

Cechą charakterystyczną raka nerki jest ścisła zależność pomiędzy jego powstaniem, rozwojem i progresją a funkcją układu odpornościowego. Przemawiają za tym nie tylko obserwacje kliniczne, ale i wyniki badań molekularnych.

Praca jest krótkim omówieniem zagadnień związanych z funkcją układu odpornościowego w kontekście rozwijającego się raka nerki.

Słowa kluczowe: rak nerki, układ immunologiczny.

Immunologia raka nerki

Immunology of renal cell carcinoma

Jakub Żołnierek¹, Piotr Wysoki², Krzysztof Leśniewski-Kmak³, Paweł Nurzyński¹

¹Klinika Onkologii, CSK MON, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie

²Zakład Immunologii Nowotworów, Katedra Biotechnologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Wielkopolskie Centrum Onkologii

³Oddział Chemioterapii, Szpital Morski im. PCK w Gdyni

Wstęp

Rak nerki jest nowotworem rozpoznawanym stosunkowo rzadko, ale ze względu na ścisłą zależność jego przebiegu naturalnego od reaktywności układu odpornościowego jest też nowotworem bardzo specyficznym. Ta zależność jest w raku nerki daleko bardziej zaznaczona niż w innych guzach litych.

Pogląd ten początkowo oparto na obserwacjach klinicznych, które w sposób pośredni, wydawały się go uzasadniać.

Po pierwsze – rak nerki występuje częściej i postępuje szybciej u osób z pierwotnymi lub wtórnymi niedoborami odporności. Po drugie – guzowi towarzyszy silny odczyn zapalny i bogate nacieki limfocytarne, stwierdzane w materiale pobranym drogą biopsji lub w materiale pooperacyjnym [1]. Po trzecie – od lat zastanawiają samoistne i spontaniczne regresje lub częściowe remisje choroby nawet w stadium rozsiały, zdarzające się w 1–5% przypadków nieleczonych systemowo [2–4] oraz regresje zmian przerzutowych po usunięciu guza pierwotnego. Ponadto reakcją układu odpornościowego należy tłumaczyć obiektywne – całkowite i częściowe, długoletnie odpowiedzi raka nerki na leczenie cytokinami (IFN- α i IL-2) – częstsze niż w innych nowotworach [5]. Za dowód pośredni można wreszcie uznać regresje ognisk przerzutowych raka nerki u osób po niemieloablacyjnym allogenicznym przeszczepie szpiku (układu odpornościowego) oraz następowych infuzjach limfocytów dawcy (*donor lymphocyte infusion* – DLI) – zjawisko *graft-versus-tumor* (GvT) zwykle towarzyszące reakcji *graft-versus-host* (GvH) [6].

Układ odpornościowy

Układ odpornościowy jest złożonym systemem współpracujących ze sobą komórek i molekuł. Wyróżnić w nim można starszą filogenetycznie i reagującą niespecyficznym w sytuacji zagrożenia grupę komórek żernych – granulocytów i monocytów/makrofagów, wspomaganą przez układ dopełniacza oraz młodszą wyspecjalizowaną grupę limfocytów. Podczas gdy zadaniem komórek żernych jest pierwsza linia obrony organizmu, głównie przeciwko czynnikom zakaźnym, rolą limfocytów jest rozpoznawanie i identyfikowanie antygenów w kryteriach *własny* – *obcy* lub *prawidłowy* – *nieprawidłowy*. W przypadku rozpoznania antygeny jako obcego bądź nieprawidłowego, zadaniem układu jest eliminacja samej cząsteczki lub całej komórki, na powierzchni której ulega on ekspresji. Zjawisko to zachodzi również względem takich komórek nieprawidłowych, jak komórki nowotworowe.

Limfocyty są populacją niejednorodną. Limfocyty B odpowiedzialne są za produkcję swoistych białek neutralizujących antygeny, zwanych przeciwciałami. Limfocyty Th pełnią funkcję regulatorową względem pozostałych składowych układu odpornościowego (tzw. limfocyty *T helper*) i są identyfikowane dzięki ekspresji antygeny CD4. Charakteryzują się wydzielaniem różnych substancji czynnych w odpowiedzi na kontakt z antygenem, m.in. silnie stymulującej odpowiedź układu IL-2. Limfocyty Tc (*T cytotoxic*, T cytoto-

Renal cell carcinoma is specific due to its tight relation between tumor origin, development, progression and response of host immune system. Not only clinical data but also molecular studies support this observation.

