

**Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



Hana Pachmanová

**Mechanismy rezistence karcinomu pankreatu k chemoterapii a
imunoterapii**

Mechanisms of resistance to chemotherapy and immunotherapy in pancreatic carcinoma

Bakalářská práce

Vedoucí práce: RNDr. Marek Kovář, Ph.D.

Praha, 2025

Poděkování:

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Markovi Kovářovi, Ph.D. za jeho čas a cenné rady při psaní této bakalářské práce. Velké díky patří také Mgr. Kateřině Běhalové za její vstřícnost, ochotu, podporu a čas, který mi věnovala. Děkuji mé rodině a přátelům, kteří mě podporovali během studia.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Při psaní této práce jsem využila nástroj umělé inteligence ChatGPT k hledání odborných informačních zdrojů. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne 26. 4. 2025

Hana Pachmanová

ABSTRAKT

Duktální adenokarcinom pankreatu (PDAC) je vysoce agresivní zhoubné onemocnění s vysokou mortalitou. Jeho pětiletá míra přežití je jedna z nejnižších mezi maligními chorobami zejména kvůli diagnóze v pozdních stádiích onemocnění a omezené účinnosti dostupné léčby. Nádorové mikroprostředí PDAC, tvořené nádorovými, stromálními a imunitními buňkami a jimi secernovanými molekulami, má vysoce imunosupresivní charakter a zprostředkovává mechanismy rezistence nádoru vůči chemoterapii a imunoterapii. Mezi dostupné léčebné modalitty PDAC patří převážně chirurgická resekce a systémová chemoterapie, a to buď ve formě kombinovaného režimu FOLFIRINOX, kombinace gemcitabinu s nab-paklitaxelem, nebo jako monoterapie gemcitabinem. Chemoterapie však nevede k výrazné odezvě a pouze mírně prodlužuje život pacientů trpících PDAC. Protinádorová imunoterapie v posledních letech zaznamenala významný pokrok a stala se konvenční léčbou řady malignit. V kontextu léčby PDAC se však imunoterapie potkává s nízkou odpovědí a omezenou účinností. V současnosti probíhá intenzivní vývoj inovativních terapeutických postupů, které si kladou za cíl obejít mechanismy rezistence PDAC k chemoterapii a imunoterapii a zvýšit jejich léčebný potenciál.

Klíčová slova: pankreatický karcinom, chemoterapie, imunoterapie, nádorové mikroprostředí, chemorezistence, únik imunitnímu systému

ABSTRACT

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is a highly aggressive malignant disease with a high mortality rate. Its five-year survival rate is among the lowest of all malignancies, primarily due to diagnosis at advanced stages of the disease and the limited efficacy of available treatments. The tumor microenvironment of PDAC, composed of tumor, stromal, and immune cells along with the molecules they secrete, has a highly immunosuppressive nature and mediates mechanisms of resistance to both chemotherapy and immunotherapy. The main therapeutic modalities available for PDAC include surgical resection and systemic chemotherapy, administered either as the combined FOLFIRINOX regimen, a combination of gemcitabine and nab-paclitaxel, or as gemcitabine monotherapy. However, chemotherapy generally does not elicit a significant response and only modestly prolongs the survival of patients with PDAC. Cancer immunotherapy has made substantial progress in recent years and has become a standard treatment for several malignancies. In the context of PDAC, however, immunotherapy is associated with low responsiveness and limited efficacy. Currently, there is intensive development of innovative therapeutic strategies aimed at overcoming the mechanisms of PDAC resistance to chemotherapy and immunotherapy and enhancing their therapeutic potential.

Key words: pancreatic carcinoma, chemotherapy, immunotherapy, tumor microenvironment, chemoresistance, immune evasion

SEZNAM ZKRATEK

5-FU	5-Fluorouracil	5-fluorouracil
A2AR	Adenosine A2A Receptor	Receptor A2A pro adenosin
ABC	ATP-Binding Cassette	Kazeta vázající ATP
ADM	Acinar-ductal metaplasia	Acinárně-ductální metaplázie
AIF	Apoptosis-Inducing Factor	Apoptózu indukující faktor
AkT	Thymomas of AKR mice/ Protein Kinase B	Protein kináza B
AKT2	RAC-beta serine/threonine- protein kinase	Serin/threoninová-proteinová kináza RAC-beta
Apaf-1	Apoptotic protease activating factor 1	Aktivační faktor apoptotické proteázy 1
apCAFs	Antigen-presenting Cancer- Associated Fibroblasts	Antigen prezentující fibroblasty asociované s nádorem
APCs	Antigen Presenting Cells	Antigen prezentující buňky
APE1	Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease 1	Apurinická/apyrimidinická endonukleáza 1
Arg1	Arginase 1	Argináza 1
Asp	Aspartate	Asparát
ATM	Ataxia Telangiectasia Mutated	
ATP	Adenosine Triphosphate	Adenosintrifosfát
BAX	Bcl-2-associated X protein	Bcl-2-asociovaný X protein
Bcl-2	B-cell lymphoma 2	Lymfom B-buněk 2
Bcl-xL	B-cell lymphoma-extra large	Lymfom B-buněk extra velký

BCRP	Breast Cancer Resistance Protein	Protein rezistence rakoviny prsu
BER	Base Excision Repair	Bázová excizní oprava
BIK	Bcl-2-interacting killer	Bcl-2-interagující zabíječ
<i>BRCA</i>	Breast Cancer 1/2	Rakovina prsu
CAF	Cancer-Associated Fibroblast	Fibroblast asociovaný s nádorem
CAR	Chimeric Antigen Receptor	Chimérický antigenní receptor
CCL	C-C Motif Chemokine Ligand	Ligand chemokinu s motivem C-C
<i>CCND1</i>	Cyclin D1	Cyklin D1
CCR2	C-C Motif Chemokine Receptor 2	Receptor chemokinu s motivem C-C 2
CDA	Cytidine Deaminase	Cytidin deamináza
<i>CDKN2A</i>	Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A	Inhibitor cyklin-dependentní kinázy 2A
c-FLIPL	Cellular FLICE-like inhibitory protein long form	Buněčný FLICE-podobný inhibiční protein (dlouhá forma)
cIAP1/2	Cellular Inhibitor of Apoptosis Proteins 1/2	Buněčné inhibitory apoptózy 1/2
<i>circFARP1</i>	Circular RNA FARP1	cirkulární RNA FARP1
CRISPR/Cas9	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/CRISPR-associated protein 9	Seskupené pravidelně rozložené krátké palindromické repetice/CRISPR-asociovaný protein 9
CSFRI	Colony Stimulating Factor Receptor 1	Receptor pro kolonie stimulující faktor 1
CTL	Cytotoxic T Lymphocyte	Cytotoxický T-lymfocyt

CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte-Associated Protein 4	Cytotoxický T-lymfocytární antigen 4
CXCL	C-X-C Motif Chemokine Ligand	Ligand chemokinu s motivem C-X-C
CXCR	C-X-C Motif Chemokine Receptor	Receptor chemokinu s motivem C-X-C
CYR61	Cysteine-rich angiogenic inducer 61	Induktor angiogeneze bohatý na cystein 61
dCK	Deoxycytidine kinase	Deoxycytidin kináza
DcR3	Decoy receptor 3	Decoy receptor 3
DCTD	Deoxycytidylate deaminase	Deoxycytidylát deamináza
dCTP	Deoxycytidine triphosphate	Deoxycytidintrifosfát
dFdC	2',2'-difluorodeoxycytidine (gemcitabine)	2',2'-difluorodeoxycytidin (gemcitabin)
dFdCDP	Gemcitabine diphosphate	Gemcitabin difosfát
dFdCMP	Gemcitabine monophosphate	Gemcitabin monofosfát
dFdCTP	Gemcitabine triphosphate	Gemcitabin trifosfát
DISC	Death-Inducing Signaling Complex	Smrt-indukující signální komplex
DLL	Delta-like ligand	Ligand podobný deltě
DNA	Deoxyribonucleic Acid	Deoxyribonukleová kyselina
DNA-PKcs	DNA-dependent protein kinase catalytic subunit	Katalytická podjednotka DNA-dependentní protein kinázy
DR4/5	Death Receptor 4/5	Receptor smrti 4/5
DUSP6	Dual Specificity Phosphatase 6	Duálně specifická fosfatáza 6
ECM	Extracellular Matrix	Extracelulární matrix

EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor	Receptor epidermálneho rústového faktoru
ER	Endoplasmic Reticulum	Endoplazmatické retikulum
ERCC1	Excision Repair Cross-Complementation Group 1	
ERK2	Extracellular signal-Regulated Kinase 2	Extracelulárním signálom regulovaná kináza 2
FADD	Fas-Associated protein with Death Domain	Fas-asociovaný protein s doménou smrti
FAP	Fibroblast Activation Protein	Protein aktivujúci fibroblasty
Fas	Fas receptor	Fas receptor
FasL	Fas ligand	Fas ligand
F-dU	5-Fluoro-2'-deoxyuridine	5-fluoro-2'-deoxyuridin
F-dUDP	5-Fluoro-2'-deoxyuridine diphosphate	5-fluoro-2'-deoxyuridin difosfát
F-dUMP	5-Fluoro-2'-deoxyuridine monophosphate	5-fluoro-2'-deoxyuridin monofosfát
F-dUTP	5-Fluoro-2'-deoxyuridine triphosphate	5-fluoro-2'-deoxyuridin trifosfát
FEN1	Flap Endonuclease 1	Flap endonukleáza 1
FOLFIRINOX	Folinic Acid, Fluorouracil, Irinotecan, Oxaliplatin	Folinát vápenatý, fluorouracil, irinotekan, oxaliplatina
Foxp3	Forkhead box P3	Forkhead box protein P3
F-UMP	5-Fluorouridine monophosphate	5-fluorouridin monofosfát
F-UTP	5-Fluorouridine triphosphate	5-fluorouridin trifosfát
Gal9	Galectin 9	Galektin 9

GLUT1	Glucose Transporter Type 1	Glukózový transportér 1. typu
GM-CSF	Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor	Faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů
GR	Glucocorticoid Receptor	Glukokortikoidní receptor
GRP78	Glucose-Regulated Protein 78	Glukózou regulovaný protein 78
GTP	Guanosine Triphosphate	Guanosintrifosfát
hCNT1/3	Human Concentrative Nucleoside Transporter 1/3	Lidský koncentrační transportér nukleosidů 1/3
hENT1	Human Equilibrative Nucleoside Transporter 1	Lidský ekvilibrační transportér nukleosidů 1
<i>Hes1</i>	Hairy and Enhancer of Split-1	Hairy a enhancer split-1
<i>Hey1</i>	Hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif protein 1	Protein příbuzný Hairy/enhancer-of-split s motivem YRPW 1
HK2	Hexokinase 2	Hexokináza 2
HLA	Human Leukocyte Antigen	Lidský leukocytární antigen
hNTs	Human Nucleoside Transporters	Lidské transportéry nukleosidů
HtrA2/Omi	High temperature requirement A2/Omi stress-regulated endoprotease	Endoproteáza regulovaná stresem HtrA2/Omi
IAPs	Inhibitors of Apoptosis Proteins	Inhibitory apoptotických proteinů
IDO1	Indoleamine 2,3-dioxygenase 1	Indoleamin-2,3-dioxygenáza 1
IFNγ	Interferon gamma	Interferon gamma
IKK	I κ B Kinase	I κ B kináza
IL	Interleukin	Interleukin

IL1-R1	Interleukin 1 Receptor Type 1	Receptor pro interleukin 1 typu 1
IPMN	Intraductal Papillary Mucinous Neoplasm	Intraduktální papilární mucinózní neoplázie
IRAK4	Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 4	Kináza asociovaná s receptorem interleukinu 1 typu 4
ITSM	Immunoreceptor Tyrosine-based Switch Motif	Imunoreceptorový motiv založený na tyrosinu
IκBα	NF-κB inhibitor alpha	Inhibitor NF-κB alfa
JAG	Jagged	Ligandy Jagged
KRAS	Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog	
LAG-3	Lymphocyte Activation Gene 3	Lymfocytární aktivační gen 3
LDHA	Lactate Dehydrogenase A	Laktátdehydrogenáza A
LIF	Leukemia Inhibitory Factor	Leukemický inhibiční faktor
mAbs	Monoclonal Antibodies	Monoklonální protilátky
MAML1	Mastermind Like Transcriptional Coactivator 1	Mastermind-like transkripční koaktivátor 1
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase	Mitogenem aktivovaná protein kináza
MARCO	Macrophage Receptor with Collagenous Structure	Receptor makrofágů s kolagenovou strukturou
MCN	Mucinous Cystic Neoplasms	Mucinózní cystické neoplázie
MDR1	Multidrug Resistance Protein 1	Mnohočetná léková rezistence 1
MDSC	Myeloid-Derived Suppressor Cells	Myeloidní supresorové buňky

MEK	Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase	Mitogenem aktivovaná protein kináza kináza
mFOLFIRINOX	Modified FOLFIRINOX	Modifikovaný FOLFIRINOX
MHC I/II	Major Histocompatibility Complex class I/II	Hlavní histokompatibilní komplex třídy I/II
MICA/B	MHC Class I Polypeptide-Related Sequence A/B	Sekvence A/B příbuzná polypeptidům MHC I
MMR	Mismatch Repair	Oprava chybného párování
MPACT	Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma Clinical Trial	Klinická studie metastatického adenokarcinomu pankreatu
MRP1	Multidrug Resistance-associated Protein 1	Protein asociovaný s mnohočetnou lékovou rezistencí 1
mTOR	Mechanistic Target of Rapamycin	Mechanistický cíl rapamycinu
mTORC	Mechanistic Target of Rapamycin Complex	Komplex mechanistického cíle rapamycinu
MyD88	Myeloid Differentiation Primary Response 88	Primární odpověď myeloidní diferenciace 88
nab	Nanoparticle albumin-bound	Navázaný na albuminové nanočástice
NALIRIFOX	Liposomal irinotecan, leucovorin, fluorouracil, oxaliplatin	Lipozomální irinotekan, leukovorin, fluorouracil, oxaliplatina
NBR1	Next to <i>BRCA1</i> gene 1 protein	Protein 1 vedle genu <i>BRCA1</i>
NDPK	Nucleoside Diphosphate Kinase	Nukleosid-difosfátová kináza
NER	Nucleotide Excision Repair	Excizní nukleotidová oprava
NF-κB	Nuclear Factor- κB	Nukleární faktor- κB

NHEJ	Non-Homologous End Joining	Nemohologní spojování konců
NICD	Notch Intracellular Domain	Intracelulární doména Notch
NK	Natural Killer cell	Přirozený zabíječ (NK buňka)
NKG2A	Natural Killer Group 2A receptor	Receptor skupiny 2A NK buněk
NKG2D	Natural Killer Group 2D receptor	Receptor skupiny 2D NK buněk
NMPK	Nucleoside Monophosphate Kinase	Nukleosidmonofosfát kináza
NO	Nitric Oxide	Oxid dusnatý
OA	Oncolytic adenovirus	Onkolytický adenovirus
OASL	2'-5'-Oligoadenylate Synthetase Like	2'-5'-oligoadenylát syntetáza-like
<i>PALB2</i>	Partner and Localizer of <i>BRCA2</i>	Partner a lokalizátor <i>BRCA2</i>
PanIN	Pancreatic Intraepithelial Neoplasia	Pankreatická intraepiteliální neoplázie
PARP	Poly (ADP-Ribose) Polymerase	Poly(ADP-ribóza) polymeráza
PD-1	Programmed Death 1	Programovaná smrt 1
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor	Destičkový růstový faktor
PDK1	3-Phosphoinositide-dependent protein kinase-1	3-fosfatidylinositid-dependentní protein kináza 1
PD-L1	Programmed Death-Ligand 1	Ligand PD-1
PGE2	Prostaglandin E2	Prostaglandin E2
P-gp	P-glycoprotein	P-glykoprotein

PI3K	Phosphatidylinositol 3-Kinase	Fosfatidylinositol-3-kináza
PIP3	Phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate	Fosfatidylinositol-(3,4,5)-trisfosfát
PKM2	Pyruvate Kinase M2	Pyruvátkináza M2
PNETs	Pancreatic Neuroendocrine Tumors	Pankreatické neuroendokrinní nádory
PSCs	Pancreatic Stellate Cells	Pankreatické stelární buňky
PTGS2	Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2	Prostaglandin-endoperoxid syntáza 2
Rb	Retinoblastoma protein	Retinoblastomový protein
RRM1/2/2B	Ribonucleotide Reductase M1/M2/M2B	Ribonukleotid reduktáza M1/M2/M2B
Shh	Sonic Hedgehog	Sonic Hedgehog
SHP2	Src Homology 2 Domain-containing Phosphatase 2	Fosfatáza obsahující doménu Src Homology 2
Smac/DIABLO	Second mitochondria-derived activator of caspase/Direct IAP-binding protein with low pI	Druhý mitochondriálně odvozený aktivátor kaspáz/Protein vážící IAP s nízkým pI
Syk	Spleen Tyrosine Kinase	Tyrosinová kináza sleziny
TAMs	Tumor-Associated Macrophages	Makrofágy asociované s nádorem
TCR	T-cell Receptor	T-buněčný receptor
TGF-β	Transforming Growth Factor Beta	Transformující růstový faktor beta
Th	T-helper cells	Pomocné T-lymfocyty
TIGIT	T-cell Immunoreceptor with Ig and ITIM domains	Imunoreceptor T-buněk s doménami Ig a ITIM

TIM-3	T-cell Immunoglobulin and Mucin-domain containing-3	T buněčný imunoglobulinový a mucinový receptor 3
TME	Tumor Microenvironment	Nádorové mikroprostředí
TNF	Tumor Necrosis Factor	Nádorový nekrotizující faktor
TNFR1	Tumor Necrosis Factor Receptor 1	Receptor nádorového nekrotizujícího faktoru 1
TNM	Tumor, Nodes, Metastasis	Nádor, uzliny, metastázy
TopoI	Topoisomerase I	Topoizomeráza I
TRADD	TNFR1-Associated Death Domain Protein	Protein domény smrti asociovaný s TNFR1
TRAF	TNF Receptor-Associated Factor	Faktor asociovaný s TNF receptorem
TRAIL	TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand	Ligand indukující apoptózu příbuzný TNF
Treg	Regulatory T Cells	Regulační T-lymfocyty
TS	Thymidylate Synthase	Thymidylát syntáza
UPR	Unfolded Protein Response	Odpověď na nesbalený protein
VISTA	V-domain Ig suppressor of T-cell activation	T buněčný imunoglobulinový a mucinový receptor 3
wt	Wild Type	Divoký typ
XIAP	X-linked Inhibitor of Apoptosis Protein	X-vázaný inhibitor apoptózy
XRCC1	X-ray Repair Cross-Complementing Protein 1	Protein XRCC1
ZAP70	Zeta-chain-associated protein kinase 70	Kináza asociovaná s řetězcem zeta 70
α-SMA	α -Smooth Muscle Actin	α -hladkosvalový aktin

OBSAH:

1.	Úvod	1
2.	Nádory pankreatu	1
2.1.	Neuroendokrinní nádory	3
2.2.	Exokrinní nádory	3
2.2.1.	Duktální adenokarcinom pankreatu	3
3.	Chemoterapie PDAC	4
3.1.	FOLFIRINOX	5
3.2.	Kombinace gemcitabinu a paklitaxelu	6
3.3.	Nová chemoterapeutika a jejich kombinace pro terapii PDAC v experimentálním vývoji a testování	7
4.	Experimentální imunoterapie PDAC	9
4.1.	Inhibitory kontrolních bodů imunitního systému	9
4.1.1.	Anti-PD-1 mAbs	9
4.1.2.	Anti-CTLA-4 mAbs	10
4.1.3.	Jiné významné inhibiční molekuly T a NK buněk jako cíle imunoterapie PDAC	11
4.2.	Adoptivní buněčná terapie	11
4.3.	Terapie pomocí onkolytických virů	12
4.4.	Kombinace imunoterapie a jiných přístupů	12
5.	Nádorové mikroprostředí PDAC a jeho hlavní charakteristiky z hlediska citlivosti k chemoterapii a imunoterapii	13
5.1.	Charakterizace nádorových buněk PDAC	13
5.1.1.	Mechanismy rezistence PDAC k chemoterapii	15
5.1.1.1.	Expresce ABC transportérů	15
5.1.1.2.	DNA reparační mechanismy	16
5.1.1.3.	Regulace indukce apoptózy	17
5.1.2.	Mechanismy rezistence PDAC k imunoterapii	19
5.1.2.1.	Expresce MHC I a neoantigenů	19
5.1.2.2.	Expresce koinhibičních molekul	20
5.1.2.3.	Produkce imunosupresivních faktorů	21
5.1.2.4.	Rezistence k efektorovým mechanismům T a NK buněk	22
5.2.	Role nenádorových buněk v nádorovém mikroprostředí PDAC z hlediska citlivosti k chemoterapii a imunoterapii	23
5.2.1.	CAFs a jimi zprostředkovaná rezistence k chemoterapii a imunoterapii	23
5.2.2.	TAMs v kontextu rezistence PDAC k imunoterapii	24
5.2.3.	Treg mediovaná rezistence k imunoterapii	26
5.2.4.	MDSC a jejich role v imunoterapii PDAC	28
6.	Závěr	28
7.	Seznam použité literatury	29

1. Úvod

Zhoubné nádory představují jednu z nejzávažnějších skupin onemocnění s vysokou mortalitou na světě. Rakovinné buňky se vyznačují schopností nekontrolovaně proliferovat, unikat programované buněčné smrti, odolávat imunitnímu systému a přizpůsobovat se nepříznivým podmínkám. Vysoká genetická a fenotypová variabilita nádorových buněk přitom zásadně komplikuje vývoj účinných léčebných strategií napříč různými typy malignit. V posledních letech přinesla imunoterapie výrazné pokroky v léčbě některých typů rakoviny, jako je melanom nebo nemalobuněčný karcinom plic. U celé řady malignit však zůstává její efektivita velmi omezená. Stejně tak klasická chemoterapie často selhává z důvodu přirozené nebo získané chemorezistence nádorových buněk.

