

# T-lymfosyyttien ja syöpäsolujen vuorovaikutukset

**Santeri Löytökorpi**

LuK-tutkielma

Turun

yliopisto

Biologian

laitos

31.12.2024

Biologian tutkinto-ohjelma

Laajuus: 6 op

Tarkastaja:

Hyväksytty (pvm):

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO

Biologian laitos

Luonnontieteiden ja tekniikan tiedekunta

LÖYTÖKORPI, SANTERI: T-lymfosyyttien ja syöpäsolujen vuorovaikutukset

LuK-tutkielma, 26 s.

Fysiologia ja genetiikka

joulukuu 2024

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

---

Ihmisen immuunipuolustusjärjestelmä jaetaan synnynnäiseen ja hankittuun immunitettiin. Hankitun immunitettijärjestelmän soluja ovat B- ja T-lymfosyytit. T-solujen esiasestolut eli tymosyytit kehittyvät kateenkorvassa, missä nämä solut käyvät kaksoispositiivisen ja negatiivisen selektion ja TCR-reseptorin uudelleenjärjestäytymisen, joka mahdollistaa T-solujen laajan ja spesifin immuunivasteen. Uudelleenjärjestäytymisen ja selektioiden jälkeen solut siirtyvät verenkiertoon naiiveina CD4<sup>+</sup> tai CD8<sup>+</sup> T-soluina. Verenkierrossa dendriittisolujen (engl. Dendritic cell, DC) HLA I-kompleksiin liitetyt antigeenit esitellään CD8<sup>+</sup> T-soluille. HLA I-antigeenikompleksi sitoutuu naiivien CD8<sup>+</sup> T-solujen TCR:iin, josta seuraa CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatio. Aktivaatiota voidaan vahvistaa erilaisilla mekanismeilla. TCR:n aktivaatio johtaa signaalintireitteihin, jotka stimuloivat CD8<sup>+</sup> T-solujen jakautumista, aineenvaihdunta muutoksia sekä efektorimolekyylien eritystä ekstrasellulaariseen tilaan. CD8<sup>+</sup> T-solut voivat indusoida kohdesolujen apoptoosia efektorimolekyyleillä tai reseptorivälitteisesti.

Kasvainsolut voivat moduloida HLA I ilmentymistä aiheuttamalla mutaatioita tai vähentämällä antigeeneihin liittyvien geenien translaatiota. Kasvainsolut voivat muodostaa ympärilleen inhiboivan mikroympäristön eli TME:n, joka vaikuttaa negatiivisesti immuunisolujen toimintaan ja edesauttaa kasvainsolujen kasvua ja immuunivalvonnan välttämistä. TME voi värvätä inhiboivia soluja, kuten säätelijä-T-soluja (engl. regulatory T cell, Treg) ja luuydinperäisiä estäjäsoluja (engl. myeloid derived suppressor cell, MDSC). Nämä solut inhiboivat kasvainsolujen toimintaa tai tuottavat liukoisia tekijöitä, jotka vaikuttavat negatiivisesti CD8<sup>+</sup> T-solujen jakautumiseen ja toimintaan. Kasvainsolut tuottavat liukoisia inhiboivia tekijöitä, kuten kasvutekijöiksi luokiteltuja proteiineja. TME:n negatiivinen vaikutus ja jatkuva antigeenien esittely CD8<sup>+</sup> T-soluille johtaa CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumistilaan sekä keskeisen uupumiseen liittyvän säätelijän, TOX:in ilmentymiseen. Uupuneilla T-soluilla on alentunut efektoritoiminta ja heikentyneet immuunivasteet, jotka lisäävät kasvainsolujen immuunipakoa.

---

**Avainsanat:** CD8<sup>+</sup> T-solut, Syöpäsolut, Treg-solut, T-solu uupuminen, efektorimolekyylit

## SISÄLLYS

Sisällys.....	3
1 Johdanto.....	1
2 Tappaja-T-soluvasteen kehittyminen.....	2
2.1 CD8 <sup>+</sup> T-solujen aktivaatio .....	2
2.2 CD8 <sup>+</sup> T-solut ja syöpäantigeenien tunnistus.....	4
2.3 Aktivaation indusoimat aineenvaihdunnan muutokset.....	6
2.4 CD8 <sup>+</sup> T-solu välitteinen solueliminaatio.....	10
3 Syöpäsolujen mikroympäristön vaikutus CD8 <sup>+</sup> T-soluihin .....	13
3.1 Tuumorin mikroympäristön komponentit.....	15
3.2 Tuumorin mikroympäristön vaikutus CD8 <sup>+</sup> T-soluihin.....	19
3.3 T-solun uupuminen .....	22
4 Yhteenveto.....	25
5 Lähteet .....	27

# 1 JOHDANTO

Ihmisen immunitettijärjestelmä on elinjärjestelmä, jonka tärkein tehtävä on suojata elimistöä patogeeneilta ja muilta taudinaiheuttajilta. Immunitettijärjestelmä voidaan jakaa synnynnäiseen ja adaptiiviseen immunitettiin, joiden normaali toiminta vaatii keskinäistä yhteistyötä. Jos immunitettijärjestelmä ei toimi normaalisti, todennäköisyys sairastua erilaisiin sairauksiin, kuten syöpään kasvaa. Yksilön terveyden kannalta on tärkeää, että immunitettijärjestelmä toimii moitteetta. Infektion alkuvaiheessa synnynnäisen immunitettijärjestelmän toiminta on keskeistä. Synnynnäinen immunitettijärjestelmä säätelee adaptiivisen immunitetin toimintaa.

Adaptiivinen immunitetti perustuu T- ja B-lymfosyyttien toimintaan. Adaptiivinen immunitetti kehittyy yksilön ensimmäisten elinvuosien aikana ja jatkaa muokkautumista ja oppimista koko eliniän ajan. Adaptiivinen immunitetti toimii epäsuorasti antigeenejä esittelevien solujen (engl. antigen presenting cell, APC) aktivaati välitteisten adaptiivisten immuunivasteiden kautta. Adaptiivisen immunitetin mekanismit perustuvat pitkälti immunologiseen muistiin sekä spesifiseen kudosvälitteiseen immuunivasteeseen, joka on riippuvainen kudosantereeneistä (engl. major histocompatibility class, MHC) ja antigeenin esittelystä T-soluille. Ihmisellä MHC-antigeeneistä käytetään HLA termiä (engl. Human Leukocyte Antigen).

Noin joka neljäs ihminen sairastuu syöpään. Syöpään sairastumisen todennäköisyys kasvaa keski-ikästä alkaen merkittävästi sekä miesten että naisten osalta (Bray ym. 2024). Syöpä syntyy usein mutaatioiden seurauksena. Syöpäsoluille on tyypillistä hallitsematon jakautuminen. Normaalisti immuunijärjestelmä estää epänormaalisti jakautuvien solujen kasvua ja kehittymistä. Syöpäsolut tuottavat elimistön normaalisolujen pintaproteiineista eroavia pintaproteiineja, syöpäantigeeneja. Tappaja-T-solut tunnistavat HLA I-molekyyleillä syöpäantigeenit ja tuhoavat syöpäsolun monivaiheisen prosessin päätteeksi. Tappaja-T-solut eivät aina kykene eliminoimaan syöpäsoluja, sillä syöpäsolut suojautuvat immuunijärjestelmän hyökkäyksiltä rakentamalla ympärilleen puolustusjärjestelmän toimintaa heikentävän mikroympäristön. Jos immuunivalvonta ei pysty eliminoimaan syöpäsoluja, syöpäsolujen määrä lisääntyy ja kasvainsolujen muodostama mikroympäristö muokkautuu entistä immunosuppressiivisemmäksi.

Nykyään kehitetään erilaisia immuunihoitomuotoja, joilla pyritään eliminoimaan syöpäsoluja muokkaamalla kasvaimen mikroympäristöä ja kohdistamalla hoitoa useampaan kuin yhteen tekijään. Keskeistä hoitojen kehittämisessä on syövän mikroympäristössä olevien tekijöiden toimintamekanismien tunteminen, jolloin, syöpä-immunitetti-syklin eri vaiheissa ilmentyviin tekijöihin voidaan kohdistaa oikeanlaista immunoterapiaa.

## 2 TAPPAJA-T-SOLUVASTEEN KEHITTYMINEN

Valkosolut eli leukosyytit ovat elimistön immunitetiijärjestelmän soluja, joiden tehtävä on suojata taudinaiheuttajilta. Lymfosyytit, kuten T-, B- ja luonnolliset tappajasolut (engl. Natural Killer Cells, NK-cell) kuuluvat adaptiiviseen immunitetiijärjestelmään ja ovat tehokkaita tunnistamaan spesifisesti taudinaiheuttajia. T-soluja ovat esimerkiksi auttaja-T-solut, tappaja-T-solut ja muistisolut. Auttaja-T-solut eli CD4<sup>+</sup> T-solut stimuloivat B-soluja tuottamaan vasta-aineita. Tappaja-T-solut eli CD8<sup>+</sup> T-solut ja NK-solut eliminoivat taudinaiheuttajia useilla eri mekanismeilla. CD8<sup>+</sup> T-solut jaetaan Tc1, Tc2, Tc9, Tc17 ja Tc22 alaluokkiin. Tärkeimmät näistä ovat sytotoksiset Tc1, Tc2 ja Tc22 solut.

Kasvainsolut ovat elimistön normaaleista soluista poikkeavia soluja ja niistä voi kehittyä syöpäsoluja. Kasvainsolut eivät välttämättä ole pahanlaatuisia, mutta syöpäsolut ovat aina pahanlaatuisia. Syöpäsoluihin kohdistuvan immunitetin muodostuminen vaatii syöpä-immuniteti-syklin käynnistymisen (D. S. Chen ja Mellman 2013). Sykli voi käynnistyä myös sellaisia kasvainsoluja vastaan, jotka myöhemmin kehittyisivät syöpäsoluiksi. Normaalin kudoksen soluista poikkeavat syöpä- ja kasvainsolut eroavat toisistaan erityisesti siten, että syöpäsolut voivat tunkeutua ympäröivään kudokseen ja aiheuttaa nekroosia. Syöpä-immuniteti-sykli sisältää tunnistusvaiheen, jossa antigeenejä esittelevät solut (APC), kuten dendriittisolut (DC) prosessoivat vieraiden solujen antigeenejä ja esittelevät niitä HLA I-molekyylin assosioituneena CD8<sup>+</sup> T-soluille. Vieraiden antigeenien, kuten syöpäsolujen antigeenien esittely johtaa CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivoitumiseen, erilaistumiseen ja jakautumiseen. Aktivoituneissa CD8<sup>+</sup> T-soluissa tapahtuu välittömästi erilaisia aineenvaihdunnallisia muutoksia, joilla solut mahdollistavat esimerkiksi suuren klonaalisen jakautumisen. Tunnistusvaihetta seuraa neutralointivaihe, jossa aktivoituneet CD8<sup>+</sup> T-solut tunnistavat vain tietynlaisia syöpäsoluja ja alkavat jakaantua voimakkaasti. Näin muodostuneet tappaja-CD8<sup>+</sup> T-solupopulaatiot siirtyvät kasvaimeen ja eliminoivat syöpäsolut tai muut vieraat solut esimerkiksi erittämällä liukoisia aineita, kuten perforiinia ja gransyymiä, tai indusoimalla kohdesolujen apoptoosia eli ohjelmoitua solukuolemaa (Motz ja Coukos 2013). Samaan aikaan osa CD8<sup>+</sup> T-soluista erikoistuu muistisolueiksi, mikä luo perustan immunologisen muistin kehitykselle.

### 2.1 CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatio

CD8<sup>+</sup> T-solut kehittyvät luuytimessä CD34<sup>+</sup> -hematopoieettisista kantasoluista. Nämä kantasolut ilmentävät CD2-, CD5- ja CD7- molekyylejä ennen siirtymistä kateenkorvaan, missä soluista kehittyvät CD3:a ilmentäviä lymfaattisia prekursorisoluja (engl. common lymphoid progenitor, CLP).

Prekursorisolut eivät vielä ilmennä kypsille soluille ominaisia CD4 tai CD8 pintaproteiineja, eivätkä solujen T-solureseptoria (engl. T cell receptor, TCR) koodaavat geenit ole vielä järjestäytyneet uudelleen. T-solureseptori on heterodimeeri, joka koostuu kahdesta ketjusta, joko  $\alpha\beta$ - tai  $\gamma\delta$ -ketjusta. (Janeway 1988.)

Kateenkorvassa tapahtuu positiivinen ja negatiivinen selektio, joissa tunnistetaan ja eliminoidaan autoreaktiiviset lymfosyytit ennen niiden pääsyä elimistöön. Kateenkorvassa tapahtuvissa selektioissa varmistetaan ensinnäkin solujen riittävä affiniteetti HLA I tai II-kompleksiin ja toisaalta testataan T-solureseptorien autoreaktiivisuutta esittelemällä soluille elimistön omia rakenteita HLA-komplekseilla. Aluksi prekursorisolut käyvät läpi T-solureseptorin geenien uudelleenjärjestäytymisen, jossa TCR:n  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, ja  $\delta$ -ketjut uudelleenjärjestäytyvät somaattisella rekombinaatiolla, joka lisää reseptorien monimuotoisuutta ja sitä kautta mahdollistaa T-solujen laajan antigeenispesifisyyden (Janeway 1988). Kun TCR:n uudelleenjärjestäytyminen on valmis, tymosyytti alkaa ilmentää TCR:ää, jolla solu tunnistaa kateenkorvan epiteelisolujen eli mTEC-solujen HLA-molekyyleissä esittelemiä antigeenejä. Jos TCR ei tunnista HLA-antigeenikompleksia, kyseinen tymosyytti ohjataan apoptoosiin. Tymosyytit, joiden TCR sitoutuu kevyesti HLA-antigeenikompleksiin, valikoituvat positiivisella selektiolla CD4- tai CD8-linjan soluiksi. Positiivisen selektion jälkeen solut ovat kaksoispositiivisia CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> tymosyytteja.

Positiivisesta selektioista selvinneet solut siirtyvät kateenkorvan ydinkerrokseen, missä ne käyvät läpi negatiivisen selektion, jossa muodostuu yksispositiivisia CD4<sup>+</sup> tai CD8<sup>+</sup> tymosyytteja. Jos selektioiden jälkeen tymosyytit ovat edelleen autoreaktiivisia, johtaa se koko populaation apoptoosiin. Näin elimistö estää autoimmuunisairauksien syntymisen ja varmistaa, että tymosyytit, jotka siirtyvät verenkiertoon ja perifeerisiin imukudoksiin, tunnistavat vain elimistölle vieraat antigeenit. Verenkierron kypsiä tymosyyttejä kutsutaan naiiveiksi CD8<sup>+</sup> tai CD4<sup>+</sup> T-soluiksi riippuen kumpaa proteiinia solut ilmentävä (Prokhnjevskaja ym. 2022). Nämä solut toimivat osana adaptiivista immunitettijärjestelmää. Naiivit CD8<sup>+</sup> T-solut pystyvät suureen klonaaliseen jakautumiseen, kun ne aktivoidaan efektori- tai muisti-CD8<sup>+</sup> T-soluiksi vain muutamien tuntien aikana. CD8<sup>+</sup> T-soluja, joilla on sytotoksisia vaikutuksia, kutsutaan CTL-soluiksi (engl. Cytotoxic T Lymphocyte, CTL).

