

CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty a také se ztrátou exprese molekul MHC I. třídy (36, 37). Dalším z možných mechanismů získané rezistence je mutace v genu JAK 1/2, která je odpovědná za sníženou citlivost nádorových buněk na signalizaci INF- $\gamma$  a byla detekována u pacientů, kteří vykazovali selhání imunoterapie po úvodní dobré terapeutické odpovědi (38). Po expozici nádorových buněk INF- $\gamma$ , který je produkován aktivovanými T-lymfocyty, se aktivuje JAK 1/2 kináza a následně dochází k fosforylaci STAT proteinu. Tato signální dráha JAK/STAT je odpovědná za buněčnou proliferaci, diferenciaci, migraci a apoptotickou buněčnou smrt. Získaná mutace v genu JAK poté tuto signalizaci nekontrolovatelně aktivuje (38, 39). INF- $\gamma$  však také vede i k up-regulaci exprese PD-L1 na nádorových buňkách, čímž se podílí na senzibilizaci nádoru na terapii check-point inhibitory (40). Získaná rezistence se navíc může vyskytnout na úrovni jednotlivé buňky, přičemž nádorové buňky mění svoji genovou expresi v reakci na signalizaci imunitních buněk z nádorového mikroprostředí (35). Příkladem těchto mechanismů je navození exprese PD-L1 v nádorových buňkách pod vlivem signalizace INF- $\gamma$ , navíc exprese PD-L1 patří mezi mechanismy jak primární, tak i získané rezistence, což ukazuje na plasticitu nádorových buněk a jejich schopnost unikat obranným mechanismům jedince a léčebné strategii (35, 41).

Další markery kontrolních mechanismů imunitního systému a jejich exprese je spojena se získanou rezistencí na imunoterapii. Jedná se o gen 3 aktivující lymfocyty (LAG-3), imunoglobulin T-lymfocytů a mucinovou doménu 3 obsahující aktivátor lymfocytů (TIM-3), které byly exprimovány u pacientů, u kterých došlo k selhání terapie check-point inhibitory (42). Cílená blokáda TIM-3 v myším melanomovém modelu vede ke zlepšení přežití a expresi INF- $\gamma$  s následnou proliferací a infiltrací CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů v melanomech. Exprese LAG-3 byla detekována v PD-L1 pozitivních melanomech, což může naznačovat roli LAG-3 při procesech podílejících se na úniku melanomu před imunitním systémem (42, 43).

### Střevní mikrobiom – jeden z možných klíčů k rezistenci?

Střevní mikrobiom je stále více uznávaným faktorem, který může ovlivnit imunolo-

gické chování jedince a v kontextu s nádorovou problematikou i terapeutickou odpověď na check-point inhibitory. Vliv mikrobiomu je hojně diskutován v celé řadě odvětví medicíny, ale v léčbě onkologických onemocnění mu byla věnována pozornost až se zavedením terapie check-point inhibitory, a především při hledání mechanismů rezistence na tuto léčbu. Bylo zjištěno, že pacienti s terapeutickou odpovědí na check-point inhibitory mají odlišný střevní mikrobiom od pacientů, kteří terapeutickou odpověď nevykazují. Samotné mechanismy spojující mikrobiom a imunologickou odpověď pacientů jsou zatím ne zcela jednoznačně vysvětlitelné, ale navzdory tomu se jedná o nezanedbatelný faktor, který ovlivňuje imunologické chování a pravděpodobně i terapeutickou odpověď na imunoterapii.

