

SEMMELWEIS EGYETEM
DOKTORI ISKOLA

Ph.D. értekezések

2927.

GYULAI MÁRTON

Légzőszervi megbetegedések
című program

Programvezető: Dr. Müller Veronika, egyetemi tanár
Témavezető: Dr. Moldvay Judit, osztályvezető főorvos

Ritka tüdőtumорок PD-1, PD-L1 és claudin expressziójának vizsgálata

Doktori értekezés

Dr. Gyulai Márton

Semmelweis Egyetem
Rácz Károly Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Moldvay Judit, DSc, egyetemi magántanár

Hivatalos bírálók: Dr. Czebe Krisztina, PhD, főorvos
Dr. Rókus András, PhD, egyetemi adjunktus

Komplex vizsga szakmai bizottság:

Elnök: Dr. Losonczy György, DSc, egyetemi tanár

Tagok: Dr. Szász Attila Marcell, PhD, med. habil., tudományos főmunkatárs

Dr. Bittner Nóra, PhD, főorvos, c. egyetemi docens

Budapest
2023

TARTALOMJEGYZÉK

1. Bevezetés.....	7
1.1. Tüdőrák.....	7
1.1.1. A tüdőrák epidemiológiája	7
1.1.2. A tüdőrák tünetei, diagnosztikája.....	8
1.1.3. A tüdőrák terápiája	10
1.2. Ritka malignus tüdődaganatok	12
1.2.1. Az adenoid cysticus carcinoma (ACC) és a mucoepidermoid carcinoma (MEC) 14	
1.2.2. Az ACC és a MEC tünettana.....	14
1.2.3. Az ACC és a MEC patológiája.....	15
1.2.4. Az ACC és a MEC terápiája.....	20
1.3. Az immunterápia prediktív markerei; PD-1 és PD-L1 expresszió.....	22
1.4. PD-1 és PD-L1 expresszió ritka tüdőtumorkban.....	25
1.5. A tight junction szerkezete és funkciói.....	26
1.6. Claudinok	28
1.6.1. Claudin expresszió a tüdőben.....	29
1.6.2. Claudin expresszió különböző tumorokban.....	30
1.6.3. Claudin expresszió tüdőrákban.....	32
1.6.4. Claudin expresszió ACC-ben és MEC-ben	34
2. Célkitűzések	38
2.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	38
2.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben	38
3. Módszerek	39
3.1. Betegcsoportok	39
3.1.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	39

3.1.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben	40
3.2. Immunhisztokémia	42
3.2.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	42
3.2.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben	43
3.3. Statisztikai analízis	44
3.3.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	44
3.3.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben	44
3.4. Etikai engedélyek	45
4. Eredmények	46
4.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	46
4.1.1. PD-1 expresszió.....	46
4.1.2. PD-L1 expresszió	46
4.1.3. Korreláció a PD-1/PD-L1 expresszió és a klinikopatológiai adatok között.....	47
4.1.4. Korreláció a PD-1/PD-L1 expresszió és a szövetminták kora között	50
4.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben	51
4.2.1. Az ACC és MEC minták klinikopatológiai jellemzőinek összehasonlítása.....	51
4.2.2. Claudin immunhisztokémia.....	51
4.2.3. A claudin expresszió és a klinikopatológiai jellemzők közötti összefüggések	58
4.2.4. Claudin expressziós profil különbségek az ACC és a MEC között	59
4.2.5. A különböző claudin expressziós szintek összefüggései.....	61
4.2.6. Az FFPE blokkok korának elemzése.....	61
5. Megbeszélés	63
5.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	63
5.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben	66
6. Következtetések	71
6.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban.....	71

6.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű ACC-ben és MEC-ben.....	71
7. Összefoglalás	72
Summary	73
8. Irodalomjegyzék	74
9. Saját publikációk jegyzéke	91
9.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények.....	91
9.2. Egyéb közlemények	91
10. Köszönetnyilvánítás.....	93

RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACC: adenoid cysticus carcinoma

ADC: adenocarcinoma

ALK: anaplastic lymphoma kinase

CD3+: cluster of differentiation 3+

CD8+: cluster of differentiation 8+

CLDN: claudin

COPD: krónikus obstruktív tüdőbetegség

COVID-19: coronavirus disease-19

CPE: Clostridium perfringens enterotoxin

CT: komputertomográfia

CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4

DAB: 3-3'-diaminobenzidin

EBUS-TBNA: endobronchialis ultrahangvezérelt transbronchialis tűaspiráció

EUS-B-FNA: transoesophagealis bronchoszkópos ultrahangvezérelt vékonytű-aspiráció

EGFR: epidermal growth factor receptor

EGFR-TKI: epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor

EMT: epithelialis-mesenchymalis átmenet

ETT: Egészségügyi Tudományos Tanács

FDG: fluordezoxi-glükóz

FFPE: formalinban fixált, paraffinba ágyazott

FISH: fluorescence in situ hybridization

IC: immunsejt

IHC: immunhisztokémia

JAM: junctional adhesion molecule

KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene homologue

MEC: mucoepidermoid carcinoma

NGS: újgenerációs szekvenálás

NSCLC: nem-kissejtes tüdőrák

OS: overall survival, teljes túlélés

PCR: polymerase chain reaction

PD-1: programmed cell death protein-1
PD-L1: programmed cell death-ligand 1
RT-PCR: reverse transcription polymerase chain reaction
SABR: stereotactic ablative body radiotherapy
SCC: squamous cell carcinoma, laphámrák
SCLC: small cell lung cancer, kissejtes tüdőrák
SGC: salivary gland carcinoma, nyálmirigy rák
TAMP: tight junction-associated MARVEL-domain protein
TBP: tracheobronchialis papilloma
TC: tumorsejt
TIL: tumorinfiltráló lymphocyta
TJ: tight junction
TMA: tissue microarray
TMB: tumor mutációs terhelés
TNM: tumor-lymph node-metastasis
TPS: tumor cell proportion score
TUKEB: Tudományos és Kutatásetikai Bizottság
TTF1: thyreoid transcription factor-1
WHO: Egészségügyi Világszervezet
ZO-1, ZO-2 és ZO-3: zonula occludens-1, -2 és -3

1. BEVEZETÉS

1.1. Tüdőrák

1.1.1. A tüdőrák epidemiológiája

A tüdőrák évtizedek óta a vezető halálokok között szerepel világszerte. A világon az emlőrák után a 2. leggyakoribb ráktípus, 2020-ban összesen 2,2 millió új esetet regisztráltak és 1,8 millió ember halálát okozta, mellyel a daganat okozta halálozási lista első helyén szerepel (1).