Naiivien CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatio tapahtuu sekundaarisissa imukudoksissa, kuten imusolmukkeissa ja pernassa. Perifeerisissä imusolmukkeissa naiivit CD8<sup>+</sup> T-solut kohtaavat ensimmäistä kertaa vieraita antigeenejä, jotka DC-solut esittelevät. Antigeenit prosessoidaan APC/DC-solujen proteosomeissa esimerkiksi siten, että syöpäsolujen pinnalla olevia proteiineja pilkootaan pienemmiksi peptideiksi. Tämän jälkeen pilkotut peptidit siirtyvät endoplasmakalvostolle

(engl. Endoplasmic Reticulum, ER), jossa peptidit liitetään HLA I-kompleksiin ja kuljetetaan solun pinnalle (Stoltze ym. 1998). Lopulta APC/DC-solut esittelevät muokatut antigeenit HLA I-molekyylisiin assosioituneena CD8<sup>+</sup> T-soluille, mikä johtaa naiivien CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivoitumiseen. TCR/CD3/HLA I-kompleksin vuorovaikutus käynnistää CD8<sup>+</sup> T-solujen erikoistumisen efektorisoluiksi. Aktivaation jälkeen CD8<sup>+</sup> T-solut siirtyvät imusolmukkeen subkapsulaariseen sinukseen tai follikulaariselle alueelle. (Hickman ym. 2008.)

## 2.2 CD8<sup>+</sup> T-solut ja syöpäantigeenien tunnistus

Aktivaatiota voidaan vahvistaa kostimulatorisilla signaaleilla, kuten CD8 ja CD28 tai proinflammatorisilla sytokiineilla ja kuolevien kasvainsolujen vapauttamilla tekijöillä, mutta se ei ole välttämätöntä (Hickman ym. 2008; Martínez-Lostao, Anel, ja Pardo 2015). DC-solut liikkuvat syöpäsoluja sisältävälle alueelle, missä ne keräävät antigeenejä joko suoraan infektoituneilta soluilta tai kuolleilta soluilta ja esittelevät antigeenit CD8<sup>+</sup>T-soluille ristiinesittelyn avulla. Ristiinesittely tarkoittaa sitä, että DC-solut keräävät eksogeenisesti antigeenejä ja esittelevät antigeenit HLA I-molekyylisiin sitoutuneina CD8<sup>+</sup> T-soluille. HLA I-molekyylit esittelevät yleensä solun itse tuottamia antigeenejä. Jos syöpäsolut eivät esitele tehokkaasti omia antigeenejä HLA I-molekyylisiin sitoutuneena, DC-solut voivat kerätä syöpäsolujen proteiineja ja esitellä antigeenit CD8<sup>+</sup>T-soluille ristiinesittelyn avulla.

Aktivoituneet CD8<sup>+</sup> T-solut tunkeutuvat syöpäsolukerrokseen, jossa ne tunnistavat syöpäsolujen antigeenit ja eliminoivat syöpäsolut. Syöpäsolut tuottavat antigeenejä, jotka vapautuvat joko syöpäsolun kuollessa tai kun inflammatoriset solut tarttuvat niihin. Yksi ensimmäisistä tunnistetuista syöpäantigeeneihin liittyvistä geeneistä on MAGE-1. Tämä geeni säätelee melanoomasolujen pinnalla ilmentyviä syöpäantigeenejä, jotka sytotoksiset T-solut tunnistavat. MAGE-geenin ekspressiota ei ole havaittu elimistön omissa kudoksissa, mikä osoittaa, että syöpäsolut ilmentävät elimistölle vieraita antigeenejä. (Traversari ym. 1992.)

Syöpäsolujen eliminaatiossa ympäröivään kudokseen ja verenkiertoon vapautuu lisää kasvainantigeenejä, mikä tehostaa antigeenien esittelyä ja tunnistusta. Edellä kuvattu positiivinen palautemekanismi vahvistaa CD8<sup>+</sup> T-soluvastetta ja lisää CD8<sup>+</sup> T-solujen määrää (Hickman ym. 2008; Martínez-Lostao, Anel, ja Pardo 2015) Kuolevat syöpäsolut vapauttavat antigeenien lisäksi ympäristöönsä erilaisia signaaleja kuten DAMP-molekyylejä (engl. Damage-associated molecular patterns, DAMP), jotka sitoutuvat antigeenejä esitteleviin soluihin ja voimistavat CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatiota. (Traversari ym. 1992.)

DC-solujen migraatiota säätelee XCL1-XCR1 (engl. Chemokine C motif Ligand 1, XCL1: Chemokine Receptor 1, XCR1) kemokiini-kemokiinireseptoripari (Dorner ym. 2009). TCR:n stimulaation vastena CD8<sup>+</sup> T-solut ilmentävät XCL1-ligandia, mutta ligandin reseptorin XCR1:n ilmentyminen on vähäistä imukudoksen naiiveissa CD8<sup>+</sup> T-soluissa. XCL1 induktion kinetiikka muistuttaa aktivaatiomarkkeereja CD69 ja CD25. XCL1-XCR1-vuorovaikutus on tärkeä immuunivasteen alussa. XCL1:n on osoitettu olevan merkittävä tekijä CD8<sup>+</sup> T-solujen maksimaalisessa aktivoitumisessa. Lisäksi aktivoitumisen aikana immuunisolujen tuottamat kemokiinit, kuten CCL21 (engl. C-C Chemokine ligand 21, CCL21) houkuttelevat lisää CD8<sup>+</sup> T-soluja paikalle.

CD8<sup>+</sup> T-solujen pinnalla on TCR:n, CD3:n ja CD28:n lisäksi muitakin reseptoreja, kuten ICOS (engl. Inducible T-cell CO-Stimulator, ICOS), PD-1 (engl. Programmed cell Death protein, PD-1) ja CTL-4 (engl. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CTL-4). TCR:n-, CD3:n-, CD28:n- ja ICOSin solunsisäiset signalointireitit ovat päällekkäisiä ja toisiaan voimistavia. CD28 reseptorin kostimulatorinen vaikutus liittyy sen proksimaalisiin YMNM- ja PYAP-alueisiin, jotka ovat oleellisia solujen kasvuun, eloonjäämiseen ja efektoritoimintaan vaikuttavien signaalireittien aktivaatiossa (Cai ym. 1995; L. Chen ja Flies 2013). ICOSin välittämät kostimulatoriset vasteet välittyvät YMNM-motiivin aktivoiman PI3-kinaasin (engl. Phosphoinositide 3-kinase, PI3K) aktivaation ja voimistuneen AKT-signaloinnin kautta (engl. Protein Kinase B, AKT). AKT-signalointi johtaa muutoksiin translaatiossa ja sytokiinien tuotannossa. ICOS-PI3K-signalointi lisää c-MAF-signalointireitin (engl. cellular MAF, c-MAF) toimintaa, joka johtaa lisääntyneeseen IL-4 tuotantoon (engl. Interleukine 4, IL-4). PD-1 ja CTL-4 ovat koinhibitorisia ja defosforyloivat edellä mainittujen signalointireittien proteiineja (Linterman ym. 2009; L. Chen ja Flies 2013). Pelkkä TCR:n aktivaatio johtaa useiden signalointireittien, kuten MAPK:n (engl. Mitogen-Activated Protein Kinase, MAPK) ja mTOR:n (engl. mechanistic Target Of Rapamycin, mTOR) aktivaatioon sekä ribosomaalisen proteiinin S6:n ja translaatiokoneiston aktivoitumiseen. mTOR-signalointi, joka on solun aineenvaihdunnan keskeinen säätelijä, aktivoituu TCR:n indusoiman PI3K/PD1-AKT reitin kautta. Myös monet TNFR- perheen (engl. Tumor Necrosis Factor Receptor) jäsenet, kuten 4-1BB, CD27 ja OX40 lähettävät kostimulatorisia signaaleja CD8<sup>+</sup> T-soluille. TNFR-perheen proteiini, TNFR:ään liittyvä proteiini GITR (engl. glucocorticoid induced TNF Receptor, GITR) lähettää CD8<sup>+</sup> T-soluille eloonjäämistä ylläpitäviä signaaleja, jotka lisäävät solujen jakautumista. (Grewal 2009.)

CD8<sup>+</sup> T-soluihin sitoutuvat synteettiset bispesifiset vasta-aineet (engl. Bispecific Antibody, BsAb), jotka sitoutuvat sekä kasvainsolujen antigeeneihin että CD8<sup>+</sup> T-solujen TCR/CD3-kompleksiin tai

CD8-koreseptorimolekyyliin, käynnistävät immuunivasteen, joka johtaa T-solujen kulkeutumiseen kasvainsolukkoon ja kasvainsolujen eliminaatioon. Mikäli CD8<sup>+</sup> T-solu ei ole aktivoitunut kun BsAb:t sitoutuu CD8-molekyyliin, kasvainsolujen eliminaatiota ei tapahdu. Toisaalta BsAb:t sitoutuminen CD3-molekyyliin riittää aktivoimaan CD8<sup>+</sup> T-solut, koska CD3-molekyylit ovat osa TCR-kompleksia ja voivat indusoida samat signaalireitit kuin TCR. CD8<sup>+</sup> T-solut pystyvät aloittamaan kasvainsolujen eliminaation välittömästi sen jälkeen, kun BsAb on sitoutunut CD3-molekyyliin. (Michalk ym. 2014.)

Ihmisen kasvaimen lähi-imusolmukkeilla (engl. Tumor-Draining Lymph Nodes, TDLN) tehdyssä tutkimuksessa havaittiin, että aktivoituilla CD8<sup>+</sup> T-soluilla oli toiminnallisia samankaltaisuuksia kasvaimen TCF1-kantasolumaisten (engl. T-cell Factor 1 positive, TCF1<sup>+</sup>) solujen kanssa. Samankaltaisuuksia oli sekä transkriptionaalisissa että epigeneettisissä piirteissä. TCR:n ja fenotyypin samankaltaisuus viittaavat siihen, että TDLN-solut ovat kasvaimessa olevien kantasolumaisten CD8<sup>+</sup> T-solujen esiasteita. Hiirillä tehdyt tutkimukset osoittivat, että kasvainspesifiset CD8<sup>+</sup> T-solut aktivoituivat TDLN:ssä, mutta niillä ei ollut efektorifenotyyppiä. Kantasolumaiset solut siirtyivät kasvaimen, jossa antigeenejä esittelevien solujen stimulaatio johti efektorisolujen erilaistumiseen. Syöpävastetta koskeva CD8<sup>+</sup> T-solu-aktivaatiomalli poikkeaa esimerkiksi patogeeneille tyypillisestä aktivaatiomallista. Tulosten perusteella ehdotettiin, että kasvainspesifisellä CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivoinnilla olisi kaksi vaihetta: alkuaktivaatio TDLN:ssä ja myöhemmin efektoritoimintojen hankinta kasvainsolukerroksessa kostimulatoristen signaalien jälkeen. (Prokhnjevskaja ym. 2022.)

### *2.3 Aktivaation indusoimat aineenvaihdunnan muutokset*

T-solujen aineenvaihduntareittejä muokataan solujen elinkaaren aikana aina tarpeen mukaan. Esimerkiksi T-solujen TCR-välitteiseen aktivaatioon ja eri alaluokkiin erilaistumiseen liittyy muutoksia solujen metaboliassa.

Naiivit CD8<sup>+</sup> T-solut kiertävät verenkierron sekä imukudoksissa. Nämä solut eivät ole kohdanneet antigeenejä tai niitä ei ole esitelty, jolloin soluilla ei ole sytokiinien tuotantoa tai klonaalisen jakautumisen tarvetta. Naiiveilla soluilla ei ole tarvetta anabolisiin prosesseihin, kuten DNA:n ja proteiinien synteesiin, vaan solut voivat käyttää saatavilla olevat ravintoaineet suurimmaksi osaksi energian tuotannon maksimointiin oksidatiivisessa fosforylaatiossa. Kun naiivit CD8<sup>+</sup> T-solut kohtaavat antigeenit ja aktivoituvat, tapahtuu dramaattisia muutoksia solujen metaboliassa. Antigeenin tunnistamisen jälkeen naiiveista CD8<sup>+</sup> T-soluista tulee erittäin proliferaatiivisia. Tämä

solujen aktivoituminen edellyttää aineenvaihdunnan uudelleenohjelmointia (R. Wang ym. 2011). Glykolyysi voimistuu vain muutama minuutti TCR:n aktivaation jälkeen. PDHK1 (engl. pyruvate dehydrogenase kinase 1) aktivoituu ja muodostaa kompleksin ZAP-70:n (engl. Zeta-chain-associated protein kinase 70, ZAP-70), LCK:n (engl. lymphocyte-specific protein tyrosine kinase, LCK) ja LAT:n (engl. Linker for Activation of T-cells, LAT) kanssa. Tämä johtaa mitokondriossa pyruvaattidehydrogenaasientsyymin (engl. pyruvate dehydrogenase, PDH) inhibitioon, minkä vuoksi pyruvaatin muuntaminen asetyyli-CoA:ksi estyy ja toisaalta pyruvaatin hapettaminen solulimassa laktaatiksi lisääntyy. Samaan aikaan aktivoituu sellaisten geenien transkriptio ja proteiinien synteesi, jotka lisäävät ravinteidenottoa ja metabolista aineenvaihduntaa, mikä edistää muun muassa CD8<sup>+</sup> T-solujen jakautumista ja toimintaa. (Menk ym. 2018.)

Glykolyysin reaktioita katalysoivien entsyymien allosterinen inhibitio heikkenee, kun glykolyysin välituotteiden ja/tai solunsisäisen ATP:n (engl. adenosine triphosphate, ATP) määrä laskee. Tämä johtaa glykolyysin nopeutumiseen, mutta negatiivinen palaute estää solua käyttämästä ravinteita yli lyhytaikaisten tarpeiden. Kriittinen edellytys aineenvaihdunnan uudelleenohjelmoinnille T-solujen aktivoituessa onkin ravinteiden, erityisesti glukoosin soluunoton voimakas lisääminen. Frauwirth ym. (2002) osoittivat, että CD28-kostimuloidut T-solut indusoivat nopeasti glukoosin soluunoton ja glykolyysin, jotka pystyvät korvaamaan oksidatiivisessa fosforylaatiossa tuotetun ATP-määrän. Lisäksi he osoittivat, että CD28 kostimulaatio säätelee ravinteiden ottoa soluihin PI3K/AKT-signalointireitin kautta.

Suurinta osaa soluihin otetusta glukoosista ei hyödynnetä makromolekyylien tuotantoon, vaan se poistuu soluista laktaattina. CD28-stimulaatio mahdollistaa solujen glukoosiaineenvaihdunnan kasvun yli välittömien aineenvaihduntatarpeiden ja oksidatiivisen fosforylaation vähenemisen. Tämä säätelymekanismi mahdollistaa T-solujen ennakoida aktivaatiosta seuraavia metabolisia vaatimuksia indusoimalla glukoosisynteesiä ja aineenvaihduntakoneiston aktiivisuutta. Tämä on tärkeää, jotta esimerkiksi CD8<sup>+</sup> T-solujen jakautuminen ja toiminta eivät häiriinny. Tämä säätelymekanismi varmistaa, että glykolyysin välituotteita on saatavilla sekä energiantuotantoa että biosynteettisiä reaktioita varten. Mekanismi lisää CD28-kostimulaation kykyä pidentää T-solujen elinkelpoisuutta ja estää ohjelmoitua solukuolemaa eli apoptoosia, joka tapahtuu usein pelkästään TCR/CD3-kompleksilla stimuloituissa soluissa. (Frauwirth ym. 2002.)

