

Makrofagien monimuotoisuus kasvaimen mikroympäristössä

LuK-tutkielma
Turun yliopisto
Bioteknologian laitos
Biokemia
04/2024
Milja Nekala

TURUN YLIOPISTO

Bioteknologian laitos

MILJA NEKALA: Makrofagien monimuotoisuus kasvaimen mikroympäristössä

Tutkielma, 17 s

Biokemia

Huhtikuu 2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin Originality Check -järjestelmällä

Syöpä on maailmanlaajuisesti merkittävä sairaus, jossa elimistön omat solut alkavat jakaantua rajoittamattomasti. Nämä syöpäsolut kykenevät muodostamaan eri puolelle elimistöä kasvaimia. Immuunipuolustuksen ja siihen kuuluvien immuunisolujen tehtävänä on pyrkiä estämään syövän syntyä ja sen leviämistä. Etenkin immuunipuolustuksen toiminnassa tärkeässä tehtävässä toimivia immuunisoluja ovat makrofagit, jotka tuhoavat fagosytoosin avulla haitallisia organismeja kuten bakteereita ja viruksia elimistöstä.

Makrofageilla on havaittu olevan kyky polarisoitua useaksi erilaiseksi makrofagityypiksi kasvainympäristöstä saamiensa signaalien perusteella. Näillä erilaisilla makrofagityypeillä voi olla syövän yhteydessä joko syövän toimintaa edistäviä tai estäviä vaikutuksia. Makrofagit sekä muut kasvaimen alueen immuunisolut erittävät erilaisia sytokiineja, kemokiineja, kasvutekijöitä ja muita signaalimolekyylejä, joilla ne pyrkivät vaikuttamaan kasvaimen toimintaan. Kasvaimen kasvua edistävät M2-kaltaiset makrofagit voivat edistää syöpää esimerkiksi edistämällä angiogeneesiä, immuunisuppressiota sekä lisäämällä syöpäsolujen invaasiota sekä kroonista tulehdusta.

Kasvaimen mikroympäristössä esiintyvät makrofagit eli kasvainsidonnaiset makrofagit ovat tärkeitä avaintekijöitä syövän etenemisessä. Makrofagien monimuotoisuuden sekä niiden toiminnan ymmärtäminen voisi mahdollisesti auttaa syövän toiminnan ymmärtämisessä. Lisäksi se voisi mahdollistaa erilaisten parannuskeinojen kehittämistä.

Sisältö

1. Johdanto.....	2
2. Immuunipuolustus	3
2.1. Synnynnäinen immunitetti	3
2.2. Hankittu immunitetti	4
3. Kasvaimen mikroympäristö.....	6
3.1. Kasvaimen immuunimikroympäristö.....	7
3.1.1. Kasvainta estävät immuunisolut	7
3.1.2. Kasvainta edistävät immuunisolut	8
4. Kasvainsidonnaiset makrofagit syövän edistäjinä.....	9
4.1. Kasvainsidonnaisten makrofagien rooli angiogeneesissä	9
4.2. Krooninen tulehdus ja kasvainsidonnaiset makrofagit.....	10
4.3. Kasvainsidonnaiset makrofagit immuunivasteen heikentäjinä	10
5. Makrofagit ovat luultua monimuotoisempia	12
5.1. M1- ja M2-polarisaatio	12
5.2. Kasvainsidonnaisten makrofagien alaluokat.....	12
5.3. Kasvainsidonnaisten makrofagien luokittelu toiminnan perusteella	14
6. Yhteenveto.....	16
Kirjallisuus	17

1. Johdanto

Immuunipuolustus suojaa elimistöä haitallisilta sekä vierailta organismeilta kuten bakteereilta ja viruksilta. Immuunipuolustuksen toiminta voidaan jakaa sekä synnynnäiseen että hankittuun immunitettiin. Immuunipuolustuksessa tärkeässä roolissa ovat immuunisolut, joiden tarkoituksena on tuhota haitalliset elimistöön päässeet patogeenit sekä muut haitalliset solut kuten syöpäsolut. (Marshall ja muut 2018.)

Syöpä on sairaus, jossa elimistön terveet solut muuttuvat pahanlaatuisiksi, rajoittamattomasti jakautuviksi syöpäsoluiksi. Syöpää voivat aiheuttaa esimerkiksi erilaiset karsinogeeniset aineet, jotka mutatoivat elimistön terveitä soluja. Kasvaimet ovat syöpäsoluista muodostuvia rakenteita, joita voi muodostua eri kudoksiin ympäri elimistöä. Kasvaimien syntyminen mahdollistaa syövän leviämistä elimistössä. Syöpäkasvaimen toiminnalle on tärkeää kasvaimen muodostuva mikroympäristö, jonka muodostaa soluväliaine, paikalliset immuunipuolustuksen solut, strooman solut sekä kasvaimen verisuonet. Kasvaimen mikroympäristön muodostuminen mahdollistaa syövän leviämiselle optimaaliset olosuhteet. Kasvaimen mikroympäristön immuunisolut voivat vaikuttaa kasvaimen toimintaan sitä edistäen tai estäen. (Anderson ja Simon 2020.)

Makrofagit ovat immuunipuolustuksessa toimivia syöjäsoluja, joiden tarkoituksena on tuhota elimistöön päässeitä patogeeneja (Marshall ja muut 2018). Kasvaimen mikroympäristön yhteydessä on havaittu olevan runsaasti kasvainsidonnaisia makrofageja, joilla on todettu olevan erityisiä vaikutuksia syövän etenemisen mahdollistamiseen. Lisäksi kasvaimen mikroympäristössä on havaittu olevan useampaa eri makrofagityyppiä. (Pan ja muut 2020.) Tutkielman tavoitteena on perehtyä makrofagien monimuotoisuuteen ja toimintaan kasvaimen mikroympäristössä. Makrofagien monimuotoisuuden sekä toiminnan ymmärtäminen kasvaimen mikroympäristössä on hyvin tärkeää syöpätutkimuksen sekä mahdollisten syövän parannuskeinojen kehittämiseksi.

2. Immuunipuolustus

Immuunipuolustus on elimistön puolustuksesta vastaava järjestelmä, joka reagoi elimistön sisään päässeisiin vieraisiin tai haitallisiin organismeihin, kuten esimerkiksi viruksiin sekä bakteereihin. Ennen kuin vieras organismi pääsee elimistöön sisälle, täytyy sen ohittaa elimistön ulkoiset suojat. Elimistön ulkoisia suojia patogeenejä vastaan ovat esimerkiksi ehjä iho, mahalaukun hapan pH ja limakalvot. Immunipuolustus voidaan jakaa synnynnäiseen sekä hankittuun immunitettiin, jotka toimivat tiiviisti yhdessä. (Turvey ja Broide 2010.)