Jedním z typických příkladů nádorů s mimořádnou odolností vůči léčbě je karcinom pankreatu. Toto onemocnění se vyznačuje komplexními mechanismy rezistence, které výrazně snižují účinnost dostupných léčebných metod a přispívají k jeho nepříznivé prognóze.¹

Cílem této práce je shrnout současné poznatky o molekulárních a buněčných mechanismech rezistence karcinomu pankreatu vůči chemoterapii a imunoterapii a představit aktuálně zkoumané terapeutické strategie, jejichž cílem je tuto rezistenci překonat.

2. Nádory pankreatu

Rakovina slinivky břišní je vysoce agresivní onemocnění s velmi nepříznivou prognózou. Pětileté přežití tohoto onemocnění činí ~9 %. Vysoká úmrtnost spojená s rakovinou pankreatu je z velké části zapříčiněna diagnózou v pozdních klinických stádiích u velké většiny pacientů a silnou rezistencí těchto novotvarů vůči chemoterapii a imunoterapii.²

Karcinom pankreatu je celosvětově dvanáctým a v České republice osmým nejčastějším rakovinným onemocněním. Celosvětově má šestou nejvyšší mortalitu z nádorových onemocnění. V roce 2022 bylo zaznamenáno 510 992 nových případů, z toho 2479 v České republice. Tentýž rok na něj zemřelo 467 409 pacientů, z toho 2309 v České republice.^{3,4}

Nemoc se vyskytuje převážně u lidí starších 60 let. Mezi rizikové faktory pro vznik rakoviny slinivky břišní patří kromě genetických predispozicí také obezita, nadměrná konzumace alkoholu (≥ 30 g alkoholu denně), snížená fyzická aktivita a onemocnění pankreatu jako jsou diabetes mellitus 2. typu či chronická pankreatitida. Hlavním rizikovým faktorem pro onemocnění karcinomem pankreatu je kouření tabáku. Při počtu <10 vykouřených cigaret denně stoupá riziko o 33,3 % a při počtu >10 vykouřených cigaret denně stoupá riziko o 66,5 % oproti nekuřákům.^{5,6}

Určení stádia nádoru je klíčové pro stanovení prognózy a výběr optimální léčby pacienta. Na jeho základě je možné rozhodnout, zda je nádor resektabilní, navrhnout nejefektivnější léčebný postup a odhadnout prognózu pacienta.

Stanovení stadia karcinomu pankreatu se provádí podle TNM systému Unie pro mezinárodní kontrolu rakoviny. Systém je založen na třech základních charakteristikách nádoru:

Tumor (T) popisuje rozsah primárního nádoru na základě jeho velikosti:

Tis (carcinoma *in situ*) = není možno měřit

T1 = nádor ≤ 2 cm

T2 = nádor 2-4 cm

T3 = nádor > 4 cm, nepřesahuje tkáň pankreatu

T4 = nádor přesahuje tkáň pankreatu, zasahuje okolní cévy

Nodes (N) popisuje rozšíření metastáz nádoru do regionálních lymfatických uzlin:

N0 = nepřítomnost metastáz

N1 = přítomnost metastáz v 1-3 lymfatických uzlinách

N2 = přítomnost metastáz ve 4 a více lymfatických uzlinách

Metastasis (M) popisuje přítomnost vzdálených metastáz:

M0 = nepřítomnost vzdálených metastáz

M1 = přítomnost vzdálených metastáz ⁷

Na základě kombinace těchto parametrů lze určit stádium karcinomu pankreatu:

Tabulka 1: Rozdělení do stadií ⁷

Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium IA	T1	N0	M0
Stadium IB	T2	N0	M0
Stadium IIA	T3	N0	M0
Stadium IIB	T1, T2, T3	N1	M0
Stadium III	T1, T2, T3	N2	M0
	T4	jakékoliv N	M0
Stadium IV	jakékoliv T	jakékoliv N	M1

Různé typy neoplázií pankreatu se liší místem vzniku, klinickými příznaky a také svou prognózou. Z histologického hlediska lékaři rozlišují pankreatické nádory na neuroendokrinní a exokrinní.⁸

2.1. Neuroendokrinní nádory

Pankreatické nádory neuroendokrinního typu (PNETs, z angl. pancreatic neuroendocrine tumors) vznikají z buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. Tyto nádory jsou obvykle hormonálně aktivní. Tvoří přibližně 1-2 % všech pankreatických tumorů. PNETs jsou obecně méně agresivní a mají příznivější prognózu oproti nádorům exokrinním.⁹ Jejich biomarkery, jako je například chromogranin A, je možno sledovat v krevním séru už během brzkých klinických stádií, díky tomu lze PNETs diagnostikovat dříve a úspěšně je léčit.¹⁰ PNETs mohou být sporadické nebo sdružené s vrozenými syndromy, jako je např. syndrom mnohočetné endokrinní neoplázie typu 1 (MEN1)¹¹, syndrom von Hippel–Lindau (VHL)¹², neurofibromatóza typu 1 (NF1)¹³ a tuberózní skleróza.¹⁴

PNETs se dělí na funkční (produkují hormony, jejichž sekrece vede k manifestaci klinických symptomů) a nefunkční (neprodukují hormony, nebo je produkují v příliš nízké hladině na vyvolání symptomů). Nefunkční PNETs tvoří více než 60 % neuroendokrinních tumorů pankreatu. Podle typu sekretovaného hormonu lze funkční PNETs dělit na inzulinomy produkující inzulin, gastrinomy produkující gastrin, glukagonomy produkující glukagon, somatostatiny produkující somatostatin a VIPomy produkující vazoaktivní intestinální peptid. Neuroendokrinní nádory pankreatu jsou často benigní, avšak je nezbytné je sledovat, jelikož může dojít k jejich transformaci v nádory maligní.¹⁵

2.2. Exokrinní nádory

Exokrinní tkáň pankreatu, tvořící exokrinní žlázu a její vývody, je zodpovědná za tvorbu a sekreci trávicích enzymů do duodena. Její nádory představují více než 95 % zhoubných pankreatických neoplázií.¹ Mezi další pankreatické nádory exokrinního typu se kromě duktálního adenokarcinomu pankreatu (PDAC, z angl. pancreatic ductal adenocarcinoma) řadí např. acinární adenokarcinom, pankreatoblastom a cystické nádory, jako jsou mucinózní cystické neoplázie (MCN) a intraduktální papilární mucinózní neoplázie (IPMN).⁸

2.2.1. Duktální adenokarcinom pankreatu

Duktální adenokarcinom pankreatu je nejčastějším typem nádorů slinivky břišní, zastupuje více než 90 % těchto novotvarů. Jeho pětiletá míra přežití nepřesahuje 8 %.¹⁶ Vzniká z epitelálních buněk ve vývodných kanálcích (duktech) slinivky břišní. Vyznačuje se výraznou přítomností vazivového stromatu, je pro něj typická lumenální nebo intracelulární produkce mucinu a má vysokou tendenci metastazovat.¹ Jeho prekursori bývají neinvazivní prekancerózní léze jako jsou pankreatické intraepiteliální neoplázie (PanIN), MCN a IPMN.¹⁷

Vznik PDAC je asociován s mutacemi převážně v protoonkogenu *KRAS* (kódující GTPázu K-Ras) a tumor supresorových genech *TP53* (kódující protein p53), *CDKN2A* (kódující inhibitor cyklin-dependentní kinázy 2A) a *SMAD4* (kódující Mothers against decapentaplegic homolog 4).¹⁸ Mutace ve 12. kodonu genu *KRAS*, jehož divoký typ (wt, z angl. wild type) kóduje glycin, byla pozorována ve více než 85 % případů PDAC. Nejčastěji vyskytujícími se mutacemi jsou *G12D* kódující aspartát (47 %),

G12V kódující valin (34 %) a *G12R* kódující arginin (17 %). Mutace *G12D* je spojena s horší prognózou onemocnění.¹⁹ Dále často dochází k nadměrné expresi *AKT2* (gen pro RAC-beta serin/threonin-protein kinázu), zároveň byla pozorována zvýšená aktivita jeho upstream regulátoru PI3K (fosfatidylinositol-3-kináza), což zvyšuje přežívání nádorových buněk.²⁰ Ke vzniku PDAC mohou také přispívat mutace v tumor supresorových genech *BRCAl/2* (Breast cancer, rakovina prsu) a *ATM* (Ataxia telangiectasia mutated).²¹

Příznaky onemocnění PDAC se většinou projevují až v pokročilých stádiích, což má za příčinu pozdní diagnózu a výrazně zhoršenou prognózu kvůli rozsahu a závažnosti tohoto onemocnění v době diagnózy. Mezi tyto příznaky se řadí obstrukční ikterus a s ním spojené tmavé zabarvení moči, úbytek na váze, kachexie, nevolnost a zvracení, zvětšení objemu jater a žlučníku, jaterní dysfunkce a selhání jater, nechutenství, přítomnost krevních sraženin a náhlý nástup diabetes mellitus 2. typu. V pozdějších stádiích onemocnění se také může objevovat obstrukce duodena.²² Bolest v oblasti zad bývá ukazatelem pravděpodobného nádorového postižení těla slinivky břišní prorůstajícím do retropankreatických nervových spletení, což znemožňuje resekci nádoru.²³

Nejúčinnějším léčebným postupem při boji s karcinomem pankreatu nadále zůstává radikální resekce – tu je ovšem možno provést pouze u 20-30 % pacientů. Mezi základní chirurgické výkony pro léčbu PDAC patří hemipankreatoduodenektomie (Whippleova operace), totální pankreatektomie a distální pankreatektomie. Nejčastěji prováděnými chirurgickými výkony jsou však paliativní spojkové operace za účelem obnovení pasáže při neprůchodnosti duodena nebo prevence obstrukčního ikteru, pokud nádor invaduje žlučovod. Přestože tyto spojkové operace nejsou kurativní, dokáží významně prodloužit přežití a zlepšit kvalitu života.^{22,24} Pacienty s nerezekabilními tumory je možno léčit neoadjuvantní či paliativní chemoterapií.²⁵ U nádorů nevykazujících radiorezistenci může být účinek chemoterapie zvýšen kombinací s radioterapií.²⁶ Většina imunoterapeutických přístupů je v současné době stále ve fázi klinických studií.²⁷

3. Chemoterapie PDAC

Chemoterapie představuje klíčový pilíř systémové léčby PDAC. Vzhledem k omezeným možnostem chirurgické resekce a nízké účinnosti imunoterapie zůstává chemoterapie hlavní modalitou pro prodloužení přežití a zlepšení kvality života pacientů. V současné době se k léčbě PDAC používá převážně gemcitabin v kombinaci s nab-paklitaxelem (paklitaxel vázaný na částice albuminu) a režim FOLFIRINOX. U pacientů s horším stavem, vyšším věkem nebo přítomností komorbidit je kladen důraz na minimalizaci toxicity léčby, a proto je u nich doporučeno volit monoterapii gemcitabinem.²⁸

3.1. FOLFIRINOX

FOLFIRINOX je chemoterapeutický režim určený k léčbě karcinomu pankreatu. Sestává z těchto chemoterapeutik: FOL – folinát vápenatý (leucovorin), F – fluorouracil, IRIN – irinotecan, OX – oxaliplatin.²⁹

Fluorouracil (5-fluorouracil, 5-FU) je v buňce metabolizován na 5-fluorouridin monofosfát (F-UMP), ten je následně kinázami konvertován až na 5-fluorouridin trifosfát (F-UTP). V této formě ho RNA polymeráza inkorporuje do RNA. Ribonukleotid reduktáza může přeměnit 5-fluorouridin difosfát na 5-fluorodeoxyuridin difosfát (F-dUDP). Ten je po následné fosforylaci na F-dUTP DNA polymerázou inkorporován do DNA. Z DNA je F-dU vyštěpován uracil glykosylázou. Ta spolupracuje s endonukleázou I, jež do DNA zavádí jednořetězcový zlom, který je rozpoznáván DNA reparačními enzymy. Následně může docházet k inhibici syntézy DNA a buněčné smrti. Za pomoci dUTPázy může dojít ke konverzi F-dUDP na 5-fluorodeoxyuridinmonofosfát (F-dUMP), který inhibuje thymidylát syntázu (TS). Tím dochází k inhibici syntézy thymidinu, základní složky DNA, což vede k buněčné smrti.³⁰

Leucovorin zvyšuje účinnost 5-FU tím, že stabilizuje komplex F-dUMP a TS.³¹ Irinotecan je derivát kamptotecinu. Funguje jako inhibitor topoizomerázy I.³² Oxaliplatin patří mezi platinové deriváty, které způsobují intra- i interřetězcová křížová kovalentní propojení DNA, a tím poškozují její strukturu, což vede k apoptóze. Prokazuje výrazně zvýšenou klinickou aktivitu v kombinaci s 5-FU.^{33,34}

Klinické studie prokázaly významné prodloužení celkového přežití a přežití bez progresu onemocnění u pacientů léčených režimem FOLFIRINOX, ačkoli tato léčba byla spojena s vyšší mírou nežádoucích účinků v porovnání s monoterapií gemcitabinem. Podle studie ACCORD11/PRODIGE4 publikované v roce 2011, která hodnotila účinnost léčby u pacientů s metastatickým PDAC, byl medián celkového přežití 11,1 měsíce ve skupině FOLFIRINOX, zatímco ve skupině léčené gemcitabinem byl pouze 6,8 měsíce.²⁹ Navazující studie PRODIGE 24/ACCORD 24 z roku 2018 byla provedena u pacientů po kompletní resekci PDAC bez známek metastáz a zkoumala účinnost modifikovaného režimu FOLFIRINOX (mFOLFIRINOX, bez bolusového podání 5-FU a s redukovanou dávkou irinotekanu) jako adjuvantní terapie. Ve skupině léčené mFOLFIRINOX byl medián doby přežití bez známek onemocnění 21,6 měsíce, medián celkového přežití byl 54,4 měsíce a míra celkového přežití činila 63,4 %. Ve skupině léčené gemcitabinem byl medián přežití bez známek onemocnění 12,8 měsíce, medián celkového přežití byl 35 měsíců a celková míra přežití činila 48,6 %. Nežádoucí účinky 3. a 4. stupně³⁵ se vyskytly u 75,9 % pacientů ve skupině mFOLFIRINOX a u 52,9 % pacientů ve skupině gemcitabinu. Tyto nežádoucí účinky zahrnují průjem, únavu, zvracení, neutropenii, bolest břicha či trombocytopenii. Ve skupině léčené gemcitabinem zemřel jeden pacient. Autoři konstatují, že mFOLFIRINOX představuje účinnější adjuvantní terapii pro pacienty s resekovaným PDAC než gemcitabin, a to navzdory vyšší incidenci toxických účinků.³⁶

Paklitaxel je diterpenoidní chemoterapeutikum patřící do skupiny taxanů. Používá se k léčbě rakovinných onemocnění, mezi něž patří například ovariální a plicní karcinomy, karcinom prsu a karcinom pankreatu.⁴⁵ Původně byl izolován z Tisu západoamerického (*Taxus brevifolia*), jeho struktura byla popsána v roce 1971.⁴⁶ V současnosti je paklitaxel produkován semisyntetickou metodou.⁴⁷

Paklitaxel je cytostatikum. Mechanismus jeho účinku spočívá ve stabilizaci mikrotubulů. Váže se na β -tubulin v mikrotubulech a zabraňuje jejich depolymerizaci, čímž způsobuje zastavení buněčného cyklu v G2/M fázi. Buňky tak nejsou schopny správně složit mitotické vřeténko, nemůže dojít k rozdělení chromozomů do dceřiných buněk a dochází k apoptóze.⁴⁸

Kombinace gemcitabinu a nab-paklitaxelu je v současnosti standardní léčbou pokročilého nebo metastatického PDAC. Přestože studie prokázaly účinnost této chemoterapeutické kombinace, u řady pacientů byly pozorovány nežádoucí účinky, značící relativně vysokou míru toxicity těchto léčiv. Neutropenie ≥ 3 . stupně³⁵ byla pozorována u více než třetiny pacientů. Dále byly hlášeny tyto nežádoucí účinky: leukopenie, únava, periferní neuropatie, průjem a bilaterální celulitida dolních končetin, anémie, trombocytopenie, anémie, pneumonitida a sepse.⁴⁹⁻⁵¹ Podle studie MPACT (Metastatic Pancreatic Adenocarcinoma Clinical Trial) tato kombinace chemoterapeutik prokázala zlepšení přežití pacientů ve srovnání s monoterapií gemcitabinem.⁴⁹ V porovnání s léčbou režimem FOLFIRINOX prokázala kombinace gemcitabin/nab-paklitaxel kratší střední dobu přežití, ale nižší toxicitu a míru nežádoucích účinků.⁵¹

3.3. Nová chemoterapeutika a jejich kombinace pro terapii PDAC v experimentálním vývoji a testování

Vzhledem k omezeným možnostem současné chemoterapie PDAC probíhá vývoj a výzkum inovativních terapeutických strategií pro léčbu PDAC.

