

Válasz Prof. Herszényi László bírálataira és kérdéseire

Mindenekelőtt szeretném megköszönni Herszényi László Professzor Úrnak a disszertációm gondos áttanulmányozását. Köszönöm az elismerő szavakat és az értékes kritikai észrevételeket. A 12. és a 23. Táblázatra vonatkozó megjegyzését köszönöm; ennek magyarázata az, hogy az eredeti publikált, angol nyelvű táblázat betűmérete nem tette lehetővé a magyar nyelvű újraserkesztést, fontos szakmai információkat pedig nem szerettem volna kihagyni belőlük. Ugyancsak ez a magyarázata annak, hogy néhány táblázat angol nyelvű maradt és az eredeti közleményekből került átemelésre. Köszönöm az univariáns és multivariáns eredmények külön táblázatban történő ábrázolásának javaslatát, figyelembe fogom venni a jövőbeli publikációim során.

A feltett kérdésekre válaszaim az alábbiak:

- 1. Vizsgálataik során igazolták, hogy tüdőrákban egyes fehérjék expressziója fokozott agyi áttétképző potenciállal társul. Hogyan építhető be a mindennapos klinikai gyakorlatban ez a megfigyelés és miben módosíthatja a tüdőrákos betegek jelenlegi ellátását?*

Az agyi áttét egy rettegett szövődménye a tüdőráknak, éppen ezért az ennek megelőzését célzó beavatkozások nagyjelentőségűek lehetnek. Napjainkig profilaktikus agyi besugárzásra csak kissejtes tüdőrák esetében kerül sor, azonban, amennyiben kellő evidencia sorakozna fel, hogy a primer tüdőrákok mely immunhisztokémiai és/vagy molekuláris genetikai jegyei vetítik elő az agyi áttét fokozott rizikóját, úgy mérlegelni lehetne nem-kissejtes tüdőrákban is a preventív koponya irradiációt. Egy másik fontos terület lehet azon molekuláris célzott terápiák csoportja, gondolok itt elsősorban az ALK gátlásra, ahol többféle elsővonalbeli terápiára is lehetőség nyílik, azonban ezek agyi penetrációja, ezáltal agyi áttét megelőzésére vagy kezelésére való alkalmassága különböző. Az agyi áttét rizikójának megbecsülhetősége tehát nagyban elősegíthetné a személyre szabott gyógyszerválasztást.

- 2. Kimutatták, hogy centrális tüdő adenocarcinómában korábban jelennek meg a távoli szervi áttétek, a pleurális áttétek pedig főként alsó lebenyből származó daganatból származnak. Mivel magyarázható a lokalizáció és a fenti áttétek összefüggése?*

Egyes szerzők korábban leírták már a centrális tumorok gyakoribb nyirokcsomó érintettségét, valamint az ilyen daganatban szenvedők rövidebb túlélését. A limfogén metasztázis jelenléte már önmagában fokozza a hematogén szórás kockázatát, ami magyarázhatja azt a megfigyelésünket, hogy centrális tüdő adenocarcinómában – amely gyakrabban járt nyirokcsomó érintettséggel – korábban jelentek meg a távoli szervi áttétek.

A pleurális áttétre vonatkozóan egy érdekes publikáció látott napvilágot 2020 szeptemberében, amelyben francia szerzők 550 IV stádiumú adenocarcinoma vizsgálata alapján leírták, hogy az EGFR mutáns és a BRAF mutáns daganatok gyakrabban adtak pleura áttétet, szemben az ALK pozitív daganatokkal [Dormieux, Eur Radiol, 2020]. Saját vizsgálatunk

eddig még csak poszter bemutatással publikált eredménye szerint, az EGFR mutáns daganatok gyakoribbak voltak az alsó tüdőlebenyekben mint a felsőkben, így lehetséges, hogy a daganat molekuláris altípusának szerepe van a metasztázis mintázat meghatározásában [Lohinai, OPS Konferencia, Budapest, 2016].