A tüdőrák az iparosodástól, kulturális hatásoktól, dohányzási szokásoktól függően – de mindenhol a világon – jelentős népegészségügyi problémát jelent. Előfordulása és az általa okozott halálozás szorosan összefügg a dohányzási szokásokkal. Általában a dohányzási arány tetőzését követő néhány évtizedben a tüdőrák incidenciája és mortalitása még növekszik, mielőtt az átfogó dohányzáscsökkentő programok elindítása eredményeképpen visszaesik. Ezek a folyamatok az iparosodott országokban a fejlődő világhoz képest korábban lezajlottak. Az USA-ban és az Egyesült Királyságban a tüdőrák előfordulási és halálozási aránya valójában az 1990-es évek óta csökken. Az Egyesült Királyságban a férfiak dohányzási prevalenciája az 1940-es, 1950-es években érte el csúcspontját, melyet az 1970-es években a tüdőrák incidenciájának csúcspontja követett (2). Ezzel szemben a fejlődő országokban továbbra is magas a dohányzás aránya mind a férfiak, mind a nők körében, alacsonyabb a rákos megbetegedések előfordulása, de magasabb a mortalitás a fejlett országokhoz képest. Kínában, Indiában és Oroszországban (0.70, 0.69, 0.60) jelentősen magasabb a mortalitás-incidencia hányados, mint az Egyesült Királyságban (0.40) ill. az Egyesült Államokban 0.33). Az említett fejlődő országokban a kor-standardizált incidenciák a rákos megbetegedésekre vonatkozólag 174, 94, 204.3, szemben a 272,9 és 318 értékekkel (3). Ezt a dohányzási szokások különbözőségén kívül az egészségügyi ellátáshoz való egyenlőtlen hozzáférés, a késői diagnózis és kezelés, a környezetszennyezés és szociokulturális különbségek okozhatják (2).

Magyarországon a Központi Statisztikai Hivatal adatai szerint 2020-ban 8159 fő halálát okozta a tüdőrák. A coronavirus disease-19 (COVID-19) pandémia az elmúlt évek adatait

jelentős mértékben befolyásolta. A tüdőrák tüdőgondozói incidenciája az elmúlt évtizedben csak fokozatosan csökkent, de a 2020-as és a 2021-es években drasztikus betegszámcsökkenés mutatkozott, mely egyértelműen a COVID-19 pandémia következményének tartható. A 2019. évhez viszonyítva 2020-ban 15%-os, 2021-ben további 12%-os csökkenés mutatkozott, ugyanakkor a IV-es stádiumú betegek aránya sajnos érzékelhetően növekedett (4).

A tüdőrákokat szövettanilag két nagy csoportra oszthatjuk; megkülönböztetünk kissejtes carcinomát (SCLC) és nem-kissejtes carcinomát (NSCLC). Ez utóbbin belül az adenocarcinoma (ADC) és a laphámsejtes carcinoma (SCC) a két leggyakrabban előforduló szövettani altípus. A 2015. évi WHO felosztás szerint a leggyakoribb tüdőrák típusok az ADC, az SCC és a neuroendocrin carcinoma. Utóbbiakhoz tartozik az SCLC, a nagysejtes carcinoma és a carcinoid (5).

1.1.2. A tüdőrák tünetei, diagnosztikája

A tüdőrák gyanúja vagy valamilyen szűrővizsgálat során vagy tünetek jelentkezése kapcsán szokott felmerülni. Hazánkban panaszmentes betegeket jellemzően a tüdőgondozói hálózat által végzett mellkas RTG szűrésen emelnek ki, esetleg munkahelyi alkalmassági vizsgálat eredményeként, vagy egyéb betegség, például műtét előtt készült képalkotó vizsgálat során fedezik fel a tumorgyanús eltérést. Az elmúlt években a HUNCHEST program keretében vizsgálták a low-dose CT szerepét a rizikócsoporthoz (50-75 éves, dohányos betegek) szűrésében. A vizsgálat során a betegek többségét, 86,2%-át, korai stádiumban szűrték ki (6).

A tüdőrák tünetei a daganat típusától, elhelyezkedésétől és az áttétek kiterjedésétől függően változhatnak. Krónikus köhögés, vérköpés, indokolatlan fogyás, stridoros légzés esetén mindig fel kell merülnön a vizsgáló orvosban a tüdőrák gyanúja. További tünetek lehetnek még az általános gyengeség, fáradtság, mellkasi fájdalom, nehézlégzés, rekedtség. Nemritkán agyi áttétek okozta epileptiform görcsroham, nyaki- vagy axillaris nyirokcsomóduzzanat vagy subcutan áttétes csomók kapcsán derül fény a háttérben húzódó malignus tüdőfolyamatra.

A tüdőrákgyanús betegek komplex kivizsgálása magában foglalja a patológiai diagnózist, a teljes stádiumbeosztást képalkotó vizsgálatok segítségével és a beteg funkcionális állapotának felmérését (7).

Daganatgyanú esetén általában mellkasröntgen készül először. Továbbra is fennálló gyanú esetén ezt követően kontrasztanyagot tartalmazó mellkasi CT-re van szükség, kiegészítve hasi ultrahang vizsgálattal vagy hasi CT-vel, ill. koponya-CT-vel vagy MR-rel. Az MR érzékenysége felülmúlja a CT-jét, azonban alkalmazását a hozzáférés korlátozott volta hátráltathatja. A korrekt mediastinalis staginghez PET CT vizsgálat, ill. az FDG-avid nyirokcsomók citológiai verifikálása szükséges.