2.1. Synnynnäinen immunitetti

Ulkoisen puolustuksen muodostavat fysiologiset (esimerkiksi mahalaukun hapan pH) sekä anatomiset esteet (esimerkiksi ehjä iho, limakalvot) ovat ensimmäinen osa synnynnäisen immunitetin toiminnasta (Turvey ja Broide 2010). Jos patogeeni läpäisee ulkoisen puolustuksen, aktivoituvat synnynnäisen immunitetin puolustussolut. Synnynnäisen immunitetin puolustussoluja ovat monosyytit, makrofagit, dendriittisolut, mast-solut, easinofiilit, basofiilit, neutrofiilit sekä luonnolliset tappajasolut eli NK-solut (engl. natural killer cells). (Marshall ja muut 2018.)

Patogeenien tunnistus synnynnäisessä immunitetissä perustuu patogeenien pinnalla oleviin pintarakenteisiin (engl. pathogen associated molecular patterns, PAMPs) joita synnynnäisen immunitetin immuunisolut pystyvät tunnistamaan niiden pinnalla olevien hahmontunnistusreseptorien avulla (engl. pattern recognition receptors, PRRs). Osa synnynnäisen immunitetin puolustussoluista pystyy tuhoamaan patogeenejä fagosytoosin avulla. Fagosytoosi eli solusyönti perustuu siihen, että immuunisolu tuhoaa patogeenin syömällä sen. Synnynnäisen immunitetin puolustussoluista makrofagit, dendriittisolut sekä neutrofiilit ovat fagosyyttejä eli ne osallistuvat patogeenien fagosytoomiseen. (Marshall ja muut 2018.)

Muita synnynnäisen immunitetin keinoja puolustautumiseen patogeenejä vastaan ovat erilaiset komponentit kuten komplementtiproteiinit ja antimikrobiaaliset peptidit. Synnynnäinen immunitetti reagoi patogeenin aiheuttamaan haittaan nopeasti, jopa minuuteissa ja se toimii aina samalla tavalla. Synnynnäiselle immunitetille ei kehity

hankitulle immuniteetille tyypillistä immunologista muistia, joka on spesifinen elimistön kohtaamille patogeeneille. (Turvey ja Broide 2010.)

2.2. Hankittu immuniteetti

Hankittu immuniteetti on immuunipuolustuksen osa, joka kehittyy jatkuvasti kohdatessaan uusia vieraita organismeja. Hankittu immuniteetti voidaan jakaa humoraaliseen sekä soluvälitteiseen immuniteettiin. Humoraalinen immuniteetti muodostuu B-soluista sekä niiden erittämistä vasta-aineista ja soluvälitteinen immuniteetti puolestaan muodostuu T-solujen muodostamasta vasteesta. (Marshall ja muut 2018.)

T-solut syntyvät B-solujen tapaan luuytimessä, mutta ne siirtyvät kateenkorvaan kypsymään. T-solujen pinnalla on niille spesifinen TCR-reseptori (engl. T cell receptor), jolla ne voivat kiinnittyä niille esiteltäviin antigeeneihin. T-solut eivät siis pysty reagoimaan patogeeneihin suoraan, vaan tarvitsevat antigeeniä esittelevän solun tunnistaakseen patogeenin antigeenin ja aktivoituaakseen. T-solut voidaan jakaa kahteen eri pääryhmään: T-sytotoksisiin soluihin (engl. cytotoxic T cell, CTC) ja T-auttajasoluihin (engl. T helper cell, T_h). (Bonilla ja Oettgen 2010.)

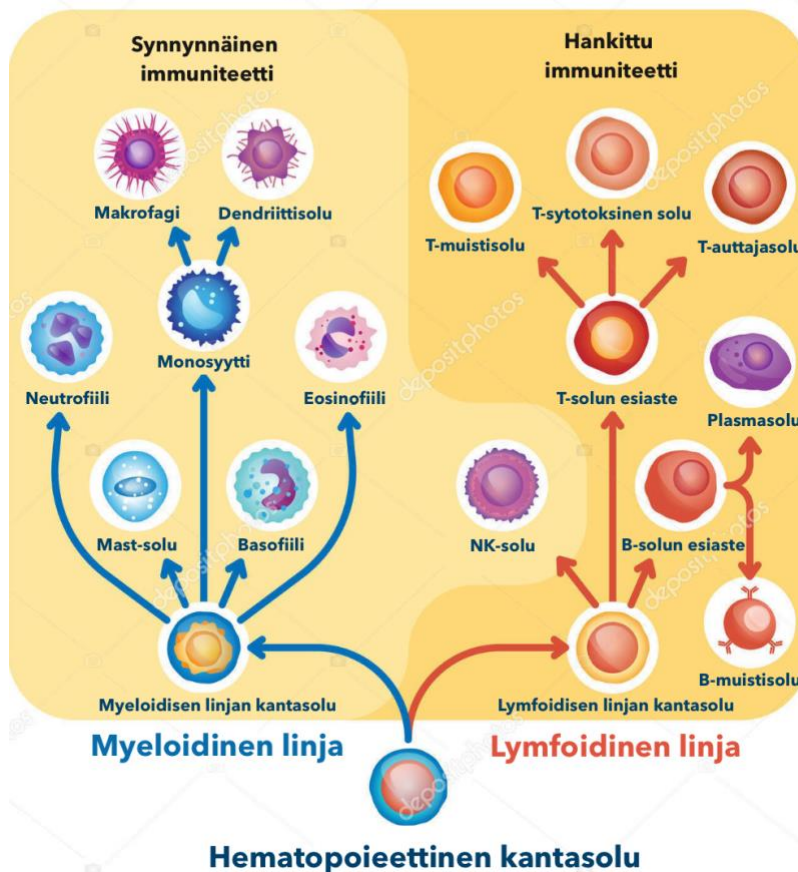
B-solut pystyvät sitoutumaan spesifisesti antigeeneihin niiden pinnalla olevan yksilöllisen BCR-reseptorin (engl. B cell receptor) kautta. B-solut eivät tarvitse erillistä aktivointia toisen solun toimesta kiinnittyessään antigeeniin. B-solut kuuluvat antigeeniä esitteleviin soluihin (engl. antigen presenting cell, APC), joiden tehtävänä on aktivoida muita immuunipuolustuksen soluja. B-solujen lisäksi antigeeniä esitteleviä soluja ovat makrofagit sekä dendriittisolut. Kun B-solu aktivoituu, alkaa se muodostamaan kyseistä antigeeniä kohtaan vasta-aineita. (Marshall ja muut 2018.)