The paper is a short discussion of role that immune system plays in development of renal cancer.

Key words: renal cell carcinoma, immune system.

syczne) są komórkami aktywnie niszczącymi to, co nieprawidłowe. Ich markerem jest ekspresja antygenu CD8. Limfocyty Tc są właściwymi komórkami efektorowymi, wykorzystują specyficzne białka zwane perforynami i granzymami do niszczenia błon komórek patologicznych [6]. Ostatnio podkreśla się również istotną z punktu widzenia mechanizmów endogennych walki z nowotworem, rolę specyficznej subpopulacji krążących limfocytów T (CD3+CD4-CD8-) – tzw. LT *gamma delta* Vδ2 [7]. Rola tych komórek polega na eliminowaniu patogenów wewnątrzkomórkowych oraz eliminacji komórek nowotworowych. Ich istotną cechą jest to, że rozpoznają antygeny niezależnie od cząstek HLA, tylko dzięki TCR (receptor limfocytów T, *T cell receptor*) i NKG2A. Badania *in vitro* potwierdziły wysoki potencjał lityczny T *gamma delta* względem komórek raka nerki. Pozostałe populacje limfocytów to m.in. limfocyty NK aktywnie zaangażowane w eliminację komórek nowotworowych.

Immunologia a rak nerki

W trakcie badań laboratoryjnych, których celem było zweryfikowanie omówionych wyżej obserwacji klinicznych i wyjaśnienie biologii opisywanych zjawisk stwierdzono, że w obrębie nacieków zapalnych tkanki raka nerki obserwuje się klonalną ekspansję limfocytów T. Zidentyfikowano specyficzne względem guza cytotoksyczne limfocyty T, a następnie antygeny nowotworowe wywołujące odpowiedź immunologiczną i stymulujące klonalny wzrost komórek efektorowych [8]. Określa się je mianem antygenów związanych z guzem (*tumor associated antigens* – TAA). TAA mogą być albo tzw. antygenami różnicowania tzn. prawidłowymi białkami, ale ulegającymi nadmiernej ekspresji na powierzchni komórek guza w stosunku do komórek prawidłowych, albo antygenami nowotworowymi/markerami nowotworowymi (zwykle obecnymi na powierzchni komórek wchodzących w skład tkanek embrionalnych, ale nie tych dojrzałych), lub też specyficznymi dla danego nowotworu białkami i wytworem jego spazzonego metabolizmu.

Wśród antygenów związanych z rakiem nerki najczęściej wymienia się kilka z nich [9]. Kinaza tyrozynowa receptora EphA2 (*epithelial cell kinase* – ECK), której nadekspresję obserwuje się w ponad 90% przypadkach tej choroby jest receptorem odpowiedzialnym za kontaktowe hamowanie wzrostu komórek. Jej nadekspresja w specyficznych rejonach połączeń komórka-komórka prowadzi do braku sygnałów hamowania kontaktowego wzrostu komórek w obrębie tkanki i promuje powstawanie przerzutów. RU2AS to transkrypt antisensowny, prezentowany w kontekście HLA-B2 w ponad 90% przypadków raka nerki. Kinazy tyrozynowe związane z receptorami C-Met, EGF-R i FGF-5, ulegające nadekspresji odpowiednio w ponad 90, 80 i 75% przypadków raka nerki. Inne to surwiwina – czynnik antyapoptotyczny prezentowany w kontekście HLA-A1, 2, 3, 11, a ulegający nadekspresji w ponad 90% raka nerki; telomeraza TERT – prezentacja w kontekście HLA-A2, HLA-DRX, 70–80% przypadków raka nerki. Inne antygeny, takie jak MAGE-6, MUC-1, RAGE-1 (zmutowany HLA-A2), p53, Her2-neu są rzadsze (10–60% przypadków).