NALIRIFOX je chemoterapeutický režim určený pro léčbu PDAC sestávající ze čtyř chemoterapeutik – lipozomálního irinotekanu, oxaliplatinu, leucovorinu a 5-fluorouracilu. Studie NAPOLI-3 (randomizovaná otevřená studie fáze III) porovnávala efektivitu režimu NALIRIFOX a kombinace gemcitabin/nab-paklitaxel při léčbě metastatického PDAC u dosud neléčených pacientů. U pacientů léčených režimem NALIRIFOX byl pozorován medián celkového přežití 11,1 měsíce, medián přežití bez progresu 7,4 měsíce a celková míra odpovědi činila 41,8 %. U pacientů léčených kombinací gemcitabin/nab-paklitaxel byl medián celkového přežití 9,2 měsíce, medián přežití bez progresu byl 5,6 měsíce a celková míra odpovědi činila 36,2 %. Závažné nežádoucí účinky se vyskytly u 87 % pacientů ve skupině NALIRIFOX a 86 % pacientů ve skupině gemcitabin/nab-paklitaxel. Nejčastějšími nežádoucími účinky hlášenými ve skupině NALIRIFOX byly neutropenie, hypokalémie, průjem a nevolnost. V této skupině bylo hlášeno méně hematologických nežádoucích účinků oproti skupině gemcitabin/nab-paklitaxel. Studie potvrdila, že režim NALIRIFOX poskytuje statisticky i klinicky významné zlepšení celkového přežití a přežití bez progresu oproti standardní léčbě nab-paklitaxelem a

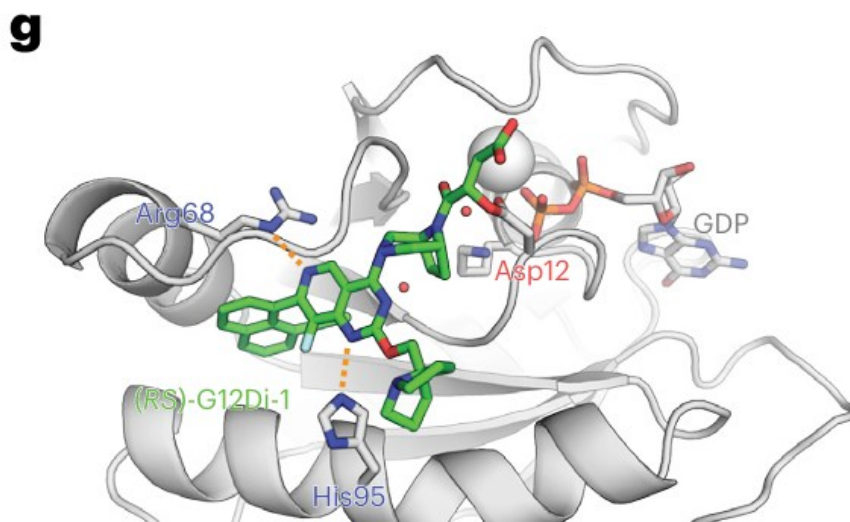
gemcitabinem.⁵² V roce 2024 byl NALIRIFOX schválen americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv pro první linii léčby PDAC.⁵³

Jeden z perspektivních směrů chemoterapie pro léčbu PDAC představují inhibitory Ras proteinů. Tyto látky zahrnují jak inhibitory zaměřené na specifickou mutaci, tak i tzv. multispecifické inhibitory, které dokáží cílit na různé varianty těchto proteinů, včetně wt.

Daraxonrasib (RMC-6236) je multispecifický inhibitor aktivního (GTP-vázajícího) stavu Ras proteinů. Je selektivní pro mutantní i wt alely. V klinické studii fáze I vykazoval slibnou protinádorovou aktivitu u pacientů s PDAC nesoucími různé mutace genu *KRAS*.⁵⁴ V současnosti probíhá klinická studie fáze III, známá jako RASolution 302 (NCT06625320), která hodnotí účinnost daraxonrasibu v léčbě metastatického PDAC.

Zoldonrasib (RMC-9805), inhibitor K-Ras-G12D, momentálně prochází I. fází klinického testování. V porovnání se standardními léčebnými postupy vykazoval RMC-9805 příznivou snášenlivost. Prozatímni výsledky naznačují pozitivní budoucnost tohoto léku jako monoterapie i v kombinaci s dalšími chemoterapeutiky.⁵⁵

Skupina pod vedením Qinhenga Zhenga a Kevana M. Shokata v preklinické studii představila novou strategii pro selektivní cílení na mutaci K-Ras-G12D. Autoři využili elektrofilní sloučeniny na bázi β -laktonu, jež reagují s mutantním Asp12 a vytvářejí stabilní kovalentní komplexy. Cílení na GTP-vázaný stav K-Ras-G12D umožňuje potlačení downstream signalizace, selektivní inhibici proliferace rakovinných buněk *in vitro* a supresi růstu xenograftů v myších modelech. β -laktonové inhibitory K-Ras-G12D by se v případě pozitivních výsledků klinických studií mohly stát novým chemoterapeutickým směrem pro léčbu PDAC s mutací K-Ras *G12D*.⁵⁶



Obr.2.: Krystalová struktura K-Ras-G12D v komplexu s GDP a β -laktonovým inhibitorem – převzato z⁵⁶

4. Experimentální imunoterapie PDAC

Imunoterapie je v současnosti jedním z nejintenzivněji zkoumaných přístupů v oblasti léčby PDAC, avšak žádná imunoterapie dosud nebyla plošně schválena pro rutinní použití v klinické praxi.²⁷

4.1. Inhibitory kontrolních bodů imunitního systému

Kontrolní body imunitního systému jsou molekuly regulující imunitní odpověď, které hrají klíčovou roli v prevenci autoimunitních reakcí. Tyto molekuly mohou zprostředkovat únik nádoru imunitnímu systému. Řadí se mezi ně například CTLA-4 (cytotoxický T-lymfocytární antigen), PD-1 (programovaná smrt-1, z angl. Programmed death-1), TIGIT (Imunoreceptor T-buněk s doménami Ig a ITIM, z angl. T-cell Immunoreceptor with Ig and ITIM domains), LAG-3 (lymfocytární aktivační gen-3) a TIM-3 (T buněčný imunoglobulinový a mucinový receptor 3). Monoklonální protilátky (mAbs) cílící na tyto kontrolní body představují terapeutický směr, jehož cílem je aktivovat imunitní systém a zvýšit tak jeho protinádorovou aktivitu.⁵⁷

4.1.1. Anti-PD-1 mAbs

PD-1 (CD279) je transmembránový protein exprimovaný převážně na povrchu aktivovaných T-lymfocytů, B-lymfocytů a NK buněk.⁵⁸⁻⁶⁰ Hraje klíčovou roli v regulaci imunitního systému pomocí inhibice imunitní odpovědi a zabraňuje T buňkám poškozovat zdravou tkáň. PD-1 funguje jako imunitní kontrolní bod, který pomáhá udržovat periferní toleranci a zabraňuje autoimunitním reakcím.⁶¹ Po vazbě PD-1 na jeho ligand, PD-L1, dochází k přenosu inhibičního signálu skrze inaktivaci signalizace přes T buněčný receptor (TCR), snížení produkce zánětlivých cytokinů a anti-apoptotických faktorů. Exprese PD-L1 byla detekována také na povrchu rakovinných buněk, kde přispívá k imunosupresi prostřednictvím interakce s PD-1 na T-lymfocytech.⁶² Tento mechanismus představuje jednu ze strategií, kterými nádorové buňky unikají imunitnímu systému.^{63,64}

Anti-PD-1 mAbs reaktivují efektorové funkce T-lymfocytů, čímž posilují protinádorovou odpověď. Vlivem anti-PD-1 mAbs může také docházet k internalizaci PD-1, což umocňuje protinádorový potenciál imunitního systému.⁶⁵ Blokáce PD-1 také může předcházet vzniku vzdálených metastáz důsledkem hematogenního rozsevu.⁶⁶

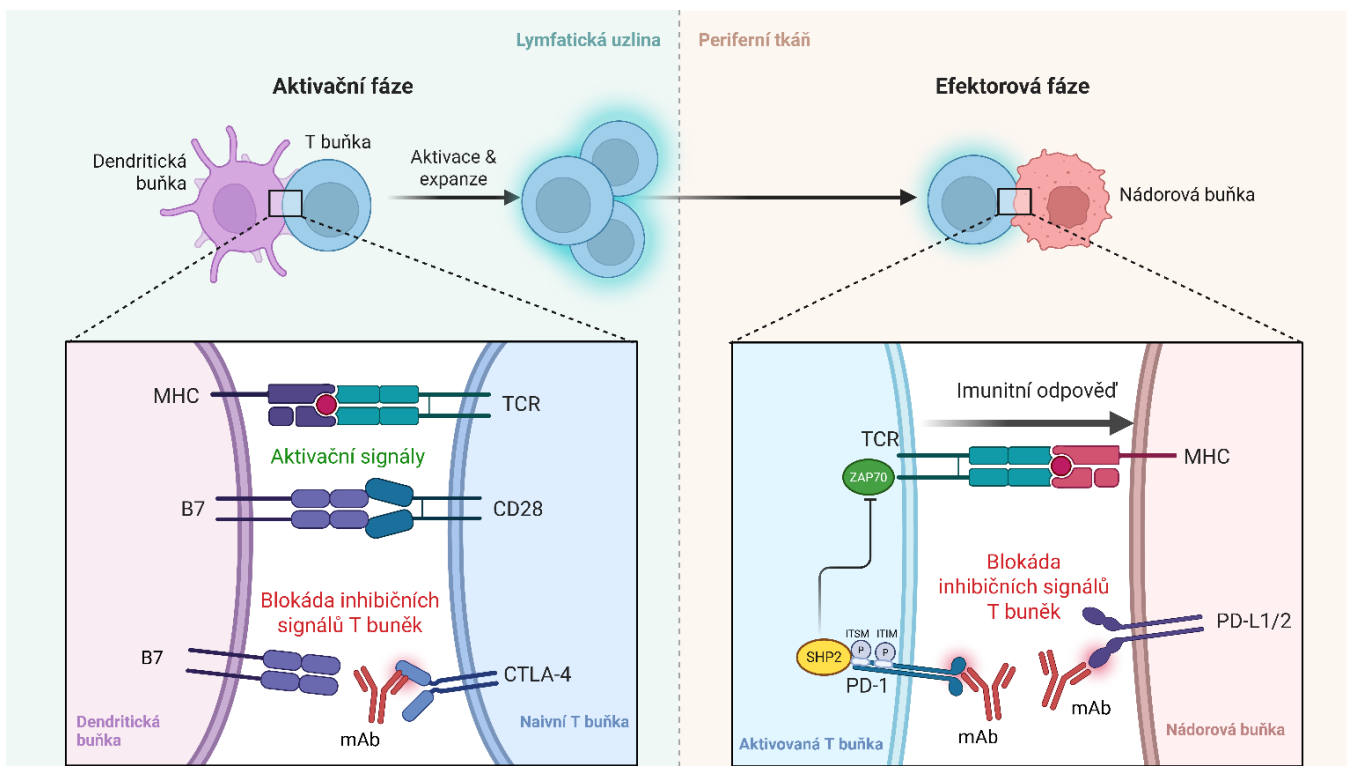
Monoterapeutická léčba pomocí anti-PD-1 mAbs se ukázala jako účinná u pacientů trpících např. melanomem⁶⁷, Hodgkinovým lymfomem⁶⁸, či nemalobuněčným karcinomem plic⁶⁹, avšak studie neprokázaly pozitivní výsledky při léčbě PDAC.⁷⁰ Výjimkou jsou pacienti trpící PDAC s mikrosatelitní nestabilitou a MMR deficiencí (z angl. mismatch repair, oprava chybného párování). Jejich nádory vykazují vyšší mutační zátěž vedoucí k expresi širšího spektra neoantigenů, což zvyšuje jejich imunogenicitu. U těchto pacientů byla pozorována vyšší míra odpovědi na léčbu, delší doba přežití bez progresu onemocnění a delší doba celkového přežití.^{71,72}

4.1.2. Anti-CTLA-4 mAbs

CTLA-4 (CD152) je homodimerní transmembránový protein řadící se do imunoglobulinové superrodiny.⁷³ Na povrchu T-buněk kompetuje CTLA-4 s kostimulačním receptorem CD28 o vazbu na jejich ligandy CD80 (B7-1) a CD86 (B7-2). Po kontaktu s těmito ligandy na antigen prezentujících buňkách (APCs, z angl. antigen-presenting cells) podporuje receptor CD28 proliferaci a aktivaci T-lymfocytů. Naproti tomu CTLA-4 hraje roli negativního regulátoru těchto funkcí a brání T buněčné aktivaci.⁷⁴ Delece genu pro CTLA-4 v myších modelech vedla k masivní lymfoproliferaci a následnému fatálnímu poškození zdravých tkání.⁷⁵ CTLA-4 je nezbytným negativním regulátorem imunitního systému a přispívá k zabránění autoimunity.⁷⁶

Monoterapie lékem ipilimumab (anti-CTLA-4 mAb) prokázala významné pozitivní výsledky mimo jiné při léčbě metastatického karcinomu prostaty⁷⁷ a předléčeného pokročilého melanomu.⁷⁸ Při léčbě PDAC nebyla monoterapie ipilimumabem účinná.⁷⁹

Klinická studie CheckMate032 testovala účinnost kombinace nivolumabu (anti-PD-1 mAb) a ipilimumabu u předléčených pacientů s PDAC. Léčba se ukázala jako neúčinná.⁷⁰



Obr.3: Schéma mechanismů účinku anti-PD-1/PD-L1 mAbs a anti-CTLA-4 mAbs. Při interakci PD-1/PD-L1 rekrutuje komplex ITSM fosfatázy SHP2, která následně inhibuje TCR signalizaci skrze inaktivaci kinázy ZAP70 – vytvořeno pomocí BioRender.com

4.1.3. Jiné významné inhibiční molekuly T a NK buněk jako cíle imunoterapie PDAC

Kromě CTLA-4 a PD-1 je také možno cílit na další inhibiční molekuly T a NK buněk, jako jsou například TIGIT a LAG-3 a jejich ligandy. Tyto přístupy však stále zůstávají v experimentální fázi a jejich účinnost v léčbě PDAC není klinicky prokázána.

TIGIT je koinhibiční receptor, který je součástí rodiny CD28 a je exprimovaný na T a NK buňkách. Po vazbě na jeho ligandy CD155 a CD112 dochází k supresi imunitní odpovědi. CD155 je ve značné míře exprimován na povrchu buněk PDAC a jeho vyšší exprese koreluje s horší prognózou tohoto onemocnění. U rakovinných buněk PDAC vedl knockdown (částečná inaktivace) CD155 k zastavení buněčného cyklu v G2/M fázi a inhibici proliferace. Blokáda PD-1, TIGIT a CD155 zvyšuje efektivitu protinádorové imunitní odpovědi.^{80,81} Tiragolumab, anti-TIGIT mAb, byl ve studii CITYSCAPE testován v kombinaci s atezolizumabem (anti-PD-L1 mAb) jako první linie léčby nemalobuněčného karcinomu plic. Tato kombinace prokázala zvýšenou míru odpovědi oproti ostatním léčebným postupům.⁸² V současné době neprobíhají žádné klinické studie testující efektivitu anti-TIGIT mAbs pro léčbu PDAC.

LAG-3 (CD223) je konstitutivně exprimovaný receptor na povrchu T a NK buněk, který se váže na hlavní histokompatibilní komplex třídy II (MHC II) a hraje roli v negativní regulaci T buněčných funkcí a zabraňuje autoimunitě. Současná blokáda LAG-3 a PD-1 vedla ke zlepšení protinádorové aktivity T-lymfocytů a potlačení růstu nádoru.^{83,84} Kombinace retatlimabu (anti-LAG-3 mAb) a nivolumabu (anti-PD-1 mAb) se ukázala jako účinná v léčbě pokročilého melanomu⁸⁵, ale nebyla testována na pacientech s PDAC.

4.2. Adoptivní buněčná terapie

Terapie T buňkami s chimérickým antigenním receptorem neboli CAR T buněčná terapie je jedním z druhů adoptivní buněčné terapie. Pacientovi jsou odebrány T-lymfocyty, které jsou následně geneticky modifikovány *in vitro* tak, aby na povrchu exprimovaly chimérické antigenní receptory (CAR), které mají schopnost rozpoznat a vázat se na antigeny nacházející se na povrchu nádorových buněk.²⁷ Přestože CAR buněčná terapie dosahuje působivých klinických výsledků při léčbě akutní lymfoblastické leukémie a velkobuněčného B-lymfomu, naráží na četné překážky, které brání jejímu plošnému využití v léčbě dalších hematologických malignit a také solidních nádorů. Mezi tyto překážky patří např. vysoká toxicita, neurologické potíže, syndrom uvolnění cytokinů a s ním spojené příznaky jako hypoxie, hypotenze či pyrexie a případná smrt.^{86,87}

V klinických studiích byla sledována efektivita T buněk s CAR specifickým pro mesothelin, jenž je nadměrně exprimován v buňkách PDAC⁸⁸. Tato terapie byla poměrně dobře tolerována, ale neprokázala významný účinek.^{89,90}

V buňkách PDAC byla sledována nadměrná exprese antigenu B7-H3, který funguje jako imunitní kontrolní bod a podporuje progresi onemocnění.^{91,92} Současně probíhá klinická studie fáze I testující CAR T buněčnou terapii cílící na tento antigen (NCT06158139).

4.3. Terapie pomocí onkolytických virů

Terapie pomocí onkolytických virů využívá geneticky modifikované nebo přirozeně se vyskytující viry, které selektivně infikují a ničí nádorové buňky. Po proniknutí do nádorové buňky se tyto viry začnou replikovat, což vede k lýzi buňky a uvolnění virových částic a nádorových antigenů do okolí. Tento proces redukuje množství nádorových buněk a zároveň stimuluje protinádorovou imunitní odpověď. Terapie onkolytickými viry představuje slibnou strategii pro boj s PDAC.⁹³

VCN01 je onkolytický adenovirus (OA), který se selektivně replikuje v buňkách s narušenou funkcí dráhy retinoblastomového (Rb) proteinu.⁹⁴ Dysfunkce této dráhy je typická pro rakovinné buňky a nevyskytuje se v buňkách benigních.⁹⁵ Tento virus kóduje hyaluronidázu, díky níž umí efektivně narušit nádorové stroma.⁹⁴ Byl klinicky testován v kombinaci s chemoterapií a prokázal významný protinádorový účinek včetně schopnosti úspěšně narušovat stroma PDAC, a tak zvýšit efektivitu léčby. Byla u něj pozorována dobrá snášenlivost.⁹⁶

LOAd703 je OA obsahující transgenní kazetu, která kóduje imunostimulační molekuly CD40L (ligand receptoru CD40 na APCs) a 4-1BBL (ligand receptoru 4-1BB na T a NK buňkách). Replikuje se v buňkách s nefunkčním Rb proteinem, což umožňuje efektivní cílení na nádorové buňky. Může také invadovat buňky stromatu a exprimovat v nich CD40L a 4-1BBL, aniž by je lyzoval.⁹⁷ V klinické studii prokázal v kombinaci s gemcitabinem a nab-paklitaxelem pozitivní výsledky v léčbě pacientů s PDAC.⁹⁸

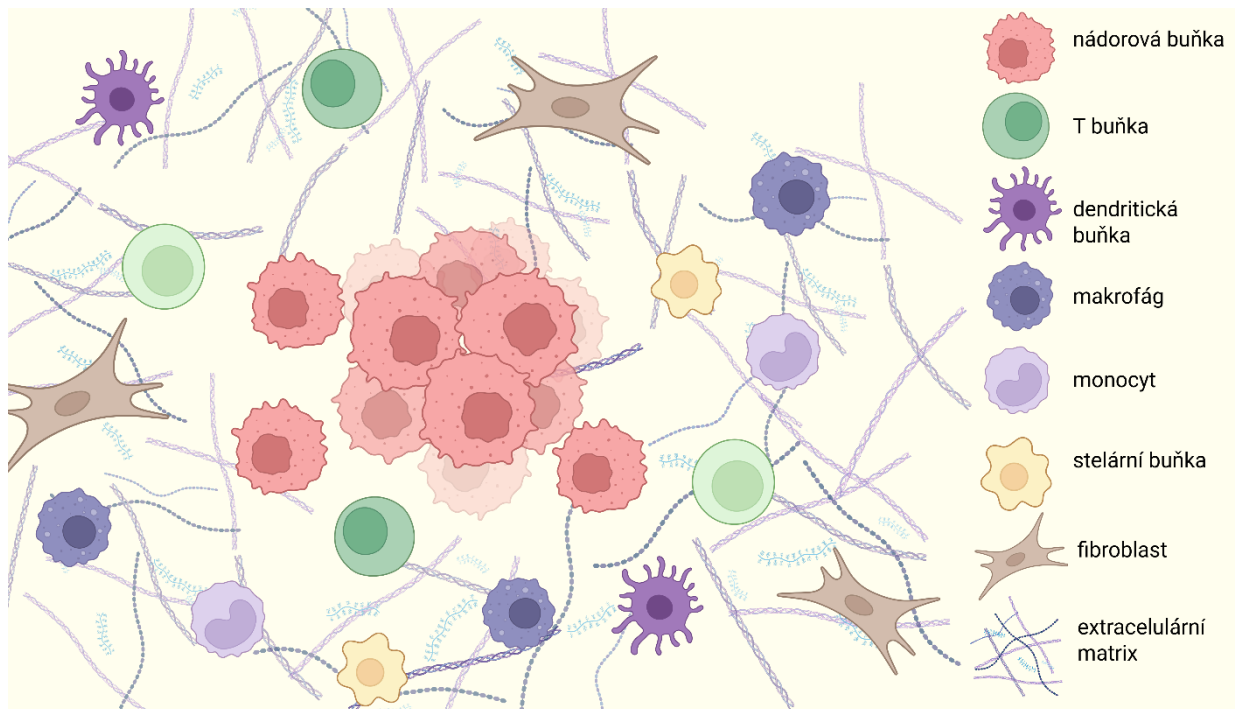
Studie z roku 2024 ukázala slibné výsledky nové technologie zvané ONCOTECH, která kombinuje OA s T buňkami za účelem zlepšení dopravení virů do nádorů. OA jsou obaleny syntetickou membránou, která nese antigeny umožňující vazbu OA na TCR, aniž by došlo ke spuštění signalizace. Tímto způsobem jsou OA společně s T buňkami dopravovány přímo do nádoru. Tyto viry jsou navíc geneticky upraveny tak, aby nesly systém CRISPR-Cas9, který dokáže cíleně vyřadit gen pro PD-L1 v nádorových buňkách. V myších modelech PDAC ONCOTECH vykázal výrazné zvýšení počtu OA v nádorových buňkách, což vedlo k významnému snížení exprese PD-L1 a zlepšení přežití. ONCOTECH má potenciál stát se efektivní metodou kombinující viroterapii a buněčnou terapii v léčbě PDAC.⁹⁹

