

Makrofagit syöpäkasvaimen mikroympäristössä

Juho Kusti Kilpinen
Luonnontieteiden kandidaatin tutkielma
Turun yliopisto
Biolääketieteen koulutusohjelma
Lääketieteellinen tiedekunta
Biolääketieteen laitos
30.5.2025

TIIVISTELMÄ

Syöpä on yksi yleisimmistä kuolinsyistä maailmanlaajuisesti, ja sen esiintyvyys kasvaa jatkuvasti väestön ikääntyessä. Syöpäkasvain ei kehity erillään muusta ympäristöstä, vaan sillä on jatkuva vuorovaikutus ympäröivien solujen kanssa. Nämä vuorovaikutukset muokkaavat toistensa ominaisuuksia ja tukevat kasvaimen selviytymistä. Kasvaimen mikroympäristön solut, kuten kasvainassosioidut makrofagit (TAM) ovat tässä kehityskulussa keskeisiä ja tarjoavat kiinnostavan kohteen tulevaisuuden syöpähoitoihin.

Makrofagit ovat synnynnäisen immuunijärjestelmän keskeisiä soluja, jotka osallistuvat patogeenien eliminointiin, solujätteen poistamiseen, tulehdusreaktioiden säätelyyn, kudonsvaurioiden korjaamiseen sekä antigeenien esittelyyn T-soluille. Ne mukautuvat mikroympäristönsä signaaleihin ja polarisoituvat joko tulehdusta edistäviksi M1- tai tulehdusta vaimentaviksi M2-soluiksi. Käsitteet M1 ja M2 kuvaavat makrofagien kahta ääripäätä polarisaatiojatkumolla. Todellisuudessa makrofagien ilmiäisy on jotain näiden kahden väliltä. Polarisaatio tapahtuu Th1- ja Th2-auttaja-T-solujen erittämien sytokiinien ohjaamana. Th1-soluista peräisin oleva interferoni- γ aktivoi M1-makrofageja, kun taas Th2-soluista erittyvät interleukiini 4 ja interleukiini 13 ohjaavat makrofageja M2-fenotyyppiin.

TAMit ovat kasvaimen mikroympäristön muokkaamia makrofageja, joiden toiminta eroaa terveissä kudoksissa esiintyvistä makrofageista. TAMit ilmentävät usein immunosuppressiivista, M2-kaltaista fenotyyppiä. Ne tukevat angiogeneesiä, soluväliaineen hajotusta, kasvaimen invaasiota ja metastaasien muodostumista sekä heikentävät T-soluvälitteistä immuunivastetta. Kasvaimen mikroympäristö muokkaa myös TAMien metaboliaa, mikä entisestään edesauttaa syöpäsolujen kykyä piiloutua immuunivasteilta.

TAMien kliininen merkitys perustuu niiden keskeiseen rooliin kasvaimen mikroympäristössä ja niihin on kohdistettu useita immunoterapioita. CSF1R-estäjät pyrkivät vähentämään TAMien määrää, kun taas PD-1/PD-L1-estäjät tähtäävät fagosytoosikyvyn palauttamiseen. Haasteena on kuitenkin kasvaimen kyky kompensoida TAM-populaation vähenemistä muiden immunosuppressiivisten solujen, kuten myeloidisten suppressorisolujen avulla. Makrofagien uudelleenohjelmointi-immunoterapia tarjoaa uuden hoitokeinon. Niiden tavoitteena on muuntaa TAMien fenotyyppiä kasvainta torjuvaksi, esimerkiksi lisäämällä makrofagien fagosytoosikykyä, antigeenien esittelyä ja T-soluvälitteistä immuunivastetta. Vaikka monoterapioiden tulokset ovat olleet toistaiseksi vaatimattomia, yhdistelmähoitot ja tarkempi TAM-alatyypin kohdentaminen tarjoavat lupaavia näkymiä tehokkaampien hoitostrategioiden kehittämiseksi.

Asiasanat: makrofagit, kasvainassosioidut makrofagit, kasvaimen mikroympäristö, immunoterapia

LYHENNELUETTELO

Lyhenne	Selite		
CAF	Syöpään assosioitunut fibroblasti	PD-L1	Ohjelmoituneen solukuoleman ligandi 1
CCR	C-C-kemokiinireseptori	PRR	Hahmontunnistusreseptori
CD	Erihaustumisklusteri	SOCS3	Sytokiinisignaloinnin estäjä 3
CSF1	Pesäkkeitä stimuloiva tekijä 1	TAM	Kasvainassosioitunut makrofagi
CSF1R	Pesäkkeitä stimuloiva tekijä 1 reseptori	TGF- β	Transformoiva kasvutekijä beta
CTLA-4	T-lymfosyyttien sytotoksinen antigeeni 4	TIE2	Angiopoietiini 1 reseptori
CXCR	C-X-C-kemokiinireseptori	TLR	Tollin kaltainen reseptori
DAMP	Vaarasignaalimolekyylit	TME	Kasvaimen mikroympäristö
HIF	Hypoksiaindusoitunut tekijä	Treg	Säätelijä-T-solu
HSC	Hematopoieettinen kantasolu	TRM	Kudosresidentti makrofagi
ICI	Immuunivasteen vapauttaja	VEGF	Verisuonen endoteelin kasvutekijä
IFN- γ	Interferoni gamma	VISTA	T-solujen aktivaation V-domeenin immunoglobuliini estäjä
IL	Interleukiini		
iNOS	Indusoitava typpioksidisyntaasi		
MARCO	Kollageenirakenteinen makrofagireseptori		
MC	Monosyyttiperäiset solut		
MDM	Monosyyttiperäinen makrofagi		
MDSC	Myeloidiperäinen suppressorisolu		
MHC II	Major histocompatibility complex II		
NK	Luonnolliset tappajasolut		
PDGF	Verihiutaleiden kasvutekijä		
PD-1	Ohjelmoituneen solukuoleman reseptori 1		

Sisällysluettelo

<u>1. JOHDANTO.....</u>	<u>5</u>
<u>2. MAKROFAGIEN ROOLI SYÖVÄSSÄ</u>	<u>6</u>
2.1. MAKROFAGIEN ALKUPERÄ JA KEHITYS	6
2.2. MAKROFAGIEN PLASTISUUS JA POLARISAATIO	7
2.3. MAKROFAGIEN KESKEISET TOIMINNOT	10
2.4. VUOROVAIKUTUS IMMUUNIJÄRJESTELMÄN KANSSA.....	11
<u>3. KASVAINASSOSIOIDUT MAKROFAGIT</u>	<u>12</u>
3.1. KASVAINASSOSIOITUJEN MAKROFAGIEN KEHITYS	12
3.2. TAMIEN JA KASVAIMEN VUOROVAIKUTUS.....	13
3.2.1. TAMIT JA IMMUUNIPUOLUSTUKSEN VÄLTTÄMINEN.....	13
3.2.2. TAMIT JA TULEHDUS.....	14
3.2.3. TAMIT ANGIOGENEESIN SEKÄ INVAASION JA METASTAASIEN EDISTÄJINÄ	15
3.2.4. TAMIEN METABOLISET MUUTOKSET	16
<u>4. TAMIEN TERAPEUTTINEN MANIPULAATIO</u>	<u>17</u>
4.1. SOLUSYÖNNIN LISÄYS	17
4.2. MAKROFAGIEN SALPAUS.....	19
4.3. MAKROFAGIEN UUELLEENKOULUTUS.....	22
<u>5. YHTEENVETO JA JOHTOPÄÄTÖKSET</u>	<u>24</u>
<u>6. VIITTEET</u>	<u>25</u>

1. Johdanto

Syöpä on yksi merkittävimmistä globaaleista terveyshaasteista, ja sen esiintyvyys kasvaa jatkuvasti väestön ikääntyessä ja elintapojen muuttuessa. Syöpäkasvaimen kehittyminen on monivaiheinen prosessi, jossa geneettiset muutokset, solujen hallitsematon kasvu ja ympäristön signaalit yhdistyvät. Kasvaimen eteneminen ei kuitenkaan tapahdu eristyksissä, vaan se on jatkuvassa vuorovaikutuksessa sitä ympäröivien kudosten ja solujen kanssa. Tätä kasvaimen ulkopuolisten solujen ja rakenteiden kokonaisuutta kutsutaan kasvaimen mikroympäristöksi (tumor microenvironment, TME), joka koostuu muun muassa immuunisoluista, fibroblasteista, verisuonista ja soluväliaineesta¹.

Kasvaimen mikroympäristön vaikutus syövän etenemiseen on ratkaiseva. TME ei ainoastaan tue syöpäsolujen kasvua ja lisääntymistä, vaan myös vaikuttaa siihen, kuinka syöpäsolut välttävät immuunijärjestelmän tuhoavat vasteet, leviävät uusiin kudoksiin ja kehittävät lääkeresistenssiä^{2,3}. Mikroympäristön solujen ja molekyylien vuorovaikutukset säätelevät keskeisiä prosesseja, kuten angiogeneesiä, kudosisnvaasiota, solujen liikkuvuutta ja tulehdusreaktioita².

Synnynnäinen immunitetti muodostaa ensimmäisen puolustuslinjan kasvaimia vastaan. Synnynnäisen immuunijärjestelmän solut, kuten makrofagit, dendriittisolut ja luonnolliset tappajasolut (NK-solut), tunnistavat vaarasignaalit nopeasti ja käynnistävät tulehdusreaktioita. Kasvaimen mikroympäristössä monet näistä soluista kuitenkin ohjelmoituvat uudelleen tukemaan kasvaimen selviytymistä^{4,5}. Erityisesti kasvainassosioitunut makrofagi (TAM) ovat keskeisiä solutyyppisiä, jotka mukautuvat kasvaimen tuottamien signaalien vaikutuksesta immunosuppressiiviseen ja kasvainta edistävään fenotyyppiin⁶. Lisäksi kasvaimen edetessä TAM-populaatiot muuttuvat yhä heterogeenisemmiksi ja voivat osallistua monin tavoin kasvaimen mikroympäristön muokkaamiseen kasvainta tukevaksi ekosysteemiksi. Tästä seuraa, että TAMien on osoitettu olevan osa kaikkia syövän tunnuspiirteitä⁷.

Kasvaimen mikroympäristön ja immuunijärjestelmän välinen vuorovaikutus tarjoaa sekä haasteita että mahdollisuuksia uusille syöpähoidoille. Immunoterapian näkökulmasta kasvaimen mikroympäristön solujen, erityisesti synnynnäisen immunitetin solujen ja TAMien, uudelleenohjelmointi tarjoaa lupaavan lähestymistavan syövän torjuntaan. Ymmärtämällä syvällisemmin, kuinka makrofagit vaikuttavat syövän dynamiikkaan, voidaan kehittää uusia strategioita tehokkaampien ja kestävämpien syöpähoitojen toteuttamiseksi⁸.

Tämän kandidaatintutkielman tavoitteena on syventää ymmärrystä kasvaimen mikroympäristön, erityisesti kasvainassosioituneiden makrofagien, roolista syövän kehittämisessä ja etenemisessä. Tarkastelen myös uusia hoitostrategioita, joilla pyritään hyödyntämään tätä tietoa syövän immunoterapian parantamiseksi.

2. Makrofagien rooli syövässä

Makrofagit ovat monimuotoinen ja välttämätön osa immuunijärjestelmää, ja ne osallistuvat kudosten kehitykseen, homeostaasiin sekä immuunivasteisiin. Aikuisissa nisäkkäissä makrofageja löytyy kaikista kudoksista ja niiden välinen toiminnallinen ja rakenteellinen eroavaisuus on suurta. Niiden kyky mukautua erilaisiin fysiologisiin ja patologisiin olosuhteisiin tekee niistä ainutlaatuisia solutyyppejä. Makrofagit eivät ole yksi yhtenäinen solutyyppi, vaan ne koostuvat joukosta erilaisia ja toimintakyvyiltään erikoistuneita populaatioita, jotka muokkautuvat kudossympäristönsä mukaan. Tämä fenotyypin monimuotoisuus johtuu sytokiiniin, kasvutekijöiden ja transkriptiotekijöiden vuorovaikutuksesta, jotka määrittävät niiden lopullisen fenotyypin.

2.1. Makrofagien alkuperä ja kehitys

Makrofagien alkuperää ja niiden kehitystä on tutkittu useaan otteeseen ja perinteinen käsitys siitä, että kaikki makrofagit ovat peräisin verenkierron monosyyteistä, on suurelta osin kumottu⁹. Mononukleaarisen fagosyyttisysteemin perusteella makrofagit kehittyvät luuytimessä syntyneistä verenkierrossa kiertävistä monosyyteistä. Makrofageja syntyy myös jo varhaisen yksilönkehityksen aikana ja nämä toisistaan eroavat solupopulaatiot pysyvät aikuisuuteen asti. Myös makrofagien kehityslinjakohtainen toiminta, erityisesti ärsykkeen, kuten infektion jälkeen on toistaiseksi tuntematon. Tämä korostaa tarvetta jatkotutkimuksille, joissa selvitetään makrofagien toiminnallisten fenotyyppien tunnistamista fysiologisissa olosuhteissa.

