Az immunterápia prediktív markereinek vizsgálata agyi áttétet adó tüdő adenocarcinomákban

Doktori értekezés

Dr. Téglási Vanda Mónika

Semmelweis Egyetem
Patológiai Tudományok Doktori Iskola

Témavezető: Dr. Reiniger Lilla, Ph.D, egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Bittner Nóra, Ph.D, klinikaigazgató
Dr. Borka Katalin, Ph.D, egyetemi docens

Szigorlati bizottság elnöke: Dr. Demeter Judit, D.Sc, egyetemi tanár
Szigorlati bizottság tagjai: Dr. Madaras Lilla, Ph.D, egyetemi adjunktus
Dr. Sipos László, Ph.D, főorvos, címzetes egyetemi docens

Budapest
2019

Tartalomjegyzék

1. Rövidítések jegyzéke 7

2. Bevezetés (irodalmi háttér) 10

2.1. Tüdő daganatok 10

2.1.1. Epidemiológia 13

2.1.2. Etiológia és patogenezis 13

2.1.2.1. Dohányzás 13

2.1.2.2. Egyéb karcinogének 14

2.1.2.3. Nem 15

2.1.2.4. Életkor 15

2.1.2.5. Egyéb tüdőbetegségek 15

2.1.2.6. Genetikai tényezők 15

2.1.3. Klinikai vonatkozások és diagnosztika 18

2.1.3.1. Klinikai vizsgáló módszerek 19

2.1.3.2. Patológiai vizsgáló módszerek 20

2.1.3.3. Szövettani vizsgálatok 21

2.1.3.4. Molekuláris vizsgálatok 21

2.1.4. Kezelés 22

2.1.4.1. Sugárterápia 22

2.1.4.2. Hagyományos kemoterápia 23

2.1.4.3. Célzott terápia 24

2.1.4.4. Immunterápia 25

2.2. Központi idegrendszeri áttétek 26

2.2.1. Epidemiológia 26

2.2.2. Patogenezis 26

2.2.2.1. Molekuláris eltérések 27
2.2.3. Klinikai vonatkozások és diagnosztika 28
2.2.3.1. Klinikai vizsgáló módszerek 28
2.2.3.2. Patológiai vizsgálómódszerek 28
2.2.4. Kezelés 29
2.2.4.1. Sebészi terápia 29
2.2.4.2. Sugárterápia 29
2.2.4.3. Gyógyszeres terápia 30
2.2.4.4. Hagyományos kemoterápia 30
2.2.4.5. Célzott terápia 30
2.2.4.6. Immunterápia 31
2.3. Tumorellenes immunitás 31
2.4. Immunterápia napjainkban, kiemelve a nem-kissejtes tüdődaganatok esetén alkalmazható lehetőségeket 33
2.4.1. Adaptív T-sejt terápia 33
2.4.1.1. T-sejt receptor terápia 33
2.4.1.2. CAR T-sejt terápia 34
2.4.1.3. Tumor infiltráló lymphocyta terápia 34
2.1.4.4. Dendritikus sejt terápia 34
2.4.2. Tumorellenes vakcináció 35
2.4.3. Immunellenőrzőpont-gátlás 35
2.4.3.1. CTLA-4 gátlás 36
2.4.3.2. PD-L1/PD-1 jelút gátlás 36
2.4.3.3. Egyéb ellenőrző pontok 40
2.5. T-sejt receptor 41
3. Célkitűzések 44

4. Anyagok és módszerek 45
4.1. Beteganyag 45
4.2. Szöveti multiblokk 45
4.3. Hisztológiai vizsgálatok 47
4.3.1. Peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció 47
4.3.2. Intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció 48
4.4. Immunhisztokémiai vizsgálatok 50
4.5. A PD-1 és PD-L1 reakciók kiértékelése 51
4.6. T-sejt receptor meghatározás 53
4.7. Statisztikai analízis 55
4.7.1. 208 agyi áttét esetet tartalmazó kohort 55
4.7.2. 61 primer tüdő ADC és agyi áttét párt tartalmazó kohort 58
4.7.3. 19 primer tüdő ADC és agyi áttét párt tartalmazó kohort 58
4.8. Etikai vonatkozások 58
5. Eredmények 59
5.1. 208 agyi áttét esetet tartalmazó kohort 59
5.1.1. Klinikai adatok 59
5.1.2. Túlélési adatok 59
5.1.3. Peri- és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció az agyi áttétekben 59
5.1.4. PD-L1 és PD-1 expresszió az agyi áttétekben 61
5.1.5. A mononukleáris sejtek eloszlásának, mennyiségének, valamint a PD-L1 és PD-1 expresszió mértékének összefüggései a klinikai adatokkal 63
5.1.6. Az agyi áttétekben megfigyelhető mononukleáris sejtek eloszlásának és mennyiségének összefüggése a PD-L1 és PD-1 expresszióval 64
5.1.7. A klinikai adatok összefüggése a túléléssel 66
5.1.8. A mononukleáris sejtek eloszlásának és mennyiségének összefüggése a túléléssel 67

5.1.9. A PD-L1 és PD-1 expresszió összefüggése a túléléssel 69
5.2. 61 primer tüdő adenocarcinoma és agyi áttét párt tartalmazó kohort 73
5.2.1. Klinikai adatok 73
5.2.2. Túlélési adatok 73
5.2.3. Peri- és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció a primer tüdő adenocarcinomákban és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben 73
5.2.4. PD-L1 és PD-1 expresszió a primer tüdő adenocarcinomákban és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben 73
5.2.5. A primer tüdő adenocarcinomában és a hozzá tartozó agyi áttétben jelenlévő mononukleáris sejtek elhelyezkedésének és mennyiségének összefüggései 76
5.2.6. A primer tüdő adenocarcinomában és a hozzá tartozó agyi áttétben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziók közötti összefüggések 77
5.2.7. A mononukleáris sejtek eloszlásának és mennyiségének összefüggései a PD-L1/PD-1 expresszióval a primer tüdő ADC mintákban 78
5.2.8. Az immunsejtek mennyiségének és eloszlásának, valamint a PD-L1/PD-1 expresszió mértékének összefüggése a túléléssel 80
5.2.9. A terápiák hatása a mononukleáris sejtes infiltrátum változásának irányára a primer tüdőtumorhoz képest a hozzá tartozó agyi áttétben 80
5.2.10. A terápiák hatása a PD-L1/PD-1 expresszió változásának irányára a primer tüdőtumorhoz képest a hozzá tartozó agyi áttétben 81
5.3. 19 primer tüdő ADC és agyi áttét párt tartalmazó kohort 83
5.3.1. Tumor infiltráló lymphocyták mennyisége 83
5.3.2. T-sejt receptor fragmenthossz-analízisének eredményei 83
5.3.3. A fragmenthossz-analízis eredményeinek összefüggése a klinikai adatokkal 83
6. Megbeszélés 86
6.1. A tumorsejtek PD-L1 expressziója 87
6.2. Tumor-asszociált immunsejtek 89

6.2.1. A tumor-asszociált immunsejtek mennyiségének és eloszlásának összefüggései 89
6.2.2. A tumor-asszociált immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziójának összefüggései 90
6.3. T-sejt receptor klonalitás 92
7. Következtetések 95
8. Összefoglalás 96
9. Summary 97
10. Irodalomjegyzék 98
11. Saját publikációk jegyzéke 119
11.1. Az értekezés témájában megjelent közlemények 119
11.2. Egyéb témában megjelent közlemények 119
12. Köszönetnyilvánítás 121

1. Rövidítések jegyzéke

ADC	Adenocarcinoma
AIC	Akaike information criterion
ALK	Anaplasztikus lymphoma kináz
BTLA	B és T lymphocyta csillapító
CAR	Kiméra antigén receptor
CI	Konfidencia intervallum
CISH	Kromogénes in situ hibridizáció
COPD	Krónikus obstruktív tüdőbetegség
CPS	Kombinált pozitív score
CT	Komputertomográfia
CTLA-4	Citotoxicus T-lymphocyta-asszociált antigén-4
DDR2	Discoidin domén receptor tirozin kináz 2
EGFR	Epidermális növekedési faktor receptor
EML4	Echinoderm mikrotubulus-asszociált fehérje 4
ERK	Extracelluláris szignál-regulált kináz
FDA	Food and Drug Administration
FGFR1	Fibroblaszt növekedési faktor receptor 1
FISH	Fluoreszcens in situ hibridizáció
FFPE	Formalin-fixált, paraffinba ágyazott
GAL9	Galectin 9
HE	Hematoxilin-eozin
HER2	Humán epidermális növekedési faktor receptor 2
HR	Hazard ratio
HVEM	Herpesvirus entry mediator
IGFR	Inzulin-szerű növekedési faktor receptor
IHC	Immunhisztokémia
IS	Immunsejt
JAK	Janus kináz
KIR	Központi idegrendszer
KRAS	Kirsten patkány sarcoma vírus onkogén homológ
LAG3	Lymphocyta aktiváló gén-3

MAPK	Mitogén által aktivált protein kináz
MEK	MAP kináz kináz
MGY	Mononukleáris gyűrű
MHC	Fő hisztokompatibilitási komplex
MK	Monoklonális
MR	Mágneses rezonancia
MSI	Mikroszatellita instabilitás
mTOR	Mammalian target of rapamycin
N	Esetszám
NK sejt	Természetes ölő sejt
NSCLC	Nem-kissejtes tüdőcarcinoma
OKITI	Országos Klinikai Idegtudományi Intézet
OKTPI	Országos Korányi Tbc és Pulmonológia Intézet
OS	Teljes túlélés
PCR	Polimeráz láncreakció
PD-1	Programozott sejthalál receptor-1
PD-L1	Programozott sejthalál ligand-1
PD-L2	Programozott sejthalál ligand-2
PET	Pozitron emissziós tomográfia
PFS	Progresszió mentes túlélés
PI3K	Foszfatidilinozitol-3-kináz
PK	Poliklonális
PTEN	Foszfatáz és tenzin homológ
ROS1	Receptor tirozin kináz 1
SCLC	Kissejtes tüdőcarcinoma
SD	Standard deviáció
SRS	Sztereotaxiás sugársebészet
STAT	Jelátalakító és transzkripciós aktivátor
TAM	Tumor asszociált macrophag
TCR	T-sejt receptor
TIL	Tumor infiltráló lymphocyta
TIM-3	T-sejt immunglobulin mucin-3

TMA	Szöveti multiblokk
TMB	Teljes mutációs terhelés
TNM	Tumor, nyirokcsomó, metasztázis
TPS	Tumor proportion score
TRA	T-sejt receptor alfa lokusz
TRB	T-sejt receptor béta lokusz
TRD	T-sejt receptor delta lokusz
TRG	T-sejt receptor gamma lokusz
TS	Tumorsejt
TTBM	Agyi áttét kialakulásáig eltelt idő
TTF1	Pajzsmirigy transzkripciós faktor-1
TUKEB	Tudományos és Kutatásetikai Bizottság
VEGF	Vaszkuláris endotheliális növekedési faktor
WBRT	Teljes agyi besugárzás
WHO	Egészségügyi Világszervezet

2. Bevezetés (irodalmi háttér)

Ismert tény, hogy a szív- és érrendszeri betegségek után, a daganatos betegségek okozzák a legtöbb halálozást. Magyarországon, csakúgy, mint a világon általában, a daganatos betegségek között a tüdődaganatok a leggyakoribbak, mind az új esetek megjelenését, mind a halálozást tekintve [1] (**1. táblázat**).

2.1. Tüdő daganatok

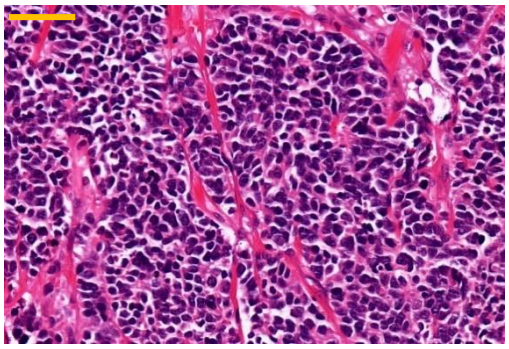
A tüdő daganatai lehetnek jó- és rosszindulatúak, hasonlóan más szervek daganataihoz. A leggyakoribb jóindulatú tüdődaganat a hamartoma, míg a leggyakoribb rosszindulatú daganat a carcinoma. Utóbbi a tüdőben kialakuló összes daganat-típus 95%-át teszi ki [2].

A tüdőcarcinomákat szövettani altípusokba sorolhatjuk a tumorszövetet felépítő sejtek morfológiai sajátosságai alapján. A 2015-ös WHO osztályozás megjelenéséig két fő csoportba soroltuk a tüdő daganatait: (i) kissejtes (SCLC) és (ii) nem-kissejtes (NSCLC) tüdőcarcinomák. Utóbbi altípusai az adenocarcinoma (ADC), a laphám carcinoma és a nagysejtes neuroendokrin carcinoma voltak (**1. ábra**). A 2015-ös WHO által javasolt besorolás a **2. táblázat**ban látható. Egy adott tumoron belül előfordulhat, hogy nagy arányban eltérő megjelenésű sejtfészkek azonosíthatók, melyek így kombinált szövettani besorolást kapnak [2, 3].

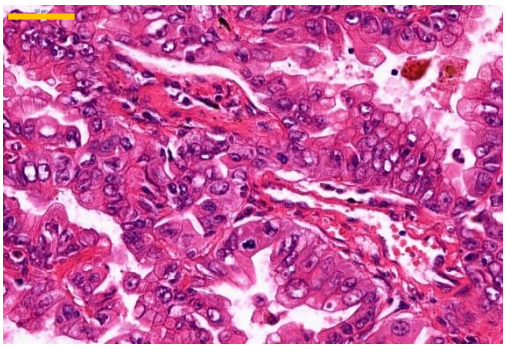
1. táblázat. Az elhunytak száma és aránya haláloki csoportok szerint Magyarországon a Központi Statisztikai Hivatal adatai alapján [1]

Év	Fertőző és élősdi okozta betegség	Daganat	Keringési rendszer betegségei	Légző-rendszer betegségei	Emésztő-rendszer betegségei	Morbiditás és mortalitás külső okai	Egyéb halálok	Összesen
1960	4 509	**17 390**	45 249	10 402	3 551	6 002	14 422	101 525
1970	2 771	**22 639**	64 273	5 843	4 553	9 499	10 619	120 197
1980	1 523	**27 937**	76 901	10 031	7 038	12 284	9 641	145 355
1990	963	**31 221**	76 240	6 644	9 015	13 275	8 302	145 660
2000	659	**33 679**	68 873	5 168	10 047	9 541	7 634	135 601
2001	611	**33 757**	67 423	4 334	9 548	9 455	7 055	132 183
2002	576	**33 537**	67 826	4 701	9 189	9 513	7 491	132 833
2003	499	**34 062**	69 050	5 439	9 445	9 435	7 893	135 823
2004	490	**34 056**	67 165	5 215	9 144	9 097	7 325	132 492
2005	501	**32 057**	70 938	6 502	8 504	7 990	9 240	135 732
2006	435	**32 396**	66 561	6 287	8 638	7 595	9 691	131 603
2007	480	**32 747**	66 547	6 771	8 814	7 438	10 141	132 938
2008	420	**32 776**	64 749	6 231	8 468	7 361	10 022	130 027
2009	493	**33 174**	64 921	6 466	8 217	7 178	9 965	130 414
2010	521	**33 076**	65 819	6 254	7 739	7 073	9 974	130 456
2011	616	**33 274**	64 250	6 594	7 306	6 719	10 036	128 795
2012	928	**33 790**	64 178	6 790	6 819	6 519	10 416	129 440
2013	904	**33 274**	62 979	7 009	6 390	6 124	10 098	126 778
Százalékos megoszlás								
1960	4,4	**17,1**	44,6	10,2	3,5	5,9	14,2	100
1970	2,3	**18,8**	53,5	4,9	3,8	7,9	8,8	100
1980	1,0	**19,2**	52,9	6,9	4,8	8,5	6,6	100
1990	0,7	**21,4**	52,3	4,6	6,2	9,1	5,7	100
2000	0,5	**24,8**	50,8	3,8	7,4	7,0	5,6	100
2001	0,5	**25,5**	51,0	3,3	7,2	7,2	5,3	100
2002	0,4	**25,2**	51,1	3,5	6,9	7,2	5,6	100
2003	0,4	**25,1**	50,8	4,0	7,0	6,9	5,8	100
2004	0,4	**25,7**	50,7	3,9	6,9	6,9	5,5	100
2005	0,4	**23,6**	52,3	4,8	6,3	5,9	6,8	100
2006	0,3	**24,6**	50,6	4,8	6,6	5,8	7,4	100
2007	0,4	**24,6**	50,1	5,1	6,6	5,6	7,6	100
2008	0,3	**25,2**	49,8	4,8	6,5	5,7	7,7	100
2009	0,4	**25,4**	49,8	5,0	6,3	5,5	7,6	100
2010	0,4	**25,4**	50,5	4,8	5,9	5,4	7,6	100
2011	0,5	**25,8**	49,9	5,1	5,7	5,2	7,8	100
2012	0,7	**26,1**	49,6	5,2	5,3	5,0	8,0	100
2013	0,7	**26,2**	49,7	5,5	5,0	4,8	8	100

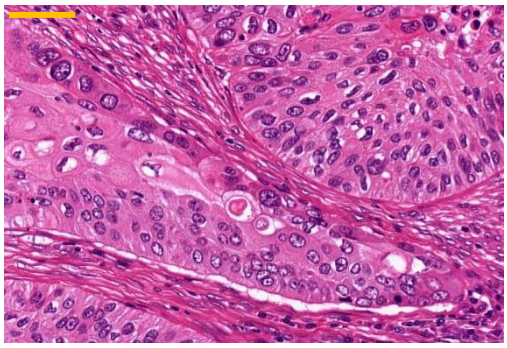
Kissejtes tüdőcarcinoma



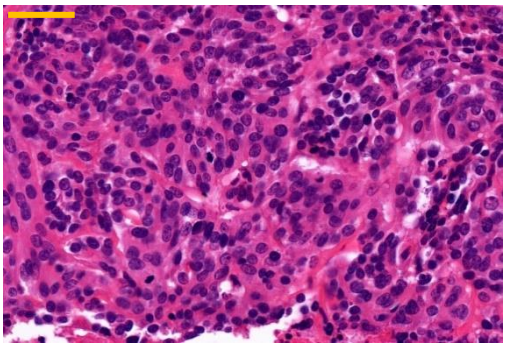
Adenocarcinoma



Laphámcarcinoma



Nagysejtes neuroendocrin carcinoma



1. ábra. A tüdődaganatok leggyakoribb szövettani alcsoportjait bemutató szövettani ábrák.

HE, 400x nagyítás, méretarány 50µm.

2. táblázat. A malignus epitheliális tüdődaganatok szövettani besorolásának kivonata a 2015-ös WHO alapján [3]

Adenocarcinoma	**Neuroendocrin tumorok**
lepidikus	Kissejtes carcinoma
acinária	Nagysejtes neuroendocrin carcinoma
papilláris	Carcinoid tumor
micropapilláris	**Kevert tumorok**
szolid	Adenosquamosus carcinoma
invazív mucinózus	Pleomorph carcinoma
Laphám carcinoma	Kombinált kissejtes carcinoma
elszarusodó	**Egyéb ritka morfológiai variánsok**
el nem szarusodó	Sarcomatoid carcinoma
basaloid	Orsósejtes carcinoma
Nagysejtes carcinoma	Óriássejtes carcinoma

2.1.1. Epidemiológia

Az Amerikai Egyesült Államokban 2016-ban 221.200 új tüdőcarcinomás esetet és 158040 tüdőcarcinoma okozta halálozást regisztráltak. Míg férfiaknál csökkenés figyelhető meg az új esetek számában, addig a nőknél magasabb számú halálozás mutatkozik, mint korábban. Ezt a jelenséget arra vezetik vissza, hogy az elmúlt 50 évben terjedt el a dohányzás a nők körében. A tüdődaganatok megjelenése az 50-60 évesek között a leggyakoribb. Az esetek negyedében nyirokcsomó áttét, több mint felében pedig már távoli áttét is megfigyelhető a diagnózis időpontjában [2]. A kissejtes tüdődaganatok kifejezetten malignus tumorok, döntően centrálisan helyezkednek el és a malignus tüdőtumorok 15%-át teszik ki. A fennmaradó 85% nem-kissejtes tüdőcarcinoma. A rosszindulatú tüdőtumorok több, mint harmada döntően a tüdő perifériás területein kialakuló ADC, melynek incidenciája az elmúlt évtizedekben jelentős növekedést mutat [2, 4]. Érdekesség, hogy a nemdohányzó nők körében, valamint a 45 évesnél fiatalabb populációban a tüdő ADC a leggyakoribb primer rosszindulatú daganat [2]. A tüdődaganatos betegek 5 éves túlélése 2010 körül 15,6%-ra volt tehető [4]. Ez a szám az egyre fejlettebb diagnosztikai lehetőségek és az elmúlt években elért jelentős terápiás fejlesztések ellenére is 20% alatt marad [4, 5].

2.1.2. Etiológia és patogenezis

2.1.2.1. Dohányzás

A tüdődaganatok kialakulásában az egyik legjelentősebb tényező a dohányzás [4]. A cigarettafüstnek több mint 4000 kémiai összetevője van, melyek 95%-a gáznemű. A dohányfüstben legalább 50 karcinogén anyag van [6, 7]. A policiklusos aromás szénhidrogének, aromás aminok, N-nitrozaminok és más szerves és szervetlen vegyületek, például benzol, vinil-klorid, arzén és króm mellett radioaktív anyagok, mint például a radon és annak bomlástermékei, a bizmut és polonium is megtalálhatók [8].

A tüdődaganatok 90%-a aktív dohányos vagy korábban dohányzó emberekben alakul ki [2]. A férfiak 23%-a, míg a nők 18%-a dohányzik. A dohányzás a férfiak és a nők életkor-specifikus halálozási arányát egyaránt növeli. A cigarettafüst hatásának nagysága messze felülmúlja a tüdődaganathoz vezető összes egyéb tényező, így a foglalkozási ártalmak szerepét is [4]. A tüdődaganat kialakulásának kockázata a naponta elszívott cigaretta mennyiségével és a dohányzás időtartamával összefüggésben lineárisan

növekszik. Masszív dohányosok (két csomag cigaretta/nap 20 éven keresztül) esetén akár 60-szoros is lehet a tüdődaganat kialakulásának kockázata a nemdohányzó populációhoz képest, azonban csak mintegy 11%-ban alakul ki tüdődaganat masszív dohányzás esetén [2, 9]. Valószínű, hogy a rákkeltő anyagok mutagén hatását az örökletes (genetikai) tényezők is befolyásolják. Például a citokróm P-450 géneket érintő polimorfizmus esetén megnövekedhet a dohányfüstben lévő prokarcinogének aktiváló hatása, ezáltal nagyobb a tüdőcarcinoma kialakulásának kockázata [2]. Bár a dohányzás abbahagyása csökkenti a tüdődaganat kialakulásának kockázatát, azonban az alapszintre nem fog lecsökkenni, és a tüdődaganat kialakulásában szerepet játszó genetikai változások sokáig fennmaradhatnak a korábbi dohányosok hörgő epitheliumában. A passzív dohányzás bár csak csekély mértékben, de szintén növeli a tüdődaganat kialakulásának kockázatát [2]. A tüdődaganatok halálozási adatait a soha nem dohányzóknál külön vizsgálva leírták, hogy a tüdőcarcinoma csak a hetedik leggyakoribb daganatos haláloki tényező lenne [10].

A tüdődaganat kialakulásának kockázat növelése mellett a dohányzás vitathatatlanul szerepet játszik a krónikus bronchitis és a szívkoszorúér betegségek patogenezisében [4].

Becslések szerint a dohányzás megszüntetésével az összes daganatos halálozás 20%-a megelőzhető lenne [11].

2.1.2.2. Egyéb karcinogének

A tüdődaganatok esetén foglalkozási expozícióval összefüggő rákkeltő hatása van az azbesztnek, arzénnek, krómnak, nikkelnek, vinil-kloridnak, berilliumnak, kadmiumnak, klór-metil-étereknek, radonnak és szilícium-dioxidnak [2, 12]. Ezen anyagok önmagukban is rákkeltőek, melyek hatását a dohányzás felerősíti. Például nemdohányzókban az azbeszt 5-szörösére növeli a tüdődaganat kialakulásának kockázatát, míg masszív dohányosoknál a kockázat körülbelül 55-szörösére emelkedik [2].

A kültéri levegőszennyezés szintén növelheti a tüdődaganat kialakulásának kockázatát, például a fosszilis tüzelőanyagok égéstermékében megtalálható potenciális rákkeltő összetevők által [4].

2.1.2.3. Nem

Egyes tanulmányok kimutatták, hogy a nemdohányzó nők között gyakoribb a tüdődaganatok kialakulása, mint a nemdohányzó férfiak körében [13, 14]. Ennek oka nem pontosan tisztázott, azonban feltételezhető a nők dohányzással nem összefüggő környezeti karcinogénekkel szembeni fokozott fogékonysága, valamint az ezen rákkeltő anyagok metabolizmusában fennálló nemi különbségek megléte [4].

2.1.2.4. Életkor

Habár a dohányzás gyakorisága alacsonyabb a 65 évnél idősebb populációban (9,3%), mind a 18-24 éves (21,4%), a 25-44 éves (23,7%) és a 45-64 éves (22,6%) populációhoz viszonyítva [15], a tüdőtumoros betegek több mint 65%-a 65 évnél idősebb [16]. A tüdőtumoros betegek 31,1%-a 65 és 74 év, 29%-a 75 és 84 év közötti, 8,3%-a pedig 85 évnél idősebb [16]. Az elmúlt évtizedben a tüdőcarcinoma incidenciája és mortalitása is csökkent az 50 évesnél fiatalabbak körében, de nőtt a 70 évesnél idősebbek körében [17].

2.1.2.5. Egyéb tüdőbetegségek

Néhány nem malignus tüdőbetegséggel összefüggésben is megfigyelhető a tüdődaganat gyakoribb kialakulása, így például krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) esetén, melyet döntően a krónikus gyulladásra és légúti elzáródásra vezetnek vissza [18-20].

2.1.2.6. Genetikai tényezők

A tüdődaganatok patogenezisében, bizonyos típusainak kialakulásában és a biológiai terápiákra adott egyéni válaszreakcióban genetikai tényezők is szerepet játszanak (**2.** és **3. ábra**) [4].

Spitz *és mtsai* kimutatták, hogy a családi anamnézisben szereplő tüdődaganat növeli a tüdőcarcinoma kockázatát a soha nem dohányzó, a korábban dohányzó és a dohányzó populációkban egyaránt [21, 22]. Cassidy *és mtsai* a családi anamnézisben 60 évnél fiatalabb korban kialakuló tüdődaganat kockázatnövelő szerepét igazolták [23].

Az epidermális növekedési faktor receptor (EGFR) egy receptor tirozin kináz, melynek génje a 7-es kromoszóma rövid karján helyezkedik el. A recptor – ligand kapcsolódást követően a citoplazmatikus oldalon létrejövő foszforiláció révén bekövetkező aktiválódás számos intracelluláris jelutat aktivál, melyek sejtproliferációhoz

és apoptózis gátláshoz vezetnek. Az EGFR fokozott expressziója – melynek hátterében gyakran mutáció áll - a kiértékelési módszertől függően az NSCLC-s, döntően adenocarcinomás esetek 10-80%-ában kimutatható, amely kedvezőtlen prognózissal társul. A leggyakoribb mutációk az EGFR kinázt kódoló szakasz 18-21-es exonjai között jelennek meg, és gyakoriak a nemdohányzó tüdő adenocarcinomás nők között [24, 25].

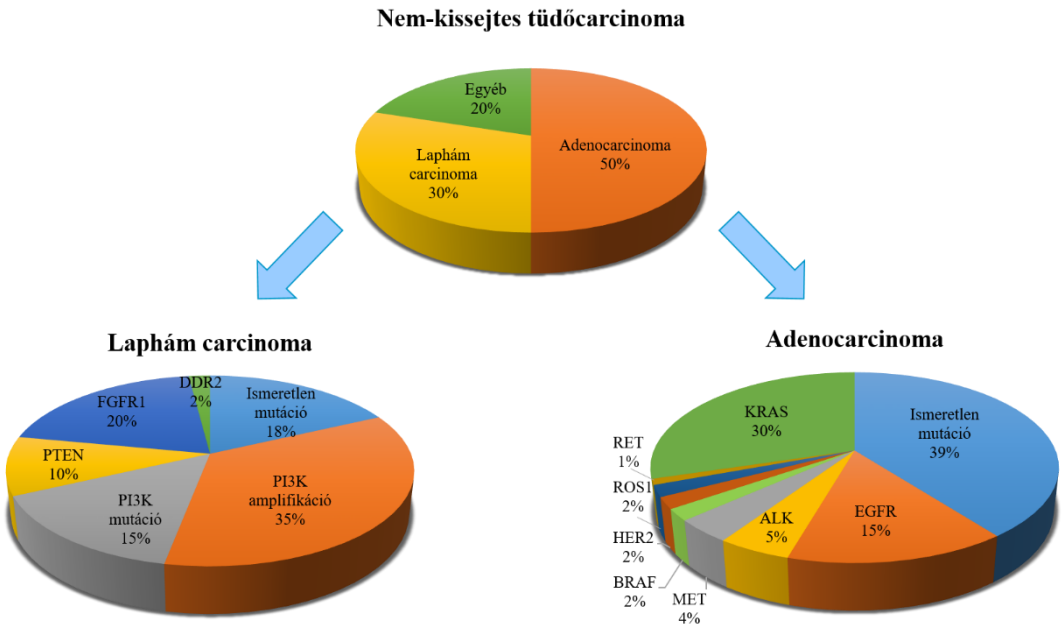
Az anaplasztikus lymphoma kináz (ALK) szintén egy receptor tirozin kináz, melynek génje a 2-es kromoszóma rövid karján helyezkedik el. A gén fúziója a hasonló kromoszómális lokalizációjú echinoderm mikrotubulus-asszociált fehérje 4-et kódoló (EML4) génnel kimutatható az NSCLC-s, döntően adenocarcinomás esetek 4-7%-ában és gyakori fiatal nemdohányzó tüdődaganatos betegek körében. A fúzió következtében egy konstitutívan aktív fehérje jön létre [25].

A kirsten patkány sarcoma vírus onkogén homológ (KRAS) egy onkogén, amely a 12-es kromoszóma hosszú karján helyezkedik el és egy GTP-áz aktivitású fehérjét kódol, amely számos sejtfunkció szabályozásában részt vesz [25]. Az aktiváló mutáció a 2-es és 3-as exon 12-es, 13-as vagy 61-es kodonját érintheti [26]. A tüdő adenocarcinomás betegek 25-35%-ában mutatható ki ennek a génnek a mutációja és gyakrabban fordul elő dohányzó betegeknél. A *KRAS* mutáció jelenléte kedvezőtlen kimenetellel társul és mind a kemoterápia, mind az EGFR gátló kezelés hatásosságára nézve negatív prediktor [25].

Kimutatták, hogy az *EGFR,* a *KRAS* és az *ALK* genetikai eltérései egymást kizáró események [25].

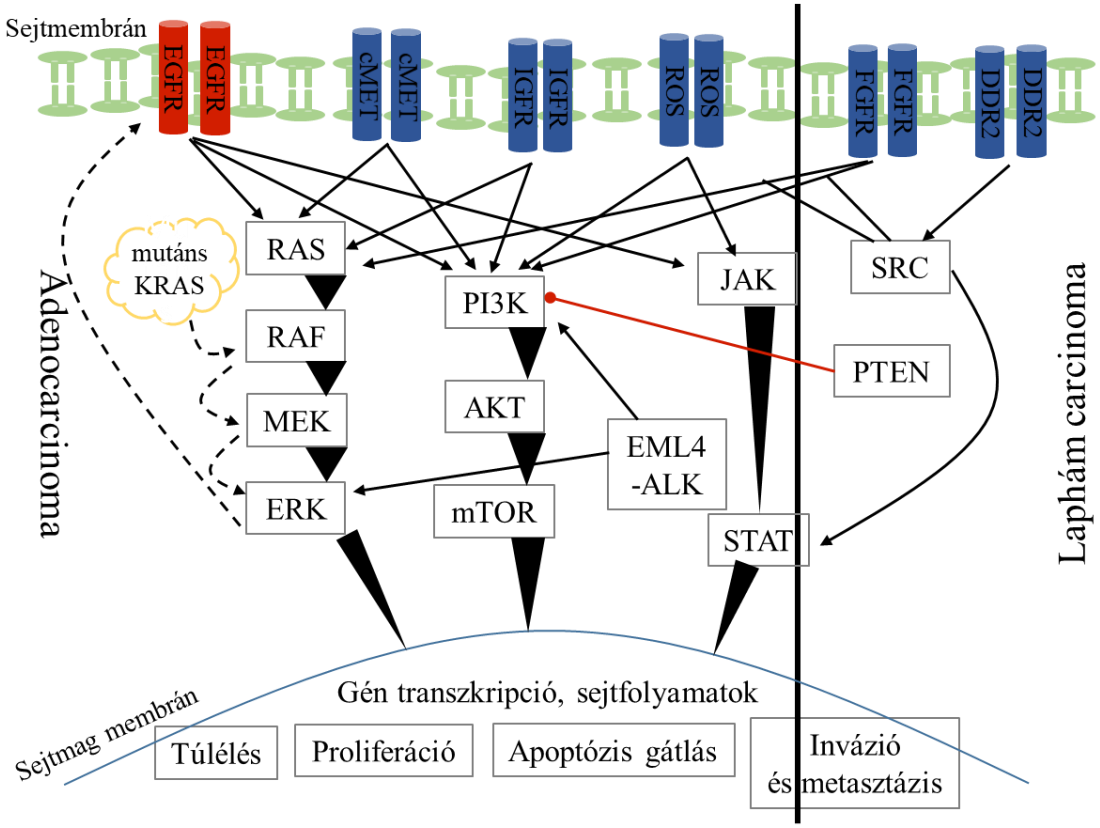
Az NSCLC-s esetek 1-2%-ában, leggyakrabban fiatal nemdohányzó tüdő adenocarcinomában szenvedő nők körében mutatható ki a receptor tirozin kináz 1 (*ROS1*), az epithelsejtek differenciációjában szerepet játszó gén átrendeződése. A *ROS1* gén a 6-os kromoszóma hosszú karján található és számos fúziós partnere ismert és átrendeződése kölcsönösen kizárja más onkogén mutációk, így az *EGFR, KRAS* és *ALK* mutáció előfordulását [25].

A 17-es kromoszómán található humán epidermális növekedési faktor receptor 2 (*HER2*) gén az *EGFR*-hez hasonló jelátviteli útvonalak szabályozásában játszik szerepet. A HER2 fokozott expressziója az NSCLC-s esetek 7-35%-ában fordul elő, ami kifejezetten kedvezőtlen prognózissal társul és szinte mindig kizárja a fenti gének érintettségét [25].



2. ábra. A tüdődaganatokban előforduló mutációk összefoglaló ábrája szövettani alcsoportok szerint. *Chan és mtsai (2015) munkája nyomán [27]*

ALK: Anaplasztikus lymphoma kináz; DDR2: Discoidin domén receptor tirozin kináz 2; EGFR: Epidermális növekedési faktor receptor; FGFR1: Fibroblaszt növekedési faktor receptor 1; HER2: Humán epidermális növekedési faktor receptor 2; KRAS: Kirsten patkány szarkóma vírus onkogén homológ; PI3K: Foszfatidilinozitol-3-kináz; PTEN: Foszfatáz és tenzin homológ; ROS1: Receptor tirozin kináz 1



3. ábra. A molekuláris útvonalak és a potenciális terápiás célpontok áttekintése nem-kissejtes tüdőcarcinomában. *Chan és mtsai (2015) munkája nyomán [27]*

DDR2: Discoidin domén receptor tirozin kináz 2; EGFR: Epidermális növekedési faktor receptor; EML4-ALK: Echinoderm microtubulus-asszociált fehérje 4 és anaplasztikus lymphoma kináz fúzió; ERK: Extracelluláris szignál-regulált kináz; FGFR: Fibroblaszt növekedési faktor receptor; IGFR: Inzulin-szerű növekedési faktor receptor; JAK: Janus kináz; KRAS: Kirsten patkány szarkóma vírus onkogén homológ; MEK: MAP kináz kináz; mTOR: Mammalian target of rapamycin; PI3K: Foszfatidilinozitol-3-kináz; PTEN: Foszfatáz és tenzin homológ; ROS: Receptor tirozin kináz; STAT: Jelátalakító és transzkripciós aktivátor

2.1.3. Klinikai vonatkozások és diagnosztika

A tüdődaganatok többsége már előrehaladott, rezekálhatatlan állapotban kerül diagnózisra. Hajlamosak a mediastinalis, a nyaki és a claviculáris régió nyirokcsomóiba metasztatizálni és előbb-utóbb távoli áttétet is képeznek. Míg a krónikus köhögés és

köpetürítés inkább egy lokálisan körülírt folyamatra utal, addig a rekedtség, a mellkasi fájdalom, a vena cava superior szindróma, a perikardiális vagy a pleurális effúzió, a pneumonitis kialakulásakor már lokálisan kiterjedt, a környező szöveteket érintő betegségre és rosszabb prognózisra számíthatunk. Gyakori, hogy nem a primer daganat, hanem a távoli áttét(ek) okozta tünet(ek) miatt fordul a beteg orvoshoz. Ekkor az elhelyezkedéstől függően például kialakulhatnak mentális vagy neurológiai tünetek, májmegnagyobbodás vagy csontfájdalom. Előfordulhat az esetek kevesebb, mint 10%-ában, és főleg kissejtes tüdődaganatok esetén, hogy a tumorsejtek bioaktív anyagokat termelnek, melynek következtében különböző tünetegyüttesek, úgynevezett paraneopláziás szindrómák jöhetnek létre. Ilyen tünetegyüttes lehet például a Cushing-szindróma, a hiperkalcémia, az anti-diuretikus hormon nem megfelelő szekréciója, különböző neuromuszkuláris szindrómák és a koagulációs rendellenességek. A szövettani altípus alapján az NSCLC csoportba tartozó ADC és laphám carcinoma kedvezőbb kimenetellel társul, mint az SCLC. A tüdődaganatok esetében is a nemzetközileg elfogadott TNM (tumor, nyirokcsomó, metasztázis) beosztás alkalmazandó a betegség stádiumának meghatározására (**3. táblázat**) [2, 3, 28].

