



••• Tema – immunterapi

Makrofager



i skottlinjen

– nya behandlingar banar väg för effektivare immunterapi

Immunterapi mot cancer har gjort stora framsteg och för många patienter finns nu möjlighet till framgångsrika behandlingar som inte fanns för tio år sedan. Det finns dock vissa typer av cancer där befintlig immunterapi inte har fungerat. I en studie från Karolinska Institutet har en ny typ av immunterapi utvecklats som ger hopp om fler framtida behandlingsalternativ mot cancer.

Studien har publicerats i Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS). Här beskriver forskarna **Dhifaf Sarhan, Johan Botling** och **Mikael Karlsson** de senaste fynden på detta högtintressanta forskningsområde.

Immunterapi mot cancer har möjliggjort bot och lindring vid tidigare dödliga cancerformer, men är trots alla framgångar endast effektivt hos färre än 40 procent av alla cancerpatienter (Hamid et al., 2013). Effektiviteten av behandlingen är starkt begränsad av tumörstödande och immunreglerande celler i mikromiljön i tumören som blockerar immuncellerna från att ta död på cancercellerna. Därför har fokus riktats mot dessa celler för strategier som kan göra immunterapi mer effektiv, dels för att förbättra effektiviteten i behandlingen, dels för att terapin ska fungera för fler cancertyper (Jia, Liu, & Shan, 2020). Vi har tidigare rapporterat att specifika antikroppar mot så kallade makrofager, i flertal tumörtyper dämpar deras härmningsförmåga och förhindrar tumörtillväxten i musmodeller för cancer-tillväxt. Våra nya resultat visar nu att dessa makrofager infiltrerar ett flertal cancerformer i människor inklusive lungcancer, melanom, och bukspottkörtelcancer, och begränsar funktionen av immunceller och effektiviteten av immunterapi. Vi kan nu även visa i två oberoende studier som nyligen publicerats att hämning av tumörmakrofager med hjälp av antikroppar kan förstärka immunförsvarets funktion för att döda behandlingsresistenta cancerceller (Eisinger et al., 2020; La Fleur et al., 2020). Detta projekt är ett samarbete mellan Karolinska Institutet, Uppsala universitet, Institute for Research in Biomedicine i Schweiz och Rockefeller Uni-

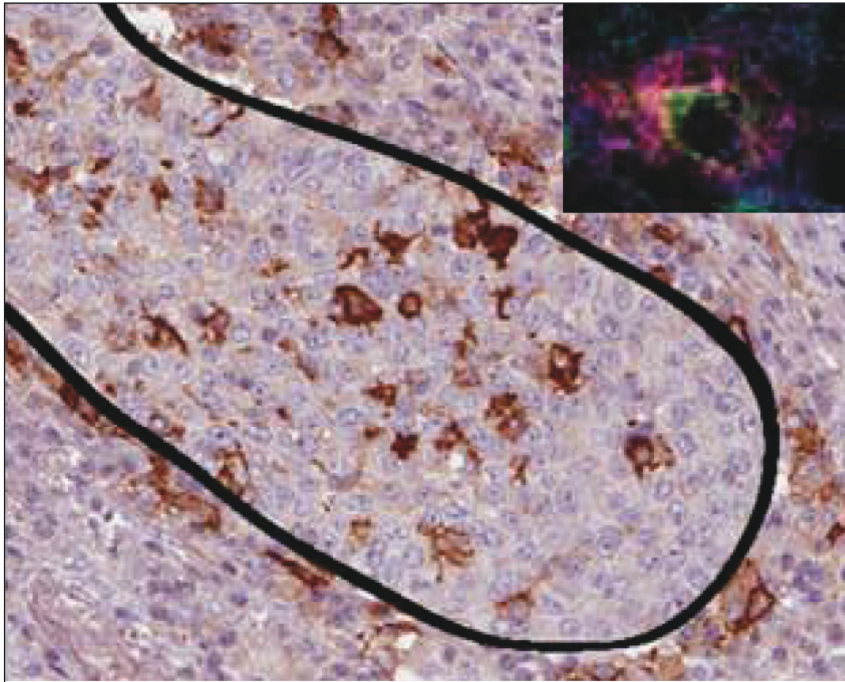
versity i New York och har stöd från Cancerfonden och Sjöbergstiftelsen. Detta stöd har möjliggjort utveckling av nya humana antikroppar som riktar sig mot de immunhämmande cellerna i tumören och vi planerar nu att ta dessa vidare för att göra terapin tillgänglig för patienter.

