

# Imunski fenotipi v mikrookolju primarnega tumorja in jetrnih zasevkov pri bolnici s silovitim razsojem vnetnega, trojno negativnega raka dojke v jetra med neoadjuvantnim zdravljenjem s citostatiki in zaviralcem imunskih kontrolnih točk

Marina Mencinger<sup>1</sup>, Snežana Đokić<sup>1</sup>, Vida Stegel<sup>1</sup>, Srdjan Novaković<sup>1</sup>, Juan A. Contreras<sup>1</sup>, Andreja Klevišar Ivančič<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Onkološki inštitut Ljubljana

**Ozadje:** Pri 1,4% bolnikih vključenih v KEYNOTE-522 raziskavi so ugotovili napredovanje bolezni med neoadjuvantnim zdravljenjem s kemoterapijo in pembrolizumabom. Analizirali smo (IHK) tkivne vzorce 36-letne bolnice z vnetnim trojno negativnim rakom dojke z delnim odgovorom primarnega tumorja in regionalnih bezgavk ter razsojem v jetra ob zdravljenju kot v omenjeni raziskavi. Iskali smo razlike med imunskim mikrookoljem jetrnih zasevkov in primarnega tumorja pred in po sistemskim zdravljenju. Testirali smo prisotnost dejavnikov povezanih s hiperprogresom. Iskali smo morebitne molekularne tarče, na katere bi lahko terapevtsko vplivali.

**Metode:** V tumorski stromi smo označili delež TIL in TLS ter opravili imunohistokemično (IHK) analizo z označbo deleža CD8+, FoxP3 ter CD163 pozitivnih celic. Izvedli smo IHK analizo s pan-TRK za določitev izraženosti onkogenega TRK. Testirali smo PD-L1 z SP142 (Ventana) ter 22C3 (pharmDx) klonom. Izvedena bo genotipizacija somatskih mutacij s Tru Sight Tumor 170 Kit-om (Illumina).

**Rezultati:** Z analizo tkivnih vzorcev primarnega tumorja pred in po zdravljenju ter jetrnih zasevkov smo potrdili imunsko revnejše mikrookolje jetrnih zasevkov in tumorja po sistemskem zdravljenju v primerjavi z mikrookoljem primarnega tumorja (tabela 1). Delež vseh testiranih imunskih celic (TIL, CD8+) je bil znatno nižji v stromi jetrnih zasevkov ter v primarnem tumorju po zdravljenju v primerjavi s primarnim tumorjem pred zdravljenjem. Delež FoxP3, ki označuje imunosupresivne T reg celice je bil nizek v vseh vzorcih. Delež CD163 imunosupresivnih makrofagov pa relativno visok v vseh vzorcih. PD-L1 status je bil pozitiven z obema klonoma v primarnem tumorju (cut off PD-L1-(sp142)  $\geq$  1%, CPS (22C3)  $>$  10), a negativen v zasevku. V primarnem tumorju po zdravljenju je PD-L1 (sp142) ostal pozitiven, CPS pa se je negativiziral. FISH analiza ni pokazala MDM2 pomnožitve. Ugotovili smo prekomerno izraženost TRK genov z IHK analizo v primarnem tumorju.

**Zaključki:** Nizek delež imunskih celic ter negativni PD-L1 v mikrookolju jetrnih zasevkov sta v opisanem primeru lahko pripomogla k hitremu napredovanju

raka v jetrih med neoadjuvantnim zdravljenjem s citostatiki v kombinaciji z ZIKT. Kemoterapija je lahko privedla do porušenega ravnovesja imunskega mikrookolja, kar smo potrdili z upadom deleža TIL in CD8+ imunskih celic kot tudi upadom CPS ter PD-L1 v primarnem tumorju po sistemskem zdravljenju. Domnevamo, da je v prikazanem primeru bilo delovanje citostatikov in zaviralcem imunskih kontrolnih točk nasprotujoče.

Prekomerno izražen TRK z IHK je možna terapevtska tarča, ki pa zahteva potrditev s strani molekularne diagnostike.

	<b>Primarni tumor pred sistemskim zdravljenjem</b>	<b>Primarni tumor po sistemskem zdravljenju</b>	<b>Jetni zasevek – avtopsijski material</b>
TIL	zmeren (20%)	blag (10%)	blag (1%)
TLS	0	0	0
CD8+	15%	10%	3%
FoxP3	2%	1%	0%
CD163	30%	40%	20%
PD-L1 (sp142)	poz. $\geq$ 1% (10%)	poz $\geq$ 1% (3%)	neg. < 1%
CPS (22C3)	poz. $\cdot$ 10 (15)	neg. 5	neg. 0
panTRK	neenakomerno šibko poz.	neenakomerno poz.	neg.

*Tabela 1. Histološka analiza na vzorcih, CD8+-citotoksični limfociti, FoxP3-T celični regulator, CD163-marker makrofagov, PD-L1: Programmed cell death ligand-1, CPS: combined positive score*