

Czy układ immunologiczny zawsze jest sprzymierzeńcem człowieka? O terapiach celujących w biologię i immunologię nowotworów

Julia Pietrzak¹, dr Agnieszka Knopik-Skrocka, prof. UAM²

¹Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

E-mail: julpie19@st.amu.edu.pl

²Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Wydział Biologii, Zakład Biologii Komórki

E-mail: askro@amu.edu.pl

Słowa kluczowe: nowotwory, immunogenność, profil immunologiczny, immunosupresja, terapie celowane, tutoring naukowy

Streszczenie

Niniejszy artykuł stanowi efekt współpracy w ramach tutoringu naukowego poświęconego zgłębieniu tematyki dotyczącej biologii i immunologii nowotworów, ze szczególnym uwzględnieniem roli wybranych komórek układu immunologicznego. Układ immunologiczny zwykle chroni organizm, w czym swój duży udział mają limfocyty T cytotoksyczne, w pewnych warunkach może jednak wspierać rozwój nowotworu, np. poprzez limfocyty T regulatorowe, makrofagi M2 w indukowaniu immunosupresyjnego środowiska.

W pracy przedstawiono wybrane cele molekularne dla terapii takich jak terapia za pomocą inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych (blokujące PD-, PD-L1, czy CTLA-4) oraz terapie z użyciem „żywych

leków” w postaci zmodyfikowanych genetycznie limfocytów T (CAR-T). Zwrócono ponadto uwagę na efekty łączenia immunoterapii z innymi metodami, np. radioterapią, w celu zwiększenia tzw. immunogenności nowotworów i maksymalizacji skuteczności leczenia. Wskazano również przeszkody i wyzwania jakie wciąż stoją przed naukowcami i klinicystami. Należą do nich m.in. trudność w dotarciu leków do ich miejsc działania, niska immunogenność nowotworów, niska infiltracja i osłabienie aktywności limfocytów T cytotoksycznych w obrębie mikrośrodowiska nowotworowego. Na zakończenie przedstawiono kilka potencjalnych sposobów rozwiązania tych problemów.

Wprowadzenie do tematu

Układ immunologiczny to bardzo inteligentny element naszego organizmu, chroniący przed zagrożeniami takimi jak bakterie patogenne, wirusy, grzyby. Jego zdolność do zapamiętywania obcych antygenów pozwala na szybkie rozpoznanie wroga i walkę z nim.

Dzieje się to w ramach tzw. odporności swojej/nabytej, w którą zaangażowane są przede wszystkim limfocyty T i B. Ważną rolę pełnią w tym aspekcie komórki dendrytyczne (*ang. DC, dendritic cells*), prezentujące na swojej powierzchni „obce” antygeny, które z kolei mogą zostać rozpoznane przez immunologiczne komórki efektorowe (Marcinkiewicz, 2023).

Układ immunologiczny może również wychwycić zagrożenie w postaci komórek nowotworowych, które często ekspresują na powierzchni tzw. neoantygeny. Ich liczba w istotny sposób decyduje o immunogenności nowotworów. Wysoka immunogenność pozwala na skuteczniejsze działanie zwłaszcza limfocytów T cytotoksycznych (Tcyt), odpowiedzialnych w kluczowym momencie za eliminację komórek nowotworowych (Knopik-Skrocka i in., 2023). W mikrośrodku nowotworowym dochodzi do zaburzenia równowagi między różnymi typami komórek immunologicznych. Komórki nowotworowe mogą rekrutować komórki immunologiczne, promujące rozwój nowotworu. Do takich komórek należą: limfocyty T regulatorowe (Tregs), czy makrofagi o fenotypie M2. W ich obecności następuje osłabienie aktywności Tcyt i utrudnienia w dojrzewaniu DC, co przekłada się na nieprawidłowe funkcjonowanie tych komórek. Bazując na rozległej dotychczasowej wiedzy, naukowcy podjęli działania w kierunku reaktywacji układu immunologicznego u chorych na nowotwory. Dzięki temu opracowanych zostało kilka strategii terapeutycznych, w których wykorzystuje się zmodyfikowane genetycznie limfocyty T (CAR-T), czy też leki w postaci przeciwciał monoklonalnych (*ang. mAbs, monoclonal antibodies*), nakierowane na wybrane immunologiczne punkty kontrolne, regulujące aktywność Tcyt, a także DC (Knopik-Skrocka i in., 2023).

Powyższe zagadnienia stały się motywem przewodnim tematyki procesu tutorskiego

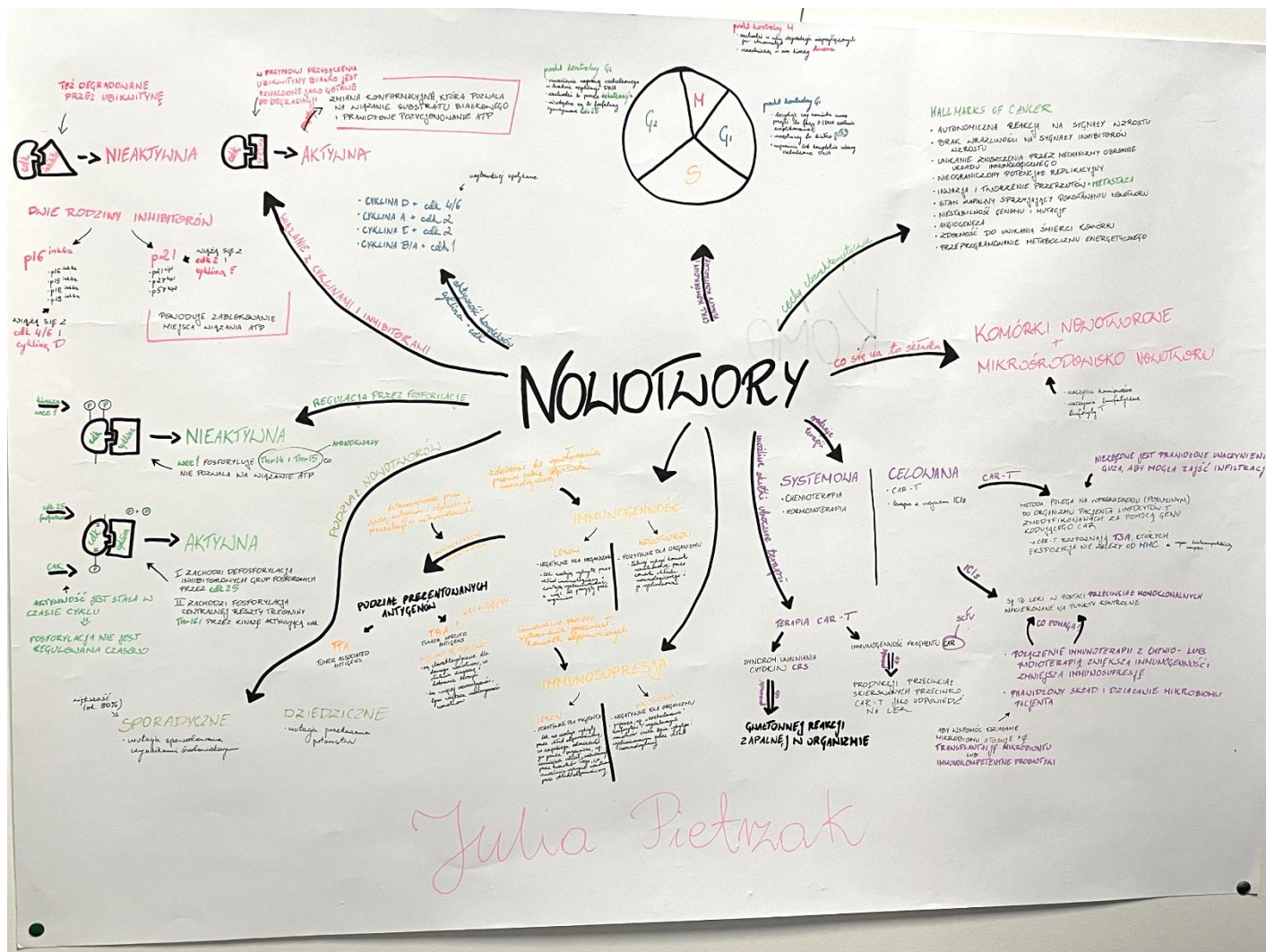
jaki został zrealizowany w roku akademickim 2023–24, w ramach programu KRAB (Kierowanie Rozwojem Aktywności Badawczej studentów) na Wydziale Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu. Niezwykle pomocnym i porządkującym narzędziem okazała się „mapa myśli”, powstała podczas procesu tutorskiego (Ryc. 1). Zgłębienie jej głównych wątków było możliwe w oparciu o aktualne dane literaturowe. Dyskusje prowadzone w czasie tutoringu pokazały wyrażenie, iż układ immunologiczny nie zawsze możemy traktować jako naszego sprzymierzeńca. W niektórych sytuacjach pokazuje on swoje nieco inne oblicze. Podczas omawiania tych zagadnień, w dalszej części artykułu będziemy odwoływać się do haseł zawartych w mapie myśli.