Insuliinireseptoriin sitoutuva ligandi saa aikaan insuliinireseptorisubstraatti 1:n (engl. Insulin receptor substrate 1, IRS-1) fosforylaation, joka aktivoi PI3K/AKT-signalointireittiä. PI3K tuottaa fosfolipidejä, jotka fosforyloivat AKT:n, minkä on osoitettu olevan keskeinen insuliinivälitteisessä glukoosin kuljetuksen lisääntymisessä ja glukoosinkuljettimien synteesissä. CD28:n sitoutuminen

TCR/CD3-kompleksiin riippuu CD28:n sitoutumisesta B7-1 ja B7-2 ligandeihin, mikä lisää T-solujen glukoosin aineenvaihdunnan säätelyä. TCR/CD3-kompleksiin assosioituneet Lck ja Fyn voivat fosforyloida CD28:n, mikä käynnistää samanlaisen glukoosin soluunoton tapahtumasarjan, kuin IRS-1 ligandin sitoutuminen reseptoriinsa (Frauwirth ym. 2002). PI3K:n aktiivisuutta säätelevät negatiivisesti fosfataasit, kuten PTEN. Koska insuliinireseptorin ja CD28:n indusoimat signaalireitit ovat hyvin samankaltaiset, on todennäköistä, että CD28-signalointia säädellään samalla tavalla kuin insuliinireseptorin indusoimaa reittiä.

Van der Windt ym. (2012) mukaan mitokondrioiden ATP:n tuotantokapasiteetti vaikuttaa muistisolujen muodostumiseen ja säätelee CD8<sup>+</sup> T-solujen eloonjäämistä esimerkiksi infektion jälkeen. Immuunivasteen aikana CD8<sup>+</sup> efektori-T-solut jakautuvat klonaalisesti ja tähän prosessiin energia saadaan pääasiallisesti glykolyysistä. Klonaalisen jakautumisen seurauksena suurin osa CD8<sup>+</sup> efektori-T-soluista ei pysty ylläpitämään mitokondrioiden biogeneesiä, mikä johtaa mitokondriomassan ja kokonaissolumassan suhteen pienentymiseen sekä mitokondrion bioenergeettisen varakapasiteetin menetykseen. Vähentynyt mitokondriomassa johtaa mitokondriossa tuotetun ATP:n määrän laskuun, jolloin glykolyysin merkitys solun energiatuotannossa kasvaa. Lisäksi CD8<sup>+</sup> -efektori-T-soluista tulee mitokondriomassan vähenemisen myötä epävakaita, mikä johtuu siitä, että solut menettävät kyvyn tuottaa energiaa oksidatiivisella fosforylaatiolla. CD8<sup>+</sup> T-solut eivät pysty ylläpitämään elinkelpoisuuttaan kun immuunivasteen indusoimien signaalien määrä vähentyy. Erityisesti IL-2:n määrä vähenee, mikä vaikuttaa CD8<sup>+</sup> T-solujen glukoosiaineenvaihduntaan merkittävästi. Mitokondrion bioenergeettisen varakapasiteetin menetys vaikuttaa myös negatiivisesti, koska solu toimii jo lähellä maksimaalista energiantuotantoa. Jos mitokondrion massa vähentyy entisestään, se johtaa siihen, että mitokondrioilla ei enää ole varakapasiteettia jolla lisätä energiantuotantoa ympäristön vaatimuksiin nähden. (van der Windt ym. 2012.)

Vain muutamat primaarisen infektion antigeenispesifiset CD8<sup>+</sup> T-solut selviytyvät pitkäikäisinä muistisoluna. Tämä johtuu siitä, että muistisolut pystyvät ylläpitämään mitokondriomassaa ilmentämällä IL-15:tta. Myös muut sytokiinit, kuten IL-7 voivat vaikuttaa samalla tavalla. Muistisolujen selviytymistä voidaan parantaa esimerkiksi kasvattamalla mitokondriomassaa, jolloin oksidatiivisessa fosforylaatiossa rasvahappojen hapettaminen lisääntyy. Näin rasvahappoja saadaan entistä tehokkaammin hyödynnettyä energiantuotannossa. Kun glykolyysiä lisäävät signaalit puuttuvat, muistisolujen selviytyminen parantuu. Lisäksi mitokondriomassan kasvu voi tehostaa muistisolujen toimintaa, jos sama antigeeni kohdataan uudelleen. (van der Windt ym. 2012.)

Kuten aikaisemmin todettiin, PI3K/AKT-reitti lisää glukoosiaineenvaihduntaa. Tähän reittiin

vaikuttaa kuitenkin negatiivisesti PTEN (engl. Phosphatase and tensin homolog, PTEN) kasvurajoitegeeni, jonka ilmentymisen seurauksena muodostuva proteiini defosforyloi AKT:ta, jolloin AKT-signalointireitti estyy ja glukoosiaineenvaihdunnan muutoksia ei tapahdu. Jos PTEN kasvurajoitegeeni ei ole aktiivinen tai sen toiminnassa on vikaa, AKT-signalointireittiä ei inhiboida, jolloin se on jatkuvasti aktiivinen. AKT:n fosforylaatio johtaa nopeutuneeseen glykolyysiin riippumatta CD28-välitteisestä PI3K-aktivaatiosta. Lymfosyyttisolulinjoissa PTENin ilmentymisen puute ja glukoosiaineenvaihdunnan aktiivisuus kuvastavat PI3K/AKT-reitin merkitystä osana lymfosyyttien kasvun säätelyssä. Glykolyyttinen reitti on CD8<sup>+</sup> T-solujen keskeinen ravinteiden säätelymekanismi, jossa kostimulatoriset reseptorit parantavat solun ravinteiden saatavuutta lisäämällä glukoosinkuljettimien määrää ja säätelemällä T-solujen kasvua. (Frauwirth ym. 2002.)

Wan ym. (2023) osoittivat, että nikotiiniamidiadeniinukleotidin (engl. Nicotinamide adenine dinucleotide, NAD<sup>+</sup>) synteesi *de novo* vaikuttaa positiivisesti sekä CD8<sup>+</sup> T-solujen aineenvaihduntaan, että solujen kykyyn kontrolloida kasvaimen kasvua. Tutkimuksessa osoitettiin, että solujen kynureniinireitin (KP) kautta tuottama NAD<sup>+</sup> edistää kasvaimen sisäisten CD8<sup>+</sup> T-solujen metaboliaa ja toimintaa. KYNU (engl. Kynureninase, KYNU) katalysoima NAD<sup>+</sup> -tuotanto lisäsi PTENin deasetylaatiota, mikä puolestaan paransi CD8<sup>+</sup> T-solujen metaboliaa ja toimintaa. KYNU vaikutus ilmenee PI3K/mTOR-signalointireitillä. KYNU:n ilmentymisen estäminen johti CD8<sup>+</sup> T-solujen heikentyneeseen erilaistumiseen ja antituumorivasteeseen. Tutkimuksessa havaittiin, että paksu- ja peräsuolen syövässä eli kolorektaalisyövässä CD8<sup>+</sup> T-solvaste heikkeni, kun *de novo* NAD<sup>+</sup> -synteesin määrä laski. CD8<sup>+</sup> T-solujen aktiivisuus pystyttiin kuitenkin palauttamaan normaaliksi NAD<sup>+</sup>:n lisäyksellä.

KYNU:n lisäksi NAD<sup>+</sup> on myös sirtuiinientsyymien (SIRT1-7) substraatti. Solunsisäisten sirtuiinien tiedetään säätelevän mitokondrioiden toimintaa, tulehdusprosesseja ja antioksidanttipuolustusta muokkaamalla proteiinien aktiivisuutta ja geenien luentaa. Normaaleissa CD8<sup>+</sup> T-soluissa, SIRT1:n (engl. Sirtuin 1-protein, SIRT1) farmakologinen esto lisää PTEN kasvurajoitegeenin aktivaatiota. Sen sijaan näin ei tapahdu CD8<sup>+</sup> T-soluissa jos soluissa ei ilmenny KYNUa. Tämä tarkoittaa sitä, että CD8<sup>+</sup> T-soluissa KYNU:n ilmentyminen lisää NAD<sup>+</sup> -synteesiä, joka lisää SIRT1-riippuvaista PTEN- deasetylaatiota ja näin ollen glukoosiaineenvaihdunta tehostuu. KYNU ilmentämättömien ja ilmentävien CD8<sup>+</sup> T-solujen glykolyysin ja oksidatiivisen fosforylaation erot voidaan poistaa PTENin geneettisellä poistamisella. PTENia yli- ilmentävät CD8<sup>+</sup> T-solut osoittivat korkeampia glykolyysin, oksidatiivisen fosforylaation ja IFN- $\gamma$ :n tuotantotasoa kuin normaalit tai PTENia ilmentämättömät CD8<sup>+</sup> T-solut. SIRT1 voi myös deasetyloid FOXO1:n tai muita transkriptiotekijöitä CD8<sup>+</sup> T-soluissa. CD8<sup>+</sup> T-solujen metabolisen aktiivisuuden säätelyssä ainakin

yksi merkittävä tekijä on SIRT1:n indusoima PTEN-deasetylaatio, joka vaikuttaa KYNU-reitin katalysoiman NAD<sup>+</sup> synteesin toimintaan, jolloin CD8<sup>+</sup> T-solu voivat sopeutua paremmin vallitseviin energiavaatimuksiin. (Wan ym. 2023.)

## 2.4 CD8<sup>+</sup> T-solu välitteinen solueliminaatio

CD8<sup>+</sup> T-solut pystyvät eliminoimaan syöpäsoluja tai patogeenejä useilla eri tavoilla. Nämä mekanismit voidaan jakaa efektorimolekyylivälitteiseen ja reseptorivälitteiseen apoptoosiin eli ohjelmoituun solukuolemaan. Efektorimolekyylivälitteinen apoptoosi tapahtuu perforiinilla ja grantsyymeilla, joko suoraan endosytoosilla kohdesolun kalvolta tai muodostamalla solukalvon huokosia, joiden kautta grantsyymit pääsevät kohdesoluun. Reseptorivälitteistä apoptoosia välittävät Fas ja Fas-ligandi (FasL) ja TNF:n kaltainen apoptoosia indusoiva ligandi eli TRAIL (engl. TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand, TRAIL). Lisäksi CD8<sup>+</sup> T-solujen erittämät IFN- $\gamma$  ja TNF- $\alpha$  lisäävät syöpäsolujen apoptoosia.

Efektorimolekyylivälitteisen apoptoosin induktorit perforiini ja grantsyymiproteaasi ovat CD8<sup>+</sup> T-solujen sisällä varastogranuloissa. Kun CD8<sup>+</sup> T-solu aktivoituu, granulat siirtyvät solukalvolle, fuusioituvat solukalvon, jolloin granuloiden sisältämät proteiinit eritetään solun ulkopuolelle. Perforiini muodostaa pieniä huokosia kohdesolun solukalvolle, mikä helpottaa perforiinin ja grantsyymien pääsyä kohdesolun sisälle kointernalisaatiolla. Efektorisolujen aktivaatio johtaa Ca<sup>2+</sup>-aktivaatioon (Ca<sup>2+</sup>-sisäänvirtaus), joka alkaa noin 3 minuutissa efektorisolujen aktivoinnista ja saa aikaan granuloiden siirtymisen solukalvolle, jota seuraa perforiinin indusoima huokosten nopea (20 sekunnissa) muodostuminen kohdesolun solukalvon, solukalvon uudelleensulkeutuminen 80 sekunnissa ja apoptoosin alkaminen 10 minuuttia aktivaatiosta. Grantsyymien ja perforiinin pitää toimia lähes synkronisesti, sillä perforiinin muodostamat huokokset sulkeutuvat hyvin nopeasti. Grantsyymi B:tä pitää kulkeutua kohdesolun sisälle lyhyessä ajassa sellainen pitoisuus, että se riittää aiheuttamaan kohdesolukuoleman pro-apoptoottisen BID proteiinin (engl. BH<sub>3</sub> Interacting Domain Death Agonist, BID) pilkkomisen. Tapahtumaketjussa solukalvon sisällä grantsyymi käynnistää apoptoosin pilkkomalla kaspasi 3:a ja BID:n kaspasista riippumattomilla mekanismeilla. Jopa perforiinimäärät, jotka eivät riitä aiheuttamaan kohdesolun lyysiä, voivat muodostaa huokosia, joiden kautta grantsyymi B pääsee solun sisälle. Solut korjaavat vaurion nopeasti sekä vastustavat hajoamista. Siksi grantsyymit voivat päästä kohdesoluihin ilman havaittavia solukalvon huokosten muodostumista. Tärkein mekanismi apoptoosivälitteisessä eliminaatiossa on todennäköisesti grantsyymien kulkeutuminen diffuusiolla solukalvon läpi soluun. Ca<sup>2+</sup> on riippuvainen neutraalista pH:sta ja korkeasta Ca<sup>2+</sup>-pitoisuudesta ekstrasellulaarisessa ympäristössä. Happamampi pH ja

alhainen  $\text{Ca}^{2+}$ -pitoisuus estävät perforiinivälitteistä huokosten muodostumista, koska pH vaikuttaa perforiinin kykyyn oligomeroitua ja muodostaa huokosia solukalvoon (Lopez ym. 2013). Fysiologisesti merkittävässä pitoisuuksissa perforiini voi aiheuttaa solun kuoleman ilman grantsyymiä, mutta apoptoosin sijaan solu kuolee nekroottisesti. Perforiini ja grantsyymi voivat päästä kohdesolun solukalvolta solun sisälle myös endosytoosilla. Kohdesoluissa, joita käsiteltiin sublyytisillä perforiini- ja grantsyymipitoisuuksilla muodostui gigantosomeja. Noin 1 minuutin kuluttua perforiinin eksosytoosista ekstrasellulaariseen tilaan perforiini muodosti huokosia endosomaaliseen kalvoon. Nämä muodostuneet huokokset ovat riittävän suuria, jotta grantsyymit voivat kulkea huokosten läpi. Endosytoosi granulat, jotka sisältävät grantsyymiä ja voivat muodostaa isompia granuloita, gigantosomeja, joista grantsyymi lopulta vapautuu solulimaan ja indusoi apoptoosia. Huokosten muodostumisen ja niiden läpi kulkevan grantsyymien lisäksi perforiinin ja grantsyymien endosytoosi solun sisälle pystyy aiheuttamaan soluvälitteisen apoptoosin. (Gordy ja He 2012.)

IFN- $\gamma$  ja TNF- $\alpha$  pitoisuuksien lisääntyminen syöpäsoluissa johtaa solujen välisen adheesiomolekyylin ICAM-1:n (engl. Intercellular Adhesion Molecule 1, ICAM-1) ja Fas:n ilmentymisen lisääntymiseen, mikä herkistää syöpäsolut  $\text{CD8}^+$  T-solujen indusoimalle solulyysille. Granulavälitteinen kasvainsolujen  $\text{CD8}^+$  T-solujen indusoima solulyysi on riippuvainen ICAM-1/LFA1-vuorovaikutuksesta (Lymphocyte Function-Associated Antigen 1, LFA1). ICAM-1:n ja CTL-solujen LFA1:n välinen vuorovaikutus stabiloi TCR:n ja antigeenin välisen interaktion, mikä voimistaa TCR-signaaleja. Tämän vuorovaikutuksen stabiloiminen tehostaa efektorimolekyylivälitteisen apoptoosin lisäksi myös reseptorivälitteistä apoptoosia. (Seki ym. 2002)

TCF-1 toimii translaation säätelijänä Notch-reseptorin alavirrassa konservoituneessa Wnt-signalointireittissä. Wnt on merkittävä  $\text{CD8}^+$  T-solujen kehitykselle kateenkorvassa. FOXO1:n (engl. forkhead box O1- protein, FOXO1) ja TCF-1 tukee  $\text{CD8}^+$  T-solujen kantasoluominaisuuksia estämällä efektorigeenien, kuten PRDM1:n (engl. PR domain containing 1, PRDM1) ja RUNX3:n (engl. Runt-related transcription factor 3, RUNX3) ilmentymistä. Erityisesti Blimp-1 (engl. B Lymphocyte-induced Maturation protein 1, Blimp-1) toimii transkriptiotekijänä, joka tasapainottaa sytolyttisen grantsyymi B:n tuotantoa ja estää terminaalisia toimintahäiriöitä uupuneissa  $\text{CD8}^+$  T-soluissa, jonka muodostumista myös TCF-1 estää. (Ferreira ym. 2020.)

