Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce

UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Imunologické rysy karcinomu jícnu a jejich vliv na prognózu a terapii

MUDr. Martin Šnajdauf

2023

Doktorské studijní programy v biomedicíně

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady: prof. MUDr. Zdeněk Krška, DrSc.

Školicí pracoviště: III. chirurgická klinika 1. LF UK a FN Motol

Školitel: prof. MUDr. Robert Lischke, Ph.D.

Konzultant: MUDr. Zuzana Střížová, Ph.D.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

Abstrakt

Karcinom jícnu patří mezi malignity gastrointestinálního traktu s nejhorší prognózou. Současné možnosti léčby, zahrnující chirurgickou resekci, chemoterapii, radioterapii nebo kombinaci těchto způsobů, mají nízkou účinnost a pětileté přežívání se u pacientů s rakovinou jícnu pohybuje pouze okolo 10 až 15 %. Imunoterapie se jako samostatná terapeutická modalita dostala v poslední dekádě do popředí léčby řady solidních tumorů. Úspěch imunoterapeutických přístupů však závisí nejen na infiltraci nádorového mikroprostředí imunitními buňkami, ale též na fenotypu těchto infiltrujících buněk.

Cílem tohoto projektu bylo zhodnotit pomocí průtokové cytometrie imunologické rysy tumor-infiltrujících lymfocytů získaných z různých tkáňových kompartmentů (nádor, peritumorózní tkáň, přilehlá zdravá tkáň a lymfatická uzlina) pacientů během chirurgické resekce a porovnat je s klinickými a histopatologickými daty pacientů.

Bylo zjištěno, že distribuce NK (natural killer) buněk, CD8 a CD4 pozitivních T buněk se liší v závislosti na analyzovaném tkáňovém kompartmentu. Zatímco v lymfatických uzlinách bylo nejvyšší zastoupení CD4 T buněk, u NK buněk tomu bylo právě naopak a jejich procentuální zastoupení v lymfatických uzlinách bylo nejnižší. Výskyt receptorů smrti FasR a DR3 (death receptor 3) byl nejnižší na CD4 T buňkách v lymfatických uzlinách. Dále bylo zjištěno, že u pacientů kuřáků byly nacházeny nejen významně nižší počty peritumorozních T buněk a NK buněk, ale současně všechny tyto buňky vykazovaly velmi vysokou expresi receptorů smrti. Tento výsledek ukazuje, že aktivní kouření má kritický dopad na nádorové mikroprostředí a okolní imunitní buňky a může významně ovlivnit prognózu pacientů s karcinomem jícnu a jejich schopnost odpovědi na imunoterapii. V další studii výsledky ukázaly, že na imunitních CD8 T a NK buňkách je významně vyšší exprese molekuly CD47 než na samotných nádorových buňkách, a tedy karcinom jícnu není

vhodný k léčbě anti-CD47 monoklonálními protilátkami, neboť tato léčba bude preferenčně cílit na buňky imunitní a způsobí jejich prioritní likvidaci.

Klíčová slova: karcinom jícnu, imunoterapie, tumor infiltrující lymfocyty (TIL), receptory smrti.

Abstract

Esophageal cancer belongs to the gastrointestinal malignancies with the worst prognosis. Current treatment options, including surgical resection, chemotherapy, radiotherapy, or a combination of these methods, have low efficacy and the five-year survival rate for patients with esophageal cancer is approximately 10 to 15 %. In the last decade, immunotherapy has become the leading treatment modality for metastatic tumors. However, the success of immunotherapeutic approaches does not only depend on the infiltration of the tumor microenvironment with immune cells but also on the phenotype of these infiltrating cells.

The aim of this project was to evaluatethe immunological features of tumor-infiltrating lymphocytes obtained from different tissue compartments (tumor, peritumoral tissue, adjacent healthy tissue, and lymph node) of patients during surgical resection and to compare them with clinical and histopathological data of patients.

We observed that the distribution of NK (natural killer) cells, CD8 and CD4 positive T cells was different in each tissue compartment. While the lymph nodes had the highest percentage of T cells, the opposite was seen in NK cells. The proportion of NK cells was the lowest in the lymph nodes. The expression of death receptors FasR and DR3 (death receptor 3) was the lowest on CD4 T cells infiltrating the lymph nodes. Furthermore, we demonstrated that significantly lower proportions of peritumoral T cells and NK cells were shown in patients that were actively smoking. Furthermore, these cells displayed also a very high expression of death receptors. Our results thus demonstrated that active smoking has a critical impact on the tumor microenvironment and the adjacent tissue infiltrating immune cells and can significantly affect the prognosis of patients with esophageal cancer.. In the next study, a significantly higher levels of CD47 molecule were expressed on the CD8 T and NK cells rather than on the tumor cells. These data suggest that esophageal

cancer may not be suitable for the treatment with anti-CD47 monoclonal antibodies, as they will preferentially target immune cells.