Czy komórki nowotworowe powinny być jedynym celem terapii?

Ważnymi czynnikami przy rokowaniach dla pacjentów onkologicznych jest czas wykrycia zmiany, jej wnikliwa diagnostyka, rozpoczęcie leczenia, w tym dostępność do możliwie najnowszych terapii. Tym zagadnieniom, między innymi, jest poświęcony cykl podcastów, które powstały w latach 2020–21 z inicjatywy studentów WB UAM jako projekt „Skarby w dłoń” (Morańska i in., 2021). Podcasty na temat zarówno epidemiologii, czynników ryzyka nowotworów, jak i strategii terapeutycznych są nadal dostępne na platformie Spotify [1, 2].

Najbardziej powszechnymi i znanymi terapiami przeciwnowotworowymi są chirurgia, chemioterapia i radioterapia. Mimo potwierdzonej skuteczności, zwłaszcza chemio- i radioterapia mają wady i liczne skutki uboczne. Jedną z nich może być niska selektywność chemioterapii. Oznacza to, że nie działa ona wybiórczo tylko na komórki nowotworowe, ale także na zdrowe, szybko dzielące się komórki (Anand i in., 2022).

Tutoring Gedanensis

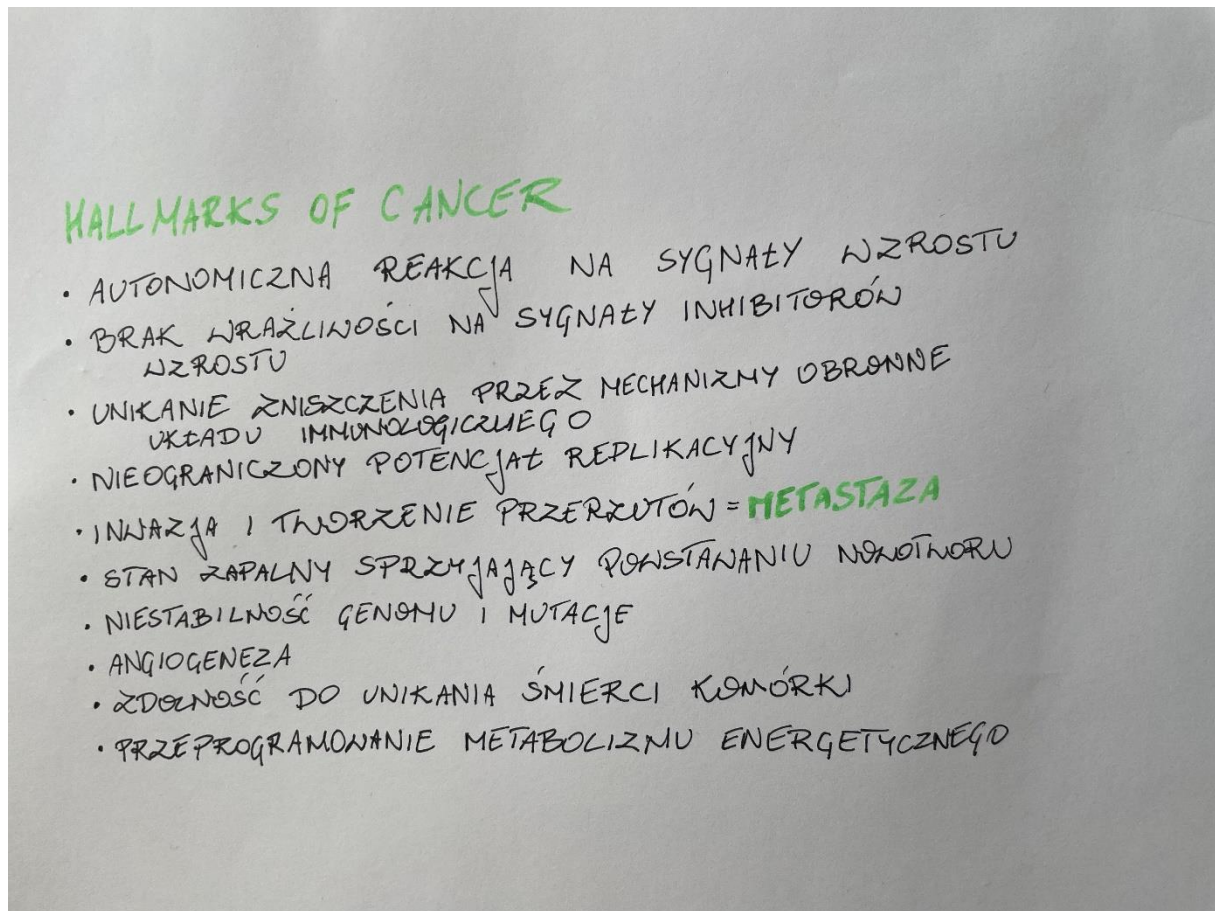


Ryc. 1. Mapa myśli (J. Pietrzak)