Syklofosfamidilla (engl. cyclophosphamide, CY), joka on laajakirjoinen sytostaatti eli solunsalpaaja, on voimakas vaikutus jakautuviin  $\text{CD8}^+$  ja  $\text{CD4}^+$  T-soluihin sekä Treg-soluihin. Tutkimukset viittaavat siihen, että syklofosfamidin vaikutus jakautuviin T-soluihin voi liittyä

typpioksidia tuottavien myeloidiperäisten suppressorisolujen määrään. Treg-solut ovat CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaa inhiboivia soluja, jotka vaikuttavat CD8<sup>+</sup> T-soluihin negatiivisesti. Immuunivasteen kannalta on hyödyllistä, että syklofosfamidi vaikuttaa negatiivisesti Treg-soluihin ja aiheuttaa näiden solujen ehtymistä. CY:n vaikutus CD8<sup>+</sup> T-soluvasteeseen voi silti olla negatiivinen, mikä on epä johdonmukaista CD8<sup>+</sup> T-solujen toiminnan kannalta, koska CY vaikuttaa myös CD8<sup>+</sup> T-solujen jakautumiseen. Tutkimuksen mukaan selityksenä tälle epä johdonmukaisuudelle on se, että CY:n indusoimien CD8<sup>+</sup> T-soluvasteiden merkitys ei ole näiden solujen kokonaismäärässä, vaan CD8<sup>+</sup> T-solujen kyvyssä eliminoida kasvainsoluja ilman lisäjakautumisen tarvetta. CY tappaa suurimman osan kasvainsoluista ja herkistää jäljelle jääneet kasvainsolut CD8<sup>+</sup> T-soluvälitteiselle apoptoosille, jolloin kasvainspesifinen CD8<sup>+</sup> T-solupooli voi olla tehokas ilman lisäjakautumisen tarvetta. (Most ym. 2009.)

Reseptorivälitteisissä mekanismeissa CD8<sup>+</sup> T-solujen suurentunut TRAIL-ilmentyminen selittää, miksi edellä mainittu CY:n aiheuttama CD8<sup>+</sup> T-solujen jakautumisen ehtyminen ei vaikuta negatiivisesti CD8<sup>+</sup> T-soluvasteeseen. Tyypin I ja II IFN, kuten IFN- $\gamma$ , kykenevät indusoimaan TRAIL-ilmentymistä ja kasvainten vastaista toimintaa. Most ym. (2009) havaitsivat, että CD8<sup>+</sup> T-solut ovat tärkeitä kasvainsolujen tunnistamisessa elimistön omista soluista sekä tärkeimpiä TRAIL-ligandia ilmetäntäviä soluja. NK-soluja voidaan myös tarvita kasvainsolujen tunnistamiseen elimistön omista soluista. CD8<sup>+</sup> T-solujen ja NK-solujen tuottama TRAIL sitoutuu kasvainsolujen pinnalla olevaan reseptoriin, joka indusoi kohdesolun apoptoosia. CD8<sup>+</sup> T-solujen tai NK-solujen TRAIL-tuotanto voi olla yhtä tärkeä kuin efektorimolekyyli välitteinen apoptoosi sekä IFN- $\gamma$  vaikutus syöpäsoluihin.

CTL-solujen aktivoiminen voi indusoida Fas-ligandia, joka välittää apoptoosisignaaleja sekä TNFR1:tä ja TNFR2:ta, jotka osallistuvat apoptoosin, tymosyyttien jakautumisen ja erään transkriptiotekijän aktivoimiseen. TNFR1 vastaa useimmista TNFR-välitteisistä apoptoosin ja transkriptiotekijän aktivaatiosignaaleista. TNFR2 on vastuussa jakautumissignaaleista tymosyyteissa. FasL sitoutuminen Fas-reseptoriin johtaa reseptorin trimerisaatioon, joka aktivoi kaspasi-8:n ja Fas-reseptoriin liittyvän kuolemandomeenin (engl. Fas-Associated protein with Death Domain, FADD). Tämä käynnistää proteolyyttisen kaskadin, johon osallistuvat ICE-proteaasit eli IL-1 $\beta$ :aa konvertoivat entsyymit. Nämä entsyymit pilkkovat useita solunsisäisiä proteiineja ja laminiinin, mikä aiheuttaa morfologisia muutoksia soluissa ja lisäävät apoptoosia. TNF:n sitoutuminen TNFR1:een saa aikaan reseptorin trimerisaation ja usean eri proteiineista koostuvan kompleksin muodostumisen. Kompleksissa on muun muassa kasvaimen nekroositekijän tyypin 1 reseptoriin liittyvä kuolemandomeeni (engl. TNF Receptor-Associated Death Domain,

TRADD), joka toimii kahdella eri reitillä: se voi käynnistää apoptoosin joko aktivoimalla kaspasi-8:n tai värvätä RIP:n (engl. Receptor-Interacting Protein, RIP), joka TRAF2:n kanssa aktivoi NF- $\kappa$ B:tä (engl. Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- $\kappa$ B:tä), joka lisää selviytymisgeenien ilmentymistä. Fas- ja TNFR1-välitteisessä apoptoosissa kuolemandomeeni mahdollistaa signaalien välittymisen tehokkaasti. Lisäksi DR-3-reseptori (engl. Death Receptor 3, DR-3), joka muistuttaa TNFR1:tä, välittää signaaleja, jotka aktivoivat apoptoosia sekä samankaltaisia solunsisäisiä mekanismeja, kuin TNFR1. On kuitenkin huomattavaa, että myös kasvainsolut voivat aktivoida Fas/FasL-välitteistä apoptoosia CTL-soluissa, joten tämä mekanismi toimii molempiin suuntiin. (Lee ym. 2004.)

Ideaalitilanteessa APC- ja/tai DC-solut esittelevät vieraita antigeenejä CD8<sup>+</sup> T-soluille, mikä johtaa CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatioon, metabolisiin muutoksiin ja lopulta taudinaiheuttajien eliminaatioon. Tämä tapahtumaketju ei ole pelkästään CD8<sup>+</sup> T-solujen varassa, koska elimistössä on paljon muitakin mekanismeja, joilla elimistö pyrkii suojautumaan taudinaiheuttajilta ja vaikuttamaan CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaan. Myös syöpäsolut pyrkivät vaikuttamaan useilla mekanismeilla immunitetiijärjestelmän soluihin ja näiden toimintaan, esimerkiksi erittämällä inhiboivia välittäjäaineita tai ilmentämällä erilaisia pintareseptoreita. Ideaalitilanteessa inhiboivat signaalit jäävät aktivoivien signaalien alle ja syöpäsolut eliminoidaan. Näin ei kuitenkaan aina ole.

### 3 SYÖPÄSOLUJEN MIKROYMPÄRISTÖN VAIKUTUS CD8<sup>+</sup> T-SOLUIHIN

DC-solut ovat kriittisiä tekijöitä tehokkaiden T-soluvälitteisten kasvainten vastaisten immuunivasteiden käynnistämisessä. Näillä soluilla on myös tärkeä merkitys immuunivasteen toleranssin ylläpitämisessä. DC-solut toimivat myös elimistön normaaleissa kudoksissa, mikä viittaa homeostaattiseen mekanismiin T-soluvasteiden voimakkuuden säätelyssä.

Kasvaimilla on monia keinoja rajoittaa HLA I-antigeeniesittelyä ja välttää immunitetiijärjestelmän solujen tunnistusta. Kasvaimen mikroympäristöön (engl. Tumor Micro Environment, TME) erittyvät tekijät voivat tukahduttaa DC-solujen immunostimulatorista toimintaa ja estää CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatiota kasvaimen lähi-imusolmukkeissa. Mikroympäristö voi ohjata DC-solut toimintakyvyttömään, tolerogeeniseen tai jopa immunosuppressiiviseen fenotyyppiin, jossa dendriittisolut eivät ilmennä riittävästi kostimulatorisia molekyyliä, mikä johtaa T-solujen toimintakyvyttömyyteen eli anergiaan. Kasvaimet voivat vaikuttaa omaan antigeenisyyteen vaikuttamalla kasvainantigeenejä esittelevien DC-solujen toimintaan esimerkiksi estämällä niiden kypsymistä. Jos DC-solujen toiminta häiriintyy, se voi johtaa heikentyneeseen kasvainsoluihin

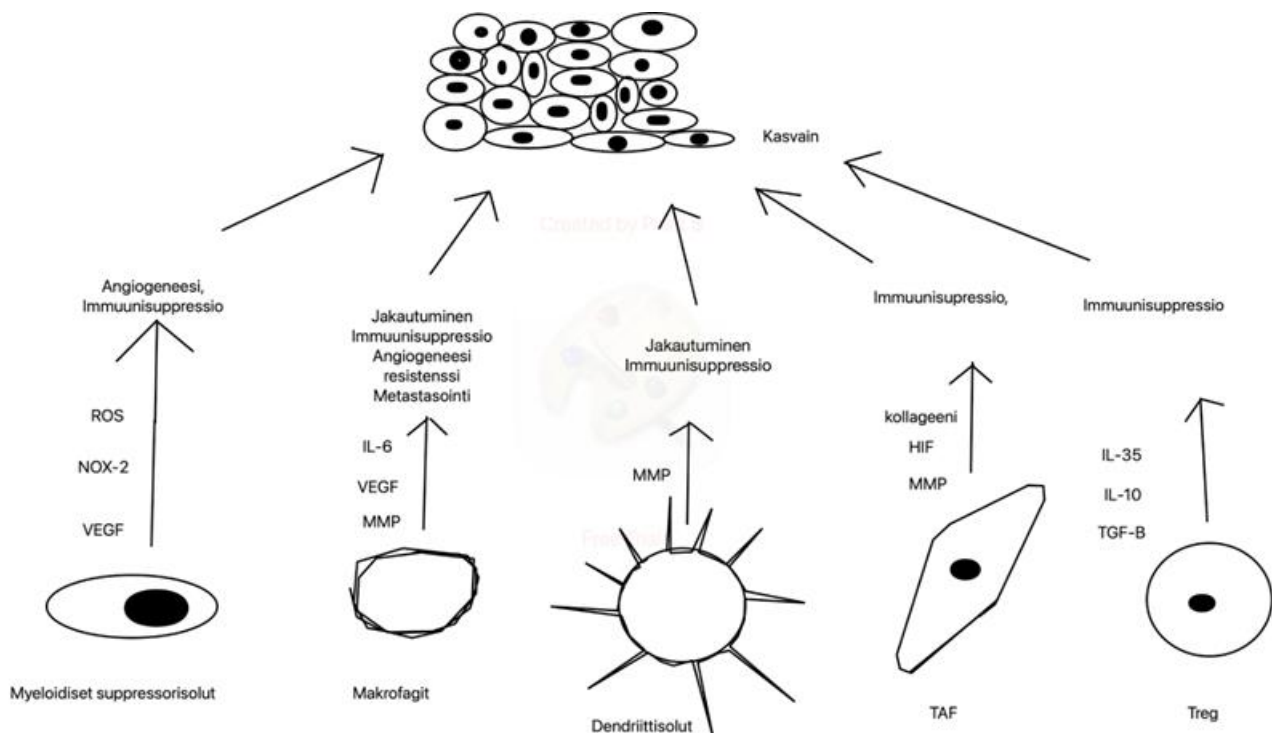
kohdistuvaan immuunivasteeseen, mikä lisää kasvainsolujen mahdollisuutta välttää immuunivastetta.

Kuten aikaisemmin todettu, APC-solujen, kuten DC-solujen, tulee ensiksi esitellä antigeenit naiiveille CD8<sup>+</sup> T-soluille, jotka aktivoituvat. Toisessa vaiheessa aktivoidut CD8<sup>+</sup> T-solut tunnistavat kasvainsolujen pinnalla HLA I-molekyyliin sitoutuneita antigeenejä. Mikäli CD8<sup>+</sup> T-solut tunnistavat antigeenit vieraisiksi, alkaa kasvainsolujen eliminaatio. Kasvainsolu pystyy heikentämään T-soluvälitteistä immuunipuolustusta muuttamalla HLA I:n ekspressiota esimerkiksi aiheuttamalla mutaatioita TAP-proteiineihin (engl. Transporter associated with antigen processing, TAP), jotka kuljettavat HLA I-molekyylit solukalvolle, tai moduloimalla HLA I-molekyylejä koodaavien geenien transkriptiota. Jos antigeeni on tuumorigeneesin sivutuote, eikä se ole elintärkeä kasvainsolujen kannalta tai se ei lisää kasvainsolun elinkelpoisuutta, solu voi lopettaa antigeenin ilmentämisen. Kasvainsolut voivat muokata ja estää antigeenin ilmentymistä mutaatioilla ja epigeneettisillä muutoksilla. HLA I-molekyyliin ilmentymisen täydellinen poistaminen kasvainsolujen pinnalta voi vaikuttaa hyvältä keinolta välttää immunititeettijärjestelmän immuunivalvontaa, mutta immuunisysteemin soluilla on mekanismeja, joilla ne voivat tunnistaa solut, jotka eivät ilmennä HLA I:tä. Tämän takia kasvaimet ovat kehittäneet hienovaraisempia mekanismeja HLA I-pintamolekyyliin säätelemään, kuitenkin poistamatta kokonaan näitä pintamolekyylejä. Etenkin antigeenejä koodaavien geenien lisääntynyt hypermetylaatiota on yksi merkittävä keino, mikä rajoittaa antigeeniesittelyä. (Rosenthal ym. 2019.)

TME sisältää monia immuunivastetta tukahduttavia tekijöitä, jotka heikentävät merkittävästi CD8<sup>+</sup> T-solujen sytotoksista toimintaa tai jopa estävät sen kokonaan. TME:n kasvainsolut voivat itse erittää mikroympäristöönsä liukoisia tekijöitä, jotka vaikuttavat joko suoraan tai välillisesti CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaan. TME:n liukoiset tekijät tai kasvainsolut säätelevät inhibitoristen inflammatoristen solujen toimintaa, mikä vaikuttaa negatiivisesti CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaan. Kun CD8<sup>+</sup> T-solujen toiminta on merkittävästi heikentynyt eivätkä solut kykene aktivoimaan kasvainten vastaista immunitettia, soluista käytetään termiä uupuneet T-solut. Tätä tilaa voidaan voimistaa pitkäkestoisella, kroonisella aktivaatiolla, jota TME ylläpitää. Immuunivaste heikkenee, kun CD8<sup>+</sup> T-solut ajautuvat uupuneeseen tilaan, mistä seuraa kasvaimen kasvu ja immuunivalvonnan välttäminen. Uupuneiden T-solujen tila rajoittaa myös kasvaimen vastaista immuunimuistin kehittymistä, jolloin kasvaimet pystyvät jatkamaan kasvua ilman jatkuvaa immuunipuolustuksen kontrollia.