Suurin osa tämänhetkisistä löydöksistä perustuu hiiriin, eivätkä ne välttämättä vastaa täysin kehityspolkua ihmisissä. Pitkään ajateltiin, että monosyytit ovat tärkein aikuisiän kudostmakrofagien lähde, mutta tutkimukset ovat osoittaneet, että useimmat kudostmakrofagit ylläpitävät populaationsa itsenäisesti paikallisen lisääntymisen avulla sen sijaan, että ne jatkuvasti uusiutuisivat monosyyttien rekrytoinnin kautta^{9, 10}.

Makrofagien kehitys alkaa jo alkionkehityksen alkuvaiheessa. Embryogeneesin aikana ruskuaispussin ektodermisistä syntyy erytromyeloisia esiastesoluja (EMP), jotka kehittyvät makrofagien esiasteiksi. Makrofagiesiasteet siirtyvät pernan kautta organogeneesin aikana eri kudoksiin ja erilaistuvat siellä, jolloin ne muodostavat elinspesifejä kudismakrofagipopulaatioita¹¹. Erilaistuneisiin kudismakrofageihin kuuluvat keuhkojen esimerkiksi alvolaarimakrofagit, maksan Kupfferin solut, interstitiaalisen sidekudoksen histiosyytit sekä luun osteoklastit. Muut ihmisen makrofagit ovat peräisin myelooisista esiastesoluista, joita syntyy luuytimessä sekä varhaisen yksilönkehityksen aikana maksassa. Nämä esiastesolut siirtyvät verenkierron kautta kudoksiin sekä pernaan, joka toimii monosyyttien varastokudoksena.

Yksilönkehityksen alkuvaiheessa sikiön maksa toimii hematopoieesin lähteenä tuottaen kiertäviä monosyyttejä, joista kehittyvät monosyyttiperäiset makrofagit. Monosyyttiperäiset makrofagit osallistuvat kudismakrofagipopulaatioiden ylläpitoon. Syntymän jälkeen kaikki elimet sisältävät myös monosyyttiperäisiä makrofageja (MDM), joiden elinikä vaihtelee. Luuston muodostumisen myötä sikiön maksan hematopoieesi vähenee ja luuytimen hematopoieesi lisääntyy, niin että luuytimen hematopoieesi korvaa sikiön maksan hematopoieesin. Luuytimessä syntyvien monosyyttiperäisten makrofagien uusiutumisesta vastaavat hematopoieettiset kantasolut (HSC).

Makrofagien erilaistumista ja säilymistä säätelevät useat keskeiset kasvutekijät ja transkriptiotekijät. CSF1R (Pesäkettä stimuloiva tekijä 1 -reseptori) on yksi tärkeimmistä makrofagien eloonjäämiseen ja erilaistumiseen vaikuttavista tekijöistä. Se esiintyy lähes kaikilla makrofageilla, ja sen poistaminen johtaa monien kudismakrofagien häviämiseen. CSF1R poistaminen ei kuitenkaan hävitä kaikkia kudismakrofageja, mikä tukee teoriaa makrofagien monimuotoisista alkuperistä⁹. Makrofagilinjan solujen monimuotoista alkuperää tukevat myös tutkimukset Langerhansin soluilla ja mikroglia soluilla, jossa osoitettiin, ettei niiden uusiutuminen ole täysin riippuvaista luuytimestä.^{10, 12}

2.2. Makrofagien plastisuus ja polarisaatio

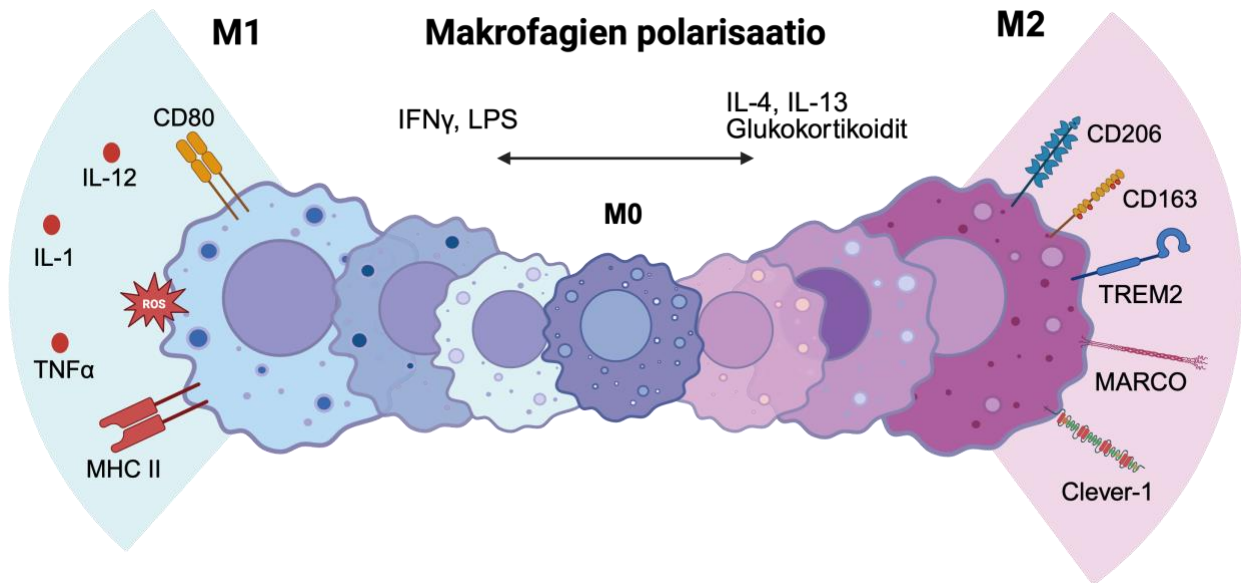
Makrofagien toiminnallisen heterogeenisyyden fysiologista perustaa ja mikroympäristön suurta merkitystä makrofagien toiminnan säätelyssä on tutkittu viime vuosikymmenen aikana paljon. Tutkimukset ovat myös osoittaneet, että makrofagifenotyypit eivät ole pysyviä, vaan makrofagit voivat siirtyä yhdestä toiminnallisesta fenotyypistä toiseen paikallisten olosuhteiden mukaisesti.

Niiden toiminta on vahvasti sidoksissa niiden ympäristöön ja muihin immuunipuolustuksen soluihin¹³. Tämä fenotyypin vaihtelu makrofagien eri toiminnallisten on tärkeä tutkimuksenala, kun halutaan selvittää niihin kohdistuvia hoidollisia menetelmiä sekä vaikutusta tautien patogeneesiin.

Useat ympäristön tekijät, kuten kemokiinit, sytokiinit, hormonit ja hahmontunnistusreseptorit (PRR, pattern recognition receptor) vaikuttavat makrofagien toiminnalliseen vasteeseen ja ulkoasuun, mikä johtaa useiden eri fenotyyppien syntyyn jopa saman makrofagipopulaation sisällä¹². Ympäristön heterogeenisuuden takia, jokainen makrofagipopulaatio ilmentää ainutlaatuista toiminnallista profiilia. Myös saman makrofagipopulaation sisällä esiintyy merkittävää heterogeenisyyttä. Esimerkiksi osa suoliston makrofageista on erikoistunut säätelemään hermosolujen toimintaa ja toiset ylläpitämään verisuonien eheyttä ja läpäisevyyttä¹⁴. Tämä osoittaa, että makrofagien toiminnallinen monimuotoisuus ei rajoitu ainoastaan kudosten välisiin eroihin, vaan myös saman kudoksen sisällä ilmenee vaihtelua.

On huomattu, että identtiset makrofagit, jotka siirretään erilaisiin ympäristöihin eivät ainoastaan ilmennä erilaista toiminnallista fenotyyppiä, vaan ne myös käyvät läpi erilaisia toiminnallisia kehityskulkuja reagoidessaan samaan ärsykkeeseen.¹⁵ *In vivo* makrofagit kykenevät muuttamaan toiminnallista muotoaan infektion tai tulehdusaltistuksen myötä. Tämä rajoittaa kykyä määrittää, ovatko eri fenotyyppisiä tai toiminnallisia profiileja ilmentävät makrofagit peräisin erillisistä solutyypeistä vai ovatko ne saman alkuperäisen linjan soluja, joiden toimintaa on erilaista vaihtelevasta mikroympäristöstä johtuen. Ongelmana on myös, että makrofagien *in vitro* tunnistetut pintamarkerit eivät täysin vastaa niiden ilmentymistä *in vivo*.

Makrofagien toiminnallinen ilmiäsu voidaan karkeasti jakaa M1- ja M2- fenotyyppeihin. Ne kuvaavat makrofagien kahta ääripäätä polarisaatiojatkumolla: M1 edustaa klassista, proinflammatorista aktivaatioita, kun taas M2 viittaa vaihtoehtoiseen, anti-inflammatoriseen aktivaatioon. Nämä polarisaatiot liittyvät suoraan T-auttajasolujen, erityisesti Th1- ja Th2-solujen, tuottamiin sytokiineihin.



Kuva 1. Makrofagien polarisaatiojatkumo (Muokattu alkuperäisestä kuvasta lähteessä: Viitala M, Hollmén M. Makrofagit älykkäästi mukaan syövän hoitoon. Duodecim. 2023;139(15):1207-14)

M1- ja M2-makrofagit edustavat polarisaatiospektrin ääripäitä: M1-solut ovat klassisesti aktivoituneita ja proinflammatorisia, kun taas M2-solut edustavat vaihtoehtoisia, anti-inflammatorista aktivaatioita. Kuvassa on esitetty tyypilliset molekyylimarkkerit polarisaation eri vaiheissa. M1-makrofagit ilmentävät proinflammatorisia molekyylejä (IL-12, IL-1, TNF α , MHC II, CD80, ROS). M2-makrofagit ilmentävät immunosuppressiivisia molekyylejä (CD206, CD163, TREM2, MARCO, Clever-1).

M1-makrofagit aktivoituvat ensisijaisesti Th1-solujen erittämän interferoni gamman (IFN- γ) vaikutuksesta, joka indusoi makrofageissa voimakkaan tulehdusvasteen. Se lisää typpioksidisyntaasin (iNOS) ilmentymistä, edistää proinflammatoristen sytokiinien, kuten TNF- α :n ja IL-12:n tuotantoa sekä tehostaa antigeenin esittelyä MHC II -molekyylien (major histocompatibility complex class II) kautta¹⁶. M1-makrofagit ilmentävät suuria määriä MHC II -molekyylejä, CD68-pintamolekyylejä sekä kostimulatorisia molekyylejä kuten CD80:tä ja CD86:ta. Lisäksi M1-makrofagit voivat lisätä sytokiinien signalointia estävän proteiinin 3 (suppressor of cytokine signaling (SOCS3)) ilmentymistä ja aktivoida typpioksidisyntaasia (NOS2 tai iNOS), joka tuottaa typpioksidia L-arginiinista. M1-makrofagien energiantuotanto perustuu pääasiassa aerobiseen glykolyysiin¹⁷.

M2-makrofagit muodostuvat vasteena Th2-solujen tuottamille interleukiini 4:lle (IL-4) ja interleukiini 13:sta (IL-13). Näiden sytokiinien vaikutuksesta makrofagit vähentävät tulehdusvastetta ja edistävät kudoksen parantumista, angiogeneesiä sekä immunosuppressiota. IL-4 ja IL-13 eivät

pelkästään ohjaa makrofagien erilaistumista, vaan ne myös muuttavat kemokiinituotantoa siten, että M2-makrofagit houkuttelevat Th2- ja Treg-soluja kasvaimen mikroympäristöön kemokiinien, kuten CCL22:n ja CCL18:n, avulla. Tämä vahvistaa immunosuppressiivisuutta ja heikentää samalla Th1-vastetta¹⁶. *In vitro* M2-makrofagit voidaan polarisoida useiden niiden erilaistumista tekijöiden vaikutuksesta, joihin kuuluvat sytokiinit (IL-4, IL-10 ja IL-13), glukokortikoidit sekä immuunikompleksit.

Keskeisin sytokiini M2-makrofagien polarisoitumisessa on interleukiini 4 (IL-4), joka sitoutuu IL-4-reseptoriin ja lisää M2-fenotyypille ominaisten haaskareseptorien CD36 sekä CD206 ilmentymistä^{18,19}. CD206-pintamakkeri on spesifinen M2-makrofageille, mikä tekee siitä hyödyllisen fenotyyppien tunnistamisessa²⁰. CD206 edistää fagosytoosia tunnistamalla mannoosia sisältäviä glykoproteiineja esimerkiksi patogeeneissa. CD36 vaikuttaa merkittävästi M2-makrofagien metaboliaan. Se tehostaa M2-makrofagien lipidien endosytoosia ja lysosomaalista lipolyysiä, jotka tukevat oksidatiivista fosforylaatiota energiantuotannossa¹⁷. Lisäksi CD163, joka on M2-makrofageille ominainen haaskareseptori, edistää anti-inflammatorista vastetta sitomalla hemoglobiini-haptoglobiinikomplekseja sekä säätelemällä tulehdusvasteita. CD163:n ilmentyminen on useissa syöpätyypeissä yhteydessä heikompaan ennusteeseen^{21,22}.

