

# Personalized treatment of colorectal cancer. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes in patients with colorectal cancer



**S. Draganova,  
A. Kontilev**

Acibadem City Clinic  
Tokuda Hospital

Medical Oncology  
department, Sofia,  
Bulgaria

Personalized medicine is one of the fastest growing areas in recent years. With the development of molecular biology and genetics, the signaling pathways that are the engine of all biochemical processes in the cell and drive the disease process are becoming clearer. In recent years, it has become clear that the immune system and the immune response are important for the onset and development of cancer. Many analyzes show that the evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes has prognostic and predictive value in many types of neoplasms.

**keywords:**

colorectal cancer, tumor-infiltrating lymphocytes, TILs, overall survival

## ПЕРСОНАЛИЗИРАНО ЛЕЧЕНИЕ НА РАКА НА ДЕБЕЛОТО ЧЕРВО

Прогностична стойност на тумор-инфилтриращи лимфоцити при пациенти с колоректален карцином



**С. Драганова,  
А. Контилев**

„Аджибадем Сити  
Клиник МБАЛ Токуда“ –  
Отделение по меди-  
цинска онкология,  
гр. София

Персонализираната медицина е едно от най-бързо развиващите се направления в последните години. С развитието на молекулярната биология и генетика се изясняват все повече сигналните пътища, които са двигател на всички биохимични процеси в клетката и задвижват болестния процес. В последните години стана ясно, че имунната система и имунният отговор имат важно значение за възникването и развитието на раковите заболявания. Много анализи показват, че оценката на тумор-инфилтриращи лимфоцити имат прогностична и предиктивна стойност при много видове неоплазми.

**К**олоректалният карцином е един от най-често срещаните видове рак в световен мащаб както за мъже, така и за жени, с 5-годишна преживяемост приблизително 50% в зависимост от туморния стадий. Въпреки че напредъкът в скрининга и лечението значително е подобрил преживяемостта от колоректален карцином (КРК), клиничните резултати варират в широки

границы при пациенти с тумори, диагностицирани в един и същи стадий, като рецидив на заболяването се наблюдава при 20-30% от пациентите с карцином в начален стадий<sup>[1]</sup>. Към настоящия момент прогнозата на пациентите се определя от класификацията на UICC-TNM системата. 5-годишната преживяемост за пациенти с колоректален карцином варира от почти 100% за пациенти,

диагностицирани в първи стадий на заболяването, до по-малко от 5% при пациенти в IV стадий<sup>[2]</sup>.

Важна роля играят и мутациите в онкогените и тумор-супресорните гени като TP53, KRAS, BRAF, APC и B-Catenin, които допринасят за канцерогенеза. KRAS и NRAS мутационен статус е предиктивен за ефективността на антити-EGFR-ан-

**Ключови думи:**

колоректален карцином, тумор-инфилтриращи лимфоцити, TILs, обща преживяемост

титела с клинична полза, ограничена до пациенти с немутирани (wild type) KRAS- или NRAS-гени. Повече от една трета от КРК имат мутации в KRAS екзон 2, а в още 15% от туморите са намерени мутации в KRAS екзони 3 и 4 и NRAS екзони 2, 3 и 4, предиктивни за резистентност към терапия с анти-EGFR антитела. Новите технологии за молекулярно характеризирани на КРК доведоха до бързо развитие на персонализираната терапия, пример за която е Цетуксимаб моноклонално IgG1 антитяло, насочено специфично срещу рецептора на епидермалния растежен фактор (EGFR). Клиничното изпитване FIRE3 е многоцентрово, рандомизирано фаза III изпитване, изследващо с директно сравнение 5FU, Фолинова киселина и Иринотекан (FOLFIRI) в комбинация или с Цетуксимаб, или с Бевацизумаб при пациенти с метастатичен колоректален карцином с wild type KRAS екзон 2. RAS статусът е бил оценен в туморни проби от 407 пациенти, от които 342 са имали тумори с wild type RAS<sup>[3]</sup>. Пациентите, които са получили Цетуксимаб заедно с ФОЛФИРИ са показали значително по-дълга обща преживяемост сравнени с тези получили Бевацизумаб към същата комбинация от химиотерапия. Свободната от прогресия преживяемост е била подобна и в двете рамена, но при пациенти с PFS>6 месеца, PFS (по време на лечението) и OS са били по-високи в рамките с Цетуксимаб<sup>[4]</sup>.

Мутации могат да възникнат и в системата за възстановяване на несъответствието на ДНК в туморните клетки, което може да доведе до микросателитна нестабилност (MSI). При колоректалния карцином 15% до 20% от туморите са с микросателитна нестабилност

и 80% до 85% са с микросателитна стабилност (MSS), до голяма степен припокриваща се с хромозомна нестабилност<sup>[5,6]</sup>.