2.1.3.1. Klinikai vizsgáló módszerek

Tünetekkel jelentkező betegek esetén a fizikális és laborvizsgálat után az első képalkotó vizsgálómód a mellkasröntgen. Amennyiben negatív az eredmény, de fennáll a malignitás gyanúja, kontrasztanyagos komputertomográfia (CT), esetleg pozitron emissziós tomográfia (PET) szükséges. Invazív diagnosztikai módszer, amely egyben mintavételi lehetőséget is jelent az esetek egy részében, a bronchoscopia és a mediastinoscopia. A tüdődaganatok diagnosztikája magában foglalja a szövettani diagnózist, a stádium meghatározást és a beteg funkcionális kapacitásának meghatározását, mely vizsgálatok egyidejű elvégzése fontos [28, 29]. A klinikai stádium meghatározás a képalkotó és invazív vizsgálatok eredményein alapulnak. Idős, rosszul táplált vagy többszörös komorbiditásban szenvedő betegek esetén kérdéses a tüdő műtéti rezekciója. A személyre szabott terápia része az is, hogy felmérik a beteg általános fizikai állapotát. A tüdő rezekcióra alkalmas betegeknél funkcionális vizsgálatokat végeznek, illetve az agyi mágneses rezonancia (MR) vizsgálat is a műtét előtti kötelező vizsgálatok közé tartozik, kivéve az IA stádiumú NSCLC-t [28].

3. táblázat. A tüdődaganatok diagnosztikája során alkalmazandó TNM klasszifikáció a 2015-ös WHO alapján [3]

Tumor	
Tx	daganat nem azonosítható
T0	nincs daganat
T1	a daganat a tüdőre korlátozódik
T1a	a daganat ≤ 1 cm
T1b	a daganat 1 - 2 cm nagyságú
T1c	a daganat 2 - 3 cm nagyságú
T2	a daganat 3 - 5 cm nagyságú / eléri a főhörgőt / eléri a viscerális pleurát / tüdőkollapszust okoz
T2a	a daganat 3 - 4 cm nagyságú
T2b	a daganat 4 - 5 cm nagyságú
T3	a daganat 5 - 7 cm nagyságú / több tüdőlebeny érintett / a környező szövetekre terjed
Nyirokcsomó	
Nx	nyirokcsomó nem azonosítható
N0	a nyirokcsomóban nincs daganatszövet
N1	daganat a tumor körüli vagy a hilusi nyirokcsomó(k)ban
N2	daganat a mediastinalis nyirokcsomó(k)ban
N3	daganat az ellentétes mellkasfél, a nyaki vagy a tüdőcsúcsi nyirokcsomó(k)ban
Metasztázis	
M0	nincs kimutatható távoli áttét
M1	kimutatható távoli áttét
M1a	mindkét oldali tüdő érintett / szív körüli érintettség / tumorsejtek a pericardialis és pleuralis folyadékban
M1b	mellüregen kívüli áttét, 1 régióban
M1c	mellüregen kívüli áttét, több régióban

M: metasztázis; N: nyirokcsomó; T: tumor; TNM: tumor-nyirokcsomó-metasztázis

2.1.3.2. Patológiai vizsgáló módszerek

A tüdődaganatok szövettani megjelenésük alapján kissejtes vagy nem-kissejtes morfológiát mutathatnak. A nem-kissejtes daganatok az 1-es táblázatban látható besorolás alapján tovább osztályozhatók. Az NSCLC lehet rosszul differenciált, mely esetben csak immunhisztokémiai (IHC) és molekuláris vizsgálatok segítségével történhet meg a pontos diagnózis meghatározása. Ez problémát jelenthet a biopsziás mintavételkor,

amikor csak kis mennyiségű szövet áll rendelkezésre. Az optimális kezelés megválasztásához elengedhetetlen a tumor teljes fenotípusának és genotípusának ismerete [28].

2.1.3.3. Szövettani vizsgálatok

A rutin patológiai eljárás a hematoxilin-eozin (HE) festett metszeteken a daganatok morfológiai megjelenésének vizsgálatával kezdődik. Ahol a morfológia alapján nem egyértelmű, IHC vizsgálatokkkal tovább pontosítható a daganat típusa. A tüdődaganatok differenciál diagnózisát segítheti a pajzsmirigy transzkripciós faktor-1 (TTF-1), napszin, mucin, p40, p63, chromogranin-A, synaptophysin, valamint a citokeratin 5/6, 7 és 20 antigének kimutatása [30, 31]. Fontos tudni azonban, hogy ezek az immunhisztokémiai eljárások sem jelentenek 100%-os specificitást és szenzitivitást [32]. Nagy esetszámon elvégzett tanulmányok igazolták, hogy a terápiás szempontból fontos biomarkert vizsgáló PD-L1 reakció kivitelezhető és megbízhatóan kiértékelhető kisméretű biopsziás mintán és műtéti rezekátumon egyaránt [33].

2.1.3.4. Molekuláris vizsgálatok

Az *EGFR* státusz vizsgálatához alkalmazhatunk immunhisztokémiát a fehérje expresszió kimutatására, fluoreszcens *in situ* hibridizációt (FISH) vagy kromogénes *in situ* hibridizációt (CISH) a gén kópiaszámának meghatározására, valamint mutáció analízist [24].

A *KRAS* gén mutációjának vizsgálata hagyományos Sanger szekvenálással és új generációs szekvenálással is történhet [34].

Az *ALK* fúziós gének kimutatására IHC, FISH és reverz-transzkripciós polimeráz láncreakció (PCR) alkalmas [35]. Az IHC és a FISH vizsgálatok eredményei jó átfedésben vannak, így a magas specificitású és szenzitivitású antitestek akár önmagukban is alkalmazhatóak az *ALK* átrendeződés kimutatásához [36, 37]. Azonban egyes tanulmányok szerint csak a FISH vizsgálat fogadható el az *ALK* státusz megerősítésének standard módszereként [38]. A legoptimálisabb a két módszer kombinálása a megbízható eredmény eléréséhez [38]. A mai diagnosztikai gyakorlatban az *ALK* fúzió meghatározása rutinszerű követelmény előrehaladott tüdő ADC esetén [25].

Mivel a *KRAS,* az *EGFR* és az *ALK* gének molekuláris változásai kölcsönösen kizárják egymást, így a *KRAS* mutáció - amely csak 3 kodont érint - vizsgálata egyfajta előszűrőként használható a potenciálisan *EGFR*- és *ALK*-pozitív esetek kiválasztására [34, 39].

A *ROS1* gén átrendeződésének vizsgálata IHC, FISH és reverz-transzkripciós PCR módszerekkel történhet, azonban ebben nincs még egységesen elfogadott álláspont [40].

A *HER2* mutációkat szekvenálási módszerekkel vizsgálják [25].

A 2014-es nemzetközi ajánlások alapján minden tripla-negatív, azaz *EGFR, KRAS* és *ALK* vad típusú, előrehaladott tüdő ADC esetén vizsgálni kell az egyéb célzott terápiás célpontot jelentő molekuláris eltéréseket, mint például a *ROS1*-et [41].

2.1.4. Kezelés

A terápiás terv felállítása az adott tumor szövettani és molekuláris vizsgálati eredményeitől, a betegség stádiumától és a beteg általános állapotától függ. A döntést egy pulmonológus, onkológus, sugárterápiás, mellkassebész és patológus szakorvosból álló multidiszciplináris csapat („onco-team") hozza meg [28, 29]. A teljes műtéti rezekció arra alkalmas általános állapotú, I-es vagy II-es stádiumú NSCLC-s betegek esetén jön szóba. Amennyiben lehet, minimálisan invazív módszert alkalmaznak, mint például a videó-asszisztált mellkasi műtét. A III-as stádiumú betegek esetén általában a kemoterápia és a sugárterápia az első választandó kezelés. A IV-es stádiumú daganatokban a multidiszciplináris kezelési lehetőségeket a tumor hisztológiája és a beteg állapota határozza meg, azonban sok esetben csak palliatív ellátásra van mód. A korai palliatív ellátás jelentősen javítja az életminőséget, csökkenti a depresszió előfordulását az újonnan diagnosztizált NSCLC-ben szenvedő betegeknél, és meghosszabbíthatja a túlélést [28].

2.1.4.1. Sugárterápia

A tüdőrák sugárterápiás technikáinak fejlődéséhez kulcsfontosságú volt a képalkotó vizsgálatok fejlődése, így például a négydimenziós CT és a PET beépítése a sugárterápiás kezelés tervezésébe [42, 43]. A sugárkezelés alkalmazása a daganatos betegség stádiumától és a beteg általános állapotától függ. Megkülönböztetünk külső és belső sugárterápiát. Utóbbi a brachyterápia, mely során a tünetek enyhítésére a légutakban lévő

daganatok összezsugorítására kis mennyiségű radioaktív anyagot helyeznek a tumorszövetbe vagy közvetlen környezetébe. A külső sugárterápiát gyakrabban alkalmazzák, mely lehet háromdimenziós konformális sugárkezelés, intenzitás modulált sugárkezelés, sztereotaktikus test sugárkezelés és sztereotaktikus sugársebészet [44]. A sztereotaktikus test besugárzást széles körben alkalmazzák NSCLC-s betegek esetén, mely lehetővé teszi a nagy dózisú sugárzás biztonságos célba juttatását. Korai stádiumú NSCLC-ben ezzel a kezeléssel 90%-os tumor kontroll érhető el [45]. A betegek progressziómentes és teljes túlélése hasonló értékeket mutat sztereotaktikus test besugárzás alkalmazásakor, mint a műtéti kezelésen átesett betegcsoportban [46]. A lokálisan előrehaladott NSCLC és SCLC esetében a kombinált kemo- és sugárterápia a standard kezelés [47].

2.1.4.2. Hagyományos kemoterápia

Tüdődaganat esetén kemoterápia alkalmazható a műtéti kezelés előtt (neoadjuváns), a műtétet követően (adjuváns) és sugárterápiával kombinálva. NSCLC kezelésére a következő szereket alkalmazzák leggyakrabban: cisplatin, carboplatin, paclitaxel, docetaxel, gemcitabine, vinorelbine, irinotecan, etoposide, vinblastine, pemetrexed. A leggyakrabban kombinált kemoterápiát adnak, mely két szerből áll, egyik tagja általában cisplatin vagy carboplatin [48].

A neoadjuváns kemoterápiát széles körben alkalmazzák tüdőcarcinomás betegek kezelésére. A műtét előtt alkalmazott szisztémás terápia előnye, hogy csökkentheti a tumor méretét, így kisebb a műtéti megterhelés, illetve jól követhető az adott daganat terápiás válasza az alkalmazott kemoterápiára, ami segítheti a további terápiás terv felállítását. Azonban a neoadjuváns terápia ellen szól, hogy így a műtéti beavatkozás eltolódik, ami növelheti az áttétek kialakulásának esélyét. További problémát jelenthet, ha a daganat olyan kisméretűvé válik, hogy a műtét során nem lehet azonosítani, ezzel megnehezítve a maradvány tumorszövet eltávolítását, illetve bekövetkezhet a terápia rezisztens tumorsejtek szelekciója is, így a későbbi adjuváns kemoterápia hatástalan lehet [49].

2.1.4.3. Célzott terápia

A célzott terápia a daganatokban megjelenő genetikai változások és a következményes jelátviteli útvonalakban létrejövő változások felfedezésén alapul. A célzott terápiás szerek jelentősen hozzájárultak a tüdődaganatos betegek túlélésének növeléséhez. Az elmúlt években óriási erőfeszítések történnek a potenciálisan terápiás célpontként szolgáló molekuláris változások azonosítására [24]. A **4. táblázat** a leggyakoribb mutációkat célzó szerek adatait foglalja össze.

EGFR mutáció esetén 55-78%-os valászarány és szignifikánsan hosszabb progresszió mentes túlélés (PFS) érhető el a célzott tirozin kináz gátló kezeléssel (gefitinib, erlotinib, afatinib) [50]. Azonban számos beteg esetén alakul ki rezisztencia ezekkel a szerekkel szemben és a betegség rövid időn belül relabál. Ennek hátterében újabb mutációk megjelenése, mint például az *EGFR* kinázt kódoló szakasz 20-as exonjának mutációja, a *MET* onkogén amplifikációja vagy a foszfatidilinozitol 3-kináz (*PI3K*) gén mutációja állhat [51].

ALK fúzióval rendelkező tüdő adenocarcinomás betegek 57-74%-a reagál jól az ALK gátló crizotinib terápiára. Szignifikánsan jobb válaszarány és PFS mutatható ki a hagyományos kemoterápiákhoz képest [52]. Azonban ezen betegek körében is gyakori a rezisztencia kialakulása egy másodlagos mutáció következtében [53, 54]. Jelenleg több klinikai tanulmány is vizsgál második generációs ALK gátló szereket [55].

Habár még nem rendelkezünk célzott terápiával *KRAS* mutáns tüdődaganatok esetén, számos klinikai tanulmány zajlik annak érdekében, hogy megfelelő terápiás szert találjanak. Jänne *és mtsai* mind a válaszarány, mind a PFS javulásáról számoltak be a mitogén által aktivált protein kináz (MAPK) gátló selumetinib docetaxel kemoterápiával történő kombinációja esetén a monoterápiában adott docetaxel csoporthoz képest [56]. Dingemans *és mtsai* által közölt eredmények 50%-os betegségkontroll rátát igazolnak a RAS/RAF, ezáltal szintén a MAPK útvonalat gátló sorafenib alkalmazásakor KRAS mutáns III-as vagy IV-es stádiumú NSCLC-s betegeknél [26].

Előrehaladott, ROS1 átrendeződést mutató NSCLC-s betegek esetén klinikai tanulmányokban 80%-os válaszarány volt kimutatható crizotinib kezelést követően [57, 58].

HER2 mutáció esetén is rendelkezünk célzott terápiás lehetőségekkel, mint az afatinib és a trastuzumab, melyek alkalmazása HER2 mutáns tüdő ADC esetén is hatékony lehet [25].

4. táblázat. Tüdő ADC esetén a leggyakoribb mutációkat célzó terápiás lehetőségek

Gyógyszer	Célpont	Terápiás válasz (%)	PFS (hónap)
Erlotinib	EGFR (del 19, 21-es exon pm)	71	14
Gefitinib	EGFR (11 féle mutáció)	78	9,4
Crizotinib	EML4-ALK fúzió	74	10,9
Selumetinib + docetaxel	KRAS	37	5,3
Sorafenib	KRAS (12/13/61-es kodon)	10,5	2,3

ADC: adenocarcinoma; del: deléció; EGFR: epidermális növekedési faktor receptor; EML4-ALK: echinoderm microtubulus-asszociált fehérje 4 és anaplasztikus lymphoma kináz; KRAS: Kirsten patkány szarkóma vírus onkogén homológ; PFS: progresszió mentes túlélés; pm: pontmutáció

2.1.4.4. Immunterápia

A legújabb terápiás lehetőség tüdődaganatok esetén az immunterápia, melynek pontos típusait és azok alkalmazhatóságának feltételeit a 2.4-es fejezetben részletezem.

2.2. Központi idegrendszeri áttétek

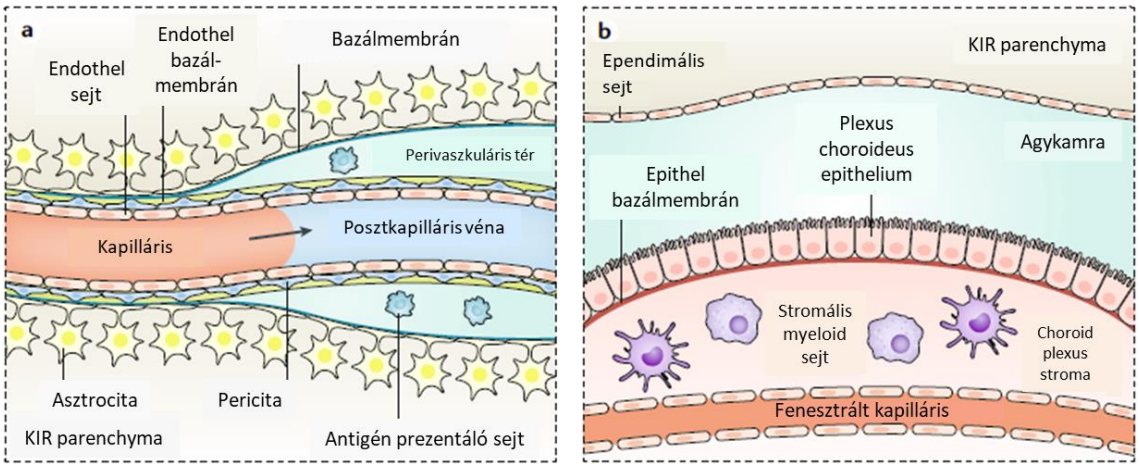
2.2.1. Epidemiológia

Az agyi áttét a leggyakoribb koponyaűri daganat típus, melynek 30-60%-a tüdő eredetű. Emellett gyakran alakul ki agyi áttét emlő daganat (13-30%), melanoma (6-11%) és vastagbél daganat (3-8%) esetén [59, 60]. Az agyi áttétek gyakorisága folyamatosan növekszik, köszönhetően a primer daganatok hatékonyabb terápiás lehetőségeinek, ezáltal a betegek hosszabb túlélésének, valamint az egyre részletgazdagabb képalkotó technikáknak [59, 61]. Az agyi áttétek kialakulásának kockázata előrehaladott primer daganat [62], illetve *ALK* mutációval rendelkező NSCLC-s betegek esetén nagyobb [63]. Tüdődaganatos betegeknél a primer tumor diagnózisától az agyi áttét kialakulásáig átlagosan eltelt idő 11 hónapra tehető [64]. Agyi áttét megjelenése esetén a betegek túlélése kedvezőtlen, körülbelül egy hónap, ami műtéti vagy sugárterápiás kezeléssel is csak 3-4 hónapra növelhető [60].

2.2.2. Patogenezis

Stephen Paget 1889-ben írta le „seed and soil", azaz „mag és talaj" elméletét, amely szerint az egyes primer daganatokból kialakuló áttétek lokalizációja nem véletlenszerű. Az egyes tumorsejtek („mag") meghatározott szervek („talaj") mikrokörnyezetére specifikus affinitással rendelkeznek. Tehát áttét csak akkor alakul ki, ha a „mag" megfelelő „talaj"-t talál [65]. A központi idegrendszer (KIR) védelmét és ezáltal mikrokörnyezetének állandóságát a vér-agy gát és a vér-liquor gát biztosítja (**4. ábra**). A vér-agy gátnak köszönhetően csak a kisméretű, töltés nélküli vegyületek diffundálhatnak át a KIR parenchymájába [66]. Egyre több bizonyíték támasztja alá, hogy agyi áttét kialakulásakor a vér-agy-gát integritása zavart szenved [67]. Az így fellépő permeabilitás változás a daganat környezetében csak egy bizonyos ideig áll fenn és ez a permeábilis időablak a tumor méretével párhuzamosan nő [68]. Ultrastrukturális vizsgálat során arra a következtetésre jutottak, hogy az agyi keringésbe eljutó tumorsejtek elpusztítják a kapillárisok endothel sejtjeit, így az agyi áttétek környezetében a kapillárisok endotheljének folytonossága sérül. Klinikai vizsgálatok során PET segítségével kimutatták, hogy az agyi áttétek környezetében megnövekszik a vérerek áteresztőképessége [67]. Az agyi áttétek kialakulásának hátterében számos jelút szerepét feltérképezték már [67]. Például a melanomák fokozott vaszkuláris endotheliális

növekedési faktor (VEGF) expressziója összefügg az agyi áttét progressziójával [69]. A VEGF gátlásával vastagbéldaganatos és tüdő adenocarcinomás betegeknél agyi áttét ritkábban alakult ki [70]. Az áttétek eredményes terápiája érdekében szükséges megismerni azokat a tumor mikrokörnyezeti tényezőket, amelyek a tumorsejt relatív érzékenységétől függetlenül korlátozzák a kezelések hatékonyságát [66].



4. ábra. A központi idegrendszer védő gátjai. *Achrol és mtsai (2019) munkája nyomán [66]*

a) A vér-agy gát a központi idegrendszer kapillárisai körül megtalálható, két bazálmembrán rétegből valamint a periciták és asztrociták nyúlványaiból álló rendszer.

b) A vér-liquor gát a plexus choroideus epithel sejtjeiből és bazálmembránjából épül fel, melyen keresztül a víz, a gázok és a lipid-oldékony anyagok szabadon jutnak át a vérből a cerebrospinalis folyadékba.

KIR: központi idegrendszer

2.2.2.1. Molekuláris eltérések

Az új-generációs génszekvenálás elterjedése lehetőséget adott az agyi áttétek klinikai szempontból releváns mutációinak azonosítására, mely vizsgálatok eredményeiből arra következtethetünk, hogy az áttétek nem kizárólag a primer daganatra jellemző főbb mutációkat hordozzák. Például az áttétekben megfigyelhetők a *CDKN2A* és a *PI3K* különböző mutációi, a *PTEN* elvesztése, az *ERBB2* amplifikációja és a proto-onkogén *KRAS* aktiváló mutációja, olyan esetekben is, amikor a primer tumorban ezek nem mutathatók ki. Ezen gének szerepet játszanak a sejtproliferációban, növekedésben és túlélésben [66]. Saunus *és mtsai*. különböző eredetű agyi áttéteket vizsgálva 26 olyan

génmutációt észleltek, melyek alapján úgy tűnik, hogy az agyi áttétek genetikai eltérései inkább egymáshoz hasonlóak, mint a primer tumorhoz [71]. Persze megfigyelhetők olyan molekuláris eltérések is melyek közösek a primer tumor és az agyi áttét között, mint például NSCLC esetén az *EGFR, KRAS* vagy *ALK* gént, emlődaganatok esetén a *HER-2* gént érintő mutációk [66, 67].

2.2.3. Klinikai vonatkozások és diagnosztika

Az agyi áttétek csaknem azonnal tünetet okoznak, köszönhetően a megnövekedett intracranialis nyomásnak. Az esetek felében fejfájás az első tünet, melyhez 15-25%-ban papilla oedema is társul. A betegek 40%-a neurológiai tünetekkel jelentkezik, 15-20%-ban epilepsziás rohamokkal. Nem ritka, hogy a korábban nem diagnosztizált, előrehaladott stádiumú daganatok első tünetei az agyi áttét következtében alakulnak ki. Általános szabály, hogy ismert daganatos betegeknél neurológiai tünetek megjelenésekor ki kell vizsgálni az agyi áttét jelenlétét. Az agyi elváltozások azonosítására fejlett neurológiai képalkotó technikák alkalmazhatók, de nem eléggé specifikusak a végleges diagnózishoz. A pontos diagnózis felállításához a sebészi rezekció során nyert szövetek hisztopatológiai vizsgálata szükséges [66].

2.2.3.1. Klinikai vizsgáló módszerek

Agyi áttét esetén az elsődleges képalkotó vizsgálómód az MR, kontrasztanyaggal vagy a nélkül. A kontrasztos MR vizsgálattal általában jól körülírt egyszeres vagy többszörös eltérés látható, gyűrű alakú halmozással és kifejezett tumor körüli oedemával [66]. A képalkotó vizsgálatok során primer agydaganatoktól és nem rosszindulatú eltérésektől, mint például tályog, fertőzés, demielinizáció, vaszkuláris lézió, kell elkülöníteni az agyi áttétet [72]. A primer tumor típusa befolyásolhatja az agyi áttétek megjelenését, például a tripla-negatív emlőrák agyi áttéte gyakrabban nekrotikus és cisztikus, mint más primer tumor esetén [73]. A diffúzió súlyozott MR vizsgálat segítheti a differenciál diagnosztikát [74, 75].

2.2.3.2. Patológiai vizsgálómódszerek

Szövettani diagnózis szügséges ismeretlen primer daganat, illetve ismert daganatos beteg atípusos megjelenésű agyi elváltozása esetén [76]. A műtéti minta szövettani vizsgálata

során HE festett metszeten azonosítható a minta neoplasztikus, illetve primer vagy metasztatikus jellege. További immunhisztokémiai markerek segíthetnek a tumorok részletes jellemzésében, melyek különösen hasznosak a rosszul differenciált vagy ismeretlen eredetű daganatoknál. Ismert primer tumor esetén elegendő az arra jellemző markerek vizsgálata, mivel ezek az áttéti mintákra is jellemzőek. Ismeretlen primer daganatoknál immunhisztokémiai markerek segíthetnek a primer daganat azonosításában, azonban ezek többnyire nem csak egy adott szervre specifikusak. Például TTF-1 pozitivitás tűdő vagy pajzsmirigy eredetre is utalhat [66, 76]. A diagnózis megalkotása mellett biomarker és molekuláris vizsgálatok elvégzése segítheti a terápiás javaslat felállítását [66]. A molekuláris eltérések vizsgálata agyi áttéteknél is a tüdődaganatoknál ismertetett módon történik.

2.2.4. Kezelés

2.2.4.1. Sebészi terápia

Idegsebészeti rezekció szükséges a szövettani diagnózis felállításához, illetve a molekuláris eltérések és terápiás biomarkerek azonosításához. Emellett a műtétnek köszönhetően csökken a megnövekedett intracraniális nyomás és az oedema. A minimálisan invazív stereotaxiás idegsebészeti beavatkozás lehetőséget teremt a kisméretű áttétek eltávolítására vagy, amikor a tumor eltávolítása nem lehetséges, a szövettani diagnózishoz szükséges mintavétel [66]. A műtéti eltávolítás azon betegeknél javasolt, akiknek a kontrollált primer daganatos betegsége mellett 3 vagy annál kevesebb operálható agyi áttéte van. Emellett a sebészi eltávolítás sugárterápiával való kombinálása javasolt [77, 78].

2.2.4.2. Sugárterápia

Az agyi áttétek esetén teljes agyi besugárzást (WBRT) vagy sztereotaxiás sugársebészetet (SRS) alkalmaznak. A WBRT a leggyakrabban alkalmazott kezelés az agyi áttétek esetében, különösen a többszörös áttétel rendelkező betegeknél. Az utóbbi években a sugárterápiában is a célzott technikák fejlődtek, ilyen például az SRS. Mivel egyre több információnk van a WBRT kognitív mellékhatásairól és azok súlyosságáról, az SRS előnyben részesített kezeléssé vált korlátozott számú, maximum 3 agyi áttét esetén. Az SRS lényegesen kevesebb kognitív diszfunkciót és fáradtságot okoz, azonban az újabb

agyi áttétek kialakulása gyakoribb a csak SRS terápiában részesült betegek körében. További vizsgálatokra van szükségünk annak eldöntésére, hogy az SRS terápia önmagában vagy WBRT-vel kombinálva nyújt-e nagyobb hatékonyságot [66].

2.2.4.3. Gyógyszeres terápia

Az agyi áttétek gyógyszeres kezelése során el kell különíteni a tüneti és a daganat ellenes kezelést [66]. A tüneti kezelés része az oedemát csökkentő szteroid terápia, a fájdalomcsillapítás, valamint az epilepsziás rohamok kialakulását megelőző gyógyszerek alkalmazása [66, 79]. A daganat ellenes gyógyszeres terápia lehet kemoterápia, célzott terápia vagy immunterápia [66].

2.2.4.4. Hagyományos kemoterápia

A hagyományos kemoterápiának korlátozott szerep jut az agyi áttétek kezelésében köszönhetően a vér-agy gát jelenlétének, ami megakadályozza ezen szerek eljutását a célterületre. Így az NSCLC kezelésére leggyakrabban használt cisplatin-pemetrexed, cisplatin-vinorelbin, paclitaxel-cisplatin és pemeterexed-cisplatin kombinációk mind csekély hatást érnek el [66].

2.2.4.5. Célzott terápia

Az NSCLC eredetű agyi áttétekben az *EGFR* vagy *KRAS* gén érintettsége gyakran azonosítható. Klinikai vizsgálatokkal igazolták, hogy a tirozin-kináz gátlók megfelelő mennyiségben jutnak el az agyi áttétekhez, 40-80%-os terápiás választ elérve (**5. táblázat** [66]), így ezek a daganatok célzott terápiára alkalmasak [66]. A gyakran használt HER2 ellenes trastuzumab korlátozottan jut át a vér-agy gáton [80]. Melanoma eredetű BRAF mutáns agyi áttétes betegeknél 20-38%-os válaszarányt értek el BRAF gátló vemurafenib és dabrafenib terápiával [81, 82].

5. táblázat. Célzott terápiás szerekhez kapcsolódó klinikai vizsgálatok eredményei agyi áttétes NSCLC-s betegek esetén

Gyógyszer	Célpont	Intracraniális válaszarány (%)	PFS (hónap)	OS (hónap)
Erlotinib	EGFR	86	4,6-8,1	6,1-13,4
Gefitinib	EGFR	27	3	5
Osimertinib	EGFR	80	18,9	18
Crizotinib	ALK	29-50	9,8-10,4	12
Alectinib	ALK	64-81	10,8-25,7	12
Brigatinib	EGFR és ALK	78	-	12

ALK: anaplasztikus lymphoma kináz; EGFR: epidermális növekedési faktor receptor; NSCLC: nem-kissejtes tüdőcarcinoma; OS: teljes túlélés; PFS: progresszió mentes túlélés

2.2.4.6. Immunterápia

Ma már agyi áttétes betegek is részesülhetnek immunterápiában, melynek pontos típusait és azok alkalmazhatóságának feltételeit a 2.4-es fejezetben részletezem.

2.3. Tumorellenes immunitás

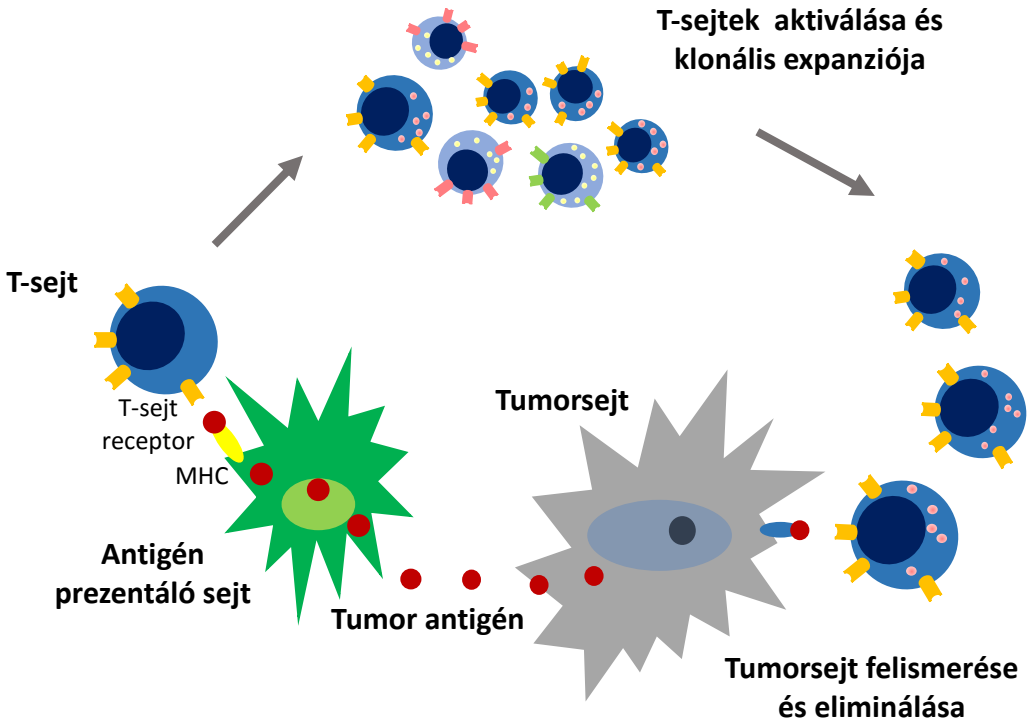
A szervezet testidegen molekulák, így például a kórokozók elleni védelmét tekintve megkülönböztetünk veleszületett és szerzett immunitást. A veleszületett immunitás sejtei és az általuk termelt fehérjék mindig jelen vannak és a fertőző kórokozók megjelenésekor azonnali immunválaszt indukálnak [83].

A külvilággal érintkező kompakt és folytonos védőhámok gátolják a mikrobák szervezetbe jutását, a veleszületett immunitás szereplői, a fagocita sejtek (főként neutrofilek és macrophagok), a dendritikus sejtek és a természetes ölő (NK) sejtek pedig első vonalban támadják a behatoló mikroorganizmusokat. A sejtes elemek mellett a komplement rendszer fehérjéi is a veleszületett immunitás részei. A kórokozók egy része ellenáll a veleszületett immunitásnak. Az ilyen fertőzések elleni védelemhez a szerzett immunitás speciálisabb és erősebb mechanizmusai szükségesek, melyek az adott kórokozó megjelenése utáni hetek során alakulnak ki. A szerzett immunitás végrehajtó sejtjei a lymphocyták, melyek az idegen molekulák széles skáláját, így a tumorsejteket is felismerik [83]. A daganatos betegség lefolyása során a tumorszövetben és környezetében változó mennyiségű és összetételű gyulladásos sejtes infiltrátum figyelhető meg [84]. A tumor kötőszövetes állományában, azaz a stromájában elhelyezkedő sejtek, mint például

az immunsejtek, fibroblasztok és endothel sejtek, mind a tumor mikrokörnyezetének részei, melyeknek szerepe lehet a tumorellenes immunitásban [85]. Kezdetben azt gondoltuk, hogy az immunsejtek mind a tumorsejtek eliminálása céljából vannak jelen, azonban a kutatások rámutattak arra, hogy néhány gyulladásos sejttípus a tumor növekedését és metasztatizálását támogatja [84]. Ma már tudjuk, hogy a CD8+ T-sejtek, a CD4+ 1-es típusú helper T-sejtek, az NK sejtek és az antigénprezentáló dendritikus sejtek a tumor ellenes immunvédekezés részei (**5. ábra**), míg a regulátor T-sejtek, az M2 típusú macrophagok, a myeloid eredetű szuppresszor sejtek és a CD4+ 2-es típusú helper T-sejtek a tumor növekedését segítik elő [85]. Ezek között kiemelkedő szerep jut a tumor asszociált, M2-es típusú macrophagoknak (TAM), melyek az angiogenezis és a kemorezisztencia szabályozásával közvetlenül, míg az egyéb immunfolyamatok gátlásával közvetve járulnak hozzá a tumor növekedéséhez és az immunrendszer kikerüléséhez [84]. A magas arányú TAM jelenléte rossz prognózissal társult pajzsmirigy, tüdő és hepatocelluláris carcinomákban [86].

Schreiber *és mtsai* szerint az immunrendszer három különböző fázisban lép kölcsönhatásba a daganattal: elimináció, egyensúly és menekülés. Az eliminációs fázisban mind a veleszületett, mind az adaptív immunitás az újonnan kialakult tumorsejtek elpusztítását célozza. A kevésbé immunogén tumorsejteket az immunrendszer sejtjei nem ismerik fel, ezáltal túlélhetnek és az egyensúly fázisába, úgynevezett „alvó" állapotba kerülhetnek. A menekülési fázisban a tumorsejtek különböző receptor-ligand kapcsolódások révén károsítják az immunsejteket [87].

Az aktivált T-sejtek az immun effektor funkciók elsődleges mediátorai. Ezek a sejtek számos gátló receptort expresszálnak, mint például a citotoxicus T-lymphocyta-asszociált antigén-4 (CTLA-4), a programozott sejthalál receptor-1 (PD-1) és a lymphocyta aktiváló gén-3 (LAG3). Ezeket immunellenőrzőpont molekuláknak nevezzük, mivel a saját fehérjékre, a krónikus fertőzésekre és a tumorantigénekre adott T-sejt válasz szabályozásában vesznek részt [88].



5. ábra. A tumor ellenes immunitás mechanizmusa.

A daganatsejteken expresszálódó neoantigéneket az antigén prezentáló sejtek fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) molekulához kötötten bemutatják a T-sejteknek. A T-sejt receptor által felismert antigén hatására a T-sejtek aktiválása és klonális expanziója zajlik. Az így érzékenyített lymphocyták felismerik és eliminálják a tumorsejteket.

2.4. Immunterápia napjainkban, kiemelve a nem-kissejtes tüdődaganatok esetén alkalmazható lehetőségeket

2.4.1. Adaptív T-sejt terápia

Az adaptív sejtterápiák az immunsejtek ex-vivo manipulációján alapulnak. Az immunsejteket a beteg perifériás véréből vagy közvetlenül a tumorból itolálják, majd tumorellenes aktivitásuk fokozását szolgáló kezelések után visszajuttatják a sejteket a beteg keringésébe [89].