Sekä B- että T-lymfosyytit kulkeutuvat sekundäärisiin lymfoidisiin elimiin (esimerkiksi perna) kypsymään ja hankitun immuniteetin toiminta usein alkaa antigeeniä esittelevän solun kulkeutuessa sekundäärisiin lymfoidisiin elimiin. Kun antigeeniä esittelevä solu esittelee esimerkiksi pernassa oleville lymfosyyteille tuhotun patogeenin antigeenejä, aktivoituvat lymfosyytit. Aktivoituneet lymfosyytit voivat sitten kulkeutua sekundäärisistä lymfoidisista elimistä tulehduspaikalle tuhoamaan patogeeniä. Kun patogeeni on kohdattu, muodostuu T- ja B-lymfosyyteille muistisoluja kyseistä

patogeeniä kohtaan, jolloin seuraavalla kerralla, kun kyseinen patogeeni kohdataan, on vaste sitä kohden nopeampi. (Bonilla ja Oettgen 2010.)

Hankittu immunitetti ei reagoi patogeeniin samalla nopeudella kuin synnynnäinen immunitetti. Hankittu immunitetti reagoi patogeeniin viiveellä, joka voi olla tunneista päiviin. (Turvey ja Broide 2010.) Hankitun immunitetin toiminta ja kehittyminen ovat yhteydessä synnynnäisen immunitetin toimintaan. Synnynnäisen ja hankitun immunitetin yhteistoiminta on edellytys toimivalle immuunipuolustukselle. Immuunipuolustuksessa tärkeässä osassa ovat sekä synnynnäisen että hankitun immuunipuolustuksen solut, jotka syntyvät yhteisestä kantasolusta, jota kutsutaan hematopoeettiseksi kantasoluksi (kuva 1). (Chaplin 2010.)

Immuunipuolustuksen solut



Kuva 1. Immuunipuolustuksen säätelyyn osallistuvat solut. Immuunipuolustus vastaa elimistön puolustuksesta vieraita organismeja kuten bakteereita tai viruksia vastaan. Immuunipuolustus voidaan jakaa synnynnäiseen sekä hankittuun immunitettiin. Synnynnäisen ja hankitun immunitetin puolustussolut syntyvät kaikki yhteisestä esikantasolusta, jota kutsutaan hematopoeettiseksi kantasoluksi. Kuva muokattu lähteestä: Depositphotos, ID:357354348.

3. Kasvaimen mikroympäristö

Kasvaimen mikroympäristöllä (engl. tumor microenvironment, TME) tarkoitetaan kasvaimen ympärille muodostuvaa aluetta, jonka muodostavat tyypillisesti soluväliaine, strooman solut, immuunipuolustuksen solut sekä kasvaimen verisuonet. TME:n koostumus ei välttämättä aina ole samanlainen, vaan riippuen siitä millainen kasvain on kyseessä, sen koostumus voi vaihdella. TME:ssä on tyypillisesti useita immuunipuolustuksen soluja, joilla kaikilla on hieman erilainen vaikutus kasvaimen mikroympäristöön. TME:ssä olevia immuunipuolustuksen soluja ovat esimerkiksi B- ja T-solut, NK-solut, neutrofiilit, makrofagit sekä dendriittisolut. Nämä immuunisolut vaikuttavat TME:hen erittämälläan sytokiineilla, saaden aikaiseksi kasvaimen kasvua edistäviä tai estäviä vaikutuksia. (Anderson ja Simon 2020.)

Soluväliaine sisältää esimerkiksi fibronektiinia, kollageenia sekä laminiinia ja se tarjoaa soluille tukipinnan. Soluväliaine toimii myös muiden solujen erittämien kasvutekijöiden varastona sekä se osallistuu solujen toimintojen säätelyyn kuten solujen migraatioon, jakautumiseen ja kehittymiseen. Soluväliaine on tärkeä TME:n komponentti, jolla on havaittu olevan suuri vaikutus syövän etenemisessä sillä se osallistuu syövän etenemistä edistävien prosessien kuten angiogeneesin kulkuun. Soluväliaine edistää muiden solujen kuten endoteelisolujen migraatiota TME:hen. (Pickup ja muut 2014.)

Verisuonien muodostuminen on kasvaimelle tärkeä keino, jolla mahdollistetaan kasvaimen kasvu, metastaasien muodostuminen ja sitä kautta syövän eteneminen. Kasvain tarvitsee verisuonitusta saadakseen ravintoa sekä happea, jotka ovat tärkeässä roolissa syövän etenemisen mahdollistamiseksi. Verisuonien uusiomuodostuksen eli angiogeneesin avulla taataan kasvavalle kasvaimelle riittävä hapen ja ravinteiden saanti. (Jiang ja muut 2020.)

Strooman soluilla (esim. endoteelisolut ja fibroblastit) on tärkeä rooli syövän edistämässä. Strooman solut kulkeutuvat TME:hen kasvainsolujen houkuttelemana ja päätyessään sinne ne toimivat kasvainsolujen kanssa yhdessä aiheuttaen syöpää edistäviä vaikutuksia (esim. angiogeneesin edistäminen). (Anderson ja Simon 2020.) TME ja sen komponentit sekä immuunisolut ovat tärkeitä syövän etenemiselle sillä ne vaikuttavat usealla eri tavalla kasvaimen kehitykseen ja sitä kautta syövän etenemiseen. Kuitenkin riippuen syöpätyypistä ja kasvaimen rakenteesta TME voi olla erilainen. (Arneth 2019.)

3.1. Kasvaimen immuunimikroympäristö

Kasvaimen immuunimikroympäristöllä (engl. tumor immune microenvironment, TIME) tarkoitetaan TME:n alueella olevaa kasvaimen immuunijärjestelmää, jonka säätelyyn osallistuvat kasvaimen alueella olevat immuunisolut. Kasvaimen immuunimikroympäristössä olevia immuunisoluja ovat esimerkiksi makrofagit, neutrofiilit, dendriittisolut, T-solut (CTC, T_H ja T_{reg}), myeloidista peräisin olevat suppressorisolut (engl. myeloid derived suppressor cells, MDSC) ja NK-solut. Nämä kasvaimen immuunimikroympäristön säätelyyn osallistuvat solut vuorovaikuttavat toistensa kanssa, muodostaen yhdessä niiden erittämien sytokiinien kanssa joko kasvaimen kasvua edistäviä tai estäviä vaikutuksia. (LV ja muut 2022.)