4.4. Kombinace imunoterapie a jiných přístupů

Za účelem zvýšení efektivity léčby PDAC je možno kombinovat imunoterapii s dalšími léčebnými přístupy. Inhibitory imunitních kontrolních bodů v kombinaci s chemoterapií mohou vykazovat vyšší účinnost bez výrazného zvýšení toxicity.^{100,101} Klinická studie sledovala účinek pembrolizumabu (anti-PD-1 mAb) v kombinaci s onkolytickým virem pelareorep a chemoterapií. Tento režim byl dobře tolerovaný a vykázal příznivou efektivitu oproti samotné chemoterapii.¹⁰² Pozitivní výsledky byly pozorovány také u kombinace imunoterapeutických přístupů s radioterapií.^{103,104}

5. Nádorové mikroprostředí PDAC a jeho hlavní charakteristiky z hlediska citlivosti k chemoterapii a imunoterapii

Nádorové mikroprostředí (TME, z angl. tumor microenvironment) PDAC je vysoce komplexní a zahrnuje interakce mezi nádorovými buňkami, stromálními fibroblasty, buňkami imunitního systému, vaskulárními složkami a extracelulární matrix (ECM), které společně podporují vznik hypoxického a imunosupresivního prostředí, které podporuje další tumorigenezi, vznik vzdálených metastáz a rezistenci k léčbě. PDAC je považován za tzv. imunologicky „studený“ nádor (z angl. cold tumor), a to především kvůli nízké mutační zátěži a vysoce imunosupresivnímu TME. Pro tento nádor je typická minimální infiltrace cytotoxickými T-lymfocyty, omezený počet neoantigenů a nízká imunogenita.¹⁰⁵



Obr.4: Schéma nádorového mikroprostředí PDAC – vytvořeno pomocí BioRender.com

5.1. Charakterizace nádorových buněk PDAC

Nádorové buňky PDAC se od zdravých pankreatických buněk zásadně liší svou molekulární charakteristikou, poruchami v regulaci signálních drah i funkčními vlastnostmi, jako je nekontrolovaná proliferace, rezistence vůči apoptóze a metabolické změny. Zásadní jsou mutace v genu *KRAS*, kvůli nimž setrvává GTPáza K-Ras v aktivním (GTP-vázajícím) stavu. V této formě K-Ras konstitutivně stimuluje několik klíčových signálních drah zodpovědných za proliferaci, přežívání a metabolickou aktivitu buněk, jako jsou mitogenem aktivovaná protein kinázová dráha (MAPK), PI3K/AKT/mTOR dráha a NF- κ B dráha.¹⁰⁶ *KRAS* mutace také spouští časné metabolické přenastavení směrem k tzv. Warburgovu efektu – zvýšené glykolýze i za přítomnosti kyslíku. Mutovaný K-Ras zprostředkovane zvyšuje příjem glukózy a expresi proteinů souvisejících s glykolýzou (např. GLUT1, HK2, LDHA),

čímž podporuje syntézu ATP i prekurzorů pro anabolické děje. Tím vytváří metabolické prostředí příznivé pro růst nádorových buněk již ve stádiu prekancerózních lézí.¹⁰⁷

Aktivovaný K-Ras stimuluje kinázu Raf, která následně aktivuje MAP2K1/MEK, a ta dále fosforyluje MAPK1/ERK2. ERK2 potom translokuje do jádra, kde fosforyluje transkripční faktory regulující geny související s buněčným dělením a diferenciací. Kromě toho hraje v regulaci MAPK dráhy významnou roli duálně specifická fosfatáza DUSP6 (MKP-3), která ERK2 inaktivuje. Exprese DUSP6 je však v PDAC často epigeneticky tlumená, což přispívá k udržení aktivního stavu MAPK. Ztráta DUSP6 tak ve spolupráci s mutovaným K-Ras synergicky podporuje maligní fenotyp buněk PDAC.¹⁰⁸

Aktivace PI3K/AKT/mTOR signální dráhy je klíčovým mechanismem, jímž mutovaný K-Ras podporuje přežívání a růst nádorových buněk PDAC. PI3K katalyzuje tvorbu PIP3, který aktivuje PDK1 a následně AKT, což vede k fosforylaci řady substrátů podporujících proliferaci, buněčný metabolismus a inhibici apoptózy. Jedním ze substrátů Akt je kináza mTOR, která tvoří dva funkčně odlišné komplexy – mTORC1 a mTORC2. Komplex mTORC1 reguluje syntézu proteinů a buněčný růst, zatímco mTORC2 ovlivňuje cytoskelet regulací aktinové dynamiky skrze fosforylaci protein kinázy C, přežití buněk a zpětně aktivuje AKT.¹⁰⁹ Studie z roku 2013 ukázala, že aktivace PI3K/PDK1 dráhy je nejen dostatečná, ale i nezbytná pro vznik PanIN lézí a rozvoj invazivního karcinomu. Genetická inaktivace PDK1 v pankreatu zcela zabránila nádorové transformaci i v přítomnosti onkogenního *KRAS*, zatímco inhibice MAPK neměla tak zásadní efekt. To ukazuje, že PI3K/PDK1 dráha hraje v kontextu pankreatu specifickou a nezastupitelnou roli v *KRAS*-mediované tumorogenezi. Aktivace této dráhy byla pozorována i v lidských PanIN a PDAC vzorcích a farmakologická inhibice PI3K *in vivo* vedla k regresi nádorů, což podtrhuje její terapeutický potenciál.¹¹⁰

Signální dráha NF- κ B (nukleární faktor κ B) je v buňkách PDAC konstitutivně aktivovaná a zásadně se podílí na regulaci přežití, proliferace, zánětlivé odpovědi a rezistence k terapii. Aktivace její kanonické větve je zprostředkována zvýšenou produkcí IL-1 α nádorovými buňkami indukovanou onkogenním K-Ras. Vazba IL-1 α na receptor IL-1R1 na nádorových buňkách spouští signální kaskádu zahrnující adaptér MyD88, kinázu IRAK4 a TRAF6, která vede k aktivaci IKK komplexu. Ten fosforyluje inhibitor I κ B α , jehož degradace umožní translokaci dimeru p65/p50 do jádra a aktivaci transkripce genů podílejících se na inhibici apoptózy, proliferaci, zánětlivé signalizaci a imunosupresi. Mezi ně patří například antiapoptotické faktory, cytokiny, chemokiny a geny podporující epiteliálně-mezenchymální přeměnu. Aktivace NF- κ B je dále posilována pozitivní zpětnovazebnou smyčkou, v níž hraje klíčovou roli p62/sequestozom-1, jenž stabilizuje aktivitu komplexu TRAF6–IKK.¹¹¹

Signální dráha Notch hraje významnou roli v patogenezi PDAC, zejména v raných fázích maligní transformace. Aktivace této dráhy začíná vazbou membránového ligandu ze skupiny Delta-like (např. DLL1, DLL3, DLL4) nebo Jagged (např. JAG1, JAG2) na některý z receptorů Notch (Notch1–Notch4), což spouští kaskádu proteolytických štěpení zakončenou uvolněním Notch intracelulární domény (NICD). Ta následně vstupuje do jádra, kde interaguje s transkripčním faktorem CSL a koaktivátory MAML1 a p300, čímž dochází k aktivaci exprese cílových genů. Mezi nejvýznamnější geny regulované

touto signalizací patří geny pro transkripční represory Hes1 a Hey1, onkogeny *c-myc* a *CCND1* (cyklin D1), geny pro kinázy Akt a mTOR a prozánětlivý gen *PTGS2* (COX-2). Signální dráhy Notch a NF- κ B spolu v nádorových buňkách PDAC funkčně interagují, čímž se vzájemně podporují v udržení proliferace a zánětlivého fenotypu PDAC. Notch dráha tak hraje zásadní roli nejen v iniciaci, ale i v progresi a agresivitě PDAC.¹¹² V normálním pankreatu je její aktivita nízká a slouží k udržení rovnováhy mezi proliferací a diferenciací progenitorů pankreatických buněk. V přítomnosti onkogenní mutace *KRAS* však dochází k reaktivaci Notch signalizace, což vede k přeměně diferencovaných acinárních buněk na duktální – tzv. acinárně-duktální metaplázii (ADM) – a následné tvorbě PanIN lézí. Experimentální studie na myších modelech ukázaly, že koaktivace Notch1 a K-Ras-G12D výrazně urychluje vznik PanIN lézí a že Notch signalizace zvyšuje citlivost buňky vůči transformaci zprostředkované *KRAS*.¹¹³ V lidských vzorcích PDAC byla pozorována zvýšená exprese receptorů Notch1 a Notch3 a ligandů DLL1, DLL3 a DLL4. Tyto nálezy naznačují, že Notch signalizace přispívá k udržení nádorového fenotypu buněk PDAC prostřednictvím podpory proliferace, buněčné plasticity a inhibice diferenciaci.¹¹⁴

Zmíněné signální dráhy představují zásadní odchylky nádorových buněk PDAC od jejich fyziologických protějšků. Jejich vzájemná interakce podporuje maligní fenotyp, metabolickou adaptaci a rezistenci vůči terapii, a tudíž představují atraktivní terapeutické cíle.¹⁰⁶

5.1.1. Mechanismy rezistence PDAC k chemoterapii

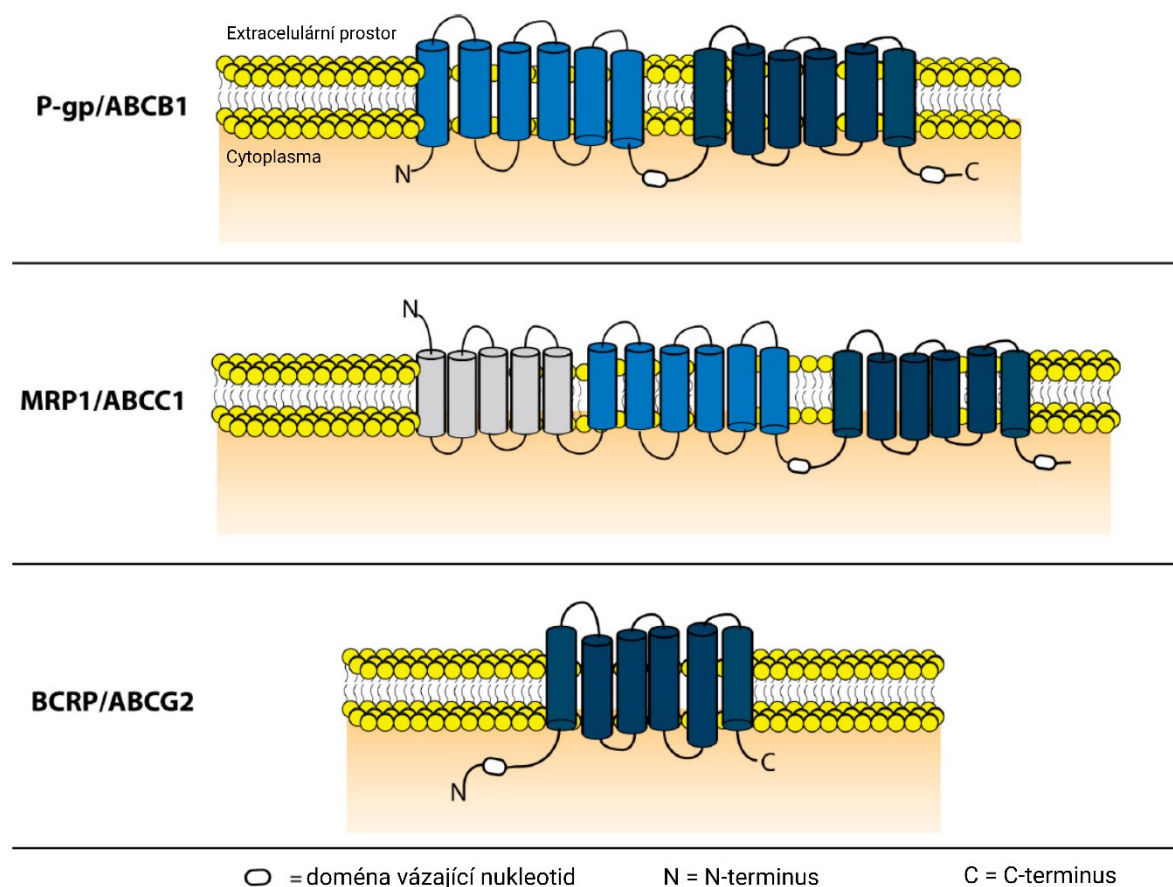
PDAC je vysoce chemorezistentní onemocnění. Mezi klíčové mechanismy, díky nimž buňky PDAC vykazují rezistenci vůči chemoterapii, patří např. exprese ABC transportérů, DNA opravné mechanismy a regulace indukce apoptózy.

5.1.1.1. Exprese ABC transportérů

ABC transportéry (kazeta vázající ATP, z angl. ATP-binding cassette) představují superrodinu transmembránových proteinů, které jsou konzervovány napříč všemi doménami buněčného života. V lidském genomu bylo identifikováno 49 ABC genů. ABC transportéry využívají energii hydrolýzy ATP k aktivnímu transportu látek přes buněčnou membránu. Translokují široké spektrum látek (včetně anorganických iontů, peptidů, lipidů, vitamínů či dalších nutrientů) a mají mimo jiné úlohu v ochraně zdravých tkání před xenobiotiky a endogenními metabolity. Některé ABC transportéry, zejména P-glykoprotein (P-gp), také známý jako MDR1 (mnohočetná léková rezistence 1, z angl. Multidrug resistance 1), MRP1 (protein spojený s mnohočetnou lékovou rezistencí 1, z angl. Multidrug resistance associated protein 1) a BCRP (protein rezistence rakoviny prsu, z angl. Breast cancer resistance protein), fungují jako efluxní pumpy, které kromě toxinů transportují ven z buňky také léčiva, čímž napomáhají ke vzniku chemorezistence.¹¹⁵ Tyto proteiny jsou ve vysoké míře exprimovány v buňkách PDAC, kde podporují rezistenci proti gemcitabinu.^{116,117} Nadměrná exprese P-gp je spojena také s rezistencí k paklitaxelu.¹¹⁸

Dostupné studie naznačují, že inhibice funkce ABC transportérů může zvýšit citlivost nádorových buněk k chemoterapeutikům, což představuje potenciálně významný přínos pro zlepšení účinnosti léčby.^{116,118-}

120



Obr.5: Hlavní ABC transportéry zprostředkovávající chemorezistenci nádorových buněk PDAC – převzato z¹¹⁵ a přeloženo

5.1.1.2. DNA reparační mechanismy

Proteiny kódované geny *BRCA1*, *BRCA2* a *PALB2* hrají zásadní roli v opravě dvouřetězcových zlomů DNA prostřednictvím homologní rekombinace. Taková poškození mohou být indukována např. platinovými cytostatiky, jako jsou cisplatina a oxaliplatina, která se běžně používají jako protinádorová chemoterapeutika. U pacientů trpících PDAC s mutacemi v těchto genech byla pozorována výrazně vyšší citlivost k léčbě platinovými deriváty.¹²¹

NHEJ (nehomologní spojování konců, z angl. non-homologous end joining) je další z mechanismů, které PDAC používá k opravě dvouřetězcových zlomů DNA. Tato dráha je ve většině případů PDAC funkční, přičemž často dochází ke zvýšené expresi katalytické podjednotky DNA-dependentní protein kinázy (DNA-PKcs), klíčového enzymu NHEJ. Tento jev je spojen s agresivnějším chováním nádoru, horší prognózou a sníženou citlivostí na chemoterapii, zejména na gemcitabin. Inhibice DNA-PKcs vedla ke zvýšené apoptóze nádorových buněk a vyšší citlivosti k léčbě, což naznačuje, že aktivní NHEJ přispívá k chemorezistenci PDAC tím, že umožňuje buňkám efektivně opravovat poškození DNA způsobené cytostatiky.^{122,123}

Mismatch repair (MMR, oprava chybného párování) je základní mechanismus opravy DNA, který zajišťuje korekci chyb vzniklých při replikaci, zejména nesprávného párování bází a inserčních či delečních mutací. Po detekci chyby je degradován nově syntetizovaný úsek vlákna DNA obsahující chybu, načež je správná sekvence DNA dosyntetizována DNA polymerázou δ a spojena DNA ligázou. V případě selhání tohoto systému dochází k akumulaci mutací a mikrosatelitní nestabilitě. U PDAC je naopak poškozená dráha MMR spojena s vyšší rezistencí proti pyrimidinovým analogům, jako je gemcitabin, pravděpodobně díky zvýšené toleranci k poškození DNA a poruše apoptotických drah. Pacienti s intaktní dráhou MMR vykazovali lepší odpověď na léčbu adjuvantní chemoterapií.^{124,125}

NER (nukleotidová excizní oprava, z angl. nucleotide excision repair) odstraňuje DNA adukty způsobené např. platinovými deriváty. Protein ERCC1, nezbytná složka této dráhy, umožňuje opravu těchto poškození, čímž snižuje účinnost léčby. Vysoká exprese ERCC1 u pacientů s metastatickým PDAC léčených režimem FOLFIRINOX byla spojena s nižší odpovědí na léčbu v porovnání s pacienty s nižší expresí tohoto proteinu. Tato data naznačují, že se NER uplatňuje při rezistenci PDAC proti chemoterapii oxaliplatinou.¹²⁶

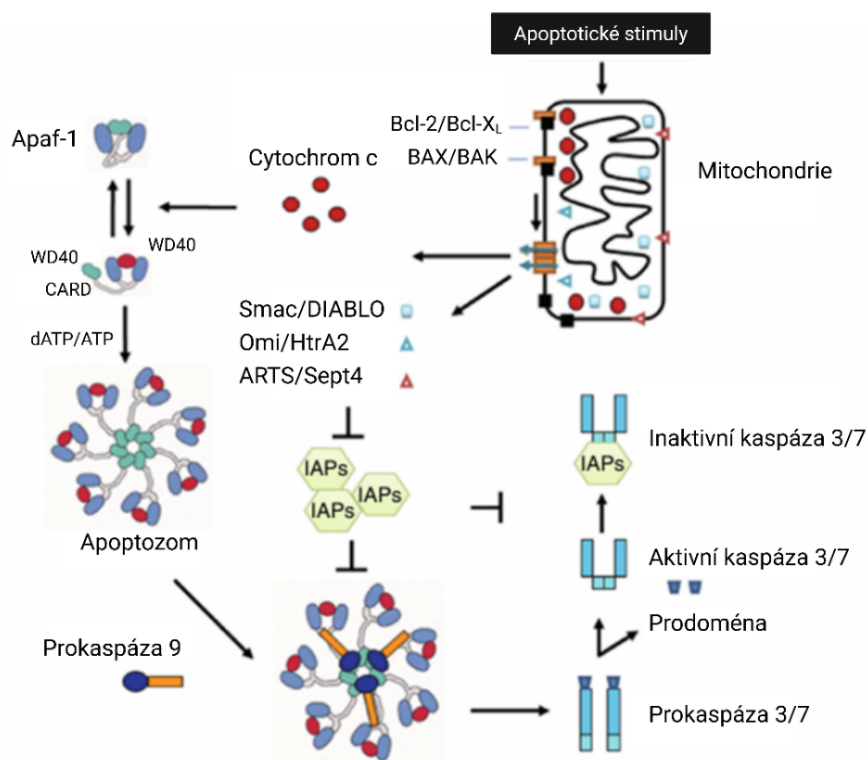
BER (bázová excizní oprava, z angl. base excision repair) opravuje nehelikální poškození DNA vzniklá např. oxidací, deaminací nebo alkylací bází. DNA-glykosylázy rozpoznají a vyštěpí poškozenou bázi, čímž vzniká tzv. abazické místo, které je následně rozpoznáno apurinickou/apyrimidinovou endonukleázou 1 (APE1), která vytvoří jednovláknový zlom DNA. Na tento zlom se vážou scaffoldové proteiny, jako PARP1 a XRCC1, které stabilizují poškozenou oblast a rekrutují další složky BER. V následujícím kroku DNA polymeráza β doplní chybějící nukleotid (tzv. short patch repair – oprava krátkou záplatou) nebo delší úsek bází (tzv. long patch repair – oprava dlouhou záplatou), čímž dochází k vytlačení přilehlých bází, které jsou následně odstraněny endonukleázou FEN1. Posledním krokem BER je ligace přerušeno vlákna DNA ligázou.¹²⁷ APE1 se váže na promotor *KRAS* a zesiluje jeho transkripci, čímž podporuje vznik maligního fenotypu buněk. Knockdown APE1 zvyšuje citlivost nádorových buněk PDAC k chemoterapii oxaliplatinou, 5-FU a gemcitabinem, což naznačuje, že hraje v roli v chemorezistenci proti těmto léčivům.¹²⁸ Deficience DNA polymerázy β je u kolorektálního karcinomu spojena s vyšší odpovědí na léčbu oxaliplatinou, což naznačuje, že se DNA Pol β angažuje v rezistenci proti platinové chemoterapii. Tento jev můžeme očekávat i u PDAC.¹²⁹ Inhibice PARP pomocí 3-aminobenzamidu (3-ABA) vedla ke zvýšení účinnosti gemcitabinu v myších modelech PDAC.¹³⁰