První práce upozorňující na vliv střevního mikrobiomu na terapeutickou odpověď na check-point inhibitory u pacientů s melanomem byla publikována v roce 2015, na základě studie 25 pacientů léčených ipilimumabem. V této práci byla zjištěna lepší protinádorová odpověď u pacientů s přítomnými střevními bakteriemi *Bacteroides* (*B. fragilis* a/nebo *B. thetaiotaomicron*) a *Burkholderiales cepacia* (44). V myším melanomovém modelu bylo dosaženo, po obohacení myši střevní mikroflóry cíleně o druhy *Bifidobacterium*, resp. *B. breve* a *B. longum*, zlepšené terapeutické odpovědi na anti-PD-L1 protilátku, dále došlo k výrazně vyšší infiltraci nádoru CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty (45). V následujících studiích bylo prokázáno celé spektrum bakterií, které se mohou podílet na příznivé střevní mikroflóře pro adekvátní imunologickou odpověď na check-point inhibitory (46). Poměrně revoluční jsou ale práce poukazující na možnost „transplantace stolice“, resp. přenos střevního mikrobiomu od pacientů s dobrou odpovědí na check-point inhibitory pacientům bez terapeutické odpovědi, a tak se pokusit zvrátit nepříznivé imunologické chování těchto pacientů (47). Z klinických a preklinických studií, kde byl hodnocen střevní mikrobiom, vyplývá, že např. terapie širokospektrými antibiotiky před léčbou či v úvodu terapie check-point inhibitory může výrazně nepříznivě ovlivnit jak stav mikrobiomu pacienta, tak i terapeutickou odpověď (48).

Samotný mechanismus funkce a stimula-  
ce imunitního systému cestou střevního

mikrobiomu je poměrně komplikovaný a zatím i nedostatečně prostudovaný jev. Práce doposud publikované na toto téma přinášejí poměrně zajímavé informace, které však bude nutné ověřit ve velkých multicentrických studiích. Z prvních experimentálních a preklinických studií vyplývá, že pacienti léčení anti-PD-1, kteří měli přítomné bakterie rodu *Faecalibacterium*, mají větší poměr cirkulujících CD4<sup>+</sup> a CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů. U pacientů, kteří terapeutickou odpověď nevykazovali, byly přítomné bakterie rodu *Bacteroidales*, navíc u těchto pacientů byly vyšší hodnoty cirkulujících Treg lymfocytů s méně aktivovanou expresí zánětlivých cytokinů (49). V další práci bylo prokázáno, že skupina pacientů s terapeutickou odpovědí měla opět odlišný mikrobiom (převážně zastoupení *Faecalibacterium*) oproti pacientům bez odpovědi (převážně *Bacteroides*). Navíc pacienti s terapeutickou odpovědí měli vyšší hladinu CD25 (a řetězec receptoru pro IL-2) a nižší zastoupení cirkulujících Treg lymfocytů a nižší zastoupení  $\alpha 4\beta 7^+$  T-lymfocytů (50). V myším melanomovém modelu bylo po podání střevního mikrobiomu od pacientů s terapeutickou odpovědí na check-point inhibitory dosaženo vyšší infiltrace TILs s CD8<sup>+</sup> T-lymfocyty oproti myším, kde byl podán mikrobiom od pacientů bez terapeutické odpovědi. V myších s mikrobiomem od pacientů s odpovědí bylo prokázáno vyšší zastoupení vrozených efektorových buněk (CD45<sup>+</sup>, CD11b<sup>+</sup>, Ly6G<sup>+</sup>) s odpovídající deplecí v myeloidních buňkách (CD11b<sup>+</sup>, CD11c<sup>+</sup>). V nádorech u myši s mikrobiomem od pacientů bez odpovědi byl vyšší počet Th (pomocných) 17 lymfocytů (49, 51). Poměrně zásadní je práce Tanoue a jeho spolupracovníků, kteří studovali složení střevního mikrobiomu od zdravých jedinců a podařilo se jim identifikovat soubor 11 kmenů (7 *Bacteroidales* a 4 druhů jiných než *Bacteroidales*), které následně naočkovali do myšího modelu. V tomto modelu poté došlo ke zvýšení CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů v epitelu tlustého střeva, ale navíc byla pozorována významná up-regulace genů regulujících INF- $\gamma$ , konkrétně CXCL9 a CXCL10. Tento střevní mikrobiom byl navíc schopen potencovat efekt anti-PD-1 a anti-CTLA-4 v myším modelu karcinomu tlustého střeva, kde byla patrná exprese INF- $\gamma$  a infiltrát CD8<sup>+</sup> T-lymfocytů