Keywords: esophageal carcinoma, immunotherapy, tumor-infiltrating lymphocytes (TIL), death receptors.

1. Úvod

Karcinom jícnu (EC) zůstává jednou z nejsmrtelnějších gastrointestinálních malignit s pětiletou mírou přežití 41 % u lokalizovaných, 23 % u regionálních a pouze u 5 % pacientů s metastatickým stadiem onemocnění (Short et al. 2017). EC se skládá ze dvou hlavních histologických podtypů: spinocelulárního karcinomu a adenokarcinomu jícnu (Moch et al. 2016; Napier et al. 2014). Oba podtypy se liší incidencí, etiologií a klinickými znaky (Moch et al. 2016; Napier et al. 2014). Jako léčba se používá u časných karcinomů endoskopická resekce, u pokročilejších stadií nejčastěji kombinace chirurgické operace, chemoterapie a radioterapie. Imunoterapie se stala jednou z předních terapeutických modalit u metastatických onemocnění (Zhang a Chen 2018). U mnoha pacientů může imunoterapie vést ke kompletní remisi, ale u řady pacientů však do značné míry selhává (Koury et al. 2018).

The paratumoral immune cell signature reveals the potential for the implementation of immunotherapy in esophageal carcinoma patients

Jedním z mechanismů, který brání imunitnímu systému v účinné eradikaci nádoru, je regulace nádorové infiltrace imunitními buňkami. Tumor infiltrující lymfocyty (TIL) proto mají širokou prognostickou hodnotu a slouží jako prognostické biomarkery u mnoha rakovin (Badalamenti et al. 2019). Kromě prognostické hodnoty TIL může fenotyp TIL také predikovat, zda mohou účinně napadat nádorové buňky nebo zda zůstanou neaktivní nebo zemřou indukovanou apoptózou (Střížová et al. 2019; Zhu et al. 2017). Nedávné poznatky naznačují, že signalizační osa Fas ligand–Fas receptor (FasL–FasR) je zodpovědná za indukci apoptózy v

cytotoxických T buňkách infiltrujících nádor, což vede k celkovému snížení počtu TIL. Navíc apoptóza TIL indukovaná FasL byla popsána jako hlavní faktor přispívající k selhání imunoterapie (Zhu et al. 2017). FasL a další ligandy receptoru smrti, jako jsou TL1A, ligand pro receptor smrti 3 (DR3) (Ge et al. 2011), jsou často vysoce exprimovány nádorovými buňkami a mohou spustit apoptózu TIL, která exprimuje receptory smrti (Zhu et al. 2019). Nehledě na to, že TIL a jejich fenotypové znaky mohou poskytnout širokou prognostickou hodnotu pro mnoho typů nádorů, neindikují skutečné mechanismy, kterými se nádorové buňky vyhýbají eliminaci imunitními buňkami. Pro lepší pochopení mechanismů, které řídí nádorovou rezistenci, je nutné také určit paratumorální distribuci a fenotypové znaky infiltrujících imunitních buněk. Nedávné studie podobně ukázaly, že prostorová distribuce a proporce různých podskupin infiltrujících lymfocytů v nádorovém a paratumorálním kompartmentu mají klinicko-patologický význam a mohou poskytnout vhled do mechanismů, které řídí rezistenci nádoru (Fridman et al. 2011; Giraldo et al. 2015 Miksch a kol. 2019; Park a Kim 2017; Sorbye a kol. 2012; Střížová a kol. 2019).

Tumoral and paratumoral NK cells and CD8+ T cells of esophageal carcinoma patients express high levels of CD47

CD47 je široce exprimovaný transmembránový protein patřící mezi imunoglobuliny (Barclay et al. 2014). Podílí se na mnoha funkcích T buněk, reguluje buď zeslabení, nebo zesílení jejich odpovědi (Kong et al. 2016). Interakce regulačních proteinů (exprimovaných převážně na makrofázích, monocytech, granulocytech a dendritických buňkách) s CD47 vyvolává inhibiční signál „don’t eat me“, který brání buňkám fagocytovat buňky exprimující CD47

(Barclay et al. 2014). CD47 je také exprimován v nádorových buňkách u řady lidských malignit (Kong et al. 2016) a jeho nadměrná exprese je spojena s horší prognózou onemocnění. Protože CD47 zabraňuje fagocytóze nádorových buněk (Barclay et al. 2014), byli antagonisté CD47 testováni v protinádorové imunoterapii (Uger et al. 2020). CD47 je nadměrně exprimován také u dlaždicobuněčného karcinomu jícnu a experimenty in vitro prokázaly, že protilátky anti-CD47 zvyšují fagocytózu CD47-exprimujících nádorových buněk makrofágy (Zhao et al. 2018). Kromě nádorových buněk jsou v karcinomech jícnu přítomny tumor infiltrující lymfocyty (TIL). Není však známo, zda TIL u karcinomu jícnu také exprimují CD47, což by tyto buňky označilo jako cíle pro imunoterapii anti-CD47.