Dynamiczny rozwój biologii molekularnej z genomiką i proteomiką na czele pozwala na identyfikowanie kolejnych TAA. Praktyczne znaczenie tych odkryć polega na wyjaśnianiu molekularnych mechanizmów rozwoju nowotworu, identyfikowaniu celów dla nowoczesnych metod terapii celowanej (przeciwciała monoklonalne, inhibitory kinaz tyrozynowych), immunoterapii adoptywnej (allogenicznych przeszczepów szpiku, infuzji aktywowanych *ex vivo* LT, komórek dendrytycznych, szczepionek przeciwnowotworowych) i terapii genowej.

Oczywiście, komórki nowotworowe nie zawsze rozpoznawane są jako obce, bowiem rozwijają się z komórek własnych na skutek szeregu mutacji. Mutacje te z kolei nie muszą prowadzić do tak wyraźnych zmian w ich budowie, by mogły, jako nieprawidłowe, inicjować odpowiedź immunologiczną. Komórka nowotworowa zostanie *zauważona* i eliminowana przez układ odpornościowy wtedy, gdy na jej powierzchni dojdzie do ekspresji wspomnianych już specyficznych cząstek TAA.

Komórki nowotworowe unikają inicjowania odpowiedzi immunologicznej. Czynią to na różne i nie zawsze do końca znane i rozumiane sposoby. Nie produkują np. specyficznych dla guza nieprawidłowych białek, albo nie produkują cząstek MHC, w kontekście których TAA powinny być prezentowane. Aby odpowiedź układu odpornościowego mogła być skutecznie zainicjowana, antygen powinien być zaprezentowany limfocytom przez komórki organizmu. Komórkami prezentującymi mogą być te nieprawidłowe i przeznaczone do eliminacji (w kontekście cząstek MHC klasy I – *major histocompatibility complex = human lymphocyte antigen* – HLA) albo komórki dendrytyczne (*dendritic cell* – DC). Te ostatnie w sposób aktywny szukają w środowisku organizmu antygenów, następnie po ich odpowiednim przetworzeniu prezentują limfocytom w kontekście cząstek zgodności tkankowej MHC klasy II, same nie ulegając niszczeniu.

Ponadto komórki nowotworu mogą wydzielać substancje biologicznie czynne, tłumiące reakcje odpornościowe. Niedawno stwierdzono [10], że komórki raka nerki wykorzystują fizjologiczne mechanizmy obrony organizmu przed autoagresją – reakcją skierowaną przeciwko własnym antygenom prezentowanym również przez komórki guza. Otóż rak nerki, jako choroba rozwijająca się na przestrzeni lat i w warunkach przewlekłej, nadmiernej (nadekspresja na powierzchni guza) ekspozycji CLT na antygeny własne, wymusza na układzie immunologicznym osoby chorej tolerancję względem własnych struktur. Dzieje się tak za sprawą obecnych na powierzchni nowotworu specyficznych cząsteczek należących do HLA klasy I (A, B, C i E), a będących ligandem dla błonowego receptora CTL KIR (*killer inhibitory receptor*). Reakcje zachodzące po połączeniu się KIR na limfocycie z molekułą HLA-C na komórce nowotworu uniemożliwiają powstanie synapsy immunologicznej i blokują inicjację procesów wewnątrzkomórkowych limfocytów, normalnie doprowadzających do lizy komórki docelowej. Limfocyty wprowadzane są w stan anergii, względnie dochodzi do powstania populacji limfocytów pamięci utrwalających stan immunotolerancji względem guza. Ligandem dla KIR mogą być również cząsteczki klasy HLA-G ulegające ekspresji na tkankach płodowych (fizjologiczny mechanizm ustanowienia immunotolerancji matki względem płodu). W wyniku mutacji HLA-G może pojawiać się na powierzchni komórek raka nerki.