2.4.1.1. T-sejt receptor terápia

A T-sejt receptor (TCR) terápia során a T-sejtek TCR α és β láncok expresszióját fokozzák, ezzel fokozva a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) függő antigén-

specifcitást. Néhány klinikai vizsgálatot végeztek ezzel a kezeléssel, azonban korlátozott hatékonyságúnak bizonyult és jelentős mellékhatásokkal járt a szervezet saját antigénjeinek felismerése és megsemmisítése miatt. További kutatások szükségesek a specifikus tumorantigének azonosítására, melyek egyáltalán nem vagy csak minimális szinten jelennek meg a normál szöveteken [89].

2.4.1.2. CAR T-sejt terápia

A kiméra antigén receptorral (CAR) ellátott T-sejt terápia során a kezelt sejtek MHC független módon, specifikusan ismerik fel az extracelluláris antigéneket. Számos kutatást követően a 4. generációs CAR T-sejtek már olyan génkezelt sejtek, melyek túlélést vagy citotoxikus előnyt biztosítanak a T-sejtek számára, vagy modulálják a tumor mikrokörnyezetét [89]. A 2. generációs, CD19-specifikus CAR T-sejt terápiát főleg hematológiai malignitások kezelésében alkalmazzák sikerrel [90]. A szolid daganatoknál a specifikus antigén hiánya és az immunszuppresszív tumor mikrokörnyezet jelenléte korlátozza a CAR T-sejt terápia sikerét [91].

2.4.1.3. Tumor infiltráló lymphocyta terápia

Ez a technika azon az elven alapul, hogy a tumor infiltráló lymphocyták (TIL) olyan lymphocyták, amelyek már felismerték a neoantigéneket, és immunválaszt indítottak be, de az immunszuppresszív tumor mikrokörnyezet megakadályozza, hogy hatékonyak legyenek [92]. A TIL-ek citokinekkel vagy más molekulákkal való *ex vivo* kezelése fokozza hatékonyságukat, és képesek lehetnek az immunszuppresszív tumor mikrokörnyezet leküzdésére. Ezt a terápiát azonban még csak melanomás betegeken tesztelik [89].

2.1.4.4. Dendritikus sejt terápia

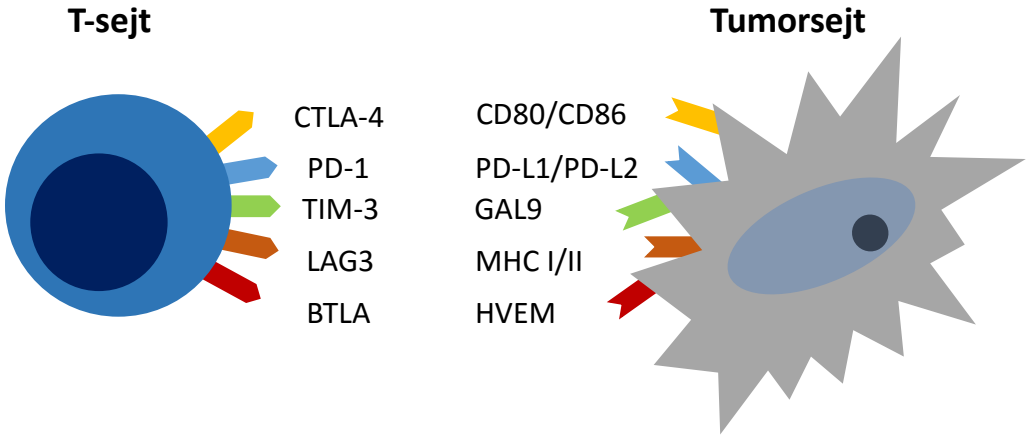
A dendritikus sejtek az egyik legfontosabb antigén prezentáló sejtek. A tumor eredetű neoantigének bemutatásával tumorellenes immunválaszt indíthatnak be. Ezen elvek alapján a dendritikus sejtek manipulációját is a daganatellenes terápiák egy lehetséges megközelítésének tekintették, azonban az eddigi eredmények ezt nem igazolták. A terápia hatástalanságának oka valószínűleg az lehet, hogy nem alakul ki tartós immunválasz [89, 93].

2.4.2. Tumorellenes vakcináció

Ismert, hogy bizonyos fertőzések, főként a virális eredetűek, szerepet játszhatnak a carcinogenezisben. Így például a papilloma vírus vagy a hepatitis B vírus elleni védőoltások közvetett rákellenes hatással bírnak, mivel megakadályozzák az olyan fertőzéseket, amelyek rosszindulatú daganatok, mint például a méhnyak laphámcarcinomája vagy hepatocellularis carcinoma kialakulásához vezethetnek [94]. Emellett direkt daganat ellenes hatással bíró oltóanyagok fejlesztésével is kísérleteznek, azonban ezen terápia hatásosságának fő akadálya szintén a specifikus tumor antigének azonosításának hiánya [93].

2.4.3. Immunellenőrzőpont-gátlás

Az immunellenőrzőpont receptorok olyan gátló szabályozók, melyek az immunválasz kialakulásába és a már meglévő immunreakció lezajlásába is beleszólhatnak. Krónikus gyulladás és tumoros folyamat során a T-sejtek kimerülnek és számos gátló receptort expresszálnak, amelyek korlátozzák hatékonyságukat. Ilyen például a PD-1, a CTLA-4, a LAG-3 és a T-sejt immunglobulin mucin-3 (TIM-3) [95]. Alapvetően a tüdődaganatok nem tartoznak az immunogén daganatok közé, azonban az immunellenőrzőpont-gátló szerek megjelenésével ezen daganatoknál is lehetségessé vált az immunterápia, hiszen ezek a szerek az egyén saját immunrendszerének támogatása révén hatnak [25]. A leggyakoribb immunellenőrzőpontokhoz kapcsolódó receptorokat és ligandjaikat a **6. ábra** mutatja be.



6. ábra. A T-sejteken megtalálható immunellenőrzőpontokat szabályozó receptorok és a tumorsejteken expresszálódó ligandjaik.
BTLA: B és T lymphocyta csillapító; CTLA-4: Citotoxicus T-lymphocyta-sszociált antigén-4; GAL9: Galectin 9; HVEM: Herpesvirus entry mediator; LAG3: Lymphocyta aktiváló gén-3; MHC: Fő hisztokompatibilitási komplex; PD-1: Programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: Programozott sejthalál ligand-1; TIM-3: T-sejt immunglobulin mucin-3

2.4.3.1. CTLA-4 gátlás

A CTLA-4 a T-sejteken és a tumorsejteken egyaránt expresszálódhat. Meggátolja a potenciálisan autoreaktív T-sejtek aktiválását a T-sejt aktiváció kezdeti szakaszában, a nyirokcsomókban. A CTLA-4 és ligandjainak (CD80/CD86) kötődése gátolja a T-sejtek proliferációját és túlélését, ezáltal immunszuppressziót okoz [95, 96]. A CTLA-4 gátló ipilimumab a receptor-ligand kötődését gátolja, mellyel a szervezet specifikus T-sejtei által mediált tumor ellenes immunitás működését támogatja [25]. Az ipilimumab NSCLC esetén önmagában nem bizonyult hatásosnak [97], azonban kemoterápiával kombinálva szignifikánsan javult a betegek progresszió mentes túlélése, a csak kemoterápiában részesülő betegcsoporthoz képest [98]. Jelenlegi ismereteink alapján nem rendelkezünk a CTLA-4 kezelés hatásosságát előrevetítő biomarkerrel [25].

2.4.3.2. PD-L1/PD-1 jelút gátlás

A PD-1 egy sejtfelszíni receptor, amelyet T- és B-sejtek, dendritikus sejtek és hízósejtek egyaránt expresszálhatnak [95]. A PD-1 expresszió a kimerült T-sejtek jellemzője [96]. A receptor ligandjai, a programozott sejthalál ligand-1 és 2 (PD-L1, PD-L2), az antigén

prezentáló sejteken és tumorsejteken expresszálódnak [95]. Az útvonal a korábban aktivált T-sejteket szabályozza az immunválasz későbbi szakaszaiban, elsősorban a perifériás szövetekben [96]. A receptor-ligand kapcsolódás következtében csökken a T-sejtek aktiválása, citokin termelése, anergia és apoptózis, ezáltal pedig immunszuppresszió jön létre [95, 99]. A PD-L1/PD-1 gátló szerek a receptor-ligand kötődésének gátlása révén fejtik ki immunrendszer támogató hatásukat. A PD-1 gátló nivolumab és pembrolizumab, valamint a PD-L1 gátló atezolizumab és durvalumab hatását vizsgáló klinikai tanulmányok során minden esetben kedvező terápiás hatás volt kimutatható NSCLC-s betegeknél [97]. Kezdetben ezeknek a gyógyszereknek a hatását biomarkerek nélkül és előre nem szelektált betegcsoportokon vizsgálták. Az esetek csaknem 20%-ában volt megfigyelhető tartós válasz, mind a PD-1 gátló nivolumab és pembrolizumab, mind a PD-L1 gátló atezolizumab alkalmazásakor [25]. A tudomány fejlődése során egyre jobban körvonalazódott, hogy a kezelés előtt a tumormintákban a tumorsejteken megfigyelhető PD-L1 expressziós szint alapján következtetni lehet a PD-L1/PD-1 gátló szerekre adott terápiás válaszra. Emellett a PD-L1 expresszió prognosztikus biomarkernek is bizonyult [100, 101]. A tumorsejtek PD-L1 expressziójának meghatározásához jelenleg a „tumor proportion score”-t (TPS) alkalmazzák, ami az élő tumorsejtek számához viszonyítja a PD-L1 pozitív tumorsejtek arányát. A legújabb törekvések a kombinált pozitív score (CPS) bevezetésére törekednek. Ennek során az élő tumorsejtek számához a PD-L1 pozitív sejtek számát viszonyítják, amely sejt lehet tumorsejt, lymphocyta és macrophag egyaránt [102]. Azonban ennek az értékelőrendszernek a bevezetése NSCLC esetén még várat magára.

Mivel még nem jött létre egy nemzetközileg elfogadott kritériumrendszer a PD-L1/PD-1 gátlók alkalmazhatóságáról, találhatunk a fentiekkel ellentmondásos eredményeket is [103]. A vizsgálatok eredményeiben látható eltérések oka lehet a PD-L1 expresszió értékelésében, a detektálási módszerben, az immunhisztokémiai vizsgálathoz alkalmazott antitestben és a határértékekben megfigyelhető különbség, valamint az adott tumormintában megfigyelhető nem egységes PD-L1 expresszió [25]. Az amerikai Food and Drug Administration (FDA) által NSCLC esetén elfogadott immunellenőrzőpont-gátlók, valamint azok alkalmazhatóságának kezdeti feltételei a **6. táblázat**ban láthatók. Az engedélyezéssel egyidőben meghatározták az egyes szereknél a PD-L1 expresszió meghatározásához elfogadott antitesteket (**6. táblázat**) [104-109].

6. táblázat. Az amerikai Food and Drug Administration (FDA) által NSCLC kezelésére elfogadott immun-ellenőrzőpont gátlók és azok kezdeti alkalmazásának feltételei

Hatóanyag	**Nivolumab**	**Pembrolizumab**	**Atezolizumab**	**Durvalumab**
Célpont	PD-1	PD-1	PD-L1	PD-L1
FDA elfogadás	2015	2015	2016	2018
Alkalmazhatóság	előrehaladott NSCLC másodvonal	elsővonal; áttétes NSCLC másodvonal	áttétes NSCLC másodvonal	rezekálhatatlan, III-as stádiumú NSCLC
PD-L1 antitest	28-8 (Dako)	22C3 (Dako)	SP142 (Roche)	SP263 (Roche)
Vizsgálandó sejt	tumorsejtek	tumorsejtek	tumorsejtek	tumorsejtek
Határérték (PD-L1)	≥1%	elsővonal ≥50%; másodvonal ≥1%	≥50%	≥25%

NSCLC: nem-kissejtes tüdőcarcinoma; PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1

Kezdetben az agyi áttét megléte sok esetben kizáró tényező volt a klinikai vizsgálatok betegválogatásánál [110, 111], azonban egyre több tanulmány vizsgál agyi áttétet adó NSCLC-s betegcsoportokat [61, 112-114]. Ismereteink bővülésével az indikációs kör is egyre szélesebb lesz. Az első engedélyezések óta például 2016-ban a pembrolizumabot engedélyezték olyan áttétes NSCLC-ben szenvedő betegeknél, akiknél nem mutatható ki a primer tumor *EGFR* vagy *ALK* mutációja és a tumorsejtek PD-L1 expressziója meghaladja az 50%-ot [115]. 2017-től pedig már elsővonalban is alkalmazható pembrolizumab terápia pemetrexed vagy carboplatin kemoterápiával kombinálva áttétes, nem laphámsejtes NSCLC-s betegek esetén, PD-L1 expressziós szinttől függetlenül [116]. Áttétes laphámcarcinomás NSCLC-s betegek 2018 novemberétől részesülhetnek elsővonalban pembrolizumab terápiában kemoterápiával kombinálva, PD-L1 expressziós szinttől függetlenül [117]. Szintén 2018 év végén kapott engedélyt az atezolizumab bavecizumabbal vagy kemoterápiával (paclitaxel, carboplatin) való kombinációja első vonalbeli terápiaként, *EGFR* vagy *ALK* mutáció nélküli, nem laphámsejtes NSCLC-s betegeknél [118].

Ugyanakkor a TIL-ek jelenléte és PD-L1 expressziója szintén fontos lehet az immunellenőrzőpont-gátló szerekre adott terápiás válasz során, hiszen feltételezhető, hogy immunsejtek hiányában nem várható hatás [119]. Ezek alapján valószínűsíthető, hogy azoknál a betegeknél várható a legkedvezőbb terápiás hatás PD-L1/PD-1 gátló kezelés alkalmával, akik tumormintájában mind az immunsejtek jelenléte, mind PD-L1 expresszió megfigyelhető [120]. Míg a tumorsejtek PD-L1 expressziójának biomarkerként való alkalmazhatósága immunellenőrzőpont-gátló kezelések tekintetében megerősítést nyert a számos klinikai vizsgálatnak köszönhetően, az immunsejtek jelenlétének, valamint PD-L1 expressziójának szerepe a tumorokban kérdéses maradt. A CPS bevezetésével az immunsejtek PD-L1 expressziója is mérvadó lenne [102], azonban annak bizonyítására, hogy ez prediktív szereppel bír tüdődaganatok esetén, további vizsgálatokra van szükség.

A daganatok, főleg a melanoma és a tüdődaganatok genomjában számos szomatikus mutáció előfordulhat. Az így keletkező neoantigének jelenléte fokozza a szervezet tumor ellenes immunitását azáltal, hogy ezeket az antigéneket „idegennek" ismerik fel a T-sejtek és beszivárognak a tumor mikrokörnyezetébe. A DNS-szekvenálási technológia legújabb fejlesztései lehetővé teszik a teljes exom szekvenálását, a kódoló szakaszokra eső mutációk számának vagy a teljes mutációs terhelésnek (TMB) a meghatározását. Újabb kutatások a TMB immunterápiára gyakorolt prediktív szerepét vizsgálják melanoma és tüdődaganat esetén. A kezdeti eredmények alapján nivolumab, pembrolizumab és atezolizumab terápiával is kedvezőbb hatás várható magas TMB esetén. Ezek alapján a TMB potenciális biomarker lehet az ellenőrzőpont-gátló terápiák tekintetében, azonban ezen vizsgálatok kivitelezése jelenleg még elég költséges és nem rutinszerű [121].

2018-ban az FDA pembrolizumab terápia indikációjakor jóváhagyta a mikroszatellita instabilitás (MSI) biomarkerként való alkalmazását, mind gyermek, mind felnőttkori, MSI-vel rendelkező szolid daganatok esetén [122]. Ez az első olyan jóváhagyás, ami nem az érintett szerv alapján specifikálja a terápia alkalmazhatóságát [122], azonban ez a molekuláris eltérés a tüdő ADC-k kevesebb, mint 1%-ában mutatható ki [123].

Az immunellenőrzőpont-gátló szerek önálló alkalmazása mellett, egyre több klinikai tanulmány vizsgálja ezen szerek hatásosságát más onkoterápiákkal kombinálva. Egyes esetekben a különböző immunellenőrzőpont-gátlók együttes hatását is vizsgálják.

Ígéretesek az eredmények nivolumab és ipilimumab kombinálása esetén, habár még csak melanoma eredetű agyi áttétes esetekben vizsgálták [61]. Klinikai vizsgálatokban atezolizumab és pembrolizumab hagyományos kemoterápiás szerekkel való kombinálása során kedvezőbb teljes túlélés (OS) és PFS igazolódott NSCLC-s betegeknél [124]. Kezeletlen melanoma és NSCLC eredetű agyi áttétes betegeknél mind a pembrolizumab, mind az atezolizumab hatását vizsgálják a vaszkuláris endoteliális növekedési faktort gátló bevacizumabbal kombinálva [61]. Nivolumab és durvalumab EGFR tirozin kináz gátlókkal kombináltan alkalmazva súlyos mellékhatásokat eredményezett, így ez a kombináció nem terjedt el [125]. Keohane *és mtsai* agyi áttétet adó, cisplatin és pemetrexed rezisztens tüdődaganatos betegnél értek el kedvező hatást nivolumab és sztereotaxiás sugársebészet kombinálásával [126].

2.4.3.3. Egyéb ellenőrző pontok

A CTLA-4 és PD-1/PD-L1 gátlók elterjedésének ellenére további kutatások folynak más gátló receptorok felfedezésére és gátlására, hiszen számos daganat esetén nem értek el megfelelő terápiás hatást [127, 128].

A LAG3 az aktivált T-sejteken, az NK sejteken, a B sejteken és a dendritikus sejteken expresszálódik és MHC II-höz kötődve a T-sejtek negatív szabályozásában, ezáltal az autoimmunitásban van jelentős szerepe [127, 129]. Petefészek carcinoma esetén a LAG3 és a PD-1 [130], míg NSCLC esetén a LAG3 és PD-L1/PD-1 ko-expresszióját mutatták ki [131]. A LAG3 és a PD-1 együttes expressziója a TIL-eken a CD8+ T-sejtek csökkent funkciójával korrelál [129]. A LAG3 által szabályozott folyamatok nem pontosan ismertek, azonban klinikai vizsgálatokban, előrehaladott szolid daganatok, így NSCLC esetén is, a kombinált LAG3/PD-1 gátlás ígéretesnek mutatkozik [127, 132].

A TIM-3 gátló receptort az interferon-γ-t termelő T-sejtek, a FoxP3+ regulátor T sejtek, a macrophagok és a dendritikus sejtek expresszálják. NSCLC-s mintákban a CD8+ T-sejtek 30%-os, a regulátor T-sejtek 60%-os TIM-3 expresszióját írták le. A TIM-3 fokozott expressziója kedvezőtlen prognózissal társul [133]. A TIM-3 a daganat immunterápia egy újabb potenciális jelöltje. Preklinikai tanulmányokban kimutatták, hogy a TIM-3 in vivo blokkolása más ellenőrzőpont-gátlókkal fokozza a tumorellenes immunitást és gátolja a tumor növekedését [128, 134].

A B és T lymphocyta csillapító (BTLA) egy I-es típusú membrán glikoprotein, amelyet gátló receptorként azonosítottak. Szerkezetileg hasonlít a CTLA-4-hez és a PD-1-hez, főleg immunsejteken expresszálódik. Eddig hematológiai malignitásokban és melanomában írták le fokozott expresszióját, és úgy tűnik, hogy a daganat-specifikus T-sejt aktivitás károsodását okozza, különösen PD-1-gyel együtt expresszálódva [129].

2.5. T-sejt receptor

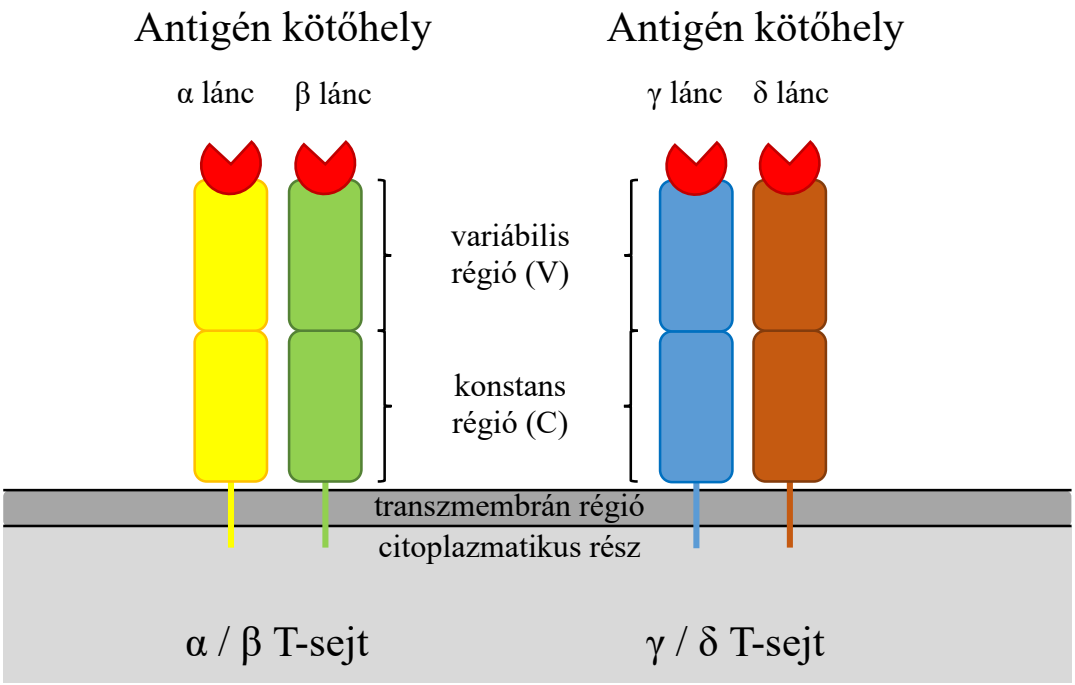
A T-sejtek meghatározó szerepet töltenek be az immunrendszer működésében. Felismerik és eltávolítják az „idegen" antigéneket, és az immunválaszt az immunrendszer számos más elemének szabályozásával irányítják [135]. A csontvelői progenitor sejtből származó korai T-sejtek a thymusba vándorolnak, ahol CD4/CD8 kettős pozitív sejtekből CD4 vagy CD8 pozitív sejtekké érnek [135, 136]. Emellett a TCR gének egyedi konfigurációra tesznek szert, annak érdekében, hogy egy adott antigénre specifikus extracelluláris receptorral rendelkező T-sejt klón jöjjön létre [137].

A TCR molekuláris viszgálata a modern patológiai diagnosztika része több okból is:

- hematológiai malignitásoknál igazolható a T-sejtes eredet
- hematológiai betegségeknél megerősítheti a malignitás gyanúját
- a minimális reziduális betegség vizsgálatára is alkalmas eszköz
- vizsgálható, hogy látszólag különálló két T-sejtes lymphoproliferatív betegség ugyanazon rosszindulatú klónból ered-e
- egyéb malignitások esetén is információt szolgáltat a T-sejtes infiltrátum klonalitásáról [137].

A TCR egy heteroduplex molekula, amely extracellulárisan helyezkedik el. Négyféle monomerje lehet, az α, β, γ és δ fehérjék. Ezek együttesen funkcionális TCR-eket alkotnak, amelyek α/β vagy γ/δ alegységekből állnak (**7. ábra**). A keringő T-sejtek túlnyomó többsége (> 95%) α/β típusú, míg a γ/δ T-sejtek látszólagos anatómiai specificitása feltételezhető. Az α -fehérjéket a T-sejt receptor alfa (TRA) lokusz, a β -fehérjéket a T-sejt receptor béta (TRB) lokusz, a γ -fehérjék a T-sejt receptor gamma (TRG) lokusz és a δ fehérjéket a T-sejt receptor delta (TRD) lokusz génjei kódolják. Az α/β típusú T-lymphocyták szintén tartalmaznak γ fehérjét, mely nem funkcionál, azonban

jelenléte lehetővé teszi a T-sejtek klonalitásának vizsgálatát. A TCR magas specificitású antigén felismerésre képes. Ezt a specificitást egy adott TCR-gén csíravonalban jelenlévő TCR-t kódoló régióinak száma és a TCR gén szomatikus átrendeződés utáni kapacitása biztosítja. Az antigénspecificitás régióját a variábilis régiók közül a CDR3 régió határozza meg. Ellentétben az immunglobulin receptorokkal, amelyek képesek felismerni önmagukban az antigéneket, a TCR-ek jellemzően MHC molekulához kötődve ismerik fel az antigéneket [137].



7. ábra. A T-sejt receptorok 2 típusa.
Az extracellulárisan elhelyezkedő T-sejt receptor α/β vagy γ/δ funkcionáló alegységekből épül fel.

Az első TCR klonalitás vizsgálatok gélelektroforézis és Southern-blot segítségével történtek. A közelmúltban a PCR-alapú vizsgálatok terjedtek el, mivel nem igényelnek olyan jó minőségű DNS-t és gyorsabbak, mint a Southern-blot alapú vizsgálatok. Emellett eléggé szenzitívek a klonális átrendeződés vizsgálatához [138]. A PCR-alapú TCR klonalitás vizsgálatok standardizálásához nemzetközileg elfogadott primereket vezettek be, melyeket BIOMED néven ismerünk [139]. Mivel a PCR-alapú technikák bizonyos méretkorlátozásokkal alkalmazhatók, a TRA lokusz a mérete miatt nem vizsgálható. A

TRB lokusz ugyan kisebb méretű, azonban ennek egészében történő vizsgálata is nehézkes. Így a BIOMED primerek csak a TRB lokusz egy részét fedik le. Ezért nem meglepő, hogy a TCR klonalitás vizsgálatok nagy része a TRB egy részletéről, valamint a sokkal kisebb és kondenzáltabb TRG lokuszról számolnak be. Mivel a TRD lokusz gyakran deletálódik a TCR gén átrendeződése során, a TRD lokusz vizsgálata sem terjedt el [137]. Azonban ezekkel a vizsgálatokkal sok álnegatív és álpozitív eredmény adódott, melynek hatására kidolgozták a BIOMED 2 protokollt, melynek alkalmazásával szinte az összes TCR célpont vizsgálhatóvá vált [140]. Az új- generációs szekvenálás lehetővé teszi a TCR átrendeződés szekvenciaszintű vizsgálatát, továbblépve ezáltal az assay alapú vizsgálatokon [137].

Egyre több bizonyítékkal rendelkezünk arról, hogy a TCR státusz potenciális biomarkerként szolgálhat mind a tumorellenes adaptív immunitás vizsgálatához, mind az immunellenőrzőpont-gátló kezelésre adott válasz előrejelzéséhez az egyes szolid daganatokban [141]. Azonban az eddigi vizsgálatok eredményei ellentmondásosak, hiszen mind a vizsgált TCR régió, mind a vizsgált szövet között találunk különbségeket az egyes tanulmányokban. Több tanulmány a tumor infiltráló lymphocyták TCR státuszára fókuszál [142, 143], míg mások a perifériás vérben található T-sejtek klonalitását vizsgálják [144]. Vannak azonban olyan kutatások is, melyekben a tumor mikrokörnyezetében és a perifériás vérben található T-sejtek diverzitását együttesen vizsgálják [145-147]. Méhnyak daganat esetén pedig kimutatták, hogy a tumormentes nyirokcsomókban található T-sejtek TCR diverzitása pozitív korrelációt mutat a betegek prognózisával [146].

3. Célkitűzések

227 tüdő ADC eredetű agyi áttétes beteg mintáját vizsgáltuk, 80 esetben a hozzájuk tartozó primer tüdő ADC mintákkal párban.

Céljaink:

- Feltérképezni a tumorsejtek PD-L1 expresszióját és annak összefüggéseit az egyes korábban alkalmazott terápiákkal, így a kemo-, sugár- és szteroid terápiával, valamint a betegek túlélésével.

- Meghatározni a tumor-asszociált gyulladásos sejtek eloszlását, mennyiségét, PD-L1 és PD-1 expresszióját, összevetve a tumorsejtek PD-L1 expressziójával, a korábban alkalmazott terápiákkal és a betegek túlélésével.

- Megvizsgálni a primer tüdő – agyi áttét párokban a TCR klonalitást.

4. Anyagok és módszerek

4.1. Beteganyag

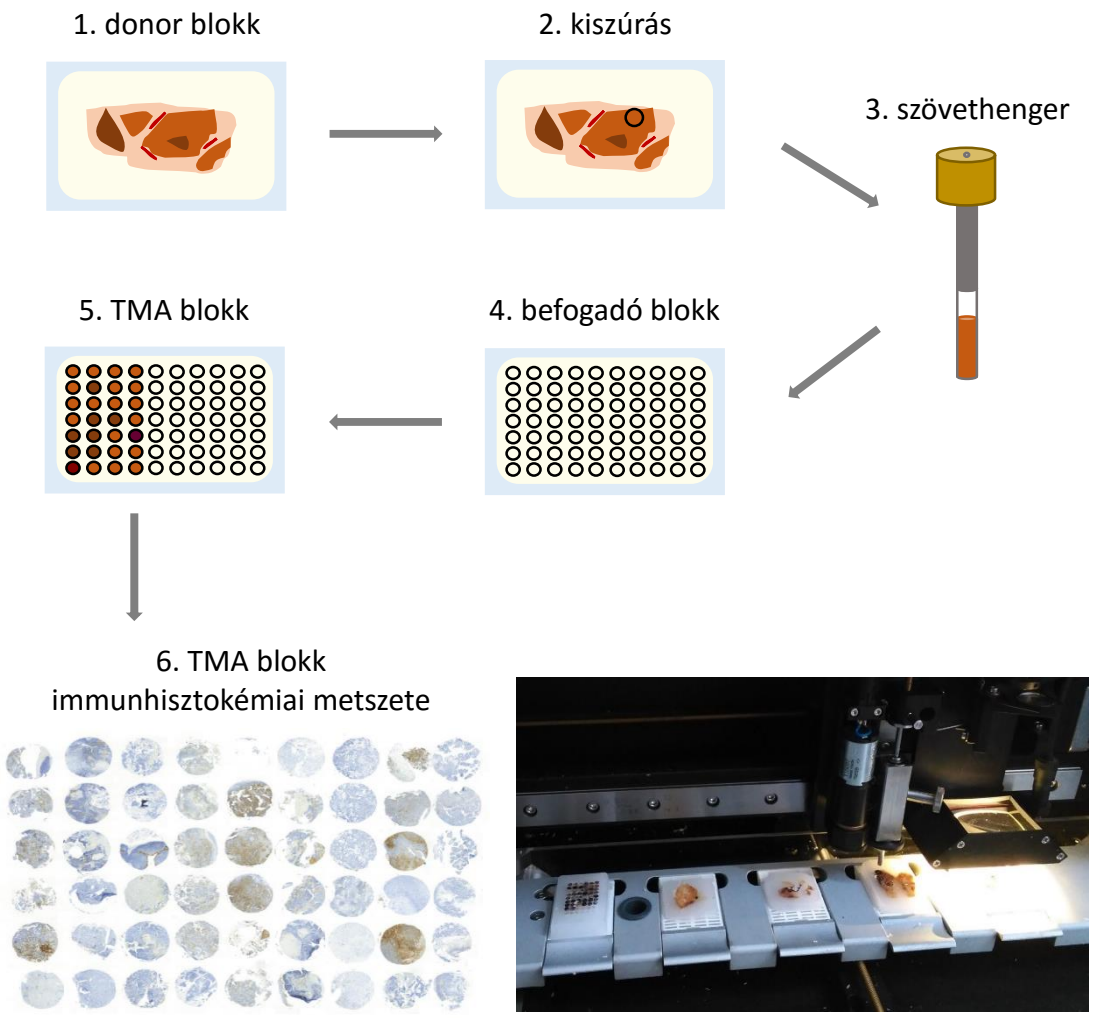
Kutatásunk során összesen 227 agyi áttétet adó tüdő ADC-ben szenvedő beteget vontunk be retrospektív vizsgálatunkba. Az agyi áttétek műtéti eltávolítása 211 esetben az Országos Klinikai Idegtudományi Intézetben (OKITI) történt, mely minták formalin-fixált, paraffinba ágyazott (FFPE) blokkjai a Semmelweis Egyetem, I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet archívumából álltak rendelkezésünkre. Közülük 61 esetben, a még műthető stádiumban felismert primer tüdőtumor esetén, az Országos Korányi Tbc és Pulmonológia Intézetben (OKTPI), míg 3 esetben a budapesti Bajcsy-Zsilinszky Kórházban történt sebészi kezelés. A primer tüdő ADC-k FFPE mintái az OKTPI Pathológia Osztályának, valamint a Bajcsy-Zsilinszky Kórház Patológiai Osztályának archívumából álltak rendelkezésünkre, mely összesen 64 mintát jelent. 16 esetben a Szegedi Tudományegyetem biztosította mind a primer tüdő ADC-k, mind az agyi áttétek FFPE mintáit. A primer tüdőtumorok besorolása a legújabb WHO-klasszifikáció szerint történt [3]. A betegek klinikai adatait az OKTPI, az OKITI és a Bajcsy-Zsilinszky Kórház betegnyilvántartó rendszeréből gyűjtöttük ki.

A mintákból 3 kohortot hoztunk létre. Az elsőben 208 agyi áttétet vizsgáltunk, elsősorban a mintákban található összefüggésekre koncentráltunk a klinikai és a túlélési adatokkal összevetve. A másodikban 61 primer tüdő ADC – agyi áttét párt elemeztünk és a párok között megfigyelhető összefüggésekre helyeztük a hangsúlyt, az egyes terápiák hatását is figyelembe véve. A harmadikban 19 primer tüdő ADC – agyi áttét pár esetén határoztuk meg a TCR profilt.

4.2. Szöveti multiblokk

Mind a primer, mind az áttéti tumormintákból szöveti multiblokkot (TMA) készítettünk a számítógép vezérelt automatizált TMA Master berendezéssel (3D HISTECH Kft, Budapest, Magyarország) (**8. ábra**). A reprezentatív területeket HE festett metszeteken jelöltük ki, melyeket re-lokalizáltunk a TMA készítés során az FFPE donor blokkokon. A mintákból 3, egyenként 2 milliméter átmérőjű reprezentatív szövethengert („core”) helyeztünk át a befogadó blokkba. A tüdő ADC mintákból 3 darab 70 és 3 darab 54 mintás, míg az agyi áttétekből 3 darab 70 és 9 darab 54 mintás TMA készült. Az

immunhisztokémiai vizsgálatokhoz kontroll szövetként normál máj, tonsilla, placenta és vese mintákból helyeztünk el 1-1 core-t minden TMA blokkban. Az elkészült TMA blokkokból 3 µm vastagságú metszetek készültek adhéziós szilánnal bevont felszínű SuperFrost Ultra Plus tárgylemezekre.



8. ábra. A TMA készítés sematikus bemutatása.

A donor blokkok kijelölt területéről a 2 mm átmérőjű szövethengereket számítógép vezérelt TMA készítő berendezéssel helyeztük át a recipiens blokkba. Az egyes helyekhez tartozó adatok bevitele után a számítógép által automatikusan készített xls formátumú adatbázisból könnyen visszakereshető, hogy melyik minta pontosan hol található egy adott TMA blokkon belül, illetve az elkészült HE festett és immunhisztokémiai metszeteken.

4.3. Hisztológiai vizsgálatok

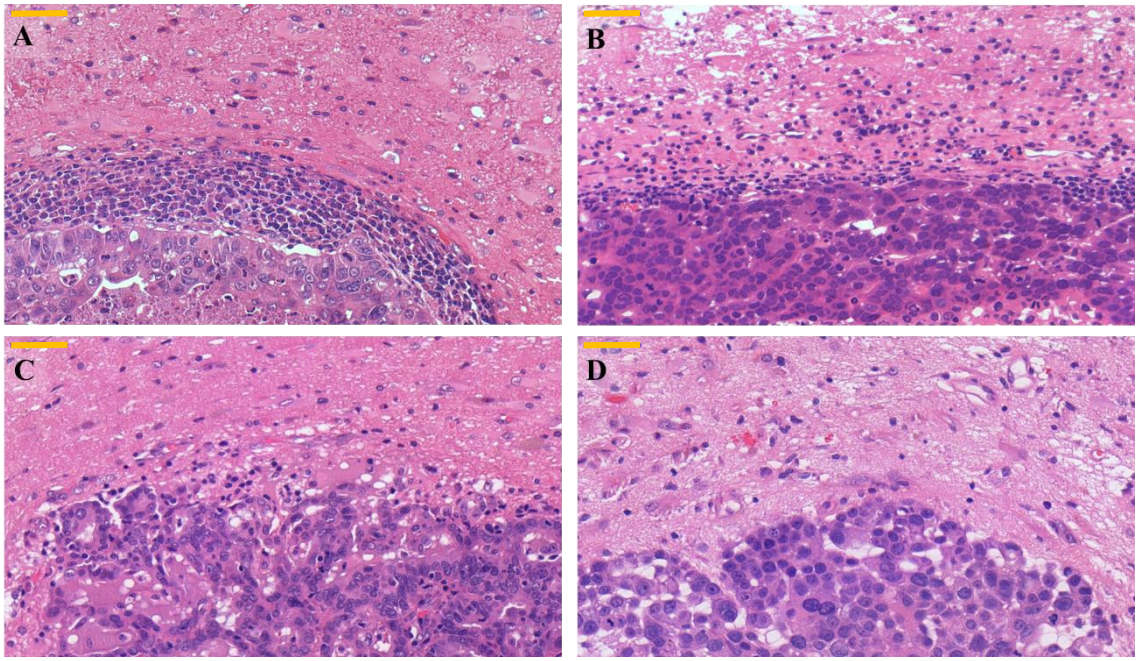
4.3.1. Peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció

A primer tüdő és agyi áttét minták HE festett metszetein meghatároztuk, hogy a tumorszövet körül a parenchymában jelen van-e mononukleáris sejtekből álló infiltrátum, azaz mononukleáris gyűrű.