<u>The TRAIL in the Treatment of Human Cancer: An Update on Clinical Trials</u>

V současné době je testováno několik terapeutických strategií s cílem aktivovat protinádorové imunitní reakce (Zhang and Zhang, 2020; Nagai and Kim, 2017). Molekuly TRAIL mají schopnost selektivně aktivovat apoptózu buněk, a to nezávisle na dráze p53, což je považováno za jejich velkou terapeutickou výhodu, protože gen kódující protein p53 je u rakoviny často mutován (Dubuisson and Micheau, 2017). TRAIL a jeho receptory smrti TRAIL-R1 a TRAIL-R2 spouštějí apoptotickou buněčnou smrt v nádorových buňkách bez poškození nemaligních buněk. Tento jev byl ilustrován v řadě studií in vitro a in vivo (Yuan et al., 2018; von Karstedt & Walczak, 2020; Dai et al., 2015; de Miguel et al., 2016). Výjimku však představují nádory s mutací KRAS, kde bylo zjištěno, že signalizace TRAIL zvyšuje invazivní růst a metastazování nádorových buněk.

2. Hypotézy a cíle práce

The paratumoral immune cell signature reveals the potential for the implementation of immunotherapy in esophageal carcinoma patients

Účelem této studie bylo zjistit, zda distribuce infiltrujících imunitních buněk a exprese vybraných receptorů smrti na těchto buňkách ve čtyřech tkáňových kompartmentech od pacientů s EC koreluje s klinicko-patologickými údaji pacienta a zda tyto nálezy mohou objasnit mechanismy progrese nádoru a imunitní rezistence. Zkoumali jsme tedy tkáňovou distribuci NK buněk a CD4+ a CD8+ T buněk a také jejich FasR- a FasR/DR3-exprimující subpopulace v nádorové tkáni, peritumorální tkáni, zdravé tkáni jícnu a přilehlých lymfatických uzlinách s ohledem na klinicko-patologická data pacientů.

Tumoral and paratumoral NK cells and CD8+ T cells of esophageal carcinoma patients express high levels of CD47

V této studii jsme se zaměřili na novou potenciální léčebnou modalitu pro karcinom jícnu. Terapie prostřednictvím monoklonální protilátky proti CD47 je založena na blokádě takzvaného „don't eat me“ (CD47) signálu, který na svém povrchu nesou nádorové, ale i jiné buňky, aby se ochránily před fagocytózou způsobenou makrofágy. Naší hypotézou bylo, že bude-li exprese CD47 vysoká, budou naši pacienti vhodnými kandidáty pro terapii monoklonální protilátkou proti CD47.

3. Materiál a metodika

The paratumoral immune cell signature reveals the potential for the implementation of immunotherapy in esophageal carcinoma patients

V této práci jsme analyzovali 62 vzorků tkáně od 16 pacientů s karcinomem jícnu, kteří byli operováni v období od září 2018 do června 2019 na 3. chirurgické klinice 1. LF UK a FN Motol v Praze. Vytvořili jsme koncept studie, který umožňoval odběr nejen tkáně nádorové, ale též okolní peritumorózní tkáně, přilehlé tkáně zdravé a přilehlé lymfatické uzliny. Naší hypotézou bylo, že objasníme-li, jaké imunitní buňky se nacházejí v nádoru a přilehlých tkáňových kompartmentech, zjistíme, proč někteří pacienti neodpovídají na léčbu imunoterapií. V rámci studie jsme sbírali též histopatologická data pacientů a stran klinických a anamnestických údajů byl pro nás nejdůležitější údaj, zda pacienti jsou kuřáci či zda a jakou podstoupili neoadjuvantní léčbu.

Tumoral and paratumoral NK cells and CD8+ T cells of esophageal carcinoma patients express high levels of CD47

V této studii jsme se zaměřili na analýzu exprese molekuly CD47 jak v lymfocytech infiltrujících nádor, tak v nelymfocytární buněčné frakci vzorků tkání od pacientů s karcinomem jícnu, operovaných v období od září 2018 do března 2019 na III. chirurgické klinice 1. LF UK a FN Motol v Praze. Věk pacientů se pohyboval od 52 do 75 let (průměr 66,8 let). Po operaci byly odebrány 3 vzorky tkáně ze tří tkáňových kompartmentů: nádor, peritomorózní tkáň a přilehlá zdravá tkáň jícnu.

