

NAPOVEDNI BIOOZNAČEVALCI ZA ZAVIRALCE IMUNSKIH KONTROLNIH TOČK

Andreja Klevišar Ivančič, dr. med., in Olga Blatnik, dr. med.

Oddelek za patologijo, Onkološki inštitut Ljubljana

Povzetek

Imunske kontrolne točke so inhibitorni regulatorji imunskega sistema in so ključni za vzdrževanje pravilnega odziva imunskega sistema. Tumorji spodbujajo aktivacijo proteinov, ki delujejo kot imunske kontrolne točke in s tem preprečujejo imunskemu sistemu, da bi odstranjeval tumorske celice. Danes se kot ena od možnih protirakavih zdravil uporablja tudi imunoterapija, ki deluje kot zaviralec na imunske kontrolne točke. S tem se ohranja protitumorsko delovanje lastnega imunskega odziva. Ker pa so odzivi na imunoterapijo pri različnih vrstah rakavih bolezni različni in ker ima imunoterapija veliko verjetnost hujših neželenih učinkov ter visoko ceno, so se razvili različni biooznačevalci, ki jih lahko uporabimo za napovedovanje odzivnosti na imunoterapijo. V prispevku so predstavljeni PD-L1, mikrosatelitna nestabilnost in tumorsko mutacijsko breme.

Uvod

V normalnih razmerah imunski sistem varuje pred vnetnimi boleznimi in tumorji. Poleg tega skrbi za odstranitev poškodovanih celic. Pretiran imunski odziv pa lahko vodi v avtoimunost in posledično poškodovanje normalnih tkiv.

Imunske kontrolne točke so inhibitorni regulatorji imunskega sistema in so ključni za vzdrževanje pravilnega odziva imunskega sistema (lastna toleranca) in preprečevanje avtoimunosti s tem, da kontrolirajo trajanje, obseg in intenziteto imunskega odgovora z namenom, da se omeji sočasna poškodba normalnih tkiv.

PD-L1

Eden izmed pomembnejših proteinskih parov, ki delujejo kot imunske kontrolne točke, sta PD-1 in PD-L1. PD-1 je transmembranski protein, ki je predvsem prisoten

na spominskih celicah T, v manjšem obsegu tudi na celicah B, aktiviranih monocitih, dendritičnih celicah in celicah ubijalkah (NK celicah). PD-L1 je transmembranski proteinski receptor in je prisoten v številnih celicah, med drugim tudi na antigen predstavitvenih celicah, celicah T, celicah B, monocitih in epitelijskih celicah.

Vezava PD-1 in PD-L1 zavira proliferacijo in citotoksičnost celic T, v tumorjih tako zavira delovanje protitumorskih celic T. Zato je v tumorjih prisotna povečana aktivacija imunskih kontrolnih točk, še posebej pri nekaterih vrstah tumorjev npr. drobnocelični pljučni rak, melanom in urotelijski karcinom.

Zaviralci imunskih kontrolnih točk (imunoterapija) preprečujejo vezavo proteinskih parov, ki delujejo kot imunske kontrolne točke. S tem preprečujejo inhibitorne signale in omogočajo imunskim celicam T, da ostajajo aktivne in uničujejo tumorske celice.

Leta 2011 je bilo v Ameriki registrirano in odobreno prvo zdravilo kot zaviralec imunskih kontrolnih točk. Od takrat je bilo registriranih in odobrenih več takšnih zdravil, ki delujejo kot zaviralci na različne proteine, ki delujejo kot inhibitorji imunskih kontrolnih točk pri različnih vrstah raka in z različnimi indikacijami.

Ker so ta zdravila draga in imajo precej velike neželene učinke, je smiselno, da na tumorjih ocenimo, kakšno je izražanje PD-L1 na tumorskih in/ali imunskih celicah ter tako PD-L1 uporabimo kot prediktivni marker za odziv na imunoterapijo.