5.1.1.3. Regulace indukce apoptózy

Apoptóza je jedním z hlavních druhů programované buněčné smrti, který slouží k udržení tkáňové homeostázy. Vznik mutací a poškození DNA v buňce vede za normálních okolností k aktivaci apoptotických drah a následné buněčné smrti. U rakovinných buněk však k apoptóze obvykle nedochází, jelikož se u nich vyvinula schopnost tomuto typu buněčné smrti unikat. Tato vlastnost je jedním z hlavních znaků nádorových onemocnění.¹³¹

U nádorů, které reagují na léčbu, vede chemoterapie a radioterapie k indukci apoptózy rakovinných buněk. Naopak PDAC je charakterizován vysokou odolností vůči apoptóze, což přispívá k jeho rezistenci vůči chemoterapii. Buňka může podstoupit apoptózu dvěma hlavními cestami: vnitřní (mitochondriální) dráhou a vnější (extrinzičnou) dráhou.¹³¹

Mitochondriální apoptotická dráha může být aktivována v rámci odpovědi na různé faktory. Mezi ně patří např. poškození DNA, oxidativní stres, deprivace nutrientů, hypoxie a vysoká intracelulární koncentrace Ca^{2+} iontů. Mitochondrie udržují rovnováhu mezi pro- a antiapoptotickými proteiny z rodiny Bcl-2. Při převaze proapoptotických proteinů dochází ke zvýšení propustnosti mitochondriální membrány a následnému uvolnění cytochromu c a dalších látek, jako jsou apoptózu indukující faktor (AIF), Smac/DIABLO a HtrA2/Omi, do cytoplazmy. Vazbou cytochromu c na Apaf-1 vzniká apoptozom, jenž štěpí prokaspázu 9 na kaspázu 9, která dále štěpí prokaspázy 3 a 7 na aktivní kaspázy 3 a 7, které jsou zodpovědné za morfologické a biochemické změny vedoucí k apoptóze. Uvolněné proteiny Smac/DIABLO a HtrA2/Omi podporují apoptózu vazbou na inhibitory apoptotických proteinů (IAPs) nebo jejich proteolytickým štěpením.¹³² V PDAC dochází ke zvýšené expresi antiapoptotického proteinu Bcl-X_L, což má za následek nerovnováhu mezi pro- a antiapoptotickými faktory blokující spuštění mitochondriální apoptotické dráhy.¹³³ Dále lze u PDAC pozorovat zvýšenou expresi proteinů rodiny IAP. Ke zvýšení exprese v pankreatických nádorových buňkách dochází zejména u proteinů XIAP, cIAP1/2 a Survivin. Zvýšená exprese proteinů cIAP1 a cIAP2 je spojena s chemorezistencí u PDAC.¹³¹



Obr.6: Schéma vnitřní apoptotické dráhy – převzato z ¹³² a přeloženo

Vnitřní dráha může být také aktivována při poškození endoplazmatického retikula (ER) vlivem buněčného stresu. Ten může způsobovat např. hypoxie, přítomnost volných radikálů nebo nedostatek glukózy. ER je citlivé na narušení buněčných procesů, jako jsou poškození DNA, oxidativní stres a snížená hladina vápníku, jelikož tyto podmínky zabraňují správnému balení proteinů v ER a působí stres ER.¹³¹ Odpovědí na tento stres je spuštění evolučně konzervované dráhy UPR (odpověď na nesbalený protein, z angl. Unfolded protein response). UPR signalizace je důležitá pro rakovinné buňky, jelikož v nich dochází ke vzniku stresu ER kvůli vysoké míře replikace vyšší hladině špatně sbalených proteinů. Spuštění UPR zvyšuje přežití nádorových buněk.¹³⁴ Protein GRP78, součást signální dráhy UPR, je výrazně exprimován v buňkách PDAC, kde inhibuje kaspázu 7 a proapoptotické proteiny BIK a BAX, čímž PDAC pomáhá v rezistenci proti apoptóze.¹³¹

Vnější apoptotická dráha se aktivuje vazbou tzv. smrtících (death) ligandů (např. TNF, FasL, TRAIL) na odpovídající receptory na povrchu buňky. Tyto receptory (TNFR1, Fas/CD95, DR4, DR5) obsahují smrtící (death) doménu. Po navázání ligandu na příslušný receptor se na death doménu připojí adaptorové proteiny TRADD, FADD a prokaspázy 8 a 10, čímž vzniká komplex DISC. V buňkách PDAC je apoptóza prostřednictvím vnější dráhy závislá na dráze mitochondriální. Vznikem DISC komplexu dochází k přeměně prokaspázy 8 na kaspázu 8, která zvyšuje propustnost mitochondriální membrány, což vede k aktivaci mitochondriální apoptotické dráhy.¹³⁵ PDAC zabraňuje aktivaci vnější dráhy několika způsoby. Zvýšená exprese FAP-1 zabraňuje interakci Fas-FasL skrze inhibici translokace Fas na membránu, čímž snižuje aktivitu tohoto receptoru.¹³⁶ Dále dochází k expresi tzv. decoy (nefunkčních) receptorů, které postrádají death doménu. Nejhojnějším decoy receptorem v PDAC je DcR3 (Decoy receptor 3), který kompetuje s Fas o FasL. Protein c-FLIP_L vykazuje strukturní identitu s prokaspázou 8, avšak neobsahuje aminokyseliny nezbytné pro kaspázovou aktivitu. S prokaspázou 8 kompetuje o účast v komplexu DISC.¹³⁷ TRAF-2 inhibuje signál smrti spojený s TNF receptorem a místo toho aktivuje signalizační dráhu NF- κ B, která podporuje přežívání buněk.¹³⁸

5.1.2. Mechanismy rezistence PDAC k imunoterapii

Buňky PDAC využívají několika mechanismů, které jim umožňují unikat imunitnímu systému a zprostředkovávají jejich rezistenci vůči imunoterapii. Tyto mechanismy zahrnují sníženou expresi MHC I a neoantigenů, expresi koinhibičních molekul, produkci imunosupresivních molekul a únik efektorovým mechanismům T a NK buněk.

5.1.2.1. Expese MHC I a neoantigenů

Snížená exprese hlavního histokompatibilního komplexu třídy I (MHC I) na povrchu buněk PDAC mu pomáhá v úniku imunitnímu systému, jelikož brání prezentaci nádorových antigenů cytotoxickým T-lymfocytům (CTLs). Může k ní docházet několika způsoby. Protein OASL zvyšuje NBR1-mediovanou autofagicko-lyzozomální degradaci MHC I a snižuje jeho četnost na povrchu buněk PDAC.¹³⁹ Aktivace glukokortikoidového receptoru (GR) v buňkách PDAC působí jako transkripční represor MHC I, což vede k jeho snížené expresi. Současně GR aktivuje expresi PD-L1, což dále podporuje imunosupresivní

mikroprostředí nádoru.¹⁴⁰ Exprese MHC I může být negativně ovlivněna také aktivací receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR, z angl. Epidermal growth factor receptor).¹⁴¹ Pozitivní regulace exprese MHC I na povrchu rakovinných buněk je jedním z prozkoumávaných přístupů v senzitivaci PDAC vůči imunoterapii, jelikož by mohla zásadně zvýšit její efektivitu.

PDAC je považován za imunologicky „studený nádor“, jelikož má velmi nízkou mutační zátěž a v důsledku toho omezený počet neoantigenů schopných prezentace prostřednictvím MHC I. Tento nedostatek imunogenních antigenů brání efektivní aktivaci CTLs a přispívá k celkové rezistenci PDAC vůči imunoterapii.¹⁴² Nízká mutační zátěž nádoru silně koreluje s rezistencí proti léčbě pomocí anti-PD-1 mAbs.¹⁴³

5.1.2.2. Exprese koinhibičních molekul

Buňky PDAC na svém povrchu exprimují řadu koinhibičních molekul, které přispívají k imunitnímu úniku nádoru. Tyto molekuly zvyšují rezistenci PDAC k imunoterapii díky inhibici aktivity T buněk a dalších imunitních složek v TME. Mezi hlavní koinhibiční molekuly exprimované nádorovými buňkami PDAC patří PD-L1, galektin-9, B7-H3, CD155 a VISTA.¹⁴⁴

Po vazbě PD-L1 na receptor PD-1 dochází k inhibici TCR signalizace díky aktivitě fosfatázy SHP2, což vede k anergii nebo apoptóze T buněk. Anergizované T buňky mají omezenou schopnost proliferace a protinádorové aktivity. Exprese PD-L1 na povrchu buněk PDAC je značně variabilní a podle různých studií se frekvence PD-L1⁺ buněk PDAC pohybuje od jednotek procent až po 90 % v závislosti na kohortě, použité metodice detekce, typu protilátky a definici PD-L1 pozitivitu. Efektivita terapie anti-PD-1 mAbs může být ovlivněna nejen mírou exprese PD-L1 na nádorových buňkách, ale také současnou expresí dalších koinhibičních molekul, které umožňují nádorovým buňkám obejít blokádu PD-1/PD-L1 dráhy.^{64,145,146}

Galektin-9 (Gal-9), lektin vázající β -galaktosid, je silně exprimován na povrchu nádorových buněk PDAC.¹⁴⁷ Jeho interakce s TIM-3 indukuje apoptózu u CD4⁺ T-lymfocytů (Th) a ve výrazně vyšší míře také u CD8⁺ CTLs. U buněk, které zároveň exprimují TIM-3 i PD-1 dochází ke vzniku komplexu TIM-3/Gal-9/PD-1, který inhibuje TIM-3-mediovanou apoptózu. Tento proces vede k funkčnímu vyčerpání T buněk, aniž by docházelo k jejich smrti. Bylo zjištěno, že ačkoli anti-PD-1 mAbs blokují vazbu PD-1/PD-L1, nezabraňují tvorbě komplexu TIM-3/Gal-9/PD-1 a následné supresi efektorových funkcí T-lymfocytů, jelikož Gal-9 a PD-L1 nejsou vzájemně kompetitivní. Tato skutečnost může přispívat k omezené účinnosti anti-PD-1 mAbs při léčbě PDAC.¹⁴⁸

B7-H3 je hojně exprimován nádorovými i imunitními buňkami TME PDAC (např. monocyty, T buňkami, makrofágy a dendritickými buňkami) PDAC. Kromě své schopnosti inhibovat infiltraci CTLs do nádoru a snižovat jejich cytotoxickou aktivitu zde také přispívá k progresi nádoru a vzniku vzdálených metastáz. Jeho exprese koreluje s negativní prognózou onemocnění.^{91,92} U trojitě negativního karcinomu prsu s nízkou expresí PD-L1 byla zaznamenána zvýšená exprese B7-H3, po jehož blokaci byla pozorována zvýšená efektivita anti-PD-1 mAb terapie. Tato data naznačují, že B7-H3 může být relevantním faktorem v rezistenci nádorů proti imunoterapii.¹⁴⁹ B7-H3 rovněž přispívá k

rezistenci PDAC vůči gemcitabinu díky zvýšení exprese antiapoptotického proteinu Survivinu v nádorových buňkách.¹⁵⁰

TIGIT je koinhibiční receptor exprimovaný zejména na povrchu CD8⁺ a CD4⁺ T-lymfocytů a NK buněk, ale také na nádorových buňkách PDAC. CD155, hlavní ligand TIGIT, je exprimován nádorovými buňkami, ale také dendritickými buňkami a makrofágy. Interakce CD155 a TIGIT vede k inhibici efektorových funkcí T buněk, zvýšené sekreci imunosupresivního IL-10 a snížené sekreci imunostimulačního IL-12. Exprese CD155 koreluje s expresí PD-L1. Obě molekuly bývají často koexprimovány v nádorové tkáni, zejména v oblastech se zvýšenou frekvencí PD-1⁺ TIGIT⁺ T-lymfocytů, což naznačuje, že osa TIGIT/CD155 hraje roli v rezistenci TME PDAC vůči anti-PD-1 mAb imunoterapii. Současná blokáda obou drah částečně obnovila efektorové funkce T buněk v prostředí PDAC.¹⁵¹

VISTA (T buněčný imunoglobulinový a mucinový receptor 3, z angl. V-domain Ig suppressor of T cell activation) je protein z rodiny B7, vykazující strukturní homologii s PD-L1. V rámci PDAC je silně exprimován jak na nádorových buňkách, tak na infiltrovaných imunitních buňkách. VISTA potlačuje funkci efektorových T-lymfocytů prostřednictvím snížení produkce jejich prozánětlivých cytokinů. Jeho exprese je spojena s nepříznivou prognózou onemocnění. U karcinomu prostaty byl identifikován jako kompenzační imunitní kontrolní bod, který se aktivuje v reakci na imunoterapii ipilimumabem (anti-CTLA-4 mAb), čímž přispívá k rezistenci proti této léčbě. V případě PDAC však zatím nebyla jeho role jako kompenzačního mechanismu po blokádě jiných kontrolních bodů jednoznačně potvrzena.^{152,153}

5.1.2.3. Produkce imunosupresivních faktorů

Transformující růstový faktor- β (TGF- β , z angl. Transforming growth factor- β) je imunosupresivní cytokin hojně produkován nádorovými buňkami PDAC. Jeho exprese je spojena s horší prognózou onemocnění.¹⁵⁴ TGF- β potlačuje funkci CTL buněk tím, že snižuje expresi efektorových molekul, jako jsou perforin a interferon- γ (IFN- γ), a zároveň inhibuje jejich proliferaci.¹⁵⁵ Dále podporuje diferenciaci regulačních T buněk (Treg) prostřednictvím indukce exprese transkripčního faktoru Foxp3, čímž aktivně utváří imunosupresivní mikroprostředí.¹⁵⁶ TGF- β také narušuje prezentaci antigenu inhibicí maturace dendritických buněk¹⁵⁷, zabraňuje maturaci a inhibuje cytotoxicitu NK buněk¹⁵⁸ a podporuje akumulaci myeloidních supresorových buněk (MDSC) prostřednictvím indukce CXCL12 a miRNA.¹⁵⁹ Rovněž podporuje polarizaci makrofágů směrem k M2 fenotypu, který se vyznačuje protizánětlivou aktivitou a imunosupresivním charakterem.¹⁶⁰ Inhibice TGF- β vedla ke zvýšení efektivity anti-PD-1/PD-L1 mAb imunoterapie^{161,162} a chemoterapie.¹⁶³

Interleukin-10 (IL-10) je protizánětlivý cytokin, který přispívá k imunosupresivnímu fenotypu TME v PDAC. Kromě imunitních buněk, jako jsou Treg nebo M2 makrofágy, může být IL-10 produkován i samotnými nádorovými buňkami. Experimentální studie prokázala, že buňky PDAC produkují IL-10, který stimuluje imunosupresivní aktivaci myeloidních buněk, mimo jiné zvýšenou expresí receptoru MARCO, jenž je spojen s inhibicí protinádorové imunity. Tento mechanismus byl obzvlášť výrazný v hypoxických podmínkách typických pro pokročilý PDAC, kde docházelo ke zvýšené produkci IL-10 a

výraznému potlačení aktivity CTLs. Tyto nálezy ukazují, že IL-10 produkovaný nádorovými buňkami PDAC přispívá k tvorbě „studeného“ imunofenotypu nádoru a podporuje únik imunitnímu systému.¹⁶⁴ Studie na myším modelu ovarialního karcinomu ukázala, že blokáda PD-1 může indukovat produkci IL-10, který zpětně posiluje imunosupresi a omezuje efektivitu imunoterapie. Kombinace anti-PD-1 a anti-IL-10 mAbs vedla k vyšší infiltraci CTLs do nádoru, nižší akumulaci MDSC buněk a prodloužení přežití, což naznačuje terapeutický potenciál duální blokády IL-10 a PD-1 v kontextu silně imunosupresivních nádorů, jako je PDAC.¹⁶⁵

Indolamin-2,3-dioxygenáza 1 (IDO1) je enzym katalyzující přeměnu esenciální aminokyseliny tryptofanu na kynurenin. Nedostatek tryptofanu omezuje proliferaci a efektorové funkce CTLs, zatímco vznikající kynurenin podporuje diferenciaci Tregs a inhibici NK a CD8⁺ T buněk, čímž přispívá k imunosupresivnímu prostředí nádoru.^{166,167} IDO1 je ve tkáni PDAC exprimována silněji než v okolní zdravé tkáni. Její zvýšená exprese koreluje s horší prognózou pacientů.¹⁶⁸ Inhibice IDO1 může zvýšit infiltraci CTLs do nádoru a zlepšit účinnost imunoterapie, zejména v kombinaci s vakcínami stimulujícími imunitní odpověď.¹⁶⁹

Nádorové buňky PDAC často exprimují enzym CD73, který přeměňuje extracelulární adenosinmonofosfát (AMP) na adenosin a tím významně přispívá k jeho akumulaci v TME. Adenosin se váže na receptor A2AR v T-lymfocytech a NK buňkách a potlačuje jejich proliferaci a efektorové funkce. Blokáda A2AR nebo CD73 vedla ve studiích k redukcii exprese koinhibičních molekul v nádorové tkáni a ke zvýšení účinnosti imunoterapie založené na inhibitech imunitních kontrolních bodů.^{170–172}

5.1.2.4. Rezistence k efektorovým mechanismům T a NK buněk

Buňky PDAC často exprimují stresem indukované ligandy MICA a MICB, které za normálních okolností aktivují receptor NKG2D na NK a CD8⁺ T buňkách, což vede k cytotoxické odpovědi. Nádorové buňky mohou tyto ligandy uvolňovat do extracelulárního prostředí ve formě solubilních molekul, jejichž vazba na NKG2D má za následek jeho degradaci a endocytózu, čímž dochází k potlačení efektorových funkcí CTLs. Přítomnost MIC ligandů byla pozorována u více než 75 % vzorků PDAC, přičemž výše jejich exprese korelovala s horší diferenciací, metastázami do lymfatických uzlin a kratším přežitím pacientů.^{173,174} Použití anti-MIC mAbs vedlo ke zvýšení cytotoxické aktivity NK buněk v PDAC.¹⁷⁵

PDAC exprimuje HLA-E, ligand inhibičního receptoru NKG2A na povrchu NK buněk a CD8⁺ T-lymfocytů. Blokáda pomocí anti-NKG2A mAb monalizumabu vedla ke zvýšení cytotoxické aktivity CTLs vůči HLA-E⁺ nádorovým buňkám. Kombinovaná terapie monalizumabem a inhibitory interakce PD-1/PD-L1 vedla k silnější protinádorové imunitní odpovědi a lepší kontrole růstu nádoru ve zvířecích modelech.¹⁷⁶