U obou výše zmíněných studií byly vzorky analyzovány na pracovišti imunologie. Metody izolace tumor-infiltrujících lymfocytů a průtokové cytometrie, použité k detailní analýze povrchových molekul na imunitních buňkách, jsou popsány v disertační práci. Demografické a klinické údaje každého pacienta byly získány ze zdravotnické dokumentace v centrální databázi FN Motol v Praze. Informace o pacientech a vzorky tkání byly získány se souhlasem Etické komise FN Motol v Praze (EK-810/18) a všichni pacienti před účastí ve studii podepsali informovaný souhlas.

The TRAIL in the Treatment of Human Cancer: An Update on Clinical Trials

V této práci jsme představili aktuální stav všech probíhajících klinických studií, které zpracovávají tématiku monoterapie a kombinované terapie TRAIL preparáty. Naším hlavním cílem bylo představit nejslibnější klinické studie fáze II a III, ale též poukázat na nové modifikace TRAIL terapie a deriváty této molekuly, které mají potenciál vstoupit v nejbližší době do klinických studií.

4. Výsledky

The paratumoral immune cell signature reveals the potential for the implementation of immunotherapy in esophageal carcinoma patients

U všech pacientů jsme zjistili, že distribuce NK (natural killer) buněk, CD8 a CD4 pozitivních T buněk se liší v závislosti na analyzovaném tkáňovém kompartmentu. Zatímco v lymfatických uzlinách bylo nejvyšší zastoupení T buněk, u NK buněk tomu bylo právě naopak a jejich procentuální zastoupení v lymfatických uzlinách bylo nejnižší. Věděli jsme, že Fas receptor (FasR) je jeden z nejvýznamnějších

receptorů smrti a jeho zvýšená přítomnost na buňkách značí vysokou náchylnost buněk ke smrti apoptózou. Sledovali jsme tedy kombinaci receptorů smrti FasR a DR3 (death receptor 3) na T buňkách a NK buňkách u pacientů s karcinomem jícnu. Zjistili jsme, že nejnižší zastoupení receptorů smrti bylo pozorováno na CD4 T buňkách v lymfatických uzlinách. Tento fakt jsme přisuzovali skutečnosti, že T buňky v lymfatické uzlině nejsou v aktivním boji s nádorovými buňkami, a nemají tedy důvod nadměrně umírat. Poté, co jsme se zaměřili na klinicko-patologické faktory, které by mohly ovlivňovat náchylnost buněk k buněčné smrti, s překvapením jsme zjistili, že faktor kuřáctví významně tento jev ovlivňuje. Naši kohortu jsme tedy rozdělili na kuřáky a nekuřáky, přičemž u všech kuřáků byly nacházeny nejen významně nižší počty peritumorozních T buněk a NK buněk, ale současně všechny tyto buňky vykazovaly velmi vysokou expresi receptorů smrti. Tento výsledek ukazuje, že aktivní kouření má kritický dopad na nádorové a okolní imunitní buňky a může významně ovlivnit prognózu pacientů s karcinomem jícnu a jejich schopnost odpovědi na imunoterapii. Nejdůležitějším zjištěním naší studie bylo, že neoadjuvantní chemoterapie ovlivňuje imunitní infiltráty u pacientů s karcinomem jícnu. Zjistili jsme, že u pacientů s vysokým Mandard skóre, tedy u těch, kteří nereagovali na systémovou chemoterapii regresí nádorové hmoty, došlo ke změně poměru CD4 a CD8 buněk ve prospěch CD8 T buněk a tato změna může vést k zásadní senzitizaci nádorového mikroprostředí k účinkům imunoterapie checkpoint inhibitory.

<u>Tumoral and paratumoral NK cells and CD8+ T cells of esophageal carcinoma patients express high levels of CD47</u>

V jedné z analýz jsme hodnotili podíly populací NK buněk a CD8+ T buněk exprimujících CD47 v různých tkáňových kompartmentech. Oba typy buněk byly vysoce pozitivní na CD47 a mezi testovanými

kompartmenty nebyly pozorovány žádné významné rozdíly. V peritomorózní tkáni byl významně vyšší podíl CD47 exprimujících CD8+T buněk než nádorových buněk CD47+. V nádoru a přilehlé zdravé tkáni byly nalezeny významně vyšší podíly buněk exprimujících CD47 jak pro NK buňky, tak pro CD8+ T. Data ukázala, že při porovnání poměrů v různých kompartmentech měly NK buňky a CD8+ T buňky v nádoru významně nižší intenzitu barvení pro CD47-specifickou protilátku než jejich protějšky v sousední zdravé tkáni. Nicméně NK buňky a CD8+ T buňky infiltrující nádor a přilehlou tkáň vykazovaly významně vyšší intenzitu barvení s CD47-specifickou protilátkou než populace nelymfocytů, tedy nádorových buněk. V pokuse in vitro se neprokázalo, že by přidání protilátky anti-CD47 mělo vliv na cytotoxicitu a zánětlivou odpověď NK buněk po jejich stimulaci cílovými buňkami a IL-2.