A bronchoszkópos és egyéb intervenciók pulmonológiai technológiák sokat fejlődtek az elmúlt évtizedekben. A mintavételi eljárások fejlődésével párhuzamosan fejlődött a tüdőrák gyógyszeres terápiája és egyre nagyobb igény mutatkozott a pontosabb diagnózisra. Míg 20 évvel ezelőtt sok esetben elegendő volt a kezeléshez, ha a betegséget a főbb szövettani csoportba be tudtuk sorolni (SCLC, NSCLC, ill. ezen belül ADC, SCC), melyhez elegendő volt egy citológiai mintavétel (pl. bronchoszkópos kefecitológia, perbronchialis punkció vagy percutan vékonytűbiopszia segítségével), az elmúlt években egyre fontosabbá vált a jó minőségű szövettani minta, melyből molekuláris genetikai vizsgálatok is elvégezhetők. Az új bronchoszkópos módszerek közül az endobronchialis ultrahangvezérelt transbronchialis tűaspiráció (EBUS-TBNA) és a transoesophagealis bronchoszkópos ultrahangvezérelt vékonytű-aspiráció (EUS-B-FNA) a peribronchialis/periooesophagealis centrális elváltozások mintavételére és a tüdőrák stádiumának meghatározásához szükséges mediastinalis nyirokcsomók vizsgálatára szolgál. A perifériásan elhelyezkedő elváltozások esetén a navigációs bronchoszkópia és a radiális szondás endobronchialis ultrahang jelent segítséget (8).

A különböző radiológiai képalkotó vizsgálatok segítségével vastagtűbiopszia végezhető. Ide tartoznak a röntgen- vagy ultrahangvezérelt core-biopszia, ill. a Magyarországon intervenciók radiológiai licenchez kötött CT-vezérelt core-biopszia.

A pulmonológus szerepe a diagnózis felállításakor az, hogy a klinikai és radiológiai leletek helyes értelmezése alapján alkalmazza ezeket az eljárásokat annak érdekében, hogy maximalizálja a diagnózis felállításának esélyét, és elegendő szövetet nyerjen a molekuláris biomarkerek vizsgálatához, amely feltétlenül szükséges az előrehaladott stádiumú NSCLC célzott gyógyszeres terápiájának meghatározásához. A

legbiztonságosabb és a legnagyobb eséllyel diagnózist eredményező modalitást kell választani, annak érdekében, hogy elkerülhető legyen az ismételt mintavételi eljárás, mely feleslegesen terheli a beteget és elhúzódó diagnózishoz vezet. A biopszia helyének és módjának kiválasztását befolyásolja a daganat elhelyezkedése, a beteg társbetegségei, a rendelkezésre álló felszerelés és a helyi szakmai tapasztalat (8).

1.1.3. A tüdőrák terápiája

A stádiumtól, a szövettantól, a genetikai eltérésektől és a beteg általános állapotától függően határozzuk meg NSCLC-ben alkalmazott kezelési stratégiát. A rendelkezésre álló lehetséges terápiás módszerek a műtét, a sugárkezelés, a kemoterápia, az immunterápia és a molekuláris célzott terápia, melyeket alkalmazhatjuk önállóan, vagy egymással kombinálva (9).

A betegség jellege és a terápia szerteágazó volta interdiszciplináris megközelítést tesz szükségessé. Hazánkban 2012 óta multidiszciplináris onkoteam dönt az adott betegnél alkalmazott kezelési stratégiáról. Az onkoteam tagjai – a tüdőgyógyász mellett – klinikai onkológus, mellkassebész, sugárterapeuta, radiológus, patológus és szükség esetén idegsebész (10).

NSCLC esetén kuratív célzatú sebészeti resectio a korai stádiumú (I-IIIa) daganatban szenvedő, jó általános állapotú betegek számára ajánlott. A kezelést megelőzően multidiszciplináris konzultáció szükséges, különösen a IIB és IIIa stádiumú betegség esetén. II-IIIa stádiumban a műtétet követően platinalapú adjuváns kemoterápia ajánlott, mely az 5 éves halálozás abszolút kockázatát 5,4%-kal csökkenti (9, 11). A molekuláris célzott terápiaik közül ezidáig az adjuváns ozimertinib mutatott előnyös hatást a korai stádiumú betegeknél (12).

A III. stádiumú NSCLC-ben szenvedő betegek többsége műtétre nem alkalmas, esetükben a jelenlegi standard kezelés a konkomittáló kemoradioterápia, majd azt követően immunterápia (9).

A kemoterápia továbbra is az NSCLC kezelésének egyik legfontosabb eleme. Adjuváns kemoterápiaként adjuk kuratív műtétet követően, míg IIB-IIIa stádiumban neoadjuváns terápiaként, jó állapotú, szelektált betegeknél, tervezett műtét előtt és után. Lokálisan

előrehaladott NSCLC-ben szenvedő betegeknél bi- vagy multimodális terápia részeként, míg előrehaladott, IV-es stádiumú betegség esetén palliatív terápiaként alkalmazzuk (13). Az elmúlt három évtizedben elért eredmények közé tartozik a fokozott hatékonyságú és jobban tolerálható citotoxikus gyógyszerek kifejlesztése. A jó performance státuszú betegek elsővonalbeli kezelésként platinabázisú kettős kombinációs kezelést kapnak, amely tartalmazza az alábbi harmadik generációs citotoxikus gyógyszerek egyikét: pemetrexed, paklitaxel, vinorelbin, gemcitabin, nab-paklitaxel vagy docetaxel.

Az idős, vagy csökkent performance státuszú betegeket egy jobban tolerálható kombinációval, vagy monoterápiával kezeljük (13).