Obstaja več postopkov, s katerimi je možno ocenjevati izraženost PD-L1 v tumorjih, vendar je imunohistokemija edina metoda, ki je široko dostopna, praktična in ekonomsko upravičena.

Na voljo je več protiteles za dokazovanje stopnje izraženosti PD-L1 v tumorjih na dveh platformah (Dako in Ventana). V uporabi so predvsem protitelesa 22C3, SP263 in SP142. Katerega od njih uporabimo, je odvisno predvsem od tega, katero imunoterapevtsko zdravilo je registrirano za določeno vrsto raka in v kateri liniji.

Tudi način interpretacije in poročanja je odvisen od tega, katero protitelo smo uporabili in pri kateri vrsti raka. Najpogostejša metoda ocenjevanja je določanje CPS (angl. *combined positive score*), pri katerem v izračun všteto vse pozitivne celice (tumorske in imunske) in jih delimo s številom vitalnih tumorskih celic ter rezultat pomnožimo s 100. Drug način ocenjevanja je TPS (angl. *tumor positive score*), pri katerem v izračun všteto vse pozitivne tumorske celice in jih delimo s številom vitalnih tumorskih celic ter rezultat pomnožimo s 100. Tretji način ocenjevanja je določitev deleža PD-L1 pozitivnih imunskih celic, ki ga zavzemajo v tumorju.

Mikrosatelitska nestabilnost

Med replikacijo DNA prihaja do najrazličnejših napak. Za vzdrževanje genomske stabilnosti skrbijo določeni popravljalni mehanizmi, med drugim proteini za popravljanje neujemanja (angl. *mismatch repair proteins*, MMR). Sistem MMR popravlja okvare, ki nastanejo zaradi zdrs DNA polimeraze med replikacijo, kot so insercijske/delecijske zanke in neujemanje baznih parov. Tvorita ga proteinska kompleksa MutS, ki ga sestavljata proteina MSH2 in MSH6 (ali MSH3) in MutL, ki ga sestavljata proteina MLH1 in PMS2. MutS prepozna nastale napake in na mesto okvare rekrutira MutL, ki prepozna in izreže segment nastajajoče verige, ki se ne ujema. V tem kompleksnem procesu, ki je odvisen od ATP, so udeleženi še številni drugi proteini, ki popravijo napako, sintetizirajo manjkajoč segment DNA in ga ligirajo. Sistem MMR ima vlogo tudi v popravljanju oksidativnih okvar DNA, tvorbi imunoglobulinov, celičnem ciklu ter mitotski in mejotski rekombinaciji.

Za napake pri replikaciji, kakršne popravlja sistem MMR, so zlasti dovzetne sekvence genoma, imenovane mikrosateliti. Gre za kratke, tandemske, repetitivne sekvence DNA, dolge 1 do 6 bp, ki so razporejene po celem genomu. Kadar pri replikaciji nastanejo napake v dolžini teh zaporedij, pride do mikrosatelitske nestabilnosti.

Mikrosatelitska nestabilnost (MSI) je tumorski molekularni fenotip, ki nastane zaradi izgube funkcije proteinov za popravljanje neujemanja zaradi zarodnih mutacij, epigenetske inaktivacije ali somatskih mutacij. Ker so mikrosateliti prisotni v številnih onkogenih in tumor supresorskih genih, se pri okvari MMR v teh genih pojavijo sekundarne mutacije, kar lahko privede do tumorigeneze. Za tumorje z MSI fenotipom je značilna genomska hipermutabilnost, povečana ekspresija neoantigenov in ugodno, imunsko bogato tumorsko mikrookolje. Te značilnosti so povezane z večjo verjetnostjo odziva na zdravljenje z imunoterapijo. Kljub temu odziv na imunoterapijo pri tumorjih z visoko izraženo mikrosatelitsko nestabilnostjo ni univerzalen.