Két kategóriát hoztunk létre:

a) jelen van mononukleáris gyűrű, azokban az esetekben, ha a daganatszövet körül kevés vagy masszív mononukleáris sejtes infiltráció megfigyelhető (**9. A** és **B ábra**),

b) nincs jelen mononukleáris gyűrű, azokban az esetekben, amikor a daganatszövet – parenchyma határon egyáltalán nem, vagy csak elszórva látható néhány immunsejt (**9. C** és **D ábra**).

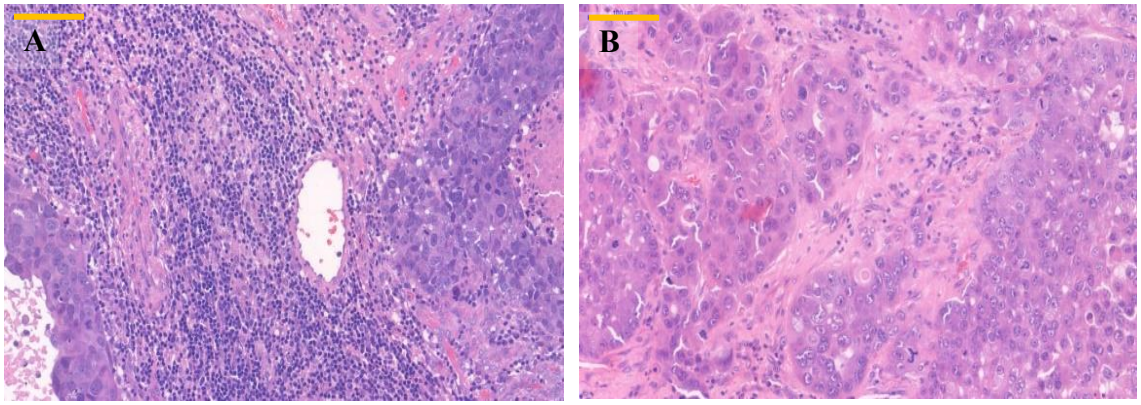


9. ábra. Peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció.

Tüdő adenocarcinoma agyi áttéte kifejezett (A) és részleges mononukleáris gyűrűvel (B), valamint a daganatszövet – agyparenchyma határon csak néhány mononukleáris sejttel (C) és mononukleáris sejtes infiltráció nélkül (D). HE, 400x nagyítás; méretarány 50 μm.

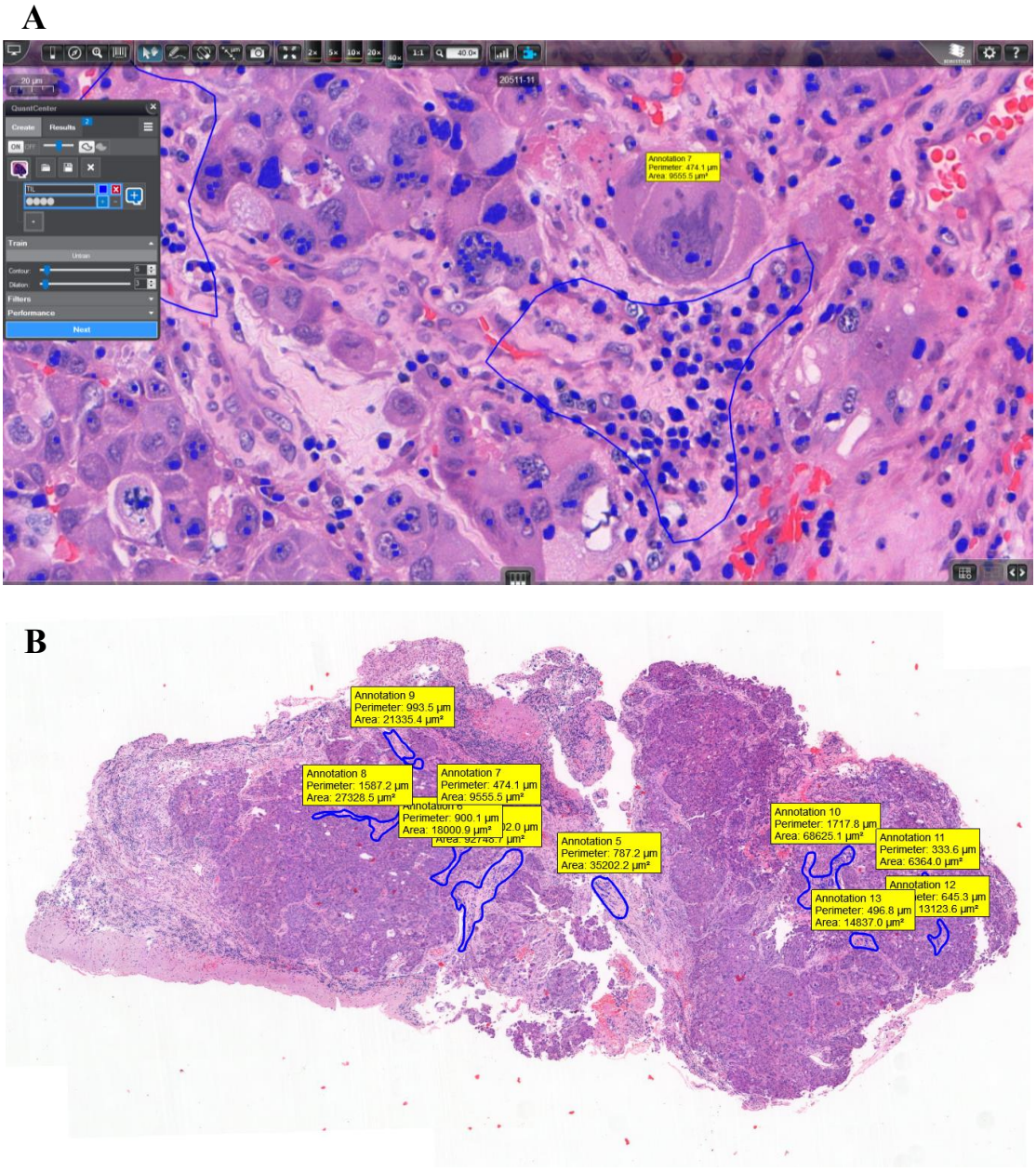
4.3.2. Intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció

A tumorminták kötőszövetes állományában, azaz a stromájában megfigyelhető mononukleáris sejtek mennyiségét is meghatároztuk, az egyes minták HE festett metszetein. Ennek során a lymphocyták, macrophagok és plazmasejtek jelenlétét egyaránt figyelembe vettük. Két csoportot hoztunk létre az alapján, hogy a tumor stromának több (**10. A ábra**) vagy kevesebb (**10. B ábra**), mint 20%-ában figyelhetők meg gyulladásos sejtek.



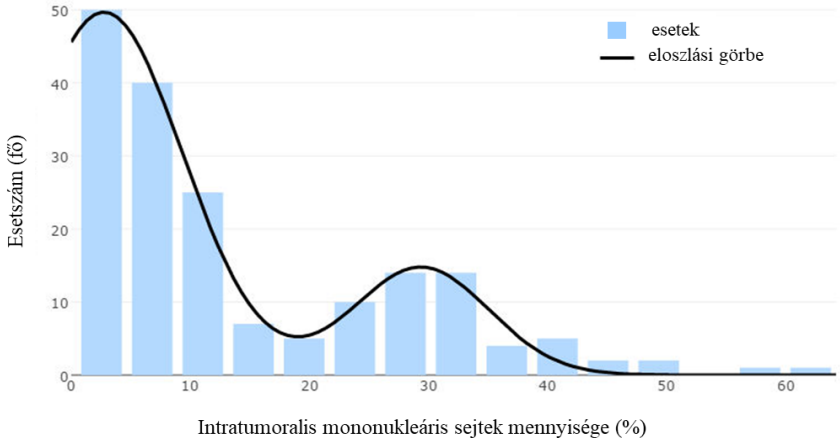
10. ábra. Intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció.
Tüdő adenocarcinoma eredetű agyi áttéti minta >20%-os (A) és ≤20%-os (B) intratumoralis mononukleáris sejtes infiltrációval. HE, 200x nagyítás, méretarány 100µm.

Az intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció meghatározásakor nem beszélhetünk általánosan elfogadott, klinikailag releváns határértékről tüdő ADC esetén. A 20%-os határérték Tian *és mtsai* munkáján alapult, akik tripla-negatív emlőcarcinomákat vizsgálva határozták meg ezt az értéket [148]. Ezen határérték tüdő ADC-k esetén történő alkalmazhatósága érdekében a tumor stromában jelen lévő mononukleáris sejtek mennyiségét 179 tüdő ADC agyi áttét mintában digitális méréssel határoztuk meg, a CaseViewer szoftver QuantCenter modulját használva (**11. ábra**), majd a metszeteket Pannoramic 250 Flash szkennerrel digitalizáltuk (mindkettő 3DHISTECH Kft, Budapest, Magyarország). A mérés során a **12. ábrá**n látható görbét kaptuk, amely jól mutatja, hogy a 20%-os határérték esetünkben is jól alkalmazható.



11. ábra. A tumor stromában jelen lévő mononukleáris sejtek mennyiségének meghatározása digitális módszerrel.

Digitalizát metszeteken a CaseViewer szoftver QuantCenter moduljával a tumor stroma reprezentatív részeit jelöltük ki, majd a Pattern Quant modullal megtanítottuk a programnak az immunsejtek felismerését. A) A beállítási folyamat végeredménye, 400x nagyítás. B) A program automatikusan leszámolta a kijelölt területek méretét és az ott található immunsejtek számát, és megadta a tumor stromát infiltráló immunsejtek területre vetített %-os arányát.



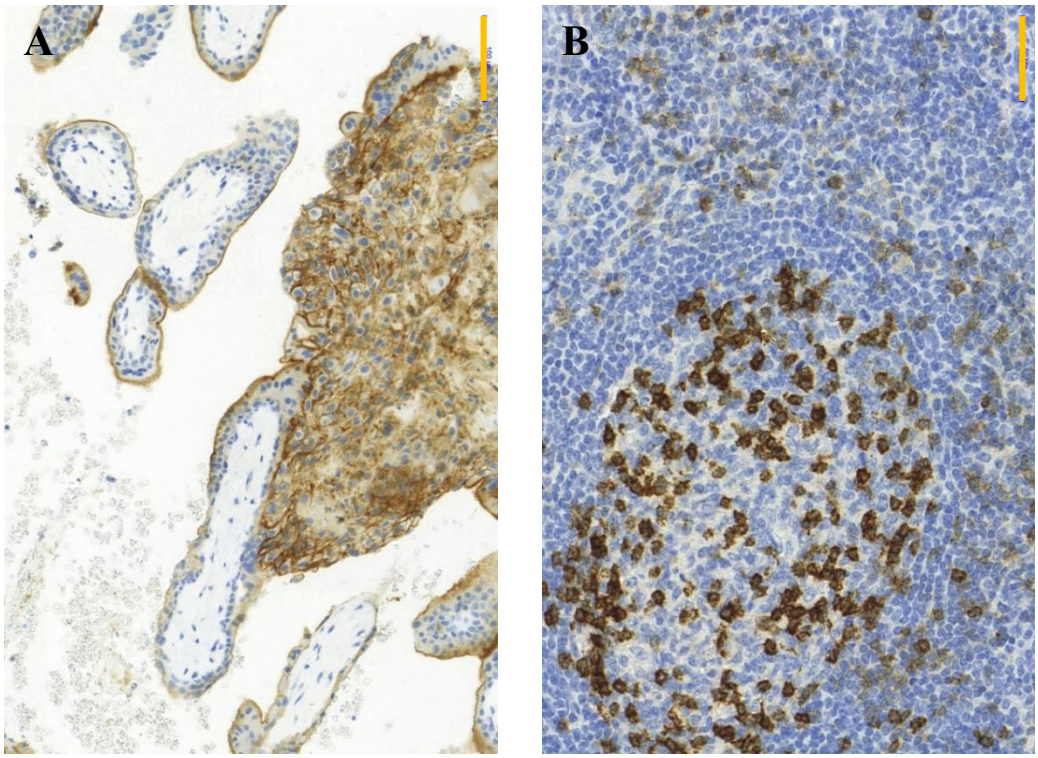
12. ábra. Az intratumoralis mononukleáris sejtek mennyiségének eloszlása.
A grafikonon látható a 179 mintában lemért stromális mononukleáris sejtek mennyisége. Az oszlopokra illesztett eloszlási görbe kétcsúcsú eloszlást mutat, melynek minimuma 20% körül mutatkozik. Ezen mérés kellő bizonyítékul szolgál arra, hogy a 20%-os határértéket alkalmazva soroljuk a betegeket sok vagy kevés intratumorlais mononukleáris sejtes infiltrációval bíró csoportokba.

A digitális mérésre nem alkalmas (a HE festés nem volt eléggé kontrasztos ahhoz, hogy a program megfelelően el tudja különíteni a sejteket) agyi áttét minták, valamint az egyszerűbb kivitelezhetőség miatt a primer tüdő ADC minták esetében ezt a paramétert szemikvantitatív módon, fénymikroszkóp segítségével határoztuk meg.

4.4. Immunhisztokémiai vizsgálatok

Az immunreakciókat a TMA blokkok 3 µm vastagságú metszetein végeztük el az előírásoknak megfelelő lépéseket követve Leica Bond-Max automatával (Leica Biosystems, Wetzlar, Németország). A főbb lépések a deparaffinálást és a szövetek fixálását követően az antigén feltárás és peroxidáz blokkolás. Az antitestekkel 30 perces inkubálás történt szobahőn, majd a post primer antitest került a metszetekre. Az immunreakciókat a Bond polymer Refine Detection kit-tel (DS9800, Leica Biosystems, Wetzlar, Németország) hívtuk elő. Végül a sejtmagok festésére hematoxilint használtunk. A PD-L1 festéshez SP142-es klónt (higítás 1:100; Spring Bioscience, Ventana; Oro Valley, Arizona, Egyesült Államok), kontroll szövetként placentát használtunk (**13. A**

ábra). A PD-1 festéshez ab52587 antitestet (higítás 1:100; Abcam, Cambridge, Egyesült Királyság), kontroll szövetként tonsillát alkalmaztunk (**13. B ábra**).

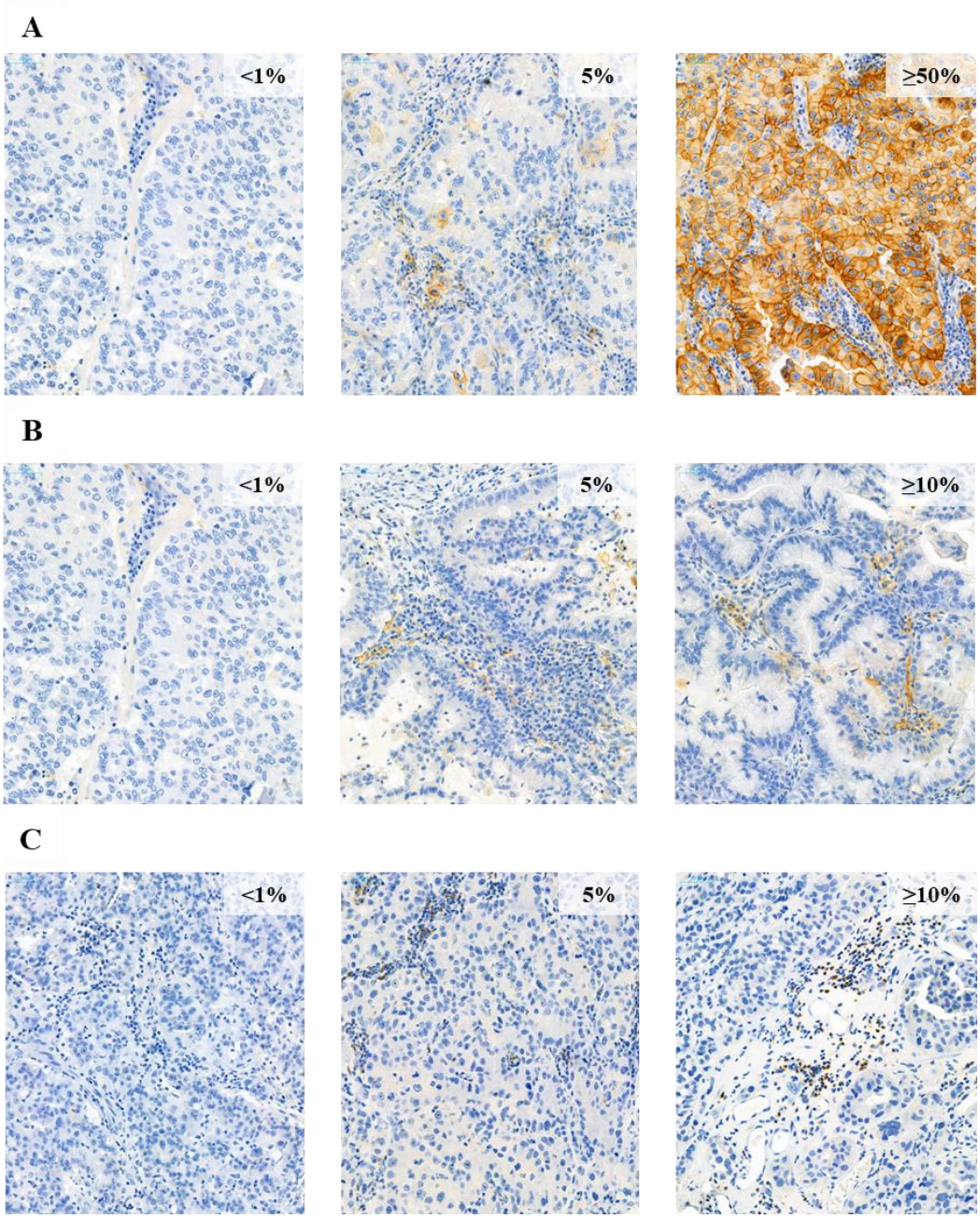


13. ábra. Az immunhisztokémiai vizsgálatokhoz alkalmazott kontroll szövetek.
A) PD-L1 immunreakció, placenta, 200x nagyítás, méretarány 100µm.
B) PD-1 immunreakció, tonsilla, 400x nagyítás, méretarány 50µm.

4.5. A PD-1 és PD-L1 reakciók kiértékelése

Az elkészült metszeteken a tumorsejtek PD-L1 pozitivitását, valamint az immunsejtek PD-L1 és PD-1 pozitivitását vizsgáltuk. Az immunsejtek vizsgálatakor a lymphocyták, plazma sejtek és macrophagok expresszióját is figyelembe vettük. A pozitív sejtek százalékos mennyiségét szemi-kvantitatív módon határoztuk meg.

A tumorsejtek esetén 1%, 5% és 50%-os határértékeket, míg az immunsejteknél 1%, 5% és 10%-os határértékeket határoztunk meg (**14. ábra**). A határértékeket a klinikai és kísérletes tanulmányokban alkalmazott határértékek alapján határoztuk meg [149-152]. Az így kapott adatokból létrehoztunk egy kombinált értéket a POPLAR-tanulmányt követve [153, 154]. Ennek megfelelően a tumor- és immunsejtek PD-L1 expressziója alapján 4 csoportba soroltuk az eseteket: „nem expresszáló”, „alacsonyan expresszáló”, „közepesen expresszáló” és „magasan expresszáló” (**7. táblázat**).



14. ábra. A PD-L1 és PD-1 fehérje expressziók bemutatása.

A tumorsejtek PD-L1 expressziójának meghatározásakor alkalmazott határértékeknek megfelelő immunhisztokémiai reakciók reprezentatív részletei (A). Az immunsejtek PD-L1 (B) és PD-1 (C) expressziójának meghatározása során alkalmazott határértékeknek megfelelő immunhisztokémiai metszetek reprezentatív részletei.

7. táblázat. A POPLAR tanulmány alapján a PD-L1 expresszió meghatározásához létrehozott kombinált értékek

PD-L1 tumorsejtek		**PD-L1 immunsejtek**	
Érték	*Pozitív sejtek aránya*	*Érték*	*Pozitív sejtek aránya*
TS3	≥50%	IS3	≥10%
TS2	≥5% és <50%	IS2	≥5% és <10%
TS1	≥1% és <5%	IS1	≥1% és <5%
TS0	<1%	IS0	<1%
Kombinált értékek			
TS3 vagy IS3		magasan expresszáló	
TS2/3 vagy IS2/3		közepesen expresszáló	
TS1/2/3 vagy IS1/2/3		alacsonyan expresszáló	
TS0 és IS0		nem expresszáló	

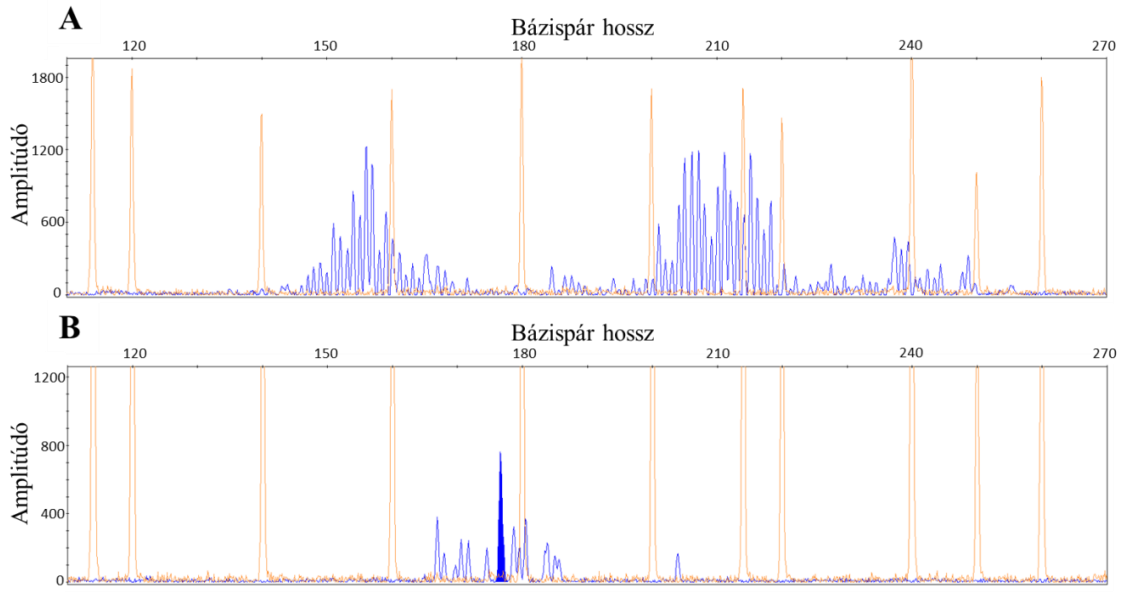
IS: immunsejt; PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1; TS: tumorsejt

4.6. T-sejt receptor meghatározás

A lemetszett FFPE mintákból DNS izolálást végeztünk Qiagen QIAamp FFPE szöveti kit-tel (Qiagen, Hilden, Németország). A deparaffinálás után ATL puffer és proteináz K hozzáadásával emésztettük a szöveteket 2 órán keresztül 56 °C-on, majd 1 órán keresztül 90 °C-on. Az emésztést követően AL puffer és etanol hozzáadása után QIAamp MinElute oszlopon AW1 és AW2 mosópufferrel tisztítottuk a DNS-t. Végső lépésként 50µl ATE eluáló puffer alkalmazásával eluáltuk az izolált DNS-t, amit koncentráció meghatározást követően, további felhasználásig 4°C-on tároltunk.

A mintákból izolált DNS-ből a TCR klonalitásának vizsgálatához a nemzetközileg elfogadott primerpárok alkalmazásával (**8. táblázat**) (Integrated DNA Technologies Coralville, Iowa, Egyesült Államok), a BioMed2 nemzetközi ajánlása szerint [139, 140] végeztünk fragmenthossz-analízist a TRG lokuszra fókuszálva. Ennek első lépéseként a primerek 10x-es higítása után multiplex-PCR történt a vizsgálni kívánt DNS szakasz enzimatikus amplifikációja érdekében (ProFlex PCR System, Life Technologies, Carlsbad, Kalifornia, Egyesült Államok). A képződött termékeket ABI3500 Genetic Analyzer segítségével detektáltuk (Life Technologies, Carlsbad, Kalifornia, Egyesült

Államok). Az analízist GeneMapper Sotware 5-tel (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, Egyesült Államok) végeztük. Az elektroferogramok elemzése során monoklonálisnak tekintettük azt a mintát, melyben a legnagyobb csúcs amplitúdója legalább az azt követő csúcs amplitúdójának duplája volt. Poliklonális a minta több detektálható csúcs esetén, melyek közül nincs kiemelkedő, hanem Gauss görbe szerinti eloszlást mutatnak (**15. ábra**). Minden esetben egy pozitív (monoklonális) és egy negatív (poliklonális) kontrollt is vizsgáltunk az eredmények megerősítésére.



15. ábra. T-sejt receptor fragmenthossz-analízisésen elektroferogramjai.

A) Poliklonális mintára jellemző elektroferogram. B) Monoklonális mintára jellemző elektroferogram. Az elektroferogramokon a narancssárga csúcsok a standard méretek jelzését szolgálják.

8. táblázat. A polimeráz láncreakció elvégzéséhez szükséges komponensek, valamint az egyes komponensek reakcióhoz szükséges mennyisége

PCR mix (A cső)		**PCR mix (B cső)**	
Komponens	*Mennyiség/ minta*	*Komponens*	*Mennyiség/ minta*
AmpliTaq Gold Master Mix	25µl	AmpliTaq Gold Master Mix	25µl
Primer – VG1f	1µl	Primer – VG9	1µl
Primer – VG10	1µl	Primer – VG11	1µl
Primer – JG1.1/2.1	1µl	Primer – JG1.1/2.1	1µl
Primer – JG1.3/2.3	1µl	Primer – JG1.3/2.3	1µl
DNS	21µl	DNS	21µl

PCR: polimeráz láncreakció

4.7. Statisztikai analízis

4.7.1. 208 agyi áttét esetet tartalmazó kohort

A kategórikus változók Pearson khi-négyzet próbával kerültek összehasonlításra, mely során a Pearson R érték mutatta meg a paraméterek közötti összefüggés mértékét. A túlélési analízist az OS, az agyi áttét műtététől számított túlélés, a PFS, valamint az agyi áttét kialakulásáig eltelt idő (TTBM) esetén is elvégeztük.

Annak érdekében, hogy klinikailag még egységesebb betegcsoportokat vizsgáljunk, 4 alcsoportot hoztunk létre a primer tumor kezelése és az agyi áttét szoliter vagy multiplex megjelenése alapján: (1) a primer tumor műtéti kezelése és szoliter agyi áttét (51 fő), (2) a primer tumor műtéti kezelése és multiplex agyi áttét (25 fő), (3) nem operált primer tumor és szoliter agyi áttét (90 fő), (4) nem operált primer tumor és multiplex agyi áttét (42 fő). A modell szelekció a „survival” R csomag segítségével történt. A többváltozós modellbe foglalt változók kiválasztásához elsőként az adott változó értéke szerint definiált betegcsoportokra Kaplan-Meier-módszerrel meghatároztuk az $S_{KM}(t)$ túlélési görbéket, majd ezeket log-rank teszttel vetettük össze.

Az analízis során a prognosztikai faktorok közül a sugárterápiát kivettük, mivel ellentmondásosak az adatok ezen terápia túlélésre gyakorolt hatásáról, hiszen ez a kezelés csak a jó általános állapotú betegek esetén alkalmazható [155, 156]. Az arányos kockázat fennállásának teszteléséhez minden változónál manuálisan vizsgáltuk meg a túlélési görbék $-\log(-\log(S_{KM}(t)))$ transzformáltját. Ha ötnél kevesebb változóra teljesült az

arányos kockázat fennállása, az adott betegcsoportra nem illesztettünk többváltozós modellt. A modellszelekciót Collett útmutatása alapján [157] végeztük: kezdetben a változók azon halmazára illesztettük a többváltozós Cox-regressziós modellt, melyekre egyaránt teljesült az arányos kockázat fennállása és a log-rank teszt p-értéke nem haladta meg a 0,25-öt. Azon változók közül, melyek hasonló mennyiségeket jellemeznek (például a PD-1 immunsejteket leíró különböző küszöbértékek), azt az egyet választottuk a többváltozós modellbe, melynél a log-rank p-érték a legkisebb volt és teljesült az arányos kockázat fennállása. Az így illesztett kezdeti modellt tovább finomítottuk a legkevésbé szignifikáns hatású változók fokozatos kizárásával, mialatt az AIC (Akaike information criterion) értékét nem engedtük lépésenként több mint 10%-kal növekedni. Végül azokat a változókat, melyeknek a log-rank teszt eredménye alapján nem volt szignifikáns hatása (de teljesült rá az arányos kockázat fennállása), egyesével hozzávettük a Cox-modellhez, és megtartottuk azokat, amelyek az AIC értékét csökkentették. A végleges modellek paraméterei a teljes túlélésre és az agyi áttét műtététől számított túlélésre vonatkozóan a **9. táblázat**ban találhatók.

A statisztikai tesztek elvégzése SPSS 20.0-s verzióval történt (IBM, Armonk, New York, Egyesült Államok). A statisztikai számítások eredményét $p < 0,05$ esetén tekintettük szignifikánsnak.

9. táblázat. A többváltozós Cox modellek paraméterei a teljes és az agyi áttét műtététől számított túlélési analízis során

Teljes kohort; OS
magasabb stádium
primer tumor műtéte
kemoterápia hiánya
< 60 év
szoliter agyi áttét
peritumoralis infiltráció hiánya
nem expresszáló (POPLAR)
PD-1 immunsejt > 1%
szupratentorialis agyi áttét
Teljes kohort; agyi áttét műtététől számított túlélés
magasabb stádium
kemoterápia hiánya
szoliter agyi áttét
peritumoralis infiltráció hiánya
közepesen és magasan expresszáló (POPLAR)
PD-1 immunsejt > 5%
PD-L1 tumorsejt > 50%
szupratentorialis agyi áttét
1-es alcsoport; OS
magasabb stádium
kemoterápia hiánya
peritumoralis infiltráció hiánya
nem expresszáló (POPLAR)
PD-1 immunsejt > 1%

PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1; OS: teljes túlélés

4.7.2. 61 primer tüdő ADC és agyi áttét párt tartalmazó kohort

A változók között Spearman korreláció analízist végeztünk python 3.5.3 verzió és a scipy.stats statisztikai csomag használatával.

A mennyiségi változók közötti valódi összefüggések akkor vizsgálhatók a legjobban, ha nem határozunk meg határértékeket, így a statisztikai elemzést a fent leírt szövettani paraméterek szemi-kvantitatív adataival, a közleményekben [149, 150, 152], valamint a klinikai gyakorlatban [158-160] használt határértékekkel egyaránt elvégeztük. A statisztikai számítások eredményét $p < 0,05$ értéknél tekintettük szignifikánsnak. Minden paraméternél a legszignifikánsabb adatot kiválasztva végeztük el a Bonferroni korrekciót. A korrekciót követően is szignifikánsnak mutatkozó értékek csillaggal jelölve láthatók a táblázatokban.

A primer tüdő ADC és a hozzá tartozó agyi áttét között vizsgálva az egyes paraméterek változását, a változás pozitív (+1), negatív (-1) vagy neutrális (0) értéket kapott, annak megfelelően, hogy az adott paraméter növekedett, csökkent vagy nem változott az agyi áttétben a primer mintához hasonlítva. Az eltérő terápiás csoportokban az egyes paraméterek változási irányának átlagát t-teszttel hasonlítottuk össze a scipy.stats python csomag használatával. Azoknál a paramétereknél, ahol különböző határértékeket határoztunk meg, a legalacsonyabb *p* érték esetén végeztük el a korrekciós számításokat Holm–Šidák féle többszörös összehasonlítással.

4.7.3. 19 primer tüdő ADC és agyi áttét párt tartalmazó kohort

A kategórikus változók Pearson khi-négyzet próbával kerültek összehasonlításra, mely során a Pearson R érték mutatta meg a paraméterek közötti összefüggés mértékét. A statisztikai számítások eredményét $p < 0,05$ értéknél tekintettük szignifikánsnak.

4.8. Etikai vonatkozások

Kutatásaink során mindenben a hatályos jogszabályok szerint jártunk el a Semmelweis Egyetem Tudományos és Kutatásetikai Bizottság (TUKEB) engedélyének birtokában (#155/2012, #510/2013, #86/2015), valamint a Helsinki Deklarációban foglaltaknak megfelelően.

5. Eredmények

A kapott eredményeket a fent részletezett három kohort alapján külön-külön ismertetem.

5.1. 208 agyi áttét esetet tartalmazó kohort

5.1.1. Klinikai adatok

A vizsgálatba bevont 208 tüdő ADC eredetű agyi áttétben szenvedő beteg klinikai adatait, beleértve az életkort, a nemet, a dohányzást, a COPD meglétét, az agyi áttét(ek) lokalizációját, valamint az alkalmazott terápiás adatokat a **10. táblázat**ban foglaltam össze. Mivel az agyi áttéti minták 2008-2014 közöttiek, valamint a primer daganatok nagy részéből nem történt mintavétel és ezáltal molekuláris vizsgálat sem, így a driver mutációk szerepét jelen munkánk során adathiány miatt nem vizsgáltuk.

5.1.2. Túlélési adatok

A betegek átlagos teljes túlélése 29,7 (±24,2), míg az agyi áttét műtététől számított túlélés 14,9 (±13,5) hónap volt. A PFS 15,1 (±16,4) hónap volt, az agyi áttét kialakulásáig pedig átlagosan 22,0 (±21,5) hónap telt el. A 208 betegből azonban 78 esetben az agyi áttét került először diagnózisra és csak azt követte a primer tüdő ADC felfedezése.

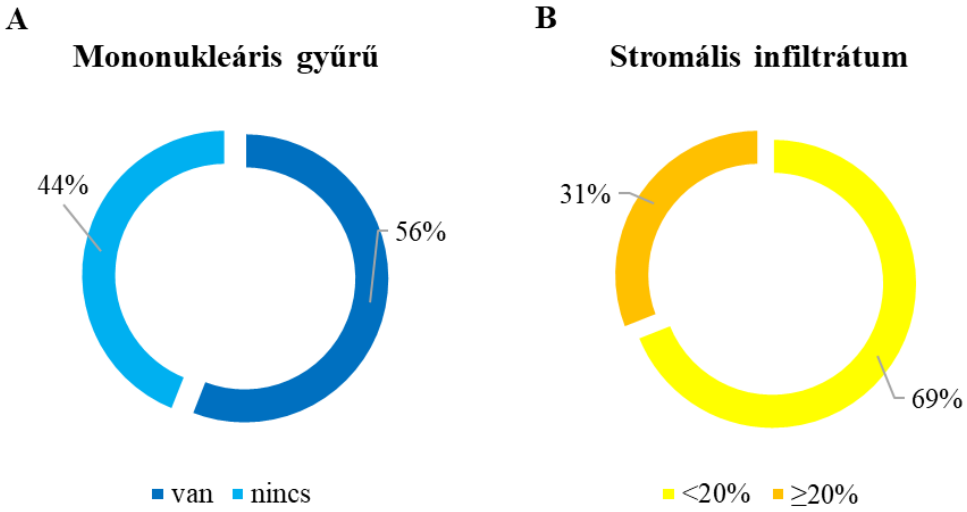
5.1.3. Peri- és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció az agyi áttétekben

Az esetek 56%-ában figyeltünk meg peritumoralis mononukleáris sejtes infiltrációt, míg 44%-ukban ez nem volt jelen. Az esetek 69%-ában <20% és 31%-ában ≥20% intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció volt azonosítható (**16. ábra**). Az agyi áttéteket vizsgálva pozitív korrelációt igazoltunk a mononukleáris gyűrű jelenléte és az intratumoralisan megfigyelhető mononukleáris sejtek mennyisége között (p = 0,001; khi-négyzet próba, Pearson R = 0,324).

10. táblázat. Tüdő ADC-ből származó agyi áttétes betegek klinikai adatai

	N=208	%
Életkor (év)		
Átlag (±SD)	59,28 (±8,96)	
Tartomány	25-79	
Nem		
Férfi	104	50,0
Nő	104	50,0
Dohányzás		
Dohányzik	131	63,0
Leszokott	51	24,5
Nem dohányzott	23	11,0
Nem ismert	3	1,5
COPD		
Igen	62	29,8
Nem	146	70,2
Klinikai stádium a tüdőtumor diagnózisakor		
IA	6	2,9
IB	24	11,5
IIA	12	5,8
IIB	8	3,8
IIIA	26	12,5
IIIB	15	7,2
IV (agy)	110	52,9
Nem ismert	7	3,4
Az agyi áttét elhelyezkedése		
Egyszeres	141	67,8
Supratentoriális	112	79,4
Infratentoriális	29	20,6
Többszörös	67	32,2
Primer tumor kezelése		
Sebészi rezekció (±kemoterápia)	76	36,5
Kemoterápia	95	45,7
Palliatív ellátás	37	17,8
Szteroid terápia az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)		
Igen	137	65,9
Nem	52	25,0
Nem ismert	19	9,1
Kemoterápia az agyi áttét műtéte előtt		
Igen	75	36,1
Nem	132	63,4
Nem ismert	1	0,5
Posztoperatív agyi besugárzás		
Teljes agyi besugárzás	82	39,4
Stereotaxiás sugárkezelés	25	12,0
Mindkettő	35	16,8
Nem kapott	66	31,8

ADC: adenocarcinoma; COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség; N: esetszám; SD: standard deviáció



16. ábra. A mononukleáris sejtek eloszlása a 208 agyi áttéti mintában.