3.1.1. Kasvainta estävät immuunisolut

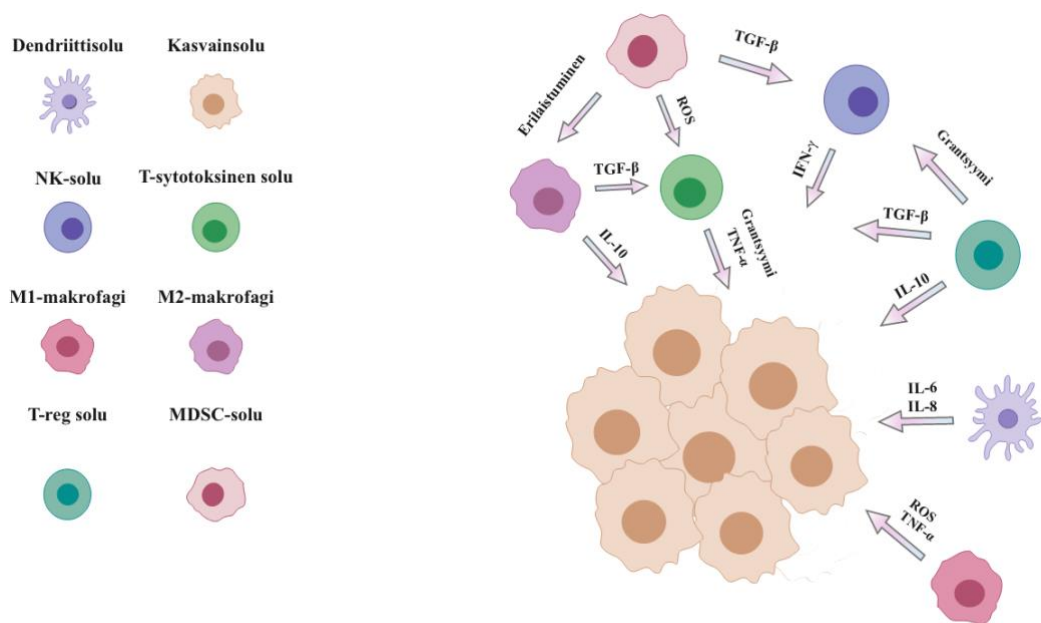
Kasvainta estävien immuunisolujen tehtävänä on vaikuttaa negatiivisesti kasvainsolujen toimintaan ja sitä kautta myös kasvaimen kasvamiseen. TME:ssä kasvaimen syntymistä estäviin immuunisoluihin kuuluvat esimerkiksi dendriittisolut, M1-luokan makrofagit, T-sytotoksiset solut, T-auttajasolut sekä NK-solut (kuva 2). (LV ja muut 2022.)

M1-luokan makrofageille, T-soluille ja dendriittisoluille yhteistä on kyky erittää tuumorinekroositekijä alfaa (engl. tumour necrosis factor α , TNF- α). NK-solut ja T-solut erittävät molemmat interferoni gammaa (engl. interferon- γ , IFN- γ) sekä grantsyymejä (A, B). Grantsyymit, TNF- α ja IFN- γ osallistuvat kasvainta estävän toiminnan ylläpitoon ja kasvainsolujen apoptoimiseen. (LV ja muut 2022.) M1-makrofagit voivat vaikuttaa kasvaimen toimintaan tappamalla kasvainsoluja erittämänsä reaktiivisten happiradikaalien (engl. reactive oxygen species, ROS) sekä reaktiivisten typpiradikaalien (engl. reactive nitrogen species, RNS) avulla. (Lei ja muut 2020.)

Lisäksi kasvainta estävistä immuunisoluista dendriittisolut sekä M1-luokan makrofagit erittävät interleukiineja (engl. interleukin, IL), joilla ne osallistuvat muiden solujen aktivoimiseen tai kasvainta estävän toiminnan ylläpitoon. Dendriittisolut erittävät TME:ssä esimerkiksi interleukiineja IL-6, -8 ja -12, M1-kaltaiset makrofagit puolestaan interleukiineja IL-1 β ja IL-12. (LV ja muut 2022.) NK-solujen on myös havaittu erittävän TME:ssä IL-6:ta ja osallistuvan täten kasvainta estävän toiminnan ylläpitoon (Lei ja muut 2020).

3.1.2. Kasvainta edistävät immuunisolut

TME:ssä olevat kasvainta edistävät immuunisolut pyrkivät inhiboimaan kasvaimen toimintaan estävästi vaikuttavien immuunisolujen toimintaa. Tällaisia soluja ovat esimerkiksi T_{reg}-solut, M2-luokan makrofagit ja MDSC-solut. TME:ssä T_{reg}-solut, MDSC-solut ja M2-kaltaiset makrofagit pyrkivät vaikuttamaan kasvainta estävien immuunisolujen toimintaan esimerkiksi erittämällä transformoiva kasvutekijä beetaa (engl. transforming growth factor beta, TGF- β). Kuten kasvaimen estävästi vaikuttavat immuunisolut, myös kasvainta edistävät immuunisolut erittävät useita eri interleukiineja. Kasvaimen toimintaan edistävästi vaikuttavia interleukiineja ovat esimerkiksi IL-4, -10, -13 ja -35. Osa edellä luetelluista interleukiineista vaikuttaa suoraan aktivoiden muita kasvainta edistäviä soluja, kuten esimerkiksi IL-4, -10 ja -13 erityisesti aktivoi M2-kaltaisia makrofageja. (LV ja muut 2022.)



Kuva 2. Immuunisolujen toiminta kasvaimen mikroympäristössä. Kasvaimen mikroympäristössä esiintyy useita erilaisia immuunisoluja, joilla kaikilla on hieman erilainen vaikutus kasvaimen toimintaan. Immuunisolut pyrkivät TME:ssä joko edistämään tai estämään kasvaimen toimintaa, erittämällä sytokiineja. Kuva muokattu lähteestä: (LV ja muut 2022).

4. Kasvainsidonnaiset makrofagit syövän edistäjinä

Kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. tumor associated macrophages, TAMs) ovat TME:ssä esiintyviä makrofageja, jotka voivat vaikuttaa kasvaimen toimintaan sitä edistävästi tai estävästi. TAMs:eilla on havaittu olevan joko M1-kaltaisten tai M2-kaltaisten makrofagien ominaisuuksia, riippuen TME:ssä olevista signaaleista. M1-kaltaiset makrofagit pyrkivät muodostamaan kasvaimen toimintaa estäviä vasteita TME:ssä. M2-makrofagien kaltaiset TAMs:it puolestaan toimivat TME:ssä kasvaimen toimintaa edistäen. (Pan ja muut 2020.)

Kasvaimessa suurin osa TAMs:eista on M2-kaltaisia makrofageja. Siihen, ovatko TAMs:it M1-kaltaisessa vai M2-kaltaisessa muodossa TME:ssä, vaikuttaa kasvainsolujen sekä muiden immuunisolujen aikaansaamat vasteet. M2-kaltaiset TAMs:it pyrkivät edistämään kasvaimen toimintaa erittämällä erilaisia sytokiineja sekä kasvutekijöitä, jotka vaikuttavat esimerkiksi edistäen kasvaimen angiogeneesiä, kasvainsolujen leviämistä sekä vaikuttaen immuunivasteen heikentymiseen (kuva 3). Lisäksi TAMs:it edesauttavat syövän leviämistä erittämällä aineita, jotka auttavat kasvainsolujen tunkeutumista ympäröivään verenkiertoon. Kun kasvainsolut pääsevät verenkierron kautta muualle elimistöön, muodostavat ne etäpesäkkeitä eli metastaaseja. (Yang ja Zhang 2017.)