Az elmúlt két évtizedben a tüdőrák kezelésében és diagnosztikájában is jelentős változásoknak lehettünk tanúi. A molekuláris célzott terápia és az immunterápia új lehetőségeket kínálnak a tüdőrák kezelésében a hagyományos platinabázisú kemoterápia mellett. ADC esetén számos driver mutációt vagy transzlokációt ismerünk, pl. epidermal growth factor receptor (EGFR), anaplastic lymphoma kinase (ALK), BRAF és ROS1, melyekre rendelkezésre állnak célzott gyógyszeres kezelések (14). Ellentétben a tüdő ADC-vel, SCC-ben egyelőre nem áll rendelkezésre a rutin gyakorlatban is alkalmazható célzott terápia (15).

Hazánkban újabb és újabb molekuláris genetikai célpontok elleni kezelések kerülnek befogadásra, így például KRAS G12C mutáció, NTRK, RET, ROS1 fúziók esetén, EGFR exon20 inszerció vagy MET exon14 génhiba fennállásakor. EGFR mutáció esetén első- vagy második-generációs EGFR tirozinkináz-gátló terápia során kialakult progresszió észlelésekor, T790M rezisztencia mutáció igazolása esetén, elérhetővé vált az ozimertinib. Előrehaladott stádiumú ADC-ben ma már 15-20%-ban lehet számítani célozható mutáció kimutatására (4).

Az immunterápiákkal, mint a programmed cell death-1 (PD-1)-, a programmed cell death-ligand 1 (PD-L1)- és a cytotoxic T-lymphocyte associated protein-4 (CTLA-4)-gátlókkal, egyes betegeknél helyettesíthető vagy kiegészíthető a hagyományos kemoterápia (14).

A terápiás lehetőségek növekedésével egyre fontosabbá vált megfelelő minőségű szövettani minták vétele, így a diagnosztikus stratégia is megváltozott. Míg 15-20 évvel ezelőtt sok esetben elegendő volt a diagnózishoz a citológiai mintavétel, manapság mindenképpen törekednünk kell a szövettani diagnózisra.

A sugárterápia a tüdőrák kezelésének egyik fontos módszere, mely a betegség minden stádiumában alkalmazható kuratív vagy palliatív kezelésként. A technológiai fejlődés lehetővé tette a daganatok jobb sugárterápiás célzását és a környező normális szövetek sugárterhelésének csökkentését, ezáltal bővült a tüdőrák sugárterápiájának indikációja, és javultak az eredmények mind a túlélés növekedése, mind a toxicitás csökkenése szempontjából (16).

A stereotactic ablative body radiotherapy (SABR) jelenleg a perifériás elhelyezkedésű, I-IIA stádiumú, NSCLC standard terápiája belgyógyászati okok miatt nem operálható vagy a műtétet elutasító betegeknél.

A III. stádiumú NSCLC-ben szenvedő betegek többségénél a kemoterápiával egyidejűleg végzett sugárterápia (konkurrens kemoradioterápia) a standard ellátás. Azon betegeknél, akiknél nem jelentkezik progresszió a kezelést követően, a fenntartó immunterápia is előnyös lehet.

A IV. stádiumú NSCLC-t általában rossz prognózisúnak tartják. Lehet azonban a betegeknél egy olyan oligometasztatikus csoportja, akiknél az összes áttét ablatív kezelése hosszútávú túlélést eredményezhet (16).

Szelektált betegpopuláción alkalmazható az afterloading kezelés, ami a brachyterápia (közelbesugárzás) egy formája, melynek során először egy radioaktív anyag bejuttatására alkalmas eszközt pozícionálnak sugárzó anyag nélkül (17). Ez egy olyan minimálisan invazív sugárterápiás módszer, amelynek során a daganatot közvetlenül besugározzák egy radioaktív forrással. Tüdőrák esetében endobronchialis brachyterápia formájában végezhető. A korai stádiumú tüdőrákban szenvedő, műtetre vagy külső sugárterápiára alkalmatlan betegek esetében a brachyterápia alternatív kezelésként alkalmazható, és kuratív eredményt lehet elérni a nagylégutak lumenére korlátozódó daganatok esetén. A lokálisan előrehaladott vagy metasztatikus tüdőrákban szenvedő betegek esetében a brachyterápia alkalmazható önmagában, vagy a külső sugárterápiával kiegészítve (18).

1.2. Ritka malignus tüdődaganatok

A szakirodalmi adatok alapján a ritka tüdődaganatok előfordulási gyakorisága kevesebb mint 1%. Egy japán retrospektív vizsgálatban, melyben 1976-1995 közötti

időszakban diagnosztizált eseteket dolgoztak fel, 20 rosszindulatú ill. 12 jóindulatú ritka tüdődaganatot találtak, mely a tüdődaganatok 0,57 ill. 0,34 %-ának felelt meg. A ritka rosszindulatú tüdődaganatok közül 30% lymphoma, 15% carcinosarcoma, 10% kevert bronchialis mirigy eredetű tumor, 10% mucoepidermoid carcinoma (MEC) és 5% adenoid cysticus carcinoma (ACC) volt (19).

Az Amerikai Egyesült Államok adatai szerint a rosszindulatú légzőszervi daganatok csak mintegy 0,2%-a tracheatumor. A malignus bronchialis nyálkamirigy eredetű tumorok (ACC, MEC) jóval gyakoribbak, mint a benignus mucinosus cystadenoma ill. a pleomorph adenoma. A tracheatumorok között a szövettani típusok nagy szórását mutatnak a különböző publikációkban, de a leggyakoribb a laphámcarcinoma (17-72%) és az ACC (6,3-64%). A tracheatumorok között az adenocarcinoma (0,5-13%) és a MEC (0-2,4%) igen ritka (20).

A bronchialis nyálkamirigyek a trachea és a bronchusok submucosájában helyezkednek el. Morfológiájukat tekintve nagyon hasonlóak a nyak és az oropharyngealis régió fő nyálkamirigyeihez. Ennek megfelelően hasonló jellegű, nyálmirigy típusú daganatok fejlődhetnek ki belőlük, bár sokkal ritkábban, mint a fej-nyaki régióban (20).