### *3.1 Tuumorin mikroympäristön komponentit*

Kasvainsolut muodostavat kasvuaan voimistavan paikallisen mikroympäristön eli TME:n, joka sisältää monenlaisia eri komponentteja (kuva 1). TME koostuu imu- ja verisuonista, ekstrasellulaarisesta matriisista, stroomasoluista, lymfosyyteistä, neutrofiileistä, NK- ja NKT-soluista, kasvaimen liittyvistä makrofageista (engl. Tumor associated macrophages, TAM), RNA:sta ja liukoisista proteiineista. TME voidaan luokitella perinteisen terminologian mukaan kolmeen eri luokkaan TME:n immuunisolujen koostumuksen perusteella. Nämä kolme luokkaa ovat tulehtunut (hot), muuttunut (altered or excluded) ja unohdettu (cold). Adegoke ym. (2023) mukaan parempi luokittelu on immuuniköyhä (immune-scare), muuttunut immuunirikas (immune-intermediate) ja immuunirikas (immune-rich). Immuunirikkaassa TME on immunologisesti aktiivinen sisältää aktiivisen tulehdustilan. Immuunirikas TME sisältää eniten sytotoksisia CD8<sup>+</sup> T-soluja ja kemokiinejä sekä makrofageja, B-soluja ja plasmassoluja. Tässä TME:ssä on myös vähiten kasvainsoluja. Ei-tulehdukselliset TME:t immuuniköyhä ja muuttunut immuunirikas ovat samankaltaisia, mutta kumpikaan ei ole immunologisesti aktiivinen. Immuuniköyhässä TME:ssä on vähiten sytotoksisia CD8<sup>+</sup> T-soluja ja eniten kasvainsoluja, sillä mikroympäristöstä puuttuvat aktivoituneet T-solut, jolloin adaptiivisen immuuniteettijärjestelmän solut eivät tunnista tai reagoi kasvaintigeeneihin. Muuttunut immuunirikas TME sisältää enemmän sytotoksisia CD8<sup>+</sup> T-soluja, kasvainsoluja ja makrofageja kuin immuuniköyhä, mutta vähemmän kuin immuunirikas. Tämä johtuu siitä, että muuttuneessa immuunirikkaassa TME:ssä osa sytotoksista CD8<sup>+</sup> T-soluista on uupuneita soluja. (Trujillo ym. 2018.)



Kuva 1. Kasvaimen mikroympäristö (TME). TME:n komponentit tukevat kasvainsolujen kasvua, indusoivat jakautumista, metastasointia, resistenssiä, angiogeneesiä ja immunosuppressiota.

Kasvaimet voivat moduloida neoantigeenien eli mutatoituneen, täysin uudenlaisen proteiinin esittelyä. Mutanttiproteiinit ovat alttiita väärinlaskostumiselle. Väärinlaskostuneet proteiinit siirtyvät proteosomiin, jossa ne hajotetaan. Kasvaimet voivat "piilottaa" mutatoituneita proteiineja stabiloimalla niitä kätilöproteiineilla kuten HSP90:llä (engl. Heat Shock Protein 90, HSP90), mikä suojaa mutatoituneita proteiineja antigeeniesittelyreitiltä ja vaikeuttaa kasvainsolujen tunnistusta. (Delgoffe ym. 2009.)

Treg-solut tuottavat IL-10 ja IL-35 sytokiineja, jotka säätelevät TME:ssä CD4<sup>+</sup> - ja CD8<sup>+</sup> T-soluja. Treg-solujen tuottama IL-35:lla on tärkeä merkitys TCM-solujen (engl. Central Memory T-cells, TCM) erilaistumisen rajoittamisessa, kun taas Treg-solujen tuottama IL-10:n vähentää CD4<sup>+</sup> ja CD8<sup>+</sup> solujen sytokiinituotantoa ja estää CD8<sup>+</sup> T-solujen erilaistumista, mikä ohjaa solut uupuneeseen tilaan. Sytokiinien yhteisvaikutus lisää TME:n voimakasta immunosuppressiivista tilaa, joka heikentää kasvainsoluihin kohdistuvaa immuunivastetta. Koska Treg-solut säilyttävät plastisuuden, ne voivat sopeutua kasvaimen mikroympäristöön, ja pystyvät siten lisäämään immunosuppressiivisia signaaleja. Tämä ilmenee transkriptiotekijöiden, miRNA:n, kemokiinireseptorien ja suppressiivisten välittäjäaineiden ilmentymisenä. Blimp-1 on keskeinen inhiboivien reseptorien ilmentymisen säätelijä. Jos Blimp-1:tä ei ilmennyt, c-MAF transkriptiotekijä voi lisätä näiden reseptorien ilmentymistä vaikuttamalla päällekkäisiin transkriptioireitteihin.

(Sawant ym. 2019.)

M2 TAM-solut lisäävät angiogeneesia, mutta myös syöpäsolujen kantasolujen jakautumista ja immuunisolujen toimintahäiriöitä TME:ssä, mikä johtaa heikentyneeseen immuunivasteeseen. Esimerkiksi HCC:ssä (engl. Hepatocellular cancer, HCC) TAM-solujen vapauttamat sytokiinit ja signalointimolekyylit, kuten VEGF (engl. Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF) ja MMP (engl. Matrix Metalloproteinase, MMP), lisäävät verisuonten muodostumista ja etäpesäkkeitä. Kasvainten TAF:t erittävät kollageenia ja myös matriisia hajottavia entsyymejä, kuten metalloproteinaaseja, jotka ovat mukana TME:n muodostamisessa ja tukevat kasvainsolujen selviytymistä. Luuydinperäisiä estäjäsolut eli MDSC-solut voivat myös tehostaa kasvainsolujen kasvua lisäämällä angiogeneesia, joka tapahtuu STAT3-signalointireitin aktivoimisella. TME:ssä TAM-peräinen IL-6 voi sen sijaan aktivoida STAT3-signalointireittiä, joka lisää syövän kantasolujen jakautumista, mikä heikentää immuunivastetta. TAM-soluilla, joissa p-STAT3 on aktivoitunut, ei ole antituumorivaikutuksia, vaan ne edistävät syöpäsolujen kasvua MDSC-solujen ja TAF kanssa. (Zhu ym. 2017; Petty ym. 2019.)

MDSC-solut estävät T-solujen aktiivisuutta TME:ssä esimerkiksi tuottamalla vapaita happiradikaaleja (engl. reactive oxygen species, ROS), poistamalla T-soluille kriittisiä ravintoaineita ja ilmentämällä arginaasia sekä iNOS:a (engl. inducible nitric oxide synthase), mikä johtaa typpioksidin muodostumiseen. NADPH-oksidaasin isoformin NOX-2 (engl. NADPH-oksydase 2, NOX-2) aikaansaama ROSin tuotto voi estää TCR/MHC-peptidin vuorovaikutusta katalysoimalla TCR/CD8- molekyylien nitraamista. TREM-1 (engl. Triggering Receptor Expressed on Myeloid cells 1, TREM-1) lisää MDSC-soluissa ROSin tuotantoa ja oksidatiivisten fosforylaatioreittien geenien ilmentymistä. TREM-1 poistogeenisissä hiirissä MDSC-solujen heikentyneet toiminnot liittyivät immunosuppressiivisten markkerien, kuten ARG1 (engl. Arginase 1, ARG1), NOS2 (engl. Nitric oxide synthase 2, NOS2) ja NOS1 (engl. Nitric oxide synthase 2, NOS1) vähentymiseen. TREM-1- poistogeenisissä soluissa MKI67:ää (engl. Marker kiel 67, MKI67) ilmentävät sykliset makrofagit ehtyivät, mikä korostaa TREM-1:n eloonjäämistä tukevaa merkitystä neutrofiileissä ja monosyyteissä. Lisäksi TREM-1 estää neutrofiilien välittämää antituumorigeenista UTC $\alpha\beta$ -immunitetin laajenemista. TREM-1 estää IL-18-signaloinnin vasteet neutrofiileissä ja monosyyteissä. IL-18 on tulehdusta edistävä sytokiini mikä johtaa immuunisolujen infiltraation ja toiminnan heikentymiseen kasvaimissa. IL-18-signalointi on riippuvainen TREM-1 ilmentymisestä. Jos TREM-1:tä ei ilmenny voi se johtaa siihen, että IL-18-signalointi sammuttaa kasvainsoluihin kohdistuvan immuunivasteen. (Ajith ym. 2023.)

TME:n ravinne- ja happiköyhyys suosii Treg-soluja mutta ei CD8<sup>+</sup> T-soluja, mikä selittyy sillä, että

kasvainsolut erittävät TGF- $\beta$  (engl. Tumor Growth Factor, TGF- $\beta$ ), joka indusoi USP-entsyymien (engl. Ubiquitin-specific protease, USP), kuten USP22:n ja USP21:n, ilmentymistä Treg-soluissa. USP-entsyymit stabiloivat transkriptiotekijä FOXP3:a (engl. Forkhead Box P3, FOXP3). FOXP3:n Treg-soluja suosiva vaikutus ilmenee siten, että se parantaa Treg-solujen energia-aineenvaihduntaa. Tämä ilmenee esimerkiksi oksidatiivisen fosforylaation tehostumisella ja mitokondrion biogeneesin kasvulla. USP22 ja USP21 säätelevät myös omaa ilmentymistään vaikuttamalla epäsuorasti SMAD-proteiiniin (engl. Small body size Mothers Against Decapentaplegic, SMAD). USP21:n säätelyssä on mukana erilaisia kinaaseja, kuten p38, joka stabiloi GATA3:a (engl. GATA-binding factor 3, GATA3) ja STAT3:a, mikä johtaa USP21-ylössäätelyyn. Myös hypoksia lisää USP21:tä HIF-riippuvaisesti (engl. Hypoxia-Inducible Factor, HIF). USP22 lisää onkogeenistä c-Myc-aktivaatiota (engl. cellular myelocytomatosis virus oncogene homolog, c-MYC) ja inhiboi epäsuorasti p53:n kasvainta suppressoivaa toimintaa. TME:n ravinnepöyhyydestä ja hypoksiasta johtuva mikroympäristöstressi vaikuttaa edellä kuvatuilla mekanismeilla Treg-solujen USP-tasoihin, jotka stabiloivat FOXP3:a, mikä parantaa Treg-solujen energia-aineenvaihduntaa. Nämä vaihtoehtoiset reitit voimistavat Treg-solujen kykyä ylläpitää tukahduttavaa ympäristöä TME:ssä, mikä vahvistaa TME:ä entisestään. (Montauti ym. 2022.)

Kasvaimen tuottama COX-2 (engl. cyclooxygenase-2, COX-2) syntetisoi PGE2 (engl. prostaglandiini E2, PGE2), joka estää immuunivasteita eri mekanismeilla. PGE2 heikentää DC-solujen toimintaan estämällä niiden kypsymistä ja CD8<sup>+</sup> T-solujen vastetta kemokiineille. PGE2 estää DC-solujen kerääntymistä kasvaimen samalla, kun se heikentää NK-solujen toimintaa ja elinkykyä. Tämä häiritsee NK-solujen tuottaman FLT3L:n (engl. Fms-like tyrosine kinase 3 ligand, FLT3L) vaikutusta, joka normaalisti parantaa DC-solujen elinkykyä. Lisäksi PGE2 heikentää CTL-solujen elin- ja toimintakykyä. COX-aktiivisuus TME:ssä estää tyypin I interferonivasteen, ja sen syntetisoimat prostanoidit edistävät protumorigeenisten tekijöiden, kuten IL-6, CXCL1 (engl. C-X-X motif chemokine ligand, CXCL), TGF- $\beta$  ja G-CSF (engl. Granulocyte Colony-Stimulating Factor, G-CSF) eritystä, mikä tukee kasvaimelle suotuisan TME:n muodostumista. VEGF erityys estää DC-solujen kypsymistä ja G-CSF ohjaa DC-solujen kehittymistä makrofagi/monosyyttilinjoihin, jolloin DC-solujen antigeeniesittely vähentyy CD8<sup>+</sup> T-soluille. Korkeat COX-2-tasot aktivoivat TME:ä vahvistavia tekijöitä, kuten  $\beta$ -kateniinin- ja MAPK- signalointireittejä, jotka estävät DC-solujen kerääntymistä kasvaimen. TME:n vahvistunut inhiboiva vaikutus ilmenee resistenssinä ICI:lle (engl. Immune Checkpoint Inhibitor, ICI), estämällä CCL4 tai CCL5 erittymistä. (Zelenay ym. 2015.)

### 3.2 Tuumorin mikroympäristön vaikutus CD8<sup>+</sup> T-soluihin

Sytotoksiset T-solut ilmentävät aktivoituttuaan PD-1 pintaproteiinia, joka estää T-solureseptorin kautta välittyviä aktivaatiosignaaleja. Tällä mekanismilla pyritään estämään solutuho terveitä kudoksia kohtaan. Syöpäsolut ilmentävät kuitenkin PD-1:n ligandeja PD-L1:tä ja PD-L2:ta, jotka sitoutuessaan T-solujen PD-1-reseptoriin uuvuttavat nämä. Syöpäsolut pyrkivät estämään T-soluja tuhoamasta niitä, vaikka syöpäsolujen pinnalla olisikin antigeeni, jonka T-solureseptori tunnistaa. PD-L1 ilmentyy monissa kasvainsoluissa ja toimii osana immunosuppressiivista ympäristöä. Toisaalta PD-L1 ilmentyy usein APC- tai DC-solujen pinnalla. Saito ym. (2013) osoittivat tutkimuksessaan, että suuri PD-1:n ilmentymisen määrä T-soluissa voi johtaa uupumiseen, jolloin efektoritoiminnot ja proliferaatiokyky katoavat asteittain. He havaitsivat, että PD-1:tä ilmentävät CD8<sup>+</sup> T-solut tuottivat merkittävästi vähemmän IFN- $\gamma$ :aa kuin solut, jotka eivät ilmentäneet PD-1:tä.

Hypoksia on yksi merkittävimmistä mikroympäristön komponenteista ja se vaikuttaa muun muassa PD-1- ja CTLA-4-reseptoreiden (engl. Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4, CTL-4) sekä niiden ligandien ilmentymiseen. Hypoksian on osoitettu lisäävän merkittävästi esimerkiksi PD-L1 positiivisten luuydinperäisten estäjäsolujen (MDSC) suhteellista osuutta. Myös muut mikroympäristön tekijät, kuten IFN- $\gamma$ , IL-10 ja VEGF moduloivat PD-L1:n ilmentymistä MDSC-soluissa, makrofageissa sekä DC- ja kasvainsoluissa. Hypoksian indusoima transkriptiotekijä HIF-1 $\alpha$ , joka on tärkeä solun metaboliaan vaikuttava proteiini hypoksisissa olosuhteissa, voi myös lisätä PD-L1:n ilmentymistä solujen pinnalla sitoutumalla PD-1-ligandia koodaavan geenin säätelyalueen HRE-elementtiin (engl. Hypoxia Response Element, HRE). (Noman ym. 2014.)