4.1. Kasvainsidonnaisten makrofagien rooli angiogeneesissä

Angiogeneesi ja sen edistäminen on yksi kasvaimen tärkeimmistä keinoista, joilla se takaa selviämisen elimistössä. Kasvainten angiogeneesiä voidaan edistää useilla eri keinoilla. Näistä keinoista tärkeimmät ovat esimerkiksi erilaisten sytokiiniinien ja kasvutekijöiden erittäminen TME:ssä. Esimerkiksi verisuonten endoteelikasvutekijät (engl. vascular endothelial growth factor, VEGF) ovat yksi angiogeneesiä edistävästä kasvutekijöistä. Sytokiineja, jotka ovat osallisena angiogeneesin edistämiseen ovat esimerkiksi IL-1 perheen interleukiinit. (Jiang ja muut 2020.)

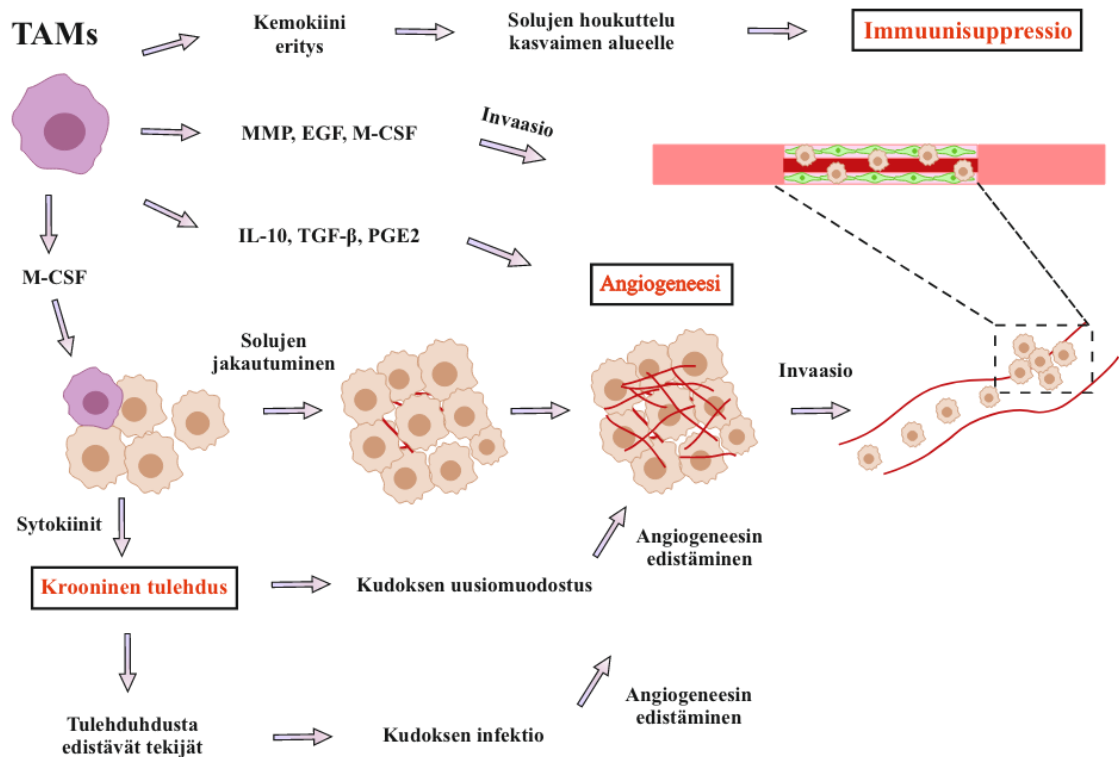
TAMs:it osallistuvat angiogeneesin erittämällä erilaisia aineita kuten IL-1 β ja -10, TGF- β , VEGF sekä prostaglandiinia (E2) (engl. prostaglandin E2, PGE2). Nämä eritetyt aineet vaikuttavat TME:ssä aikaansaaden angiogeneesiä edistäviä vaikutuksia. (Wang ja muut 2019.) Angiogeneesiä edistää lisäksi kasvaimen hypoksiset olosuhteet (Yang ja Zhang 2017).

4.2. Krooninen tulehdus ja kasvainsidonnaiset makrofagit

Kroonisella tulehduksella tarkoitetaan tilaa, jossa infektion aikaansaama tulehdustila ei korjaannu vaan pysyy aktiivisena jatkuvasti. Krooninen tulehdustila edesauttaa syövälle optimaalisen kasvu ympäristön muodostamista. TAMs:it erittävät kroonista tulehdusta ylläpitäviä aineita kuten kasvutekijöitä, sytokiineja ja kemokiineja. Nämä saavat aikaiseksi TME:ssä kudoksen uusiomuodostusta, joka voi edistää kasvaimen angiogeneesiä. Kasvaimen angiogeneesiä voidaan edistää myös kroonisen tulehduksen vapauttamien tulehduksellisten tekijöiden avulla, jotka saavat aikaiseksi kudoksen tulehtumista, joka edistää angiogeneesiä. (Wang ja muut 2019.)

4.3. Kasvainsidonnaiset makrofagit immuunivasteen heikentäjinä

Immuunivasteen heikentymisellä eli immuunisuppressiolla tarkoitetaan tilaa, jossa immuunipuolustuksen muodostama vaste heikentyy. Immuunivasteen heikentyminen tarjoaa syövälle mahdollisuuden jatkaa toimintaansa, koska heikentyessään immuunipuolustuksen aikaansaama vaste ei enää puolusta tehokkaasti syöpää vastaan. TAMs:it voivat toimia TME:ssä immuunisuppressoreina eli ne voivat edistää kasvainten kasvua ja angiogeneesiä sekä heikentää kasvaimen kasvua estävien solujen toimintaa erittämälläan sytokiineillaan. TAMs:it lisäksi houkuttelevat muita immuunisoluja kuten T_{reg}-soluja kemokiinierityksen avulla TME:hen. (Wang ja muut 2019.) TAMs:ien erittämiä immuunivastetta heikentäviä sytokiineja ovat esimerkiksi TGF- β ja PGE₂. TGF- β aktivoi kasvainsolujen toimintaa sekä inhiboi T-solujen toimintaa. PGE₂ myös aktivoi kasvainsolujen toimintaa ja lisäksi inhiboi T-solujen sekä NK-solujen toimintaa sekä lisää T_{reg}-solujen jakautumista T-soluista. (Pu ja Ji 2022.)