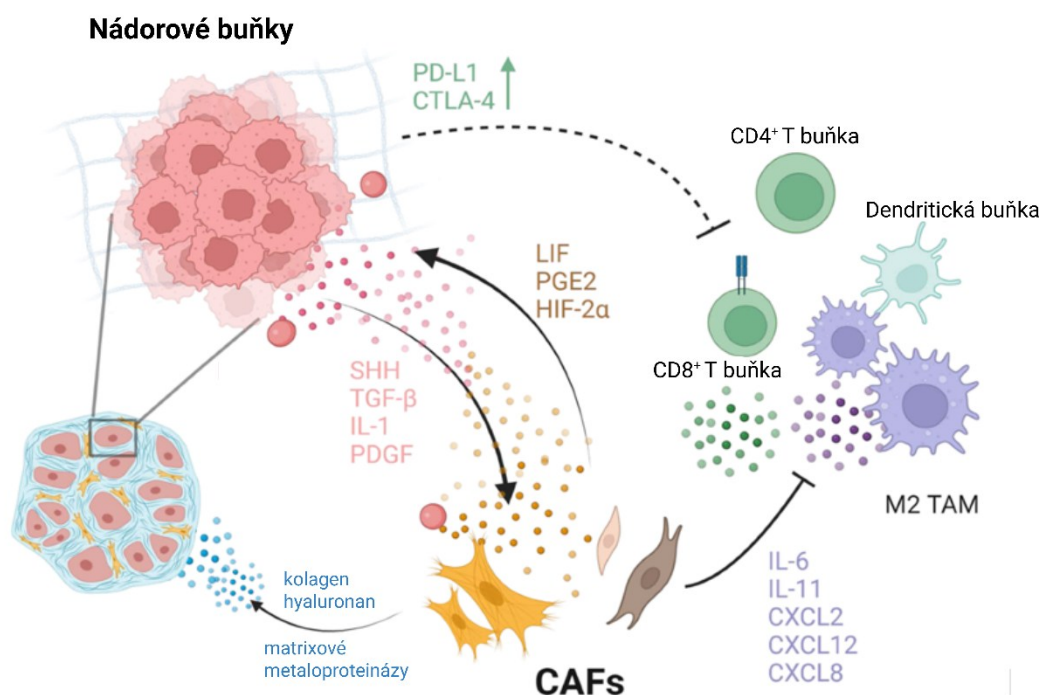
5.2. Role nenádorových buněk v nádorovém mikroprostředí PDAC z hlediska citlivosti k chemoterapii a imunoterapii

Nenádorové buňky a jimi produkované molekuly jsou důležitou součástí TME PDAC. Patří mezi ně převážně fibroblasty asociované s nádorem (CAFs, z angl. cancer associated fibroblasts), makrofágy asociované s nádorem (TAMs, z angl. tumor associated macrophages), Treg a MDSC buňky.¹⁰⁵

5.2.1. CAFs a jimi zprostředkovaná rezistence k chemoterapii a imunoterapii

CAFs představují hlavní buněčnou složku stromatu PDAC a významně přispívají k jeho rigiditě, imunosupresivním vlastnostem a terapeutické rezistenci. Vznikají především aktivací pankreatických stelárních buněk (PSCs, z angl. pancreatic stellate cells), pod vlivem cytokinů jako jsou TGF- β , IL-6, destičkový růstový faktor (PDGF, z angl. Platelet-derived growth factor) a Sonic Hedgehog (Shh). Aktivované PSCs ztrácejí zásoby vitamínu A a začínají exprimovat α -hladkosvalový aktin (α -SMA, z angl. α -Smooth muscle actin) – jeden z markerů CAFs. Novější výzkumy však ukazují, že CAFs mají různé buněčné původy a tvoří heterogenní populaci s rozdílnými funkcemi. Kromě diferenciace z PSCs mohou vznikat také z rezidentních fibroblastů, z adipocytů, pericytů, endotelových buněk nebo dokonce z makrofágů odvozených z kostní dřevě. CAFs silně produkují složky ECM (např. kolagen, hyaluronan), čímž formují desmoplastické stroma, které mechanicky brání vstupu CTLs a léčiv do nádoru. Kromě toho aktivně komunikují s nádorovými i imunitními buňkami prostřednictvím parakrinní signalizace – vylučují faktory jako IL-6, leukemický inhibiční faktor (LIF), CXCL12, nebo TGF- β , které přispívají k imunosupresi a podporují nádorovou progresi.¹⁷⁷ Jedna ze subpopulací CAFs, antigen prezentující CAFs (apCAFs), indukuje diferenciaci naivních CD4⁺ T buněk na imunosupresivní Tregs prostřednictvím prezentace antigenu skrze MHC II, ale bez kostimulačních molekul, čímž pomáhá PDAC v úniku imunitnímu systému.¹⁷⁸

Pod vlivem TGF- β CAFs produkují CYR61, který snižuje expresi nukleosidových transportérů hENT1 a hCNT3 zodpovědných za transport gemcitabinu do nádorových buněk. Zvýšená hladina stromálního CYR61 tak přispívá k rezistenci PDAC proti gemcitabinu.¹⁷⁹ CAFs v PDAC vykazují zvýšenou expresi cirkulární RNA *circFARPI*, která podporuje rezistenci na gemcitabin prostřednictvím osy LIF/STAT3. Neutralizace LIF nebo knockdown *circFARPI* zvýšily citlivost PDAC na léčbu gemcitabinem.¹⁸⁰ Subpopulace CAFs exprimující serinovou proteázu FAP (protein aktivující fibroblasty, z angl. Fibroblast activation protein) produkuje CXCL12, ligand receptoru CXCR4 na povrchu T buněk. Vazba CXCL12 na CXCR4 zabraňuje přímému kontaktu T buněk s nádorovými buňkami, a tak brání jejich protinádorové aktivitě. Přesný mechanismus této bariéry zatím nebyl popsán. Inhibice osy CXCR4/CXCL12 společně s anti-PD-L1 mAb terapií vedla ke zvýšené protinádorové odpovědi.¹⁸¹



Obr. 7: CAFs a jejich interakce s dalšími složkami nádorového mikroprostředí PDAC – převzato z ¹⁷⁷ a přeloženo

5.2.2. TAMs v kontextu rezistence PDAC k imunoterapii

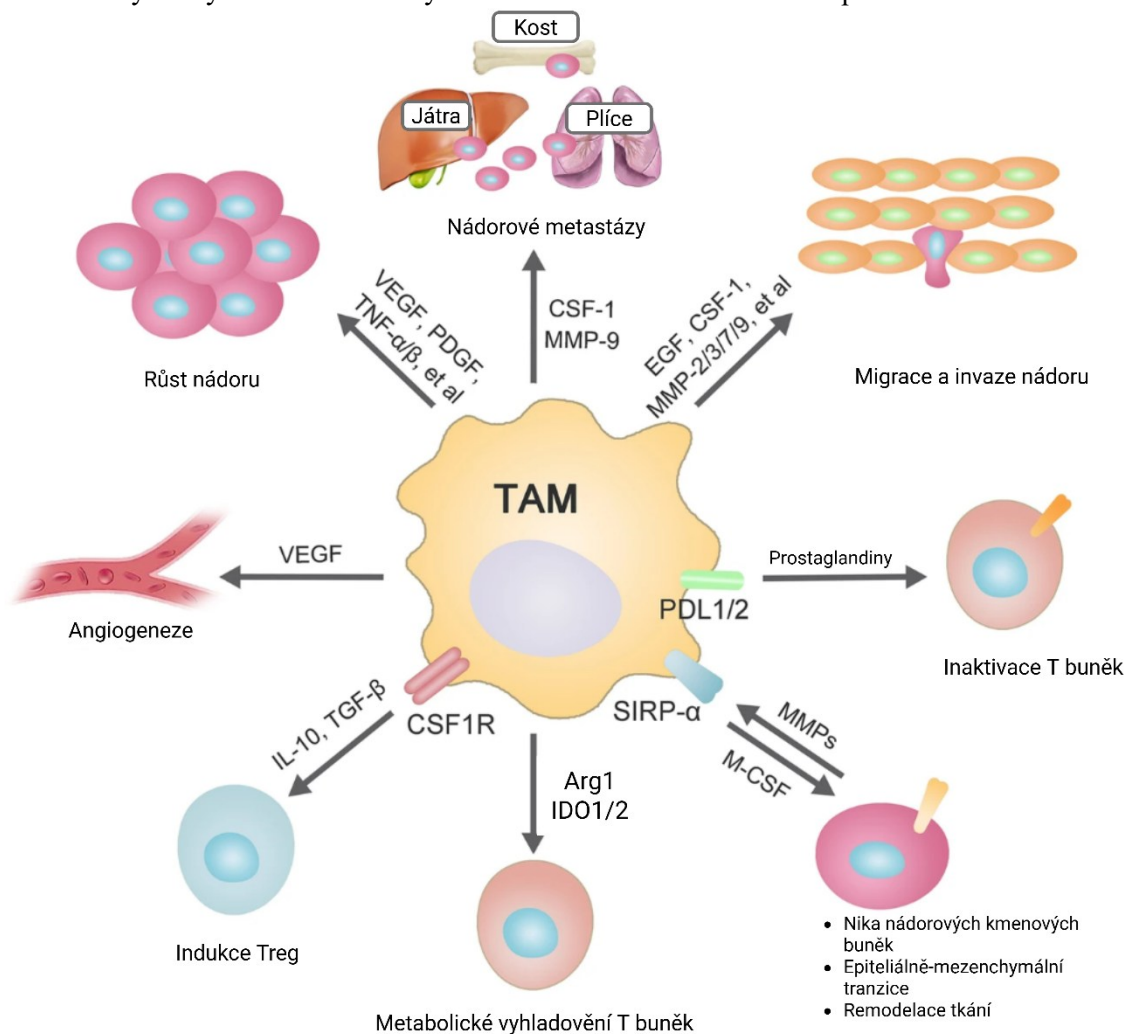
Makrofágy jsou jedny z prvních buněk, které infiltrují prekancerózní léze v pankreatu. Jejich přítomnost přetrvává i v pokročilých stádiích PDAC. V TME PDAC převládají alternativně aktivované, tzv. M2-polarizované TAMs, které se vyznačují imunosupresivním profilem a jejich vysoká denzita v nádoru koreluje s horší prognózou onemocnění. Nádorové buňky i stromální komponenty produkují chemoatraktanty (např. CCL2) a další cytokiny jako jsou faktor stimující kolonie granulocytů a makrofágů (GM-CSF, z angl. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), IL-10 a TGF-β, které podporují akumulaci monocytů a jejich diferenciaci směrem k M2 fenotypu.

TAMs potlačují funkce cytotoxických T-lymfocytů prostřednictvím několika mechanismů – například produkcí imunosupresivních faktorů (TGF-β, IL-10, PGE2), deplecí L-argininu a L-tryptofanu – aminokyselin nezbytných pro proliferaci T buněk, nebo expresí ligandů imunitních kontrolních bodů. Zároveň přispívají k akumulaci Treg buněk v nádoru skrze produkci CCL17, CCL22 a dalších chemokinů. TAMs tak přispívají ke tvorbě TME, které brání aktivaci a infiltraci efektorových buněk imunitního systému a výrazně snižuje účinnost imunoterapie v PDAC.¹⁸²

TAMs prostřednictvím sekrece TGF-β1 indukují translokaci pyruvát kinázy M2 (PKM2) do jádra nádorových buněk PDAC, která zde fosforyluje transkripční faktory genu pro PD-L1, čímž zvyšuje jeho expresi a podporuje tak imunosupresi. Knockdown PKM2 vedl ke zvýšení infiltrace a cytotoxických funkcí NK buněk a synergicky zvyšoval účinnost anti-PD-1 mAb terapie. Ačkoli autoři článku

nezmiňují vliv knockdownu PKM2 na T-lymfocyty, můžeme předpokládat, že downregulace PD-L1 na povrchu nádorových buněk také vedla ke zvýšení jejich protinádorové aktivity.¹⁸³

Inhibice kinázy Syk pomocí fostamatinibu (R788) mění fenotyp TAMs v PDAC z imunosupresivního na imunostimulační. Tato změna vedla ke snížení exprese genů spojených s imunosupresí a ke zvýšení infiltrace, proliferace a cytotoxické aktivity CTLs v nádorové tkáni. Kombinace Syk inhibitoru s gemcitabinem vedla v myších modelech k významnému omezení růstu nádoru i metastáz, přičemž tento terapeutický účinek byl závislý na přítomnosti CTLs.¹⁸⁴ TAMs v PDAC exprimují enzym arginázu 1 (Arg1), který snižuje dostupnost argininu nezbytného pro aktivaci CD8⁺ T buněk. Genetické vyřazení Arg1 v myeloidních buňkách i farmakologická inhibice Arg1 pomocí CB-1158 vedly ke zvýšení infiltrace T-lymfocytů do nádoru a zvýšení účinnosti anti-PD-1 mAb terapie.¹⁸⁵



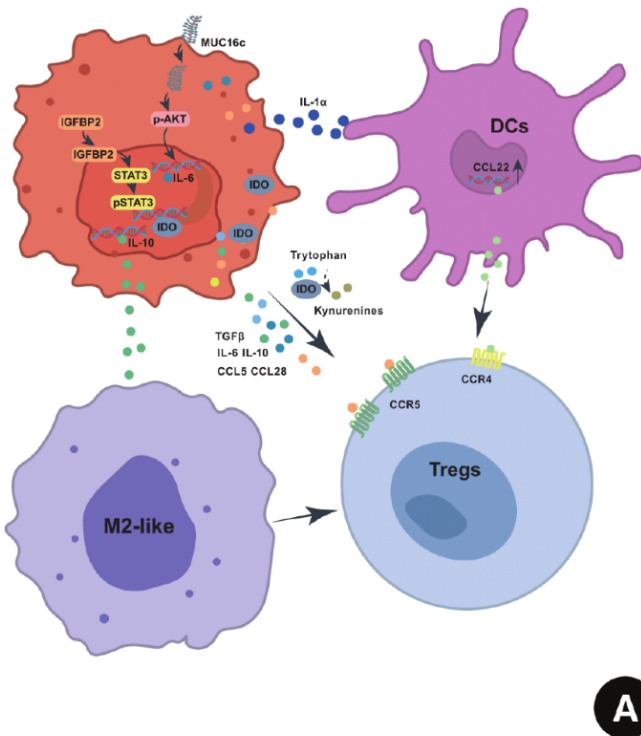
Obr.8: TAMs v kontextu TME PDAC – převzato z ¹⁸⁶ a přeloženo

5.2.3. Treg mediovaná rezistence k imunoterapii

Tregs představují klíčovou komponentu imunosupresivního mikroprostředí PDAC. Jejich akumulace v nádorové tkáni je podporována přímým i nepřímým působením nádorových buněk, které produkují cytokiny (např. IL-10, TGF- β), chemokiny (např. CCL5, CCL28) a metabolity (např. kynurenin), čímž podporují diferenciaci a migraci Treg buněk. Tregs následně potlačují protinádorovou imunitní odpověď jak kompetitivními mechanismy (např. kompetice o IL-2, vazba CTLA-4 na CD80/CD86), tak produkcí imunosupresivních faktorů jako IL-10, TGF- β , IL-35 nebo adenosinu. Významně také ovlivňují další složky nádorového mikroprostředí – podporují polarizaci makrofágů směrem k M2 fenotypu, přispívají k tolerogennímu charakteru dendritických buněk a kooperují s MDSC buňkami, které v případě deplece Tregs částečně kompenzují jejich imunosupresivní funkce. Kromě imunitních buněk interagují Tregs také s nenádorovými stromálními složkami, zejména s CAFs, u kterých podporují myofibroblastickou diferenciaci a remodelaci ECM prostřednictvím TGF- β . Naopak apCAFy mohou iniciovat diferenciaci Tregs. Výsledkem je obousměrná kooperace, která podporuje imunosupresi i fibrotickou strukturu nádoru.¹⁸⁷

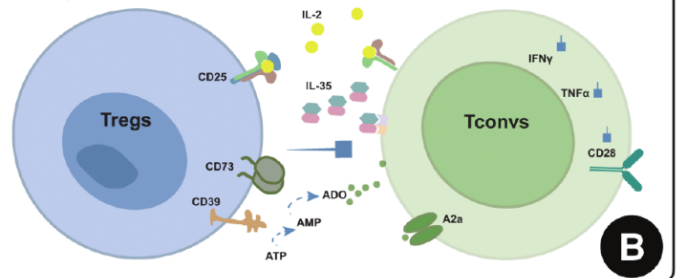
Studie na myším modelu kolorektálního karcinomu ukázala, že samostatná inhibice Foxp3⁺ Treg buněk nebo CSF1R⁺ makrofágů nestačí k potlačení nádorového růstu, jelikož dochází ke vzájemné kompenzaci imunosupresivních funkcí těchto buněčných populací. Teprve kombinovaná inhibice obou těchto typů buněk vedla k výrazné aktivaci CD8⁺ T-lymfocytů a silné protinádorové odpovědi. Podobný mechanismus můžeme očekávat také u PDAC.¹⁸⁸ Blokáda PD-1 u pacientů s pokročilým karcinomem žaludku může vést k expanzi vysoce supresivních Treg buněk nadměrně exprimujících PD-1 v nádorové tkáni a způsobit tak hyperprogresi onemocnění. PD-1⁺ Treg buňky po podání anti-PD-1 mAb více proliferovaly a exprimovaly vyšší hladiny CTLA-4, což naznačuje, že inhibice PD-1 může posílit imunosupresi zprostředkovanou Treg buňkami.¹⁸⁹ Interakce Treg buněk v ostatními složkami TME PDAC je znázorněna v Obr. 9.