A nyálmirigy jellegű primer légúti daganatok igen ritkák, előfordulásuk a légúti rosszindulatú daganatokhoz viszonyítva 0,1-0,2% (21). A Massachusetts General Hospital adatai szerint 1962-2002 között 360 primer tracheatumor közül 135 volt ACC (38%), 14 MEC (4%) és 3 pleomorph adenoma (0,8%). Az 1972-1995 között előfordult 78 low-grade malignus ill. benignus bronchialis tumor közül csak 2 volt ACC (2,5%), 7 pedig MEC (9%) (20).

A bronchialis eredetű nyálkamirigy daganatoknak négy fő formája van: ACC, MEC, mucinosus cystadenoma, pleomorph adenoma.

A mucinosus cystadenoma, bár benignus daganat, invazívan terjed a bronchusfalba és a környező szövetekbe és kezelés nélkül rendkívül rossz prognózisú. Hagyományosan úgy tartották, hogy a nagylégutakban fordul elő, de az elmúlt időszakban leírták perifériásan előforduló formáját is (22). Cisztikusan kitágult acinusok a fő jellemzői, így nehéz elkülöníteni a low-grade MEC-től (23). Szövettanilag is benignus jellegű, nincsenek mitotikus alakok és nem írtak le malignus variánst. A daganat jól körülhatárolt, de nincsenek tokja, ezért a daganatos acinusok összeolvadnak a normál hörgőmirigy acinusaival (20). Egyes esetekben a daganat beterjedhet a hörgőporcba, de a daganatok túlnyomó többsége

a porc fölé korlátozódik. Sebészi eltávolítás az elsődlegesen javasolt terápia, centrális daganat esetén bronchoplasztika vagy „sleeve resection”, perifériás elváltozásoknál ékresectio. Eddig nem számoltak be kiújulásokról, illetve nem dokumentáltak rosszindulatú átalakulást ezekben a daganatokban (22).

A pleomorph adenomák jellemzően a nagy nyálmirigyekből alakulnak ki, de ritkán a tracheában és a bronchusokban is előfordulnak. Legtöbb esetben benignus természetűek, de előfordul recidiva és ritkán malignus transzformáció is (24).

1.2.1. Az adenoid cysticus carcinoma és a mucoepidermoid carcinoma

Az ACC malignus viselkedésű daganat, de lassan növekszik és későn ad áttéteket a tüdőbe, csontba, agyba. A légutak közül leginkább a tracheában fordul elő és csak ritkán a bronchusokban (20). A jellemző elhelyezkedése és invazivitása miatt endobronchialis resectioja sokszor nem lehetséges (25).

A MEC ugyancsak malignus viselkedésű, de megkülönböztetjük low-grade ill. high-grade formáját is. A low-grade forma jól körülhatárolt módon, vagy a hörgőkön belül növekszik (20).

1.2.2. Az adenoid cysticus carcinoma és a mucoepidermoid carcinoma tünettana

A tüdő ritka tumorainak tünetei nagyban függenek az elhelyezkedésüktől. Trachealis érintettség következtében kialakulhat nagylégúti obstructio, ennek megfelelően jelentkezhet nehézlégzés, sípolás vagy stridor. Nyálkahártya irritáció, ulceratio esetén előfordulhat köhögés és haemoptoe, de a környező szövetekre terjedve okozhatnak n. laryngeus recurrens paresist vagy dysphagiát is. Nemritkán a diagnózis a tünetekhez képest csak hónapokkal később születik meg, valószínűleg azért, mert a trachea lumene nagy funkcionális rezervet jelent, így a tumorok addig nem okoznak tüneteket, míg el nem zárják a lumen 50-75%-át. Nem specifikus tünetek, a köhögés, a sípolás és a terhelési dyspnoe téves diagnózisokhoz vezethetnek, úgymint asthma vagy COPD. Terhelési dyspnoe nem jelentkezik addig, míg a tracheaszűkület nem csökken 8 mm alá, 5 mm alatt azonban már nyugalmi dyspnoe is felléphet. A tüneteket befolyásolhatja a tumor típusa

is: pl. haemoptoe gyakrabban jelentkezik MEC esetén, így a diagnózis is hamarabb megszülethet. Rekedtség és dysphagia jellemzője lehet egy előrehaladott betegségnek, de az ilyen tünet önmagában még nem feltétlenül jelent inoperabilitást.

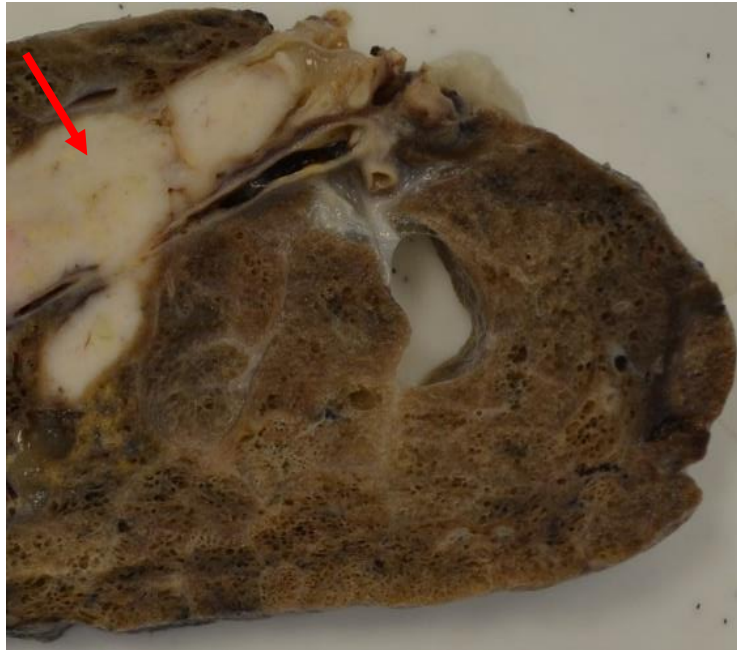
Az ACC általában nagylégúti obstructio tüneteivel jelentkezik, és csak az esetek kb. 25%-ában okoz haemoptoet, emiatt a diagnózis felállításáig akár 1,5 év is eltelhet. Ez magyarázza, hogy nemritkán előrehaladott stádiumban kerül felismerésre. A lassan növekvő, low-grade tumorok esetében hosszú időbe, akár évekbe is telhet, mire életveszélyes nagylégúti obstructiot okoznak (26).