CTLA-4 reseptorien indusoima signalointi pysäyttää T-solut solusyklin G0/G1-vaiheeseen ja vähentää IL-2:n tuotantoa. Mikäli T-solun aktivaatiossa CD28-kostimulaatio ei ole voimakasta, CTLA-4 ja PD-1 välittämät inhiboivat signaalit voivat suppressoida heikot CD28-signaalit, minkä seurauksena glukoosiaineenvaihdunta heikkenee. T-solujen aineenvaihdunnan häiritseminen voi olla hyvä strategia T-solvasteiden estämiseksi. CTLA-4- ja PD-1-reseptorien indusoima signalointi inhiboi myös CD3 välitteistä AKT-aktivaatiota aktivoituissa T-soluissa. Lisäksi CTLA-4 ja PD-1 estävät PI3K/AKT- signalointireittiä, jolloin reseptoreiden inhiboiva yhteisvaikutus voi olla additiivinen, ellei jopa synergistinen. (Parry ym. 2005.)

Treg- ja MDSC-solut voivat indusoida CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumusta immunosuppressiivisten sytokiinien erityksellä, typpioksidin ja reaktiivisten happilajien tuotannolla sekä ARG1:n ja IDO:n (engl. Indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) ilmentymisellä (Feng ym. 2023). Lisäksi on osoitettu,

että Treg- ja MDSC-solut suppressoivat CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatiota ja lisäävät kasvainsolujen immuunipakoa vaikuttamalla PD-L1 ligandin ilmentymiseen (Zhu ym. 2017). Treg-solut tuottavat IL-10:tä, IL-35:tä ja TGF- $\beta$ :aa, jotka ohjaavat mikroympäristön immunosuppressiivista toimintaa indusoimalla inhiboivien reseptorien PD-1:n, LAG-3:n (engl. Lymphocyte-Activation Gene 3, LAG-3), TIM-3:n (engl. T-cell Immunoglobulin and mucin-domain containing-3, TIM-3), TIGIT:n (engl. T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, TIGIT) ja 2B4:n (engl. signaling lymphocytic activation molecule family member 4, 2B4) ilmentymistä (Sawant ym. 2019). TIM-3:ta ilmentää monet immuunisolut, kuten CD8<sup>+</sup> T-solut ja Treg-solut ja kasvainsolut, ja esimerkiksi MDSC-solut lisäävät TIM-3 ilmentymistä aktivoituissa CD8<sup>+</sup> T-soluissa (Zhu ym. 2017). TIM-3 toimii sekä estävänä että aktivoivana säätelijänä, ja erilaiset vasteet riippuvat TIM-3:n ja sen ligandien ilmentymisen tasosta (Kim ym. 2020). Korkeat TIM-3-tasot edistävät T-solukuolemaa, kun taas alhaiset tasot välittävät estävän signaalin, joka sallii kasvainsolujen immuunipaon ja ylläpitää T-solujen uupumista. (Sakuishi ym. 2010.)

TIGIT-PVR-vuorovaikutus (engl. Poliovirus Receptor, PVR) osallistuu T-soluvasteiden säätelyyn. TIGIT:ä ilmentävät kypsät DC-solut tuottavat runsaasti IL-10, mutta vain vähän IL-12 ja muita tulehdusta edistäviä sytokiineja. TIGIT-PVR-vuorovaikutus DC-soluissa aiheuttaa PVR:n ja ERK:n (engl. Extracellular signal-Regulated Kinase, ERK) fosforylaation, joka estää T-solujen proliferaatiota. TIGIT-Fc (engl. Fragment crystallizable, Fc) estää T-solujen proliferaatiota ja sytokiinien tuotantoa IL-10:stä riippuvaisella mekanismilla. IL-10:n tiedetään estävän CD80:ta ja CD86:ta. TIGIT voi tukahduttaa immuunivasteen samalla tavalla kuin muut inhiboivat reseptorit, kuten CTLA-4 ja PD-1. (Yu ym. 2009.)

LAG-3 on yksi tärkeimmistä inhiboivista reseptoreista, joka lisää T-solujen uupumusta. FGL1:n (engl. Fibroblast Growth Factor-Inducible 14, FGL1) sitoutuminen LAG-3:een johtaa T-solujen aktivaatiota ja homeostaasia inhiboiviin säätelyreitteihin. MDSC-solut lisäävät LAG-3:n ilmentymistä aktivoituissa CD4<sup>+</sup> - tai CD8<sup>+</sup> T-soluissa (Zhu ym. 2017). Monet kostimulatoriset reseptorit, kuten PD-1 ja CTLA-4, rajoittavat aktivoitujen CD8<sup>+</sup> T-solujen proliferaatiota ja efektoritoimintaa. Normaalisti LAG-3 lisää edellä mainittuja tapahtumia (Grosso ym. 2007). LAG-3:n ja CTLA-4:n vaikutusmekanismit immuunijärjestelmän solujen tukahduttamiseksi ovat samanlaisia. (J. Wang ym. 2019.)

CD4<sup>+</sup> - ja CD8<sup>+</sup> T-soluissa geenien transkriptionjälkeiseen säätelyyn osallistuvat mikro-RNA:t eli miRNA:t vaikuttavat useisiin TGF- $\beta$ -, FOXO- ja MAPK-signalointireittien proteiinien ilmentymiseen. Näillä reiteillä on suora vaikutus T-solujen toimintahäiriöön ja uupumustilaan. Esimerkiksi miR-145 säätelee CTLA-4:n ilmentymistä CD4<sup>+</sup> Treg-soluissa sitoutumalla CTLA-4

transkription 3'-UTR alueeseen. Kasvainpotilailla Treg-solujen erilaistuminen ja kertyminen vahvistaa immunosuppressiivista mikroympäristöä. Lisäksi miR-223 estää STAT1:n (engl. Signal Transducer and Activator of Transcription 1, STAT1) ilmentymistä, mikä vähentää IFN- $\gamma$ :n säätelevien geenien aktiivisuutta. Tämä heikentää TME:ssä CD8<sup>+</sup> T-solujen efektoritoimintaa, koska näiden solujen erittämä IFN- $\gamma$  on tärkeä kasvainsolujen hallinnassa ja eliminoimisessa (Zidan ym. 2023). MDSC-solut lisäävät CTLA-4:n ilmentymistä aktivoituissa CD8<sup>+</sup> T-soluissa (Zhu ym. 2017). TGF- $\beta$ :n kertyminen mikroympäristöön häiritsee immunitettijärjestelmän toimintaa indusoimalla Treg-soluja, jotka estävät CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaa ja rajoittamalla migraatiota TME:n. TGF- $\beta$  vaikuttaa T- soluihin supressoimalla mTOR-aktiivisuutta. (Montauti ym. 2022.)

Treg-solujen läsnäolo ei ainoastaan muokkaa T-solujen toimintaa, vaan se myös rajoittaa kasvaimeen infiltroituvien T-solujen monimuotoisuutta. T-solujen aktivaatio ilman riittäviä kostimulatorisia signaaleja voi ohjata T-soluja toimintahäiriöiseen fenotyyppiin, joka tapahtuu Treg-solujen ilmentämällä CTLA-4:lla. CTL-4 kilpailee CD28:n kanssa kostimuloivista molekyyleistä, kuten CD80 sekä CD86 ja rajoittaa näiden signaalien sitoutumista efektori-T-soluihin, jotta nämä solut eivät aktivoitu. (Noyes ym. 2022.)

Eksosomit ovat normaalien solujen ja syöpäsolujen erittämiä lipidikaksoiskalvullisia mikrosikkeleitä, jotka toimivat syöpäsolujen ja tuumorin mikroympäristön välisessä vuorovaikutuksessa. Eksosomit sitoutuvat kohdesoluunsa ja muokkaavat sen toimintaa esimerkiksi eksosomaalisilla proteiineilla ja miRNA:illa. Syöpäsolujen eksosomien kohdesoluina voivat olla esimerkiksi mikroympäristössä olevat tulehdussolut. Eksosomit voivat lisätä myös makrofagien infiltraatiota, M2-polarisaatiota sekä MDSC-solujen jakautumista ja immunosuppressiivista toimintaa. Tietyt miRNA:t voimistavat MDSC-soluja aktivoimalla NF- $\kappa$ B-reitin, joka puolestaan aktivoi MDSC-solujen syövänvastaista immuuniaktiivisuutta. RNA:han sitoutuvat proteiinit (engl. RNA-binding protein, RBP) lajittelevat eksosomaaliset miRNA:t selektiivisesti eksosomeihin sitoutumalla spesifisiin motiiveihin. (Qi ym. 2022.)

Hedgehog-signaali (engl. Hedgehog, Hh) aiheuttaa toiminnallisen polarisaation TAM-soluissa, mikä tukahduttaa CD8<sup>+</sup> T-solujen infiltraatiota kasvainsolukkaan estämällä transkriptiotekijä KLF4 (engl. Kruppel-like factor 4, KLF4) säätelemien CXCL9- ja CXCL10- tuotantoa. Makrofagien PI3K $\gamma$ -signaali estää myös CD8<sup>+</sup> T-solujen infiltraatiota samalla tavalla kuin TAM-solut, mikä lisää kasvainsolujen immuunipakoa. M2 TAM-solut ilmentävät korkeita ARG1-, IL-10- ja TGF- $\beta$ -tasoja. ARG1:n aiheuttama l-arginiinin väheneminen vähentää CD3 $\zeta$ -ketjun ilmentymistä T-solureseptorikompleksissa, joka estää efektori-T-solu aktivaatiota. Myös makrofagien PI3K $\gamma$ -signaali estää efektori-T-solu aktivaatiota. Kasvaimeen infiltroituvat TAM-solut ja myeloidisolut

voivat estää efektorisolujen toimintaa ekspressoimalla PD-1- ja CTLA-4-ligandeja. Hh-signalointireitin transkriptiotekijä GLI1 (engl. Glioma-associated oncogene homolog 1, GLI1) säätelee KLF4-ilmentymistä. CXCL9:n ja CXCL10:n säätelyn lisäksi KLF4 estää NF- $\kappa$ B-signalointia makrofageissa, joka vähentää Th1-kemokiinien tuotantoa. Yhteenvetona Hh-GLI1-KLF4-signalointikaskadi on merkittävä TAM M2-solujen polarisaation ja kasvaimensisäisen immunosuppression säätelijä. (Petty ym. 2019.)

### 3.3 *T-solun uupuminen*

T-solujen uupumisella tarkoitetaan kasvaimen infiltroituneiden T-solujen toimintahäiriötä, joka syntyy vasteena jatkuvalle antigeenistimulaatiolle. Jatkuva antigeenistimulaatio johtaa T-solujen efektoritoimintojen ja proliferaation heikkenemiseen, mistä seuraa näiden solujen sytotoksisuuden vähentyminen sekä metaboliassa ja transkriptiossa tapahtuvat muutokset. Sytotoksisuuden vähentyminen aiheutuu siitä, että efektori-T-solut erittävät vähemmän sytokiineja ja samanaikaisesti inhiboivien reseptorien kuten PD-1, TIM-3, LAG-3, CTL-4 ja TIGIT määrä kasvaa solukalvolla. Nämä muutokset heikentävät T-soluvastetta, mikä johtaa kasvainsolujen kasvua hillitsevän toiminnan heikentymiseen ja mahdollisesti T-solujen uupumiseen, mikä voi edesauttaa kasvainsolujen immuunipakoa. Uupuneet CD8<sup>+</sup> T-solut karakterisoitiin alun perin hiiristä, joilla oli krooninen lymfosyyttisen koriomeningiittiviruksen aiheuttama infektio. Sitten useat tutkimukset ovat osoittaneet, että uupuneet eli Tex-solut (engl. exhausted T-cell, Tex) ovat merkittäviä kroonisissa infektioiden, kasvaimissa ja autoimmuunisairauksissa. (Beltra ym. 2020.)

Kasvaimen mikroympäristössä CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumiseen vaikuttavat useat liukoiset tekijät ja mekanismit. T-solujen uupuminen on evolutiivisesti konservoitunut sopeutumistapa krooniseen antigeenistimulaatioon, mikä on tärkeää immuunireaktioiden ja autoreaktiivisuuden rajoittamisessa. Siksi T-solujen uupuminen ei aina ole huono asia. Kroonisen antigeeniesittelyn lisäksi on muita tärkeitä tekijöitä, joilla kasvaimet aiheuttavat tai ylläpitävät T-solujen uupumista. T-solujen uupunutta fenotyyppiä lisää esimerkiksi transkriptiota estävä Blimp-1 ja uupunutta fenotyyppiä ylläpitää TGF- $\beta$ 1, joka estää mTOR:n aktiivisuutta. Vähentynyt mTOR-signalointi johtaa lopulta terminaalisesti uupuneiden CD8<sup>+</sup> T-solujen muodostumiseen. (Gabriel ym. 2021.)

CD8<sup>+</sup> T-solujen uupuminen kehittyy useiden välivaiheiden kautta, ja uupuminen voidaan jakaa neljään erilaiseen tyyppiin. Ensimmäinen ryhmä on TCF1 Tex-esiastesolut, jotka ovat kudusrajoitteisia sekä lepotilassa olevia soluja (Texprog1). Toinen tyyppi syntyy, kun TCF1 Tex-esiastesolut siirtyä verenkiertoon (Texprog2). Texprog2-solut voivat palautua Texprog1-soluiksi ja

nämä voidaan palauttaa takaisin toimiviksi efektori-T-soluiksi. Texprog2-solut voivat siirtyä välivaiheen kautta kolmanteen uupumistyyppiin (Texint). Tämä tapahtuu siten, että Texprog2 soluissa ilmentyy yhä enemmän T-bet (engl. T-box transcription factor, T-bet) transkriptiotekijää, mikä johtaa Texint-vaiheeseen. Lopulta Texint-solut ilmentävät TOX transkriptiotekijää (engl. Thymocyte Selection-Associated High Mobility Group Box Protein, TOX), minkä seurauksena solut siirtyvät terminaalaisesti uupuneeseen tilaan (Texterm). Texint- ja Texterm-vaiheet ovat palautumattomia. T-solujen uupumista TME:ssä ohjaa neljä merkittävää tekijää: 1) krooninen antigeenistimulaatio ja koinhiboivien reseptorien sekä immuunitarkistuspisteiden lisääntynyt ilmentyminen, 2) TME:n liukoiset sytokiinit, kuten tyypin I interferoni, IL-2, IL-10 ja TGF- $\beta$ , 3) immunosuppressiivisten solujen, kuten Treg-, MDSC- ja TAM-solujen värvääminen sekä 4) hapen ja ravinteiden puute TME:ssä. (Beltra ym. 2020.)

Krooninen kasvainantigeenistimulaatio ja indusoitu NFAT-transkriptiotekijän aktivaatio voivat aiheuttaa TOX transkriptiotekijän ilmentymisen. TOX on keskeinen uupumuksen säätelijä, joka ilmentyy kroonisen antigeeniesittelyn aikana toimintahäiriöisissä ja uupuneissa CD8<sup>+</sup> T- soluissa. TOX:n ektooppinen eli epänormaalissa tilanteessa tai paikassa tapahtuva ilmentyminen indusoi efektori-T-soluissa transkriptio-ohjelman, joka liittyy Tex:iin. TOX:n deleetio voi kumota uupumusohjelman CD8<sup>+</sup> T-soluissa, koska TOX-deletoidut uupuneet CD8<sup>+</sup> T-solut eivät pysty säätelemään inhiboivien reseptorien, kuten Entpd1 (engl. Ectonucleoside Triphosphate Diphosphohydrolyase 1, Entpd1), PDCD1 (engl. Programmed cell death protein 1, PDCD1), TIGIT, TIM-3 ja CD244 ilmentymistä. (Khan ym. 2019.)