Kuva 3. Kasvainsidonnaisten makrofagien toiminta syövän edistäjinä. M2-kaltaiset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. tumor associated macrophages, TAMs) voivat edistää syöpää esimerkiksi edistämällä angiogeneesiä sekä immuunisuppressiota sekä lisäämällä kroonista tulehdusta. Kaikki edellä mainitut toiminnot saadaan aikaiseksi TAMs:ien erittämien erilaisten sytokiinien, kemokiinien, kasvutekijöiden ja muiden signaalintimolekyylien avulla. TAMs:it mahdollistavat lisäksi kasvainsolujen invaasion eli tunkeutumisen ympäröiviin kudoksiin, jolloin kasvainsolut kykenevät muodostamaan etäpesäkkeitä ympäri elimistöä. Kuva muokattu lähteestä: (Wang ja muut 2019).

5. Makrofagit ovat luultua monimuotoisempia

5.1. M1- ja M2-polarisaatio

Vuonna 2000 julkaistun tutkimuksen tuloksien perusteella tehtiin ehdotus, että monosyytit voitaisiin polarisoida ainoastaan joko kasvaimen kasvua estäviksi ja tulehdusta lisääviksi M1-makrofageiksi tai kasvaimen kasvua edistäviksi ja tulehdusta hillitseviksi M2-makrofageiksi. Tutkimus perustui hiirilinjojen avulla tehtyihin kokeisiin, jossa hiirilinjoista eristettyjä makrofageja polarisoitiin eri sytokiineilla, jolloin ne antoivat erilaisia immuunivasteita (Th1, Th2). Th1-immuunivaste syntyy, kun T-solut erittävät IFN- γ :aa, joka on liitetty makrofagien aktivoitumiseen. Th2-immuunivaste, joka puolestaan estää makrofagien aktivoitumista, syntyy kun eritetään IL-4, -5 ja -10.

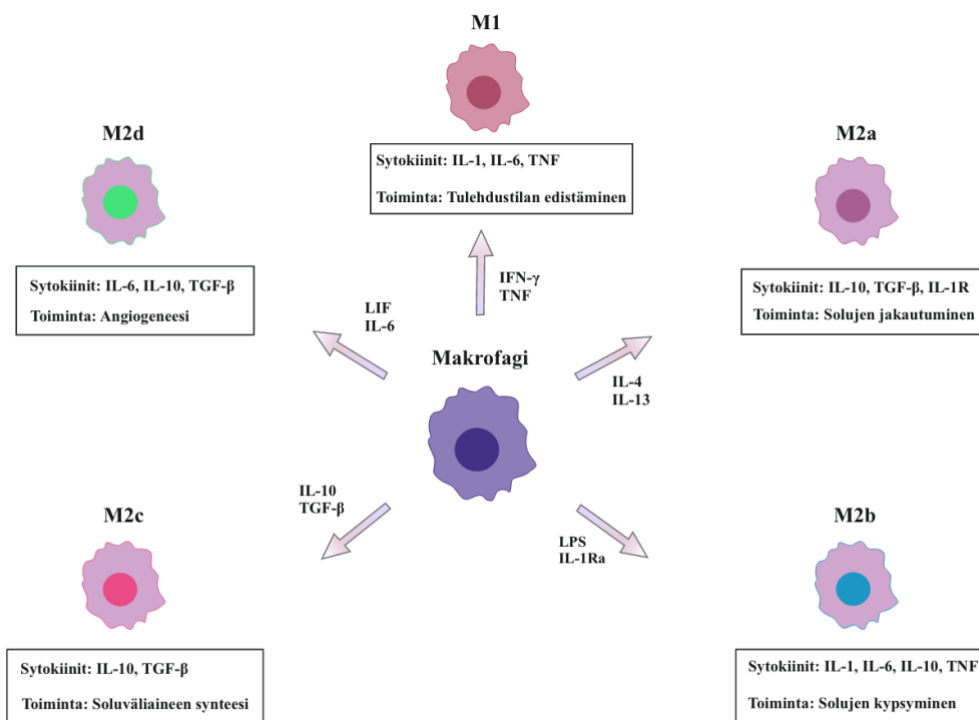
Tutkimuksen tuloksien mukaan Th1- ja Th2-linjan makrofagit tuottavat arginiinista sen metaboloitumisen seurauksena erilaisia lopputuotteita ja ne reagoivat samoihin sytokiineihin aikaansaaden erilaisen vasteen. Tämän seurauksena syntyi ehdotus, että Th1-vasteen makrofagit olisivat M1-makrofageja ja Th2-vasteen puolestaan M2-makrofageja. (Mills ja muut 2000.)

Jako M1- ja M2-makrofageihin ei kuitenkaan ollut tarpeeksi kattava ja myöhemmin saatiin uutta tietoa, jolla jako pystyttiin todistamaan epäpäteväksi. Nykyään tiedetään esimerkiksi, että käytettyjen hiirilinjojen välillä on geneettistä eroa, jolla on vaikutusta makrofagien arginiinin metaboliassa. (Murray ja muut 2014.) Nykyään myös tiedetään että makrofageja on useita erilaisia sekä niillä on kyky polarisoitua erilaisten ympäristön signaalien perusteella useammaksi kuin vain kahdeksi erilaiseksi makrofagityypiksi (Mosser ja Edwards 2008.)

5.2. Kasvainsidonnaisten makrofagien alaluokat

TME:ssä on havaittu olevan useita muotoja TAMs:eista. Näitä havaittuja TAMs:eja on luokiteltu alaluokkiin siten että luokittelu perustuu kahteen päätyyppiin, M1- ja M2-kaltaisiin makrofageihin (kuva 4). TME:ssä makrofageja voidaan polarisoida näiden kahden päätyypin välillä eri sytokiinien avulla. Luokittelussa M2-kaltaiset makrofagit voidaan jakaa neljään alaluokkaan: M2a, M2b, M2c ja M2d. (Goswami ja muut 2021.)

M1-kaltaisia makrofageja saadaan polarisoitua esimerkiksi sytokiinin IFN- γ , TNF- α sekä lipopolysakkaridien avulla (engl. lipopolysaccharide, LPS). Aktivoituessaan M1-kaltaiset makrofagit toimivat tulehdustilaa edistäen esimerkiksi erittämällä IL-1, -6 ja TNF- α sytokiineja. M2-kaltaisten makrofagien alaluokkia saadaan polarisoitua eri sytokiinin avulla ja ne erottuvat toisistaan erilaisten pintamarkkereiden sekä erittamiensä sytokiinin ja kemokiinin kautta. Koska M2-alaluokkien makrofagit kykenevät erittämään eri sytokiineja sekä kemokiineja on niiden toiminta TME:ssä hieman erilainen, riippuen makrofagin alaluokasta. M2-alaluokkien makrofageille yhteistä on kyky estää tulehdustilaa ja IL-10:n erittäminen. M2a-makrofagit osallistuvat esimerkiksi solujen jakautumiseen ja M2b-makrofagit solujen kypsymiseen. M2c-makrofagit osallistuvat puolestaan soluväliaineen synteesiin ja M2d-makrofagit angiogeneesiin edistämiseen. (Goswami ja muut 2021.)