A MEC-nek nincsenek specifikus tünetei. Általában soliter térfoglalásként jelentkezik, és nincs predilekciós hely, segment vagy lebeny, ahol gyakrabban előfordul. A tünetek elsősorban a lokalizációtól függenek. Ha a tumor centrális elhelyezkedésű, akkor a nagylégúti obstructio tüneteinek dominálnak, és valószínűleg köhögést, nehézlégzést, sípoló légzést és vércöpést fog okozni. Ellenben a perifériás elhelyezkedésű daganatok esetén inkább mellkasi fájdalom, köhögés vagy recidív pneumonia alakulhat ki (26). A tünetek okát keresve képalkotó vizsgálat, ill. bronchoszkópia vihet közelebb a diagnózishoz.

1.2.3. Az adenoid cysticus carcinoma és a mucoepidermoid carcinoma patológiája

Az ACC egy rosszindulatú, bifázisos nyálmirigy típusú daganat, mely epithelialis és myoepithelialis sejtekből áll. Tipikusan endobronchialis alakul ki, infiltratív módon növekszik és néha a tüdőparenchymára és a mediastinumra is ráterjed. A perineuralis invázió megnehezíti a teljes műtéti resectiot és gyakori a helyi kiújulás. Ritkán ad távoli áttétet.

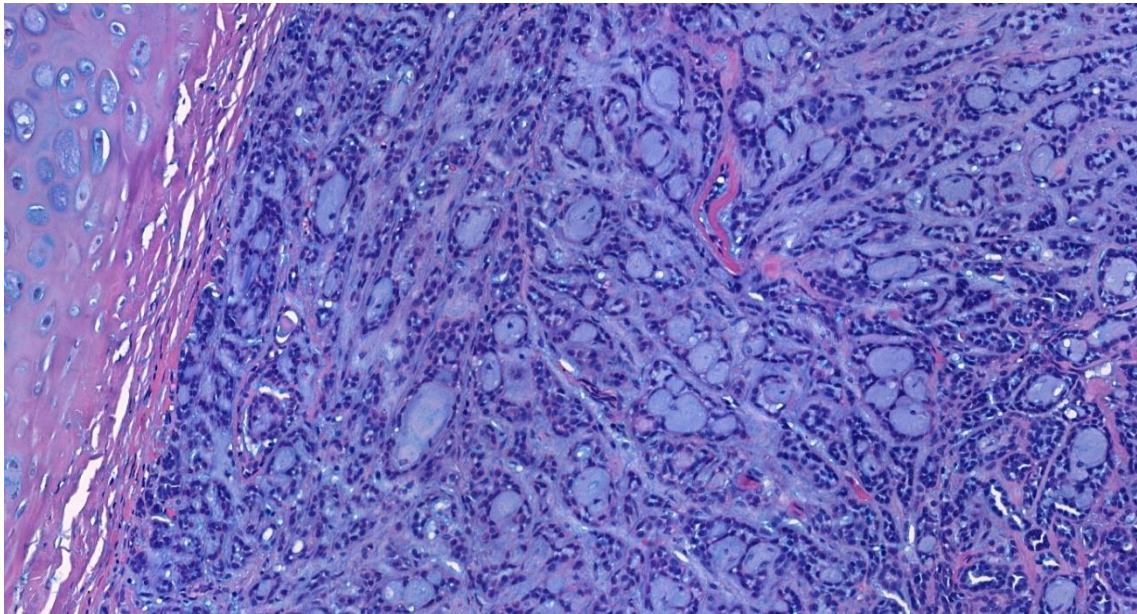
Makroszkóposan a daganat általában 40 mm-nél kisebb, szürkésfehér, metszészlapja homogén.



1. ábra. ACC makroszkópos képe

Műtéti preparátum, polypoid endobronchialis daganattal (nyíl), mely a bronchialis lument kitölti, illetve terjedést mutat a tüdőszövetbe is.

Mikroszkóposan a tumor változatos képet mutat, részint kisebb sejtsoportok, sejtkötegek figyelhetők meg, amelyekben jellegzetes hyalinos cylinderek találhatóak. Néhol a nyálmirigyek kivezetőcsöveire emlékeztető tubulusok láthatók, kétrétegű hámbéléssel. A daganatsejtek meglehetősen egyformák, közepesen kissé nagyobb méretűek, köbösök, cytoplasmájuk közepes mennyiségű, a sejtmagok hyperchrom festődésűek, az osztódás ritka. Szövettanilag három növekedési mintázat különíthető el: tubularis, cribriform és solid.