Z rozwojem raka nerki nierozzerwalnie łączy się zjawisko dysfunkcji układu odpornościowego. W trakcie intensywnych badań stwierdzono, że tłem dla upośledzenia funkcji immunologicznej jest kilka powiązanych ze sobą zjawisk. Są nimi przestrojenie odpowiedzi immunologicznej na torze z dominacją limfocytów Th2 [11]/Treg (regulatorowe limfocyty T CD4+/CD25+), o czym za chwilę [12]; anergia limfocytów; zwiększona częstość apoptozy limfocytów naciekających guz (*tumour infiltrating lymphocytes*, TIL) i TL specyficznych dla guza. Rola limfocytów z nadekspresją CTLA-4 i L-argininy/L-arginazy oraz limfocytów pamięci CD4+ CD25+ okazuje się być bardzo ważna. Od kilku lat intensywnie bada się wpływ tej subpopulacji tzw. limfocytów regulatorowych (*regulatory T cells*, Treg's) na reaktywność układu odpornościowego względem substancji stosowanych w ramach immunoterapii. Komórki te charakteryzujące się fenotypem CD4+CD25+Foxp3+

odpowiedzialne są za ustanowienie i utrzymanie tolerancji względem własnych tkanek, ale również wykazują aktywność immunosupresyjną w kontekście odpowiedzi generowanej przeciwko komórkom nowotworowym [13]. Treg, wydzielając cytokiny, takie jak IL-10, TGF- β upośledzają odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwnowotworowo poprzez supresję specyficznych antygenowo limfocytów T [14]. Liczba krążących limfocytów Treg jest zwykle podwyższona u pacjentów z rozsianym czerniakiem skóry lub rakiem nerki. Co więcej, we krwi obwodowej chorych leczonych wysokimi dawkami IL-2 dożylnie obserwuje się ekspansję silnie immunosupresyjnych limfocytów Treg, które z kolei mogą hamować indukowaną cytokinami odpowiedź układu odpornościowego względem guza [15]. Chcąc wyeliminować niepożądany wpływ IL-2 na propagację Treg, stosuje się leki niszczące w sposób wybiórczy komórki tej subpopulacji. W jednym z badań klinicznych, którego celem było określenie skuteczności takiego postępowania grupie 7 chorych z rozsianym rakiem nerki podawano wysokie dawki IL-2 dożylnie wraz z denileukiną difitox. Denileukina difitox (DD) jest sztucznym fuzyjnym białkiem zbudowanym z IL-2 i toksyny błoniczej (*diphtheria toxin*). Składowa odpowiadająca strukturalnie IL-2 łączy się specyficznie z receptorem IL-2 (CD25), podczas gdy toksyna błonicza niszczy komórki, na powierzchni których cząsteczka CD25 ulega ekspresji. W tym pilotowym badaniu u chorych otrzymujących IL-2 i DD obserwowano znaczne obniżenie ilości krążących Treg, połączone z efektem świadczącym o silnej stymulacji układu odpornościowego [16]. Niemniej z powodu wczesnego etapu, na jakim wspomniane badanie się znajduje, nie wiadomo czy i ewentualnie na ile zachęcające wyniki laboratoryjne przełożą się na faktyczną korzyść kliniczną u poddanych takiej terapii chorych.

Jak już wspomniano, guz nowotworowy wywodzący się z nerki jest źródłem syntezy wielu substancji aktywnych biologicznie. Substancje te, oprócz tego, że odpowiadają za szereg objawów składających się na bogaty obraz kliniczny raka nerki, dodatkowo w sposób istotny modyfikują metabolizm organizmu, naruszając szeroko pojętą homeostazę środowiska wewnętrznego. Stwierdzono [17], że z punktu widzenia immunologii ważnymi produktami guza są czynniki działające silnie immunosupresyjnie – gangliozydy, TNF- α (*tumour necrosis factor alfa*) oraz utlenowane lipidy. Gangliozydy (GM1, GM2, GD1a) ulegające nadekspresji i wydzielane przez komórki nowotworu do mikrośrodowiska, jak również krwi obwodowej hamują proliferację limfocytów T i wywołują ich apoptozę. Dodatkowo hamują dojrzewanie komórek dendrytycznych, uniemożliwiają sprawną indukcję odpowiedzi immunologicznej. Powodują pobudzenie i dominację czynnościową limfocytów Th2 wydzielających IL-5, działającą silnie immunosupresyjnie. Efekt biologiczny gangliozydów GM2 może być *in vitro* hamowany specyficznym przeciwciałem. TNF- α okazuje się indukować ekspresję nowotworową GM oraz wykazywać synergizm z gangliozydami w indukowaniu apoptozy limfocytów T. Z kolei apoptoza LT powodowana jest destrukcyjnym wpływem GM na lipidy błonowe limfocytów, uszkodzeniem aparatu mitochondrialnego oraz rozregulowaniem genetycznego systemu naprawczego komórek (hamowanie aktywacji NF κ B i ekspresji czynników z rodziny Bcl-2).