TCR-riippuvaisten transkriptiotekijöiden verkosto, johon kuuluvat muun muassa IRF4 (engl. Interferon Regulatory Factor4, IRF4), BATF (engl. Basic Leucine Zipper ATF- like transcription factor, BATF) ja NFATc1 (engl. Nuclear Factor of Activated T-cells, NFAT) ovat merkittäviä T-solujen uupumuksen synnyssä. NFAT-proteiinit lisäävät IRF4:n ja BATF:n ilmentymistä vasteena jatkuvaan TCR-signalointiin. Nämä transkriptiotekijät toimivat yhdessä muodostaen itseään vahvistavan transkriptiosyklin, joka voimistaa CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumusta. NFAT/IRF4/BATF-kompleksin vaikutus ilmenee erityisesti inhiboivien reseptorien, kuten PD-1, TIM-3 ja CTLA-4 ilmentymisen lisääntymisellä. Lisäksi NFAT/IRF4/BATF- kompleksi tukahduttaa TCF-1:n ilmentymisen, mikä on välttämätöntä kantasolujen kaltaisten T- solujen ylläpitämiseksi terminaalaisesti uupuneina. Tämä viittaa siihen, että NFAT/IRF4/BATF-kompleksi lisää terminaalisesti uupuneiden T-solujen kehittymistä estämällä TCF-1 koodaavan Tcf-7 ilmentymisen. IRF4:n korkeat tasot sekä BATF ja NFAT estävät T-muistisolujen kaltaisten solujen kehittymistä, mikä rajoittaa efektori-T-solujen elpymistä jatkuvan antigeenistimulaation aikana. Samalla ne

vaikuttavat inhiboivien reseptorien ilmentymiseen, heikentävät sytokiinieneritystä ja estävät anabolista sekä mitokondrionaalista aineenvaihduntaa. (Man ym. 2017.)

TIM-3 on yksi tärkeimmistä inhiboivista reseptoreista immuunisoluissa ja sen vuorovaikutus Gal-9 ligandin (engl. Galectin 9, Gal-9) kanssa voi lisätä Tc1-solujen apoptoosia, CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumista, kasvainsolujen proliferaatiota ja MDSC-solujen jakautumista. MDSC-solut, jotka ovat voimakkaita soluimmunitetin suppressoreita, voivat estää efektori-T-solujen kasvainten vastaisen immuunivasteen ja vahvistaa kasvainsolujen pakenemista immuunivalvonnan soluilta. MDSC-solut voivat erittää Gal-9:ää mikroympäristöön ja siten vaikuttaa immunosuppressiivisesti. Gal-9:ää yli-ilmentävät MDSC-solut voivat indusoida TIM-3:n yli-ilmentymistä CD8<sup>+</sup> T-soluissa, mikä johtaa efektorimolekyylien määrän vähenemiseen ja CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumiseen. On havaittu, että TIM-3/Gal-9-reitti aiheuttaa CD8<sup>+</sup> T-solujen uupumusta säätelemällä Notch1- ja EOMES ilmentymistä (Tao ym. 2019). EOMES T-box-transkriptiotekijän on osoitettu olevan tärkeä CTL-solujen kehittymistä ja kypsymistä säätelevä proteiini.

mTOR on tärkeä solukasvua ja jakautumista säätelevä proteiinikinaasi, jonka ilmentymisen esto voi aiheuttaa T-solujen uupumista. CD8<sup>+</sup> T-soluissa p-mTOR- ja p-AKT-reitit voidaan tukahduttaa TIM-3/Gal-9-reitillä, josta seuraa uupumistilan indusointi CD8<sup>+</sup> T-soluissa. Lisäksi TIM-3 aktivaatio voi indusoida kuolemansignaalin T-soluihin. CD8<sup>+</sup> T-soluissa TIM-3 pintareseptorin ilmentymisen erilaiset tasot johtavat erilaisiin toiminnallisiin vasteisiin. Korkeat TIM-3-tasot edistävät T-solukuolemaa, kun taas alhaiset tasot välittävät estävän signaalin, joka sallii kasvainsolujen immuunipaon ja ylläpitää T-solujen uupumista. PD-1:n ja muiden inhiboivien molekyylien, kuten LAG-3:n, samanaikainen ilmentyminen ja aktivaatio ylläpitää uupunutta fenotyyppiä T-soluissa. Uupumuksen ja kuoleman välistä tilaa säätelevä TIM-3-ligandi galektiini-9 määrittää sen, pysyvätkö CD8<sup>+</sup> T-solut uupuneessa tilassa vai siirtyykö solu ohjelmoituun solukuolemaan. (Sakuishi ym. 2010.)

Toiminnallisella tasolla uupuneet T-solut reagoivat huonosti polyklonaaliseen aktivaatioon. CD4<sup>+</sup> TIL-solut (engl. tumor-infiltrating lymphocytes, TIL) ilmentävät paljon PD-1:tä ja TOX uupumustranskriptiotekijää, mistä syystä niillä on samankaltaisia piirteitä kuin uupuneilla CD8<sup>+</sup> T-soluilla. TAM-solujen tuottama CCL23 indusoi T-solujen uupumista aktivoimalla GSK3-isoformien (engl. Glycogen Synthase Kinase 3, GSK3)  $\alpha$  ja  $\beta$  on osoitettu olevan PD-1:tä koodaavan geenin PDCD1:n tärkeimmät transkriptiotekijät CD8<sup>+</sup> T-soluissa, erityisesti GSK3 $\beta$ -signalointireitti, joka säätelee PD-1:n lisäksi CTL-4:aa. Kasvaimeen infiltroituneet CD8<sup>+</sup> T-solut ilmentävät enemmän uupumusmarkkereita, kuin esimerkiksi verenkierrossa olevat CD8<sup>+</sup> T-solut. PD-1 ja CTLA-4 osallistuvat T-solujen aktivaation ja jakautumisen estämiseen, mikä rajoittaa T-

soluvälitteistä kasvainsolujen vastaista immuunivastetta. (Kamat, Krishnan, ja Dorigo 2022). FOXO1 toimi PD-1:n transkription aktivaattorina ja edistää terminaalisesti uupuneiden T-solujen kehittymistä. Näille soluille on tyypillistä korkea PD-1:n ekspressio ja vähentynyt IFN- $\gamma$ :n ja IL-4 tuotanto. (Zidan ym. 2023.)

Kasvainsolujen ympäristöönsä erittämä IL-6 hillitsee efektori-T-solujen kasvainvastaista immuniteettia ja värvää MDSC-soluja. MDSC-solujen tuottama IL-10 houkuttelee CD4<sup>+</sup> T-soluja kehittymään TME:ssä Treg-soluiksi TGF- $\beta$ :n vaikutuksesta. CD177<sup>+</sup> Treg-solujen vapauttaman IL-35:n ja PD-1:tä ilmentävien Treg-solujen vapauttaman IL-10:n vuorovaikutus estää CD8<sup>+</sup> T-soluja eliminoimasta kasvainsoluja ja välittää T-solujen uupumusta. (Zhang ym. 2024.)

HIF-1 $\alpha$  lisää hypoksiassa TAM-solujen ja DC-solujen värväystä TME:n ja vahvistaa immunosuppressiivista mikroympäristöä lisäämällä CCR5:n/CCL5:n ilmentymistä. Tämä voi indusoida T-solujen uupumusta ja syöpäsolujen metastaasia. TME:ssä TAM-solut eivät pelkästään estä T-solujen immuunivastetta, vaan voivat myös heikentää DC-solujen aputoimintoja. (Horie ym. 2023.)

CD8<sup>+</sup> T-solujen uupuminen voidaan aikaansaada usealla eri mekanismilla. Tärkeimmät solukomponentit uupumisen aiheuttamisessa ovat erityisesti Treg-solut, jotka inhiboivat CD8<sup>+</sup> T-soluja, mutta myös M2 TAM- ja MDSC-solut. Solukomponenttien lisäksi tärkeimpiä liukoisia tekijöitä ovat TGF- $\beta$  ja COX-2. Solutasolla uupumusta indusoiva tärkeä tekijä on TOX-transkriptiotekijä. Inhiboivat liukoiset tekijät ja solut ovat tärkeässä osassa CD8<sup>+</sup> T-solujen ohjelmoinnissa uupuneeseen tilaan, mikä johtaa immuunivasteen heikkenemiseen ja ennen kaikkea kasvainsolujen lisääntyneeseen kasvuun.

#### 4 YHTEENVETO

Immuneettijärjestelmän solut, erityisesti CD8<sup>+</sup> T-solut vastaavat epänormaalisti jakautuvien solujen, kuten syöpä- ja kasvainsolujen tunnistuksesta ja eliminoimisesta. APC-solut, kuten dendriittisolut esittelevät antigeenit CD8<sup>+</sup> T-soluille, mistä seuraa CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaatio. Aktivaatio aiheuttaa T-soluissa toiminnallisen polarisaation, joka saa aikaan esimerkiksi metabolisia muutoksia, jotka johtavat muun muassa aineenvaihdunnan paranemiseen ja efektoritoimintoihin. Aktivoiduttuaan sytotoksiset CD8<sup>+</sup> T-solut erittävät granuloista perforiinia ja grantsyymiä, jotka indusoivat kohdesolujen apoptoosia esimerkiksi pilkkomalla BID-proteiinia. CD8<sup>+</sup> T-solut voivat indusoida kohdesolujen apoptoosia myös reseptorivälitteisesti.

Kasvainsolut yrittävät piiloutua immuunijärjestelmältä vaikuttamalla antigeenien tuotantoon. Kasvainsolut voivat muokata antigeenien translaation aktiivisuutta, jolloin pintaproteiinien määrä solukalvolla vähentyy. Kasvainsolut vaikuttavat myös antigeenejä esittelevien solujen toimintaan, mikä edelleen vähentää kasvainsolujen tunnistusta. Kasvainsolujen tuottamat liukoiset tekijät sekä immuunijärjestelmän inhibitoriset solut vaikuttavat negatiivisesti CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaan. Inhibitoriset solut ja liukoiset tekijät sekä muut kasvaimen komponentit muodostavat kasvaimen inhibitorisen mikroympäristön (TME), joka tukahduttaa CD8<sup>+</sup> T-soluvastetta.

TME:n komponentit voivat ajaa CD8<sup>+</sup> T-solut uupuneeseen tilaan. Tärkein uupumusta aiheuttava tekijä on krooninen antigeenien esittely ja CD8<sup>+</sup> T-solujen aktivaation pitkäaikainen stimulaatio. Uupumuksen keskeinen säätelijä on transkriptiotekijä TOX. Uupuneissa CD8<sup>+</sup> T-soluissa on alentunut efektorimolekyylien erityys sekä liukoisten tekijöiden tuotanto, minkä vuoksi kasvainsolujen tunnistus ja eliminaatio heikkenevät. Näin ollen immuunivasteet ovat tehottomampia, mikä mahdollistaa kasvainsolujen immuunipaon.

CD8<sup>+</sup> T-solujen toimintaa sekä vuorovaikutuksia kasvainsolujen kanssa on tutkittu paljon. Koska syöpä yleistyy etenkin länsimaissa koko ajan, on tärkeää keskittyä yhä enemmän selvittämään mekanismeja, joilla elimistön immunologinen mekanismi valjastetaan syövän hallintaan. Etenkin niin sanottu CAR-T soluhoito ja adoptiivisten CD8<sup>+</sup> T-solujen käyttö ovat osoittautuneet potentiaalisiksi syövän hoitomuodoiksi.

## 5 LÄHTEET

Adegoke, Nurudeen A., Tuba N. Gide, Yizhe Mao, Camelia Quek, Ellis Patrick, Matteo S. Carlino, Serigne N. Lo, ym. 2023. "Classification of the Tumor Immune Microenvironment and Associations with Outcomes in Patients with Metastatic Melanoma Treated with Immunotherapies". *Journal for ImmunoTherapy of Cancer* 11 (10): e007144.

Ajith, Ashwin, Kenza Mamouni, Daniel D. Horuzsko, Abu Musa, Amiran K. Dzutsev, Jennifer R. Fang, Ahmed Chadli, ym. 2023. "Targeting TREM1 Augments Antitumor T Cell Immunity by Inhibiting Myeloid-Derived Suppressor Cells and Restraining Anti-PD-1 Resistance". *The Journal of Clinical Investigation* 133 (21): e167951.

Beltra, Jean-Christophe, Sasikanth Manne, Mohamed S. Abdel-Hakeem, Makoto Kurachi, Josephine R. Giles, Zeyu Chen, Valentina Casella, ym. 2020. "Developmental Relationships of Four Exhausted CD8+ T Cell Subsets Reveals Underlying Transcriptional and Epigenetic Landscape Control Mechanisms". *Immunity* 52 (5): 825.

Bray, Freddie, Mathieu Laversanne, Hyuna Sung, Jacques Ferlay, Rebecca L. Siegel, Isabelle Soerjomataram, ja Ahmedin Jemal. 2024. "Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries". *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 74 (3): 229–63.

Cai, Yun-Cai, Daniel Cefai, Helga Schneider, Monika Raab, Nasrin Nabavi, ja Christopher E. Rudd. 1995. "Selective CD28pYMNM Mutations Implicate Phosphatidylinositol 3-Kinase in CD86-CD28-Mediated Costimulation". *Immunity* 3 (4): 417–26.

Chen, Daniel S., ja Ira Mellman. 2013. "Oncology Meets Immunology: The Cancer-Immunity Cycle". *Immunity* 39 (1): 1–10.

Chen, Lieping, ja Dallas B. Flies. 2013. "Molecular Mechanisms of T Cell Co-Stimulation and Co-Inhibition". *Nature Reviews Immunology* 13 (4): 227–42.

Delgoffe, Greg M., Thomas P. Kole, Robert J. Cotter, ja Jonathan D. Powell. 2009. "Enhanced interaction between Hsp90 and raptor regulates mTOR signaling upon T cell activation". *Molecular Immunology* 46 (13): 2694–98.

Dorner, Brigitte G., Martin B. Dorner, Xuefei Zhou, Corinna Opitz, Ahmed Mora, Steffen Güttler, Andreas Hutloff, ym. 2009. "Selective Expression of the Chemokine Receptor XCR1 on Cross-Presenting Dendritic Cells Determines Cooperation with CD8+ T Cells". *Immunity* 31 (5): 823–33.

Feng, Xiaoyan, Miaomiao Meng, Hongwen Li, Yuyang Gao, Wenting Song, Ruiqing Di, Zhaoming Li, Xudong Zhang, ja Mingzhi Zhang. 2023. "T-Cell Dysfunction in Natural Killer/T-Cell Lymphoma". *Oncoimmunology* 12 (1): 2212532.

Ferreira, Daniela Pais, Joana Gomes Silva, Tania Wyss, Silvia A. Fuertes Marraco, Léonardo Scarpellino, Mélanie Charmoy, Roeltje Maas, ym. 2020. "Central Memory CD8+ T Cells Derive from Stem-like Tcf7hi Effector Cells in the Absence of Cytotoxic Differentiation". *Immunity* 53 (5): 985-1000.e11.

Frauwirth, Kenneth A., James L. Riley, Marian H. Harris, Richard V. Parry, Jeffrey C. Rathmell, David R. Plas, Rebecca L. Elstrom, Carl H. June, ja Craig B. Thompson. 2002. "The CD28 Signaling Pathway Regulates Glucose Metabolism". *Immunity* 16 (6): 769–77.

Gabriel, Sarah S., Carlson Tsui, David Chisanga, Flora Weber, Manuela Llano-León, Patrick M. Gubser, Laurent Bartholin, ym. 2021. "Transforming Growth Factor- $\beta$ -Regulated mTOR Activity Preserves Cellular Metabolism to Maintain Long-Term T Cell Responses in Chronic Infection". *Immunity* 54 (8): 1698-1714.e5.