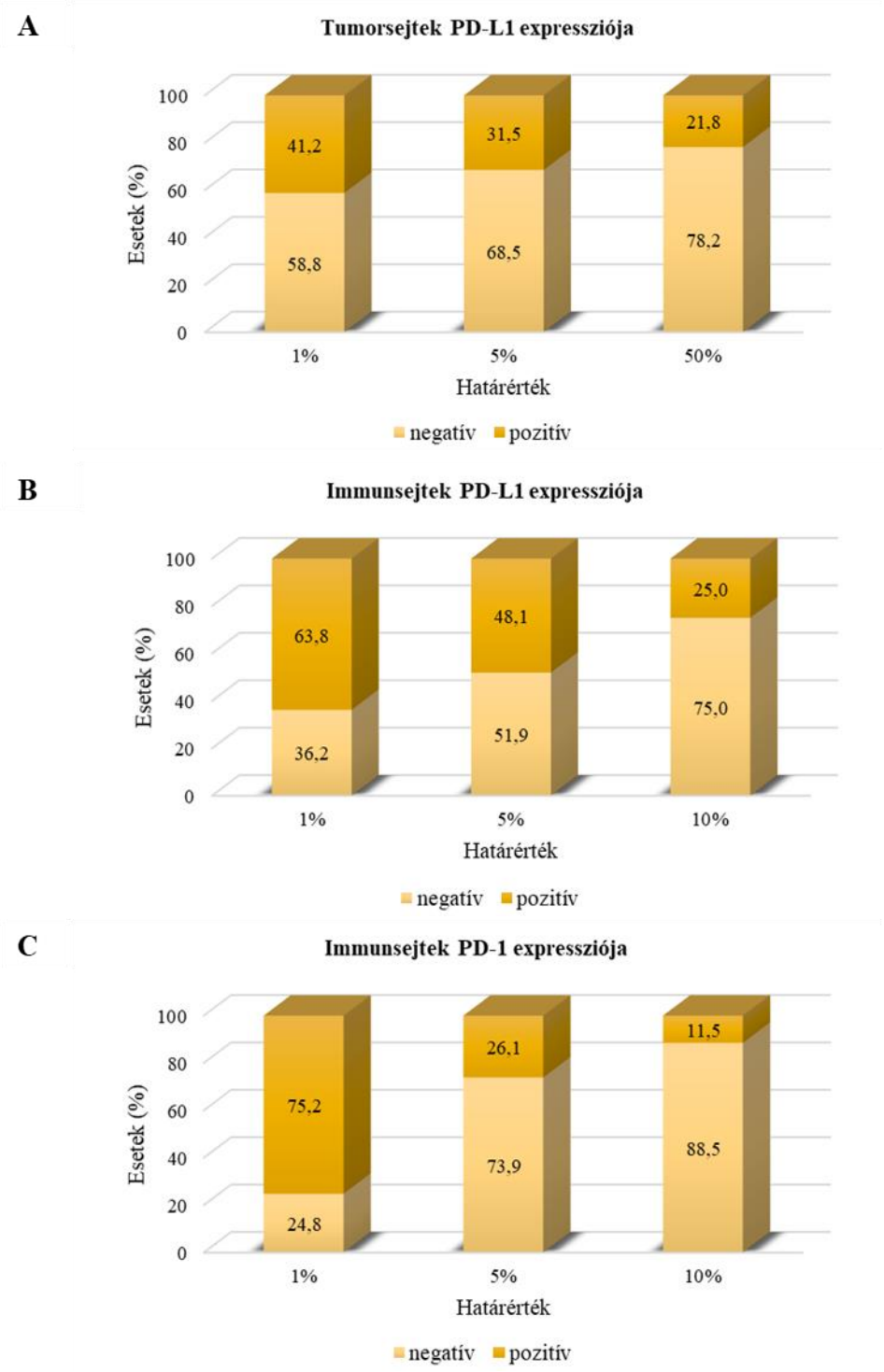
A) A mintákban megfigyelhető peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció aránya.

B) A mintákban megfigyelhető intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció mennyisége.

5.1.4. PD-L1 és PD-1 expresszió az agyi áttétekben

A primer tüdő ADC-k agyi áttéteiben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziós adatokat a **17. ábrá**n foglaltam össze, az általunk alkalmazott különböző határértékek alapján. A POPLAR-tanulmány szerinti PD-L1 expressziós csoportosítást alkalmazva az esetek 26,4%-a a PD-L1-et „nem expresszáló", 73,6%-a pedig a PD-L1-et expresszáló csoportba került. Az expresszió mértéke alapján az esetek 38,0%-a alacsonyan, 20,3%-a közepesen, 41,7%-a pedig magasan expresszálta a PD-L1-et.

Érdekesség, hogy pozitív összefüggést figyeltünk meg a PD-L1 pozitív tumor- és immunsejtek és a PD-1 pozitív immunsejtek mennyisége között csaknem az összes határérték esetén. Kivétel ez alól a 10%-os határérték az immunsejtek PD-1, valamint az 1%-os határérték az immunsejtek PD-L1 expressziójának meghatározásakor (**11. táblázat**). A POPLAR-tanulmány szerinti PD-L1-et „magasan expresszáló" esetekben magasabb volt az immunsejtek PD-1 expressziója mindegyik határértéknél (**11. táblázat**).



17. ábra. PD-L1 és PD-1 expresszió a 208 agyi áttéti mintában.

Az oszlopdiagrammokon a tumorsejtek PD-L1 (A), az immunsejtek PD-L1 (B) és PD-1 (C) expressziójának mértéke látható, az általunk használt határértékek alapján.

PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1

11. táblázat. A tüdő adenocarcinoma eredetű agyi áttétekben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziók közötti összefüggések

	A pozitív sejtek aránya	PD-1 immunsejt					
		<1% vs. ≥1%		<5% vs. ≥5%		<10% vs. ≥10%	
		p-érték	Pearson R	p-érték	Pearson R	p-érték	Pearson R
PD-L1 tumorsejt	<1% vs. ≥1%	0,024	0,179	<0,001	0,300	<0,001	0,276
	<5% vs. ≥5%	0,040	0,163	<0,001	0,314	<0,001	0,282
	<50% vs. ≥50%	0,023	0,179	<0,001	0,291	<0,001	0,311
PD-L1 immunsejt	<1% vs. ≥1%	<0,001	0,367	0,005	0,224	ns.	-
	<5% vs. ≥5%	<0,001	0,398	0,001	0,258	0,037	0,167
	<10% vs. ≥10%	<0,001	0,308	<0,001	0,285	0,011	0,203
Betegcsoportok a POPLAR-tanulmány alapján							
PD-L1 tumorsejt vagy immunsejt	nem expresszáló vs. expresszáló	<0,001	0,343	0,002	0,248	0,008	0,21
	alacsonyan expresszáló vs. közepesen/magasan expresszáló	<0,001	0,404	<0,001	0,285	<0,001	0,279
	alacsonyan/közepesen expresszáló vs. magasan expresszáló	<0,001	0,355	0,006	0,218	0,001	0,269

PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1

5.1.5. A mononukleáris sejtek eloszlásának, mennyiségének, valamint a PD-L1 és PD-1 expresszió mértékének összefüggései a klinikai adatokkal

A nemek tekintetében egyik paraméter esetén sem figyeltünk meg különbséget (peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció $p = 0,411$, intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció $p = 0,225$, tumorsejtek PD-L1 expressziója $p = 0,119$, immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziója $p = 0,333$ és $p = 0,214$; khi-négyzet próba).

A dohányzási szokásokat vizsgálva sem tudtunk összefüggést kimutatni a mononukleáris sejtek eloszlásával és mennyiségével, illetve a tumorsejtek PD-L1, valamint az immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziójával ($p = 0,822$, $p = 0,695$, $p = 0,053$, $p = 0,629$ és $p = 0,804$; khi-négyzet próba).

A betegek COPD státuszát összevetve a fenti paraméterekkel szintén nem mutatkozott szignifikáns összefüggés (p = 0,605, p = 0,518, p = 0,587, p = 0,912 és p = 0,614; khi-négyzet próba).

Az agyi áttétek lokalizációját és számát is figyelembe véve nem találtunk összefüggést a peritumoralis immunsejtek mennyisége, a tumorsejtek PD-L1, valamint az immunsejtek PD-1 expressziója és az agyi áttétek száma, illetve elhelyezkedése között (p = 0,597, p = 0,093 és p = 0,176; khi-négyzet próba). Az intratumoralis immunsejtek mennyisége nem függött össze az agyi áttétek számával (p = 0,307; khi-négyzet próba), azonban a supratentorialis áttétekben szignifikánsan magasabb volt a stromális immunsejtek aránya (p = 0,015, Pearson R = 0,210; khi-négyzet próba). Az immunsejtek PD-L1 expressziója gyenge pozitív korrelációt mutatott az agyi áttétek számával (p = 0,028, Pearson R = 0,1739; khi-négyzet próba).

Az alkalmazott terápiák hatását vizsgálva a masszív peri- vagy intratumoralis mononukleáris sejtes infiltrációt mutató esetek aránya megegyezett az agyi áttét műtéte előtt kemo- vagy szteroid terápiát kapott vagy nem kapott betegcsoportok között (p = 0,997 és p = 0,452; p = 0,186 és p = 0,879; khi-négyzet próba). A közvetlenül az agyi áttét műtéte előtt alkalmazott szteroid terápia szignifikáns összefüggést mutatott az immunsejtek alacsonyabb PD-L1 expressziójával 10%-os határértéknél a szteroid terápiában nem részesült betegcsoporthoz képest (p = 0,021, Pearson R = 0,208; khi-négyzet próba). Nem volt kimutatható összefüggés a tumorsejtek PD-L1 és az immunsejtek PD-1 expressziójában a szteroid terápiában részesült vagy nem részesült betegcsoportokat vizsgálva. Az agyi áttét műtéte előtt alkalmazott kemoterápia nem befolyásolta a tumorsejtek PD-L1 és az immunsejtek PD-L1 és PD-1 expresszióját.

5.1.6. Az agyi áttétekben megfigyelhető mononukleáris sejtek eloszlásának és mennyiségének összefüggése a PD-L1 és PD-1 expresszióval

Az áttétekben jelen lévő immunsejtek mennyiségét és elhelyezkedését, valamint a tumor- és immunsejtek fehérje expressziós adatait összevetve az alacsony, azaz 20% alatti intratumoralis mononukleáris sejtmennyiség a tumorsejtek alacsony PD-L1 expressziójával korellált mindegyik határértéknél (p = 0,021, 0,028 és 0,009; Pearson R = 0,180, 0,172 és 0,203, 1%, 5% és 50% határérték esetén). Az immunsejtek PD-L1 expresszióját vizsgálva, az intratumoralis mononukleáris sejtek 20%-ot meghaladó

jelenléte magasabb PD-L1 pozotivitással társult mindegyik határértéknél ($p < 0,001$, $p < 0,001$ és $p = 0,013$; Pearson R = 0,315, 0,341 és 0,196, 1%, 5% és 10% határérték esetén). A mononukleáris gyűrű jelenléte szintén az immunsejtek magasabb PD-L1 pozitivitásával korrelált mindegyik határértéknél ($p = 0,011$, $p < 0,001$ és $p = 0,006$; Pearson R = 0,212, 0,323 és 0,231). Az immunsejtek 1% fölötti PD-1 pozitivitása szignifikáns összefüggést mutatott a 20%-ot meghaladó intratumoralis mononukleáris sejtmennyiséggel ($p = 0,004$, Pearson R = 0,226) és a mononukleáris gyűrű jelenlétével ($p = 0,003$, Pearson R = 0,242) (**12. táblázat**).

A POPLAR-tanulmányban használt kategóriák alapján létrehozott csoportokat vizsgálva a PD-L1-et „magasan expresszáló" esetekben figyeltünk meg összefüggést az expressziós szint, valamint a mononukleáris gyűrű jelenléte és a 20%-ot meghaladó intratumoralis mononukleáris sejtmennyiség között, az „alacsonyan expresszáló" vagy „nem expresszáló" csoportokhoz képest (**12. táblázat**).

12. táblázat. A tüdő adenocarcinomák agyi áttéteiben megfigyelhető mononukleáris sejtek mennyiségének és elhelyezkedésének összefüggései a PD-L1 és PD-1 expresszióval

	Betegcsoportok a különböző határértékek alapján	Intratumoralis mononukleáris sejtek (<20% vs. >20%)		Peritumoralis mononukleáris sejtek (nincs vs. van)	
		p-érték	Pearson R	p-érték	Pearson R
PD-L1 tumorsejt	<1% vs. ≥1%	0,021	0,180	ns.	-
	<5% vs. ≥5%	0,028	0,172	ns.	-
	<50% vs. ≥50%	0,009	0,203	ns.	-
PD-L1 immunsejt	<1% vs. ≥1%	<0,001	0,315	0,011	0,212
	<5% vs. ≥5%	<0,001	0,341	<0,001	0,323
	<10% vs. ≥10%	0,013	0,196	0,006	0,231
PD-1 immunsejt	<1% vs. ≥1%	0,004	0,226	0,003	0,242
	<5% vs. ≥5%	ns.	-	ns.	-
	<10% vs. ≥10%	ns.	-	0,044	0,166
Betegcsoportok a POPLAR-tanulmány alapján					
PD-L1 tumorsejt vagy immunsejt	nem expresszáló vs. expresszáló	<0,001	0,302	0,026	0,185
	alacsonyan expresszáló vs. közepesen/magasan expresszáló	<0,001	0,338	0,001	0,275
	alacsonyan/közepesen expresszáló vs. magasan expresszáló	<0,001	0,361	<0,001	0,292

ns: nem szignifikáns; PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1

5.1.7. A klinikai adatok összefüggése a túléléssel

A különböző változókhoz tartozó Kaplan–Meier túlélési görbék közötti szignifikáns eltéréseket egyváltozós log-rank teszttel és többváltozós Cox regressziós analízissel vizsgáltuk.

A primer tüdő ADC korai, I-es és II-es stádiumban történő diagnózisa, a tüdőtumor műtéti rezekciója és a kemoterápia alkalmazása szignifikánsan jobb OS-t eredményezett egyváltozós log-rank teszttel ($p < 0,001$, $p < 0,001$, $p = 0,027$). A többváltozós Cox regressziós analízis során a tüdőtumor műtéti rezekciója pozitív, a kemoterápia hiánya

negatív független prognosztikus tényezőnek bizonyult (p = 0,004, HR = 0,318, CI = 0,145–0,701; p < 0,001, HR = 3,139, CI = 1,715–5,745). Azonban ezek a paraméterek log-rank teszttel nem mutattak összefüggést az agyi áttét műtététől számított túléléssel (p = 0,064, p = 0,063, p = 0,151).

Egyszeres agyi áttét esetén a betegek agyi áttét műtététől számított túlélése szignifikánsan jobbnak bizonyult a többszörös agyi áttéttel rendelkező betegcsoporthoz képest (p = 0,012; log-rank). Ez az összefüggés a többváltozós Cox regressziós analízis elvégzésekor is szignifikánsnak bizonyult (p = 0,010, HR = 0,656, CI = 0,476–0,905). Az OS tekintetében nem figyeltünk meg összefüggést az agyi áttétek számával kapcsolatban (p = 0,095; log-rank; és p = 0,174, HR = 0,796, CI = 0,573–1,106; Cox).

Az agyi áttétek elhelyezkedését vizsgálva, mind az OS, mind az agyi áttét műtététől számított túlélés jobbnak bizonyult supratentorialis egyszeres áttét meglétekor az infratentorialis szoliter áttéttel bíró betegcsoporthoz képest (p = 0,012 és 0,001; log-rank). Azonban az agyi áttét elhelyezkedése nem bizonyult független prognosztikus tényezőnek többváltozós Cox regresszió során (p = 0,440, HR = 1,267, CI = 0,695–2,313 és p=0,357, HR = 0,739, CI = 0,388–1,407).

A 60 évnél fiatalabb betegek mind a primer tumor diagnózisától (OS), mind az agyi áttét műtététől számítva jobb túlélést mutattak (p = 0,029 és p = 0,019; log-rank). Az OS tekintetében az életkor független prognosztikus tényező maradt Cox regressziós analízist követően is (p = 0,032, HR = 0,554, CI = 0,323–0,949).

A nemek tekintetében nem találtunk összefüggést sem a teljes, sem az agyi áttét műtététől számított túléléssel kapcsolatban.

Egyik paraméter sem mutatott összefüggést a PFS-sel és TTBM-el.

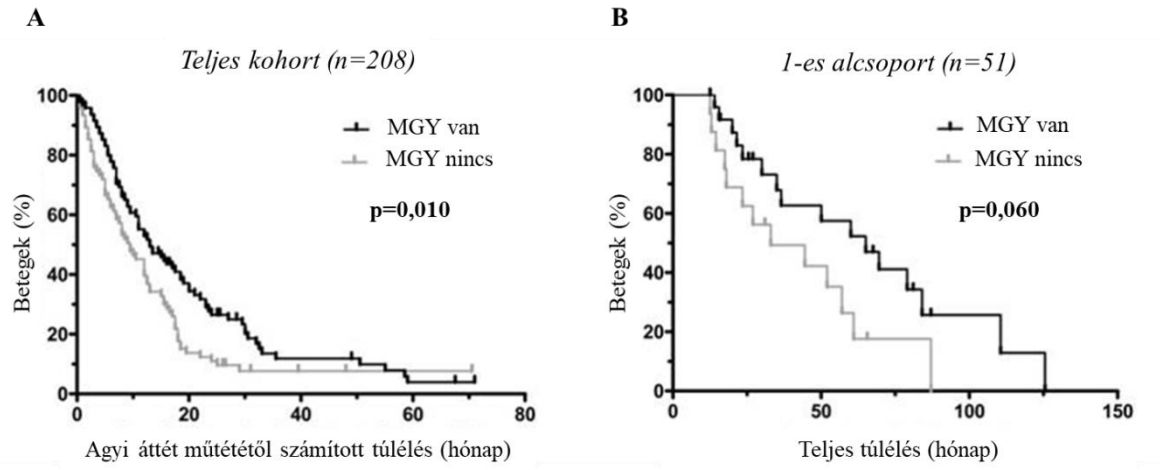
5.1.8. A mononukleáris sejtek eloszlásának és mennyiségének összefüggése a túléléssel

A túlélési adatokat összevetve az agyi áttétekben található mononukleáris sejtek elhelyezkedésével, azt az eredményt kaptuk, hogy a peritumoralis mononukleáris gyűrű hiánya rosszabb túléléssel társult az agyi áttét műtététől számítva (p = 0,010; log-rank) (**18. A ábra**). Azonban a fenti összefüggés a többváltozós Cox analízist követően csak erős tendenciának bizonyult (p = 0,050, HR = 1,731, CI = 0,578–2,994).

A túlélési adatokat összevetve az agyi áttétekben található mononukleáris sejtek mennyiségével, az OS tekintetében figyeltünk meg egy tendenciát, miszerint a 20%-ot meghaladó intratumoralis mononukleáris infiltrátummal bíró agyi áttétes betegek primer tumor diagnózisától számított túlélése kedvezőbb (p = 0,066; log-rank).

A fentiek alapján láthatjuk, hogy a betegek túlélésére a primer tüdőtumor műtéti eltávolítása, a kemoterápia és az agyi áttétek száma erős hatást gyakorol, így a Módszerek fejezet, Statisztikai analízis alfejezetében tárgyalt négy, klinikailag egységesebb alcsoport esetén is elvégeztük a Cox regressziós analízist. Az egyes alcsoportba tartozó, primer tumor műtéten átesett és egyszeres agyi áttéttel bíró betegekcsoportban a többváltozós modellben a mononukleáris gyűrű hiánya rosszabb OS-sel társult (p = 0,027, HR = 3,054, CI = 1,137–8,202). Kaplan–Meier analízissel vizsgálva a mononukleáris gyűrű jelenléte kedvezőbb túléléssel társult a primer tumor diagnózisától számítva, azonban ez az összefüggés nem érte el a szignifikáns mértéket (p = 0,060) (**18. B ábra**). A többi alcsoport tekintetében nem találtunk szignifikáns összefüggést a túlélési adatok, valamint az agyi áttétekben található mononukleáris sejtek elhelyezkedése és mennyisége között.

A PFS és TTBM egyik paraméterrel sem mutatott összefüggést.



18. ábra. A peritumoralis mononukleáris sejtes infiltrátum túlélésre gyakorolt hatása (Kaplan-Meier görbék).

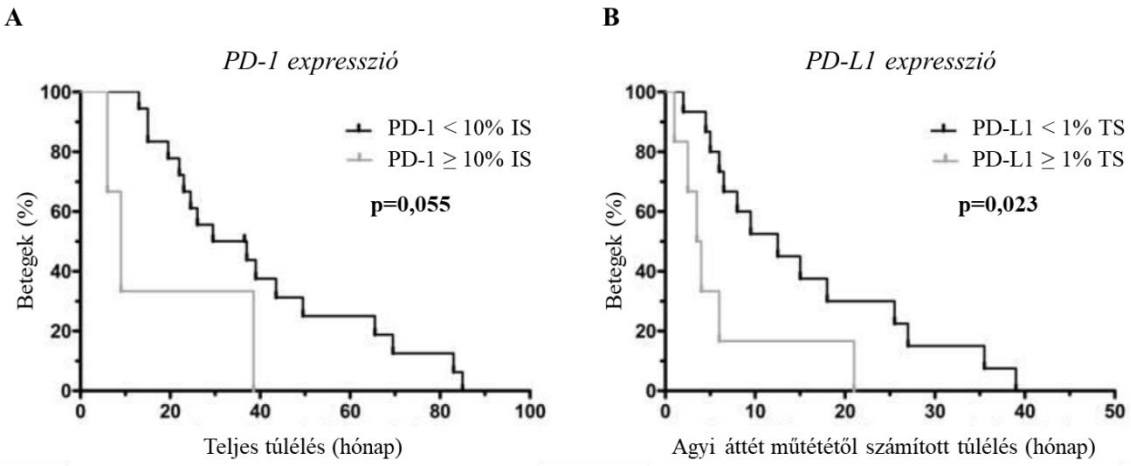
A) A teljes populációban a mononukleáris gyűrű hiánya szignifikánsan rosszabb túléléssel társult az agyi áttét műtététől számítva. B) A klinikailag homogénebb, primer tumor műtéten átesett és egyszeres agyi áttétes betegcsoportban a mononukleáris gyűrű jelenléte kedvezőbb túlélési tendenciával társult a primer tumor diagnózisától számítva.

MGY: mononukleáris gyűrű; n: esetszám

5.1.9. A PD-L1 és PD-1 expresszió összefüggése a túléléssel

A tumor- és immunsejtek fehérje expressziós adatait log-rank teszttel vizsgálva, nem találtunk összefüggést sem a PD-L1, sem a PD-1 expressziós értékek és az OS vagy az agyi áttét műtététől számított túlélés között egyik általunk használt határérték esetén sem. Az eredmények többváltozós Cox regressziós analízis során sem érték el a szignifikáns értéket.

A klinikailag egységesített betegcsoportokat vizsgálva a 2-es betegcsoport esetén találtunk összefüggéseket, miszerint a primer tüdőtumor műtéti rezekcióján átesett és többszörös agyi áttéttel rendelkező betegeknél az immunsejtek 10% alatti PD-1 expressziója nem szignifikánsan, de kedvezőbb OS-sel társult Kaplan–Meier analízis során (p = 0,055) (**19. A ábra**). Ugyanebben a betegcsoportban a tumorsejtek alacsonyabb PD-L1 expressziója – mindegyik határértéknél – jobb túléléssel társult az agyi áttét műtététől számítva. Ez az összefüggés Kaplan–Meier analízis során csak az 1%-os határérték esetén bizonyult szignifikánsnak (p = 0,023) (**19. B ábra**).

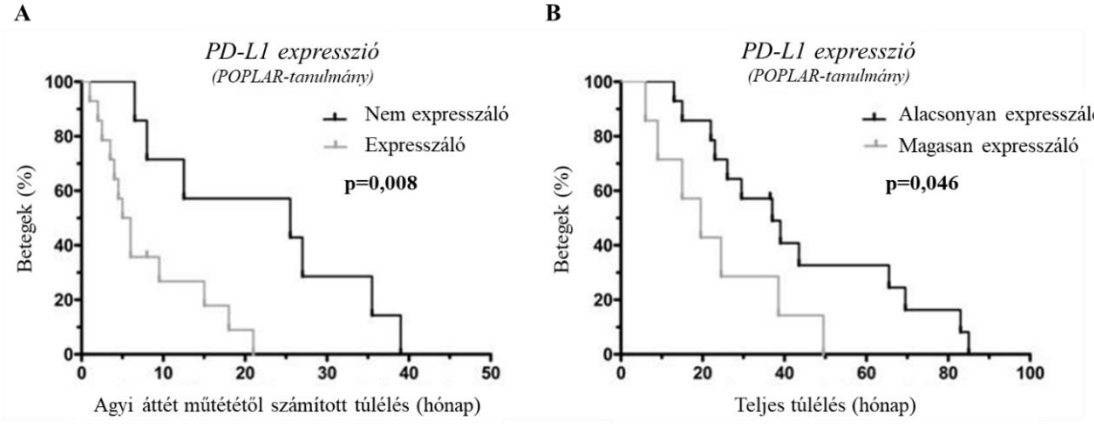


19. ábra. A PD-1 és PD-L1 expresszió túlélésre gyakorolt hatása a primer tüdőtumor műtéti rezekcióján átesett és többszörös agyi áttéttel rendelkező betegcsoport esetén (Kaplan-Meier görbék).

A) Az agyi áttétekben jelen lévő immunsejtek 10% alatti PD-1 expressziója tendenciát mutat a kedvezőbb teljes túlélés felé. B) Az agyi áttétek tumorsejtjeinek 1% alatti PD-L1 expressziója szignifikáns összefüggést mutat a betegek agyi áttét műtététől számított kedvezőbb túlélésével.

IS: immunsejt; PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1; TS: tumorsejt

A POPLAR-tanulmány alapján létrehozott betegcsoportok vizsgálatakor az egyváltozós log-rank tesztet alkalmazva a PD-L1-et „nem expresszáló" betegcsoport jobb túlélést mutatott az agyi áttét műtététől számítva a PD-L1-et expresszáló betegcsoporthoz képest (p = 0,008) (**20. A ábra**). Kaplan–Meier analízissel a PD-L1-et „alacsonyan expresszáló" betegek teljes túlélése bizonyult kedvezőbbnek a PD-L1-et „magasan expresszáló" betegekhez képest (p = 0,046) (**20. B ábra**).



20. ábra. A POPLAR-tanulmány szerinti kombinált PD-L1 expressziós értékek túlélésre gyakorolt hatása (Kaplan-Meier görbék).

A) A PD-L1-et „nem expresszáló" betegek jobb túlélést mutattak az agyi áttét műtététől számítva a PD-L1-et expresszáló betegekhez képest. B) A PD-L1-et „alacsonyan expresszáló" betegek teljes túlélése kedvezőbb a PD-L1-et „magasan expresszáló" betegekhez képest.

PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1

A túlélési analízishez létrehozott többváltozós Cox modellek eredményeit a **13. táblázat**ban foglaltam össze.

13. táblázat. A többváltozós Cox modellek eredményei a teljes és az agyi áttét műtététől számított túlélési analízis során

változó	*p*	*HR*	*CI*
Teljes kohort; OS			
magasabb stádium	0,282	1,675	0,655-4,284
primer tumor műtéte	**0,004**	**0,318**	**0,145-0,701**
kemoterápia hiánya	**<0,001**	**3,139**	**1,715-5,745**
< 60 év	**0,032**	**0,554**	**0,323-0,949**
szoliter agyi áttét	0,174	0,796	0,573-1,106
peritumoralis infiltráció hiánya	0,089	1,635	0,928-2,881
nem expresszáló (POPLAR)	0,546	0,816	0,421-1,581
PD-1 immunsejt > 1%	0,840	0,930	0,456-1,893
szupratentorialis agyi áttét	0,440	1,267	0,695-2,313
Teljes kohort; agyi áttét műtététől számított túlélés			
magasabb stádium	0,161	1,595	0,831-3,062
kemoterápia hiánya	0,224	1,430	0,804-2,543
szoliter agyi áttét	**0,010**	**0,656**	**0,476-0,905**
peritumoralis infiltráció hiánya	**0,050**	**1,731**	**0,578-2,994**
közepesen és magasan expresszáló (POPLAR)	0,102	1,604	0,910-2,825
PD-1 immunsejt > 5%	0,840	0,941	0,524-1,691
PD-L1 tumorsejt > 50%	0,090	0,562	0,288-1,095
szupratentorialis agyi áttét	0,357	0,739	0,388-1,407
1-es alcsoport; OS			
magasabb stádium	0,375	1,634	0,552-4,837
kemoterápia hiánya	0,999	2,717	0,829-8,901
peritumoralis infiltráció hiánya	**0,027**	**3,054**	**1,137-8,202**
nem expresszáló (POPLAR)	0,731	0,829	0,285-2,414
PD-1 immunsejt > 1%	0,526	0,722	0,264-1,974

CI: konfidencia intervallum; HR: Hazard-ratio (kockázati arány); PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1; OS: teljes túlélés; félkövérrel a szignifikáns p értékhez tartozó adatsorok láthatók

5.2. 61 primer tüdő adenocarcinoma és agyi áttét párt tartalmazó kohort

5.2.1. Klinikai adatok

A vizsgálatba bevont 61 agyi áttétes tüdő ADC-ben szenvedő beteg klinikai adatait, beleértve az életkort, a nemet, a dohányzást, a COPD státuszt, valamint a primer tüdőtumor és az agyi áttét esetén alkalmazott terápiás adatokat a **14. táblázat**ban foglaltam össze. Mivel a primer tüdő ADC minták 2005-2014 közöttiek, a molekuláris vizsgálatok sok esetben nem történtek meg, így a driver mutációk szerepét jelen munkánk során adathiány miatt nem vizsgáltuk.

5.2.2. Túlélési adatok

A betegek átlagos teljes túlélése 41,2 (±26,0), míg az agyi áttét műtététől számított túlélés 16,4 (±12,9) hónap volt. A PFS 21,1 (±18,1) hónap volt, az agyi áttét kialakulásáig pedig átlagosan 26,3 (±23,5) hónap telt el. A 61 betegből 5 esetben az agyi áttét került először diagnózisra.

5.2.3. Peri- és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció a primer tüdő adenocarcinomákban és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben

A primer tumorokat vizsgálva az esetek 78%-ában volt megfigyelhető peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció, míg 22%-ukban nem volt jelen. Az esetek 84%-ában <20% és 16%-ában ≥20% intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció volt azonosítható (**21. ábra**). Az agyi áttéteket vizsgálva peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció az esetek 63%-ában volt látható, míg 37%-ában nem volt jelen. Az intratumoralis mononukleáris sejtek tekintetében 69%-ban azonosítottunk <20% és 31%-ban ≥20% infiltrációt (**21. ábra**).

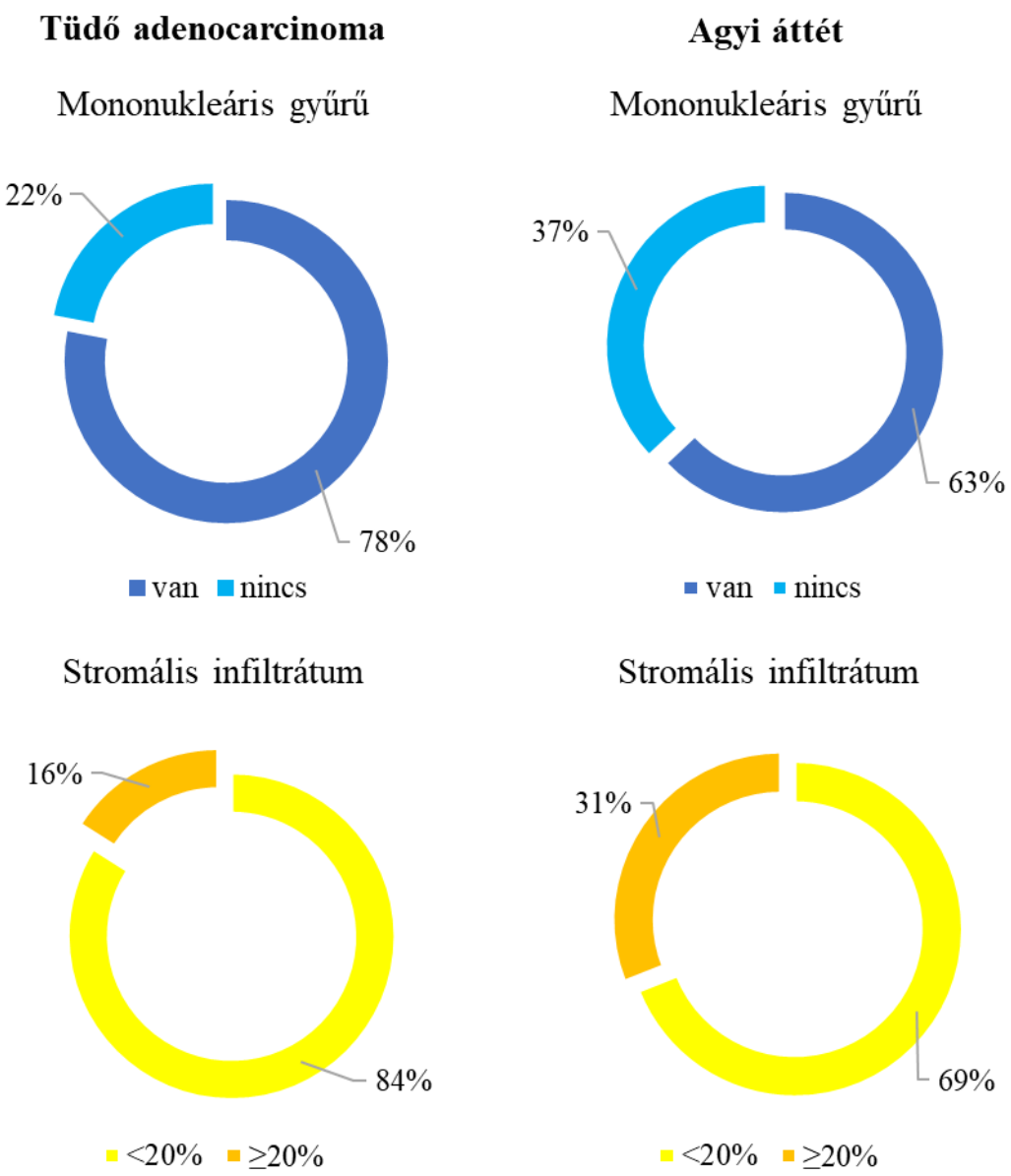
5.2.4. PD-L1 és PD-1 expresszió a primer tüdő adenocarcinomákban és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben

A primer tüdő ADC-kben és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziós adatokat a **15. táblázat**ban foglaltam össze, az általunk alkalmazott különböző határértékek alapján.

14. táblázat. Primer tüdő ADC-ben és agyi áttétben szenvedő betegek klinikai adatai

	N=61	%
Életkor (év)		
Átlag (±SD)	59,81 (±7,07)	
Tartomány	42-73	
Nem		
Férfi	30	49,2
Nő	31	50,8
Dohányzás		
Dohányzik	39	63,9
Leszokott	15	24,6
Nem dohányzott	5	8,2
Nem ismert	2	3,3
COPD		
Igen	21	34,4
Nem	37	60,6
Nem ismert	3	5,0
Klinikai stádium a tüdőtumor diagnózisakor		
IA	4	6,6
IB	18	29,5
IIA	9	14,8
IIB	6	9,8
IIIA	15	24,6
IIIB	1	1,6
IV (agy)	6	9,8
Nem ismert	2	3,3
Kemoterápia a primer tüdőtumor műtéte előtt		
Igen	4	6,6
Nem	57	93,4
Sugárterápia a primer tüdőtumor műtéte előtt		
Igen	2	3,3
Nem	59	96,7
Szteroid terápia az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)		
Igen	37	60,6
Nem	15	24,6
Nem ismert	9	14,8
Kemoterápia az agyi áttét műtéte előtt (bármikor)		
Igen	32	52,5
Nem	29	47,5
Kemoterápia az agyi áttét műtéte előtt (1 éven belül)		
Igen	14	23,0
Nem	47	77,0
Sugárterápia az agyi áttét műtéte előtt		
Igen	5	8,2
Nem	56	91,8

COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség; N: esetszám; SD: standard deviáció



21. ábra. A mononukleáris sejtek eloszlása a vizsgált mintákban.

A 61 primer tüdő adenocarcinomában és a hozzájuk tartozó agyi áttét mintákban megfigyelhető peritumoralis és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció aránya.