W radioterapii dużym niebezpieczeństwem jest tzw. efekt obserwatora, który polega na oddziaływaniu promieniowania nie tylko na komórki nowotworowe, ale także w sposób pośredni na komórki zdrowe znajdujące się w bliskim otoczeniu (Tang i in., 2023). W tym ostatnim przypadku może to zwiększać prawdopodobieństwo powstania drugiego nowotworu, poprzez aktywowanie tzw. protoonkogenów Są to geny, które pod wpływem mutacji przekształcają się w onkogeny, przyczyniające się do transformacji nowotworowej (Pecorino, 2018). W przypadku chemioterapii jej dawkowanie nie jest dostosowane do indywidualnych potrzeb i cech pacjenta, np. płci czy pochodzenia etnicznego, co może powodować ogromne skutki uboczne u części pacjentów (Wagner, 2020). Coraz częściej stosowane są więc terapie, których celem są na przykład receptory kinaz tyrozynowych (*ang. RTKs, receptor tyrosine kinases*), obecne w błonie komórkowej komórek nowotworowych. Ich zmieniona aktywność na skutek mutacji/rearanżacji genów kodujących je prowadzi do przekazywania w sposób permanentny sygnałów do dzielenia się komórek. Jednym z takich receptorów jest EGFR (*ang. epidermal growth factor receptor*). Rearanżacja genu ALK (*ang. anaplastic lymphoma kinase*) z genem EML4 (*ang. echinoderm microtubule-associated protein-like 4*) powoduje natomiast powstanie „nowej jakości” genu z informacją o RTK charakteryzującym się wzmożoną aktywnością sygnałową (Stencel i in., 2021). Powyższe zmiany obserwuje się m.in. u niektórych pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc (*ang. NSCLC, non-small cell lung cancer*). Mutacje mogą dotyczyć także genów z rodziny Ras. Przykładem jest KRAS (*ang. Kirsten rat sarcoma virus*). Skutkiem mutacji

jest wysoka aktywność białka Ras, zaangażowanego w podziały komórkowe (Grodzka i in., 2023). Obecnie znanych jest wiele leków, w postaci niskocząsteczkowych związków, hamujących działanie RTKs takich jak Afatinib (dla EGFR), czy Crizotinib (dla ALK-EML4). Z kolei Sotorasib to selektywny inhibitor białka stanowiącego produkt zmutowanego KRAS G12C (O'Sullivan i in., 2023). Niestety w czasie terapii może dojść do rozwoju oporności na leki. Stąd konieczność spersonalizowanego podejścia do pacjenta i badań genetycznych zarówno w diagnostyce, jak i podczas terapii. W efekcie możliwe jest modyfikowanie leków i tym samym ich dopasowywanie do pacjenta.

Komórki nowotworowe intensywnie komunikują się z innymi komórkami obecnymi w mikrośrodowisku guza. Przykładem są komórki śródbłónka naczyń krwionośnych, które mogą zostać zrekrutowane do neoangiogenezy, której efektem jest wytworzenie własnego unaczynienia guza, zapewniającego dostęp do tlenu, glukozy, ale również stanowiącego drogę przerzutowania komórek nowotworowych (Hanahan i Weinberg, 2000, 2011). Za odkrywcę neoangiogenezy, jej znaczenia dla rozwoju nowotworu uważa się Judah Folkmana (Folkman, 1971). Zdolność nowotworu do indukowania neoangiogenezy jest jedną z wielu jego cech charakterystycznych (*ang. hallmarks of cancer*) (Ryc. 2). Do tej pory opracowano różne terapie określane jako antyangiogenne, celujące w czynniki proangiogenne jak VEGF (*ang. vascular endothelial growth factor*) oraz w ich receptory, znajdujące się w błonie komórkowej komórek śródbłonkowych (VEGFR2) (Lopez Coelho i in., 2021).



Ryc.2. Cechy nowotworów według Hanahana i Weinberga (fragment mapy myśli J. Pietrzak)

O sukcesie rozwoju i przerzutowania nowotworów decyduje także zdolność komórek nowotworowych do ucieczki spod nadzoru immunologicznego. Swoją rolę ma w tym niska immunogenność nowotworu, zimny profil immunologiczny oraz aktywność Tregs i M2, co w konsekwencji prowadzi do immunosupresji nowotworu (Knopik-Skrocka i in., 2023). Z obecnej wiedzy jasno wynika, iż o skuteczności w leczeniu nowotworów decyduje jej wielokierunkowe działanie, a komórki nowotworowe nie mogą być jedynym celem terapeutycznym.

Dlaczego ważna jest immunogenność nowotworów i ich profil immunologiczny?

Immunogenność nowotworów to zdolność do wywoływania przeciw sobie odpowiedzi immunologicznej, czego wynikiem jest rozpoznanie komórek nowotworowych przez wybrane komórki układu odpornościowego. Oznacza to, że im wyższa immunogenność tym łatwiej zidentyfikować i zniszczyć komórki nowotworowe przez układ odpornościowy. Większość nowotworów „dąży” do niskiej immunogenności (Knopik-Skrocka i in., 2023). Jedynie kilka nowotworów cechuje wysoka immunogenność. Należą do nich m.in. czerniak i nowotwory płuc. Z immunogennością wiąże się rodzaj antygenów

prezentowanych przez nowotwór. Mogą to być TAA (*ang. tumor-associated antigens*) lub TSA (*ang. tumor-specific antigens*) (Xie i in. 2023). Te ostatnie są nazywane neoantygenami i stanowią wynik mutacji w genach białek antygenowych, zaburzenia składania eksonów (splicingu) mRNA, zmian w modyfikacjach posttranslacyjnych. To zjawisko jest określane jako obciążenie mutacyjne nowotworu (*ang. TMB, tumor-mutation burden*). Neoantygeny są kluczowe w kontekście skuteczności rozpoznawania komórek nowotworowych przez Tcyt (Wang i in., 2019, Xie i in., 2023).

Każdy nowotwór oprócz swojej immunogenności ma także swój profil immunologiczny. Charakteryzuje go skład, liczba i aktywność komórek immunologicznych w mikrośrodku guza. Szczególnie pożądane są Tcyt, podczas gdy Tregs i makrofagi M2 wspomniane we wprowadzeniu niniejszego artykułu negatywnie wpływają na Tcyt. Obecnie przyjmuje się, iż pełne rozpoznanie nowotworu na poziomie komórkowym powinno obejmować informację zarówno o jego immunogenności, jak i profilu immunologicznym (Tab. 1).