3. *Mivel magyarázható, hogy tüdő adenocarcinómában „brain only” metastasis esetén hosszabb a betegek teljes túlélése?*

Brain only daganatok esetén szignifikánsan gyakoribbak voltak a szoliter áttétek, ezért – és különös tekintettel a nyirokcsomó áttétek hiányára – lényegesen gyakrabban kerülhetett sor agyi metastasectomiára. Ismeretes, hogy a IV stádiumú tüdőrákban szenvedők öt éves túlélése mindössze 5%, ugyanakkor az ilyen hosszú túlélő betegek zömmel azok, akiknek mind a primer tumora, mind pedig a szoliter távoli áttéte (főként agyi-, csont- vagy mellékvese áttét) sebészi úton el lett távolítva. Vizsgálatunk során igazoltuk, hogy *brain only* daganat esetén gyakoribb a primer tumor perifériás elhelyezkedése, ami pedig a primer tüdőrák reszekabilitását – így ezáltal a teljes túlélést – növelő tényező. Mindemellett 2020 augusztusában jelent meg az a közlemény, amelyben lepidikus terjedést mutató, 327 adenocarcinómát vizsgáltak, és megállapították, hogy közöttük a nyirokcsomó metasztázis alig érte el a 8%-ot [Wang, *J Cardiothorac Surg*, 2020]. Ennek alapján érdemesnek tartom saját vizsgálati anyagunkban ellenőrizni, hogy vajon a *brain only* adenocarcinómák között milyen arányban fordultak elő egészében vagy részben lepidikus terjedést mutató adenocarcinómák.

4. *Igazolódott, hogy „brain only” metastasis esetén a tüdőrákok gyakrabban perifériás elhelyezkedésűek és szignifikánsan hosszabb az agyi áttét megjelenéséig eltelt idő. Mivel magyarázható a lokalizáció és a „brain only” metastasis összefüggés?*

Az agyi áttétet adott 557 tüdőrák klinikopatológiai elemzése során leírtuk, hogy a primer tumor 58%-ban endobronchialisán látható, tehát centrális elhelyezkedésű volt, ami annál is inkább kiemelendő, mivel alapvetően a tüdőrákok kétharmada perifériás kiindulású. Ez az arányeltolódás felveti azt a kérdést, hogy a centrális tüdőrákok agresszívabb biológiai viselkedésűek-e, amire már korábbi tanulmányok is utalnak [Sun, *Clin Lung Cancer*, 2017]. Ennek hátterében állhat az is, hogy a centrális daganatban szenvedőknél nagyobb a dohányosok aránya, szemben a perifériás daganatokkal. Közismert ugyanis, hogy a nemdohányosokban kialakuló tüdőrák biológiai viselkedése és prognózisa kedvezőbb [Smolle, *Cancers*, 2019]. Vizsgálatunkban *brain only* metasztázis esetén a daganatok gyakrabban voltak perifériás elhelyezkedésűek, amelyek carcinogenesis eltér a centrális tumorokétól. Perifériás tumoroknál gyakrabban észlelhető *nem-dohányos* vagy *enyhe dohányos* státusz, így nem meglepő, hogy inkább ebben a lokalizációban jelennek meg a kedvezőbb biológiai viselkedést mutató, lepidikus terjedésű adenocarcinómák is.

A *brain only* metasztázis a tüdőrák diagnózisakor fennálló N0 stádiumot jelenti, tehát nem igazolható nyirokcsomó érintettség. Az agyi áttétképződés mechanizmusa még számos ponton tisztázatlan, így kevésbé ismert, hogy pusztán hematogén szórásról van-e szó, vagy pedig nyirokcsomó áttéten keresztül jön létre a cerebrális érintettség. Ez utóbbi esetben

hamarabb várható távoli áttét megjelenése, mivel ismeretes, hogy tüdőrákban a *bulky* mediastinalis nyirokcsomó metasztázis jelenléte fokozza az agyi áttét kialakulásának rizikóját [Ceresoli, Cancer, 2002].

5. *Elsőként írták le, hogy tüdő adenocarcinoma agyi áttéteiben a daganat körüli mononukleáris gyűrű (mononuclear ring=MR) összefügg a túléléssel. A mononukleáris gyűrű milyen további vizsgálatait tartaná szükségesnek, és ennek milyen gyakorlati jelentősége lehet az agyi áttéttel rendelkező tüdőrákos betegek mindennapos ellátásában?*

A mononukleáris gyűrű további tanulmányozását már megkezdte munkacsoportunk. Terveink között szerepel a lymphoid sejtek pontos fenotipizálása (többek között CD3, CD4, CD8 és FoxP3 expresszió meghatározása) de emellett fontosnak tartjuk a monocyta-macrophag populáció elemzését is. Mindennek – együttesen az agyi áttétszövet PD-1/PD-L1 expressziójával – rendkívül nagy jelentősége lehet az immunterápia indukálta hyperprogressiv betegség patomechanizmusának vizsgálatában, és ennek a rettegett kórformának az előrejelzésében is, annak kivédése érdekében.