Освен TNM класификацията има и други фактори, които играят роля при определянето на прогнозата на тези пациенти. Например KRAS мутациите и TP53 мутациите са свързани с относително лоша прогноза<sup>[7,8]</sup>. Ниска експресия на p21 и на циклин D1, както и високата експресия на p53 са свързани с по-висок риск от развитие на рецидив на заболяването<sup>[9]</sup>. Обратно, тумори с микросателитна нестабилност (MSI) имат относително добра прогноза<sup>[10]</sup>. TNM класификацията, генетични фактори и микросателитен статус на тумора са важни гетерогенности на прогнозата за пациенти с колоректален карцином. През последните години стана по-ясно, че микросредата на тумора също е от значение за прогнозата за тези пациенти<sup>[11]</sup>. Доказано е, че наличието на тумор-инфилтриращи лимфоцити (TIL) играе важна роля за определяне на преживяемостта на пациенти с колоректален рак<sup>[12]</sup>.

Имунният отговор е пряко замесен в поведението на тумора, тъй като влияе на всичките му фази на развитие и растеж. Тумор-инфилтриращите лимфоцити (TILs) в хистопатологичния анализ на КРК често се определят като фактор предпазващ от развитието на самия тумор<sup>[13]</sup>. TILs посредничат при привличането, узряването и активирането на имунните клетки, които потискат туморния растеж. Туморната инфилтрация от Т-лимфоцити е високо информативен прогностичен фактор за преживяемостта от КРК и е независим от традиционните прогностични показатели<sup>[14]</sup>. Много-

бройни проучвания демонстрират, че видът, плътността и мястото на тумор-инфилтриращите лимфоцити в първичните тумори са прогностични фактори за преживяемост без заболяване (DFS) и обща преживяемост (OS) при КРК и намекиват за основна функция на имунната система в туморната микросреда<sup>[15]</sup>. При солидни тумори туморната микросреда включва извънклетъчна стромална среда и различни клетъчни компоненти като стромални, ендотелни и имунни клетки. Някои тумори са силно инфилтрирани от имунни клетки, докато при други се откриват само фини инфилтрации. Плътността, местоположението и организирането на тези имунни клетки във и около тумора при диагнозата са фактори, които са свързани със степента на имуен отговор. Предполага се че увеличеният брой на имунни клетки е свързан с по-благоприятен клиничен резултат<sup>[16]</sup>.

В повечето проучвания TILs се оценява като непрекъснат параметър на единичен туморен участък, оцветен с хематоксилин и еозин. Дефинират се два типа инфилтриращи лимфоцити – интра-туморни и стромални. Интра-туморните TILs са като интраепителни мононуклеарни клетки в гнездата на туморните клетки или в директен контакт с туморната клетка, а стромалният TILs – като лимфоцити в туморната строма без директен контакт с туморните клетки<sup>[17]</sup>.

През 2020 г. *Gregory E. Idos* и съавтори изготвят мета-анализ, включващ 43 клинични проучвания, публикувани от 1997 до 2017 г., с 21 015 пациенти с хистологично верифициран колоректален карцином, при който е определена степента на TILs и връзката ѝ с изхода от заболява-

нето. Включени са проучвания, при които прогностичното значение на интралимфатичните TILs, както подтиповете: CD3, CD8, FOXP3, CD45RO лимфоцити, са определени в рамките на солидният туморен център, инвазивната граница и туморната строма. Резултатите показват, че високите нива на TILs в сравнение с ниските нива са имали подобрена обща преживяемост (OS) с HR от 0,65 ( $p < 0.01$ ). В допълнение, хистологично локализираните CD3+ T-клетки в туморния център са свързани с по-добра преживяемост без заболяване (DFS) (HR=0.46, 95%CI 0.38–0.61,  $p=0.05$ ) и CD3+ клетки се свързват с подобрена преживяемост без заболяване (HR=0.57, 95%CI 0.38–0.86,  $p=0.05$ ). CD8+ T-клетките в туморния център имат статистически значима прогностична стойност за преживяемост без заболяване и обща преживяемост с HRs съответно 0.65 ( $p=0.02$ ) и 0.71 ( $p < 0.01$ ). И накрая, FOXP3+ T-клетките в туморния център са свързани с подобрена прогноза за преживяемост без заболяване (HR=0.65,  $p < 0.01$ ) и обща преживяемост (HR=0.70,  $p < 0.01$ ). Тези находки предполагат, че TILs и специфичните TIL служат като прогностични биомаркери за колоректален карцином<sup>[18]</sup>.

