 2016; 9(1):1-11.
13. Edin S, Wikberg ML, Dahlin AM, Rutega J, Oberg A, Oldenborg PA, et al. The distribution of macrophages with a M1 or M2 phenotype in relation to prognosis and the molecular characteristics of colorectal cancer. *Plos One*. 2012; 7(10):e47045.
14. Lahmar Q, Keirsse J, Laoui D, Movahedi K, Van Overmeire E, Van Ginderachter JA. Tissue-resident versus monocyte-derived macrophages in the tumor microenvironment. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1865(1):23-34.
15. Jackute J, Zemaitis M, Pranys D, Sitkauskienė B, Miliauskas S, Vaitkienė S, et al. Distribution of M1 and M2 macrophages in tumor islets and stroma in relation to prognosis of non-small cell lung cancer. *BMC Immunol*. 2018; 19(1):3.
16. Landskron G, De la Fuente M, Thuwajit P, Thuwajit C, Hermoso MA. Chronic inflammation and cytokines in the tumor microenvironment. *J Immunol Res*. 2014; 2014:149185.
17. Esser N, Legrand-Poels S, Piette J, Scheen AJ, Paquot N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014; 105(2):141-50.
18. Conway EM, Pikor LA, Kung SH, Hamilton MJ, Lam S, Lam WL. Macrophages, inflammation, and lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016; 193(2):116-30.
19. Vaguliene N, Zemaitis M, Lavinskiene S, Miliauskas S, Sakalauskas R. Local and systemic neutrophilic inflammation in patients with lung cancer and chronic obstructive pulmonary disease. *BMC Immunol*. 2013; 14:36.
20. Coffelt SB, Wellenstein MD, de Visser KE. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nat Rev Cancer*. 2016; 16(7):431-46.
21. Sagiv JY, Michaeli J, Assi S, Mishalian I, Kisos H, Levy L. Phenotypic diversity and plasticity in circulating neutrophil subpopulations in cancer. *Cell Rep*. 2015; 10(4):562-73.
22. Swierczak A, Mouchemore KA, Hamilton JA, Anderson RL. Neutrophils: important contributors to tumor progression and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. 2015; 34(4):735-51.
23. Zhang C, Xin H, Zhang W, Yazaki PJ, Zhang Z, Le K. CD5 binds to interleukin-6 and induces a feed-forward loop with the transcription factor STAT3 in B cells to promote cancer. *Immunity*. 2016; 19(4):913-23.
24. Rubtsov AV, Rubtsova K, Kappler JW, Jacobelli J, Friedman RS, Marrack P. CD11c-expressing B cells are located at the T cell/B cell border in spleen and are potent APCs. *J Immunol*. 2015; 195(1):71-9.
25. Harms Pritchard G, Pepper M. Memory B cell heterogeneity: remembrance of things past. *J Leukoc Biol*. 2018; 103(2):269-74.
26. Akbay EA, Koyama S, Carretero J, Altabef A, Tchaicha JH, Christensen CL, et al. Activation of the PD-1 pathway contributes to immune escape in EGFR-driven lung tumors. *Cancer Discov*. 2013; 3(12):1355-63.
27. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors: The first theories. *Oncotarget*. 2017; 8(4):7175-80.
28. Garon EB, Hellmann MD, Rizvi NA, Carcereny E, Leigh NB, Ahn MJ, et al. Five-year overall survival for patients with advanced non-small-cell lung cancer treated with pembrolizumab: results from the phase I KEYNOTE-001 study. *J Clin Oncol*. 2019; 37(28):2518-27.
29. Shen X, Zhao B. Efficacy of PD-1 or PD-L1 inhibitors and PD-L1 expression status in cancer: meta-analysis. *BMJ*. 2018; 362:k3529.
30. Netea-Maier RT, Smit JWA, Netea MG. Metabolic changes in tumor cells and tumor-associated macrophages: A mutual relationship. *Cancer Lett*. 2018; 413:102-9.
31. Wenes M, Shang M, Di Matteo M, Goveia J, Martín-Pérez R, Serneels J. Macrophage metabolism controls tumor blood vessel morphogenesis and metastasis. *Cell Metab*. 2016; 24(5):701-15.
32. Hu G, Guo M, Xu J, Wu F, Fan J, Huang Q, et al. Nanoparticles targeting macrophages as potential clinical therapeutic agents against cancer and inflammation. *Front Immunol*. 2019; 10:1998.
33. Ventola CL. Progress in nanomedicine: approved and investigational nanodrugs. *T*. 2017; 42(12):742-55.
34. Teng MW, Ngiew SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying cancers based on T-cell infiltration and PD-L1. *Cancer Res*. 2015; 75(11):2139-45.