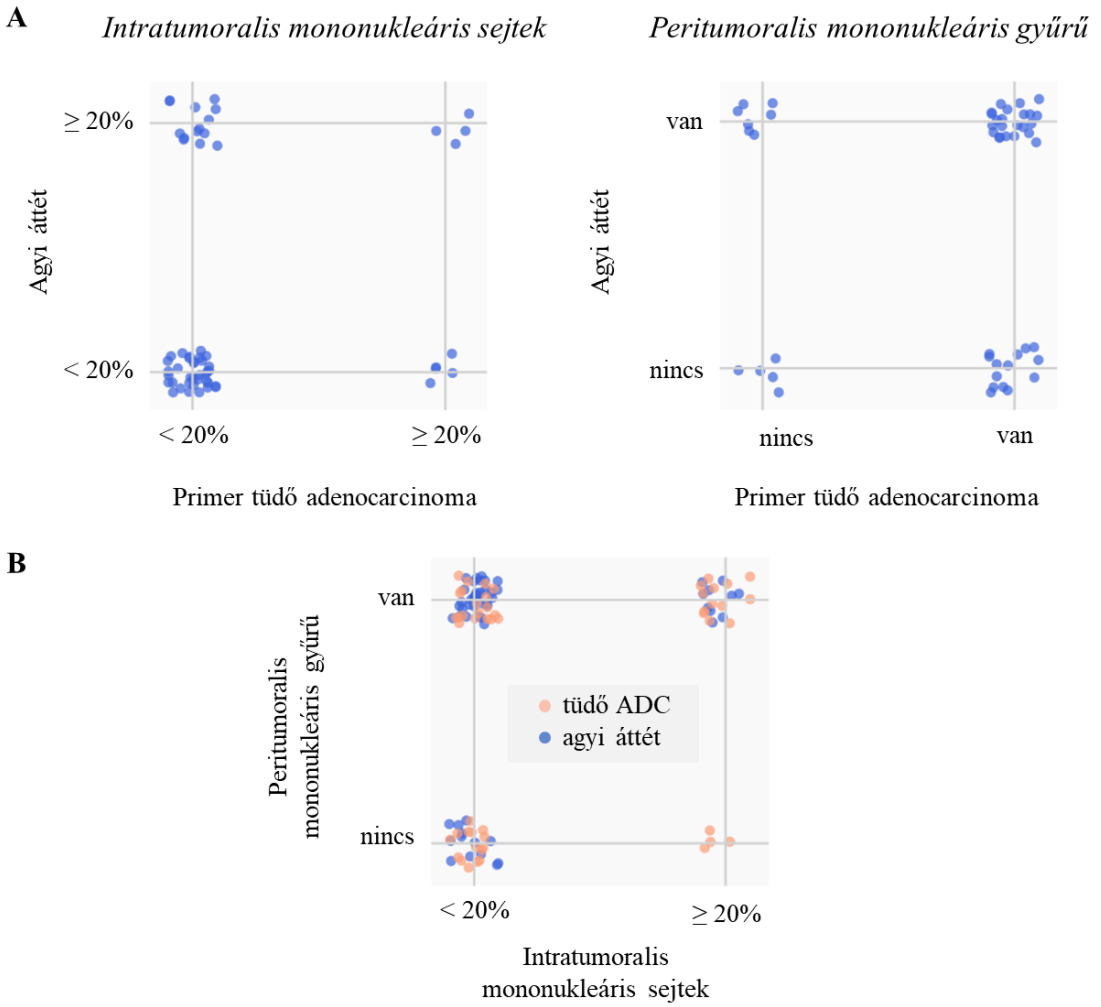
15. táblázat. A tüdő adenocarcinomákban és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expresszió a vizsgált határértékek alapján

	Az egyes csoportokba tartozó esetek (%)					
Tüdő adenocarcinoma						
PD-L1 tumorsejt	*<1% vs. ≥1%*		*<5% vs. ≥5%*		*<50% vs. ≥50%*	
	63,9	36,1	75,4	24,6	93,4	6,6
PD-L1 immunsejt	*<1% vs. ≥1%*		*<5% vs. ≥5%*		*<10% vs. ≥10%*	
	55,7	44,3	90,2	9,8	96,7	3,3
PD-1 immunsejt	*<1% vs. ≥1%*		*<5% vs. ≥5%*		*<10% vs. ≥10%*	
	16,4	83,6	54,1	45,9	78,7	21,3
Agyi áttét						
PD-L1 tumorsejt	*<1% vs. ≥1%*		*<5% vs. ≥5%*		*<50% vs. ≥50%*	
	65,6	34,4	72,1	27,9	82,0	18,0
PD-L1 immunsejt	*<1% vs. ≥1%*		*<5% vs. ≥5%*		*<10% vs. ≥10%*	
	64,4	35,6	93,2	6,8	93,2	6,8
PD-1 immunsejt	*<1% vs. ≥1%*		*<5% vs. ≥5%*		*<10% vs. ≥10%*	
	36,1	63,9	75,4	24,6	88,5	11,5

PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1

5.2.5. A primer tüdő adenocarcinomában és a hozzá tartozó agyi áttétben jelenlévő mononukleáris sejtek elhelyezkedésének és mennyiségének összefüggései

Nem találtunk összefüggést a primer tüdő ADC-ben és a hozzá tartozó agyi áttétben lévő intartumoralis vagy peritumoralis mononukleáris sejtes infiltráció között (p = 0,353 és 0,818; Spearman korreláció) (**22. A ábra**). Szintén nem találtunk összefüggést egy adott primer tüdő vagy agyi áttét mintán belül a peritumoralis és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltrációt összehasonlítva (primer tüdő ADC p = 0,063; agyi áttét p = 0,158; Spearman korreláció) (**22. B ábra**).



22. ábra. A mononukleáris sejtek elhelyezkedésének és mennyiségének összefüggése a primer tüdő ADC és a hozzá tartozó agyi áttét között, valamint az egyes mintákon belül.

A) Az intratumoralis és peritumoralis mononukleáris sejtek korrelációja a primer tüdő ADC-kben és a hozzájuk tartozó agyi áttétekben. B) Az egyes mintákban megfigyelhető peritumoralis és intratumoralis mononukleáris sejtes infiltráció közötti korreláció.

5.2.6. A primer tüdő adenocarcinomában és a hozzá tartozó agyi áttétben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziók közötti összefüggések

A primer tüdő ADC-ben és a hozzá tartozó agyi áttétben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziós adatok összehasonlításakor szignifikáns pozitív korrelációt mutattunk ki a tumorsejtek PD-L1 expressziójában a párok között, az általunk alkalmazott mindhárom

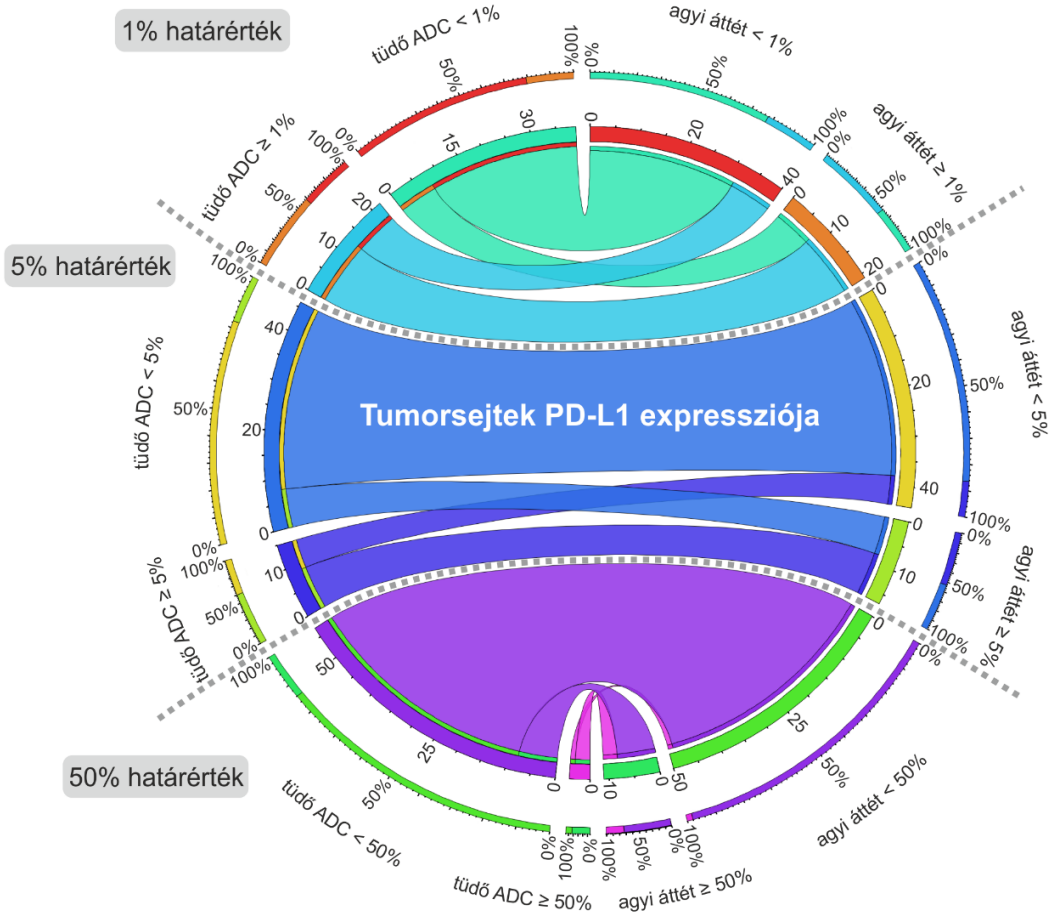
határértéknél (**23. ábra**). A legerősebb korrelációt a határérték nélküli összehasonlításkor láttuk. Ez az eredmény Bonferroni-korrekcióval is szignifikáns maradt (**16. táblázat**).

Az immunsejtek PD-L1 expresszióját összehasonlítva hasonló, bár gyengébb összefüggést figyeltünk meg az összetartozó primer tüdő ADC és agyi áttét párok között 10%-os határértéknél. Azonban ez az összefüggés Bonferroni-korrekcióval nem érte el a szignifikáns értéket (**16. táblázat**).

Az immunsejtek PD-1 expresszióját tekintve nem volt kimutatható összefüggés az összetartozó primer tüdő ADC és agyi áttét párok között (**16. táblázat**). Bár a szignifikáns értéket nem érte el a változás mértéke, az agyi áttétekben a PD-1 expresszió csökkenését figyeltük meg.

5.2.7. A mononukleáris sejtek eloszlásának és mennyiségének összefüggései a PD-L1/PD-1 expresszióval a primer tüdő ADC mintákban

A primer tüdő ADC mintákban a 20%-nál kevesebb intratumoralis mononukleáris sejtes infiltrátum az immunsejtek alacsonyabb PD-L1 expressziójával társult (p = 0,014, Pearson R = 0,313). A PD-1 expresszióval való összevetésnél egy tendenciát figyeltünk meg a kevés stromalis immunsejtes infiltrátum és az alacsony PD-1 expresszió között (p = 0,055). Az intratumoralis immunsejtek mennyisége nem mutatott összefüggést a tumorsejtek PD-L1 expressziójával. A peritumoralis mononukleáris sejtek jelenléte pozitív korrelációt mutatott az immunsejtek PD-1 expressziójával (p = 0,019, Pearson R=0,306), azonban nem korrelált a tumorsejtek és immunsejtek PD-L1 expressziójával.



23. ábra. A tumorsejtek PD-L1 expressziójának változását bemutató circos diagram a primer tüdő adenocarcinoma és agyi áttét párok között.

A diagram bal oldalán a primer tüdő adenocarcinomák (ADC), a jobb oldalon a hozzájuk tartozó agyi áttétek tumorsejtjeinek PD-L1 expressziós adatai láthatók. Az ábra vízszintesen a három határértéknek megfelelően (1%, 5%, 50%) került felosztásra. A belső gyűrű számai az egyes csoportokba tartozó tényleges betegszámot jelenítik meg. A külső gyűrű az adott csoport betegeinek százalékos eloszlását mutatja a daganathoz tartozó mintapárban. Minden határértéknél a betegeket két csoportba soroltuk, attól függően, hogy a tumorsejtek PD-L1 expressziója az adott határérték alatt vagy felett volt-e. Például az 5%-os határértéket alkalmazva (ábra középső harmada) a primer minták közül 46-ban 5% alatti, míg 15-ben 5% feletti PD-L1 expresszió volt megfigyelhető. Ez az érték a primer mintákhoz tartozó agyi áttétek 18%-ában nőtt, 40%-ukban csökkent az 5% alatti és feletti betegcsoportokat vizsgálva. A 61 mintapár 75%-ában azonos mértékű PD-L1 expresszió volt megfigyelhető a primer tüdő ADC és az agyi áttét tumorsejtjein.

16. táblázat. A primer tüdőtumorban és a hozzá tartozó agyi áttétben megfigyelhető PD-L1 és PD-1 expressziók közötti összefüggések

PD-L1 tumorsejt			
	Pozitív sejtek aránya	p-érték	Pearson R
	no cut-off	**<0,001***	0,464
	<1% vs. ≥1%	0,002	0,390
	<5% vs. ≥5%	0,001	0,409
	<50% vs. ≥50%	0,002	0,393
PD-L1 immunsejt			
	Pozitív sejtek aránya	p-érték	Pearson R
	no cut-off	ns.	-
	<1% vs. ≥1%	ns.	-
	<5% vs. ≥5%	ns.	-
	<10% vs. ≥10%	0,013	0,322
PD-1 immunsejt			
	Pozitív sejtek aránya	p-érték	Pearson R
	no cut-off	ns.	-
	<1% vs. ≥1%	ns.	-
	<5% vs. ≥5%	ns.	-
	<10% vs. ≥10%	ns.	-

ns: nem szignifikáns; PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1; *****: Bonferroni korrekcióval is szignifikáns eredmény

5.2.8. Az immunsejtek mennyiségének és eloszlásának, valamint a PD-L1/PD-1 expresszió mértékének összefüggése a túléléssel

A túlélési adatokat vizsgálva nem találtunk összefüggést az immunsejtek mennyisége, eloszlása, valamint a PD-L1 és PD-1 fehérje expressziós adatok tekintetében sem.

5.2.9. A terápiák hatása a mononukleáris sejtes infiltrátum változásának irányára a primer tüdőtumorhoz képest a hozzá tartozó agyi áttétben

A peritumoralis és intratumoralis mononukleáris sejtek mennyiségében bekövetkezett változás irányát (növekedés/csökkenés/nincs változás) a primer tüdő ADC és a hozzá tartozó agyi áttéti minták között vizsgáltuk az egyes terápiák függvényében. Mindkét paraméter esetén a változás iránya azonos volt az agyi áttétekben a primer tumorhoz képest attól függetlenül, hogy az adott páciens részesült-e kemo-, sugár- vagy szteroid terápiában a primer tüdő vagy az agyi áttét műtéte előtt (**17. táblázat**).

17. táblázat. A terápiás modulok hatása a peritumoralis és intratumoralis immunsejtek változásának irányára az agyi áttétekben a hozzájuk tartozó primer tüdő adenocarcinomákhoz viszonyítva

Alkalmazott terápia	**Intratumoralis immunsejtek mennyiségének változása**	**Peritumoralis immunsejtek mennyiségének változása**
	<20% vs. ≥20%	*van vs. nincs*
	p-érték	p-érték
Sugárt. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,073	0,862
Kemot. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,654	0,620
Sugárt. az agyi áttét műtéte előtt	0,852	0,356
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (bármikor)	0,412	0,946
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 év)	0,196	0,670
Szteroid t. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)	0,086	0,416

Kemot: kemoterápia; Sugárt: sugárterápia, Szteroid t: szteroid terápia

5.2.10. A terápiák hatása a PD-L1/PD-1 expresszió változásának irányára a primer tüdőtumorhoz képest a hozzá tartozó agyi áttétben

A tumorsejtek PD-L1 és az immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziójában bekövetkezett változás irányát (növekedés/csökkenés/nincs változás) a primer tüdő ADC és a hozzá tartozó agyi áttéti minták között az egyes terápiák függvényében vizsgálva lényegében nem volt megfigyelhető szignifikáns különbség Bonferroni korrekció elvégzésével (**18. táblázat**). Egy esetben, a primer tüdőtumor műtéti rezekciója előtt kapott sugárkezelés esetén mutatkozott szignifikáns különbség. A primer tumormintához képest az agyi áttétben az immunsejtek magasabb PD-1 expresszióját igazoltuk ($p < 0{,}001^{*}$), azonban ezt az összefüggést csak az 1%-os határértéknél láttuk, és csak 2 beteg részesült ilyen terápiában a 61 főből. Az agyi áttét műtéte előtt kemoterápiában részesült betegek agyi áttétében a tumorsejtek PD-L1 expressziója szignifikánsan magasabbnak mutatkozott a primer tumor tumorsejtjeihez képest ($p = 0{,}038$). Azonban ez az összefüggés nem volt szignifikáns a Bonferroni korrekció elvégzésekor.

18. táblázat. A terápiás modulok hatása a PD-L1 és PD-1 expresszió változásának irányára az agyi áttétekben a hozzájuk tartozó primer tüdő adenocarcinomákhoz viszonyítva

Alkalmazott terápia	**Tumorsejtek PD-L1 expressziójának változása**			
	határérték nélkül	*<1% / ≥1%*	*<5% / ≥5%*	*<50% / ≥50%*
	p-érték	p-érték	p-érték	p-érték
Sugárt. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,640	0,476	0,978	0,571
Kemot. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,165	0,342	0,426	0,249
Sugárt. az agyi áttét műtéte előtt	0,400	0,389	0,597	0,714
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (bármikor)	0,038	0,096	0,103	0,251
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 év)	0,962	0,638	0,796	0,313
Szteroid t. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)	0,691	0,774	0,306	0,986
Alkalmazott terápia	**Immunsejtek PD-L1 expressziójának változása**			
	határérték nélkül	*<1% / ≥1%*	*<5% / ≥5%*	*<10% / ≥10%*
	p-érték	p-érték	p-érték	p-érték
Sugárt. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,436	0,260	0,468	0,51
Kemot. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,080	0,109	0,484	0,321
Sugárt. az agyi áttét műtéte előtt	0,426	0,44	0,484	0,321
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (bármikor)	0,199	0,752	0,508	0,297
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 év)	0,691	0,264	0,720	0,540
Szteroid t. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)	0,511	0,514	0,059	0,192
Alkalmazott terápia	**Immunsejtek PD-1 expressziójának változása**			
	határérték nélkül	*<1% / ≥1%*	*<5% / ≥5%*	*<10% / ≥10%*
	p-érték	p-érték	p-érték	p-érték
Sugárt. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,217	**<0,001***	0,374	0,430
Kemot. a primer tüdőtumor műtéte előtt	0,602	0,645	0,619	0,234
Sugárt. az agyi áttét műtéte előtt	0,399	0,433	0,466	0,134
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (bármikor)	0,401	0,614	0,442	0,291
Kemot. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 év)	0,056	0,403	0,183	0,016
Szteroid t. az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)	0,189	0,734	0,027	0,135

Kemot: kemoterápia; PD-1: programozott sejthalál receptor-1; PD-L1: programozott sejthalál ligand-1; Sugárt: sugárterápia, Szteroid t: szteroid terápia; *: Bonferroni korrekcióval is szignifikáns eredmény

5.3. 19 primer tüdő ADC és agyi áttét párt tartalmazó kohort

A vizsgálatba bevont 19 beteg klinikai adatait a **19. táblázat**ban foglaltam össze.

5.3.1. Tumor infiltráló lymphocyták mennyisége

A 38 minta HE festett metszeteit szemi-kvantitatív módon megvizsgálva mindegyik tumor mikrokörnyezetében ≥1% lymphocytát azonosítottunk (**20. táblázat**). Így mindegyik mintát alkalmasnak találtuk a további vizsgálatok elvégzésére.

5.3.2. T-sejt receptor fragmenthossz-analízisének eredményei

A vizsgálatba bevont 38 mintából 2 primer tüdő ADC és 3 agyi áttét mintában nem volt elegendő DNS, így az analízis sikertelen volt. A vizsgálatra alkalmas 17 primer tüdő ADC mintából egy, míg a 16 agyi áttét mintából három bizonyult monoklonálisnak. TCR státusz változást (poliklonális → monoklonális) két agyi áttétben figyeltünk meg a hozzá tartozó primer tüdő adenocarcinomához képest (**21. táblázat**).

5.3.3. A fragmenthossz-analízis eredményeinek összefüggése a klinikai adatokkal

A klinikai adatokat vizsgálva nem figyeltünk meg összefüggést a betegek neme és COPD státusza valamint a tumorminták TCR státusza között. A dohányzás tekintetében a primer tüdő ADC-k TCR státusza esetén sem láttunk összefüggést. Az agyi áttéteknél egy tendenciát láttunk (p = 0,054, Pearson R = 0,524), miszerint a valaha dohányzó és aktívan dohányzó betegek esetén gyakoribb a monoklonális TCR státusz.

A terápiás adatokat elemezve a primer tüdő ADC műtéte előtt kapott kemoterápia nem befolyásolta a tüdő ADC minta TCR státuszát. Az agyi áttét műtéte előtt kapott kemo- vagy szteroid terápia önmagában nem volt hatással az agyi áttét TCR státuszára, valamint az összetartozó primer tüdő ADC és agyi áttét minták TCR státusza között megfigyelhető változásra sem. Azonban a kemo- és szteroid terápiában egyaránt részesült betegeknél a kettős terápia szignifikánsan befolyásolta az összetartozó tumor minták között megfigyelhető TCR státusz változást (p = 0,032, Pearson R = 0,555): a mindkét terápiában részesült betegek 40%-ánál a primer tüdő ADC poliklonális státusza monoklonálissá változott az agyi áttétben.

19. táblázat. Primer tüdő ADC-ben és agyi áttétben szenvedő betegek klinikai adatai

	N=19	%
Életkor (év)		
Átlag (±SD)	57,39 (±5,42)	
Tartomány	48,5-71,5	
Nem		
Férfi	11	57,9
Nő	8	42,1
Dohányzás		
Dohányzik	5	26,3
Leszokott	9	47,4
Nem dohányzott	2	10,5
Nem ismert	3	15,8
COPD		
Igen	10	52,6
Nem	6	31,6
Nem ismert	3	15,8
Klinikai stádium a tüdőtumor diagnózisakor		
IA	2	10,5
IB	3	15,8
IIA	5	26,3
IIB	1	5,3
IIIA	2	10,5
IIIB	0	0,0
IV (agy)	6	31,6
Kemoterápia a primer tüdőtumor műtéte előtt		
Igen	2	10,5
Nem	17	89,5
Sugárterápia a primer tüdőtumor műtéte előtt		
Igen	0	0,0
Nem	16	84,2
Nem ismert	3	15,8
Szteroid terápia az agyi áttét műtéte előtt (≤1 hó)		
Igen	10	52,6
Nem	6	31,6
Nem ismert	3	15,8
Kemoterápia az agyi áttét műtéte előtt		
Igen	8	42,1
Nem	10	52,6
Nem ismert	1	5,3
Sugárterápia az agyi áttét műtéte előtt		
Igen	0	0,0
Nem	16	84,2
Nem ismert	3	15,8

COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség; N: esetszám; SD: standard deviáció

20. táblázat. Az összetratozó primer tüdő ADC-agyi áttét párokban megfigyelhető lymphocyták mennyisége

Azonosító kód	Primer tüdő ADC	Agyi áttét	Azonosító kód	Primer tüdő ADC	Agyi áttét
S_1	+++	++	S_12	++	+
S_2	+++	+++	S_13	+++	++
S_3	++	+	S_14	++	++
S_4	+++	++	S_15	+++	++
S_5	++	+	S_16	++	++
S_6	++	+++	S_17	+++	+
S_7	+++	++	S_18	+++	+++
S_9	+++	++	S_19	++	++
S_10	+++	++	S_20	+++	++
S_11	+++	++			

ADC: adenocarcinoma; +: 1-5%; ++: 5-20%; +++: >20%

21. táblázat. Összetratozó primer tüdő ADC és agyi áttét párokon végzett T-sejt receptor klonalitás vizsgálat eredményei és a betegek terápiás adatai

Azonosító kód	Primer tüdő ADC TCR státusz	Agyi áttét TCR státusz	Kemoterápia a primer tumor műtéte előtt	Kemoterápia az agyi áttét műtéte előtt	Szteroid terápia az agyi áttét műtéte előtt
S_1	PK	PK	nem kapott	nem kapott	nem kapott
S_2	PK	PK	nem kapott	kapott	nem kapott
S_3	PK	**MK**	nem kapott	kapott	kapott
S_4	PK	PK	kapott	kapott	kapott
S_5	PK	PK	nem kapott	nem kapott	kapott
S_6	PK	PK	nem kapott	kapott	kapott
S_7	PK	**MK**	nem kapott	kapott	kapott
S_9	PK	PK	nem kapott	nem kapott	kapott
S_10	PK	PK	nem kapott	nem kapott	nem kapott
S_11	PK	PK	nem kapott	nem kapott	kapott
S_12	PK	PK	nem kapott	kapott	kapott
S_13	**MK**	**MK**	nem kapott	nem kapott	nem kapott
S_14	PK	PK	nem kapott	kapott	-
S_15	PK	PK	nem kapott	nem kapott	-
S_16	PK	PK	nem kapott	nem kapott	kapott
S_17	PK	PK	nem kapott	kapott	nem kapott
S_18	-	-	nem kapott	-	nem kapott
S_19	PK	-	kapott	nem kapott	kapott
S_20	-	-	nem kapott	nem kapott	-

ADC: adenocarcinoma; MK: monoklonális; PK: poliklonális; TCR: T-sejt receptor

6. Megbeszélés

A tüdődaganatok kezelésében sokáig a platina-bázisú kemoterápia dominált a műtéti beavatkozások mellett. Ezt követte a célzott terápiák, a tirozin-kináz és az anaplasztikus lymphoma kináz gátlók időszaka. Azonban ezen szerek alkalmazása sem nyújt kielégítő terápiás eredményt. Napjainkban egyre nagyobb teret hódít az immunterápia, melynek kezdeti sikerei bizakodásra adnak okot [106]. Az immunellenőrzőpont-gátlók közül a PD-L1/PD-1 gátló szerek kerültek bevezetésre a tüdődaganatok kezelésében. Az immunellenőrzőpont-gátlók terápiás kritériumai egyre jobban körvonalazódnak, azonban még mindig nem határoztak meg a stádiumoknak megfelelő szelekciós kritériumrendszert (pl. PD-L1 expressziós határérték), így az agyi áttétes NSCLC-s betegeknél sem [113, 161].

Munkánk során 61 primer tüdő ADC és 208 tüdő ADC eredetű agyi áttétben határoztuk meg az immunsejtek eloszlásának és mennyiségének, a tumorsejtek PD-L1 expressziójának és az immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziójának összefüggéseit. További 19 primer tüdő ADC – agyi áttét párban a minták TCR klonalitását határoztuk meg. Fontosnak tartottuk csak ADC és ADC eredetű áttétek vizsgálatát, hiszen a korábbi eredmények alapján a PD-L1 expresszió túlélésre gyakorolt hatása a csak tüdő ADC mintákat vizsgáló tanulmányokban is ellentmondásos [162, 163]. A primer tüdőcarcinoma kezelése során gyakran alkalmaznak szisztémás kemoterápiát vagy sugárterápiát [28], agyi áttét esetén pedig szteroid terápiát [66]. Ezen terápiák hatásának vizsgálata kulcsfontosságú, mivel nem pontosan ismert, hogy miként befolyásolják a jelenleg elfogadott biomarker, a tumorsejtek PD-L1 expressziójának mértékét az agyi áttétekben, ezáltal az immunellenőrzőpont-gátló terápia indikációs körét. A további paramétereket újabb potenciális biomarkerek azonosítása érdekében vizsgáltuk. A primer tüdő ADC – agyi áttét párokat vizsgálva arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a tumorpárok fent említett paraméterei között megfigyelhető összefüggések alapján következtethetünk-e a primer tumor jellemzőiből az agyi áttét sajátosságaira, terápiás érzékenységére, illetve, hogy ezen összefüggéseket miként befolyásolják az egyes onkoterápiák.

6.1. A tumorsejtek PD-L1 expressziója

A primer tüdő ADC minták 63,9%-ában, míg az agyi áttétek 58,8%-ában 1% alatti PD-L1 expressziót láttunk a tumorsejteken. A primer minták közül csupán 6,6%-ban, míg az áttéti minták közül 21,8%-ban volt 50% fölötti a tumorsejtek PD-L1 expressziója. Adataink alapján látható, hogy a hazai, agyi áttétet adó tüdő ADC-ben szenvedő populációban – a négy FDA által elfogadott antitest közül, a legalacsonyabb expressziós szintet mutató SP142-es klónt alkalmazva is [164] – a betegek legalább 34-41%-a részesülhet nivolumab vagy pembrolizumab monoterápiában másodvonalban, mivel ezek alkalmazásához elegendő a tumorsejtek 1%-ot meghaladó PD-L1 expressziója [106]. 2017-től pedig már elsővonalban is alkalmazható a pembrolizumab terápia pemetrexed vagy carboplatin kemoterápiával kombinálva PD-L1 expressziós szinttől függetlenül [116]. Ugyanakkor atezolizumab monoterápiában másodvonalban csak az áttétes betegek 22%-a részesíthető a tumorsejtek PD-L1 expresszióját figyelembe véve [106]. Más tanulmányokban primer tüdő ADC mintákat vizsgálva eltérő expressziós szintekről számoltak be. Pawelczyk *és mtsai* 364 tüdő ADC mintát vizsgálva 29,1%-ban kevesebb, mint 1%-os és 4,4%-ban 50%-ot meghaladó PD-L1 expressziót írtak le [165]. Kim *és mtsai* 71,9%-ban kevesebb, mint 1%-os és 13%-ban 50%-ot meghaladó PD-L1 expressziót figyeltek meg 146 tüdő ADC-s beteget vizsgálva [150]. A kohortok között megfigyelhető eltérő PD-L1 expressziós szintek a különböző antitestek alkalmazásából is adódhat, melyből jól látható, hogy a négy elfogadott antitest eredményei nem fednek át egymással.

A tüdő ADC eredetű agyi áttétekben a tumorsejtek PD-L1 expresszióját sem a betegség lefolyása során alkalmazott kemoterápia, sem az agyi áttét műtéte előtt közvetlenül alkalmazott szteroid terápia nem befolyásolta. Melanoma eredetű agyi áttétekben már beszámoltak arról, hogy a szteroid terápia nincs hatással a tumorsejtek PD-L1 expressziójára [166]. Azonban primer NSCLC mintákat vizsgálva ellentmondásosak az eredmények. Shin *és mtsai* szignifikáns PD-L1 expresszió növekedést [167], azonban kutatócsoportunk másokhoz hasonlóan a PD-L1 expresszió csökkenését írta le platina bázisú kemoterápiát követően [168-170]. Míg a primer daganatra adott kemoterápia az elsődleges lokalizációban befolyásolhatja a tumorsejtek PD-L1 expresszióját, addig az agyi áttétek esetén, feltehetően a vér-agy gát védő szerepe

miatt, a terápiás hatás elmaradása mellett [171], a PD-L1 expressziót befolyásoló hatás sem alakul ki.

A primer tüdő ADC – agyi áttét párokat vizsgálva pozitív korrelációt figyeltünk meg a párok között a tumorsejtek PD-L1 expresszióját tekintve. Eredményeink megegyeznek más, primer NSCLC és összetartozó agyi áttét párokat vizsgáló tanulmányok eredményeivel. Mansfield *és mtsai* [159], valamint Takamori *és mtsai* [160] 5%-os határértéket használva írtak le hasonló összefüggést. Kim *és mtsai* 1%-os és 50%-os határérték esetén számoltak be a párok PD-L1 expressziója között megfigyelhető korrelációról [172]. Mivel az agyi áttétek valószínűleg csak néhány tumorsejtből származnak [66, 173], két főbb hipotézis is magyarázhatja a fenti összefüggést: 1) Az agyi áttétek olyan primer tumorsejtekből fejlődnek ki, amelyek véletlenszerű szelekciója a PD-L1 pozitív tumorsejtek arányát tükrözi. 2) A metasztatizáló tumorsejtek PD-L1 expressziójától függetlenül az agyi áttétekben a primer tumorra jellemző PD-L1 expressziós mintázat alakul ki. Ezt a hipotézist sejtes kísérletek is alátámasztják, miszerint az egyensúlyban lévő sejtpopulációkból izolált szubpopulációk ugyanazt az egyensúlyt érik el [174].

A tumor párok tumorsejtjeinek PD-L1 expressziója között megfigyelt összefüggést a preoperatívan alkalmazott kemo-, sugár- és szteroid terápia nem befolyásolta. Takamori *és mtsai* bár kis esetszámot vizsgáltak, szintén nem mutattak ki kemoterápia által kiváltott hatást NSCLC eredetű agyi áttétek PD-L1 expressziójára [160].

Összességében feltételezhető, hogy a tumorsejtek PD-L1 expressziója a daganat saját jellegzetessége, amit nem befolyásolnak a rutinszerűen alkalmazott onkoterápiák. Amennyiben továbbra is a tumorsejtek PD-L1 expressziójának mértéke marad az egyetlen PD-L1/PD-1 gátló kezelésre vonatkozó terápiás kritérium tüdőcarcinomás betegek esetén, valószínűsíthető, hogy áttétes betegeknél a terápiás indikáció felállításához elegendő lehet csak a primer tumorminta PD-L1 expressziójának meghatározása, ami nem operálható agyi áttétek jelenlétekor nagy segítség lenne.

Habár mi nem találtuk a primer tüdő ADC-k tumorsejtjeinek PD-L1 expresszióját prognosztikusnak, Pawelczyk *és mtsai* 364 tüdő ADC mintát vizsgálva 50%-nál kevesebb PD-L1 expresszió esetén kedvezőbb túlélésről számoltak be [165]. Az agyi áttétek tumorsejtjeinek PD-L1 expressziója a teljes kohortban nem bizonyult prognosztikusnak, azonban a klinikai alcsoportokat külön vizsgálva a primer tumor műtéten átesett és

többszörös agyi áttétel rendelkező betegcsoportban az 1% alatti PD-L1 expresszió szignifikánsan jobb túléléssel társult az agyi áttét műtététől számítva. Feltételezhető, hogy ezekben az esetekben a PD-L1/PD-1 gátló szerek önmagukban is jelentős hatást érhetnek el az immunválasz reaktiválásával.

6.2. Tumor-asszociált immunsejtek

6.2.1. A tumor-asszociált immunsejtek mennyiségének és eloszlásának összefüggései

A primer tüdő ADC minták 84%-ában, míg az agyi áttétek 69%-ában kevesebb, mint 20% intratumoralis gyulladásos sejtes beszűrődés volt látható. A mononukleáris gyűrű a primer minták 22%-ában, míg az agyi áttétek 44%-ában hiányzott. Az alacsony immunsejtes infiltrátummal rendelkező daganatok esetén feltételezhető, hogy a betegek nem rendelkeznek a daganatot eliminálni képes lokális immunválasszal. Valószínűleg ezen betegek esetén nem várható kedvező hatás immunellenőrzőpont-gátló monoterápia alkalmazásakor. Olyan szerekkel kombinálva, melyek növelik az immunsejtek tumorszövet környezetébe történő vándorlását, mint például a CTLA-4 gátló ipilimumab, kedvezőbb hatás érhető el [95].

A primer tüdő ADC - agyi áttét párokat összevetve nem találtunk öszefüggést a tumor mikrokörnyezetében megfigyelhető immunsejtek elhelyezkedésében és mennyiségében. Mansfield *és mtsai* 73 primer tüdőcarcinoma – agyi áttét pár esetén szignifikánsan több tumor infiltráló lymphocytáról számoltak be a primer tumorban az agyi áttéthez képest [159]. Kim *és mtsai* 12 primer tüdőcarcinoma – agyi áttét párt vizsgálva írták le, hogy nincs különbség az eltérő lokalizációban lévő, összetartozó tumorpárok mikrokörnyezetében található immunsejtek mennyiségében [172].

A preoperatívan alkalmazott terápiák, így a kemo-, sugár- és szteroid terápia hatását vizsgálva azt találtuk, hogy egyik eljárás sem befolyásolja az agyi áttétekben jelenlévő immunsejtek elhelyezkedését és mennyiségét, a primer tumorhoz viszonyítva sem. Berghoff *és mtsai* vegyes eredetű agyi áttét kohortokon szintén kimutatták, hogy sugár- és szteroid terápiától független az immunsejtek eloszlása a tumor mikrokörnyezetében [175, 176]. Mindezek alapján egyik terápia sincs hatással az immunsejtek tumoros mikrokörnyezetbe való vándorlására.

Az agyi áttétek esetén pozitív korrelációt mutattunk ki a stromális immunsejtek mennyisége és a mononukleáris gyűrű jelenléte között. Az irodalmi adatok nem homogén

betegcsoportokat vizsgálva ellentmondásosak. Leírtak már az agyi áttétek körül több gyulladásos sejtet, mint intratumoralisan [175], ahogy beszámoltak már a tumor stromában megfigyelhető magasabb arányú immunsejtes beszűrődésről is [176]. A primer tüdő ADC-k esetén az agyi áttétekben megfigyelthez hasonló tendenciát láttunk.