Makrofagien ilmentämä toiminnallinen fenotyyppi muuttuu ajan myötä immuunivasteen edetessä. Ne voivat stimuloitua myös itse tuottamiensa sytokiinien vaikutuksesta, jolloin niiden toiminnallinen profiili voi muuttua ympäristön sytokiiniakoostumuksen mukaisesti. Tutkimuksissa on myös osoitettu, että sytokiinien yhteisvaste makrofageihin voi olla synerginen tai antagonistinen, joka riippuu sytokiinille altistumisen järjestyksestä. Makrofagien toiminnalliseen fenotyyppiin vaikuttaa useiden geenien yhteisvaikutus, joiden ilmentymistä sytokiinien sekä ligandien välinen synergistinen ja antagonistinen vaikutus säätelevät. Tämän seurauksena makrofagit voivat kehittyä moniin eri funktionaalisiin profiileihin, joita ei vielä täysin tunneta¹⁵.

2.3. Makrofagien keskeiset toiminnot

Makrofagit sijaitsevat eri puolilla elimistöä ja toimivat keskeisinä immuunivalvonnan ylläpitäjinä. Ne tarkkailevat ympäristöä tunnistakseen kudosaivourioita tai elimistöön tunkeutuvia mikrobeja ja voivat aktivoida lymfosyyttejä sekä muita immuunisoluja. Makrofagien kyky tuhota patogeeneja perustuu tehokkaaseen fagosytoosiin. Kun makrofagi nielee patogeenin, se sulkeutuu fagosomiin,

joka yhdistyy lysosomin kanssa muodostaen fagolysosomin. Tämän rakenteen sisällä entsyymit ja vapaat radikaalit hajottavat ja eliminoivat patogeenin²³. Immuunipuolustukseen osallistumisen lisäksi makrofagit ovat keskeisiä kudosten ylläpidossa. Ne poistavat elimistöstä kuolleita ja vaurioituneita soluja sekä myrkyllisiä aineita, mikä edistää kudoshomeostaasin säilymistä. Esimerkiksi alveolaarimakrofagit osallistuvat keuhkojen allergeenien poistoon ja Kupfferin solut maksassa puhdistavat verta patogeeneista ja toksiineista.

Makrofagit eivät ainoastaan tue immuunivastetta, vaan ne myös säätelevät tulehdusreaktioita. Makrofagit hillitsevät muiden valkosolujen välittämää tulehdusta ja edistävät anti-inflammatorista vastetta siten, että kudos palautuu tasapainotilaan infektion tai vaurion jälkeen. M2-makrofagit tuottavat kasvutekijöitä, kuten transformoivaa kasvutekijää $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) ja verihiutaleiden kasvutekijää (PDGF), jotka stimuloivat epiteelisolujen ja fibroblastien toimintaa. TGF- $\beta 1$ edistää kudosten uusiutumista ja haavan paranemista ohjaamalla fibroblastien erilaistumista myofibroblasteiksi. Se lisää myös soluväliaineen (ECM) hajoamista estäviä metalloproteiinaasi-inhibiittoreja (TIMPs), sekä stimuloi säikeisten kollageenien synteesiä. PDGF tehostaa ECM:ää tuottavien myofibroblastien proliferaatiota.²⁴

2.4. Vuorovaikutus immuunijärjestelmän kanssa

Kudosvaurion tai infektion alussa reagoivat makrofagit ilmentävät tyypillisesti tulehdusta edistävää M1-fenotyyppiä ja erittävät proinflammatorisia välittäjäaineita, kuten tuumorinekroositekijää (TNF) ja interleukiini 1:tä (IL-1). Ne tuottavat myös interleukiini 12:ta (IL-12) ja interleukiini 23:a (IL-23), jotka johtavat Th₁- ja Th₁₇-solujen polarisaatioon. Th₁- ja Th₁₇-solut tehostavat tulehdusreaktiota ja ylläpitävät immuunivasteen aktiivisuutta. Lisäksi makrofagit tuottavat reaktiivisia happi- ja typpiyhdisteitä, kuten typpioksidia ja superoksidia, jotka ovat antimikrobiaalisia mutta voivat myös vaurioittaa ympäröivää kudosta ja mahdollisesti johtaa krooniseen tulehdukseen.

Fagosytoosin aikana ja sen jälkeen hahmontunnistusreseptorit (PRR), kuten NOD-kaltaiset reseptorit, C-tyyppin lektiinireseptorit, Tollin kaltaiset reseptorit (TLR) sekä retinoiinihapon indusoiman geenin 1 (RIG1)-kaltaiset helikaasireseptorit, tunnistavat signaaleja, jotka liittyvät kuolleisiin tai kuoleviin soluihin, vierasaineisiin, sekä elimistöön tunkeutuviin patogeeneihin¹⁰. Tämä johtaa edellämainitun tulehdusreaktion syntymiseen. Tämä tunnistusprosessi on olennainen osa synnynnäistä

immuunivastetta, ja se mahdollistaa makrofagien nopean reagoinnin ympäristönsä muutoksiin sekä vierasaineiden tehokkaan eliminoinnin.

3. Kasvainassosioidut makrofagit

3.1. Kasvainassosioitujen makrofagien kehitys

Syöpäkasvaimessa ilmeneviä, toiminnaltaan muuttuneita, makrofageja kutsutaan kasvainassosioituneiksi makrofageiksi eli TAMeiksi. Toisin kuin kudosresidentit makrofagit (TRM), kasvainassosioituneet makrofagit ovat pääasiassa luuytimeistä peräisin olevia monosyyteistä erilaistuneita soluja. Monosyytit rekrytoidaan verenkierrosta kasvaimen erittämien sytokiinien ja kemokiinien, kuten CCL2, CSF-1 (pesäkettä stimuloiva tekijä1) ja VEGF, välityksellä. Nämä signaalintimolekyylit houkuttelevat makrofageja kasvaimeen ja edistävät niiden erilaistumista immunosuppressiiviseen tilaan. Yhtenä tärkeimmistä on CSF-1, joka sitoutuessa sen reseptoriin se houkuttelee makrofageja kasvaimeen ja edistää niiden muuttumista kohti syöpää edistävää M2-fenotyyppiä. Tämän kemokiini yli-ilmentyy useissa eri syöpätyypeissä ja on liitetty huonoon ennusteeseen²⁵⁻²⁷. CCL2 (C-C-kemokiiniligandi 2) on toinen tärkeä syöpäkasvaimien erittämistä kemokiineista, joka houkuttelee monosyyttejä verenkierrosta syöpäkudokseen. Parabioosimalleja hyödyntävät tutkimukset ovat osoittaneet, että verenkierrossa kiertävät tulehdukselliset Ly6C⁺CCR2⁺-monosyytit osallistuvat TAM-populaation muodostumiseen erilaistumalla makrofageiksi TME:ssä²⁸.

Vaikka TAMeja pidetään yleisesti M2-tyyppisinä makrofageina, geeniekspressioprofiilianalyysit ovat osoittaneet, että TAMit eivät täysin vastaa tätä luokitusta. TAMit eivät välttämättä ilmennä klassisia M2-fenotyypin markkereita, kuten Ym1:tä, Fizz1:tä ja CD206:ta. Niiden erilaistuminen monosyyteistä on monivaiheinen prosessi, johon vaikuttavat kasvaimen erittämät signaalit sekä Notch-signaalointireitit. Tutkimukset ovat osoittaneet, että transkriptiotekijä RBPJ, joka on keskeinen Notch-signaaloinnin välittäjä, on välttämätön TAMien erilaistumiselle²⁹. RBPJ⁻hiirillä, TAM-populaatio oli matalampi ja CD8⁺-solujen infiltraatio kasvaimeen lisääntynyt. Tämä viittaa siihen, että juuri Notch-riippuvaiset TAMit edistävät immunosuppressiota ja kasvainimmunologisen välttämisen mekanismeja. Immuunivastetta heikentävän ilmiön lisäksi TAMeilla on suurempi proliferaatiokyky kuin muilla makrofagipopulaatioilla, mikä ilmenee lisääntyneenä Ki67-proteiiniekspressiona.²⁹

3.2. TAMien ja kasvaimen vuorovaikutus

TAMien fenotyyppinen plastisuus mahdollistaa sekä kasvaimen että TAM-populaatioiden jatkuvan sopeutumisen moninlaisiin ympäristötekijöihin, kuten systeemiin signaaleihin, vaikuttavaan elimeen tai paikalliseen ravinteiden saatavuuteen. Kasvainten edetessä makrofagit stimuloivat angiogeneesiä, edistävät syöpäsolujen migraatiota ja invaasiota sekä heikentävät immuunijärjestelmän toimintaa. Metastaaseissa kasvainassosioitunut makrofagit muuttavat kudoksen mikroympäristöä, edistävät syöpäsolujen ekstravasoitumista, selviytymistä ja myöhempää kasvua³⁰. Useat meta-analyysit eri syöpätyypeistä ovat osoittaneet TAMien, erityisesti M2-kaltaisten TAMien, liittyvän potilaan huonompaan ennusteeseen³¹⁻³⁴. TAMit voivat vaihtaa fenotyyppiään dynaamisesti ja ilmentää M1- ja M2-fenotyyppien piirteitä samanaikaisesti. Kasvainassosioituneiden makrofagien toimintaan vaikuttavat useat elimistön eri tasoilla ilmenevät tekijät. Sisäiset tekijät, kuten perimä ja alkuperä, määrittävät makrofagien perustavanlaatuiset ominaisuudet, kun taas systeemiset ja elinkohtaiset signaalit muokkaavat niiden toimintaa syövän eri vaiheissa. Mikroympäristö puolestaan hienosäätää niiden roolia joko kasvaimen etenemistä edistävänä tai sitä rajoittavana tekijänä.

3.2.1. TAMit ja immuunipuolustuksen välttäminen

Makrofagit toimivat aktiivisesti kudosten valvojina, poistaen apoptoottisia soluja, solujätettä ja aineenvaihduntatuotteita. Kasvaimen kuolevat solut erittävät "etsi minut" -signaaleja, kuten nukleotideja, ATP:tä ja uridiinidifosfaattia (UDP), jotka houkuttelevat sekä monosyyttiperäisiä makrofageja, että kudosisäilyttäjiä makrofageja³⁵. Lisäksi solut merkitsevät ulkokalvonsa "syö minut" -signaalilla, mikä mahdollistaa makrofagien tunnistamisen ja sitoutumisen apoptoottisiin soluihin. Fosfatidyyliseriini on tärkein tunnettu "syö minut" -signaali ja keskeinen ohjelmoidun solukuoleman tunnusmerkki. Makrofagit tarvitsevat MerTK-reseptoria suorittaakseen fagosyytosin, joka sitoutuu kuolevaan soluun Gas6- tai ProS1-proteiinien välityksellä. Sitoutuminen johtaa aktiivirakenteiden muodostumisen, joiden avulla makrofagit ympäröivät ja lopulta nielevät apoptoottisen solun kokonaan. Tämän jälkeen solujätteet hajotetaan lysosomaalisesti, varmistaen kudoksen homeostaasin³⁶.

Normaalitilanteessa makrofagit kykenevät poistamaan kudoksen soluja suoraan fagosytoosin avulla, edellä mainitun reseptori-ligandivälitteisen tunnistuksen avulla. Kasvainsolut pystyvät kuitenkin välttämään tätä mekanismia ilmentämällä samoja mekanismeja, kuten pintareseptoreja, kuin terveet solut. Esimerkiksi paksusuolisyövässä sekä munasarjasyövässä kasvainsolut yliekspressoivat CD47-

pintaproteiinia, välttääkseen fagosytoosin makrofagien toimesta. Tämän markkerin yliekspressio liittyy huonompaan taudin ennusteeseen. CD47-pintaproteiinin sitoutuessa makrofagien SIRP- α -reseptoriin, CD47 vaimentaa fagosytoosia ja estää solujen poiston^{37,38}. Toinen syöpäsolujen ilmentävä fagosytoosia estävä molekyyli on CD24, joka sitoutuu makrofagien Siglec-10-reseptoriin muodostaen "älä syö minua" -signaalin. Tämä estää makrofagien fagosytoosin ja edistää syövän immunivasteen välttämistä³⁹. Vastaavalla mekanismilla toimii myös PD-1 sekä PD-L1-reseptorin, joiden sioutuminen aiheuttaa immuunivasteen heikkenemistä⁴⁰.