Kuva 4. Kasvainsidonnaisten makrofagien luokittelu alaluokkiin. Ajatus makrofagien jaottelusta alaluokkiin, perustuen kahteen päätyyppiin: M1- ja M2-kaltaisiin makrofageihin. Riippuen erilaisista ympäristön sytokiini- ja kemokiinivasteista saadaan makrofagit polarisoitua eri alaluokkiin. M2-alaluokilla on erilaisia toimintoja kasvaimen mikroympäristössä, riippuen eritetyistä signaalimolekyyleistä mutta kaikille M2-kaltaisille makrofageille on yhteistä IL-10:n erittäminen ja tulehdustilaa estäminen. Kuva muokattu lähteestä: (Goswami ja muut 2021).

5.3. Kasvainsidonnaisten makrofagien luokittelu toiminnan perusteella

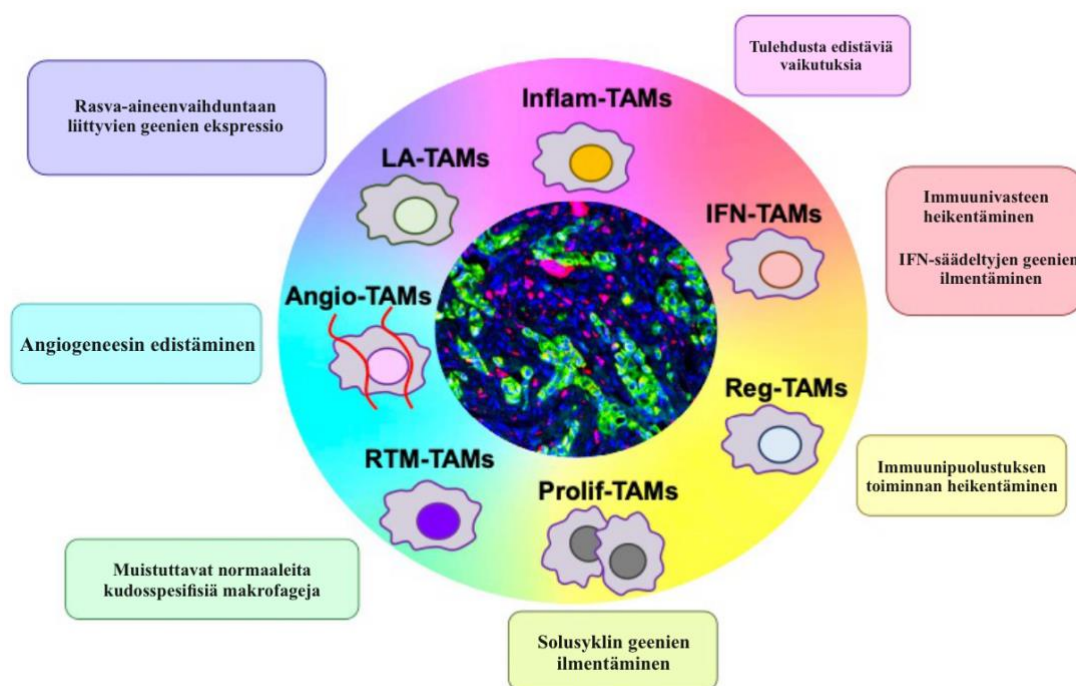
Yksittäisten solujen RNA-sekvensoinnin (engl. single cell RNA sequencing, scRNA-seq) ansiosta on onnistuttu luokittelemaan TAMs:eja eri syöpätyypeissä niiden erilaisen toiminnan, ympäristöstä saatujen signaalien (esim. kemokiinit, sytokiinit) ja tyypillisesti ilmentyneiden geenien perusteella. Yksittäisten solujen RNA-sekvensoinnin avulla tehtyjen tutkimusten tulosten perusteella tutkituissa syöpätyypeissä esiintyi TAMs:eja ja ne voidaan jaotella seitsemään erilliseen makrofagiluokkaan. (Ma ja muut 2022.)

Ma ja muut (2022) ehdottavat että löydetty seitsemän TAMs-luokkaa nimettäisiin seuraavanlaisesti: tulehdukselliset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. inflammatory cytokine-enriched, Inflamm-TAMs), immuunisäätelijä-kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. immune regulatory, Reg-TAMs), interferoni-kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. interferon-primed, IFN-TAMs), kudosspesifisten makrofagien kaltaiset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. resident-tissue macrophage-like, RTM-TAMs), lipideihin liittyvät kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. lipid-associated, LA-TAMs), jakaantuvat kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. proliferating TAMs, Prolif-TAMs) ja angiogeeniset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. proangiogenic, Angio-TAMs). Kaikkia edellä mainittuja TAMs:eja oli tutkimuksissa havaittu melkein kaikissa tutkituista ihmisen syöpätyypeistä.

Inflamm-TAMs:eilla havaittiin olevan esimerkiksi tulehdusta edistäviä vaikutuksia sekä ne voivat osallistua muiden immuunisolujen, kuten monosyyttien ja lymfosyyttien houkuttelemiseen TME:hen. REG-TAMs:eilla havaittiin olevan M2-makrofagien kaltaisia ominaisuuksia sekä ne osallistuvat immuunipuolustuksen toimintaan esimerkiksi heikentämällä T-solujen toimintaa. IFN-TAMs:ien havaittiin osallistuvan immuunivasteen heikentämiseen esimerkiksi edistämällä T_{reg} -solujen kulkeutumista TME:hen. IFN-TAMs:eilla havaittiin lisäksi korkea IFN-säädelyjen geenien ilmentyminen. RTM-TAMs:eilla havaittiin olevan kudosspesifisten makrofagien kaltaisia ominaisuuksia. RTM-TAMs:ien havaittiin muistuttavan eri syöpätyypeissä kyseisen syövän kudoksessa tai elimessä normaalisti ilmentyviä makrofagityyppejä, joten myös havaituilla makrofagityypeillä oli erilaisia toimintoja. LA-TAMs:eilla havaittiin olevan lipidien metaboliaan liittyvien geenien ekspressoitumista. Niiden havaittiin osallistuvan esimerkiksi komplementin aktivoitumiseen, rasvahappojen metaboliaan sekä immuunivasteen heikentämiseen. Prolif-TAMs havaittiin ilmentävän solusykliin

osallistuvia geenejä sekä tulehdustilaa edistäviä geenejä. Angio-TAMs:ien on havaittu edistävän esimerkiksi kasvaimen angiogeneesiä erittämällä sen edistämiseen osallistuvia kasvutekijöitä, kuten VEGFA:aa.