A primer tüdő ADC mintákban nem figyeltünk meg összefüggést az immunsejtek mennyisége és eloszlása, valamint a tumorsejtek PD-L1 expressziója között. Azonban az agyi áttétekben a stromalis immunsejtek mennyisége és a tumorsejtek PD-L1 expressziója pozitív korrelációt mutatott. Más tanulmányokban melanoma és NSCLC eredetű agyi áttéteket vizsgálva, szintén szignifikáns pozitív korrelációt írtak le a tumor infiltráló lymphocyták mennyisége és a minták tumorsejtjeinek PD-L1 expressziója között [166, 177, 178]. Ez az eredmény megegyezik azzal a megfigyeléssel, hogy a tumorsejtek PD-L1 expressziója immunológiailag aktív mikrokörnyezetet tükröz [179].

A primer tüdő ADC mintákban az immunsejtek mennyisége és eloszlása nem bizonyult prognosztikusnak. Korábbi tanulmányokban azonban kimutatták, hogy NSCLC esetén a tumor infiltráló vagy tumor stromában megfigyelhető lymphocyták független prognosztikus markerek. A magas arányú immunsejtes beszűrődés kedvezőbb prognózissal társul [180-182]. Ez az összefüggés a mi kohortunkban feltételezhetően a primer tüdő ADC minták alacsony száma miatt nem volt kimutatható. Eredményeink alapján a tüdő ADC eredetű agyi áttétekben megfigyelhető mononukleáris sejtes infiltráció, főleg peritumoralis lokalizációban, társult kedvezőbb túléléssel, mind a primer tumor diagnózisától, mind az agyi áttét műtététől számítva. Ezekben az esetekben az immunellenőrzőpont-gátló szerek általi immunrendszer reaktiválás további kedvező klinikai hatással járhat.

6.2.2. A tumor-asszociált immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziójának összefüggései

A primer tüdő ADC minták 55,7%-ában, míg az agyi áttétek 36,2%-ában 1% alatti PD-L1 expressziót láttunk az immunsejteken. A PD-1 expresszió a primer minták 16,4%-ában és az agyi áttétek 24,8%-ában bizonyult 1%-nál kevesebbnek. A primer minták közül csupán 3,3%-ban, míg az áttéti minták közül 25%-ban volt 10% fölötti az immunsejtek PD-L1 expressziója. Az immunsejtek PD-1 expressziója a primer minták 78,7%-ában és az agyi áttétek 11,5%-ában bizonyult 10%-nál többnek. Jelenleg az immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziója sem terápiás biomarker PD-L1/PD-1 gátlók

esetén. Az FDA gyomor adenocarcinoma esetén elfogadta a CPS alkalmazását pembrolizumab terápia esetén: a CPS szerinti 1%-ot meghaladó PD-L1 expresszió elegendő a javaslat felállításához [183]. Amennyiben tüdőcarcinomákat vizsgáló klinikai tanulmányok hasonló eredménnyel szolgálnának, a betegek több, mint fele részesülhetne eredményes PD-L1/PD-1 gátló terápiában.

A párokban az immunsejtek PD-L1 expressziója a tumorsejtek PD-L1 expressziójához hasonló összefüggést mutatott, azonban az immunsejtek PD-1 expressziója eltérő volt az agyi áttétben a primer tüdő ADC-hez képest. Kim *és mtsai* [172], valamint Berghoff *és mtsai* [184] munkájához hasonlóan az agyi áttétekben az immunsejtek PD-1 pozitivitásának csökkenése volt látható. Az agyi áttétekben a PD-L1 pozitív tumor- és immunsejtek mennyisége pozitívan korrelált a PD-1 pozitív immunsejtek mennyiségével. Duchnowska *és mtsai* emlőcarcinoma eredetű agyi áttéteket vizsgálva nem figyeltek meg összefüggést a PD-1 és PD-L1 expresszió között [185]. Eredményeink alapján arra következtethetünk, hogy a tumorsejtek és immunsejtek között dinamikus kommunikáció zajlik, valamint hogy a kimerült, PD-1 expresszáló immunsejtek a környezetükben PD-L1 expressziót indukálnak [186].

Mind a primer tüdő ADC, mind az agyi áttét mintákban a 20%-ot meghaladó stromalis immunsejtes infiltrátum, valamint a mononukleáris gyűrű jelenléte az immunsejtek magasabb PD-L1 és PD-1 expressziójával társult. Mivel az agyi áttétekben az immunsejtek PD-L1 és PD-1 expressziója is pozitív korrelációt mutatott a tumorsejtek PD-L1 expressziójával, az együttesen megfigyelhető fehérje expressziók potenciálisan immunszuppresszív környezetre utalnak [179].

Különböző primer daganatokból származó agyi áttéteket vizsgáló tanulmányokban arról számoltak be, hogy a szteroid terápiának nincs hatása az agyi áttétben megfigyelhető PD-L1 expresszió mennyiségére [166, 177]. Ezzel ellentétben saját kutatásunk során az immunsejtek PD-L1 expresszióját az agyi áttétekben a közvetlenül az agyi áttét műtéte előtt alkalmazott szteroid terápia szignifikánsan csökkentette. A primer tüdő ADC – agyi áttét párok között megfigyelt változás iránya a fentiekhez hasonló tendenciát mutatott szteroid terápia esetén. Ezek alapján a szteroid terápia az immunsejtek mennyiségének változtatása nélkül csökkentheti azok PD-L1 expresszióját. A preoperatívan alkalmazott szisztémás kemoterápia és a sugárterápia nem befolyásolta a PD-L1 és PD-1 expresszió mértékét az agyi áttétekben. Mivel a szteroid terápia hatással lehet az agyi áttétekben az

immunsejtek PD-L1 expressziójára, azonban nem befolyásolta a tumorsejtek PD-L1 és az immunsejtek PD-1 expresszióját, így a CPS bevezetése esetén szükséges lehet az agyi áttétek vizsgálata a PD-L1/PD-1 gátló kezelés előtt.

Az agyi áttétek esetén kapott eredményeinket a POPLAR-tanulmány alapján is kiértékeltük. Mivel ez a tumorsejtek és immunsejtek PD-L1 expresszióját is figyelembe veszi, így biológiailag relevánsabb információt nyújthat. A minták 26,4%-a a „nem expresszáló" csoportba került, ami azt jelenti, hogy sem a tumorsejtek, sem az immunsejtek nem expresszálták a PD-L1-et, így ezek a betegek nagy valószínűséggel nem profitálnának a PD-L1/PD-1 gátló kezelésből. A PD-L1-et expresszáló minták közül 41,7% bizonyult „magasan expresszáló"-nak, ami a teljes populáció 30%-a. Ezeknél a betegeknél valószínűleg jelentős kedvező hatás érhető el PD-L1/PD-1 gátló kezeléssel. A PD-L1-et „magasan expresszáló" csoportban a PD-L1 expresszió és a mononukleáris gyűrű jelenléte, valamint a 20%-ot meghaladó stromalis immunsejtes infiltrátum szignifikáns összefüggést mutatott. Ugyanebben a betegcsoportban az immunsejtek magasabb PD-1 expressziója is megfigyelhető volt. A túlélési adatokkal összevetve a POPLAR-tanulmány szerinti csoportokat a teljes kohortban, nem találtunk összefüggést. A klinikailag homogenizált betegcsoportok közül, a primer tumor műtéten átesett és többszörös agyi áttéttel rendelkező betegcsoportban a „nem expresszálók" agyi áttét műtéte utáni túlélése az expresszálókhoz, valamint az „alacsonyan expresszálók" teljes túlélése a „magasan expresszálókhoz" képest bizonyult jobbnak. Bár kezdetben úgy tűnt, hogy a POPLAR-tanulmány szerinti kombinált értékelés hasznos lehet a terápiás javaslat felállításakor, mégsem terjedt el az alkalmazása. Néhány tanulmányban azonban megtalálható ennek az értékelő rendszernek az alkalmazása. Így például Gadgeel *és mtsai* agyi áttétes NSCLC-s betegeknél 42,8%-os „nem expresszáló" és 17,5%-os „magasan expresszáló" arányt írtak le 360 beteget vizsgálva [187].

6.3. T-sejt receptor klonalitás

A klinikai vizsgálatok alapján egyre nyilvánvalóbb, hogy a TCR státusz potenciális biomarkerként szolgálhat a tumorellenes adaptív immunitás vizsgálatához és az immunellenőrzőpont-gátló kezelésre adott válasz előrejelzéséhez az egyes szolid daganatokban [141]. A TCR státusz meghatározásához leggyakrabban a CDR3 régió szekvenálását alkalmazzák [137].

Reuben *és mtsai* 11 neoadjuváns kezelésben nem részesült tüdő ADC mintát vizsgálva mutatták ki, hogy a magas intratumoralis TCR heterogenitás fokozott kiújulással, progresszióval és rövidebb betegségmentes túléléssel társul [188]. Saját mintáink közül a TCR analízisre alkalmas 17 primer tüdő ADC mintából 16 bizonyult poliklonálisnak, ami a fenti eredmény alapján nem meglepő, hiszen minden esetben kialakult agyi áttét, tehát a betegség progrediált.

Melanoma és prosztata carcinoma esetén alkalmazott anti-CTLA-4 kezelés növelte a mintákban a TCR diverzitást, valamint az eredetileg magas TCR diverzitással bíró betegeknél alkalmazott CTLA-4 gátló terápia kedvezőbb teljes túléléssel járt [189]. Melanoma mintákat vizsgálva a PD-1 gátló kezelésre reagáló betegek tumor infiltráló lymphocytáinak magas TCR diverzitása volt jellemző [143, 190]. A fentiek alapján valószínűsíthető, hogy a PD-1 gátló kezelés előtt alkalmazott CTLA-4 gátlás fokozhatja annak terápiás hatását a daganatok poliklonális TCR státuszának előidézése által [143]. Saját mintáinkat nézve a primer tüdő ADC-k több, mint 90%-ában és az agyi áttétek több, mint 80%-ában lenne várható terápiás hatás PD-1 gátló kezelés esetén, ami CTLA-4 gátló előkezeléssel tovább növelhető. Azonban más tanulmányok azt feltételezik, hogy a csökkent TCR diverzitás tumor-antigén-specifikus T-sejtek akkumulációját mutathatja a tumor mikrokörnyezetében, tehát a TCR diverzitás vizsgálatával azonosíthatóvá válnak esetleges tumor-reakítv T-sejt klónok [142, 190]. Echchakir *és mtsai* 9 NSCLC mintából 3 esetben írtak le oligoklonalitást, azaz domináns T-sejt klónt, ami bizonyos T-sejt alpopulációk relatív expanziójával társult [191]. Saját tüdő ADC mintáink közül csak egy, az agyi áttétek közül pedig 3 esetben figyeltünk meg monoklonalitást. Annak tisztázására, hogy ezekben a mintákban a domináns T-sejt klón jelenléte valóban tumor-specifikus immunitást jelezhet-e, további nagyszámú betegcsoportok vizsgálata és túlélési analízise szükséges.

A párok TCR státuszát összehasonlítva két esetben figyeltünk meg változást, ami összefüggést mutatott az agyi áttét műtéte előtt alkalmazott kemo- és szteroidterápiával. A két esetben a terápiás szempontból feltételezhetően kedvezőbb poliklonális státusz monoklonálissá változott az agyi áttétben a primer tüdő ADC-hez képest. Tehát ha a TCR státusz terápiás biomarkerként elfogadásra kerül, akkor feltételezhető, hogy szükségessé válik mindegyik tumorminta vizsgálata a kezelés előtt.

Kutatásaink eredménye alapján összességében elmondható, hogy a daganatos betegség kezelése során alkalmazott hagyományos onkoterápiás eljárások, így a kemo- és sugárterápia, valamint az agyi áttétek esetén csaknem rutinszerűen alkalmazott szteroid terápia nem befolyásolja az immunellenőrzőpont-gátló terápia szempontjából fontos biomarker, a tumorsejtek PD-L1 expressziós szintjét az agyi áttétekben. Az immunsejtek PD-L1 expresszióját azonban a szteroid terápia szignifikánsan csökkentette. Bár csak 16 pár esetén tudtuk vizsgálni a TCR klonalitást, elmondhatjuk, hogy az agyi áttét műtéte előtt alkalmazott kemoterápia és szteroid terápia együttesen befolyásolhatja az agyi áttétek TCR klonalitását, azonban ennek pontosabb megítélése érdekében további vizsgálatok szükségesek. Amennyiben továbbra is a tumorsejtek PD-L1 expressziójának mértéke marad az egyetlen PD-L1/PD-1 gátló kezelésre vonatkozó terápiás kritérium, valószínűsíthető, hogy áttétes betegeknél a terápiás indikáció felállításához elegendő lehet csak a primer tumorminta PD-L1 expressziójának meghatározása. Azonban ha a CPS vagy a TCR státusz meghatározása bevezetésre kerül, elengedhetetlen lesz mindegyik tumorminta vizsgálata a kezelés megkezdéséhez.

7. Következtetések

Dolgozatom új megállapításai a következők:

- A tumorsejtek PD-L1 expresszióját sem a betegség lefolyása során alkalmazott kemoterápia, sem az agyi áttét műtéte előtt közvetlenül alkalmazott szteroid terápia nem befolyásolja tüdő ADC eredetű agyi áttétekben.

- A primer tüdő ADC – agyi áttét párok tumorsejtjeinek PD-L1 expressziója között megfigyelt pozitív korrelációt nem módosítja a preoperatívan alkalmazott kemo-, sugár- és szteroid terápia.

- A primer tumor műtéten átesett és többszörös agyi áttéttel rendelkező betegcsoportban a tumorsejtek 1% alatti PD-L1 expressziója szignifikánsan jobb túléléssel társul az agyi áttét műtététől számítva.

- Az agyi áttétekben az immunsejtek elhelyezkedésére és mennyiségére nincs hatással a preoperatívan alkalmazott kemo-, sugár- és szteroid terápia, a primer tumorhoz viszonyítva sem.

- A tüdő ADC eredetű agyi áttétekben jelenlévő mononukleáris gyűrű kedvezőbb túléléssel társul, mind a primer tumor diagnózisától, mind az agyi áttét műtététől számítva.

- Az agyi áttétekben a preoperatív szteroid terápia az immunsejtek mennyiségének változtatása nélkül csökkentheti azok PD-L1 expresszióját.

- A POPLAR-tanulmány szerinti betegcsoportok esetén a PD-L1 expresszió prognosztikus markernek bizonyult tüdő ADC eredetű agyi áttétekben.

- A kettős kemo- és szteroid terápia megváltoztathatja a TCR státuszt az agyi áttétekben a primer tüdő ADC-hez képest.

8. Összefoglalás

Az agyi áttétek a leggyakoribb felnőttkori intracranialis daganatok, melyek többsége tüdőcarcinomából származik, megjelenésekor a betegek prognózisa a multi-diszciplináris terápiás megközelítés ellenére kedvezőtlen. Újabb terápiás lehetőségként immunellenörzőpont-gátló szerek klinikai vizsgálata zajlik agyi áttétes betegek esetén, azonban nem tisztázott, hogy milyen biomarkerek megléte szükséges a terápiás javaslat felállításához. A tumorsejtek PD-L1 expressziója már egy elfogadott biomarker, azonban az immunsejtek mennyiségének, PD-1/PD-L1 expressziójának, valamint T-sejt receptor (TCR) státuszának jelentősége még vitatott.

227 tüdő adenocarcinoma (ADC) eredetű agyi áttét mintát vizsgáltunk, 80 esetben a hozzájuk tartozó primer tüdő ADC mintákkal párban. Feltérképeztük a tumorsejtek PD-L1 expresszióját és annak összefüggéseit az egyes preoperatív, így a kemo-, sugár- és szteroid terápiákkal, valamint a betegek túlélésével. Meghatároztuk a tumor-asszociált gyulladásos sejtek eloszlását, mennyiségét és PD-1/PD-L1 expresszióját, összevetve a tumorsejtek PD-L1 expressziójával, a korábban alkalmazott terápiakkal és a betegek túlélésével, valamint a TCR klonalitást a primer tüdő – agyi áttét párokban.

Eredményeink alapján a tumorsejtek PD-L1 expresszióját, az immunsejtek mennyiségét és eloszlását a preoperatív kemo- és szteroid terápia nem befolyásolja tüdő ADC eredetű agyi áttétekben. A tumor párok tumorsejtjeinek PD-L1 expressziója között megfigyelt pozitív korrelációt sem módosítják a preoperatívan alkalmazott terápiák. Azonban az agyi áttétekben a preoperatív szteroid terápia az immunsejtek mennyiségének változtatása nélkül csökkentheti azok PD-L1 expresszióját. A kettős kemo- és szteroid terápia megváltoztathatja a TCR státuszt az agyi áttétekben a primer tüdő ADC-hez képest.

Amennyiben a tumorsejtek PD-L1 expressziójának mértéke marad az egyetlen PD-L1/PD-1 gátló kezelésre vonatkozó terápiás kritérium, úgy valószínűsíthető, hogy áttétes betegeknél a terápiás indikáció felállításához elegendő lehet csak a primer tumorminta PD-L1 expressziójának meghatározása. Azonban ha a tumor- és immunsejtek PD-L1 expresszióját kombináltan kell értékelni vagy bevezetésre kerül a TCR státusz meghatározása, valószínűleg elengedhetetlen lesz mindegyik tumorminta vizsgálata a kezelés megkezdéséhez.

9. Summary

Metastatic brain lesions are the most common intracranial tumors in adults. The majority of brain metastases originate from lung cancers. Survival of patients with brain metastases is generally poor even with a multi-disciplinary therapeutic approach. Novel immune checkpoint inhibitors are in advanced clinical development, however, patient selection criteria for immune checkpoint inhibitor therapy are still under debate. The PD-L1 expression of tumor cells is the only accepted biomarker, however, the presence, PD-1/PD-L1 expression and T-cell receptor (TCR) diversity of tumor-infiltrating immune cells may be more relevant to immune checkpoint inhibitor response.

We analyzed 227 brain metastases from lung adenocarcinoma (ADC) and 80 paired primary lung ADC samples. We determined the PD-L1 expression of tumor cells and its correlations with preoperative chemo-, radio- or steroid treatment, as well as with survival data. We evaluated the presence, distribution and PD-1/PD-L1 expression of tumor-infiltrating immune cells and compared these with the PD-L1 expression of tumor cells, preoperative therapies and survival data. We analyzed the TCR diversity in paired primary lung ADC and brain metastasis samples.

According to our results chemo- or steroid therapy appears not to disturb either the PD-L1 expression of tumor cells or the amount and localization of immune cells in brain metastasis of lung ADC. The observed strong correlation of PD-L1 positive tumor cells between primary lung ADC cases and their corresponding brain metastases is not significantly influenced by preoperative therapies. Steroid administration before brain metastasis surgery significantly correlated with less PD-L1 expression of immune cells, without a significant influence on the amount and localization of mononuclear cells. Chemo- and steroid therapy together may induce change in the TCR clonality in brain metastases compared to the corresponding primary lung ADC.

If PD-L1 positivity of tumor cells remains the only therapeutic decision point for PD-L1/PD-1 inhibotor therapy, then assessing PD-L1 positivity of tumor cells in the primary tumor sample may be sufficient as a therapeutic criterion even if such data is not obtainable in the brain metastasis. On the other hand, in case of introducing the combined positive score or TCR diversity as predictors for check-point inhibitors, metastatic disease would require analysis of the metastatic tissue before the treatment.

10. Irodalomjegyzék

1. KSH. (2013) Központi Statisztikai Hivatal Demográfiai Évkönyv. Elérhető: http://www.honcology.net/sites/default/files/rakregiszter_ksh_adatok.pdf.
2. Lung tumors, in Robbins BASIC PATHOLOGY, Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Editors. 2018, ELSEVIER: Philadelphia, Pennsylvania. p. 537-543.
3. William D Travis, Elisabeth Brambilla, Burke AP, Marx A, Nicholson AG. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. 4th edition ed. 2015, Switzerland: WHO Press.
4. Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. (2011) Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. Clin Chest Med, 32: 605-44.
5. Noone AM, Howlader N, Krapcho M, Miller D, Brest A, Yu M, Ruhl J, Tatalovich Z, Mariotto A, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA (2018) SEER Cancer Statistics Review, 1975-2015, National Cancer Institute. Bethesda, MD. Elérhető: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2015/.
6. Smith CJ, Perfetti TA, Mullens MA, Rodgman A, Doolittle DJ. (2000) "IARC group 2B Carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke. Food Chem Toxicol, 38: 825-48.
7. Smith CJ, Perfetti TA, Rumple MA, Rodgman A, Doolittle DJ. (2000) "IARC group 2A Carcinogens" reported in cigarette mainstream smoke. Food Chem Toxicol, 38: 371-83.
8. Hoffmann D, Hoffmann I. (1997) The changing cigarette, 1950-1995. J Toxicol Environ Health, 50: 307-64.
9. Jemal A, Ward E, Hao Y, Thun M. (2005) Trends in the leading causes of death in the United States, 1970-2002. Jama, 294: 1255-9.
10. Rudin CM, Avila-Tang E, Samet JM. (2009) Lung cancer in never smokers: a call to action. Clin Cancer Res, 15: 5622-5.
11. Pisani P, Bray F, Parkin DM. (2002) Estimates of the world-wide prevalence of cancer for 25 sites in the adult population. Int J Cancer, 97: 72-81.
12. Driscoll T, Nelson DI, Steenland K, Leigh J, Concha-Barrientos M, Fingerhut M, Pruss-Ustun A. (2005) The global burden of disease due to occupational carcinogens. Am J Ind Med, 48: 419-31.

13. Wynder EL, Graham EA. (1950) Tobacco smoking as a possible etiologic factor in bronchiogenic carcinoma; a study of 684 proved cases. J Am Med Assoc, 143: 329-36.
14. Zang EA, Wynder EL. (1996) Differences in lung cancer risk between men and women: examination of the evidence. J Natl Cancer Inst, 88: 183-92.
15. MMWR. (2010) Vital signs: current cigarette smoking among adults aged >or=18 years, United States, 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 59: 1135-40.
16. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Altekruse SF, Kosary CL, Ruhl J, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Eisner MP, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA, BK E. (2011) SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute. Bethesda, MD.
17. Wingo PA, Cardinez CJ, Landis SH, Greenlee RT, Ries LA, Anderson RN, Thun MJ. (2003) Long-term trends in cancer mortality in the United States, 1930-1998. Cancer, 97: 3133-275.
18. Parimon T, Chien JW, Bryson CL, McDonell MB, Udris EM, Au DH. (2007) Inhaled corticosteroids and risk of lung cancer among patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med, 175: 712-9.
19. Skillrud DM, Offord KP, Miller RD. (1986) Higher risk of lung cancer in chronic obstructive pulmonary disease. A prospective, matched, controlled study. Ann Intern Med, 105: 503-7.
20. Tockman MS, Anthonisen NR, Wright EC, Donithan MG. (1987) Airways obstruction and the risk for lung cancer. Ann Intern Med, 106: 512-8.
21. Spitz MR, Etzel CJ, Dong Q, Amos CI, Wei Q, Wu X, Hong WK. (2008) An expanded risk prediction model for lung cancer. Cancer Prev Res (Phila), 1: 250-4.
22. Spitz MR, Hong WK, Amos CI, Wu X, Schabath MB, Dong Q, Shete S, Etzel CJ. (2007) A risk model for prediction of lung cancer. J Natl Cancer Inst, 99: 715-26.
23. Cassidy A, Myles JP, van Tongeren M, Page RD, Liloglou T, Duffy SW, Field JK. (2008) The LLP risk model: an individual risk prediction model for lung cancer. Br J Cancer, 98: 270-6.
24. Chirieac LR, Dacic S. (2010) Targeted Therapies in Lung Cancer. Surg Pathol Clin, 3: 71-82.

25. Villalobos P, Wistuba, II. (2017) Lung Cancer Biomarkers. Hematol Oncol Clin North Am, 31: 13-29.
26. Dingemans AM, Mellema WW, Groen HJ, van Wijk A, Burgers SA, Kunst PW, Thunnissen E, Heideman DA, Smit EF. (2013) A phase II study of sorafenib in patients with platinum-pretreated, advanced (Stage IIIb or IV) non-small cell lung cancer with a KRAS mutation. Clin Cancer Res, 19: 743-51.
27. Chan BA, Hughes BG. (2015) Targeted therapy for non-small cell lung cancer: current standards and the promise of the future. Transl Lung Cancer Res, 4: 36-54.
28. Latimer KM, Mott TF. (2015) Lung cancer: diagnosis, treatment principles, and screening. Am Fam Physician, 91: 250-6.
29. Latimer KM. (2018) Lung Cancer: Clinical Presentation and Diagnosis. FP Essent, 464: 23-26.
30. Nicholson AG, Gonzalez D, Shah P, Pynegar MJ, Deshmukh M, Rice A, Popat S. (2010) Refining the diagnosis and EGFR status of non-small cell lung carcinoma in biopsy and cytologic material, using a panel of mucin staining, TTF-1, cytokeratin 5/6, and P63, and EGFR mutation analysis. J Thorac Oncol, 5: 436-41.
31. Schwartz AM, Rezaei MK. (2013) Diagnostic surgical pathology in lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. Chest, 143: e251S-e262S.
32. Travis WD, Rekhtman N, Riley GJ, Geisinger KR, Asamura H, Brambilla E, Garg K, Hirsch FR, Noguchi M, Powell CA, Rusch VW, Scagliotti G, Yatabe Y. (2010) Pathologic diagnosis of advanced lung cancer based on small biopsies and cytology: a paradigm shift. J Thorac Oncol, 5: 411-4.
33. McLean AEB, Barnes DJ, Troy LK. (2018) Diagnosing Lung Cancer: The Complexities of Obtaining a Tissue Diagnosis in the Era of Minimally Invasive and Personalised Medicine. J Clin Med, 7.
34. Lee B, Lee B, Han G, Kwon MJ, Han J, Choi YL. (2014) KRAS Mutation Detection in Non-small Cell Lung Cancer Using a Peptide Nucleic Acid-Mediated Polymerase Chain Reaction Clamping Method and Comparative Validation with Next-Generation Sequencing. Korean J Pathol, 48: 100-7.

35. Toyokawa G, Seto T. (2014) Anaplastic lymphoma kinase rearrangement in lung cancer: its biological and clinical significance. Respir Investig, 52: 330-8.
36. Martinez P, Hernandez-Losa J, Montero MA, Cedres S, Castellvi J, Martinez-Marti A, Tallada N, Murtra-Garrell N, Navarro-Mendivill A, Rodriguez-Freixinos V, Canela M, Ramon y Cajal S, Felip E. (2013) Fluorescence in situ hybridization and immunohistochemistry as diagnostic methods for ALK positive non-small cell lung cancer patients. PLoS One, 8: e52261.
37. Sholl LM, Weremowicz S, Gray SW, Wong KK, Chirieac LR, Lindeman NI, Hornick JL. (2013) Combined use of ALK immunohistochemistry and FISH for optimal detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas. J Thorac Oncol, 8: 322-8.
38. Cabillic F, Gros A, Dugay F, Begueret H, Mesturoux L, Chiforeanu DC, Dufrenot L, Jauffret V, Dachary D, Corre R, Lespagnol A, Soler G, Dagher J, Catros V, Le Calve M, Merlio JP, Belaud-Rotureau MA. (2014) Parallel FISH and immunohistochemical studies of ALK status in 3244 non-small-cell lung cancers reveal major discordances. J Thorac Oncol, 9: 295-306.
39. Sholl LM. (2015) Biomarkers in lung adenocarcinoma: a decade of progress. Arch Pathol Lab Med, 139: 469-80.
40. Cao B, Wei P, Liu Z, Bi R, Lu Y, Zhang L, Zhang J, Yang Y, Shen C, Du X, Zhou X. (2016) Detection of lung adenocarcinoma with ROS1 rearrangement by IHC, FISH, and RT-PCR and analysis of its clinicopathologic features. Onco Targets Ther, 9: 131-8.
41. Kerr KM, Bubendorf L, Edelman MJ, Marchetti A, Mok T, Novello S, O'Byrne K, Stahel R, Peters S, Felip E. (2014) Second ESMO consensus conference on lung cancer: pathology and molecular biomarkers for non-small-cell lung cancer. Ann Oncol, 25: 1681-90.
42. De Ruysscher D, Faivre-Finn C, Moeller D, Nestle U, Hurkmans CW, Le Pechoux C, Belderbos J, Guckenberger M, Senan S. (2017) European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) recommendations for planning and delivery of high-dose, high precision radiotherapy for lung cancer. Radiother Oncol, 124: 1-10.

43. De Ruysscher D, Faivre-Finn C, Nestle U, Hurkmans CW, Le Pechoux C, Price A, Senan S. (2010) European Organisation for Research and Treatment of Cancer recommendations for planning and delivery of high-dose, high-precision radiotherapy for lung cancer. J Clin Oncol, 28: 5301-10.
44. (2016) Radiation Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer. Elérhető: https://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer/treating/radiation-therapy.html.
45. Haasbeek CJ, Slotman BJ, Senan S. (2009) Radiotherapy for lung cancer: clinical impact of recent technical advances. Lung Cancer, 64: 1-8.
46. Zheng X, Schipper M, Kidwell K, Lin J, Reddy R, Ren Y, Chang A, Lv F, Orringer M, Spring Kong FM. (2014) Survival outcome after stereotactic body radiation therapy and surgery for stage I non-small cell lung cancer: a meta-analysis. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 90: 603-11.
47. Vansteenkiste J, De Ruysscher D, Eberhardt WE, Lim E, Senan S, Felip E, Peters S. (2013) Early and locally advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Ann Oncol, 24 Suppl 6: vi89-98.
48. (2016) Chemotherapy for Non-Small Cell Lung Cancer. Elérhető: https://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer/treating/chemotherapy.html.
49. Imyanitov EN, Yanus GA. (2018) Neoadjuvant therapy: theoretical, biological and medical consideration. Chin Clin Oncol, 7: 55.
50. Mok TS. (2011) Personalized medicine in lung cancer: what we need to know. Nat Rev Clin Oncol, 8: 661-8.
51. Fujimoto J, Wistuba, II. (2014) Current concepts on the molecular pathology of non-small cell lung carcinoma. Semin Diagn Pathol, 31: 306-13.
52. Solomon BJ, Mok T, Kim DW, Wu YL, Nakagawa K, Mekhail T, Felip E, Cappuzzo F, Paolini J, Usari T, Iyer S, Reisman A, Wilner KD, Tursi J, Blackhall F. (2014) First-line crizotinib versus chemotherapy in ALK-positive lung cancer. N Engl J Med, 371: 2167-77.
53. Choi YL, Soda M, Yamashita Y, Ueno T, Takashima J, Nakajima T, Yatabe Y, Takeuchi K, Hamada T, Haruta H, Ishikawa Y, Kimura H, Mitsudomi T, Tanio

Y, Mano H. (2010) EML4-ALK mutations in lung cancer that confer resistance to ALK inhibitors. N Engl J Med, 363: 1734-9.

54. Sasaki T, Koivunen J, Ogino A, Yanagita M, Nikiforow S, Zheng W, Lathan C, Marcoux JP, Du J, Okuda K, Capelletti M, Shimamura T, Ercan D, Stumpfova M, Xiao Y, Weremowicz S, Butaney M, Heon S, Wilner K, Christensen JG, Eck MJ, Wong KK, Lindeman N, Gray NS, Rodig SJ, Janne PA. (2011) A novel ALK secondary mutation and EGFR signaling cause resistance to ALK kinase inhibitors. Cancer Res, 71: 6051-60.
55. Sullivan I, Planchard D. (2016) ALK inhibitors in non-small cell lung cancer: the latest evidence and developments. Ther Adv Med Oncol, 8: 32-47.
56. Janne PA, Shaw AT, Pereira JR, Jeannin G, Vansteenkiste J, Barrios C, Franke FA, Grinsted L, Zazulina V, Smith P, Smith I, Crino L. (2013) Selumetinib plus docetaxel for KRAS-mutant advanced non-small-cell lung cancer: a randomised, multicentre, placebo-controlled, phase 2 study. Lancet Oncol, 14: 38-47.
57. Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, Massion PP, Siwak-Tapp C, Gonzalez A, Fang R, Mark EJ, Batten JM, Chen H, Wilner KD, Kwak EL, Clark JW, Carbone DP, Ji H, Engelman JA, Mino-Kenudson M, Pao W, Iafrate AJ. (2012) ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. J Clin Oncol, 30: 863-70.
58. Mazieres J, Zalcman G, Crino L, Biondani P, Barlesi F, Filleron T, Dingemans AM, Lena H, Monnet I, Rothschild SI, Cappuzzo F, Besse B, Thiberville L, Rouviere D, Dziadziuszko R, Smit EF, Wolf J, Spirig C, Pecuchet N, Leenders F, Heuckmann JM, Diebold J, Milia JD, Thomas RK, Gautschi O. (2015) Crizotinib therapy for advanced lung adenocarcinoma and a ROS1 rearrangement: results from the EUROS1 cohort. J Clin Oncol, 33: 992-9.
59. Barnholtz-Sloan JS, Sloan AE, Davis FG, Vigneau FD, Lai P, Sawaya RE. (2004) Incidence proportions of brain metastases in patients diagnosed (1973 to 2001) in the Metropolitan Detroit Cancer Surveillance System. J Clin Oncol, 22: 2865-72.
60. Stelzer KJ. (2013) Epidemiology and prognosis of brain metastases. Surg Neurol Int, 4: S192-202.

61. Kamath SD, Kumthekar PU. (2018) Immune Checkpoint Inhibitors for the Treatment of Central Nervous System (CNS) Metastatic Disease. Front Oncol, 8: 414.
62. Steeg PS, Camphausen KA, Smith QR. (2011) Brain metastases as preventive and therapeutic targets. Nat Rev Cancer, 11: 352-63.
63. Toyokawa G, Seto T, Takenoyama M, Ichinose Y. (2015) Insights into brain metastasis in patients with ALK+ lung cancer: is the brain truly a sanctuary? Cancer Metastasis Rev, 34: 797-805.
64. Berghoff AS, Schur S, Füreder LM, Gatterbauer B, Dieckmann K, Widhalm G, Hainfellner J, Zielinski CC, Birner P, Bartsch R, Preusser M. (2016) Descriptive statistical analysis of a real life cohort of 2419 patients with brain metastases of solid cancers. ESMO open, 1: e000024-e000024.
65. Paget S. (1989) The distribution of secondary growths in cancer of the breast. 1889. Cancer Metastasis Rev, 8: 98-101.
66. Achrol AS, Rennert RC, Anders C, Soffietti R, Ahluwalia MS, Nayak L, Peters S, Arvold ND, Harsh GR, Steeg PS, Chang SD. (2019) Brain metastases. Nat Rev Dis Primers, 5: 5.
67. Ni W, Chen W, Lu Y. (2018) Emerging findings into molecular mechanism of brain metastasis. Cancer Med, 7: 3820-3833.
68. Zagzag D, Goldenberg M, Brem S. (1989) Angiogenesis and blood-brain barrier breakdown modulate CT contrast enhancement: an experimental study in a rabbit brain-tumor model. AJR Am J Roentgenol, 153: 141-6.
69. Kusters B, Leenders WP, Wesseling P, Smits D, Verrijp K, Ruiter DJ, Peters JP, van Der Kogel AJ, de Waal RM. (2002) Vascular endothelial growth factor-A(165) induces progression of melanoma brain metastases without induction of sprouting angiogenesis. Cancer Res, 62: 341-5.
70. Yano S, Shinohara H, Herbst RS, Kuniyasu H, Bucana CD, Ellis LM, Davis DW, McConkey DJ, Fidler IJ. (2000) Expression of vascular endothelial growth factor is necessary but not sufficient for production and growth of brain metastasis. Cancer Res, 60: 4959-67.
71. Saunus JM, Quinn MC, Patch AM, Pearson JV, Bailey PJ, Nones K, McCart Reed AE, Miller D, Wilson PJ, Al-Ejeh F, Mariasegaram M, Lau Q, Withers T, Jeffree

RL, Reid LE, Da Silva L, Matsika A, Niland CM, Cummings MC, Bruxner TJ, Christ AN, Harliwong I, Idrisoglu S, Manning S, Nourse C, Nourbakhsh E, Wani S, Anderson MJ, Fink JL, Holmes O, Kazakoff S, Leonard C, Newell F, Taylor D, Waddell N, Wood S, Xu Q, Kassahn KS, Narayanan V, Taib NA, Teo SH, Chow YP, kConFab, Jat PS, Brandner S, Flanagan AM, Khanna KK, Chenevix-Trench G, Grimmond SM, Simpson PT, Waddell N, Lakhani SR. (2015) Integrated genomic and transcriptomic analysis of human brain metastases identifies alterations of potential clinical significance. J Pathol, 237: 363-78.

72. Mills SJ, Thompson G, Jackson A. (2012) Advanced magnetic resonance imaging biomarkers of cerebral metastases. Cancer Imaging, 12: 245-52.

73. Yeh RH, Yu JC, Chu CH, Ho CL, Kao HW, Liao GS, Chen HW, Kao WY, Yu CP, Chao TY, Dai MS. (2015) Distinct MR Imaging Features of Triple-Negative Breast Cancer with Brain Metastasis. J Neuroimaging, 25: 474-81.

74. Desprechins B, Stadnik T, Koerts G, Shabana W, Breucq C, Osteaux M. (1999) Use of diffusion-weighted MR imaging in differential diagnosis between intracerebral necrotic tumors and cerebral abscesses. AJNR Am J Neuroradiol, 20: 1252-7.

75. Sternberg EJ, Lipton ML, Burns J. (2014) Utility of diffusion tensor imaging in evaluation of the peritumoral region in patients with primary and metastatic brain tumors. AJNR Am J Neuroradiol, 35: 439-44.