Sen sijaan, että TAMit tuhoaisivat syöpäsoluja, ne poistavat kasvaimen mikroympäristöön kertyvää solujätettä, joka syntyy syöpäsolujen hallitsemattomasta kasvusta ja tunkeutumisesta terveisiin kudoksiin. Tämä efferosytoosiksi kutsuttu prosessi luo kasvainta suosivan ympäristön, joka edistää syövän etenemistä³⁶. Apoptoottisten solujen tehokas poistaminen makrofagien toimesta ehkäisee liiallista tulehdusta ja tukee immuunitoleranssia. Kun apoptoottisten solujen efferosytoosi estyy, kasvainten immuunivaste voimistuu. Esimerkiksi MerTK-reseptorin estäminen johtaa apoptoottisten solujen kertymiseen kasvaimiin ja aktivoi tyypin I interferonivasteen, joka edistää tulehdusreaktiota⁴¹.

3.2.2. TAMit ja tulehdus

Syöpäkasvaimen levitessä DAMP:it (vaarasignaalimolekyylit, engl. damage-associated molecular patterns), kuten ATP, IL-1 α , S100, HMGB1 ja virtsahappo, vapautuvat jatkuvasti syöpäsolujen nopean jakautumisen, apoptoosin, ravinteiden puutteen ja hypoksian seurauksena. Makrofagit tunnistavat DAMP:it omien PRR:sa avulla. DAMPit voivat aktivoida immuunijärjestelmän ja aiheuttaa syöpäsolujen apoptoosin tai fagosytoosin jo syövän alkuvaiheessa. Toisaalta DAMPien vapautuminen voi myös aiheuttaa kroonisen tulehduksen, mikä edistää kasvaimen kasvua ja leviämistä⁴². Tunnistettuaan DAMP:eja, makrofagit aktivoivat tulehdusraktion TME:ssä, erittämällä pro-inflammatorisia sytokiineja, kuten IL-1 ja TNF-alfaa.

Yhtenä syövän tunnusmerkeistä, krooninen tulehdus, on toistuvasti osoitettu edistävän syövän alkamista, kasvua, etenemistä ja etäpesäkkeiden muodostumista. IL-1 β :n vapautuminen on merkittävä sytokiini tulehduksen käynnistymisessä, sillä se stimuloi endoteelisolujen lisääntymistä, adheesiomolekyylien ilmentymistä sekä sytokiinien ja tulehdusvälittäjä-molekyylien tuotantoa. IL-1 β :a ilmenee myös verenkierrassa, joka edistää immuunikompetenttien solujen rektytoimista^{43,44}.

Makrofagien erittämä TNF- α , edistää syöpäsolujen proliferaatiota, migraatiota ja invaasiota useissa eri syöpätyypeissä⁴⁵⁻⁴⁷. Tulehduksen edistämisen lisäksi TNF- α vähentää kasvainsolujen IL-33 ilmentymistä, joka heikentää CD8⁺ -sytotoksisten T-solujen ja fagosytoivien solujen kasvaimen vastaista vastetta⁴⁸. Vaikka syöpään liittyvä tulehdus yleensä edistää kasvaimen leviämistä, immuunijärjestelmän rekrytointi voi olla luonteeltaan syövän kasvua estävää. TAM:t voivat pystyvät esittelemään fagosytoimiansa antigeenejä pinnallaan, jotka T-solut tunnistavat TCR-reseptorien kautta MHC-välitteisen antigeeniesittelyn kautta aktivoiden immuunijärjestelmää⁴⁹.

MARCO (macrophage receptor with collagenous structure) on tunnistettu merkittäväksi TAMien pintareseptoriksi, jolla on yhteys immunosuppressiiviseen kasvainmikroympäristöön. Useissa syöpätyypeissä MARCO:n ilmentyminen on yhteydessä heikompaan ennusteeseen ja matalampaan immunoterapian vasteeseen, erityisesti rinta-, virtsarakko- ja keuhkosyövässä- MARCO:a ilmentävät TAMit ovat pääosin M2-tyyppisiä, jotka tukevat kasvaimen kasvua ja vaimentavat immunologista reaktiota. MARCO:n ilmentyminen korreloi positiivisesti useiden immunosuppressiivisten solutyyppeiden kuten Treg-solujen, neutrofiilien ja syöpään assosioituneiden fibroblastien (CAF) kanssa, samalla kun se on negatiivisesti yhteydessä CD8⁺ T-solujen ja NK-solujen määrään useissa syövässä⁵⁰.

3.2.3. TAMit angiogeneesin sekä invaasion ja metastaasien edistäjinä

Jatkuvasti kasvava syöpäkasvain johtaa hypoksisten alueiden syntymiseen, mikä vaikuttaa makrofagien toimintaa. Hypoksiolosuhteissa makrofagit mukauttavat fenotyyppiään edistääkseen kasvaimen etenemistä eri mekanismien kautta, kuten angiogeneesin, immuunisuppressiota, soluväliaineen uudelleenmuokkausta ja muuttamalla aineenvaihduntaansa. Yksi keskeisimmistä hypoksiavasteista on hypoksiaindusoituvien tekijöiden (HIF) ilmentäminen. Erityisesti HIF-1 α on tärkeä transkriptiofaktori kasvainten selviytymisessä, sillä se lisää anaerobiseen glykolyysiin, angiogeneesiin ja EMT:n (epiteeli-mesenkyymi transitio) liittyvien geenien ilmentymistä kasvaimessa⁵¹. HIF-1 α stimuloi angiogeneesiä kompensoidakseen alhaista hapensaantia. TAM:en tuottamat sytokiinit; TGF- β , VEGF sekä PDGF tehoistavat kasvaimen ympäristön verisuonituksen kehittymistä, tehostamalla verisuonitukseen osallistuvien solujen jakaantumista ja erilaistumista⁵².

TAM:en tuottamat matriksin metalloproteinaasit (MMP-2, MMP-9, MMP-12) hajottavat soluväliainetta, mahdollistaen kasvaimen ja verisuonituksen invaasion ympäröivään kudokseen⁵². Paksusuolen syövässä on myös huomattu, että kasvainassosioituneet makrofagit erittävät IL-6, joka aikaansaa lisääntyneen CCL-2:n tuoton. CCL-2 johti kiertävien monosyyttien rekrytoimiseen kasvain ja edisti kasvaimen invaasiota ja metastasointia. *In vitro* IL-4 ja IL-13 lisäsi makrofagien VEGF sekä CCL-18 tuottoa, johtaen lisääntyneeseen syövän invaasioon⁵³. TAMien kasvaimeen kertyvään solujätteeseen kohdistuva fagosytoosi edesauttaa invasoitumista ja metastasointia edelleen.

TIE2 on tyrosiinikinaasireseptori, joka on keskeinen angiogeneesin säätelijä. Sen pääasiallinen ligandi on ANG2 (angiopoietiini 2). Syöpäkasvaimissa ANG2:n ilmentyminen on usein lisääntynyt, ja se toimii tehokkaana aktivaattorina erityiselle myeloidisolulle, kuten TIE2-positiivisille monosyyteille ja makrofageille. Nämä solut asettuvat kasvaimen verisuoniston läheisyyteen ja säätelevät aktiivisesti verisuonten uudismuodostusta, erityisesti hypoksisissa ja angiogeneesiltään aktiivisissa alueissa^{54,55}. ANG2:n ja TIE2:n vuorovaikutus lisää TIE2-positiivisten makrofagien ilmentämien proangiogeenisten geenien ja immunosuppressiivisten sytokiinien, kuten IL-10:n, tuotantoa sekä kemokiinien, kuten CCL17:n, erityistä. Tämä johtaa T-solujen aktivaation estymiseen ja Treg-solujen määrän lisääntymiseen syöpäkasvaimen mikroympäristössä⁵⁶.

3.2.4. TAMien metaboliset muutokset

Kasvaimen kehittyessä TAM-populaatio kokee merkittävää metabolista uudelleenohjelmointia. Puriiniaineenvaihdunnan lisääntyminen on erityisen merkittävää monosyyttiperäisissä makrofageissa, kun taas kudonresidentit makrofagit, kuten Kupfferin solut maksassa, säilyttävät vakaamman metabolisen profiilin. Tämä viittaa siihen, että rekrytoituneet monosyyttiperäiset makrofagit ovat erityisen herkkiä kasvaimen muokkaaville signaaleille, mikä mahdollistaa niiden ohjelmoitumisen immunosuppressiiviseen ja kasvaimen kasvua edistävään fenotyyppiin⁵⁷. Laktaatti, jota kasvainsolut tuottavat metaboliensa sivutuotteena, edistää TAMien toimintaa, vähentäen samalla kasvaimen vastaisten makrofagien metabolista aktiivisuutta, mikä edelleen tukee kasvaimen kasvua. TAM-alatyypit käyttävät laktaattia eri tavoin: MHC-II^{low} TAMit hyödyntävät sitä oksidatiivisen metabolian tukemiseen, kun taas MHC-II^{hi} TAMien metabolinen aktiivisuus vähenee korkean laktaattipitoisuuden seurauksena⁵⁸. Laktaatin on myös osoitettu heikentävän T- ja NK-solujen toimintaa, edistäen kasvaimen kasvua⁵⁹.

Yksittäissolutason RNA-sekvensoinnin avulla tehty tutkimus on osoittanut, että TAM-makrofagit ovat kehityksellisesti, metabolisesti ja toiminnallisesti heterogeenisiä. Erityisesti puriiniaineenvaihdunnan lisääntyminen on yhdistetty palautumattomaan kasvainta edistävään fenotyyppiin. Glykolyysin ja aminohappoaineenvaihdunnan lisääntyminen on yhdistetty fagosytoosikyvyn ja tulehdusvasteen tehostumiseen, kun taas puriiniaineenvaihdunta liittyy angiogeneesiin ja immunosuppressiivisiin ominaisuuksiin. Metabolisten profiilien perusteella makrofagit voidaan jakaa viiteen ryhmään, joista erityisesti puriiniaineenvaihduntaa ilmentävät TAM-populaatiot korreloivat heikentyneeseen antigeeniesittelykykyyn sekä kasvaimen kasvua tukevaan immuunivasteeseen. Lisäksi puriiniaineenvaihdunnan aktivoituminen on yhdistetty TAMien ilmentämien immunosuppressiivisten molekyylien, kuten TREM2:n (Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells 2) ja VISTA:n (V-domain Immunoglobulin Suppressor of T-cell Activation), lisääntyneeseen ekspressioon, mikä edelleen heikentää immuunijärjestelmän toimintaa kasvaimen torjunnassa⁵⁷.

VISTA:n ekspressio immuunisoluissa on yhteydessä huonompaan kliiniseen ennusteeseen ja lisääntyneeseen kasvaimen uusiutumISRiskiin. Lisäksi VISTA:n kohonnut ilmentyminen liittyy myös korkeampaan PD-L1-ekspressioon⁶⁰. TREM2:n ilmentyminen TAMeissa liittyy useissa tutkimuksissa immuunivasteen vaimenemiseen ja huonompaan hoitovasteeseen. TREM2-positiiviset makrofagit ylläpitävät kasvaimen immunosuppressiivista ympäristöä muun muassa edistämällä lipidimetaboliaa ja estämällä NK-solujen sekä CD8+ T-solujen toimintaa. Reseptorin ilmeneminen on ositettu liittyvän myös heikkoon vasteeseen ICI-hoidoille (immuunivasteen vapauttaja)^{61–63}.