<u>The TRAIL in the Treatment of Human Cancer: An Update on Clinical Trials</u>

Dva hlavní terapeutické přístupy jsou založeny buď na podávání agonistů TRAIL-receptoru (TRAIL-R), nebo rekombinantního TRAIL. Zdá se však, že tyto přístupy mají omezenou terapeutickou účinnost a pouze několik léků vstoupilo do fáze II klinických studií.

Mezi různými TRAIL-R1 agonistickými protilátkami pouze mapatumumab (protilátka HGS-ETR1) dosáhl druhé fáze klinického testování. Mapatumumab prokázal dobrý bezpečnostní profil, a navíc způsobil kompletní nebo částečnou klinickou odpověď při podávání v monoterapii u pacientů s folikulárním non-Hodgkinovým lymfomem. Stabilita onemocnění byla dosažena u 30 % pacientů.

Původně slibné TRAIL-R2 agonistické protilátky tigatuzumab a conatumumab neprokázaly protinádorovou účinnost in vivo.

Předpokládá se, že nízká účinnost konvenčních TRAIL-R1/R2 protilátek spočívá v nedostatečné kapacitě těchto látek vyvolat shlukování TRAIL receptorů, které je nezbytné pro indukci apoptózy.

Mechanismus účinku rekombinantního rozpustného TRAIL proteinu je založen na jeho vazbě na TRAIL-R1 a TRAIL-R2 vedoucí k následné aktivaci kaspáz a apoptotické buněčné smrti. Hlavním limitem se zdá být jeho rychlé vylučování ze séra.

Dulanermin, první rozpustná rekombinantní verze přirozeně se vyskytujícího lidského proteinu TRAIL, prokázal svoji účinnost v randomizované studii u pacientů s pokročilým NSCLC. V kombinaci s chemoterapií prodloužil progression-free survival (PFS) oproti placebu s chemoterapií (6,4 měsíců vs. 3,5 měsíců), a to při stejném výskytu vedlejších účinků v obou skupinách.

Slibný efekt ukazují duálně působící deriváty TRAIL s receptorem buďto pro nádorový antigen (epidermální růstový faktor, mesotelin), nebo antigen imunitních buněk (CD25, CD47, PD-L1).

U nádorů rezistentních na TRAIL terapii je možné dosáhnout jejich senzitizace kombinací s chemoterapií nebo radioterapií. U nádorů krku maputumumab s radioterapií zvýšil apoptózu buněk z 51 na 83 % oproti samotnému maputumumabu.

Vyšší aktivace apoptotické dráhy TRAIL lze dosáhnout podáváním terapie TRAIL spolu s dalšími látkami zvyšujícími expresi TRAIL a/nebo jeho receptorů DR4 a DR5. Z těchto látek je nejslibnější sulforafane, testovaný v několika klinických studiích.

5. Diskuse

The paratumoral immune cell signature reveals the potential for the implementation of immunotherapy in esophageal carcinoma patients

Naše současná studie ukazuje, že léčba karcinomu jícnu a odpověď na tuto léčbu se převážně odrážejí v charakteristikách paratumorálních imunitních buněk. To bylo nejzřetelnější u pacientů, kteří špatně nebo vůbec nereagovali na neoadjuvantní chemoterapii (vysoké Mandardovo skóre TRG), ale kteří vykazovali zvýšený podíl paratumorálních CD8+ T buněk. Toto zvýšení by mohlo naznačovat neoadjuvantní chemoterapií indukovanou imunitní odpověď u těchto pacientů s vysokým Mandard TRG, a může tedy poskytnout zdůvodnění pro adjuvantní imunoterapeutické intervence (Moujaess et al. 2019). Data z této studie ukazují, že paratumorální imunitní prostředí, které stojí na rozhraní nádorového mikroprostředí a nádorového makroprostředí (Al-Zoughbi a Hoefler 2019; Al-Zoughbi et al. 2014), je u karcinomu jícnu významně modulováno jeho léčbou. Paratumorální imunitní prostředí proto představuje novou a slibnou oblast pro výzkum diagnostiky, která by vedla k novým přístupům pro vývoj a návrh personalizovaných terapeutických algoritmů, které kombinují imunoterapii s tradičními terapeutickými přístupy.