HINDER MÅSTE ÖVERBRYGGAS

För att immunsvaret mot maligniteter ska leda till effektivt dödande av cancerceller måste ett antal kriterier vara uppfyllda. Eftersom cancerceller utvecklas från kroppens egna celler är immunresponsen mot dessa oftast inte så kraftig som vid en infektion. Dessutom utvecklar tumören en immunhämmande miljö som skyddar den mot angrepp av de celler i kroppens immunförsvaret som har en potentiell förmåga att döda cancerceller. Dessa hinder måste alltså överbryggas. Den goda nyheten är att det finns ett antal celltyper, både i det adaptiva och det nedärvda immunförsvaret som kan stimuleras för att angripa tumören. En viktig celltyp från det nedärvda försvaret som aktiveras tidigt är så kallade naturliga mördarceller (NK-celler). NK-celler tros sakna förmåga till immunologiskt minne men kan döda stressade celler och celler som växer okontrollerat, och de kan dessutom producera signalproteiner (cytokiner) som kan aktivera andra immunceller. I kliniken har man sett att NK-cellernas aktivitet, aktivering och ansamling i tumören



•• Tema – immunterapi



Figur 1. Bilden visar makrofager som uttrycker MARCO (i brunt), anrikade i ett markerat näste av lungcancer celler i en biopsi från en patient. Den infällda bilden i övre högra hörnet visar en makrofag (makrofagmarkör i grönt) som sannolikt skyddar tumören mot angripande T-celler och NK-celler via uttryck av MARCO (rött) och PD-L1 (blått). Således en attraktiv måltavla för de behandlingsprinciper som beskrivs i artikeln.

korrelerar med bättre prognos. NK-celler styrs av ett antal receptorer som kan vara hämmande eller aktiverande och det är balansen mellan dessa signaler som avgör om de kommer att ta död på tumören eller inte. Oftast är det så att i tumören dominerar de hämmande signalerna och hindrar NK-cellerna. När det gäller det adaptiva svaret sker det mot tumörspecifika proteiner (så kallade neoantigener) som skapats under tumörutvecklingen på grund av de mutationer i tumörens arvs massa som gjort att den växer okontrollerat. Dessa proteiner fångas upp av antigenpresenterande celler vilka är makrofager eller dendritiska celler (DC) som kan göra NK-celler mer effektiva men även aktivera tumörspecifika T-celler som en del av den adaptiva immunresponsen.

KAN LEDA TILL POSITIV SPIRAL

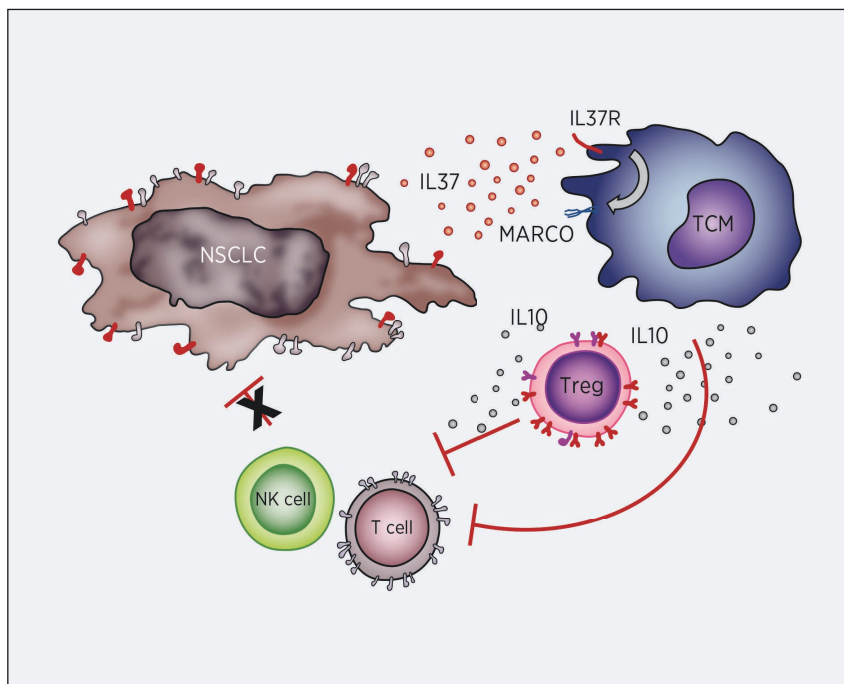
Signalerna som gör de antigenpresenterande cellerna mer effektiva är proinflammatoriska cytokiner som kan släppas fria från döende tumörceller eller aktivering av andra celler i tumören som ett resultat av inflammation som är kopplad till tumörers destruktiva växtsätt i vävnaden. Normalt när neoantigenet presenterats aktiveras T-cellerna specifikt mot cancer cellerna och kan ta död på dem. Detta sker i lymfkörtlar som en respons om antigenet upplevs som främmande av immunsystemet. De T-celler som aktiveras kan sedan transporteras via blodet och migrera ut till tumören för att ta död på den. Även denna process som är en del av det adaptiva immunsvaret kan dock hämmas av tumörmikromiljön där både antigenpresentationen i lymfkörtlarna liksom T-cellsinfiltrationen i tumörvävnaden kan inhiberas. Om ett immunsvaret trots allt uppstår kan dödandet av cancer cellerna frigöra ytterligare neoantigener och därmed öka be-