6. *Kimutatták a cisplatin kezelés tüdőrákra gyakorolt mutagén hatását, és igazolták, hogy cisplatin kezelést követően a betegek jelentős arányában csökken a tumorsejtek PD-L1 expressziója. Ennek az információnak birtokában, valamint az elsődleges daganat és a különböző szervi áttétek genomszekvenciáinak elemzésével megalkották a daganatevolúció modelljét. Hogyan hasznosíthatók ezek az eredmények a tüdőrákok citotoxikus kemoterápiája során?*

A platinabázisú kemoterápia mind a mai napig az előrehaladott stádiumú tüdőrák kezelésének bázisszere, így – évi 1,8 millió új esettel számolva – évente embereknek akár milliói is részesülhetnek ilyen terápiában. Éppen ezért rendkívül fontos annak tanulmányozása, hogy vajon a terápiás hatékonyság reményében alkalmazott citotoxikus kezelések nem okoznak-e olyan genetikai és/vagy epigenetikai változást, amely daganatsejtszelekcióhoz vezet, és kedvezőtlen irányba változtatja meg a daganat biológiai viselkedését vagy áttétképző hajlamát. A daganatevolúciós vizsgálatok elősegíthetik annak pontosabb megértését, hogy az egyes daganatellenes készítmények, beleértve akár a molekuláris célzott terápiákat és az immunterápiát is, milyen változásokat idéznek elő a tüdőrák genomjában. Az ilyen típusú vizsgálatok világítottak rá arra, hogy eredményes tumorelles kezelés csak akkor valósulhat meg, hogyha a „gyökérmutációkat”, a valódi driver elváltozásokat célozzuk, nem pedig a daganatevolúció későbbi fázisában megjelenő egyéb genetikai eltéréseket [McGranahan, Sci Transl Med, 2015]. Ennek a teóriának egyik legismertebb nemzetközi szakértője az a Charles Swanton, akivel több kutatási projektben is lehetőségünk nyílt együttműködni.

7. *Tüdőrákban a PD-L1 expresszió meghatározására a klinikai gyakorlatban több különböző antitest használata is lehetséges. Milyen szempontok alapján választották az SP-142-es antitestet? Van-e személyes tapasztalat és különbség az SP-142 antitest és egyéb, PD-L1 expresszió meghatározására alkalmas antitest közötti szenzitivitás-specifititás, klinikai hatékonyság terén?*

A PD-L1 protein expresszió vizsgálatát igen korán, már 2015-ben megkezdjük. Abban az időben a nemzetközi szakirodalom alapján a legalkalmasabb antitestnek az SP142 bizonyult, így vizsgálataink során ezt alkalmaztuk. Csak néhány évvel később történtek olyan összehasonlító vizsgálatok, amelyben az addigra már a klinikai gyakorlatban is megjelent újabb antitestekkel együtt négy – kereskedelmi forgalomban lévő – antitest elemzését tűzték ki célul. Ennek során megállapították, hogy a Ventana SP142-es antitestje szenzitivitásban elmarad a másik háromtól (Ventana SP263, Dako 22C3, Dako 28-8) [Hendry, JTO, 2018]. Mivel azonban addigra már valamennyi kutatási projektünkben egységesen az SP142-es antitestet alkalmaztuk, nem változtattunk ezen a későbbiekben sem. Fontos ugyanakkor kihangsúlyozni, hogy a klinikai gyakorlatban igenis nagy jelentősége van annak, hogy megfelelő szenzitivitású antitestet használjunk, mert ellenkező esetben betegek eshetnek el egy reményteli onkoterápiától. Különösen igaz ez akkor, ha az immunterápia indikációjaként az – amúgy erősen megkérdőjelezhető – 1%-os PD-L1 immunpozitivitást alkalmazzák. Ilyet találunk például a PACIFIC vizsgálatban, ahol a kemo-irradiációs kezelést követően csak azok a betegek kaphatnak fenntartó durvalumab monoterápiát, akik daganata legalább 1%-os PD-L1 immunpozitivitást mutat [Hui, Lancet Oncol., 2019].

8. A disszertáció részletesen vizsgálja és tárgyalja a tüdőrákok molekuláris célzott terápiájának és immunterápiájának prediktív markereit, azonban nem tér ki a betegek még mindig jelentős hányadában alkalmazott hagyományos citotoxikus kemoterápiák prediktív markereivel. Mi ennek a magyarázata? A kemoterápiák megválasztása esetén milyen betegszelekciós módszer alkalmazható a mindennapos klinikai gyakorlatban?