Tumoral and paratumoral NK cells and CD8+ T cells of esophageal carcinoma patients express high levels of CD47

K našemu překvapení naše výsledky ukázaly, že nejen nádorové, ale též imunitní buňky v karcinomu jícnu exprimují vysoké množství CD47 molekul. Dokonce byla dominantním nálezem u všech pacientů vysoká exprese CD47 právě na imunitních CD8+ T a NK

buňkách a tato exprese byla významně vyšší než na buňkách nádorových. Tato zjištění naznačují, že NK buňky a T buňky mohou využívat „don't eat me“ signál jako mechanismus, kterým se vyhýbají eliminaci tumor-infiltrujícími makrofágy. Naše data současně nepotvrdila, že by in vitro aplikace anti-CD47 protilátky vedla ke zvýšení aktivace imunitních buněk. Závěrem tedy lze říci, že terapie prostřednictvím anti-CD47 monoklonální protilátky není vhodná pro léčbu karcinomu jícnu, neboť bude preferenčně cílit na buňky imunitní a způsobí jejich prioritní likvidaci.

The TRAIL in the Treatment of Human Cancer: An Update on Clinical Trials

Exprese TRAIL receptorů není známa u významné části malignit, a protože již bylo prokázáno, že exprese TRAIL-R se u různých typů nádorů liší, lze předpokládat, že exprese se může lišit i u jedinců se stejným typem nádoru (Min a kol., 2004; McCarthy a kol., 2005). Pro pochopení mechanismů, které řídí expresi TRAIL receptorů, by proto měla být provedena rozsáhlá analýza stavu exprese před a po chemoterapii nebo imunoterapii.

Terapie TRAIL-agonistickými protilátkami a rekombinantními TRAIL měla doposud malou účinnost. Terapie by mohla být nečekaně účinnější při kombinaci s jinými léčebnými přístupy, které by senzitizovaly nádorové buňky na TRAIL-indukovanou apoptózu.

6. Závěr

Naše práce přispěla k zásadnímu posunu v chápání nádorového mikroprostředí karcinomu jícnu a jeho roli v prognóze pacienta. Pomocí detailního mapování charakteristik imunitních buněk v karcinomu jícnu se nám podařilo ukázat na rozdíly v imunitních infiltrátech, které se nacházejí v jednotlivých tkáňových kompartmentech v těsné blízkosti nádoru. Jedním z našich nejdůležitějších zjištění bylo, že aktivní kuřáci mají významně snížené počty infiltrujících CD8 T a NK buněk v paratumorálních tkáních, což v konečném důsledku může negativně ovlivnit prognózu pacientů s karcinomem jícnu. Dále se nám podařilo demonstrovat, že chemoterapie zásadně mění imunitní infiltráty v nádorovém mikroprostředí, a diskutovali jsme tedy její potenciál v navození citlivosti nádorů k účinkům imunoterapie prostřednictvím checkpoint inhibitorů. V neposlední řadě jsme v našich studiích hodnotili význam anti-CD47 terapie u karcinomu jícnu a potenciál klinických studií zaměřených na molekulu TRAIL.

7. Použitá literatura

Al-Zoughbi W, Hoefler G (2019) Tumor macroenvironment: an update. Pathobiology.

Al-Zoughbi W, Huang J, Paramasivan GS, Till H, Pichler M, Guertl- Lackner B, Hoefler G (2014) Tumor macroenvironment and metabolism. Semin Oncol 41:281–295.

Badalamenti G et al (2019) Role of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with solid tumors: can a drop dig a stone? Cell Immunol 343:103753.

Barclay, A. N. & Van den Berg, T. K. The interaction between signal regulatory protein alpha (SIRPalpha) and CD47: structure, function, and therapeutic target. Annu. Rev. Immunol. 32, 25–50. (2014).

Dai, Xiaoyun et al. “Targeting TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor by natural products as a potential therapeutic approach for cancer therapy.” Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.) vol. 240,6 (2015): 760-73.

de Miguel, D., Lemke, J., Anel, A., Walczak, H., and Martinez-Lostao, L. (2016). Onto better TRAILs for cancer treatment. Cell Death Differ 23 (5), 733–747.

Dubuisson, A., and Micheau, O. (2017). Antibodies and derivatives targeting DR4 and DR5 for cancer therapy. Antibodies 6 (4).16.

Fridman WH, Galon J, Pages F, Tartour E, Sautes-Fridman C, Kroemer G (2011) Prognostic and predictive impact of intra- and peritu- moral immune infiltrates. Cancer Res 71:5601–5605.

Ge Z, Sanders AJ, Ye L, Jiang WG (2011) Aberrant expression and function of death receptor-3 and death decoy receptor-3 in human cancer. Exp Ther Med 2:167–172.

Giraldo NA et al (2015) Orchestration and prognostic significance of immune checkpoints in the microenvironment of primary and metastatic renal cell cancer. Clin Cancer Res 21:3031–3040.

Kong, F., Gao, F., Li, H. et al. CD47: a potential immunotherapy target for eliminating cancer cells. Clin Transl Oncol 18, 1051–1055 (2016).