Istotnym jest fakt, że produkcja omówionych substancji, a zatem i ich stężenia we krwi czy płynie tkankowym ściśle korelują z masą guza.

Piśmiennictwo

1. Finke J, Rayman P, Hart L, et al. Characterization of tumor-infiltrating lymphocyte subsets from human renal cell carcinoma: specific reactivity defined by cytotoxicity, interferon-gamma secretion, and proliferation. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1994; 15: 91-104.
2. Fairlamb DJ. Spontaneous regression of metastases of renal cancer: a report of two cases including the first recorded regression following irradiation of a dominant metastasis and review of the world literature. *Cancer* 1981; 47: 2102-6.
3. Marcus A, Choyke PL, Reiter R, Jaffe GS, Alexander RB, Linehan WM, Rosenberg SA, Walther MM. Regression of metastatic renal cell carcinoma after cytoreductive nephrectomy. *J Urol* 1993; 150: 463-6.
4. Everson T, Cole W. Spontaneous regression of cancer. WB Saunders, Philadelphia 1966.
5. Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, et al. Observations on the systemic administration of autologous lymphokine-activated killer cells and recombinant interleukin-2 to patients with metastatic cancer. *N Engl J Med* 1985; 313:1485-92.
6. R Childs, E Clave, J Tisdale, Plante M, Hensel N, Barrett J. Successful treatment of metastatic renal cell carcinoma with a nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood progenitor-cell transplant: evidence for a graft-versus-tumor effect. *J Clin Oncol* 1999; 17: 2044-9.
7. Caignard A. Lytic potential of TCR gamma delta T cells in metastatic renal carcinoma. In: The third International Kidney Cancer Symposium proceedings. Chicago 2004.
8. Van den Eynde B, Gaugler B, Probst-Kepper M, Michaux L, Devuyst O, Lorge F, Weynants P, Boon T. A new antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human kidney tumor results from reverse strand transcription. *J Exp Med* 1999; 190: 1793-800.
9. Storkus W. RCC antigens and the Immune Response. In: The third International Kidney Cancer Symposium proceedings. Chicago 2004.
10. Caignard A. Modulation CTL Response via Killer Inhibitory Receptor. In: The Second International Kidney Cancer Symposium. Chicago 2001.
11. J Finke. Immune Dysfunktion: Strategies for reversal. In: The third International Kidney Cancer Symposium. Chicago 2004.
12. Swanson DA, Johnson DE, von Eschenbach AC, Chuang WP, Wallace S. Angioinfarction plus nephrectomy for metastatic renal cell carcinoma: an update. *J Urol* 1983; 130: 449-52.
13. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and non-self. *Nat Immunol* 2005; 6: 345-52.
14. von Boehmer H. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat Immunol* 2005; 6: 338-44.
15. Ahmadzadeh M, Rosenberg SA. IL-2 administration increases CD4+ CD25 (hi) Foxp3+ regulatory T cells in cancer patients. *Blood* 2006; 107: 2409-14.
16. Gidron A, Eklund J, Mortone B, Rademaker AW, Goolsby C, Kuzel T. Treg depletion with denileukin diftitox (DD) enhances lymphocytosis and eosinophilia in patients treated with high-dose IL-2 (HDIL-2) for metastatic renal cell Cancer (MRCC). Abs No 14627. In: ASCO Annual Meeting Abstracts, *J Clin Oncol* 2006; 24 (18 suppl.).
17. The third International Kidney Cancer Symposium. Chicago 2004.

Adres do korespondencji

dr med. **Jakub Żotnierek**
Klinika Onkologii
CSK MON, WIM
ul. Szaserów 128
00-909 Warszawa