Tabela 1. Podział wybranych nowotworów zależnie od ich obciążenia mutacyjnego i profilu immunologicznego (na podstawie Maleki Vareki ,2018; Knopik-Skrocka i in., 2023, zmienione)

Typ nowotworu	Genotyp	Profil immunologiczny
czerniak	TMB-High	hot
NSCLC	TMB-High	hot
OC	TMB-Medium	intermediate
PC	TMB-Low	cold
rak trzustki	TMB-Low	Cold

NSCLC- drobnokomórkowy rak płuca, OC- rak jajnika, PC- rak prostaty, TMB-High *tumor mutation-burden high* (TMB wysokie), TMB-Medium *tumor mutation-burden medium* (TMB średnie), TMB-Low *tumor mutation-burden low* (TMB niskie), hot- profil immunologiczny o wysokiej infiltracji guza przez limfocyty T cytotoksyczne, intermediate- profil immunologiczny o średniej infiltracji guza przez limfocyty T cytotoksyczne, cold- profil immunologiczny o niskiej infiltracji guza przez limfocyty T cytotoksyczne

W odniesieniu do immunogenności nowotwory dzieli się na TMB-High, TMB-Medium i TMB-Low. Nowotwory o wysokiej infiltracji mikrośrodku przez komórki immunologiczne (głównie Tcyt) określane są natomiast jako gorące (*ang. hot*), a te, które mają niski stopień infiltracji nazywane są zimnymi (*ang. cold*). Najbardziej korzystnym wariantem z punktu widzenia leczenia są nowotwory TMB-High/hot. W ich przypadku można przewidywać wysoką skuteczność szczególnego rodzaju terapii celowanej jaką

jest immunoterapia, mająca na celu pobudzenie (reaktywację) Tcyt i DC do walki z komórkami nowotworowymi (Maleki Vareki, 2018).

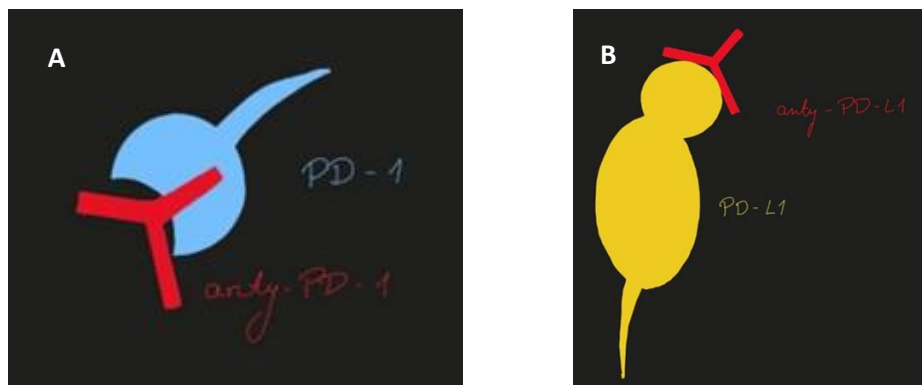
Istnieją doniesienia naukowe na temat pozytywnej roli radioterapii w zwiększaniu immunogenności i stopnia infiltracji mikrośrodku nowotworów przez komórki immunologiczne (Zhu i in., 2022). Pod wpływem promieniowania dochodzi do wzrostu infiltracji Tcyt, DC, spadku liczby Tregs,

zwiększenia ekspresji na powierzchni komórek nowotworowych antygenów MHC I oraz neoantygenów. Dzięki temu komórki nowotworowe stają się bardziej widoczne dla Tcyt i wzrasta szansa na skuteczność immunoterapii zastosowanej w kombinacji z radioterapią.

Reaktywacja komórek immunologicznych do walki z nowotworem cudem immunoterapii?

Jedną z celowanych strategii przeciwnowotworowych jest strategia, w której stosuje się leki biologiczne w postaci mAbs (*ang. monoclonal antibodies*), czyli przeciwciał monoklonalnych. Częsteczki te wiążąc się z receptorem uniemożliwiają jego kontakt z ligandem, a w konsekwencji blokują odpowiedź komórki na dany ligand. W kontekście immunoterapii, zatwierdzonymi klinicznie i aktualnie często stosowanymi mAbs są leki nakierowane na tzw. immunologiczne punkty kontrolne, obecne na powierzchni wybranych komórek immunologicznych. Leki te są nazywane inhibitorami immunologicznych punktów kontrolnych (*ang. ICIs, immune checkpoint inhibitors*) [3]. Przykładem

są leki anty-PD-1 i anty-PDL1 (Ryc. 3). Pierwsze z nich działają blokująco na cząsteczki PD-1 (*ang. programmed death 1 receptor*) obecne na powierzchni między innymi Tcyt. Z kolei anty-PDL1 celują w PD-L1 (*ang. programmed death ligand 1*), który pełni rolę liganda dla receptora PD-1 (Krawczyk i Wojaś-Krawczyk, 2015; Knopik-Skrocka i in., 2023). Źródłem PD-L1 w mikrośrodowisku są często same komórki nowotworowe. Interakcja między PD-1 i PD-L1 prowadzi do inaktywacji Tcyt, zwanej często anergią (uśpienie) (Krawczyk i Wojaś-Krawczyk, 2015; Knopik-Skrocka i in., 2023). Należy podkreślić, iż w praktyce klinicznej, u pacjentów stosuje się w danej linii leczenia jeden z tych wariantów ICIs (anty-PD1 lub anty-PDL1) [3]. W ramach immunoterapii ICIs stosowane są również przeciwciała anty-CTLA-4. Ich cel, czyli CTLA-4 wchodzi w interakcję z antygenami CD80/86 obecnymi na powierzchni DC, konkurując z CD28. Leki anty-CTLA4 zapobiegają inaktywacji DC i hamowaniu ich udziału w prezentowaniu antygenów wobec Tcyt (Buchbinder i Desai, 2016). Tym samym wymieniona powyżej grupa leków zmniejsza immunosupresję nowotworu. Do ICIs należą m.in. Pembrolizumab, Niwolumab i Ipilimumab (Tab. 2).



Ryc. 3. A) Schemat działania mAbs anty PD-1, B) anty PD-L1 (J. Pietrzak)

Tabela 2. Przykłady mAbs blokujących immunologiczne punkty kontrolne, ich ekspresja komórkowa oraz mechanizm działania (dane na podstawie [3])

Immunologiczny punkt kontrolny	Ekspresja komórkowa	Interakcja z	Mechanizm działania	Lek (mAbs)
CTLA-4	limfocyty T regulatorowe	CD80 i CD86	konkurowanie z CD28, związanie z CD80/86 hamuje Tcyt	Ipilimumab
PD-1	limfocyty T, limfocyty B, komórki prezentujące antygeny i NK	PD-L1	po związaniu z ligandem hamuje aktywność Tcyt	Nivolumab, Pembrolizumab

W ostatnich latach uwagę zwracają także makrofagi. Są to komórki immunologiczne zdolne do produkcji różnych czynników oraz do fagocytozy. W mikrośrodkowisku nowotworowym może dochodzić do zmiany fenotypu tych komórek z M1 (o aktywności przeciwnowotworowej) w kierunku fenotypu M2, któremu przypisuje się działanie promujące rozwój nowotworu. W ten sposób makrofagi M2 biorą udział w tworzeniu immunosupresyjnego mikrośrodkowiska (Knopik-Skrocka i in., 2023). Komórki te poprzez IL-10, jak również arginazę – 1 mogą przyczyniać się do spadku aktywności Tcyt (Tormoen i in., 2018).