Koury J et al (2018) Immunotherapies: exploiting the immune system for cancer treatment. J Immunol Res 2018:9585614.

McCarthy, M. M., Sznol, M., DiVito, K. A., Camp, R. L., Rimm, D. L., and Kluger, H. M. (2005). Evaluating the expression and prognostic value of TRAIL-R1 and TRAIL-R2 in breast cancer. Clin. Cancer Res. 11 (14), 5188–5194.

Miksch RC et al (2019) Prognostic impact of tumor-infiltrating lym- phocytes and neutrophils on survival of patients with upfront resection of pancreatic cancer. Cancers.

Min, Y. J., Lee, J. H., Choi, S. J., Chi, H. S., Lee, J. S., Kim, W. K., et al. (2004). Prognostic significance of Fas (CD95) and TRAIL receptors (DR4/DR5) expression in acute myelogenous leukemia. Leuk. Res. 28 (4), 359–365.

Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM (2016) The 2016 WHO classification of tumours of the urinary system and male genital organs—part A: renal penile, and testicular tumours. Eur Urol 70:93–105.

Moujaess E, Haddad FG, Eid R, Kourie HR (2019) The emerging use of immune checkpoint blockade in the adjuvant setting for solid tumors: a review. Immunotherapy.
Nagai, H., and Kim, Y. H. (2017). Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns. J. Thorac. Dis. 9 (3), 448–451.

Napier KJ, Scheerer M, Misra S (2014) Esophageal cancer: a review of epidemiology, pathogenesis, staging workup and treatment modalities. World J Gastrointest Oncol 6:112–120.

Park CK, Kim SK (2017) Clinicopathological significance of intratu- moral and peritumoral lymphocytes and lymphocyte score based on the histologic subtypes of cutaneous melanoma. Oncotarget 8:14759–14769.

Short MW, Burgers KG, Fry VT (2017) Esophageal cancer. Am Fam Physician 95:22–28

Sorbye SW et al (2012) Prognostic impact of peritumoral lymphocyte infiltration in soft tissue sarcomas. BMC Clin Pathol 12:5.

Strizova Z et al (2019) NK and T cells with a cytotoxic/migratory phenotype accumulate in peritumoral tissue of patients with clear cell renal carcinoma. Urol Oncol 37:503–509.

Uger R, Johnson L. Blockade of the CD47-SIRPα axis: a promising approach for cancer immunotherapy. Expert Opin Biol Ther. 2020;20(1):5-8.
von Karstedt, S., and Walczak, H. (2020). An unexpected turn of fortune: targeting TRAIL- Rs in KRAS-driven cancer. Cell Death Discov. 6 (1), 14.

Yuan, X., Gajan, A., Chu, Q., Xiong, H., Wu, K., and Wu, G. S. (2018). Developing TRAIL/TRAIL death receptor-based cancer therapies. Cancer Metastasis Rev. 37 (4), 733–748.

Zhang H, Chen J (2018) Current status and future directions of cancer immunotherapy. J Cancer 9:1773–1781.

Zhang, Y., and Zhang, Z. (2020). The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. Cell Mol. Immunol. 17 (8), 807–821.

Zhao, Chun-Lin et al. “Characterization of cluster of differentiation 47 expression and its potential as a therapeutic target in esophageal squamous cell cancer.” Oncology letters vol. 15,2 (2018): 2017-2023.

Zhu J et al (2017) Resistance to cancer immunotherapy mediated by apoptosis of tumor-infiltrating lymphocytes. Nat Commun 8:1404.

Zhu J, Petit PF, Van den Eynde BJ (2019) Apoptosis of tumor-infiltrat- ing T lymphocytes: a new immune checkpoint mechanism. Cancer Immunol Immunother 68:835–847.

8. Vlastní publikace

Publikace, které jsou podkladem disertační práce

Šnajdauf, M., Havlova, K., Vachtenheim Jr, J., Ozaniak, A., Lischke, R., Bartunkova, J., Smrz, D. and Strizova, Z. (2021) 'The TRAIL in the Treatment of Human Cancer: An Update on Clinical Trials', Frontiers in Molecular Biosciences, 8, pp. 87. **IF2020=5.246**

Strizova, Z., **Snajdauf, M.,** Stakheev, D., Taborska, P., Vachtenheim Jr, J., Biskup, J., Lischke, R., Bartunkova, J. and Smrz, D. (2020) 'The paratumoral immune cell signature reveals the potential for the implementation of immunotherapy in esophageal carcinoma patients', Journal of cancer research and clinical oncology, 146, pp. 1979-1992. **IF2020=4.553**

Strizova, Z., Vachtenheim Jr, J., **Snajdauf, M.,** Lischke, R., Bartunkova, J. and Smrz, D. (2020) 'Tumoral and paratumoral NK cells and CD8+ T cells of esophageal carcinoma patients express high levels of CD47', Scientific reports, 10(1), pp. 1-9. **IF2020=4.379**

Publikace, které nejsou podkladem disertační práce

Šnajdauf, M., Pazdro, A., Haruštiak, T., Mrázková, H., & Lischke, R. (2015). Intramurální hematom jícnu - kazuistika a přehled literatury [Intramural haematoma of the oesophagus - a case report and literature review]. *Rozhledy v chirurgii : mesicnik Ceskoslovenske chirurgicke spolecnosti*, *94*(1), 30–33.