4. TAMien terapeuttinen manipulaatio

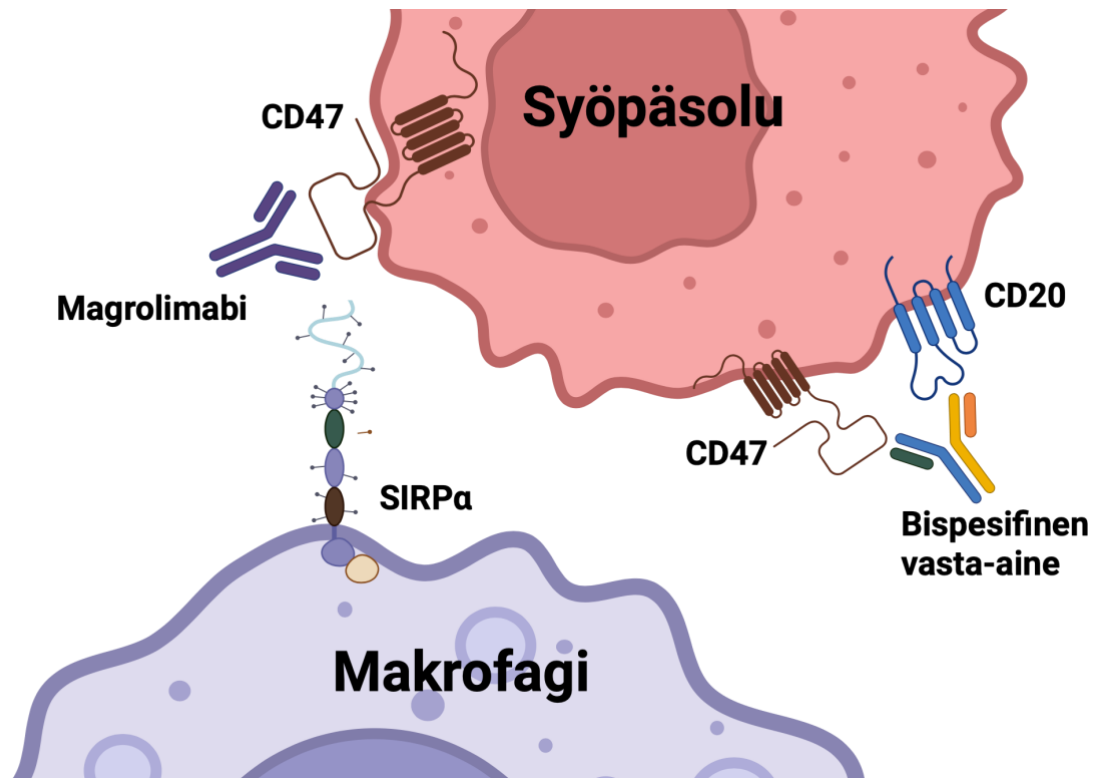
4.1. Solusyönnin lisäys

PD-L1-ekspressio makrofageissa vähentää niiden kykyä fagosytoida kasvainsoluja ja tukahduttaa kasvaimen vastaista immuunivastetta, se sen ilmentymisen määrä on osoittautunut tärkeäksi lääkehoidon tehokkuudessa⁶⁴. PD-L1-positiiviset makrofagit ovat pääosin M2-tyyppisiä soluja, jotka ilmentävät enemmän immunosuppressiivisiä molekyyliä, kuten CD206:ta, ja vähemmän MHC-II:ta. Tämä tarkoittaa, että nämä makrofagit eivät kykene tehokkaasti esittelemään antigeenejä T-soluille, mikä vähentää immuunijärjestelmän kykyä hyökätä kasvaimia vastaan. Tutkimuksessa

osoitettiin, että PD-1/PD-L1-eston avulla voidaan lisätä makrofagien fagosytoosikykyä, mikä johti kasvainten pienempään kokoon ja parempaan selviytymiseen hiirimallissa⁴⁰.

PD-1/PD-L1-signalointi vaikuttaa myös monosyyttien ja makrofagien metaboliaan estämällä glykolyysiä ja heikentämällä fagosytoosia. PD-L1:n aktivaatio makrofageissa vähentää solujen glukoosinottoa ja metabolisia prosesseja, mikä johtaa alentuneeseen energiansaantiin ja heikentyneeseen immuunipuolustukseen syöpäsoluja vastaan. Erityisesti kroonista lymfaattista leukemiaa (CLL) sairastavilla potilailla havaittiin, että PD-1/PD-L1-akselin aktivaatio heikensi monosyyttien ja makrofagien kykyä metaboloida glukoosia, mikä puolestaan johti fagosytoosikyvyn merkittävään vähenemiseen⁶⁵. Toisessa tutkimuksessa huomattiin, että PD-1-poisto lisäsi efektiivisten immuunisolujen määrää ja paransi T-soluvälitteistä immuunivastetta. On myös huomattu, että PD-1-poisto muutti niiden aineenvaihduntaa siten, että ne erittivät enemmän tulehdusta edistäviä sytokiineja ja ilmensivät voimakkaammin fagosytoosiin ja antigeeniesittelyyn liittyviä molekyylejä⁶⁶.

CD47-SIRP α -akselin estäminen tarjoaa mahdollisuuden makrofagien fagosytoosin lisäämiseen. Samankaltaisesti kuin PD-1/PD-L1, CD47 yli-ilmentyminen syöpäsoluissa ja sen sitoutuminen makrofagien SIRP α -reseptoriin, estää fagosytoosin. Tällä hetkellä tähän akseliin kohdistettuja lääkkeitä on kliinisissä tutkimuksissa useita, mutta mikään lääkekandidaateista ei ole vielä saanut FDA:n (Yhdystvaltain elintarvike- ja lääkevirasto) tai EMA:n (Euroopan lääkevirasto) hyväksyntää. Ensimmäisen CD47-SIRP α -akseliin kohdistetun monoklonaalisen vasta-aineen, magrolimabin⁶⁷ jälkeen useita kymmeniä lääkekandidaatteja on tutkittu saman kohteen estämiseen. Suurin osa tämänhetkisistä kliinisissä tutkimuksissa olevissa lääkekandidaateista on bispesifisiä vasta-aineita, jotka sitoutuvat CD47 lisäksi toiseen syöpäsolun pintamarkkeriin, kuten CD20:en⁶⁸, CD19:sta⁶⁹ tai PD-1/PD-L1:en^{70,71} paremman kohdennuksen ja hoitovasteen aikaansaamiseksi. Bispefiset vasta-aineet välttävät myös epäspesifisen sitoutumisen esimerkiksi punasoluihin, jotka ilmentävät vahvasti CD47:ää. Kuvassa 2 on havainnollistettu CD47-SIRP α -akseliin kohdistuvaa lääkehoitoa.



Kuva 2. CD47-SIRP α -akselin esto syöpäsolun ja makrofagin välillä. (Muokattu alkuperäisestä kuvasta lähteessä: Viitala M, Hollmén M. Makrofagit älykkäästi mukaan syövän hoitoon. Duodecim. 2023;139(15):1207-14)

Syöpäsolujen CD47 sitoutuu makrofagin SIRP α -reseptoriin, mikä estää fagocytoosin. Vasta-ainevälitteinen CD47-SIRP α -akselin esto mahdollistaa makrofagien fagocytoosin lisäämisen. Bispesifiset vasta-aineet, jotka sitoutuvat CD47:n lisäksi syöpäsolujen muihin pintamolekyyleihin, kuten CD20, parantaa hoidon kohdentamista ja tehoa.

4.2. Makrofagien salpaus

Monosyyttiperäiset solut (MC, monocyte derived cells), mukaan lukien makrofagit, ovat keskeisessä roolissa syöpäsolujen invaasion edistämässä CSF-1-signaloinnin kautta. CSF1R:n estäminen vähentää immunosuppressiivisten TAM:ien määrää kasvaimessa, mikä puolestaan parantaa T-soluvälitteistä immuunivastetta. Kliinisissä tutkimuksissa on havaittu, että CSF1R-estäjien yhdistäminen immuunijärjestelmän tarkistuspisteiden estäjiin, kuten PD-1- tai PD-L1-vasta-aineisiin, voi tehostaa syöpähoitojen tehokkuutta. Esimerkiksi emactuzumabin (CSF1R-estäjä) ja atezolizumabin (PD-L1-estäjä) yhdistelmähoito on osoittanut lupaavia tuloksia ei-pienisoluista keuhkosityöpää sairastavilla potilailla⁷². Anti-CSF-1 hoito on osoittautunut tehokkaaksi menetelmäksi

invaasion estämisessä, mutta teho on heikompi syöpätyypeissä, jossa invaasio ei ole MC aikaansaama⁷³.

CSF1R-estäjien rajallinen teho liittyy syöpään assosioituneiden fibroblastien toimintaan. CSF1R-estäjien käyttö häiritsee kasvaimen ja CAF-solujen välistä vuorovaikutusta, mikä johtaa voimakkaaseen PMN-MDSC (engl. PMN= polymorphonuclear) -solujen kertymiseen kasvaimeen. Yhdistämällä CSF1R-estäjä CXCR2-inhibiittoriin, huomattiin vähentynyt PMN-MDSC-solujen kulkeutuminen kasvaimeen. Tällä yhdistelmällä saavutettiin hiirimallissa huomattava kasvaimen kasvun hidastuminen, ja vaikutus tehostui entisestään, kun käytettiin kolmoishoitoa PD-1-estäjän kanssa⁷⁴. Lisäksi on osoitettu, että muut kasvutekijät, kuten CSF-2 ja CSF-3, voivat kompensoida CSF-1:n estoa. Esimerkiksi CSF-3:n (Colony stimulating factor 3) havaittiin kolmoisnegatiivisessa rintasyövässä ohjaavan monosyyttien erilaistumista immunosuppressiivisiksi HLA-DR^{low} (Ihmisen leukosyyttiantigeeni DR-luokka) makrofageiksi ja lisäävän metastaaseja⁷⁵. Vastaavasti CSF-2:n osoitettiin aktivoivan TAM-populaatioita tilanteessa, jossa CSF1R-signaalointi estettiin⁷⁶. Kompensatoristen mekanismien monimuotoisuus korostaa tarvetta yhdistelmähoidoille, jotta riittävä hoidon teho saavutetaan.

CCL2 (C-C-kemokiiniligandi 2) on yksi syöpäkasvaimien erittämistä kemokiineista, joka houkuttelee monosyyttejä verenkierrosta syöpäkudokseen. CCL2–CCR2-akselin esto on ollut keskeinen lähestymistapa kasvainassosioituneiden makrofagien toiminnan hillitsemisessä, mutta hoitovasteet ovat jääneet vaatimattomiksi. CCR2-reseptorin esto pienimolekyylisiä lääkkeitä hyödyntäen on osoittautunut lupaavaksi strategiaksi haimasyövässä. Kahdessa kliinisessä tutkimuksessa yhdistelmähoito solusalpaajan kanssa johti CCR2⁺ monosyyttien määrän vähenemiseen verenkierrossa ja kasvaimen makrofagipopulaation supistumiseen. Samalla havaittiin kasvaimen T-solulinfiltraation lisääntyvän ja immuunivastetta tukahduttavien tekijöiden, kuten TGF- β :n ja IL-10:n, vähenevän^{77,78}. Tutkimuksissa on myös osoitettu, että CCR2:n esto johtaa kompensatoriseen neutrofiili-infiltraatioon. Kompensaatio voidaan kuitenkin estää samanaikaisella CCR2- ja CXCR2-estolla, mikä vähentää myeloidisolujen määrää⁷⁹. Eläinkokeissa on huomattu, että CCL2:n neutralointi alentaa metastaasien määrää, mutta hoidon keskeyttäminen johtaa metastaasien määrän kasvuun ja eläinten elinajan lyhenemiseen. Tämä johtuu luuytimeen kertyneiden monosyyttien äkillisestä vapautumisesta ja niiden siirtymisestä keuhkoihin, missä ne lisäsivät angiogeneesiä ja syöpäsolujen lisääntymistä IL-6/VEGF-A-välitteisen mekanismin kautta⁸⁰. CCL2-CCR2-akselin esto ei ole toistaiseksi osoittanut riittäviä tuloksia, eikä siihen kohdistuvaa lääkettä ole tällä hetkellä kliinisissä tutkimuksissa.

Kemokiinireseptoripareihin CXCL12–CXCR4 ja CCL5–CCR5 kohdistetut estäjät ovat osoittautuneet lupaavammiksi. CXCR4:n estäjä motiksafortidi yhdistettynä PD-1 -estäjään ja kemoterapiaan on soittanut lupaavia tuloksia kliinisissä tutkimuksissa haimasyöpään. Motiksafortidi lisäsi CD8⁺ T-solujen infiltraatiota ja aktivaatiota kasvaimessa, vähensi myeloidiperäisiä suppressorisoluja (MDSC) ja kiertäviä Treg-soluja^{81,82}. CCR5-vasta-ainetta leronlimabia on tutkittu sekä prekliinisesti että kliinisesti kolmoisnegatiivisen rintasyövän (TNBC) ja paksusuolen syövän maksametastaasien yhteydessä. Kolorektaalisyövän maksametastaaseissa CCL5-kemokiinia tuottavat CD4⁺- ja CD8⁺-T-lymfosyytit, ja sen reseptori CCR5 ilmentyy sekä kasvainsoluissa, lymfosyyteissä että myeloidisoluissa. Kliinisessä tutkimuksessa CCR5:n estäminen johti objektiivisiin hoitovasteisiin paksusuolen syöpää sairastavilla potilailla^{83,84}. CCR5:n esto johtaa kasvainassosioituneiden makrofagien uudelleenpolaroitumiseen immunostimuloivaan suuntaan.

Haaskareseptori CD163 voi toimia paitsi passiivisena biomarkerina myös aktiivisena terapeuttisena kohteena, jonka tarkka kohdistaminen voi muokata immuunivastetta syövän torjumiseksi ilman tarvetta laajamittaiselle, ei-selektiiviselle makrofagien poistolle. CD163-positiivisten makrofagien kohdennettu eliminointi doksorubiinilla sisältävillä liposomeilla, jotka oli päällystetty CD163-vasta-aineella, johti M1-tyyppisten makrofagien suhteellisen osuuden kasvuun ja hidasti kasvaimen kasvua prekliinisissä syöpämalleissa. Lisäksi CD163⁺ TAMien selektiivinen poistaminen uudelleenohjasi kasvaimen mikroympäristön tulehdusta edistäväksi, lisäsi T-solujen ja CCR2-riippuvaisten monosyyttien kertymistä kasvaimeen ja johti merkittävään kasvaimen pienentymiseen myös PD-1-estolle resistentissä melanoomamallissa⁸⁵.