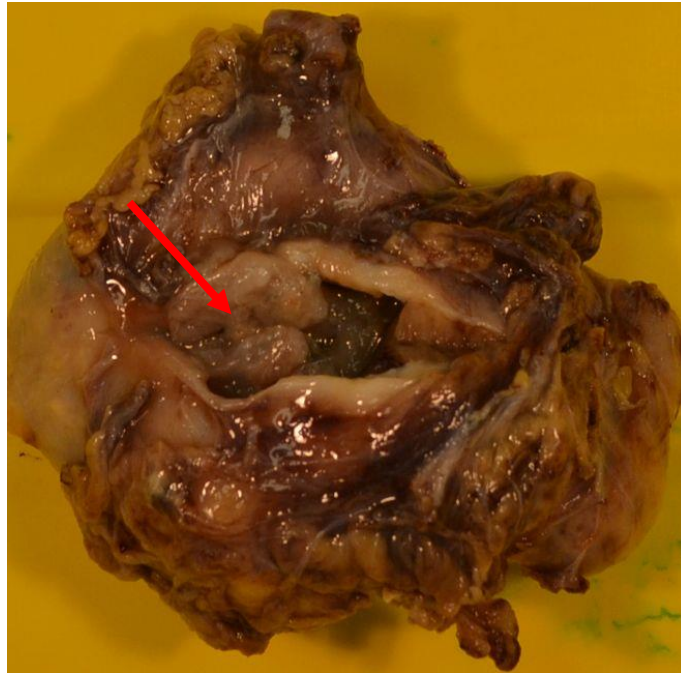
2. ábra. ACC mikroszkópos képe

Meglehetősen egyforma sejtekből felépülő, részint kisebb sejtcsoportokat, sejtkötegeket alkotó daganatsejtek, némelyik lumenében jellegzetes hyalinos cylinderrel. Emellett a nyálmirigyek kivezetőcsöveire emlékeztető tubulusok láthatók, kétrétegű hámbéléssel. (H&E festés, 200x nagyítás)

Immunhisztokémiai (IHC) reakciókkal (citokeratin, vimentin, actin, S100, Kit, p63) az ACC ductalis és myoepithelialis komponense kimutatható.

Differenciáldiagnózisként a carcinoid tumor, az SCLC, illetve a basaloid SCC jön szóba. Molekuláris patológiai diagnosztika tekintetében a MYB-NFIB és MYBL1-NFIB génfüziók fluoreszcens in situ hibridizáció (FISH) vagy újgenerációs szekvenálás (NGS) segítségével történő kimutatása segítheti az ACC diagnózisának a felállítását (27, 28).

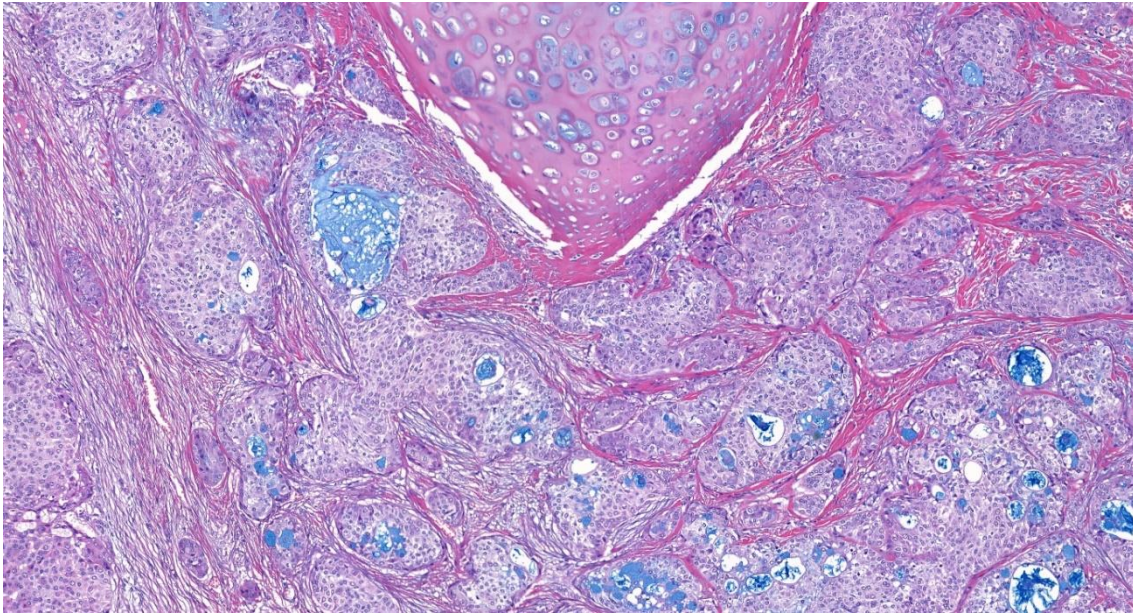
A MEC a tüdőrák ritka formája, amelyet a szövettani jellemzők alapján low-grade és high-grade kategóriába sorolnak. A legtöbb MEC a proximális hörgőkben keletkezik. Makroszkóposan a low-grade MEC-ek jól körülhatároltak, átlagosan 30 mm nagyságúak, a légutakban néha polypoid megjelenésűek. A high-grade formák gyakrabban mutatnak infiltratív terjedést. A daganatok szürkés-fehér, részint szürkés-sárga, néhol cisztikus fókuszokkal tarkított, tömött tapintatú metszészlappal rendelkeznek.



3. ábra. MEC makroszkópos képe

Műtéti preparátum, amely egy jól körülírt endobronchialis daganatot mutat (nyíl) a felső lebenyhörgő lumenében.

Mint a neve is jelzi, szövettanilag a MEC-re a nyáktermelő mirigysejtek, laphámsejtek és intermedier hámsejtek kombinációja jellemző. A low-grade MEC túlnyomórészt mirigysejtekből és mucin-termelő sejtekből áll, az osztódások száma alacsony. A kötőszöveti stromában meszesedés, csontosodás, granulomatosus reakció alakulhat ki. A high-grade MEC-ek főként atípusos laphámsejtek- és/vagy intermedier hámsejtek kötegeiből, fészkeiből állnak, gyakori mitózissal, nekrozissal, és változó számú nyáktermelő mirigysejtet tartalmaznak.



4. ábra. Low-grade MEC mikroszkópos képe

Hörgőporc körül, szélességében változó kötőszöveti vonulatok által tagolt laphámsejtek és intermedier hámsejtek kötegei, fészkei láthatók, területükön nyáktermelő mirigysejtekkel. (H&E festés, 200x)

Ami az immunhisztokémiai reakciókat illeti, minden sejtípus CK pozitív és TTF1, NapsinA, actin és S100 negatív. A laphámsejtek p40, p63 és CK5/6 pozitívak.