” NK-celler styrs av ett antal receptorer som kan vara hämmande eller aktiverande och det är balansen mellan dessa signaler som avgör om de kommer att ta död på tumören eller inte.

handlingssvarets bredd och djup vilket kan leda till en positiv spiral, så kallad ”cancerimmunitetscykel” (Chen & Mellman, 2013). Man behöver alltså komma förbi de hämmande mekanismerna så att immunreaktionen blir självdrivande. Hos cancerpatienter fungerar således inte cancerimmunitetscykeln optimalt. Neoantigener kanske inte detekteras. DC-celler och T-celler kan behandla antigener som kroppsegna snarare än främmande och därigenom låta bli att aktiveras. T-celler och NK-celler kanske inte är närvarande i tumörbädden om de hindras från att infiltrera tumören.

MAKROFAGER SPELAR EN VIKTIG ROLL

Som nämnts består tumörmikromiljön av många olika celltyper bortom de maligna cellerna, inklusive immunceller. Under upprättandet av en tumör, omprogrammeras immuncellerna av cancer cellerna för att bli vilande och i



Figur 2. Figuren visar att lungcancer (NSCLC) utsöndrar IL37 som driver uttryck av MARCO på tumörassocierade makrofager (TCM). Dessa utsöndrar IL10 och tillsammans med regulatoriska T-celler (Treg) hindrar de NK-celler och T-celler att ta död på tumören. Genom att använda antikroppar mot MARCO kan vi störa denna process så att NK-cellerna och T-cellerna aktiveras (illustration: Malin Winerdahl).

många fall stödja cancertillväxt. Det har visat sig att särskilt makrofager spelar en avgörande roll i tumörprogression eftersom de kan främja kärlbildning, hämma immunsvaret och delta i att generera så kallade ”kalla” tumörer som undviker att infiltreras av till exempel NK-celler och T-celler. Förekomsten av ett stort antal tumörassocierade makrofager i cancer hos människa korrelerar med sämre överlevnad i många cancerformer, såsom lungcancer, melanom, och bukspottkörtelcancer. Trots att T-cellsriktad immunterapi har gjort stora framsteg i många metastaserande cancerformer har de senaste tidens deprimerande resultat i kliniska prövningar, exempelvis i bukspottkörtelcancer, vänt fokus till makrofager som nästa immuncell att rikta in sig på för att slå ner immunhämningssystemet.

En komplicerande faktor är att makrofager i tumörer är en heterogen population av celler som varierar mycket mellan individer och cancerformer. Anledningen till detta är att makrofager är mycket mottagliga för signaler från omgivningen i vävnaden och kan ändra sin form och funktion. Detta är visat i tumörer där olika regioner kan innehålla olika typer av makrofager, till exempel nära blodkärl eller i mitten av tumören där det finns mindre syre.

SKA FÅS ATT ARBETA MOT CANCERN

Fördelen är att detta ger möjlighet att också påverka eller aktivera makrofager för att arbeta mot cancer och ändra den hämmande miljön i tumören. I våra nyligen publicerade studier har vi visat att cancercellerna formar makrofager genom till exempel produktion av anti-inflammatoriska faktorer som cytokinen IL-37 vilket gör att de blir hämmande för andra immunceller. I samband med detta

börjar makrofager uttrycka en Scavenger Receptor (SR) som heter MARCO (makrofagereceptor med kollagen struktur) som normalt har begränsat uttryck på celler i kroppen och alltså i det här fallet är förhållandevis tumorspecifikt. Här visas ett exempel från lungcancer av MARCO uttryckande makrofager, där vi även visar att dessa uttrycker PD-L1 som används för närvarande för immunterapi, figur 1. (La Fleur et al., 2018). Vi kan visa att just dessa MARCO-positiva makrofager är väldigt effektiva på att hämma NK-celler och T-celler men också omforma svaret av T-celler för att generera så kallade regulatoriska T-celler. Dessa regulatoriska T-celler kan då i sin tur också stänga av immunresponsen mot tumören. Vi såg att interaktionen mellan MARCO-makrofager och regulatoriska T-celler gjorde att de ökade sin celldelning samt producerade mer anti-inflammatoriska cytokiner såsom IL-10. Vidare visar vi också att IL-10 kan ge upphov till fler MARCO-positiva makrofager som ytterligare då kan hämma NK- och T-celler. Det bildas alltså en negativ loop som är effektiv på att hindra en positiv cancerimmunitetscykel och detta gör att tumören kan undslippa immunresponsen och växa till.