Myös TIE2-reseptorin ja sen ligandin angiopoietini-2:n (ANG2) välisen vuorovaikutuksen estäminen on osoittautunut lupaavaksi terapeuttiseksi kohteeksi. ANG2:n neutralointi spesifisellä monoklonaalisella vasta-aineella, johtaa useissa hiirimalleissa verisuoniston regressioon, lisääntyneeseen hypoksiaan ja kasvaimen nekroosiin. Tämä esti sekä primaarikasvainten kasvun että etäpesäkkeiden muodostumisen ilman havaittavaa resistenssin kehittymistä, myös kasvaimissa, jotka olivat aiemmin osoittautuneet vastaamattomiksi VEGF-estolle⁸⁶. Lisäksi kaksinkertainen esto, jossa ANG2:n ja VEGFA:n vaikutuksia estettiin samanaikaisesti bispesifisellä vasta-aineella, johti vahvempaan terapeuttiseen vasteeseen kuin kumpikaan yksittäinen esto. Hoito lisäsi verisuoniston normalisaatiota, CD8⁺ T-solujen kasvaimen sisäistä kertymistä sekä IFN γ -välitteistä immunoaktiivisuutta. Tämän seurauksena PD-L1:n ilmentyminen kasvaimen endoteelisoluissa lisääntyi, mikä puolestaan teki kasvaimen herkemmäksi immuunitarkistuspisteiden estolle⁸⁷.

4.3. Makrofagien uudelleenkoulutus

MARCO:n kohdentaminen monoklonalisilla vasta-aineilla on osoittautunut lupaavaksi strategiaksi TAMien uudelleenohjelmoimisessa. Mekanistisesti anti-MARCO-hoidon teho perustuu paitsi TAMien uudelleenohjelmointiin myös siihen, että vasta-aineiden Fc-osa sitoutuu selektiivisesti estävään FcγRIIb-reseptoriin. Tämä mahdollistaa MARCO:n ristikytkennän ja aktivoi makrofagien aineenvaihduntaa P2X7-reseptorin ja HIF-1-välitteisesti, mikä johtaa lisääntyneeseen glykolyysiin ja tulehdukselliseen vasteeseen^{88,89}. Anti-MARCO -vasta-aineet kykenevät muuttamaan TAM-populaatioita kohti tulehdusta edistävää M1-tyyppiä. Hoidon vaikutus kohdistuu selektiivisesti juuri TAM-soluihin, eikä sillä havaittu olevan vaikutusta muihin immuunisolupopulaatioihin, kuten makrofageihin, B- tai T-soluihin, NKT- tai NK-soluihin⁸⁹.

Eläinkokeissa anti-MARCO-vasta-aineet ovat pienentäneet merkittävästi primaarikasvaimia ja vähentäneet etäpesäkkeiden muodostumista, erityisesti rinta- ja paksusuolisyövässä sekä melanoomassa. Lisäksi anti-MARCO-hoito on tehostanut immuunijärjestelmän tarkistuspiistehoitojen, kuten anti-CTLA-4:n ja anti-PD-1:n, vaikutusta. Tämän synergian taustalla on MARCO:n kautta tapahtuva TAMien uudelleenpolarisaatio sekä NK-solujen aktivoituminen TRAILin (engl. TNF-related apoptosis-inducing ligand) välityksellä. MARCO:n esto ei pelkästään poista immunosuppressiota, vaan uudelleenaktivoi NK-solut, jotka kykenevät tappamaan kasvainsoluja. Tämä tekee MARCO:sta erityisen kiinnostavan kohteen ei-T-soluvetoisissa kasvaimissa tai immuunivasteeltaan kylmissä kasvaimissa⁸⁸. On huomattu myös, että MARCO-ilmentyminen potilailla, jotka saivat immuunitarkistuspiستهhoitoja kuten anti-PD1 ja anti-CTLA4, oli yhteydessä parempaan ennusteeseen erityisesti melanoomassa⁵⁰.

Eläinkokeissa TREM2-reseptorin esto, joko geenidelektiolla tai monoklonalisilla vasta-aineilla, on hillinnyt merkittävästi kasvaimen kasvua useissa syöpätyypeissä. Anti-TREM2-hoito vähentää TAM määrää ja muokkaa niiden toimintaa tulehdusta edistäväksi. Tämä TAMien uudellenkoulutus lisää T- ja NK-solujen aktiivisuutta ja herkistää kasvaimen ICI-hoidoille, erityisesti anti-PD-1-hoidolle^{61,90}. TREM2:n esto aktivoi kasvaimen sisäisiä CD8+ T-soluja ja lisää niiden IFN-γ:n ja TNF-α:n tuotantoa. Lisäksi MRC1- ja CX3CR1-positiiviset TAM-populaatiot vähenevät ja Nos2-positiiviset immunostimuloivat makrofagit lisääntyvät⁹⁰.

Erityisesti keuhkosyövän mallissa on osoitettu, että TREM2⁺ makrofagit estävät NK-solujen kertymistä ja tappokykyä IL-18BP:n avulla. TREM2:n esto vapautti NK-solujen toiminnan, jonka ylläpito oli IL-18 kanssa kostimulatorisesta IL-15-välitteisestä signaloinnista⁶². Tutkimuskissa on myös osoitettu, että yhdistelmähoidot, joissa TREM2-vasta-aineita annetaan yhdessä NK-soluja aktivoivan MIC-A -vasta-aineen (engl. human MHC class I polypeptide-related sequence A) tai anti-PD-1 -hoidon kanssa, ovat johtaneet parempiin hoitovasteisiin kasvaimissa, jotka muuten olisivat resistenttejä immuunihoidolle^{61,62}. TREM2:sta onkin tullut kiinnostava kohde erityisesti niissä kasvaimissa, joissa immuunivaste on heikko tai tarkistuspistehoidot yksinään eivät riitä.

Haaskareseptori Clever-1:n esto, joko geenidelektion tai monoklonaalisilla vasta-aineilla tapahtuvan eston kautta, on hidastanut merkittävästi primaarikasvainten kasvua ja vähentänyt etäpesäkkeiden muodostumista erityisesti melanooman, rinta-, keuhko- ja paksusuolisyövän malleissa^{91,92}. Clever-1 on tärkeä immuunisuppressiivisten TAMien reseptori, ja sen esto johtaa TAMien uudelleenohjelmointiin anti-M2-tyypistä kohti M1-tyyppiä⁹³. Clever-1:n eston seurauksena makrofagit lisäävät tulehdusta edistävien sytokiinien, kuten TNF- α :n ja IL-12:n, tuotantoa sekä tukevat tehokkaampaa antigeenien esittelyä T-soluille⁹¹.

Mekaanisesti Clever-1-eston teho perustuu makrofagien lysosomaalisen toiminnan häiriintymiseen, mikä johtaa vähentyneeseen antigeenien hajottamiseen ja parantaa MHC-I -välitteistä antigeeniesittelyä CD8⁺ T-soluille⁹². Humanisoitu anti-Clever-1 -vasta-aine, bexmarilimab, sitoutuu tarkasti Clever-1-reseptoriin ilman merkittävää sitoutumista Fc γ -reseptoreihin tai komplementtikomponentteihin, ja se kykenee turvallisesti estämään Clever-1:n toiminnan ilman laajamittaista sytokiinimyrskyä tai liiallista immuunivastetta⁹³.

Clever-1:n esto ei pelkästään uudelleenohjelmoi TAMeja vaan vaikuttaa myös laajemmin immuunivasteeseen, muun muassa lisäämällä CD8⁺ T-solujen sekä tulehdussytokiinien määrää⁹⁴. Clever-1:n esto lisäsi IL-1 β :n, IL-2:n, IL-12:ta ja TNF- α :n ja kemokiinien, kuten CCL3:n, CCL4:n ja CCL5:n pitoisuuksia. Clever-1:n esto yhdistettynä ICI-hoitoihin, kuten anti-PD-1-vasta-aineisiin, on johtanut synergistiseen kasvaimen kasvun estoon erityisesti immuunivasteeltaan kylmissä kasvaimissa, joissa tarkistuspiste-estäjät yksinään ovat tehottomia⁹¹.

Myös kliiniseen aineistoon perustuvassa tutkimukseen Clever-1-positiivisten makrofagien määrä on yhdistetty potilaan ennusteeseen. Rintasyöpäkohortissa havaittiin, että kasvaimen korkea määrä Clever-1-positiivisia makrofageja oli yhteydessä parempaan tautispesifiseen selviytymiseen, mikä

viittaa siihen, että Clever-1 voi paikallisesti osallistua kasvaimen mikroympäristön muokkaamiseen immunologisesti edulliseksi⁹⁵.

5. Yhteenveto ja johtopäätökset

Tämän kandidaatintutkielman tavoitteena oli tarkastella makrofagien, erityisesti kasvainassosioituneiden makrofagien (TAM), roolia syövän kehittämisessä ja etenemisessä sekä arvioida niiden mahdollisuuksia syövän immunoterapian kohteina. Työssä syvennettiin makrofagien biologisiin ominaisuuksiin, plastisuuteen ja polarisaatioon sekä niiden vuorovaikutuksiin kasvaimen mikroympäristössä. Erityistä huomiota kiinnitettiin TAMien vaikutuksiin angiogeneesissä, immuunivasteen väistämässä, invaasiossa ja metastaasien muodostumisessa sekä niiden metabolisiin muutoksiin. Tutkielman perusteella TAMit ovat keskeinen osa kasvaimen mikroympäristöä, ja niiden toiminta tukee kasvaimen kasvua monin eri tavoin. Samalla niiden muovautuva fenotyyppi tarjoaa mahdollisuuden terapeuttiseen manipulointiin.

TAMit ovat dynaamisia soluja, joiden fenotyyppiä kasvain kykenee muokkaamaan omaksi edukseen. Tämä plastisuus tekee niistä paitsi syövän etenemistä edistäviä tekijöitä myös potentiaalisia hoitokohteita. Viimeaikaiset tutkimukset ovat osoittaneet, että TAMien uudelleenohjelmointi voi palauttaa niiden kyvyn fagosytoida syöpäsoluja ja tukea T-soluvälitteistä immuunivastetta. Yksittäiset hoitomuodot, kuten TAMien määrän vähentäminen tai niiden fenotyypin muokkaaminen, ovat kuitenkin kohdanneet haasteita kasvainten kehittyessä vastustuskykyisiksi. Siksi yhdistelmähoitot, jotka yhdistävät TAM-manipulaation muihin immunoterapioihin, kuten tarkistuspiste-estäjiin, ovat osoittautuneet lupaavimmiksi lähestymistavoiksi^{96,97}.

Hoitojen kehityksessä TAMien heterogeenisuus ja eri alatyypien erilaiset roolit on kuitenkin otettava huomioon, jotta saavutetaan optimaalinen kliininen vaste. Erityisen huomionarvoista on, että tutkimus on viime vuosina korostanut kudosresidenttien makrofagien roolia voimakkaampina immunosuppressiivisina soluina verrattuna monosyyttiperäisiin TAMeihin. Nämä TAMit voivat edistää varhaisessa vaiheessa tapahtuvaa T-solujen uupumusta sekä kasvaimen etenemistä, mikä tekee niistä houkuttelevan mutta haasteellisen hoitokohteen⁹⁸. TAMien alkuperä vaikuttaa paitsi solujen fenotyyppiin myös immunoterapiavasteeseen, jonka takia hoidon kohdistus alkuperän mukaan voisi tulevaisuudessa tarjota parempia hoitokeinoja. Tämän lisäksi kasvaimen mikroympäristön solukoostumuksen heterogeenisyys vaikuttaa merkittävästi hoitovasteisiin. Jatkossa korkean resoluution menetelmien, kuten yksittäissolujen RNA-sekvensoinnin ja

massasytometriä, odotetaan mahdollistavan TAM-alatyypin tarkemman määrittelyn ja kohdennettummat hoitostrategiat^{4,57}.

Tulevaisuuden tutkimus- ja kehityssuunnat ovat moninaisia. Ensinnäkin tarvitaan luotettavia biomarkkereita TAMien alaryhmien tunnistamiseen ja niiden sijainnin määrittämiseen ennen hoitoa. Toiseksi hoitovasteiden seuranta tulisi tehostaa yhdistämällä korkean resoluution analyysimenetelmiä, esimerkiksi massasytometriä ja yksisoluanalyysit, joilla voidaan kuvata TAM-populaatioiden muutoksia hoitojen aikana. Lisäksi yhdistelmähoitojen suunnittelussa tulisi ottaa huomioon hoitojen kaksoisvaikutukset TAMeihin ja kehittää uusia TAM-spesifisiä kohteita, jotka mahdollistavat annostelun tarkentamisen ja sivuvaikutusten vähentämisen. TAMien alkuperän, monosyyttiperäisten ja kudosresidenttien makrofagien, vaikutuksia hoitovasteeseen tulisi selvittää tarkemmin⁹⁹. Lopuksi tutkimuksessa tulisi pyrkiä tunnistamaan näiden TAM-populaatioiden haavoittuvuuksia ja näiden ryhmien hoitoherkkyyteen liittyviä erityispiirteitä.

