

Riassunto

Il sistema adenosinergico gioca un ruolo fondamentale nello sviluppo e nella progressione del cancro, così come nella resistenza ai farmaci per chemioterapia e / o terapia mirata.

L'obiettivo di questa tesi di dottorato è stato quello di indagare e caratterizzare pienamente il ruolo dell'asse dei recettori CD73 / adenosina A2A-A2B nel cancro, evidenziando il potenziale terapeutico degli inibitori della via adenosinergica.

In primo luogo, abbiamo caratterizzato il / i meccanismo / i con cui l'A2BR promuove l'immunosoppressione e l'angiogenesi in topi C57Bl6 con tumore, concentrandosi sul ruolo delle mieloid-derived suppressor cells (MDSCs) e dei fibroblasti associati al cancro (CAFs). I risultati hanno rivelato che il trattamento di topi con melanoma con il Bay60-6583, un agonista selettivo A2BR, è associato a 1. aumento dell'espressione del VEGF-A tumorale e della densità vascolare e 2. aumento dell'accumulo di cellule CD11b + Gr1 + infiltranti il tumore (MDSCs). Le MDSC contribuiscono fortemente agli effetti immunosoppressivi e angiogenici di Bay60-6583. Topi con melanoma trattati con un antagonista selettivo di A2BR, PSB1115, hanno mostrato una ridotta crescita del tumore rispetto ai controlli e questo effetto è stato associato ad angiogenesi tumorale ridotta, bassi livelli di MDSC e aumento del numero di cellule T CD8 + infiltranti il tumore. Inoltre, il blocco di A2BR ha aumentato gli effetti antitumorali degli inibitori del VEGF-A. Successivamente, abbiamo verificato che l'attivazione di A2BR stimola l'attivazione dei fibroblasti all'interno dei tessuti del melanoma, aumentando il numero di cellule FAP positive nelle lesioni tumorali. FAP è un marcatore comune di fibroblasti attivati anche denominati fibroblasti associati al tumore. Queste cellule producono e secernono vari fattori promotori del tumore, tra cui il fattore di crescita dei fibroblasti (FGF) -2 e CXCL12 o il fattore 1 α derivato dallo stroma (SDF1 α), che sono aumentati sia nel tessuto del melanoma che nei fibroblasti isolati dal tessuto del melanoma o dalla cute trattati con Bay60-6583. La produzione di FGF-2 dai fibroblasti dopo stimolazione con Bay60-6583 ha contribuito alla proliferazione delle cellule di melanoma. Il pathway CXCL12 / CXCR4, invece, è stato coinvolto negli effetti pro-angiogenici dell'agonista A2BR, ma non nei suoi effetti immunosoppressivi. Questi effetti sono stati significativamente bloccati dagli antagonisti A2BR PSB1115. Insieme, questi dati, chiariscono il ruolo cruciale di A2BR nello stabilire un cross-talk positivo tra cellule immunitarie infiltranti il tumore, fibroblasti e cellule endoteliali che sostengono la crescita del tumore, rafforzando il potenziale terapeutico dei bloccanti A2BR per la terapia anti-tumorale.

Abbiamo poi studiato il meccanismo immunosoppressivo mediato da A2AR che si verifica attraverso la via di segnalazione di Notch nelle cellule T CD8 +. La stimolazione di A2AR con

CGS-21680 determina una ridotta espressione di Notch1 nelle cellule CD8 + T (stimolate con un anticorpo monoclonale anti- CD3 / CD28) a livello di proteina ma non a livello trascrizionale. Gli effetti inibitori del CGS-21680 sulle funzioni effettrici delle cellule T CD8 + sono stati migliorati in presenza dell'inibitore Notch1, PF-03084014. Risultati simili sono stati ottenuti anche in cellule T CD8 + trattate con forskolina, un attivatore dell' adenilato ciclasi, che imita gli effetti del CGS-21680. L'agonista A2AR non ha influenzato l'espressione di Notch1 in cellule T CD8 + dopo l'attivazione di TCR, suggerendo che la stimolazione di A2AR influenza l'espressione di Notch indotta da TCR. Questi risultati sono stati confermati usando cellule T CD8 + transgeniche da topi N11C (cellule N11C CD8 + T) che erano meno sensibili agli effetti inibitori del CGS-21680. Le cellule T CD8 + A2AKO erano invece sensibili agli effetti inibitori dell'inibitore Notch PF-03084014. Nel complesso, i nostri risultati indicano che gli effetti inibitori dell'adenosina attraverso il recettore A2A si verificano, almeno in parte, riducendo l'espressione e l'attività di Notch1, bloccando la trasduzione del segnale mediata dal TCR nelle cellule T CD8 +.

Infine, abbiamo valutato le associazioni dell'attività enzimatica del CD73 solubile (sCD73) con gli esiti clinici di pazienti con melanoma metastatico che ricevevano l'agente anti-PD1 nivolumab. In uno studio retrospettivo abbiamo osservato che i pazienti con melanoma in stadio IV con livello sierico basale elevato di attività dell'enzima CD73, prima di iniziare il trattamento con nivolumab, avevano un tasso di risposta più basso a nivolumab, minore sopravvivenza e più alti tassi di progressione della malattia. I pazienti che hanno ottenuto una risposta parziale a nivolumab o una malattia stabile avevano bassi livelli di attività di sCD73 nel siero, suggerendo quindi un ruolo predittivo di risposta alla terapia con nivolumab per il sCD73. Questa evidenza potrebbe essere molto utile per selezionare i pazienti per una terapia appropriata e quindi, neutralizzando CD73 con anticorpi monoclonali CD73 validati clinicamente potrebbe rappresentare una terapia molto potente e innovativa in regime di combinazione.

In conclusione, forniamo nuove informazioni sui meccanismi con cui le molecole adenosinergiche modulano le risposte delle cellule immunitarie e stromali nell'ambiente tumorale, che è importante per lo sviluppo di strategie combinatoriali per la terapia anti-tumorale.