Šnajdauf, M., & Adámek, S. (2013). Jsou nutná antibiotika v léčbě nekomplikované divertikulitidy? [Are antibiotics necessary in the treatment of uncomplicated diverticulitis?]. *Rozhledy v chirurgii : mesicnik Ceskoslovenske chirurgicke spolecnosti*, *92*(10), 544–548.

Haruštiak, T., Tvrdoň, J., Pazdro, A., **Šnajdauf, M.,** Faltová, H., Teršíp, T., Wolesky, J., Černý, V., Schützner, J., Stolz, A., Pafko, P., & Lischke, R. (2020). Treatment of anastomotic leak after Ivor Lewis esophagectomy. Léčba

insuficience hrudní anastomózy po Ivor Lewis ezofagektomii. *Rozhledy v chirurgii : mesicnik Ceskoslovenske chirurgicke spolecnosti*, *99*(10), 438–446.

Harustiak, T., Zemanova, M., Fencl, P., Pazdro, A., **Snajdauf, M.,** Faltova, H., Lischke, R., & Stolz, A. J. (2021). Prognostic role of early 18-FDG PET/CT during neoadjuvant chemotherapy for resectable adenocarcinoma of the esophagus and esophagogastric junction. *Neoplasma*, *68*(2), 423–433. **IF2020=2.575**

Harustiak, T., Pazdro, A., **Snajdauf, M.,** Stolz, A., & Lischke, R. (2016). Anastomotic leak and stricture after hand-sewn versus linear-stapled intrathoracic oesophagogastric anastomosis: single-centre analysis of 415 oesophagectomies. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*, *49*(6), 1650–1659. **IF2016=3.759**

Harustiak, T., Zemanova, M., Fencl, P., Hornofova, L., Pazdro, A., **Snajdauf, M.,** Salkova, E., Lischke, R., & Stolz, A. (2018). [^{18} F]Fluorodeoxyglucose PET/CT and prediction of histopathological response to neoadjuvant chemotherapy for adenocarcinoma of the oesophagus and oesophagogastric junction. *The British journal of surgery*, *105*(4), 419–428. **IF2018=5.586**

Oesophago-Gastric Anastomosis Study Group on behalf of the West Midlands Research Collaborative (2021). Comparison of short-term outcomes from the International Oesophago-Gastric Anastomosis Audit (OGAA), the Esophagectomy Complications Consensus Group (ECCG), and the Dutch Upper Gastrointestinal Cancer Audit (DUCA). *BJS open*, *5*(3), zrab010. **IF2021=3.67**

Oesophago-Gastric Anastomosis Study Group on behalf of the West Midlands Research Collaborative (2022). Rates of Anastomotic Complications and Their Management Following Esophagectomy: Results of the Oesophago-Gastric Anastomosis Audit (OGAA). *Annals of surgery*, *275*(2), e382–e391. **IF2021=13.787**

Oesophago-Gastric Anastomosis Audit study group on behalf of the West Midlands Research Collaborative (2022). The influence of anastomotic techniques on postoperative anastomotic complications: Results of the

Oesophago-Gastric Anastomosis Audit. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*, *164*(3), 674–684.e5. **IF2021=6.439**

Oesophago-Gastric Anastomosis Study Group (OGAA) on behalf of the West Midlands Research Collaborative (2021). Postoperative outcomes in oesophagectomy with trainee involvement. *BJS open*, *5*(6), zrab132. **IF2021=3.67**

Oesophago-Gastric Anastomotic Audit (OGAA) Collaborative: Writing Committee, Steering Committee, National Leads, Site Leads, & Collaborators (2021). Mortality from esophagectomy for esophageal cancer across low, middle, and high-income countries: An international cohort study. *European journal of surgical oncology : the journal of the European Society of Surgical Oncology and the British Association of Surgical Oncology*, *47*(6), 1481–1488. **IF2021=2.885**

Oesophago-Gastric Anastomotic Audit (OGAA) Collaborative (2022). Textbook outcome following oesophagectomy for cancer: international cohort study. *The British journal of surgery*, *109*(5), 439–449. **IF2021=11.122**