76. Soffietti R, Abacioglu U, Baumert B, Combs SE, Kinhult S, Kros JM, Marosi C, Metellus P, Radbruch A, Villa Freixa SS, Brada M, Carapella CM, Preusser M, Le Rhun E, Ruda R, Tonn JC, Weber DC, Weller M. (2017) Diagnosis and treatment of brain metastases from solid tumors: guidelines from the European Association of Neuro-Oncology (EANO). Neuro Oncol, 19: 162-174.

77. Carapella CM, Gorgoglione N, Oppido PA. (2018) The role of surgical resection in patients with brain metastases. Curr Opin Oncol, 30: 390-395.

78. Hatiboglu MA, Wildrick DM, Sawaya R. (2013) The role of surgical resection in patients with brain metastases. Ecancermedicalscience, 7: 308.

79. Ryken TC, McDermott M, Robinson PD, Ammirati M, Andrews DW, Asher AL, Burri SH, Cobbs CS, Gaspar LE, Kondziolka D, Linskey ME, Loeffler JS, Mehta MP, Mikkelsen T, Olson JJ, Paleologos NA, Patchell RA, Kalkanis SN. (2010)

The role of steroids in the management of brain metastases: a systematic review and evidence-based clinical practice guideline. J Neurooncol, 96: 103-14.

80. Lin NU, Amiri-Kordestani L, Palmieri D, Liewehr DJ, Steeg PS. (2013) CNS metastases in breast cancer: old challenge, new frontiers. Clin Cancer Res, 19: 6404-18.

81. Long GV, Trefzer U, Davies MA, Kefford RF, Ascierto PA, Chapman PB, Puzanov I, Hauschild A, Robert C, Algazi A, Mortier L, Tawbi H, Wilhelm T, Zimmer L, Switzky J, Swann S, Martin AM, Guckert M, Goodman V, Streit M, Kirkwood JM, Schadendorf D. (2012) Dabrafenib in patients with Val600Glu or Val600Lys BRAF-mutant melanoma metastatic to the brain (BREAK-MB): a multicentre, open-label, phase 2 trial. Lancet Oncol, 13: 1087-95.

82. McArthur GA, Maio M, Arance A, Nathan P, Blank C, Avril MF, Garbe C, Hauschild A, Schadendorf D, Hamid O, Fluck M, Thebeau M, Schachter J, Kefford R, Chamberlain M, Makrutzki M, Robson S, Gonzalez R, Margolin K. (2017) Vemurafenib in metastatic melanoma patients with brain metastases: an open-label, single-arm, phase 2, multicentre study. Ann Oncol, 28: 634-641.

83. The normal immune response, in Robbins BASIC PATHOLOGY, Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Editors. 2018, ELSEVIER: Philadelphia, Pennsylvania. p. 119-124.

84. Petty AJ, Yang Y. (2017) Tumor-associated macrophages: implications in cancer immunotherapy. Immunotherapy, 9: 289-302.

85. Fridman WH, Pages F, Sautes-Fridman C, Galon J. (2012) The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. Nat Rev Cancer, 12: 298-306.

86. Qian BZ, Pollard JW. (2010) Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. Cell, 141: 39-51.

87. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. (2011) Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. Science, 331: 1565-70.

88. Pardoll DM. (2012) The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. Nat Rev Cancer, 12: 252-64.

89. Martin-Liberal J, Ochoa de Olza M, Hierro C, Gros A, Rodon J, Tabernero J. (2017) The expanding role of immunotherapy. Cancer Treat Rev, 54: 74-86.

90. Jackson HJ, Rafiq S, Brentjens RJ. (2016) Driving CAR T-cells forward. Nat Rev Clin Oncol, 13: 370-83.
91. Zhang H, Ye ZL, Yuan ZG, Luo ZQ, Jin HJ, Qian QJ. (2016) New Strategies for the Treatment of Solid Tumors with CAR-T Cells. Int J Biol Sci, 12: 718-29.
92. Rosenberg SA, Restifo NP. (2015) Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. Science, 348: 62-8.
93. Hirayama M, Nishimura Y. (2016) The present status and future prospects of peptide-based cancer vaccines. Int Immunol, 28: 319-28.
94. Yaddanapudi K, Mitchell RA, Eaton JW. (2013) Cancer vaccines: Looking to the future. Oncoimmunology, 2: e23403.
95. Seidel JA, Otsuka A, Kabashima K. (2018) Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapies in Cancer: Mechanisms of Action, Efficacy, and Limitations. Front Oncol, 8: 86.
96. Buchbinder EI, Desai A. (2016) CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. Am J Clin Oncol, 39: 98-106.
97. Herzberg B, Campo MJ, Gainor JF. (2017) Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. Oncologist, 22: 81-88.
98. Lynch TJ, Bondarenko I, Luft A, Serwatowski P, Barlesi F, Chacko R, Sebastian M, Neal J, Lu H, Cuillerot JM, Reck M. (2012) Ipilimumab in combination with paclitaxel and carboplatin as first-line treatment in stage IIIB/IV non-small-cell lung cancer: results from a randomized, double-blind, multicenter phase II study. J Clin Oncol, 30: 2046-54.
99. Jindal V, Gupta S. (2018) Expected Paradigm Shift in Brain Metastases Therapy-Immune Checkpoint Inhibitors. Mol Neurobiol, 55: 7072-7078.
100. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, Chow LQ, Vokes EE, Felip E, Holgado E, Barlesi F, Kohlhaufl M, Arrieta O, Burgio MA, Fayette J, Lena H, Poddubskaya E, Gerber DE, Gettinger SN, Rudin CM, Rizvi N, Crino L, Blumenschein GR, Jr., Antonia SJ, Dorange C, Harbison CT, Graf Finckenstein F, Brahmer JR. (2015) Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med, 373: 1627-39.
101. Sun JM, Zhou W, Choi YL, Choi SJ, Kim SE, Wang Z, Dolled-Filhart M, Emancipator K, Wu D, Weiner R, Frisman D, Kim HK, Choi YS, Shim YM, Kim

J. (2016) Prognostic Significance of PD-L1 in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Large Cohort Study of Surgically Resected Cases. J Thorac Oncol, 11: 1003-11.

102. Kulangara K, Zhang N, Corigliano E, Guerrero L, Waldroup S, Jaiswal D, Ms MJ, Shah S, Hanks D, Wang J, Lunceford J, Savage MJ, Juco J, Emancipator K. (2018) Clinical Utility of the Combined Positive Score for Programmed Death Ligand-1 Expression and the Approval of Pembrolizumab for Treatment of Gastric Cancer. Arch Pathol Lab Med.
103. Sorensen SF, Zhou W, Dolled-Filhart M, Georgsen JB, Wang Z, Emancipator K, Wu D, Busch-Sorensen M, Meldgaard P, Hager H. (2016) PD-L1 Expression and Survival among Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Chemotherapy. Transl Oncol, 9: 64-69.
104. Ancevski Hunter K, Socinski MA, Villaruz LC. (2018) PD-L1 Testing in Guiding Patient Selection for PD-1/PD-L1 Inhibitor Therapy in Lung Cancer. Mol Diagn Ther, 22: 1-10.
105. Diggs LP, Hsueh EC. (2017) Utility of PD-L1 immunohistochemistry assays for predicting PD-1/PD-L1 inhibitor response. Biomark Res, 5: 12.
106. Lim SW, Ahn MJ. (2019) Current status of immune checkpoint inhibitors in treatment of non-small cell lung cancer. Korean J Intern Med, 34: 50-59.
107. Liu D, Wang S, Bindeman W. (2017) Clinical applications of PD-L1 bioassays for cancer immunotherapy. J Hematol Oncol, 10: 110.
108. Pu X, Wu L, Su D, Mao W, Fang B. (2018) Immunotherapy for non-small cell lung cancers: biomarkers for predicting responses and strategies to overcome resistance. BMC Cancer, 18: 1082.
109. Udall M, Rizzo M, Kenny J, Doherty J, Dahm S, Robbins P, Faulkner E. (2018) PD-L1 diagnostic tests: a systematic literature review of scoring algorithms and test-validation metrics. Diagn Pathol, 13: 12.
110. McCoach CE, Berge EM, Lu X, Baron AE, Camidge DR. (2016) A Brief Report of the Status of Central Nervous System Metastasis Enrollment Criteria for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Clinical Trials: A Review of the ClinicalTrials.gov Trial Registry. J Thorac Oncol, 11: 407-13.

111. Schachter J, Ribas A, Long GV, Arance A, Grob JJ, Mortier L, Daud A, Carlino MS, McNeil C, Lotem M, Larkin J, Lorigan P, Neyns B, Blank C, Petrella TM, Hamid O, Zhou H, Ebbinghaus S, Ibrahim N, Robert C. (2017) Pembrolizumab versus ipilimumab for advanced melanoma: final overall survival results of a multicentre, randomised, open-label phase 3 study (KEYNOTE-006). Lancet, 390: 1853-1862.

112. Dudnik E, Yust-Katz S, Nechushtan H, Goldstein DA, Zer A, Flex D, Siegal T, Peled N. (2016) Intracranial response to nivolumab in NSCLC patients with untreated or progressing CNS metastases. Lung Cancer, 98: 114-117.

113. Goldberg SB, Gettinger SN, Mahajan A, Chiang AC, Herbst RS, Sznol M, Tsiouris AJ, Cohen J, Vortmeyer A, Jilaveanu L, Yu J, Hegde U, Speaker S, Madura M, Ralabate A, Rivera A, Rowen E, Gerrish H, Yao X, Chiang V, Kluger HM. (2016) Pembrolizumab for patients with melanoma or non-small-cell lung cancer and untreated brain metastases: early analysis of a non-randomised, open-label, phase 2 trial. Lancet Oncol, 17: 976-983.

114. Lauko A, Thapa B, Venur VA, Ahluwalia MS. (2018) Management of Brain Metastases in the New Era of Checkpoint Inhibition. Curr Neurol Neurosci Rep, 18: 70.

115. (2016) FDA Approves Merck's Keytruda (pembrolizumab) for First-Line Treatment of Certain Patients with Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. Elérhető: https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-merck-s-keytruda-pembrolizumab-first-line-certain-patients-metastatic-non-small-cell-4449.html.

116. (2017) FDA Approves Merck's Keytruda (pembrolizumab) as First-Line Combination Therapy for Patients with Metastatic Nonsquamous Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC), Irrespective of PD-L1 Expression. Elérhető: https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-merck-s-keytruda-pembrolizumab-first-line-combination-therapy-patients-metastatic-4533.html.

117. (2018) FDA Approves Keytruda (pembrolizumab) in Combination with Carboplatin and Either Paclitaxel or Nab-Paclitaxel for the First-Line Treatment of Patients with Metastatic Squamous Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). Elérhető: https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-keytruda-

pembrolizumab-combination-carboplatin-either-paclitaxel-nab-paclitaxel-first-4853.html.

118. (2018) FDA Approves Genentech's Tecentriq in Combination With Avastin and Chemotherapy for the Initial Treatment of Metastatic Non-Squamous Non-Small Cell Lung Cancer. Elérhető: https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-genentech-s-tecentriq-combination-avastin-chemotherapy-initial-metastatic-non-squamous-4883.html.
119. Menon S, Shin S, Dy G. (2016) Advances in Cancer Immunotherapy in Solid Tumors. Cancers (Basel), 8.
120. Smyth MJ, Ngiow SF, Ribas A, Teng MW. (2016) Combination cancer immunotherapies tailored to the tumour microenvironment. Nat Rev Clin Oncol, 13: 143-58.
121. Voong KR, Feliciano J, Becker D, Levy B. (2017) Beyond PD-L1 testing-emerging biomarkers for immunotherapy in non-small cell lung cancer. Ann Transl Med, 5: 376.
122. Chang L, Chang M, Chang HM, Chang F. (2018) Microsatellite Instability: A Predictive Biomarker for Cancer Immunotherapy. Appl Immunohistochem Mol Morphol, 26: e15-e21.
123. Warth A, Korner S, Penzel R, Muley T, Dienemann H, Schirmacher P, von Knebel-Doeberitz M, Weichert W, Kloor M. (2016) Microsatellite instability in pulmonary adenocarcinomas: a comprehensive study of 480 cases. Virchows Arch, 468: 313-9.
124. Gamerith G, Kocher F, Rudzki J, Pircher A. (2018) ASCO 2018 NSCLC highlights-combination therapy is key. Memo, 11: 266-271.
125. Ahn MJ, Sun JM, Lee SH, Ahn JS, Park K. (2017) EGFR TKI combination with immunotherapy in non-small cell lung cancer. Expert Opin Drug Saf, 16: 465-469.
126. Keohane D, Fitzgerald GP. (2018) The changing face of cancer treatments. BMJ Case Rep, 2018.
127. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DA. (2017) LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. Immunol Rev, 276: 80-96.

128. Das M, Zhu C, Kuchroo VK. (2017) Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity. Immunol Rev, 276: 97-111.
129. Shin DS, Ribas A. (2015) The evolution of checkpoint blockade as a cancer therapy: what's here, what's next? Curr Opin Immunol, 33: 23-35.
130. Matsuzaki J, Gnjatic S, Mhawech-Fauceglia P, Beck A, Miller A, Tsuji T, Eppolito C, Qian F, Lele S, Shrikant P, Old LJ, Odunsi K. (2010) Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8+ T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer. Proc Natl Acad Sci U S A, 107: 7875-80.
131. He Y, Yu H, Rozeboom L, Rivard CJ, Ellison K, Dziadziuszko R, Suda K, Ren S, Wu C, Hou L, Zhou C, Hirsch FR. (2017) LAG-3 Protein Expression in Non-Small Cell Lung Cancer and Its Relationship with PD-1/PD-L1 and Tumor-Infiltrating Lymphocytes. J Thorac Oncol, 12: 814-823.
132. Hahn AW, Gill DM, Pal SK, Agarwal N. (2017) The future of immune checkpoint cancer therapy after PD-1 and CTLA-4. Immunotherapy, 9: 681-692.
133. Long L, Zhao C, Ozarina M, Zhao X, Yang J, Chen H. (2019) Targeting Immune Checkpoints in Lung Cancer: Current Landscape and Future Prospects. Clin Drug Investig.
134. Anderson AC. (2014) Tim-3: an emerging target in the cancer immunotherapy landscape. Cancer Immunol Res, 2: 393-8.
135. Jiang H, Chess L. (2006) Regulation of immune responses by T cells. N Engl J Med, 354: 1166-76.
136. Koch U, Radtke F. (2011) Mechanisms of T cell development and transformation. Annu Rev Cell Dev Biol, 27: 539-62.
137. Mahe E, Pugh T, Kamel-Reid S. (2018) T cell clonality assessment: past, present and future. J Clin Pathol, 71: 195-200.
138. Gazzola A, Mannu C, Rossi M, Laginestra MA, Sapienza MR, Fuligni F, Etebari M, Melle F, Sabattini E, Agostinelli C, Bacci F, Sagramoso Sacchetti CA, Pileri SA, Piccaluga PP. (2014) The evolution of clonality testing in the diagnosis and monitoring of hematological malignancies. Ther Adv Hematol, 5: 35-47.
139. van Dongen JJ, Langerak AW, Bruggemann M, Evans PA, Hummel M, Lavender FL, Delabesse E, Davi F, Schuuring E, Garcia-Sanz R, van Krieken JH, Droese J, Gonzalez D, Bastard C, White HE, Spaargaren M, Gonzalez M, Parreira A, Smith

JL, Morgan GJ, Kneba M, Macintyre EA. (2003) Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia, 17: 2257-317.

140. Langerak AW, Groenen PJ, Bruggemann M, Beldjord K, Bellan C, Bonello L, Boone E, Carter GI, Catherwood M, Davi F, Delfau-Larue MH, Diss T, Evans PA, Gameiro P, Garcia Sanz R, Gonzalez D, Grand D, Hakansson A, Hummel M, Liu H, Lombardia L, Macintyre EA, Milner BJ, Montes-Moreno S, Schuuring E, Spaargaren M, Hodges E, van Dongen JJ. (2012) EuroClonality/BIOMED-2 guidelines for interpretation and reporting of Ig/TCR clonality testing in suspected lymphoproliferations. Leukemia, 26: 2159-71.
141. Durgeau A, Virk Y, Corgnac S, Mami-Chouaib F. (2018) Recent Advances in Targeting CD8 T-Cell Immunity for More Effective Cancer Immunotherapy. Front Immunol, 9: 14.
142. Li B, Li T, Pignon JC, Wang B, Wang J, Shukla SA, Dou R, Chen Q, Hodi FS, Choueiri TK, Wu C, Hacohen N, Signoretti S, Liu JS, Liu XS. (2016) Landscape of tumor-infiltrating T cell repertoire of human cancers. Nat Genet, 48: 725-32.
143. Roh W, Chen PL, Reuben A, Spencer CN, Prieto PA, Miller JP, Gopalakrishnan V, Wang F, Cooper ZA, Reddy SM, Gumbs C, Little L, Chang Q, Chen WS, Wani K, De Macedo MP, Chen E, Austin-Breneman JL, Jiang H, Roszik J, Tetzlaff MT, Davies MA, Gershenwald JE, Tawbi H, Lazar AJ, Hwu P, Hwu WJ, Diab A, Glitza IC, Patel SP, Woodman SE, Amaria RN, Prieto VG, Hu J, Sharma P, Allison JP, Chin L, Zhang J, Wargo JA, Futreal PA. (2017) Integrated molecular analysis of tumor biopsies on sequential CTLA-4 and PD-1 blockade reveals markers of response and resistance. Sci Transl Med, 9.
144. Postow MA, Manuel M, Wong P, Yuan J, Dong Z, Liu C, Perez S, Tanneau I, Noel M, Courtier A, Pasqual N, Wolchok JD. (2015) Peripheral T cell receptor diversity is associated with clinical outcomes following ipilimumab treatment in metastatic melanoma. J Immunother Cancer, 3: 23.
145. Sims JS, Grinshpun B, Feng Y, Ung TH, Neira JA, Samanamud JL, Canoll P, Shen Y, Sims PA, Bruce JN. (2016) Diversity and divergence of the glioma-infiltrating T-cell receptor repertoire. Proc Natl Acad Sci U S A, 113: E3529-37.

146. Cui JH, Lin KR, Yuan SH, Jin YB, Chen XP, Su XK, Jiang J, Pan YM, Mao SL, Mao XF, Luo W. (2018) TCR Repertoire as a Novel Indicator for Immune Monitoring and Prognosis Assessment of Patients With Cervical Cancer. Front Immunol, 9: 2729.
147. Page DB, Yuan J, Redmond D, Wen YH, Durack JC, Emerson R, Solomon S, Dong Z, Wong P, Comstock C, Diab A, Sung J, Maybody M, Morris E, Brogi E, Morrow M, Sacchini V, Elemento O, Robins H, Patil S, Allison JP, Wolchok JD, Hudis C, Norton L, McArthur HL. (2016) Deep Sequencing of T-cell Receptor DNA as a Biomarker of Clonally Expanded TILs in Breast Cancer after Immunotherapy. Cancer Immunol Res, 4: 835-844.
148. Tian T, Ruan M, Yang W, Shui R. (2016) Evaluation of the prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in triple-negative breast cancers. Oncotarget, 7: 44395-44405.
149. Festino L, Botti G, Lorigan P, Masucci GV, Hipp JD, Horak CE, Melero I, Ascierto PA. (2016) Cancer Treatment with Anti-PD-1/PD-L1 Agents: Is PD-L1 Expression a Biomarker for Patient Selection? Drugs, 76: 925-45.
150. Kim S, Koh J, Kwon D, Keam B, Go H, Kim YA, Jeon YK, Chung DH. (2017) Comparative analysis of PD-L1 expression between primary and metastatic pulmonary adenocarcinomas. Eur J Cancer, 75: 141-149.
151. Raju S, Joseph R, Sehgal S. (2018) Review of checkpoint immunotherapy for the management of non-small cell lung cancer. Immunotargets Ther, 7: 63-75.
152. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. (2016) Programmed cell death-ligand 1 expression is associated with a favourable immune microenvironment and better overall survival in stage I pulmonary squamous cell carcinoma. Eur J Cancer, 57: 91-103.
153. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanetz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, Park K, Smith D, Artal-Cortes A, Lewanski C, Braiteh F, Waterkamp D, He P, Zou W, Chen DS, Yi J, Sandler A, Rittmeyer A. (2016) Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. Lancet, 387: 1837-46.

154. Spira AI, Park K, Mazières J, Vansteenkiste JF, Rittmeyer A, Ballinger M, Waterkamp D, Kowanetz M, Mokatrin A, Fehrenbacher L. (2015) Efficacy, safety and predictive biomarker results from a randomized phase II study comparing MPDL3280A vs docetaxel in 2L/3L NSCLC (POPLAR). Journal of Clinical Oncology, 33: 8010-8010.
155. Cho KH, Hall WA, Gerbi BJ, Higgins PD, Bohen M, Clark HB. (1998) Patient selection criteria for the treatment of brain metastases with stereotactic radiosurgery. J Neurooncol, 40: 73-86.
156. Pirzkall A, Debus J, Lohr F, Fuss M, Rhein B, Engenhart-Cabillic R, Wannenmacher M. (1998) Radiosurgery alone or in combination with whole-brain radiotherapy for brain metastases. J Clin Oncol, 16: 3563-9.
157. Collett D. Modelling Survival Data in Medical Research. 1994, London: Chapman & Hall.
158. Malhotra J, Jabbour SK, Aisner J. (2017) Current state of immunotherapy for non-small cell lung cancer. Transl Lung Cancer Res, 6: 196-211.
159. Mansfield AS, Aubry MC, Moser JC, Harrington SM, Dronca RS, Park SS, Dong H. (2016) Temporal and spatial discordance of programmed cell death-ligand 1 expression and lymphocyte tumor infiltration between paired primary lesions and brain metastases in lung cancer. Ann Oncol, 27: 1953-8.
160. Takamori S, Toyokawa G, Okamoto I, Takada K, Kozuma Y, Matsubara T, Haratake N, Akamine T, Katsura M, Mukae N, Shoji F, Okamoto T, Oda Y, Iwaki T, Iihara K, Nakanishi Y, Maehara Y. (2017) Discrepancy in Programmed Cell Death-Ligand 1 Between Primary and Metastatic Non-small Cell Lung Cancer. Anticancer Res, 37: 4223-4228.
161. Kerr KM, Nicolson MC. (2016) Non-Small Cell Lung Cancer, PD-L1, and the Pathologist. Arch Pathol Lab Med, 140: 249-54.
162. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. (2014) Programmed cell death-ligand 1 expression in surgically resected stage I pulmonary adenocarcinoma and its correlation with driver mutations and clinical outcomes. Eur J Cancer, 50: 1361-9.
163. Zhang Y, Wang L, Li Y, Pan Y, Wang R, Hu H, Li H, Luo X, Ye T, Sun Y, Chen H. (2014) Protein expression of programmed death 1 ligand 1 and ligand 2

independently predict poor prognosis in surgically resected lung adenocarcinoma. Onco Targets Ther, 7: 567-73.

164. Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, Young RJ, Sturrock S, Cooper WA, Fox SB. (2018) Comparison of Four PD-L1 Immunohistochemical Assays in Lung Cancer. J Thorac Oncol, 13: 367-376.

165. Pawelczyk K, Piotrowska A, Ciesielska U, Jablonska K, Gletzel-Plucinska N, Grzegrzolka J, Podhorska-Okolow M, Dziegiel P, Nowinska K. (2019) Role of PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer and Their Prognostic Significance according to Clinicopathological Factors and Diagnostic Markers. Int J Mol Sci, 20.

166. Berghoff AS, Ricken G, Widhalm G, Rajky O, Dieckmann K, Birner P, Bartsch R, Holler C, Preusser M. (2015) Tumour-infiltrating lymphocytes and expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) in melanoma brain metastases. Histopathology, 66: 289-99.

167. Shin J, Chung JH, Kim SH, Lee KS, Suh KJ, Lee JY, Kim JW, Lee JO, Kim JW, Kim YJ, Lee KW, Kim JH, Bang SM, Lee JS. (2018) Effect of Platinum-Based Chemotherapy on PD-L1 Expression on Tumor Cells in Non-small Cell Lung Cancer. Cancer Res Treat.

168. Rojko L, Reiniger L, Teglasi V, Fabian K, Pipek O, Vagvolgyi A, Agocs L, Fillinger J, Kajdacsi Z, Timar J, Dome B, Szallasi Z, Moldvay J. (2018) Chemotherapy treatment is associated with altered PD-L1 expression in lung cancer patients. J Cancer Res Clin Oncol, 144: 1219-1226.

169. Sheng J, Fang W, Yu J, Chen N, Zhan J, Ma Y, Yang Y, Huang Y, Zhao H, Zhang L. (2016) Expression of programmed death ligand-1 on tumor cells varies pre and post chemotherapy in non-small cell lung cancer. Sci Rep, 6: 20090.

170. Zhang P, Ma Y, Lv C, Huang M, Li M, Dong B, Liu X, An G, Zhang W, Zhang J, Zhang L, Zhang S, Yang Y. (2016) Upregulation of programmed cell death ligand 1 promotes resistance response in non-small-cell lung cancer patients treated with neo-adjuvant chemotherapy. Cancer Sci, 107: 1563-1571.

171. Fenner MH, Possinger K. (2002) Chemotherapy for breast cancer brain metastases. Onkologie, 25: 474-9.

172. Kim R, Keam B, Kim S, Kim M, Kim SH, Kim JW, Kim YJ, Kim TM, Jeon YK, Kim DW, Chung DH, Lee JS, Heo DS. (2019) Differences in tumor microenvironments between primary lung tumors and brain metastases in lung cancer patients: therapeutic implications for immune checkpoint inhibitors. BMC Cancer, 19: 19.
173. de Groot AE, Roy S, Brown JS, Pienta KJ, Amend SR. (2017) Revisiting Seed and Soil: Examining the Primary Tumor and Cancer Cell Foraging in Metastasis. Mol Cancer Res, 15: 361-370.
174. Gupta PB, Fillmore CM, Jiang G, Shapira SD, Tao K, Kuperwasser C, Lander ES. (2011) Stochastic state transitions give rise to phenotypic equilibrium in populations of cancer cells. Cell, 146: 633-44.
175. Berghoff AS, Lassmann H, Preusser M, Hoftberger R. (2013) Characterization of the inflammatory response to solid cancer metastases in the human brain. Clin Exp Metastasis, 30: 69-81.
176. Berghoff AS, Fuchs E, Ricken G, Mlecnik B, Bindea G, Spanberger T, Hackl M, Widhalm G, Dieckmann K, Prayer D, Bilocq A, Heinzl H, Zielinski C, Bartsch R, Birner P, Galon J, Preusser M. (2016) Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with extent of brain edema and overall survival time in patients with brain metastases. Oncoimmunology, 5: e1057388.
177. Harter PN, Bernatz S, Scholz A, Zeiner PS, Zinke J, Kiyose M, Blasel S, Beschorner R, Senft C, Bender B, Ronellenfitsch MW, Wikman H, Glatzel M, Meinhardt M, Juratli TA, Steinbach JP, Plate KH, Wischhusen J, Weide B, Mittelbronn M. (2015) Distribution and prognostic relevance of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and PD-1/PD-L1 immune checkpoints in human brain metastases. Oncotarget, 6: 40836-49.
178. Velcheti V, Schalper KA, Carvajal DE, Anagnostou VK, Syrigos KN, Sznol M, Herbst RS, Gettinger SN, Chen L, Rimm DL. (2014) Programmed death ligand-1 expression in non-small cell lung cancer. Lab Invest, 94: 107-16.
179. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, Xu H, Pan X, Kim JH, Chen L, Pardoll DM, Topalian SL, Anders RA. (2014) Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. Clin Cancer Res, 20: 5064-74.

180. Al-Shibli KI, Donnem T, Al-Saad S, Persson M, Bremnes RM, Busund LT. (2008) Prognostic effect of epithelial and stromal lymphocyte infiltration in non-small cell lung cancer. Clin Cancer Res, 14: 5220-7.
181. Hiraoka K, Miyamoto M, Cho Y, Suzuoki M, Oshikiri T, Nakakubo Y, Itoh T, Ohbuchi T, Kondo S, Katoh H. (2006) Concurrent infiltration by CD8+ T cells and CD4+ T cells is a favourable prognostic factor in non-small-cell lung carcinoma. Br J Cancer, 94: 275-80.
182. da Costa Souza P, Parra ER, Atanazio MJ, da Silva OB, Noleto GS, Ab'Saber AM, de Morais Fernezlian S, Takagaki T, Capelozzi VL. (2012) Different morphology, stage and treatment affect immune cell infiltration and long-term outcome in patients with non-small-cell lung carcinoma. Histopathology, 61: 587-96.
183. (2017) FDA Approves Merck's Keytruda (pembrolizumab) for Previously Treated Patients with Recurrent Locally Advanced or Metastatic Gastric or Gastroesophageal Junction Cancer Whose Tumors Express PD-L1. Elérhető: https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-merck-s-keytruda-pembrolizumab-previously-treated-patients-recurrent-locally-advanced-4605.html.
184. Berghoff AS, Inan C, Ricken G, Widhalm G, Dieckmann K, Birner P, Oberndorfer F, Dome B, Bartsch R, Zielinski C, Preusser M. (2014) Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) and PD-L1 expression in non-small cell lung cancer brain metastases (BM) and matched primary tumors (PT). Annals of Oncology, 25.
185. Duchnowska R, Peksa R, Radecka B, Mandat T, Trojanowski T, Jarosz B, Czartoryska-Arlukowicz B, Olszewski WP, Och W, Kalinka-Warzocha E, Kozlowski W, Kowalczyk A, Loi S, Biernat W, Jassem J. (2016) Immune response in breast cancer brain metastases and their microenvironment: the role of the PD-1/PD-L axis. Breast Cancer Res, 18: 43.
186. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crino L, Eberhardt WE, Poddubskaya E, Antonia S, Pluzanski A, Vokes EE, Holgado E, Waterhouse D, Ready N, Gainor J, Aren Frontera O, Havel L, Steins M, Garassino MC, Aerts JG, Domine M, Paz-Ares L, Reck M, Baudelet C, Harbison CT, Lestini B, Spigel DR. (2015)

Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med, 373: 123-35.

187. Gadgeel SM, Lukas RV, Goldschmidt J, Conkling P, Park K, Cortinovis D, de Marinis F, Rittmeyer A, Patel JD, von Pawel J, O'Hear C, Lai C, Hu S, Ballinger M, Sandler A, Gandhi M, Fehrenbacher L. (2019) Atezolizumab in patients with advanced non-small cell lung cancer and history of asymptomatic, treated brain metastases: Exploratory analyses of the phase III OAK study. Lung Cancer, 128: 105-112.

188. Reuben A, Gittelman R, Gao J, Zhang J, Yusko EC, Wu CJ, Emerson R, Zhang J, Tipton C, Li J, Quek K, Gopalakrishnan V, Chen R, Vence LM, Cascone T, Vignali M, Fujimoto J, Rodriguez-Canales J, Parra ER, Little LD, Gumbs C, Forget MA, Federico L, Haymaker C, Behrens C, Benzeno S, Bernatchez C, Sepesi B, Gibbons DL, Wargo JA, William WN, Jr., Swisher S, Heymach JV, Robins H, Lee JJ, Sharma P, Allison JP, Futreal PA, Wistuba, II, Zhang J. (2017) TCR Repertoire Intratumor Heterogeneity in Localized Lung Adenocarcinomas: An Association with Predicted Neoantigen Heterogeneity and Postsurgical Recurrence. Cancer Discov, 7: 1088-1097.

189. Cha E, Klinger M, Hou Y, Cummings C, Ribas A, Faham M, Fong L. (2014) Improved survival with T cell clonotype stability after anti-CTLA-4 treatment in cancer patients. Sci Transl Med, 6: 238ra70.

190. Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, Chmielowski B, Spasic M, Henry G, Ciobanu V, West AN, Carmona M, Kivork C, Seja E, Cherry G, Gutierrez AJ, Grogan TR, Mateus C, Tomasic G, Glaspy JA, Emerson RO, Robins H, Pierce RH, Elashoff DA, Robert C, Ribas A. (2014) PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. Nature, 515: 568-71.

191. Echchakir H, Asselin-Paturel C, Dorothee G, Vergnon I, Grunenwald D, Chouaib S, Mami-Chouaib F. (1999) Analysis of T-cell-receptor beta-chain-gene usage in peripheral-blood and tumor-infiltrating lymphocytes from human non-small-cell lung carcinomas. Int J Cancer, 81: 205-13.

11. Saját publikációk jegyzéke

11.1. Az értekezés témájában megjelent közlemények

1. Téglási V, Reiniger L, Fábián K, Pipek O, Csala I, Bagó AG, Várallyai P, Vízkeleti L, Rojkó L, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Swanton C, Moldvay J. Evaluating the significance of density, localization, and PD-1/PD-L1 immunopositivity of mononuclear cells in the clinical course of lung adenocarcinoma patients with brain metastasis. Neuro Oncology 2017 Aug 1;19(8):1058-1067. doi: 10.1093/neuonc/now309.
   IF: 9,384

2. Téglási V, Pipek O, Lózsa R, Berta K, Szüts D, Harkó T, Vadász P, Rojkó L, Döme B, Bagó AG, Tímár J, Moldvay J, Szállási Z, Reiniger L. PD-L1 expression of lung cancer cells, unlike infiltrating immune cells, is stable and unaffected by therapy during brain metastasis. Clinical Lung Cancer. 2019 May 15. pii: S1525-7304(19)30112-3. doi: 10.1016/j.cllc.2019.05.008
   IF: 4,204

11.2. Egyéb témában megjelent közlemények

1. Marosvári D, Téglási V, Csala I, Marschalkó M, Bödör C, Timár B, Csomor J, Hársing J, Reiniger L. Altered microRNA expression in folliculotropic and transformed mycosis fungoides. Pathology and Oncology Research 2015 Jul;21(3):821-5. doi: 10.1007/s12253-015-9897-8.
   IF: 1,960

2. Rojkó L, Reiniger L, Téglási V, Fábián K, Pipek O, Vágvölgyi A, Agócs L, Fillinger J, Kajdácsi Z, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Moldvay J. Chemotherapy treatment is associated with altered PD-L1 expression in lung cancer patients. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 2018 Jul;144(7):1219-1226. doi: 10.1007/s00432-018-2642-4.
   IF: 3,332

3. Téglási V, Csűry TD, Dezső K, Bugyik E, Szabó V, Szállási Z, Paku S, Reiniger L. Origin and distribution of connective tissue and pericytes impacting vascularization in brain metastases with different growth patterns. Journal of Neuropathology and Experimental Neurology 2019 Feb 28. pii: nlz007. doi: 10.1093/jnen/nlz007.
IF: 3,490

4. Reiniger L, Téglási V, Pipek O, Rojkó L, Glasz T, Vágvölgyi A, Kovalszky I, Gyulai M, Lohinai Z, Rásó E, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Moldvay J. Tumor necrosis correlates with PD-L1 and PD-1 expression in lung adenocarcinoma. Acta Oncologica 2019 Apr 19:1-8. doi: 10.1080/0284186X.2019.1598575.
IF: 3,473

12. Köszönetnyilvánítás

Első sorban szeretném megköszönni szüleimnek, hogy lehetővé tették tanulmányaimat, valamint testvéreimnek, férjemnek és barátaimnak is a szüntelen támogatást és a szerető környezet biztosítását.

Köszönöm Dr. Matolcsy András professzor úrnak, hogy intézetében végezhettem PhD tanulmányaimat.

Köszönöm Dr. Reiniger Lilla docens asszonynak, témavezetőmnek a közös munkával töltött éveket, a szakmai tanácsokat és hogy munkámat mindvégig segítette.

Köszönettel tartozom Dr. Moldvay Judit főorvos asszonynak és Dr. Rojkó Líviának az OKTPI-ből származó minták klinikai adataiért és a közös munkáért.

Hálás vagyok Dr. Szállási Zoltánnak, Dr. Tímár József professzor úrnak a szakmai támogatásért.

Köszönöm Dr. Krenács Tibornak értekezésem alapos áttanulmányozását, a hasznos kritikai észrevételeket és megjegyzéseket.

Köszönöm Dr. Glasz Tibor docens úrnak az OKTPI-ből származó primer tüdő minták kigyűjtésében nyújtott önzetlen segítségét. Köszönöm Dr. Tiszlavicz László professzor úrnak és Dr. Furák József mellkassebész főorvosnak, hogy rendelkezésünkre bocsátották a szegedi mintákat, és Dr. Pálföldi Reginának az esetekhez tartozó klinikai adatok kigyűjtését. Köszönettel tartozom Dr. Szurián Kingának és Dr. Vrabély Brigittának a Bajcsy-Zsilinszky Kórház Patológiai Osztály munkatársainak a minták és a klinikai adatok kigyűjtésében nyújtott segítségéért.

Köszönöm Kaminszky Zsuzsának a TMA metszetek, valamint Tamási Annának és Szilágyiné Paulusz Mónikának az immunhisztokémiai festések elkészítését. Köszönettel tartozom a TCR vizsgálatok kivitelezésében nyújtott segítségért a Molekuláris Onkohematológia Munkacsoport minden tagjának, legfőképpen Dr. Bödör Csabának, Dr. Gángó Ambrusnak és Bárányné Pallag Adrienne-nek, valamint Piurkó Violettának. Köszönettel tartozom Dr. Pipek Orsolyának, Dr. Csala Irénnek és Dr. Fábián Katalinnak a statisztikai számítások kivitelezéséért.

Köszönettel tartozom Laczik Cecíliának, hogy bármikor segítségért fordulhattam hozzá.

Köszönöm az I. sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet minden munkatársának a közös munkát.