A tüdőrák kezelésében a molekuláris célzott terápia és az immunterápia paradigmaváltást hozott, mivel korábban nem volt arra példa, hogy egy onkológiai kezelés megválasztásában a patológus vagy a molekuláris biológus nyújt segítséget. Ez óriási lépés volt a személyre szabott daganatterápia irányába, azonban sajnálatos módon, ugyanez nem mondható el a citotoxikus kemoterápiákról. Annak ellenére, hogy az elmúlt évtizedekben számos próbálkozás történt a kemoterápiák személyre szabására, az eredmények nem váltották be a hozzájuk fűzött reményeket, így továbbra is inkább a mellékhatás profil vagy a beteg társbetegsége az, ami alapján némi szelekció történik a gyógyszerválasztáskor. A próbálkozások döntően az ERCC1 (excision repair cross-complementation group 1), az RRM1 (ribonucleotide reductase regulátor alegysége) és a TS (thymidylate synthase) expresszió tanulmányozására irányultak, mivel preklinikai vizsgálatok alapján a magas ERCC1 a platinaszármazékok rezisztenciájára, a magas RRM1 gemcitabin-rezisztenciára, míg a magas TS a pemetrexed hatásosságának csökkenésére utalt [Maus, JTO, 2013].

Az utóbbi évek kutatási eredményei ugyanakkor reménykeltők. A tüdőrák egyes molekuláris genetikai eltérései, így például az HRD (homologous recombination deficiency) score meghatározása alkalmas lehet a daganat platinium-érzékenységének predikciójára, amint azt egy – jelenleg a *Precision Oncology* c. újságban bírálat alatt álló – közleményünkben magunk is bemutatjuk. Az HRD – tehát a kettős-szálú DNS repair defektusa – hátterében állhat például a BRCA1 és a BRCA2 gén mutációja, aminek kimutatására már lehetőség van a klinikai

gyakorlatban is. Ennek igazolásakor feltételezhető a platinum kezeléssel szembeni érzékenység, továbbá a PARP-inhibitorok eredményes alkalmazhatósága. Habár az eddigi kutatások szerint tüdőrákban az ilyen eltérések ritkák, ha viszont igazolódnak, akkor annak jelentős terápiás konzekvenciája van.

9. Elsők között igazolták, hogy a thyroid transcription factor-1 (TTF-1) protein expresszió alkalmas lehet a primer és áttéti tüdő adenocarcinomák differenciálására. Ez a megfigyelés hogyan illeszthető be a mindennapos klinikai gyakorlatba?

A TTF-1 esetleges differenciáldiagnosztikai szerepét 1996-ban vetették fel közleményükben Holczinger és mtsai, sejtvonalakon végzett vizsgálataik alapján [Holczinger, Hybridoma, 1996]. A TTF-1 expresszió rutin klinikai gyakorlatban történő alkalmazásával először 2000-ben, Nancy-ban végzett kutatómunkám során találkoztam. Hazaérkezésem után Schaff Zsuzsanna Professzor Asszony támogatásával elvégeztük a disszertációban is feltüntetett vizsgálatot, ami a TTF-1 magas szenzitivitását és specificitását mutatta a primer és áttéti tüdő adenocarcinomák elkülönítésében. Az idő igazolta a TTF-1 immunhisztokémia fontosságát, hiszen mára már nincs patológiai laboratórium, amely ne használná ezt az immunreakciót. Jelentőségét fokozta az a körülmény is, hogy időközben olyan kemoterápiás készítmények kerültek bevezetésre (ilyen például a pemetrexed), amelyek csak „nem-laphámsejtes” carcinomában alkalmazhatók. 2004 után, a tüdőrákok molekuláris célzott terápiájának megjelenését követően, az adenocarcinoma diagnózis lassacskán egyet jelentett az EGFR mutáció, később pedig a ALK transzlokáció meghatározásának szükségességével, ami tovább növelte a TTF-1 immunreakció jelentőségét. Manapság az immunterápia térhódításával ugyancsak fontos szerephez jut, mivel adenocarcinomában és laphámrákban különböző az indikációs körhöz tartozó PD-L1 cut-off érték, továbbá különböző a finanszírozási protokoll is. Így például adenocarcinomában a pembrolizumabot platinaszármazékkal és pemetrexeddel kombinálják, laphámrákban pedig carboplatinnal és paclitaxellel. Míg adenocarcinomában $\geq 50\%$ PD-L1 TPS (tumor proportion score) esetén az immunterápia tételes finanszírozással adható, addig laphámrákban PD-L1 meghatározás nélkül, de csak EMK (egyedi méltányossági kérelem) alapján finanszírozottan.

Végezetül szeretném ismételten megköszönni Herszényi Professzor Úrnak a disszertációm gondos áttanulmányozását, az elismerő szavakat, és kérem válaszaim elfogadását.

Budapest, 2021. 03. 21.



Moldvay Judit