Czy terapia CAR-T sięgnęła kosmosu?

Terapia CAR-T to strategia leczenia za pomocą zdrowych, ale zmodyfikowanych genetycznie limfocytów T, pochodzących od pacjenta. Modyfikacja tych komórek polega na wprowadzeniu do nich „instrukcji” w postaci genu kodującego informację o tzw. CAR (*ang. chimeric antigen receptor*). Dzięki temu w limfocytach dochodzi do ekspresji CAR na ich powierzchni. Receptor w konstrukcji CAR ma zdolność rozpoznawania w sposób bardzo selektywny antygeny obecnego na powierzchni komórek nowotworowych. Jeśli

dojdzie do rozpoznania i interakcji, następnym krokiem jest eliminacja komórek nowotworowych. Konstrukcja CAR zawiera domenę rozpoznającą antygen (część zewnątrzkomórkową), domenę transbłonową oraz domenę sygnałową (część wewnątrzkomórkową), która stymuluje proliferację limfocytów T, czy wydzielanie cytokin w celu wyeliminowania komórki docelowej (Karwicka i in., 2020).

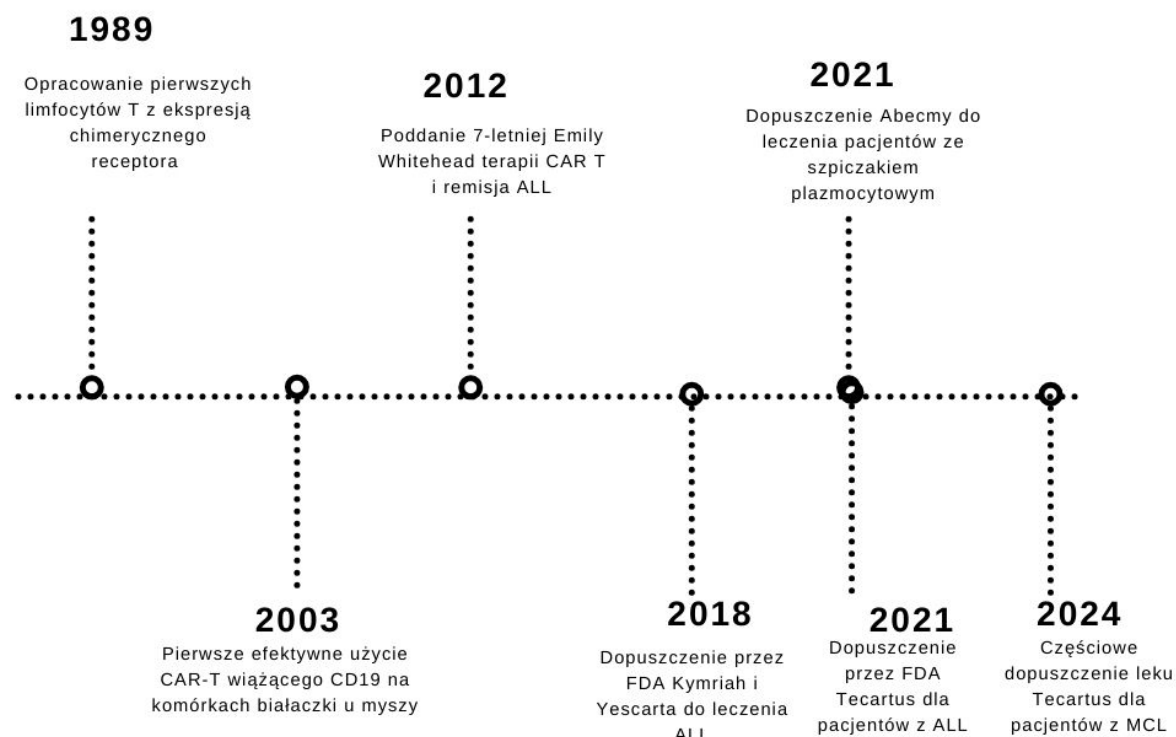
Terapia CAR-T jest obecnie dostępna na rynku farmaceutycznym jedynie dla pacjentów z wybranymi nowotworami układu krwiotwórczego i chłonnego, u których pierwsza i druga linia leczenia chemioterapią zawiodły (Styczyński, 2020). Pierwsze na świecie badania kliniczne nad skutecznością CAR-T odbyły się na pacjentach z ALL (ostre białaczki limfoblastyczne) i CLL (przewlekłe białaczki limfocytowe). Jedną z pacjentek była 7-letnia wówczas Emily Whitehead, chora na ALL. Terapia CAR-T zastosowana w roku 2012 u Emily zawierała lek w postaci CAR-T-anty-CD19. Zmodyfikowane limfocyty były zdolne do rozpoznania komórek nowotworowych ekspresujących te właśnie antygeny. Terapia okazała się skuteczna (Styczyński, 2020). Leczenie CAR-T daje remisję u kilkudziesięciu % pacjentów [4]. Nie jest to

terapia całkowicie wolna od skutków ubocznych. Do najczęstszych należy tzw. syndrom uwolnienia cytokin (*ang. CRS, cytokine release syndrom*) o różnym natężeniu u pacjentów (Gil i in., 2020).

W 2018 roku FDA (*ang. Food Drug Administration*) zaaprobowala dwa leki CAR-T o nazwie handlowej Kymriah i Yescarta (Styczyński, 2020). Oba leki posiadają CAR-T-anty-CD19. Od 2018 roku na rynku farmaceutycznym pojawiają się kolejne leki z określonymi wskazaniami medycznymi. Przykładem jest Tecartus jako lek również anty-CD19, a także Abecma będąca lekiem skierowanym przeciwko antygenowi BCMA (*ang. B-cell maturation antigen*) [5]. Warto wspomnieć o działaniach mających na celu zwiększenie skuteczności, a także bezpieczeństwa konstruktów CAR-T np. poprzez opracowywanie tzw. TRUCKs (*ang. T cells re-directed for universal cytokine killing*), reprezentujących

4 generację CAR-T, czy CAR-T 3 generacji z genem samobójczym, co ma łagodzić negatywne skutki leku u pacjenta, o których wcześniej wspomniano (Karwicka i in., 2020). Gotowość naukowców do opracowania i pozyskania tak skomplikowanych konstruktów CAR czyni tę terapię wręcz kosmiczną, czyli wielką i będącą wytworem niezwykłych osiągnięć naukowych.