STÖRA HÄMMANDE FUNKTION

Eftersom MARCO-makrofager har denna funktion och är specifikt anrikade i tumörer riktade vi vår forskning mot att försöka störa deras hämmande funktion. Vi utvecklade specifika antikroppar mot MARCO-receptorn och det visade sig att dessa kunde aktivera makrofager så att de inte längre blockerade NK-celler eller T-celler. Vi kunde visa att nu släpptes dessa cellers funktion fri och tumörcellerna kunde dödas (figur 2). Vi såg ytterligare att antikropparna



••• Tema – immunterapi

inte tog död på makrofagerna utan aktiverade dem så att de inte längre var hämmande. Vi kunde vidare visa att anti-MARCO-antikroppar fungerar i kombination med existerande immunterapi som riktar sig mot T-celler. Ytterligare, visade vi att MARCO-celler inte bara i tumörmodeller utan även från cancerpatienter har denna funktion och kan aktiveras av antikropparna. Dessa studier har ökat vår förståelse om makrofagernas funktion i tumören, men även visat att antikropsbehandling är en möjlig väg för att påverka tumörmikromiljön för att göra behandlingarna effektivare. Målet är att nu utveckla en human anti-MARCO-antikropp vidare för att använda i kliniska prövningar i patienter med behandlingsresistenta cancerformer. Vi ser en stor potential i denna behandling framförallt i kombination med andra immunterapier. Även om vi såg en effekt av enbart den makrofag-riktade behandlingen tror vi att det är i kombinationer och i patientspecifik medicin som den kommer att ha mest effekt. Vi tror att detta är hjälpt av att MARCO-makrofagerna också uttrycker PD L1 i lungcancer. I koppling till detta vill vi även fortsätta studier för att se om MARCO-uttryckande makrofager kan användas som klinisk biomarkör för tumöruppkomst och progression även i andra cancerformer.

Sammanfattningsvis ser vi att det finns en stor potential för anti-MARCO och även annan terapi som riktar mot tumörmikromiljön att bli nästa immunterapi i kombination med andra immunterapier. För att detta skall bli verklighet är det viktigt att immunologer, tumörbiologer, patologer och onkologer samarbetar och att det finns en stark koppling mellan kliniken och grundforskningen som exemplifieras av dessa två studier.

REFERENSER

Chen, D. S., & Mellman, I. (2013). Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, 39(1), 1-10. doi:10.1016/j.immuni.2013.07.012

Eisinger, S., Sarhan, D., Boura, V. F., Ibarlucea-Benitez, I., Tyystjarvi, S., Oliynyk, G., ... Karlsson, M. C. I. (2020). Targeting a scavenger receptor on tumor-associated macrophages activates tumor cell killing by natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 117(50), 32005-32016. doi:10.1073/pnas.2015343117



Hamid, O., Robert, C., Daud, A., Hodi, F. S., Hwu, W. J., Kefford, R., ... Ribas, A. (2013). Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*, 369(2), 134-144. doi:10.1056/NEJMoa1305133

Jia, Y., Liu, L., & Shan, B. (2020). Future of immune checkpoint inhibitors: focus on tumor immune microenvironment. *Ann Transl Med*, 8(17), 1095. doi:10.21037/atm-20-3735

La Fleur, L., Botling, J., He, F., Pelicano, C., Zhou, C., He, C., ... Sarhan, D. (2020). Targeting MARCO and IL-37R on immunosuppressive macrophages in lung cancer blocks regulatory T cells and supports cytotoxic lymphocyte function. *Cancer Res*. doi:10.1158/0008-5472.CAN-20-1885

La Fleur, L., Boura, V. F., Alexeyenko, A., Berglund, A., Ponten, V., Mattsson, J. S. M., ... Botling, J. (2018). Expression of scavenger receptor MARCO defines a targetable tumor-associated macrophage subset in non-small cell lung cancer. *Int J Cancer*, 143(7), 1741-1752. doi:10.1002/ijc.31545

DHIFAF SARHAN, BITRÄDANDE LEKTOR, INSTITUTIONEN FÖR MIKROBIOLOGI, TUMÖR- OCH CELLBIOLOGI, KAROLINSKA INSTITUTET, DHIFAF.SARHAN@KI.SE



JOHAN BOTLING, ÖVERLÄKARE VID AKADEMISKA SJUKHUSET OCH FORSKARE VID INSTITUTIONEN FÖR IMMUNOLOGI, GENETIK OCH PATOLOGI VID UPPSALA UNIVERSITET, JOHAN.BOTLING@IGP.UU.SE



MIKAEL KARLSSON, PROFESSOR, INSTITUTIONEN FÖR MIKROBIOLOGI, TUMÖR- OCH CELLBIOLOGI, KAROLINSKA INSTITUTET, MIKAEL.KARLSSON@KI.SE