Aiheeni valintaan vaikutti syövän merkittävyys maailmanlaajuisena terveysuhkana sekä tarve löytää uusia, tehokkaampia hoitomuotoja erityisesti sellaisiin syöpätyyppeihin, joissa nykyiset hoitokeinot eivät tarjoa riittävää tehoa. Koska TAMit osallistuvat lähes kaikkiin kasvaimen kasvuun ja leviämistä sääteleviin mekanismeihin, niiden tutkiminen ja terapeuttinen hyödyntäminen tarjoavat lupaavan mahdollisuuden syövän hoidon tehostamiseen. Makrofagien uudelleenohjelmointi voi tulevaisuudessa muodostua yhdeksi syövän immunoterapian peruspilareista, erityisesti osana yhdistelmähoitoja, jotka pyrkivät aktiivisesti muokkaamaan kasvaimen mikroympäristöä.

6. Viitteet

1. Xiao Y, Yu D. Tumor microenvironment as a therapeutic target in cancer. *Pharmacol Ther.* 2020;221:107753. doi:10.1016/J.PHARMTHERA.2020.107753
2. Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell.* 2012;21(3):309-322. doi:10.1016/J.CCR.2012.02.022
3. Joyce JA, Fearon DT. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science.* 2015;348(6230):74-80. doi:10.1126/SCIENCE.AAA6204
4. Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat Med.* 2018;24(5):541. doi:10.1038/S41591-018-0014-X
5. Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nature Immunology* 2013 14:10. 2013;14(10):1014-1022. doi:10.1038/ni.2703
6. Kloosterman DJ, Akkari L. Macrophages at the interface of the co-evolving cancer ecosystem. *Cell.* 2023;186(8):1627-1651. doi:10.1016/j.cell.2023.02.020

7. Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov.* 2022;12(1):31-46. doi:10.1158/2159-8290.CD-21-1059
8. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017;14(7):399-416. doi:10.1038/NRCLINONC.2016.217
9. Wynn TA, Chawla A, Pollard JW. Origins and Hallmarks of Macrophages: Development, Homeostasis, and Disease. *Nature.* 2013;496(7446):445-455. doi:10.1038/nature12034
10. Geissmann F, Manz MG, Jung S, Sieweke MH, Merad M, Ley K. Development of monocytes, macrophages, and dendritic cells. *Science (1979).* 2010;327(5966):656-661. doi:10.1126/science.1178331
11. Mass E, Ballesteros I, Farlik M, et al. Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science (1979).* 2016;353(6304). doi:10.1126/science.aaf4238
12. Davies LC, Jenkins SJ, Allen JE, Taylor PR. Tissue-resident macrophages. *Nat Immunol.* 2013;14(10):986-995. doi:10.1038/ni.2705
13. Ahamada MM, Jia Y, Wu X. Macrophage Polarization and Plasticity in Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2021;12. doi:10.3389/fimmu.2021.734008
14. Viola MF, Boeckxstaens G. Niche-specific functional heterogeneity of intestinal resident macrophages. *Gut.* 2021;70(7):1383-1395. doi:10.1136/gutjnl-2020-323121
15. Stout RD, Suttles J. *Functional Plasticity of Macrophages: Reversible Adaptation to Changing Microenvironments.*
16. Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A. Macrophage polarization: Tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol.* 2002;23(11):549-555. doi:10.1016/S1471-4906(02)02302-5/ASSET/60D62C8F-C5B7-4A28-93E5-DDC2012B564C/MAIN.ASSETS/GR4.JPG
17. Huang SCC, Everts B, Ivanova Y, et al. Cell-intrinsic lysosomal lipolysis is essential for alternative activation of macrophages. *Nat Immunol.* 2014;15(9):846-855. doi:10.1038/ni.2956
18. Huang X, Li Y, Fu M, Xin HB. Activating THP1-derived macrophage in vitro. In: *Methods in Molecular Biology.* Vol 1784. Humana Press Inc.; 2018:119-126. doi:10.1007/978-1-4939-7837-3_12
19. Stein M, Keshav S, Harris N, Gordon S. Interleukin 4 potently enhances murine macrophage mannose receptor activity: a marker of alternative immunologic macrophage activation. *J Exp Med.* 1992;176(1):287-292. doi:10.1084/JEM.176.1.287
20. Xu ZJ, Gu Y, Wang CZ, et al. The M2 macrophage marker CD206: a novel prognostic indicator for acute myeloid leukemia. *Oncoimmunology.* 2020;9(1). doi:10.1080/2162402X.2019.1683347
21. Skytthe MK, Graversen JH, Moestrup SK. Targeting of CD163+ Macrophages in Inflammatory and Malignant Diseases. *Int J Mol Sci.* 2020;21(15):5497. doi:10.3390/IJMS21155497
22. Hu JM, Liu K, Liu JH, et al. CD163 as a marker of M2 macrophage, contribute to predict aggressiveness and prognosis of Kazakh esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget.* 2017;8(13):21526. doi:10.18632/ONCOTARGET.15630
23. Uribe-Querol E, Rosales C. Control of Phagocytosis by Microbial Pathogens. *Front Immunol.* 2017;8:1368. doi:10.3389/fimmu.2017.01368
24. Barron L, Wynn TA. Fibrosis is regulated by Th2 and Th17 responses and by dynamic interactions between fibroblasts and macrophages. *Am J Physiol Gastro-intest Liver Physiol.* 2011;300:723-728. doi:10.1152/ajpgi.00414.2010.-Dysregulated
25. Richardsen E, Uglehus RD, Johnsen SH, Busund LT. Macrophage-colony stimulating factor (CSF1) predicts breast cancer progression and mortality. *Anticancer Res.* 2015;35(2):865-874.

26. Lin EY, Gouon-Evans V, Nguyen A V., Pollard JW. The macrophage growth factor CSF-1 in mammary gland development and tumor progression. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2002;7(2):147-162. doi:10.1023/A:1020399802795/METRICS
27. Groblewska M, Mroczo B, Wereszczyńska-Sięmiątkowska U, Myśliwiec P, Kędra B, Szmitkowski M. Serum levels of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) and macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) in pancreatic cancer patients. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*. 2007;45(1). doi:10.1515/CCLM.2007.025
28. Ma RY, Zhang H, Li XF, et al. Monocyte-derived macrophages promote breast cancer bone metastasis outgrowth. *Journal of Experimental Medicine*. 2020;217(11). doi:10.1084/JEM.20191820,
29. Franklin RA, Liao W, Sarkar A, et al. The cellular and molecular origin of tumor-associated macrophages. *Science (1979)*. 2014;344(6186):921-925. doi:10.1126/science.1252510
30. Qian BZ, Pollard JW. Macrophage Diversity Enhances Tumor Progression and Metastasis. *Cell*. 2010;141(1):39. doi:10.1016/J.CELL.2010.03.014
31. Yang Z, Zhang M, Peng R, et al. The prognostic and clinicopathological value of tumor-associated macrophages in patients with colorectal cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Colorectal Dis*. 2020;35(9):1651-1661. doi:10.1007/s00384-020-03686-9
32. Chen YL. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in patients with nasopharyngeal carcinoma: A meta-analysis. *Medicine (United States)*. 2020;99(39):E21999. doi:10.1097/MD.00000000000021999
33. Zhao X, Qu J, Sun Y, et al. Prognostic significance of tumor-associated macrophages in breast cancer: A meta-analysis of the literature. *Oncotarget*. 2017;8(18):30576-30586. doi:10.18632/oncotarget.15736
34. Bisheshar SK, van der Kamp MF, de Ruiter EJ, et al. The prognostic role of tumor associated macrophages in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. *Oral Oncol*. 2022;135. doi:10.1016/j.oraloncology.2022.106227
35. Elliott MR, Cheken FB, Trampont PC, et al. Nucleotides released by apoptotic cells act as a find-me signal to promote phagocytic clearance. *Nature*. 2009;461(7261):282-286. doi:10.1038/nature08296
36. Efferocytosis Creates a Tumor Microenvironment Supportive of Tumor Survival and Metastasis. *Cancer Cell Microenviron*. Published online March 18, 2015. doi:10.14800/ccm.666
37. Yu L, Ding Y, Wan T, Deng T, Huang H, Liu J. Significance of CD47 and Its Association With Tumor Immune Microenvironment Heterogeneity in Ovarian Cancer. *Front Immunol*. 2021;12. doi:10.3389/fimmu.2021.768115
38. Hu T, Liu H, Liang Z, et al. Tumor-intrinsic CD47 signal regulates glycolysis and promotes colorectal cancer cell growth and metastasis. *Theranostics*. 2020;10(9):4056-4072. doi:10.7150/thno.40860
39. Barkal AA, Brewer RE, Markovic M, et al. CD24 signalling through macrophage Siglec-10 is a target for cancer immunotherapy. *Nature*. 2019;572(7769):392-396. doi:10.1038/S41586-019-1456-0
40. Gordon SR, Maute RL, Dulken BW, et al. PD-1 expression by tumour-associated macrophages inhibits phagocytosis and tumour immunity. *Nature*. 2017;545(7655):495-499. doi:10.1038/NATURE22396
41. Zhou Y, Fei M, Zhang G, et al. Blockade of the Phagocytic Receptor MerTK on Tumor-Associated Macrophages Enhances P2X7R-Dependent STING Activation by Tumor-Derived cGAMP. *Immunity*. 2020;52(2):357-373.e9. doi:10.1016/j.immuni.2020.01.014
42. Hernandez C, Huebener P, Schwabe RF. Damage-associated molecular patterns in cancer: A double-edged sword. *Oncogene*. 2016;35(46):5931-5941. doi:10.1038/onc.2016.104

43. Voronov E, Shouval DS, Krelin Y, et al. *IL-1 Is Required for Tumor Invasiveness and Angiogenesis*. <https://www.pnas.org>
44. Chen Z, Giotti B, Kaluzova M, et al. A paracrine circuit of IL-1 β /IL-1R1 between myeloid and tumor cells drives genotype-dependent glioblastoma progression. *Journal of Clinical Investigation*. 2023;133(22). doi:10.1172/JCI163802
45. Zhao C, Lu X, Bu X, Zhang N, Wang W. *Involvement of Tumor Necrosis Factor- α in the Upregulation of CXCR4 Expression in Gastric Cancer Induced by Helicobacter Pylori.*; 2010. <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/10/419>
46. Cui X, Zhang H, Cao A, Cao L, Hu X. Cytokine TNF- α promotes invasion and metastasis of gastric cancer by down-regulating Pentraxin3. *J Cancer*. 2020;11(7):1800-1807. doi:10.7150/jca.39562
47. Liu W, Lu X, Shi P, et al. TNF- α increases breast cancer stem-like cells through up-regulating TAZ expression via the non-canonical NF- κ B pathway. *Sci Rep*. 2020;10(1):1804. doi:10.1038/s41598-020-58642-y
48. Dixit A, Sarver A, Zettervall J, et al. Targeting TNF- α -producing macrophages activates antitumor immunity in pancreatic cancer via IL-33 signaling. *JCI Insight*. 2022;7(22). doi:10.1172/jci.insight.153242
49. Modak M, Mattes AK, Reiss D, et al. CD206+ tumor-associated macrophages cross-present tumor antigen and drive antitumor immunity. *JCI Insight*. 2022;7(11). doi:10.1172/jci.insight.155022
50. Dong Q, Zhang S, Zhang H, et al. MARCO is a potential prognostic and immunotherapy biomarker. *Int Immunopharmacol*. 2023;116. doi:10.1016/J.INTIMP.2023.109783
51. Wang M, Zhao X, Zhu D, et al. HIF-1 α promoted vasculogenic mimicry formation in hepatocellular carcinoma through LOXL2 up-regulation in hypoxic tumor microenvironment. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*. 2017;36(1). doi:10.1186/S13046-017-0533-1,
52. Erbani J, Boon M, Akkari L. Therapy-induced shaping of the glioblastoma microenvironment: Macrophages at play. *Semin Cancer Biol*. 2022;86:41-56. doi:10.1016/j.semcancer.2022.05.003
53. Little AC, Pathanjeli P, Wu Z, et al. IL-4/IL-13 stimulated macrophages enhance breast cancer invasion via rho-GTPase regulation of synergistic VEGF/CCL-18 signaling. *Front Oncol*. 2019;9(MAY):446379. doi:10.3389/FONC.2019.00456/BIBTEX
54. De Palma M, Murdoch C, Venneri MA, Naldini L, Lewis CE. Tie2-expressing monocytes: regulation of tumor angiogenesis and therapeutic implications. *Trends Immunol*. 2007;28(12):519-524. doi:10.1016/J.IT.2007.09.004
55. Lewis CE, De Palma M, Naldini L. Tie2-expressing monocytes and tumor angiogenesis: Regulation by hypoxia and angiopoietin-2. *Cancer Res*. 2007;67(18):8429-8432. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1684
56. Coffelt SB, Chen YY, Muthana M, et al. Angiopoietin 2 stimulates TIE2-expressing monocytes to suppress T cell activation and to promote regulatory T cell expansion. *J Immunol*. 2011;186(7):4183-4190. doi:10.4049/JIMMUNOL.1002802
57. Li S, Yu J, Huber A, et al. Metabolism drives macrophage heterogeneity in the tumor microenvironment. *Cell Rep*. 2022;39(1). doi:10.1016/J.CELREP.2022.110609
58. Geeraerts X, Fernández-García J, Hartmann FJ, et al. Macrophages are metabolically heterogeneous within the tumor microenvironment. *Cell Rep*. 2021;37(13). doi:10.1016/j.celrep.2021.110171
59. Brand A, Singer K, Koehl GE, et al. LDHA-Associated Lactic Acid Production Blunts Tumor Immunosurveillance by T and NK Cells. *Cell Metab*. 2016;24(5):657-671. doi:10.1016/j.cmet.2016.08.011