Najważniejsze momenty w historii opracowania i badań nad CAR-T przedstawia Ryc. 4. Na jej podstawie widać, iż terapia ta jest ciągle udoskonalana i zwiększa się liczba możliwych zastosowań tej terapii poprzez nowe rejestracje leków, po zakończonych badaniach klinicznych. Warto dodać, iż w Polsce pierwszy pacjent otrzymał terapię CAR-T w roku 2019. Miało to miejsce w Poznaniu, a lekarzem nadzorującym była profesor Lidia Gil [4].



Ryc. 4. Oś czasu z najważniejszymi wydarzeniami w kontekście CAR-T (na podstawie Styczyński, 2020, zmienione). CAR-T- chimeric antigen receptor T cells, ALL- ostra białaczka limfoblastyczna, TRUCKs- *T cells redirected for universal cytokine killing*, CD19- antygen różnicowania komórkowego 19, MCL- chłoniak z komórek płaszczka

Nie tylko nowotwory układu krwiotwórczego, czy chłonnego mogą być wskazaniem do leczenia za pomocą terapii CAR-T. Od kilku lat prowadzone są intensywne badania nad możliwością zastosowania tej strategii w nowotworach litych. Jednak ze względu na heterogenność tych nowotworów i złożoność budowy guzów, naukowcy napotykają liczne przeszkody i utrudnienia (Masoumi i in., 2021). Problematyczny jest m.in. głąk wielopostaciowy ze względu na specyficzną barierę mechaniczną jaką jest bariera krew-mózg, utrudniająca dotarcie leku w postaci komórek CAR-T (Lin i in., 2022). W przypadku nowotworów litych przeszkodami są różne składniki mikrośrodowiska. W jego skład wchodzi komórki tkanki łącznej, tworzące podścielisko łącznotkankowe przekazujące proliferującym komórkom nowotworowym składniki odżywcze. Istotny udział w mikrośrodowisku mają również komórki immunologiczne, których liczba i skład determinuje wspomniany wcześniej profil immunologiczny nowotworów. Wreszcie naczynia krwionośne i limfatyczne obecne w guzie także mogą stanowić przeszkodę, gdyż ich struktura nie jest prawidłowa, a przepływ krwi, czy limfy spowolniony (Johnson i in., 2022).

W kontekście nowotworów litych, próby opracowania leku w postaci CAR-T skupiają się często na celu jakim są antygeny (markery) macierzystych komórek nowotworowych (CSCs). Komórki te mają cechy podobne do zdrowych, „zwykłych” komórek macierzystych (zdolność do samoodnowy), ale mają też cechy, dzięki którym wykazują zdecydowanie większą plastyczność niż zdrowe komórki macierzyste. CSCs są plastyczne zarówno metabolicznie, jak i fenotypowo, a w efekcie odporne na leczenie (Knopik-Skrocka i in., 2024). Plastyczność jest wynikiem zarówno mutacji, jak i licznych zmian epigenetycznych w tych komórkach. Przykładem markerów, które próbuje się wykorzystać jako cel dla CAR-T są CD133, CD44,

CD166, czy CD117 (Masoumi i in., 2021, Karwicka i in., 2020, Knopik-Skrocka i in., 2023). Bardzo istotnym czynnikiem utrudniającym działanie leków CAR-T w nowotworach litych jest immunosupresja, w tym Tregs, które mogą hamować aktywność CAR-T podobnie jak aktywność Tcyt (Knopik-Skrocka i in., 2023).

Terapia CAR-T jest obecnie bodaj najbardziej dyskutowaną i badaną terapią przeciwnowotworową. Także w Polsce aktualnie realizowane są badania kliniczne. Ich celem nadrzędnym jest wypracowanie polskiego „know-how” dla modyfikowania genetycznego limfocytów T, bez konieczności wysyłania niezmienionych limfocytów do zagranicznych ośrodków, by tam dopiero podlegały modyfikacji. Z wielokrotnia to bowiem koszty całej procedury. Przykładem polskich badań klinicznych w tym zakresie mogą być działania w Regionalnym Centrum Krwiotdawstwa i Krwiolecznictwa (RCKiK) w Poznaniu. Prof. dr hab. n. med. Anna Bogacz oraz dr n. med. Marta Bukowska z Pracowni Medycyny Spersonalizowanej i Terapii Komórkowej RCKiK we współpracy z Uniwersytetem Medycznym we Wrocławiu prowadzą badania kliniczne z zakresu rozwoju, optymalizacji strategii produkcji i aplikacji zmodyfikowanych genetycznie limfocytów T w hematologii [6]. Dzięki takim działaniom Polska ma szansę uniezależnić się od innych krajów w kontekście modyfikacji genetycznych limfocytów T. Wymienione powyżej badaczki zostały zaproszone na Wydział Biologii UAM (grudzień 2024) do wygłoszenia seminarium naukowego na temat prowadzonych przez nie badań w zakresie CAR-T. Takie spotkania stanowią doskonałą okazję, by nieco bliżej poznać i zadać pytania ekspertkom, które na co dzień realizują projekty naukowe nad innowacyjnymi rozwiązaniami w terapii nowotworowej.

Podsumowanie - co wiemy i dokąd powinniśmy zmierzać?

Dotychczasowy rozwój wiedzy z zakresu immunologii nowotworów i immunoterapii w bardzo istotny sposób przyczynił się do przełomu w leczeniu nowotworów. Zarówno strategie terapeutyczne oparte o ICIs, jak i ostatnie osiągnięcie w postaci terapii CAR-T można z całą pewnością uznać za kamienie milowe. Istnieje jednak jeszcze wiele przeszkód i ograniczeń w zakresie stosowania, skuteczności tych terapii, co wynika w dużej mierze ze złożoności oddziaływań między tymi lekami a organizmem pacjenta, dostępnością i aktywnością leku w guzie. Naprzeciw

wychodzą terapie kombinowane, w których stosuje się terapie celowane z chemio-, czy radioterapią. Jednym z założeń na przykład łączenia immunoterapii z radioterapią jest zwiększenie immunogenności mikrośrodowiska nowotworowego, przy równoczesnym aktywowaniu immunologicznych komórek efektorowych, takich jak Tcyt. To wydaje się dobrym kierunkiem działań. W centrum uwagi powinny być nie tylko komórki nowotworowe, ale również układ immunologiczny, tak by wszystkie jego elementy stały się sprzymierzeńcami w walce przeciw nowotworom. Główne przeszkody dla terapii przeciwnowotworowych, o których wspomniano w niniejszym artykule oraz potencjalne rozwiązania zebrano w tabeli 3.