Akumulace Tregs indukovaná nádorovými buňkami



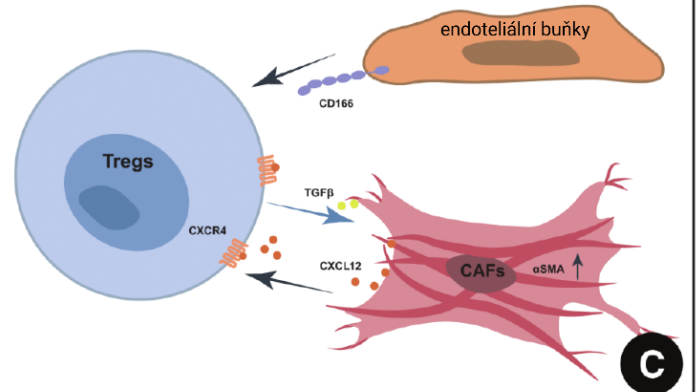
A

Inhibice protinádorové imunity zprostředkovaná Tregs



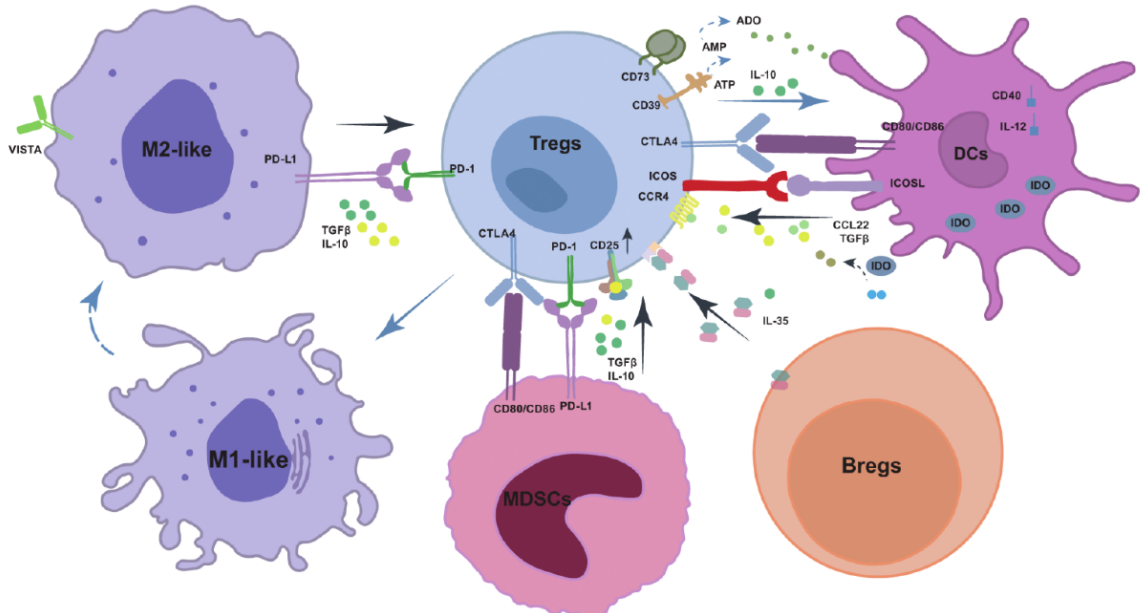
B

Neimunitní interakce Tregs



C

Kooperace a vzájemná kompenzace mezi Tregs a supresivními imunitními buňkami



D

---> Transformace → Pozitivní regulace —■ Negative regulation

Obr.9: Tregs a jejich interakce s nádorovými, imunitními i neimunitními buňkami v TME PDAC. Převzato z ^{187a} přeloženo

5.2.4. MDSC a jejich role v imunoterapii PDAC

MDSC představují heterogenní populaci myeloidních buněk, které v nádorovém mikroprostředí PDAC sehrávají klíčovou roli v potlačení protinádorové imunity. Dělí se na granulocytární a monocytární subpopulace, přičemž obě jsou schopny inhibovat funkci CTLs prostřednictvím produkce reaktivních forem kyslíku, NO, Arg-1 nebo imunosupresivních cytokinů (např. IL-10, TGF- β) a deplece cysteinu. V prostředí PDAC dochází k časné a masivní akumulaci MDSC, přičemž jejich četnost koreluje s horší prognózou a pokročilým stadiem onemocnění. MDSC podporují nádorovou progresi nejen inhibicí efektorových T buněk, ale i zprostředkováním expanze Treg buněk a polarizací makrofágů směrem k M2 fenotypu.^{190,191} V TME PDAC dochází k obousměrné interakci mezi MDSC a Treg buňkami – MDSC podporují indukci a akumulaci Treg buněk, zatímco Treg buňky zvyšují přežívání MDSC. Tyto buňky spolu navazují přímý kontakt a jejich interakce významně přispívá k udržení imunosupresivního stavu TME PDAC. Interakce mezi Tregs a MDSC byly potvrzeny jak v myším modelu, tak v lidských nádorech.¹⁹²

Infiltrace MDSC do PDAC je zprostředkována přes receptor CXCR2 a podílí se na imunosupresi a tvorbě metastáz. Inhibice CXCR2 snížila infiltraci MDSC do nádoru, podpořila aktivaci CD8⁺ T buněk a výrazně zvýšila účinnost anti-PD-1 mAb terapie. Tyto výsledky potvrzují, že MDSC hrají zásadní roli v rezistenci PDAC vůči imunoterapii.¹⁹³

6. Závěr

Navzdory pokroku v porozumění biologii nádorových onemocnění zůstává PDAC jednou z největších terapeutických výzev současné onkologie. Jeho pozoruhodná odolnost vůči chemoterapii a imunoterapii není výsledkem jediného mechanismu, nýbrž důsledkem celé řady buněčných i mimobuněčných procesů a interakcí, jejichž souhra vede k vytvoření mimořádně imunosupresivního nádorového mikroprostředí a vysoce odolného a adaptibilního nádoru. Budoucnost léčby karcinomu pankreatu pravděpodobně spočívá v kombinaci různých terapeutických přístupů synergicky spolupracujících na narušení klíčových mechanismů terapeutické rezistence a posílení protinádorové odpovědi imunitního systému.

7. Seznam použité literatury

Sekundární zdroje jsou označeny hvězdičkou.

1. Stewart, B. W. . & Wild, C. P. . *WORLD CANCER REPORT 2014*. (International Agency for Research on Cancer, 2014).*
2. Stewart, B. W. ., Weiderpass, Elisabete. & Wild, C. P. . *WORLD CANCER REPORT : CANCER RESEARCH FOR CANCER PREVENTION*. (International Agency for Research on Cancer, 2020).*
3. Ferlay, J. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today - GLOBOCAN 2022. Preprint at <https://gco.iarc.who.int/today> (2024).
4. Ferlay, J. et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today - GLOBOCAN 2022 (Czechia Fact Sheet). Preprint at <https://gco.iarc.who.int/media/globocan/factsheets/populations/203-czechia-fact-sheet.pdf> (2024).
5. Maisonneuve, P. & Lowenfels, A. B. Risk factors for pancreatic cancer: A summary review of meta-analytical studies. *Int J Epidemiol* **44**, 186–198 (2015).
6. Dítě, P. et al. Pankreatický Karcinom-Vztah k Diabetes Mellitus a Kouření. *Vnitř Lék vol. 57* (2011).
7. Brierley, J. D., Gospodarowicz, M. K. & Wittekind, C. *TNM Classification of Malignant Tumours*. (Wiley-Blackwell, Chichester, UK, 2017).
8. Hruban, R. H., Pitman, M. B. & Klimstra, D. S. *AFIP ATLAS OF TUMOR PATHOLOGY Series 4 Tumors of the Pancreas*. (2007).*
9. Yao, J. C. et al. Population-based study of islet cell carcinoma. *Ann. Surg. Oncol* **14**, 3492–3500 (2007).
10. Seregni, E., Ferrari, L., Bajetta, E., Martinetti, A. & Bombardieri, E. Clinical significance of blood chromogranin A measurement in neuroendocrine tumours. *Ann. Oncol.* **12**, (2001).
11. Fujii, T. et al. *MEN1* gene mutations in sporadic neuroendocrine tumors of foregut derivation. *Pathol Int* **49**, 968–973 (1999).
12. Libutti, S. K. et al. Pancreatic neuroendocrine tumors associated with von Hippel Lindau disease: diagnostic and management recommendations. *Surgery* **124**, 1153–1159 (1998).
13. Nishi, T. et al. A case of pancreatic neuroendocrine tumor in a patient with neurofibromatosis-1. *World J. Surg. Oncol.* **10**, 153 (2012).
14. Larson, A. M. et al. Pancreatic neuroendocrine tumors in patients with tuberous sclerosis complex. *Clin. Genet.* **82**, 558–563 (2012).
15. Milan, S. A. & Yeo, C. J. Neuroendocrine tumors of the pancreas. *Curr. Opin. Oncol.* **24** 46–55 (2012).*
16. Siegel, R. L., Miller, K. D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2018. *CA Cancer J. Clin.* **68**, 7–30 (2018).
17. Hruban, R. H., Maitra, A. & Goggins, M. Update on pancreatic intraepithelial neoplasia. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **1** (2008).*
18. Waddell, N. et al. Whole genomes redefine the mutational landscape of pancreatic cancer. *Nature* **518**, 495–501 (2015).

19. Ardalan, B. et al. distinct molecular and clinical features of specific variants of KRAS codon 12 in pancreatic adenocarcinoma. *Clin. Cancer Res.* **31**, 1082–1090 (2025).
20. Altomare, D. A. et al. Frequent activation of AKT2 kinase in human pancreatic carcinomas. *J Cell Biochem* **87**, 470–476 (2002).
21. Hu, Z. I. et al. Evaluating mismatch repair deficiency in pancreatic adenocarcinoma: Challenges and recommendations. *Clin. Cancer Res.* **24**, 1326–1336 (2018).
22. Klener, P. *KLINICKÁ ONKOLOGIE* (Galén, Praha 2002).*
23. Ryska, M. Karcinom pankreatu – chirurgická strategie léčby. *Onkologie* **4**, 333–337 (2010).*
24. Čečka F. et al. Paliativní Chirurgická Léčba Nádorů Pankreatu a Periampulární Oblasti. *Klin Onkol* vol. **25** (2012).*
25. Beger, H. G., Rau, B., Gansauge, F., Poch, B. & Link, K. H. Treatment of pancreatic cancer: Challenge of the facts. *World J. Surg.* vol. **27** 1075–1084 (2003).*
26. Loehrer, P. J. et al. Gemcitabine alone versus gemcitabine plus radiotherapy in patients with locally advanced pancreatic cancer: An Eastern Cooperative Oncology Group trial. *J. Clin. Oncol.* **29**, 4105–4112 (2011).
27. Farhangnia, P., Khorramdelazad, H., Nickho, H. & Delbandi, A. A. Current and future immunotherapeutic approaches in pancreatic cancer treatment. *J. Hematol. Oncol.* vol. **17** Preprint at <https://doi.org/10.1186/s13045-024-01561-6> (2024).*
28. Petruželka, L., Georgiev, P., Vočka, M. & Bielčíková, Z. Metastazující karcinom slinivky břišní – ukončení monoterapie gemcitabinem jako jediné možnosti volby první léčebné linie. in XXXVIII. brněnské onkologické dny a XXVIII. konference pro nelékařské zdravotnické pracovníky (2014).
29. Conroy, T. et al. FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic *Pancreatic Cancer*. *n engl J. Med* vol. **364** (2011).
30. Parker, W. B. & Chi Cheng, Y. Metabolism and mechanism of action of 5-fluorouracil. *Pharmacol. Ther.* vol. **48** (1990).
31. Gramont, A. De et al. Randomized Trial Comparing Monthly Low-Dose Leucovorin and Fluorouracil Bolus With Bimonthly High-Dose Leucovorin and Fluorouracil Bolus Plus Continuous Infusion For Advanced Colorectal Cancer: A French Intergroup Study. *J. Clin. Oncol.* vol. **15** (1997).
32. Ueno, H. et al. A phase II study of weekly irinotecan as first-line therapy for patients with metastatic pancreatic cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **59**, 447–454 (2007).
33. Ducreux, M. et al. Randomized phase II study evaluating oxaliplatin alone, oxaliplatin combined with infusional 5-FU, and infusional 5-FU alone in advanced pancreatic carcinoma patients. *Ann. Oncol.* **15**, 467–473 (2004).
34. Rosenberg, B., VanCamp, L., Trosko, J. E. & Mansour, V. H. Platinum compounds: A new class of potent antitumour agents [24]. *Nature* vol. **222** 385–386 (1969).
35. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Cv5.0. <https://www.meddra.org/> (2017).
36. Conroy, T. et al. FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *NEJM* **379**, 2395–2406 (2018).

37. Hertel, L. W., Kroin, J. S., Misner, J. W. & Tustin, J. M. Synthesis of 2-deoxy-2,2-difluoro-D-ribose and 2-deoxy-2,2'-difluoro-D-ribofuranosyl nucleosides. *J Org Chem* **53**, 2406–2409 (1988).
38. Mini, E., Nobili, S., Caciagli, B., Landini, I. & Mazzei, T. Cellular pharmacology of gemcitabine. *Ann. Oncol.* **17**, (2006).*
39. Huang, P. et al. Action of 2',2'-Difluorodeoxycytidine on DNA Synthesis Action of 2',2'-Difluorodeoxycytidine on DNA Synthesis I. *Cancer Res.* (22) 6110-7. (1991).
40. Heinemann, V., Hertel, L. W., Grindey, G. B. & Plunkett, W. Comparison of the Cellular Pharmacokinetics and Toxicity of 2',2'-Difluorodeoxycytidine and 1-β-d-Arabinofuranosylcytosine I. *Cancer Res* **48**, 4024–4031 (1988).
41. 2',2'-difluoro-deoxycytidine (gemcitabine) incorporation into RNA and DNA of tumour cell lines. *Biochem. Pharmacol.* **46**(4):762-766 (1993).
42. Baker, C. H. et al. 2'-Deoxy-2'-methylenecytidine and 2'-deoxy-2',2'-difluorocytidine 5'-diphosphates: potent mechanism-based inhibitors of ribonucleotide reductase. *J Med Chem* **34**, 1879–1884 (1991).
43. Heinemann, V. et al. cellular elimination of 2',2'-difluorodeoxycytidine 5'-triphosphate: a mechanism of self-potential. *Cancer Res.* **52**(3):533-9 (1992).
44. Pourquier, P. et al. Gemcitabine (2,2-difluoro-2-deoxycytidine), an antimetabolite that poisons Topoisomerase I. *Clin Cancer Res* **8** (8): 2499–2504. (2002)
45. Sharifi-Rad, J. et al. Paclitaxel: Application in modern oncology and nanomedicine-based cancer therapy. *Oxid Med Cell Longev* vol. **2021** (2021)*
46. Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P. & McPhail, A. T. Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *J Am Chem Soc* **93**, 2325–2327 (1971).
47. Baloglu, E. & Kingston, D. G. I. A new semisynthesis of paclitaxel from baccatin III. *J Nat. Prod.* **62**, 1068–1071 (1999).
48. Schiff, P. B. & Horwitz, S. B. Taxol stabilizes microtubules in mouse fibroblast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **77**, 1561–1565 (1980).
49. Von Hoff, D. D. et al. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine. *NEJM* **369**, 1691–1703 (2013).
50. Bukhari, N. et al. Exceptional response to second-line gemcitabine/nab-paclitaxel chemotherapy in patients with metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Cureus* **13**(10) (2021)
51. Saito, T. et al. Combination therapy with gemcitabine and nab-paclitaxel for locally advanced unresectable pancreatic cancer. *Mol Clin Oncol* **6**, 963–967 (2017).
52. Wainberg, Z. A. et al. NALIRIFOX versus nab-paclitaxel and gemcitabine in treatment-naive patients with metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma (NAPOLI 3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet* **402**, 1272–1281 (2023).
53. FDA approves irinotecan liposome for first-line treatment of metastatic pancreatic adenocarcinoma | FDA. <https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-approves-irinotecan-liposome-first-line-treatment-metastatic-pancreatic-adenocarcinoma>.
54. Arbour, K. C. et al. 652O Preliminary clinical activity of RMC-6236, a first-in-class, RAS-selective, tri-complex RAS-MULTI(ON) inhibitor in patients with KRAS mutant pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) and non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann. Oncol.* **34**, S458 (2023).

55. Spira, A. I. et al. preliminary safety, antitumor activity, and circulating tumor DNA (CtDNA) changes with RMC-9805, an oral, RAS(ON) G12D-selective tri-complex inhibitor in patients with KRAS G12D pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) from a phase 1 study in advanced solid tumors. *J. Clin. Oncol.* **43** (2025).
56. Zheng, Q., Zhang, Z., Guiley, K. Z. & Shokat, K. M. Strain-release alkylation of Asp12 enables mutant selective targeting of K-Ras-G12D. *Nat Chem Biol* **20**, 1114–1122 (2024).
57. Kong, X. et al. Immune checkpoint inhibitors: breakthroughs in cancer treatment. *CBM* vol. **21** (2024).*
58. Ishida, Y., Agata, Y., Shibahara, K. & Honjo, T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *The EMBO Journal* vol. **1** (1992).
59. Agata, Y. et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol* **8**, 765–772 (1996).
60. Vibhakar, R. et al. Activation-induced expression of Human Programmed Death-1 gene in T-lymphocytes. *Exp. Cell Res.* vol. **232** (1997).
61. Nishimura, H., Nose, M., Hiai, H., Minato, N. & Honjo, T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* vol. **11** (1999).
62. Freeman, G. J. et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J. Exp. Med.* vol. **192** (2000).
63. Dong, H. et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* **8**, 793–800 (2002).
64. Yamaki, S., Yanagimoto, H., Tsuta, K., Ryota, H. & Kon, M. PD-L1 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma is a poor prognostic factor in patients with high CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes: highly sensitive detection using phosphor-integrated dot staining. *Int J Clin Oncol* **22**, 726–733 (2017).
65. Ben Saad, E., Oroya, A., Anto, N. P., Bachais, M. & Rudd, C. E. PD-1 endocytosis unleashes the cytolytic potential of checkpoint blockade in tumor immunity. *Cell Rep* **43**, 114907 (2024).
66. Iwai, Y., Terawaki, S. & Honjo, T. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells. *Int Immunol* **17**, 133–144 (2005).
67. Hodi, F. S. et al. Nivolumab plus ipilimumab or nivolumab alone versus ipilimumab alone in advanced melanoma (CheckMate 067): 4-year outcomes of a multicentre, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* **19**, 1480–1492 (2018).
68. Ansell, S. M. et al. Nivolumab for relapsed/refractory classical Hodgkin lymphoma: 5-year survival from the pivotal phase 2 CheckMate 205 study. *Blood Adv* **7**, 6266–6274 (2023).
69. Mok, T. S. K. et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *The Lancet* **393**, 1819–1830 (2019).
70. Callahan, M. et al. Nivolumab monotherapy or combination with ipilimumab with or without cobimetinib in previously treated patients with pancreatic adenocarcinoma (CheckMate 032). *J Immunother Cancer* **12**, (2024).
71. Taïeb, J. et al. Efficacy of immune checkpoint inhibitors in microsatellite unstable/mismatch repair-deficient advanced pancreatic adenocarcinoma: an AGEO European Cohort. *Eur J Cancer* **188**, 90–97 (2023).

72. Liu, S. et al. Tumor microenvironment classification based on T-cell infiltration and PD-L1 in patients with mismatch repair-proficient and -deficient colorectal cancer. *Oncol Lett* **17**, 2335–2343 (2019).
73. Brunet, J.-F. et al. A new member of the immunoglobulin superfamily—CTLA-4. *Nature* **328**, 267–270 (1987).
74. Krummel, M. F. & Allison, J. P. CD28 and CTLA-4 Have Opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med.* **182**(2):459–465. (1995).
75. Tivol, E. A. et al. Loss of CTLA-4 Leads to Massive Lymphoproliferation and Fatal Multiorgan Tissue Destruction, Revealing a Critical Negative Regulatory Role of CTLA-4. *Immunity* vol. **3** (1995).
76. Jain, N., Nguyen, H., Chambers, C. & Kang, J. Dual function of CTLA-4 in regulatory T cells and conventional T cells to prevent multiorgan autoimmunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107**, 1524–1528 (2010).
77. Graff, J. N. et al. Phase II Study of Ipilimumab in men with metastatic prostate cancer with an incomplete response to androgen deprivation therapy. *Front Oncol* **10**, (2020).
78. O'Day, S. J. et al. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: A multicenter single-arm phase II study. *Ann. Oncol.* **21**, 1712–1717 (2010).
79. Royal, R. E. et al. Phase 2 trial of single agent ipilimumab (Anti-CTLA-4) for locally advanced or metastatic pancreatic adenocarcinoma. *J. Int. Immunother.***33**, 828–833 (2010).
80. Johnston, R. J. et al. The immunoreceptor TIGIT regulates antitumor and antiviral CD8+ T cell effector function. *Cancer Cell* **26**, 923–937 (2014).
81. Sho, M. et al. Clinical significance of cd155 expression in human pancreatic cancer. *Anticancer Res.* **35** (4) 2287-2297 (2015).
82. Cho, B. C. et al. Tiragolumab plus atezolizumab versus placebo plus atezolizumab as a first-line treatment for PD-L1-selected non-small-cell lung cancer (CITYSCAPE): primary and follow-up analyses of a randomised, double-blind, phase 2 study. *Lancet Oncol* **23**, 781–792 (2022).
83. Baixeras, E. et al. Characterization of the lymphocyte activation gene 3-encoded protein. A new ligand for human leukocyte antigen class II antigens. *J Exp Med.* **176**(2):327-37 (1992).
84. Woo, S. R. et al. Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res* **72**, 917–927 (2012).
85. Tawbi, H. A. et al. Relatlimab and nivolumab versus nivolumab in untreated advanced melanoma. *NEJM* **386**, 24–34 (2022).
86. Laetsch, T. W. et al. Three-year update of tisagenlecleucel in pediatric and young adult patients with relapsed/refractory acute lymphoblastic leukemia in the ELIANA Trial. *J Clin Oncol* **41**, 1664–1669 (2022).
87. Neelapu, S. S. et al. Axicabtagene ciloleucel CAR T-Cell therapy in refractory large B-Cell lymphoma. *NEJM* **377**, 2531–2544 (2017).
88. Argani, P. et al. Mesothelin is overexpressed in the vast majority of ductal adenocarcinomas of the pancreas: identification of a new pancreatic cancer marker by serial analysis of gene expression (SAGE). *Clin Cancer Res* **7**, 3862–3868 (2001).
89. Haas, A. R. et al. Phase I Study of lentiviral-transduced chimeric antigen receptor-modified T cells recognizing mesothelin in advanced solid cancers. *Mol. Ther.* **27**, 1919–1929 (2019).