Ma ja muut (2022) kertovat artikkelissaan, että tämä ehdotettu tapa makrofagien luokittelulle on vain suuntaa antava, sillä eri syöpätyypeissä voi esiintyä erilaisia muotoja näistä havaituista makrofagityypeistä. Myös siten eri syöpätyypeissä esiintyvillä makrofageilla voi olla erilaisia toimintoja (kuva 5).



Kuva 5. Kasvainsidonnaisten makrofagien luokittelu toiminnan mukaan. Ehdotus kasvainsidonnaisten makrofagien (engl. tumor associated macrophages, TAMs) luokittelusta seitsemään eri luokkaan niiden erilaisen toiminnan, tyypillisten ilmentyneiden geenien sekä ympäristöstä saatujen signaalien perusteella. Havaitut TAMs:it löydettiin ihmisen eri syöpätyypeistä yksittäisten solujen RNA-sekvensoinnin avulla. Havaituille makrofageille ehdotettiin nimiä: tulehdukselliset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. inflammatory cytokine-enriched, Inflamm-TAMs), immuunisäätelijä-kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. immune regulatory, Reg-TAMs), interferoni-kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. interferon-primed, IFN-TAMs), kudosspesifisten makrofagien kaltaiset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. resident-tissue macrophage-like, RTM-TAMs), lipideihin liittyvät kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. lipid-associated, LA-TAMs), jakaantuvat kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. proliferating TAMs, Prolif-TAMs) ja angiogeeniset kasvainsidonnaiset makrofagit (engl. proangiogenic, Angio-TAMs). Kuva muokattu lähteestä: (Ma ja muut 2022).

6. Yhteenveto

Makrofagit ovat tärkeä osa immuunipuolustuksen toimintaa ja niillä voi olla suuri vaikutus syövän etenemiseen. Makrofagien toiminnan ja monimuotoisuuden ymmärtäminen vaatii myös koko immuunipuolustuksen toiminnan syvempää ymmärtämistä. Lisäksi tulisi ymmärtää kasvaimen mikroympäristön rakenne ja sen vaikutukset makrofagien monimuotoisuuteen.

Erityisesti olisi selvitettävä, miten muiden immuunisolujen sekä kasvaimen mikroympäristön aikaan saamat erilaiset vasteet vaikuttavat makrofageihin. Koska selvästi kasvaimen mikroympäristö ja muut immuunisolut lisäävät makrofagien monimuotoisuutta, tulisi vielä paremmin ymmärtää, miten makrofagit toimivat erilaisten ympäristötekijöiden yhteydessä.

Tutkielmassa käsiteltyjen tietojen perusteella voidaan todeta makrofagien monimuotoisuuden olevan suurta ja luultavasti todellisuudessa se on vielä suurempaa, mitä tämänhetkisen tiedon osalta voidaan todistaa. Mahdollisesti tulevaisuudessa kehittyvät menetelmät mahdollistavat paremmat ja tehokkaammat menetelmät makrofagien monimuotoisuuden tutkimiselle.

Koska makrofagit ovat keskeisessä osassa immuunipuolustuksen toimintaa ja usein edesauttavat syövän etenemistä, on makrofagien toiminnan tutkiminen hyvin tärkeää. Makrofagien monimuotoisuuden ymmärtäminen voisi tulevaisuudessa antaa mahdollisuuksia syövän mekanismien ymmärtämiselle ja mahdollisesti syövän parantamiselle.

Kirjallisuus

- Anderson, N. M. & Simon, M. C. (2020) The tumor microenvironment. *Curr Biol* 30:R921–R925.
- Arneth, B. (2019) Tumor Microenvironment. *Medicina (Mex)* 56:15.
- Bonilla, F. A. & Oettgen, H. C. (2010) Adaptive immunity. *J Allergy Clin Immunol* 125:S33–S40.
- Chaplin, D. D. (2010) Overview of the Immune Response. *J Allergy Clin Immunol* 125:S3-23.
- Depositphotos, ID:357354348 <https://depositphotos.com/fi/vector/immune-system-cells-vector-illustration-labeled-educational-division-scheme-357354348.html> (Luettu 29.4.2024)
- Goswami, K. K., Bose, A. & Baral, R. (2021) Macrophages in tumor: An inflammatory perspective. *Clin Immunol* 232:108875.
- Jiang, X., Wang, J., Deng, X., Xiong, F., Zhang, S., Gong, Z., ... Xiong, W. (2020) The role of microenvironment in tumor angiogenesis. *J Exp Clin Cancer Res CR* 39:204.
- Lei, X., Lei, Y., Li, J.-K., Du, W.-X., Li, R.-G., Yang, J., ... Tan, H.-B. (2020) Immune cells within the tumor microenvironment: Biological functions and roles in cancer immunotherapy. *Cancer Lett* 470:126–133.
- LV, B., Wang, Y., Ma, D., Cheng, W., Liu, J., Yong, T., ... Wang, C. (2022) Immunotherapy: Reshape the Tumor Immune Microenvironment. *Front Immunol* 13:844142.
- Ma, R.-Y., Black, A. & Qian, B.-Z. (2022) Macrophage diversity in cancer revisited in the era of single-cell omics. *Trends Immunol* 43:546–563.
- Marshall, J. S., Warrington, R., Watson, W. & Kim, H. L. (2018) An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol* 14:49.
- Mills, C. D., Kincaid, K., Alt, J. M., Heilman, M. J. & Hill, A. M. (2000) M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm1. *J Immunol* 164:6166–6173.
- Mosser, D. M. & Edwards, J. P. (2008) Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 8:958–969.
- Murray, P. J., Allen, J. E., Biswas, S. K., Fisher, E. A., Gilroy, D. W., Goerdt, S., ... Wynn, T. A. (2014) Macrophage Activation and Polarization: Nomenclature and Experimental Guidelines. *Immunity* 41:14–20.
- Pan, Y., Yu, Y., Wang, X. & Zhang, T. (2020) Tumor-Associated Macrophages in Tumor Immunity. *Front Immunol* 11:583084.

- Pickup, M. W., Mouw, J. K. & Weaver, V. M. (2014) The extracellular matrix modulates the hallmarks of cancer. *EMBO Rep* 15:1243–1253.
- Pu, Y. & Ji, Q. (2022) Tumor-Associated Macrophages Regulate PD-1/PD-L1 Immunosuppression. *Front Immunol* 13:874589.
- Turvey, S. E. & Broide, D. H. (2010) Innate immunity. *J Allergy Clin Immunol* 125:S24–S32.
- Wang, J., Li, D., Cang, H. & Guo, B. (2019) Crosstalk between cancer and immune cells: Role of tumor associated macrophages in the tumor microenvironment. *Cancer Med* 8:4709–4721.
- Yang, L. & Zhang, Y. (2017) Tumor-associated macrophages: From basic research to clinical application. *J Hematol Oncol* 10:58.