Gordy, Claire, ja You-Wen He. 2012. "Endocytosis by Target Cells: An Essential Means for Perforin- and Granzyme-Mediated Killing". *Cellular & Molecular Immunology* 9 (1): 5–6.

Grewal, Iqbal S., toim. 2009. *Therapeutic Targets of the TNF Superfamily*. Vsk. 647. Advances in Experimental Medicine and Biology. New York, NY: Springer.

Grosso, Joseph F., Cristin C. Kelleher, Timothy J. Harris, Charles H. Maris, Edward L. Hipkiss, Angelo De Marzo, Robert Anders, ym. 2007. "LAG-3 Regulates CD8+ T Cell Accumulation and Effector Function in Murine Self- and Tumor-Tolerance Systems". *The Journal of Clinical Investigation* 117 (11): 3383–92.

Hickman, Heather D., Kazuyo Takeda, Cara N. Skon, Faith R. Murray, Scott E. Hensley, Joshua Loomis, Glen N. Barber, Jack R. Bennink, ja Jonathan W. Yewdell. 2008. "Direct Priming of Antiviral CD8+ T Cells in the Peripheral Interfollicular Region of Lymph Nodes". *Nature Immunology* 9 (2): 155–65.

Horie, Misato, Kurara Takagane, Go Itoh, Sei Kuriyama, Kazuyoshi Yanagihara, Masakazu Yashiro, Michinobu Umakoshi, Akiteru Goto, Junichi Arita, ja Masamitsu Tanaka. 2023. "Exosomes Secreted by ST3GAL5 High Cancer Cells Promote Peritoneal Dissemination by Establishing a Premetastatic Microenvironment". *Molecular Oncology* 18 (1): 21.

Janeway, Charles A. 1988. "Frontiers of the Immune System". *Nature* 333 (6176): 804–6.

Kamat, Kalika, Venkatesh Krishnan, ja Oliver Dorigo. 2022. "Macrophage-Derived CCL23 Upregulates Expression of T-Cell Exhaustion Markers in Ovarian Cancer". *British Journal of Cancer* 127 (6): 1026.

Khan, Omar, Josephine R. Giles, Sierra McDonald, Sasikanth Manne, Shin Foong Ngiow, Kunal P. Patel, Michael T. Werner, ym. 2019. "TOX Transcriptionally and Epigenetically Programs CD8+ T Cell Exhaustion". *Nature* 571 (7764): 211.

Kim, Hyung-Seok, Chi Young Chang, Hee Jung Yoon, Ki Sun Kim, Han Seok Koh, Sang Soo Kim, Sang-Jin Lee, Lawrence P. Kane, ja Eun Jung Park. 2020. "Glial TIM-3 Modulates Immune Responses in the Brain Tumor Microenvironment". *Cancer research* 80 (9): 1833–45.

Lee, Sung-Hyung, Erez Bar-Haim, Arthur Machlenkin, Ofir Goldberger, Ilan Volovitz, Ezra Vadai, Esther Tzehoval, ja Lea Eisenbach. 2004. "In Vivo Rejection of Tumor Cells Dependent on CD8 Cells That Kill Independently of Perforin and FasL". *Cancer Gene Therapy* 11 (3): 237–48.

Linterman, Michelle A., Robert J. Rigby, Raphael Wong, Diego Silva, David Withers, Graham

- Anderson, Naresh K. Verma, ym. 2009. "Roquin Differentiates the Specialized Functions of Duplicated T Cell Costimulatory Receptor Genes Cd28 and Icos". *Immunity* 30 (2): 228–41.
- Lopez, Jamie A., Olivia Susanto, Misty R. Jenkins, Natalya Lukoyanova, Vivien R. Sutton, Ruby H. P. Law, Angus Johnston, ym. 2013. "Perforin forms transient pores on the target cell plasma membrane to facilitate rapid access of granzymes during killer cell attack". *Blood* 121 (14): 2659–68.
- Man, Kevin, Sarah S. Gabriel, Yang Liao, Renee Gloury, Simon Preston, Darren C. Henstridge, Marc Pellegrini, ym. 2017. "Transcription Factor IRF4 Promotes CD8+ T Cell Exhaustion and Limits the Development of Memory-like T Cells during Chronic Infection". *Immunity* 47 (6): 1129-1141.e5.
- Martínez-Lostao, Luis, Alberto Anel, ja Julián Pardo. 2015. "How Do Cytotoxic Lymphocytes Kill Cancer Cells?" *Clinical Cancer Research* 21 (22): 5047–56.
- Menk, Ashley V., Nicole E. Scharping, Rebecca S. Moreci, Xue Zeng, Cliff Guy, Sonia Salvatore, Heekyong Bae, ym. 2018. "Early TCR Signaling Induces Rapid Aerobic Glycolysis Enabling Distinct Acute T Cell Effector Functions". *Cell Reports* 22 (6): 1509–21.
- Michalk, Irene, Anja Feldmann, Stefanie Koristka, Claudia Arndt, Marc Cartellieri, Armin Ehninger, Gerhard Ehninger, ja Michael P. Bachmann. 2014. "Characterization of a Novel Single-Chain Bispecific Antibody for Retargeting of T Cells to Tumor Cells via the TCR Co-Receptor CD8". *PLOS ONE* 9 (4): e95517.
- Montauti, Elena, Samuel E. Weinberg, Peng Chu, Shuvam Chaudhuri, Nikita L. Mani, Radhika Iyer, Yuanzhang Zhou, ym. 2022. "A Deubiquitination Module Essential for Treg Fitness in the Tumor Microenvironment". *Science Advances* 8 (47): eabo4116.
- Most, Robbert G. van der, Andrew J. Currie, Amanda L. Cleaver, Joanne Salmons, Anna K. Nowak, Sathish Mahendran, Irma Larma, ym. 2009. "Cyclophosphamide Chemotherapy Sensitizes Tumor Cells to TRAIL-Dependent CD8 T Cell-Mediated Immune Attack Resulting in Suppression of Tumor Growth". *PLOS ONE* 4 (9): e6982.
- Motz, Greg T., ja George Coukos. 2013. "Deciphering and Reversing Tumor Immune Suppression". *Immunity* 39 (1): 61–73.
- Noman, Muhammad Zaeem, Giacomo Desantis, Bassam Janji, Meriem Hasmim, Saoussen Karray, Philippe Dessen, Vincenzo Bronte, ja Salem Chouaib. 2014. "PD-L1 Is a Novel Direct Target of HIF-1 $\alpha$ , and Its Blockade under Hypoxia Enhanced MDSC-Mediated T Cell Activation". *The Journal of Experimental Medicine* 211 (5): 781.
- Noyes, David, Arup Bag, Saheed Oseni, Jon Semidey-Hurtado, Ling Cen, Amod A. Sarnaik, Vernon K. Sondak, ja Dennis Adeegbe. 2022. "Tumor-Associated Tregs Obstruct Antitumor Immunity by Promoting T Cell Dysfunction and Restricting Clonal Diversity in Tumor-Infiltrating CD8+ T Cells". *Journal for Immunotherapy of Cancer* 10 (5): e004605.
- Parry, Richard V., Jens M. Chemnitz, Kenneth A. Frauwirth, Anthony R. Lanfranco, Inbal Braunstein, Sumire V. Kobayashi, Peter S. Linsley, Craig B. Thompson, ja James L. Riley. 2005. "CTLA-4 and PD-1 Receptors Inhibit T-Cell Activation by Distinct Mechanisms". *Molecular and Cellular Biology* 25 (21): 9543–53.

Petty, Amy J., Ang Li, Xinyi Wang, Rui Dai, Benjamin Heyman, David Hsu, Xiaopei Huang, ja Yiping Yang. 2019. "Hedgehog Signaling Promotes Tumor-Associated Macrophage Polarization to Suppress Intratumoral CD8<sup>+</sup> T Cell Recruitment". *The Journal of Clinical Investigation* 129 (12): 5151.

Prokhnevska, Nataliya, Maria A. Cardenas, Rajesh M. Valanparambil, Ewelina Sobierajska, Benjamin G. Barwick, Caroline Jansen, Adriana Reyes Moon, ym. 2022. "CD8<sup>+</sup> T Cell Activation in Cancer Comprises an Initial Activation Phase in Lymph Nodes Followed by Effector Differentiation within the Tumor". *Immunity* 56 (1): 107.

Qi, Yanhua, Chuandi Jin, Wei Qiu, Rongrong Zhao, Shaobo Wang, Boyan Li, Zongpu Zhang, ym. 2022. "The Dual Role of Glioma Exosomal microRNAs: Glioma Eliminates Tumor Suppressor miR-1298-5p via Exosomes to Promote Immunosuppressive Effects of MDSCs". *Cell Death & Disease* 13 (5): 426.

Rosenthal, Rachel, Elizabeth Larose Cadieux, Roberto Salgado, Maise Al Bakir, David A. Moore, Crispin T. Hiley, Tom Lund, ym. 2019. "Neoantigen-Directed Immune Escape in Lung Cancer Evolution". *Nature* 567 (7749): 479–85.

Saito, Hiroaki, Hirohiko Kuroda, Tomoyuki Matsunaga, Tomohiro Osaki, ja Masahide Ikeguchi. 2013. "Increased PD-1 Expression on CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T Cells Is Involved in Immune Evasion in Gastric Cancer". *Journal of Surgical Oncology* 107 (5): 517–22.

Sakuishi, Kaori, Lionel Apetoh, Jenna M. Sullivan, Bruce R. Blazar, Vijay K. Kuchroo, ja Ana C. Anderson. 2010. "Targeting Tim-3 and PD-1 Pathways to Reverse T Cell Exhaustion and Restore Anti-Tumor Immunity". *The Journal of Experimental Medicine* 207 (10): 2187.

Sawant, Deepali V., Hiroshi Yano, Maria Chikina, Qianxia Zhang, Mengting Liao, Chang Liu, Derrick J. Callahan, ym. 2019. "Adaptive Plasticity of IL-10<sup>+</sup> and IL-35<sup>+</sup> Treg Cells Cooperatively Promotes Tumor T Cell Exhaustion". *Nature Immunology* 20 (6): 724.

Seki, Naoko, Alan D. Brooks, Clive R. D. Carter, Timothy C. Back, Erin M. Parsonneault, Mark J. Smyth, Robert H. Wiltrot, ja Thomas J. Sayers. 2002. "Tumor-Specific CTL Kill Murine Renal Cancer Cells Using Both Perforin and Fas Ligand-Mediated Lysis In Vitro, But Cause Tumor Regression In Vivo in the Absence of Perforin1". *The Journal of Immunology* 168 (7): 3484–92.

Stoltze, Lars, Tobias P. Dick, Martin Deeg, Beate Pömmmerl, Hans-Georg Rammensee, ja Hansjörg Schild. 1998. "Generation of the Vesicular Stomatitis Virus Nucleoprotein Cytotoxic T Lymphocyte Epitope Requires Proteasome-Dependent and -Independent Proteolytic Activities". *European Journal of Immunology* 28 (12): 4029–36.

Tao, Jinglian, Dong Han, Shan Gao, Wei Zhang, Hong Yu, Pei Liu, Rong Fu, Lijuan Li, ja Zonghong Shao. 2019. "CD8<sup>+</sup> T Cells Exhaustion Induced by Myeloid-derived Suppressor Cells in Myelodysplastic Syndromes Patients Might Be through TIM3/Gal-9 Pathway". *Journal of Cellular and Molecular Medicine* 24 (1): 1046.

Traversari, C., P. van der Bruggen, I. F. Luescher, C. Lurquin, P. Chomez, A. Van Pel, E. De Plaen, A. Amar-Costesec, ja T. Boon. 1992. "A Nonapeptide Encoded by Human Gene MAGE-1 Is Recognized on HLA-A1 by Cytolytic T Lymphocytes Directed against Tumor Antigen MZ2-E". *The Journal of Experimental Medicine* 176 (5): 1453–57.

Trujillo, Jonathan A., Randy F. Sweis, Riyue Bao, ja Jason J. Luke. 2018. "T Cell–Inflamed versus Non-T Cell–Inflamed Tumors: A Conceptual Framework for Cancer Immunotherapy Drug Development and Combination Therapy Selection". *Cancer Immunology Research* 6 (9): 990–1000.

Wan, Jie, Cheng Cheng, Jiajia Hu, Haiyan Huang, Qiaoqiao Han, Zuliang Jie, Qiang Zou, Jian-Hong Shi, ja Xiaoyan Yu. 2023. "De Novo NAD<sup>+</sup> Synthesis Contributes to CD8<sup>+</sup> T Cell Metabolic Fitness and Antitumor Function". *Cell Reports* 42 (12).

Wang, Jun, Miguel F. Sanmamed, Ila Datar, Tina Tianjiao Su, Lan Ji, Jingwei Sun, Ling Chen, ym. 2019. "Fibrinogen-like Protein 1 Is a Major Immune Inhibitory Ligand of LAG-3". *Cell* 176 (1): 334–347.e12.

Wang, Ruoning, Christopher P. Dillon, Lewis Zhichang Shi, Sandra Milasta, Robert Carter, David Finkelstein, Laura L. McCormick, ym. 2011. "The Transcription Factor Myc Controls Metabolic Reprogramming upon T Lymphocyte Activation". *Immunity* 35 (6): 871–82.

Windt, Gerritje J. W. van der, Bart Everts, Chih-Hao Chang, Jonathan D. Curtis, Tori C. Freitas, Eyal Amiel, Edward J. Pearce, ja Erika L. Pearce. 2012. "Mitochondrial Respiratory Capacity Is a Critical Regulator of CD8<sup>+</sup> T Cell Memory Development". *Immunity* 36 (1): 68–78.

Yu, Xin, Kristin Harden, Lino C Gonzalez, Michelle Francesco, Eugene Chiang, Bryan Irving, Irene Tom, ym. 2009. "The Surface Protein TIGIT Suppresses T Cell Activation by Promoting the Generation of Mature Immunoregulatory Dendritic Cells". *Nature Immunology* 10 (1): 48–57.

Zelenay, Santiago, Annemmarthe G. van der Veen, Jan P. Böttcher, Kathryn J. Snelgrove, Neil Rogers, Sophie E. Acton, Probir Chakravarty, ym. 2015. "Cyclooxygenase-Dependent Tumor Growth through Evasion of Immunity". *Cell* 162 (6): 1257.

Zhang, Biao, Jinming Liu, Yuying Mo, Kexin Zhang, Bingqian Huang, ja Dong Shang. 2024. "CD8<sup>+</sup> T Cell Exhaustion and Its Regulatory Mechanisms in the Tumor Microenvironment: Key to the Success of Immunotherapy". *Frontiers in Immunology* 15 (syyskuuta):1476904.

Zhu, Ha, Yan Gu, Yiquan Xue, Ming Yuan, Xuetao Cao, ja Qiuyan Liu. 2017. "CXCR2<sup>+</sup> MDSCs Promote Breast Cancer Progression by Inducing EMT and Activated T Cell Exhaustion". *Nontarget* 8 (70): 114554.

Zidan, Mona, Abdel-Aziz A. Zidan, Mohamed Attia Saad, Mohamed El-Shanshory, Usama Bakry, Ashraf Sobh, Said Mohammed Abdou, ja Mohamed Labib Salem. 2023. "Altered microRNA expression profile is linked to T-cell exhaustion-related pathways in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia". *Human Immunology* 84 (2): 113–22.