90. Beatty, G. L. et al. Activity of mesothelin-specific chimeric antigen receptor t cells against pancreatic carcinoma metastases in a phase 1 trial. *Gastroenterology* **155**, 29–32 (2018).
91. Inamura, K. et al. Tumor B7-H3 (CD276) expression and survival in pancreatic cancer. *J Clin Med* **7**, (2018).
92. Zhao, X. et al. B7-H3 overexpression in pancreatic cancer promotes tumor progression. *Int J Mol Med* **31**, 283–291 (2013).
93. Lin, D., Shen, Y. & Liang, T. Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions. *Signal Transduct Target Ther* vol. **8** *
94. Rodríguez-García, A. et al. Safety and efficacy of VCN-01, an oncolytic adenovirus combining fiber HSG-binding domain replacement with RGD and hyaluronidase expression. *Clin Cancer Res* **21**, 1406–1418 (2015).
95. Schutte, M. et al. Abrogation of the Rb/p16 tumor-suppressive pathway in virtually all pancreatic carcinomas. *Cancer Res* **57**, 3126–3130 (1997).
96. Bazan-Peregrino, M. et al. VCN-01 disrupts pancreatic cancer stroma and exerts antitumor effects. *J Immunother Cancer* **9**, (2021).
97. Eriksson, E. et al. Shaping the tumor stroma and sparking immune activation by CD40 and 4-1BB signaling induced by an armed oncolytic virus. *Clin. Cancer Res.***23**, 5846–5857 (2017).
98. Musher, B. L. et al. LOAd703, an oncolytic virus-based immunostimulatory gene therapy, combined with chemotherapy for unresectable or metastatic pancreatic cancer (LOKON001): results from arm 1 of a non-randomised, single-centre, phase 1/2 study. *Lancet Oncol* **25**, 488–500 (2024).
99. Chen, Y. et al. An oncolytic virus–T cell chimera for cancer immunotherapy. *Nat Biotechnol* **42**, 1876–1887 (2024).
100. Weiss, G. J. et al. Phase Ib/II study of gemcitabine, nab-paclitaxel, and pembrolizumab in metastatic pancreatic adenocarcinoma. *Invest New Drugs* **36**, 96–102 (2018).
101. Weiss, G. J. et al. A phase Ib study of pembrolizumab plus chemotherapy in patients with advanced cancer (PembroPlus). *Br J Cancer* **117**(1):33-40 (2017)
102. Mahalingam, D. et al. Pembrolizumab in combination with the oncolytic virus pelareorep and chemotherapy in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: A phase Ib study. *C. Clin. Cancer Res.***26**, 71–81 (2020).
103. Cohen, D. et al. Phase II multi-institutional study of nivolumab (Nivo), cabiralizumab (Cabira), and stereotactic body radiotherapy (SBRT) for locally advanced unresectable pancreatic cancer (LAUPC). *J. Clin. Oncol.* **37**, 4163–4163 (2019).
104. Chen, I. M. et al. Randomized phase II study of nivolumab with or without ipilimumab combined with stereotactic body radiotherapy for refractory metastatic pancreatic cancer (CheckPAC). *J. Clin. Oncol.* **71**, (2022).
105. Hartupee, C. et al. Pancreatic cancer tumor microenvironment is a major therapeutic barrier and target. *Frontiers in Immunology* vol. **15** (2024).*
106. Zhang, Z., Zhang, H., Liao, X. & Tsai, H. I. I. KRAS mutation: The booster of pancreatic ductal adenocarcinoma transformation and progression. *Front. cell dev. biol.* vol. **11** (2023).*
107. Suzuki, T. et al. Mutant KRAS drives metabolic reprogramming and autophagic flux in premalignant pancreatic cells. *Cancer Gene Ther* **29**, 505–518 (2022).

108. Furukawa, T. Impacts of activation of the mitogen-activated protein kinase pathway in pancreatic cancer. *Front. oncol* vol. **5** (2015).*
109. Peng, Y., Wang, Y., Zhou, C., Mei, W. & Zeng, C. PI3K/Akt/mTOR pathway and its role in cancer therapeutics: Are we making headway? *Front. oncol* vol. **12** (2022).*
110. Eser, S. et al. Selective requirement of PI3K/PDK1 signaling for kras oncogene-driven pancreatic cell plasticity and cancer. *Cancer Cell* **23**, 406–420 (2013).
111. Prabhu, L., Mundade, R., Korc, M., Loehrer, P. J. & Lu, T. Critical Role of NF-KB in Pancreatic Cancer. *Oncotarget* **5**(22):10969–10975 (2014).*
112. Gao, J., Long, B. & Wang, Z. Role of Notch Signaling Pathway in Pancreatic Cancer. *Am J Cancer Res* **7**(2):173–186. 2017).*
113. De La O, J.-P. et al. Notch and Kras reprogram pancreatic acinar cells to ductal intraepithelial neoplasia. *Proc Natl Acad U.S.A* **105**, 18907–18912 (2008).
114. Song, H. Y., Wang, Y., Lan, H. & Zhang, Y. X. Expression of Notch receptors and their ligands in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Exp Ther Med* **16**, 53–60 (2018).
115. Jaramillo, A. C., Saig, F. Al, Cloos, J., Jansen, G. & Peters, G. J. How to overcome ATP-binding cassette drug efflux transporter-mediated drug resistance? *CDR* vol. **1** 6–29 (2018).*
116. Gu, J. et al. Hsa-miR-3178/RhoB/PI3K/Akt, a novel signaling pathway regulates ABC transporters to reverse gemcitabine resistance in pancreatic cancer. *Mol Cancer* **21**, (2022).
117. Chen, M. et al. Expression and promoter methylation analysis of ATP-binding cassette genes in pancreatic cancer. *Oncol Rep* **27**, 265–269 (2012).
118. Bergonzini, C. et al. ABCB1 overexpression through locus amplification represents an actionable target to combat paclitaxel resistance in pancreatic cancer cells. *J Exp. and Clin. Cancer Res.***43**, (2024).
119. Qian, Y. et al. Coix seed extract enhances the anti-pancreatic cancer efficacy of gemcitabine through regulating ABCB1-and ABCG2-mediated drug efflux: A bioluminescent pharmacokinetic and pharmacodynamic study. *Int J Mol Sci* **20**, (2019).
120. Wu, S. & Fu, L. Tyrosine kinase inhibitors enhanced the efficacy of conventional chemotherapeutic agent in multidrug resistant cancer cells. *Mol. Cancer* **17**(1):25 (2018).
121. Wattenberg, M. M. et al. Platinum response characteristics of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma and a germline BRCA1, BRCA2 or PALB2 mutation. *Br J Cancer* **122**, 333–339 (2020).
122. Pannunzio, N. R., Watanabe, G. & Lieber, M. R. Nonhomologous DNA end-joining for repair of DNA double-strand breaks. *JBC* vol. **293** 10512–10523 (2018).*
123. Hu, H. et al. NEAT1/miR-101-dependent Up-regulation of DNA-PKcs enhances malignant behaviors of pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *J Cancer* **12**, 5622–5632 (2021).
124. Jiricny, J. The multifaceted mismatch-repair system. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* vol. **7** 335–346 (2006).*
125. Riazy, M. et al. Mismatch repair status may predict response to adjuvant chemotherapy in resectable pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mod. Pathol.* **28**, 1383–1389 (2015).
126. Strippoli, A. et al. ERCC1 Expression affects outcome in metastatic pancreatic carcinoma treated with FOLFIRINOX: A single institution analysis. *Oncotarget* **7**(23):35159–35168
127. Sharbeen, G., McCarroll, J., Goldstein, D. & Phillips, P. A. Exploiting base excision repair to improve therapeutic approaches for pancreatic cancer. *Front. Nutr.* **2**:10 (2015).*

128. Pramanik, S. et al. The human AP-endonuclease 1 (APE1) is a DNA G-quadruplex structure binding protein and regulates KRAS expression in pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *Nucleic Acids Res* **50**, 3394–3412 (2022).
129. Yang, J. et al. Cells deficient in the base excision repair protein, DNA polymerase beta, are hypersensitive to oxaliplatin chemotherapy. *Oncogene* **29**, 463–468 (2010).
130. Jacob, D. A. et al. Combination therapy of poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor 3-aminobenzamide and gemcitabine shows strong antitumor activity in pancreatic cancer cells. *J Gastroenterol Hepatol* **22**, 738–748 (2007).
131. Modi, S., Kir, D., Banerjee, S. & Saluja, A. Control of apoptosis in treatment and biology of pancreatic cancer. *J Cell Biochem* **117**, 279–288 (2016).*
132. Xiong, S., Mu, T., Wang, G. & Jiang, X. Mitochondria-mediated apoptosis in mammals. *Protein Cell* **5**, 737–749 (2014).*
133. Greten, F. R. et al. Stat3 and NF- κ B activation prevents apoptosis in pancreatic carcinogenesis. *Gastroenterology* **123**, 2052–2063 (2002).
134. Healy, S. J. M., Gorman, A. M., Mousavi-Shafaei, P., Gupta, S. & Samali, A. Targeting the endoplasmic reticulum-stress response as an anticancer strategy. *Eur J Pharmacol* **625**, 234–246 (2009).*
135. Ricci, M. S. & El-Deiry, W. S. *THE EXTRINSIC PATHWAY OF APOPTOSIS. IN APOPTOSIS, SENESCENCE, AND CANCER* 31–54 (Humana Press, Totowa, NJ, 2007).*
136. Ungefroren, H. et al. FAP-1 in pancreatic cancer cells: functional and mechanistic studies on its inhibitory role in CD95-mediated apoptosis. *J Cell Sci* **114**, 2735–2746 (2001).
137. Ohta, T. et al. Human pancreatic cancer cells disable function of fas receptors at several levels in fas signal transduction pathway. *Int J Oncol* **18**(2):311-6. (2001)
138. Trauzold, A. et al. CD95 and TRAF2 promote invasiveness of pancreatic cancer cells. *The FASEB Journal* **19**, 1–24 (2005).
139. Xing, X. et al. OASL promotes immune evasion in pancreatic ductal adenocarcinoma by enhancing autolysosome-mediated degradation of MHC-I. *Theranostics* **15**, 2104–2120 (2025).
140. Deng, Y. et al. Glucocorticoid receptor regulates PD-L1 and MHC-I in pancreatic cancer cells to promote immune evasion and immunotherapy resistance. *Nat Commun* **12**(1), (2021).
141. Knoche, S. M. et al. Major histocompatibility complex class I molecule expression by pancreatic cancer cells is regulated by activation and inhibition of the epidermal growth factor receptor. *Immunol Res* **70**, 371–391 (2022).
142. Imamura, T. et al. Characterization of pancreatic cancer with ultra-low tumor mutational burden. *Sci Rep* **13**, (2023).
143. Yarchoan, M., Hopkins, A. & Jaffee, E. M. tumor mutational burden and response rate to PD-1 inhibition. *NEJM* **377**, 2500–2501 (2017).
144. Li, H. B., Yang, Z. H. & Guo, Q. Q. Immune checkpoint inhibition for pancreatic ductal adenocarcinoma: limitations and prospects: a systematic review. *CCS* **19**(1):117 (2021).*
145. Zhang, Y. et al. PD-L1 and PD-L2 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma and their correlation with immune infiltrates and DNA damage response molecules. *J. pathol., Clin. res.* **8**, 257–267 (2022).
146. Liang, X. et al. PD-L1 in pancreatic ductal adenocarcinoma: A retrospective analysis of 373 Chinese patients using an in vitro diagnostic assay. *Diagn Pathol* **13**, (2018).

147. Seifert, A. M. et al. Detection of pancreatic ductal adenocarcinoma with galectin-9 serum levels. *Oncogene* **39**, 3102–3113 (2020).
148. Yang, R. et al. Galectin-9 interacts with PD-1 and TIM-3 to regulate T cell death and is a target for cancer immunotherapy. *Nat Commun* **12**, (2021).
149. Mei, J. et al. High B7-H3 expression with low PD-L1 expression identifies armored-cold tumors in triple-negative breast cancer. *NPJ Breast Cancer* **10**, (2024).
150. Zhao, X. et al. Silencing of B7-H3 increases gemcitabine sensitivity by promoting apoptosis in pancreatic carcinoma. *Oncol Lett* **5**, 805–812 (2013).
151. Pearce, H. et al. Tissue-resident memory t cells in pancreatic ductal adenocarcinoma coexpress PD-1 and TIGIT and functional inhibition is reversible by dual antibody blockade. *Cancer Immunol Res* **11**, 435–449 (2023).
152. Digomann, D. et al. VISTA ligation reduces antitumor T-cell activity in pancreatic cancer. *Cancers (Basel)* **15**, (2023).
153. Gao, J. et al. VISTA is an inhibitory immune checkpoint that is increased after ipilimumab therapy in patients with prostate cancer. *Nat Med* **23**, 551–555 (2017).
154. Friess, H. et al. Enhanced expression of transforming growth factor beta isoforms in pancreatic cancer correlates with decreased survival. *Gastroenterology* **105**(6):1846-56. (1993)
155. Thomas, D. A. & Massagué, J. TGF- β directly targets cytotoxic T cell functions during tumor evasion of immune surveillance. *Cancer Cell* **8**, 369–380 (2005).
156. Chen, W. J. et al. Conversion of Peripheral CD4+CD25- Naive T Cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF- β induction of transcription factor Foxp3. *JEM.* **198**, 1875–1886 (2003).
157. Tanaka, H. et al. Transforming growth factor β signaling inhibitor, SB-431542, induces maturation of dendritic cells and enhances anti-tumor activity. *Oncol Rep* **24**, 1637–1643 (2010).
158. Marcoe, J. P. et al. TGF- β is responsible for NK cell immaturity during ontogeny and increased susceptibility to infection during mouse infancy. *Nat Immunol* **13**, 843–850 (2012).
159. Liu, Y. et al. MicroRNA-494 is required for the accumulation and functions of tumor-expanded myeloid-derived suppressor cells via targeting of PTEN. *J. Immun.* **188**, 5500–5510 (2012).
160. Gong, D. et al. TGF β signaling plays a critical role in promoting alternative macrophage activation. *BMC Immunol* **13**, (2012).
161. Chen, S. Y. et al. Targeting heterogeneous tumor microenvironments in pancreatic cancer mouse models of metastasis by TGF- β depletion. *JCI Insight* **9**, (2024).
162. Peng, H. et al. Local release of TGF- β inhibitor modulates tumor-associated neutrophils and enhances pancreatic cancer response to combined irreversible electroporation and immunotherapy. *Adv. Sci* **9**, 2105240 (2022).
163. Qiang, L. et al. Transforming growth factor- β blockade in pancreatic cancer enhances sensitivity to combination chemotherapy. *Gastroenterology* **165**, 874-890.e10 (2023).
164. Sarhan, D. et al. Targeting myeloid suppressive cells revives cytotoxic anti-tumor responses in pancreatic cancer. *iScience* **25**, 105317 (2022).
165. Lamichhane, P. et al. IL10 release upon PD-1 blockade sustains immunosuppression in ovarian cancer. *Cancer Res* **77**, 6667–6678 (2017).

166. Fallarino, F. et al. The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate t cell receptor-chain and induce a regulatory phenotype in naive T Cells. *J. Immun* **176**(11):6752-61. (2006).
167. Park, A. et al. Indoleamine-2,3-dioxygenase in thyroid cancer cells suppresses natural killer cell function by inhibiting NKG2D and NKp46 expression via STAT signaling pathways. *J Clin Med* **8**, (2019).
168. Zhang, T. et al. Expression and prognostic value of indoleamine 2,3-dioxygenase in pancreatic cancer. *Chin Med J (Engl)* **130**, 710–716 (2017).
169. Blair, A. B. et al. IDO1 inhibition potentiates vaccine-induced immunity against pancreatic adenocarcinoma. *JCI* **129**, 1742–1755 (2019).
170. Allard, B., Pommey, S., Smyth, M. J. & Stagg, J. Targeting CD73 enhances the antitumor activity of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 mAbs. *Clin. Cancer Res.* **19**, 5626–5635 (2013).
171. Leone, R. D. et al. Inhibition of the adenosine A2a receptor modulates expression of T cell coinhibitory receptors and improves effector function for enhanced checkpoint blockade and ACT in murine cancer models. *CII* **67**, 1271–1284 (2018).
172. Young, A. et al. A2AR adenosine signaling suppresses natural killer cell maturation in the tumor microenvironment. *Cancer Res* **78**, 1003–1016 (2018).
173. Dambrauskas, Z. et al. Expression of major histocompatibility complex class I-related chain A/B (MICA/B) in pancreatic carcinoma. *Int J Oncol* **44**, 99–104 (2014).
174. Groh, V., Wu, J., Yee, C. & Spies, T. Tumour-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature* **419**, 734–738 (2002).
175. Kaur, K., Safaie, T., Ko, M. W., Wang, Y. & Jewett, A. Adcc against MICA/B is mediated against differentiated oral and pancreatic and not stem-like/poorly differentiated tumors by the NK cells; loss in cancer patients due to down-modulation of CD16 receptor. *Cancers (Basel)* **13**, 1–19 (2021).
176. André, P. et al. Anti-NKG2A mAb Is a Checkpoint Inhibitor that Promotes Anti-tumor Immunity by Unleashing Both T and NK Cells. *Cell* **175**, 1731-1743.e13 (2018).
177. Zhang, T., Ren, Y., Yang, P., Wang, J. & Zhou, H. Cancer-associated fibroblasts in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cell Death Dis.* **13**(10):897. (2022).*
178. Huang, H. et al. Mesothelial cell-derived antigen-presenting cancer-associated fibroblasts induce expansion of regulatory T cells in pancreatic cancer. *Cancer Cell* **40**, 656-673.e7 (2022).
179. Hesler, R. A. et al. TGF- β -induced stromal CYR61 promotes resistance to gemcitabine in pancreatic ductal adenocarcinoma through downregulation of the nucleoside transporters hENT1 and hCNT3. *Carcinogenesis* **37**, 1041–1051 (2016).
180. Hu, C. et al. circFARP1 enables cancer-associated fibroblasts to promote gemcitabine resistance in pancreatic cancer via the LIF/STAT3 axis. *Mol Cancer* **21**, (2022).
181. Feig, C. et al. Targeting CXCL12 from FAP-expressing carcinoma-associated fibroblasts synergizes with anti-PD-L1 immunotherapy in pancreatic cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110**, 20212–20217 (2013).
182. Poh, A. R. & Ernst, M. Tumor-associated macrophages in pancreatic ductal adenocarcinoma: Therapeutic opportunities and clinical challenges. *Cancers (Basel)* **13**(12):2860. (2021).*
183. Xia, Q. et al. Tumor-associated macrophages promote PD-L1 expression in tumor cells by regulating PKM2 nuclear translocation in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene* **41**, 865–877 (2022).

184. Rohila, D. et al. Syk inhibition reprograms tumor-associated macrophages and overcomes gemcitabine-induced immunosuppression in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Res* **83**, 2675–2689 (2023).
185. Menjivar, R. E. et al. Arginase 1 is a key driver of immune suppression in pancreatic cancer Editor's evaluation. **12**, 80721 (2023).
186. Chen, Y. et al. Tumor-associated macrophages: An accomplice in solid tumor progression. *J Biomed Sci.* **26**(1):78. (2019).
187. Shi, X., Liu, H. & Liang, Z. Cellular crosstalk of regulatory T cells in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Pancreatol.* Ivol. **7** 131–140 (2024).*
188. Gyori, D. et al. Compensation between CSF1R+ macrophages and Foxp3+ Treg cells drives resistance to tumor immunotherapy. *JCI Insight* **3**, (2018).
189. Kamada, T. et al. PD-1+ regulatory T cells amplified by PD-1 blockade promote hyperprogression of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* **116**, 9999–10008 (2019).
190. Dong, P. et al. The role of myeloid-derived suppressor cells in the treatment of pancreatic cancer. *TCRT* vol. **21** (2022).*
191. Kemp, S. B., Pasca di Magliano, M. & Crawford, H. C. Myeloid cell mediated immune suppression in pancreatic cancer. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* **12**, 1531–1542 (2021).*
192. Siret, C. et al. deciphering the crosstalk between myeloid-derived suppressor cells and regulatory t cells in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Front Immunol* **10**, (2020).
193. Steele, C. W. et al. CXCR2 inhibition profoundly suppresses metastases and augments immunotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell* **29**, 832–845 (2016).