Многото проведени проучвания и установените статистически резултати дават увереност, че тумор-инфилтриращите лимфоцити могат да се използват като прогностичен маркер за преживяемостта при колоректален карцином. Необходимо са допълнителни анализи за определяне на стандартизирана рамка за определяне групите на разпределение на TILs и тяхната връзка с изхода на заболяването. ■

#### книгопис:

1. Benson AB, Venook AP, Al-Hawary MM, et al. NCCN Guidelines Insights: Colon Cancer, Version 2.2018. *J Natl Compr Cancer Netw*. Published online 2018. doi:10.6004/jnccn.2018.0021.
2. Sameer AS. Colorectal cancer: Molecular mutations and polymorphisms. *Front Oncol*. Published online 2013. doi:10.3389/fonc.2013.00114.
3. Arabadjiev J. Diagnosis, treatment and follow-up of metastatic colorectal cancer – new data from meta-analyses of cetuximab clinical trials. Published online 2020. doi:10.6084/m9.figshare.12894476.v1.
4. Stintzing S, Fischer von Weikersthal L, Decker T, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer-subgroup analysis of patients with KRAS: Mutated tumours in the randomised German AIO study KRK-0306. *Ann Oncol*. Published online 2012. doi:10.1093/annonc/mdr571.
5. De La Chapelle A, Hampel H. Clinical relevance of microsatellite instability in colorectal cancer. *J Clin Oncol*. Published online 2010. doi:10.1200/JCO.2009.27.0652.
6. Merok MA, Ahlquist T, Røyrvik EC, et al. Microsatellite instability has a positive prognostic impact on stage II colorectal cancer after complete resection: Results from a large, consecutive norwegian series. *Ann Oncol*. Published online 2013. doi:10.1093/annonc/mds614.
7. Conlin A, Smith G, Carey FA, Wolf CR, Steele RJC. The prognostic significance of K-ras, p53, and APC mutations in colorectal carcinoma. *Gut*. Published online 2005. doi:10.1136/gut.2005.066514.
8. Børresen-Dale AL, Lothe RA, Meling GI, Hainaut P, Rognum TO, Skovlund E. TP53 and long-term prognosis in colorectal cancer: Mutations in the L3 zinc-binding domain predict poor survival. *Clin Cancer Res*. Published online 1998.
9. Belt EJ, Brosens RPM, Delis-Van Diemen PM, et al. Cell cycle proteins predict recurrence in stage II and III colon cancer. *Ann Surg Oncol*. Published online 2012. doi:10.1245/s10434-012-2216-7.
10. Guastadisegni C, Colafranceschi M, Ottini L, Dogliotti E. Microsatellite instability as a marker of prognosis and response to therapy: A meta-analysis of colorectal cancer survival data. *Eur J Cancer*. Published online 2010. doi:10.1016/j.ejca.2010.05.009.
11. Fridman WH, Galon J, Dieu-Nosjean MC, et al. Immune infiltration in human cancer: Prognostic significance and disease control. *Curr Top Microbiol Immunol*. Published online 2010. doi:10.1007/82-2010-46.
12. De La Cruz-Merino L, Henaó Carrasco F, Vicente Baz D, et al. Immune microenvironment in colorectal cancer: A new hallmark to change old paradigms. *Clin Dev Immunol*. Published online 2011. doi:10.1155/2011/174149.
13. Banerjee A, Ahmed S, Hands RE, et al. Colorectal cancers with microsatellite instability display mRNA expression signatures characteristic of increased immunogenicity. *Mol Cancer*. Published online 2004. doi:10.1186/1476-4598-3-21.
14. Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* (80- ). Published online 2006. doi:10.1126/science.1129139.
15. Galon J, Angell HK, Bedognetti D, Marincola FM. The Continuum of Cancer Immunosurveillance: Prognostic, Predictive, and Mechanistic Signatures. *Immunity*. Published online 2013. doi:10.1016/j.immuni.2013.07.008.
16. Arabadjiev J. Tumor-infiltrating lymphocytes – their importance for the course and effect of breast cancer treatment. Literature review. Published online 2020. doi:10.6084/m9.figshare.12849866.v1.
17. Arabadjiev J, Draganova S, Dakova P, Dimitrova-Gospodinova E. Prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes in breast cancer. *Med Mag*. 2020;(78):83–89. doi:10.6084/m9.figshare.12849905.v1.
18. Idos GE, Kwok J, Bonihala N, Kysh L, Gruber SB, Qu C. The Prognostic Implications of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. Published online 2020. doi:10.1038/s41598-020-60255-4.