Tabela 3. Przeszkody w terapiach oraz ich wpływ i potencjalne rozwiązania

Przeszkody dla terapii przeciwnowotworowych	Wpływ na organizm i leczenie pacjenta	Potencjalne rozwiązania problemów
niska selektywność chemioterapii	działanie na komórki chore i zdrowe; brak skuteczności wobec CSCs	terapię celowaną uderzającą w komórki z określonymi antygenami, receptorami
efekt obserwatora w radioterapii	śmierć komórek zdrowych w otoczeniu komórek nowotworowych	optymalizacja dawki promieniowania, naświetlanie punktowe - protonoterapia
angiogeneza nowotworowa	powstawanie nowotworowych naczyń krwionośnych o nieprawidłowej budowie, utrudniającej dotarcie leków do guza; udział naczyń w przerzutowaniu	użycie dostępnych leków w postaci inhibitorów czynników proangiogennych (np. anti-VEGF)
mikrośrodowisko nowotworowe	wpływ immunosupresyjny, niska ekspresja antygenów TSA, profil immunologiczny nowotworu cold, niska infiltracja CAR-T do guza	hamowanie aktywności komórek promujących nowotwór (np. Tregs, M2); łączenie immunoterapii z radioterapią; opracowanie leków nowych generacji np. TRUCKs w CAR-T;
wysoka ekspresja immunologicznych punktów kontrolnych np. PD-1, PD-L1, CTLA-4)	anergia CAR-T, niedojrzałość DC	zastosowanie przeciwciał monoklonalnych jako inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych (np. Nivolumab, Pembrolizumab)

Decydujące są zatem dalsze badania, których celem jest pełne zrozumienie biologii i immunologii nowotworów, poszukiwanie nowych, innowacyjnych podejść terapeutycznych, tak by możliwe było również wykorzystanie potencjału jakim jest prawidłowo działający układ immunologiczny. Zrealizowany proces tutorski pozwolił na uchylenie drzwi do tej niezwykle ciekawej, a zarazem złożonej tematyki, a jego owocem m.in. jest ten artykuł.

Literatura:

- Anand U., Dey A., Chandel A.K.S., Sanyal R., Mishra A., Pandey D.K., De Falco V. (2022). Cancer chemotherapy and beyond: Current status, drug candidates, associated risks and progress in targeted therapeutics. *Genes Dis.* 18;10(4):1367-1401. doi: 10.1016/j.gendis.2022.02.007.
- Buchbinder E.I., Desai A. (2016). *CTLA-4 and PD-1 pathways: similarities, differences, and implications of their inhibition*, American J. Clin., 39(1), 2016, s. 98-106.
- Folkman J. Tumor angiogenesis. Therapeutic implications. *N Eng J Med* 1971; 285: 1182-1186.
- Gil. L., Łojko-Dankowska A., Matuszak M., Wache A., Nowicki A., Graduszevska A., Niezgoda A., Dytfeld D. (2020). CAR-T cell therapy – toxicity and its management. *Acta Hematol. Pol.* 51(1) 6–10, DOI: 10.2478/ahp-2020-0003.
- Grodzka A., Knopik-Skrocka A., Kowalska K., Kurzawa P., Krzyżaniak M., Stencel K., Bryl M. (2023). „Molecular Alterations of Driver Genes in Non-Small Cell Lung Cancer – from Diagnostics to Targeted Therapy”. *EXCLI Journal*; 22. DOI: 10.17179/EXCLI2023-6122.
- Hanahan D, Weinberg R.A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100 (1), 57-70. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81683-9.
- Hanahan D, Weinberg R.A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144 (5), 646-74. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013.
- Johnson A., Townsend M., O'Neill K. (2022). Tumor Microenvironment Immunosuppression: A Roadblock to CAR T-Cell Advancement in Solid Tumors. *Cells*. 16;11(22):3626. doi: 10.3390/cells11223626. PMID: 36429054; PMCID: PMC9688327.
- Karwicka K., Wawer J., Czabak O., Kocki J., Hus M. (2020). Innowacyjna terapia CAR-T w leczeniu nowotworów hematologicznych- wybrane aspekty genetyczne i immunologiczne. *Hematologia*; 11 (3), 166-182. DOI: 10.5603/Hem.a2020.0025.
- Kierasińska A., Ciunowicz D., Węgieńska M., Stoczyńska-Fidelus E., Rieske P. (2021). CAR-T therapy in oncology and other fields of medicine. *Alergologia Polska - Polish Journal of Allergology*; 8 (2) 77–91. DOI: 10.5114/pja.2021.106685.
- Knopik-Skrocka A., Jarmołowska-Jurczyszyn D., Kręplewska P. (2017). Tumor Blood Vessels and Vasculogenic Mimicry – Current Knowledge and Searching for New Cellular/Molecular Targets of Anti-Angiogenic Therapy. *Medical Journal of Cell Biology*; 5 (1) 50-71. DOI: 10.1515/acb-2017-0005.
- Knopik-Skrocka A., Kiedrowska M., Rusiecka B. (2023). Immunogenność nowotworów oraz ich supresyjny wpływ na komórki układu immunologicznego a immunoterapia- wyzwania i perspektywy. *Oczekiwania wobec nauk biomedycznych. Trendy, wyzwania i perspektywy*. Wydawnictwo Naukowe TYGIEL, s. 41-53. ISBN 978-83-67104-73-9.
- Knopik-Skrocka A., Sempowicz A., Piwocka O. (2024). Plasticity and resistance of cancer stem cells as a challenge for innovative anticancer therapies - do we know enough to overcome this? *EXCLI J.* Feb 29;23:335-355. doi: 10.17179/excli2024-6972. PMID: 38655094; PMCID: PMC11036066.
- Krawczyk P., Wojas-Krawczyk K. (2015). Monoclonal Antibodies against Immune