60. Seo WI, Lee CH, Jung SJ, et al. Expression of VISTA on tumor-infiltrating immune cells correlated with short intravesical recurrence in non-muscle-invasive bladder cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2021;70(11):3113-3122. doi:10.1007/s00262-021-02906-7
61. Binnewies M, Pollack JL, Rudolph J, et al. Targeting TREM2 on tumor-associated macrophages enhances immunotherapy. *Cell Rep*. 2021;37(3):109844. doi:10.1016/J.CELREP.2021.109844/ATTACHMENT/787C78D4-960B-49D5-BC1E-90D7D5E33CEE/MMC5.PDF
62. Park MD, Reyes-Torres I, LeBerichel J, et al. TREM2 macrophages drive NK cell paucity and dysfunction in lung cancer. *Nat Immunol*. 2023;24(5):792-801. doi:10.1038/S41590-023-01475-4
63. Katzenelenbogen Y, Sheban F, Yalin A, et al. Coupled scRNA-Seq and Intracellular Protein Activity Reveal an Immunosuppressive Role of TREM2 in Cancer. *Cell*. 2020;182(4):872-885.e19. doi:10.1016/J.CELL.2020.06.032/ATTACHMENT/610BD5E8-90CC-4966-B5E1-A5E0734B0D33/MMC7.XLSX
64. Lin H, Wei S, Hurt EM, et al. Host expression of PD-L1 determines efficacy of PD-L1 pathway blockade-mediated tumor regression. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(2):805-815. doi:10.1172/JCI96113
65. Qorraj M, Bruns H, Böttcher M, et al. The PD-1/PD-L1 axis contributes to immune metabolic dysfunctions of monocytes in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2017;31(2):470-478. doi:10.1038/LEU.2016.214
66. Strauss L, Mahmoud MAA, Weaver JD, et al. Targeted deletion of PD-1 in myeloid cells induces antitumor immunity. *Sci Immunol*. 2020;5(43). doi:10.1126/SCIIMMUNOL.AAY1863
67. Sikic BI, Lakhani N, Patnaik A, et al. First-in-Human, First-in-Class Phase I Trial of the Anti-CD47 Antibody Hu5F9-G4 in Patients With Advanced Cancers. *J Clin Oncol*. 2019;37(12):946-953. doi:10.1200/JCO.18.02018
68. Piccione EC, Juarez S, Liu J, et al. A bispecific antibody targeting CD47 and CD20 selectively binds and eliminates dual antigen expressing lymphoma cells. *MAbs*. 2015;7(5):946-956. doi:10.1080/19420862.2015.1062192
69. Dheilly E, Moine V, Broyer L, et al. Selective Blockade of the Ubiquitous Checkpoint Receptor CD47 Is Enabled by Dual-Targeting Bispecific Antibodies. *Molecular Therapy*. 2017;25(2):523-533. doi:10.1016/J.YMTHE.2016.11.006/ATTACHMENT/0A63A204-F286-426A-A95C-BD20BE30C172/MMC2.PDF
70. Wang R, Zhang C, Cao Y, et al. Blockade of dual immune checkpoint inhibitory signals with a CD47/PD-L1 bispecific antibody for cancer treatment. *Theranostics*. 2023;13(1):148-160. doi:10.7150/thno.79367
71. Chen SH, Dominik PK, Stanfield J, et al. Dual checkpoint blockade of CD47 and PD-L1 using an affinity-tuned bispecific antibody maximizes antitumor immunity. *J Immunother Cancer*. 2021;9(10). doi:10.1136/jitc-2021-003464
72. Gomez-Roca C, Cassier P, Zamarin D, et al. Anti-CSF-1R emactuzumab in combination with anti-PD-L1 atezolizumab in advanced solid tumor patients naïve or experienced for immune checkpoint blockade. *J Immunother Cancer*. 2022;10(5):e004076. doi:10.1136/JITC-2021-004076
73. Rietkötter E, Bleckmann A, Bayerlová M, et al. Anti-CSF-1 treatment is effective to prevent carcinoma invasion induced by monocyte-derived cells but scarcely by microglia. *Oncotarget*. 2015;6(17):15482. doi:10.18632/ONCOTARGET.3855
74. Kumar V, Donthireddy L, Marvel D, et al. Cancer-Associated Fibroblasts Neutralize the Anti-tumor Effect of CSF1 Receptor Blockade by Inducing PMN-MDSC Infiltration of Tumors. *Cancer Cell*. 2017;32(5):654-668.e5. doi:10.1016/J.CCELL.2017.10.005

75. Hollmén M, Karaman S, Schwager S, et al. G-CSF regulates macrophage phenotype and associates with poor overall survival in human triple-negative breast cancer. *Oncoimmunology*. 2015;5(3). doi:10.1080/2162402X.2015.1115177
76. Klemm F, Möckl A, Salamero-Boix A, et al. Compensatory CSF2-driven macrophage activation promotes adaptive resistance to CSF1R inhibition in breast-to-brain metastasis. *Nat Cancer*. 2021;2(10):1086-1101. doi:10.1038/S43018-021-00254-0
77. Nywening TM, Wang-Gillam A, Sanford DE, et al. Targeting tumour-associated macrophages with CCR2 inhibition in combination with FOLFIRINOX in patients with borderline resectable and locally advanced pancreatic cancer: a single-centre, open-label, dose-finding, non-randomised, phase 1b trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(5):651-662. doi:10.1016/S1470-2045(16)00078-4
78. Noel M, O'Reilly EM, Wolpin BM, et al. Phase 1b study of a small molecule antagonist of human chemokine (C-C motif) receptor 2 (PF-04136309) in combination with nab-paclitaxel/gemcitabine in first-line treatment of metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma. *Invest New Drugs*. 2020;38(3):800-811. doi:10.1007/S10637-019-00830-3
79. Nywening TM, Belt BA, Cullinan DR, et al. Targeting both tumour-associated CXCR2+ neutrophils and CCR2+ macrophages disrupts myeloid recruitment and improves chemotherapeutic responses in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gut*. 2018;67(6):1112-1123. doi:10.1136/GUTJNL-2017-313738
80. Bonapace L, Coissieux MM, Wyckoff J, et al. Cessation of CCL2 inhibition accelerates breast cancer metastasis by promoting angiogenesis. *Nature*. 2014;515(7525):130-133. doi:10.1038/NATURE13862
81. Bockorny B, Macarulla T, Semenisty V, et al. Motixafortide and pembrolizumab combined to nanoliposomal irinotecan, fluorouracil, and folinic acid in metastatic pancreatic cancer: The COMBAT/ KEYNOTE-202 trial. *Clinical Cancer Research*. 2021;27(18):5020-5027. doi:10.1158/1078-0432.CCR-21-0929/673900/AM/MOTIXAFORTIDE-AND-PEMBROLIZUMAB-COMBINED-TO
82. Bockorny B, Semenisty V, Macarulla T, et al. BL-8040, a CXCR4 antagonist, in combination with pembrolizumab and chemotherapy for pancreatic cancer: the COMBAT trial. *Nature Medicine* 2020 26:6. 2020;26(6):878-885. doi:10.1038/s41591-020-0880-x
83. Halama N, Zoernig I, Berthel A, et al. Tumoral Immune Cell Exploitation in Colorectal Cancer Metastases Can Be Targeted Effectively by Anti-CCR5 Therapy in Cancer Patients. *Cancer Cell*. 2016;29(4):587-601. doi:10.1016/J.CCELL.2016.03.005
84. Jiao X, Wang M, Zhang Z, et al. Leronlimab, a humanized monoclonal antibody to CCR5, blocks breast cancer cellular metastasis and enhances cell death induced by DNA damaging chemotherapy. *Breast Cancer Res*. 2021;23(1). doi:10.1186/S13058-021-01391-1
85. Etzerodt A, Tsalkitzi K, Maniecki M, et al. Specific targeting of CD163+ TAMs mobilizes inflammatory monocytes and promotes T cell-mediated tumor regression. *J Exp Med*. 2019;216(10):2394-2411. doi:10.1084/JEM.20182124
86. Mazzieri R, Pucci F, Moi D, et al. Targeting the ANG2/TIE2 axis inhibits tumor growth and metastasis by impairing angiogenesis and disabling rebounds of proangiogenic myeloid cells. *Cancer Cell*. 2011;19(4):512-526. doi:10.1016/J.CCR.2011.02.005
87. Schmittnaegel M, Rigamonti N, Kadioglu E, et al. Dual angiopoietin-2 and VEGFA inhibition elicits antitumor immunity that is enhanced by PD-1 checkpoint blockade. *Sci Transl Med*. 2017;9(385). doi:10.1126/SCITRANSLMED.AAK9670
88. Eisinger S, Sarhan D, Boura VF, et al. Targeting a scavenger receptor on tumor-associated macrophages activates tumor cell killing by natural killer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020;117(50):32005-32016. doi:10.1073/PNAS.2015343117/-/DCSUPPLEMENTAL

89. Georgoudaki AM, Prokopec KE, Boura VF, et al. Reprogramming Tumor-Associated Macrophages by Antibody Targeting Inhibits Cancer Progression and Metastasis. *Cell Rep.* 2016;15(9):2000-2011. doi:10.1016/j.celrep.2016.04.084
90. Molgora M, Esaulova E, Vermi W, et al. TREM2 Modulation Remodels the Tumor Myeloid Landscape, Enhancing Anti-PD-1 Immunotherapy. *Cell.* 2020;182(4):886. doi:10.1016/J.CELL.2020.07.013
91. Viitala M, Virtakoivu R, Tadayon S, Rannikko J, Jalkanen S, Hollmen M. Immunotherapeutic Blockade of Macrophage Clever-1 Reactivates the CD8+ T-cell Response against Immunosuppressive Tumors. *Clin Cancer Res.* 2019;25(11):3289-3303. doi:10.1158/1078-0432.CCR-18-3016
92. Hollmén M, Figueiredo CR, Jalkanen S. New tools to prevent cancer growth and spread: a 'Clever' approach. *Br J Cancer.* 2020;123(4):501. doi:10.1038/S41416-020-0953-0
93. Hollmén M, Maksimow M, Rannikko JH, et al. Nonclinical Characterization of Bexmarilimab, a Clever-1-Targeting Antibody for Supporting Immune Defense Against Cancers. *Mol Cancer Ther.* 2022;21(7):1207. doi:10.1158/1535-7163.MCT-21-0840
94. Virtakoivu R, Rannikko JH, Viitala M, et al. Systemic Blockade of Clever-1 Elicits Lymphocyte Activation Alongside Checkpoint Molecule Downregulation in Patients with Solid Tumors: Results from a Phase I/II Clinical Trial. *Clin Cancer Res.* 2021;27(15):4205-4220. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-4862
95. Mutka M, Virtakoivu R, Joensuu K, Hollmén M, Heikkilä P. Clever-1 positive macrophages in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2022;195(3):237. doi:10.1007/S10549-022-06683-4
96. DeNardo DG, Ruffell B. Macrophages as regulators of tumour immunity and immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2019;19(6):369-382. doi:10.1038/S41577-019-0127-6;SUBJMETA=1059,2325,250,2504,342,580,631,67;KWRD=CANCER+IMMUNOTHERAPY,MONOCYTES+AND+MACROPHAGES,TUMOUR+IMMUNOLOGY
97. Chamseddine AN, Assi T, Mir O, Chouaib S. Modulating tumor-associated macrophages to enhance the efficacy of immune checkpoint inhibitors: A TAM-pting approach. *Pharmacol Ther.* 2022;231. doi:10.1016/j.pharmthera.2021.107986
98. Zhu Y, Herndon JM, Sojka DK, et al. Tissue-Resident Macrophages in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Originate from Embryonic Hematopoiesis and Promote Tumor Progression. *Immunity.* 2017;47(2):323-338.e6. doi:10.1016/j.immuni.2017.07.014
99. Lahmar Q, Keirsse J, Laoui D, Movahedi K, Van Overmeire E, Van Ginderachter JA. Tissue-resident versus monocyte-derived macrophages in the tumor microenvironment. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer.* 2016;1865(1):23-34. doi:10.1016/J.BBCAN.2015.06.009