V praksi se za določanje tumorske MSI lahko uporabljajo bodisi imunohistokemična metoda, ki je najhitrejša in najcenejša, bodisi molekularnogenetske metode (PCR ali NGS). Med temi metodami je ujemanje visoko, več kot 90-%. Pri imunohistokemični metodi izguba jedrnega izražanja vsaj enega od proteinov (MLH1, PMS2, MSH2, MSH6) nakazuje, da gre za mikrosatelitsko nestabilen tumor. S PCR pa ugotavljamo razliko v dolžini mikrosatelitov med tumorskim in netumorskim tkivom, pri čemer uporabljamo standardne, komercialno dostopne panele.

Tumorsko mutacijsko breme

Tumorsko mutacijsko breme (TMB) pomeni število mutacij v tumorju, največkrat izraženo kot število mutacij na eno megabazo (Mb). Tumorji z višjim TMB naj bi imeli več imunogenih neoantigenov, ki jih poglavitni histokompatibilnostni kompleks (angl. major histocompatibility complex, MHC) predstavi limfocitom T. Več neoantigenov pomeni večjo verjetnost njihove predstavitve limfocitom T, ki sprožijo protitumorski odziv, torej pri tovrstnih tumorjih pričakujemo boljši odziv na imunoterapijo. Vendar se je kljub začetni obetavni uporabi TMB kot prediktivnega označevalca za odziv na imunoterapijo izkazalo, da ne korelira tako dobro z odzivom na imunoterapijo pri vseh vrstah raka, zato ima trenutno omejeno uporabo. Zanimivo je, da nizek TMB, vsaj v nekaterih malignomih, ne izključuje odziva na imunoterapijo. Pričakovati je več raziskav, ki bodo bolj tumorsko specifično povezale uporabo TMB kot prediktivnega označevalca za imunoterapijo. Ocena TMB bo verjetno predstavljala enega v kompleksu imunoloških označevalcev, ki bodo v pomoč pri oceni verjetnosti odziva na imunoterapijo.

Zaključek

Razvoj in uporaba imunoterapije je v zdravljenje rakavih bolezni prinesla precej napredka. Glede na to, da je pri nekaterih bolnikih z rakom tovrstno zdravljenje izjemno uspešno, vendar z znatnimi tveganji neželenih učinkov ter visoko ceno, je smiselno usmeriti raziskave v iskanje zanesljivih bioloških označevalcev za napoved odziva na imunoterapijo.

Literatura

1. Akhtar M, Rashid S, Al-Bozom IA. PD-L1 immunostaining: what pathologists need to know. *Diagn Pathol.* 2021 Oct 25;16(1):94. doi: 10.1186/s13000-021-01151-x. Erratum in: *Diagn Pathol.* 2022 Jun 11;17(1):50. doi: 10.1186/s13000-022-01229-0. PMID: 34689789; PMCID: PMC8543866.
2. Strickler JH, Hanks BA, Khasraw M. Tumor Mutational Burden as a Predictor of Immunotherapy Response: Is More Always Better? *Clin Cancer Res.* 2021 Mar 1;27(5):1236-1241. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3054. Epub 2020 Nov 16. PMID: 33199494; PMCID: PMC9912042.
3. Wilbur HC, Le DT, Agarwal P. Immunotherapy of MSI Cancer: Facts and Hopes. *Clin Cancer Res.* 2024 Apr 15;30(8):1438-1447. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-21-1935. PMID: 38015720.
4. Olave MC, Graham RP. Mismatch repair deficiency: The what, how and why it is important. *Genes Chromosomes Cancer* 2022;61:314–321. DOI: 10.1002/gcc.23015
5. Jardim DL, Goodman A, de Melo Gagliato D, Kurzrock R. The Challenges of tumor mutational burden as an immunotherapy biomarker. *Cancer Cell* 2021;39:154-173. doi: 10.1016/j.ccell.2020.10.001