- Checkpoints in Immunotherapy of Cancer Patients. *Oncology in Clinical Practice*; 11 (2) 76–86.
- Li Y., Mashouf L. A., Lim M. (2022). CAR-T Cell Therapy in Primary Brain Tumors: Current Investigations and the Future. *Frontiers in Immunology*; 13, 817296. DOI:10.3389/fimmu.2022.817296.
- Lopes-Coelho F., Martins F., Pereira S.A., Serpa J. (2021). Anti-Angiogenic Therapy: Current Challenges and Future Perspectives. *Int J Mol Sci.* 5;22(7):3765. doi: 10.3390/ijms22073765. PMID: 33916438; PMCID: PMC8038573.
- Maleki Vareki S. (2018). High and low mutational burden tumors versus immunologically hot and cold tumors and response to immune checkpoint inhibitors. *J Immunother Cancer.* 27;6(1):157. doi: 10.1186/s40425-018-0479-7. PMID: 30587233; PMCID: PMC6307306.
- Marcinkiewicz J. (2023). Funkcje i organizacja układu immunologicznego. W: *Immunologia*, red. Bryniarski K., Siedlar M. Wydawnictwo Edra Urban & Partner, s. 1-8. ISBN 978-83-67447-35-5.
- Masoumi J., Jafarzadeh A., Abdolalizadeh J., Khan H., Philippe J., Mirzaei H., Mirzaei H.R. (2021). Cancer stem cell-targeted chimeric antigen receptor (CAR)-T cell therapy: Challenges nad prospects. *Acta Pharmaceutica Sinica B*; 11 (7) 1721-1739. DOI: 10.1016/j.apsb.2020.12.015.
- Morańska K., Gwit M., Knopik-Skrocka A. (2021). Od edukacji spersonalizowanej do edukacji społecznej, czyli od pasji naukowej do studenckich projektów dotyczących nowotworów złośliwych. *Tutoring Gedanensis*, 6(1), 13-19. DOI:10.26881/tutg.2021.1.02.
- O'Sullivan É., Keogh A., Henderson B., Finn S.P., Gray S.G., Gately K. (2023). Treatment Strategies for KRAS-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. *Cancers* (Basel) 7;15(6):1635. doi: 10.3390/cancers15061635. PMID: 36980522; PMCID: PMC10046549.
- Pecorino L. (2018). Onkogeny i przekazywanie sygnałów czynników wzrostu. Rozdział 4. [w:] *Biologia molekularna nowotworów w praktyce klinicznej*. Wydanie 4 polskie. Red. Dzięgiel P., Marszałek A., s. 83-113, Wrocław, Urban & Partner.
- Stencel K., Chmielewska I., Milanowski J., Ramlau R. (2021). Non-small-cell lung cancer: new rare targets-new targeted therapies-state of the art and future directions. *Cancers* (Basel) 13(8):1829. doi: 10.3390/cancers13081829.
- Styczyński J. (2020). A brief history of CAR-T cells: from laboratory to the bedside. *Acta Haematologica Polonica*; 51, 2–5. DOI: 10.2478/ahp-2020-0002.
- Tang H., Cai L., He X., Niu Z., Huang H., Hu W., Bian H., Huang H. (2023). Radiation-induced bystander effect and its clinical implications. *Front Oncol.* 5;13:1124412. doi: 10.3389/fonc.2023.1124412. PMID: 37091174; PMCID: PMC10113613.
- Tchorzewska M., Kowalik M., Kuliś A., Olejarsz W. (2019). Mechanizmy prowadzące do angiogenezy w nowotworach. *Prospects in Pharmaceutical Sciences*; 17 (10) 60–65. DOI: 10.56782/pp.20.
- Tormoen G.W., Crittenden M.R., Gough M.J. (2018). Role of the immunosuppressive microenvironment in immunotherapy. *Advanced in Radiation Oncology*, 3 (4), 520-526. DOI: 10.1016/j.adro.2018.08.018.
- Wagner, A.D. (2020). Sex differences in cancer chemotherapy effects, and why we need to reconsider BSA-based dosing of chemotherapy". *ESMO Open*; 5. DOI: 10.1136/esmoopen-2020-000770.
- Wang S., He Z., Wang X., Li H., Liu X.S. (2019). Antigen presentation and tumor immunogenicity in cancer immunotherapy response prediction. *Elife.* 26;8:e49020. doi: 10.7554/eLife.49020. PMID: 31767055; PMCID: PMC6879305.
- Xie N., Shen G., Gao W., Huang Z., Huang C., Fu L. (2023). Neoantigens: promising targets for cancer therapy. *Signal Transduct Target Ther.* 6;8(1):9. doi:

10.1038/s41392-022-01270-x. PMID:
36604431; PMCID: PMC9816309.

Zhu S., Wang Y., Tang J., Cao M. (2022). Radio-
therapy induced immunogenic cell
death by remodeling tumor immune
microenvironment. *Front. Immunol.*
13:1074477,
DOI:10.3389/fimmu.2022.1074477.

Źródła internetowe:

- [1] „Godlewski x Morańska o ludziach”, 2020.
Odcinek 1 cyklu wywiadów podcasto-
wych „Skarby w dłoń” [online],
[https://open.spotify.com/epi-
sode/4qbthKLq8lll5qBr9FreyB?si=ghWY
ELGfSQ2LuFhCcy2d_Q](https://open.spotify.com/episode/4qbthKLq8lll5qBr9FreyB?si=ghWYELGfSQ2LuFhCcy2d_Q) [Dostęp
19.02.2025].
- [2] Knopik-Skrocka x Gwit „Co w laboratorium
piszczy?”, 2020. Odcinek 5 cyklu wywia-
dów podcastowych „Skarby w dłoń”
[online], [https://open.spotify.com/epi-
sode/5PzFRIREsDA8BVFONyHkCw](https://open.spotify.com/episode/5PzFRIREsDA8BVFONyHkCw) [Do-
stęp 19.02.2025].
- [3] Blokada punktów kontrolnych układu odpor-
nościowego, 2018, [https://immuno-on-
kologia.pl/blokada-punktow-kontrol-
nych-ukladu-odpornosciowego/](https://immuno-onkologia.pl/blokada-punktow-kontrolnych-ukladu-odpornosciowego/) [Do-
stęp 19.02.2025].
- [4] Gil L. Wykład podczas XII Międzynarodowej
Konferencji Współczesnej Onkologii
[online], [https://www.termedia.pl/onko-
logia/Prof-Lidia-Gil-o-polskich-doswiad-
czeniach-w-stosowaniu-CAR-
T,41821.html](https://www.termedia.pl/onkologia/Prof-Lidia-Gil-o-polskich-doswiadczeniach-w-stosowaniu-CAR-T,41821.html) [Dostęp 19.02.2025].
- [5] Abecma (idecabtagene vicleucel) w leczeniu
szpiczaka mnogiego, 2021. *Immuno-on-
kologia* [online], [https://immuno-onko-
logia.pl/abecma-idecabtagene-vicleu-
cel-szpiczak-mnogi/](https://immuno-onkologia.pl/abecma-idecabtagene-vicleucel-szpiczak-mnogi/) [Dostęp
19.02.2025].
- [6] Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwio-
lecznictwa w Poznaniu – badania kli-
niczne [https://www.rckik.po-
znan.pl/agencja-badan-medycznych](https://www.rckik.poznan.pl/agencja-badan-medycznych)
[Dostęp 19.02.2025].

Notka o autorkach: *Julia Pietrzak – studentka
II roku studiów I stopnia kierunek Biologia na
WB UAM w Poznaniu, uczestnicząca w proce-
sie tutorskim w roku akademickim 2023–24.
Zainteresowania naukowe skupiają się wokół
biologii molekularnej, procesów nowotworze-
nia i najnowszych terapii nowotworowych.*

*Agnieszka Knopik-Skrocka, dr, prof. UAM, tu-
tor, akredytowany praktyk tutoringu, opiekun
naukowy sekcji Biologii Nowotworów i Onko-
logii Klinicznej, pełnomocnik Dziekana WB ds.
tutoringu i mentoringu na WB, członek Rady
ds. tutoringu i mentoringu WB.*