Differenciáldiagnózis szempontjából a primer tüdői kiindulású MEC-et a fej és a nyak nyálmirigy daganataiból származó áttétől fontos elkülöníteni. A klinikai korreláció azért szükséges, mert más anatómiai helyeken keletkező MEC-ek hasonló morfológiát és MAML2 génátrendeződést mutatnak. A MAML2 génátrendeződés szinte kizárólag MEC-ben látható és bizonyos esetekben kizárhatja az adenosquamosus carcinomát.

A molekuláris patológiai diagnosztikát illetően a CRTC1-MAML2 FISH-sel való kimutatása segíthet a MEC diagnózisának felállításában (29).

A t(11;19)(q21;p13) transzlokáció a CRTC1 és MAML2 géneket érinti, amely új CRTC1-MAML2 fúziós fehérjét generál (30, 31). Ez az új fehérje transzkripciós faktorként működik a sejtnövekedést szabályozó útvonalakban. Hozzájárul a daganatok kialakulásához azáltal, hogy megzavarja a normál sejtciklus szabályozását és a sejt differenciációt.

1.2.4. Az adenoid cysticus carcinoma és a mucoepidermoid carcinoma terápiája

Mind ACC, mind MEC esetén az optimális kezelés a sebészi eltávolítás. Kemoterápia, illetve radioterápia hatásosságáról nincsenek egyértelmű adatok. Wang és munkatársai retrospektív vizsgálata szerint, amelyben 1965-2017 között kezelt 115 tracheobronchialis MEC, illetve 191 ACC esetet dolgoztak fel, a MEC fiatalabb betegeknél alakult ki, rövidebb volt a tünetek megjelenése és a diagnózis között eltelt idő, a betegeknek kevesebb tünete volt, valószínűbb volt az endobronchialis megjelenés (de kevesebb tracheatumor, mint ACC-ban: 11,3% vs. 64,9%) és nagyobb esélye volt a sebészi kezelés lehetőségének (32). Mindemellett a sebészileg kezeltéknél a MEC-ek 99%-ában sikerült a komplett sebészi resectio (R0), míg ACC esetén ez csak 45,5%-ban volt lehetséges. A MEC miatt kezelt betegek 93%-ánál végeztek műtétet, 7%-ban nem sebészi kezelést, azaz radioterápiát, kemoterápiát vagy szupportív kezelést alkalmaztak. A műtéti csoportban a prognózis nagyon jó volt, az 1-, 2-, 5-éves túlélés 97,89%, 94,17%, ill. 90,5% volt. A nem-sebészi populációban ezzel szemben a prognózis igen rossz volt, az 1-, 2-, 5-éves túlélés csak 83,3%, 41,7%, illetve 0% volt. ACC esetén a sebészi csoport túlélési adatai elmaradtak a MEC miatt műtöttektől, azonban a nem műtött betegek túlélési arányai jobbak voltak. A teljes populációban ugyanakkor a MEC-nél a túlélési ráta szignifikánsan magasabb volt, köszönhetően a nagyobb eséllyel elvégezhető komplett sebészi resectionak.

MEC esetén a nyirokcsomó áttét a teljes túlélés (OS) független prognosztikai faktora, operábilis MEC esetén döntő fontosságú a nyirokcsomók dissectioja (32-35). Nyirokcsomó pozitív MEC esetén, továbbá egyéb negatív prognosztikai tényezők fennállásakor (T3-4, illetve high-grade tumorok, közeli reszekciós sík, perineurális vagy vascularis terjedés) postoperatív radioterápia javasolt (32, 36).

MEC esetén megkülönböztethetünk két alcsoportot, amely meghatározza a várható túlélést és azt, hogy milyen kezelést válasszunk. Low-grade carcinoma esetén jelentősen hosszabb a várható élettartam és a betegek profitálnak a teljes sebészi eltávolításból, utókezelés nem szükséges. High-grade carcinomák esetén a műtétet követően adjuváns kezelés szükséges. Fontos a nyirokcsomó státusz ismerete, továbbá, hogy a tumor csak a tüdőre korlátozódik-e. A végleges szövettani diagnózis felállításában és egyéb ritka tumoroktól való elkülönítésben segítségünkre lehet a MAML2 meghatározás. A MAML2

úgy tűnik, korrelál a tumorok low-grade jellegével, de nem független prognosztikai faktor (37).

Habár bronchialis MEC esetén a sebészi eltávolítás az elsődlegesen javasolt kezelési mód, bizonyos esetekben indokolt lehet az intervenciós bronchoszkópos beavatkozás. Mivel a MEC gyakran a centrális légutakban helyezkedik el, a daganat teljes sebészi eltávolítása sokszor csak bronchoplasztikával lehetséges (38).

Low-grade carcinoma és polypoid jellegű endobronchialis tumor esetén intervenciós bronchoszkópia is szóba jön, lézer, illetve nagyfrekvenciás elektrokauter segítségével (39). Polypoid elváltozások eltávolítására jól használható eszköz a nagyfrekvenciás hurok. Az eltávolítást követően, autofluoreszcens vizsgálattal meghatározható a maradék tumorszövet helye és a beavatkozás kiegészíthető fotodinámiás kezeléssel. Ha a polypus eltávolítása során a nagyfrekvenciás hurkot kikapcsolt állapotban használjuk – és így étetéssel nem roncsoljuk a hörgőnyálkahártyát – a residuais tumorszövet helye az autofluoreszcens vizsgálattal pontosabban meghatározható (38). Természetesen az intervenciós bronchoszkópiát követően rendszeres radiológiai és bronchológiai kontroll szükséges az esetleges recidiva felismerésére (38, 39).

A legtöbb ACC tumor lassan növekszik, és nem származik előny a szisztémás kemoterápiából. Az elmúlt években végzett klinikai vizsgálatok a kemoterápiás szerek alacsony hatásosságát mutatták metasztatizáló betegség esetén. Így tehát továbbra sincs elfogadott szisztémás kemoterápiás kezelés ACC-ben.

Lassú lefolyású, metasztatizáló esetekben a szoros obszerváció a standard eljárás a szisztémás kezelés helyett. Gyorsan progrediáló esetekben szisztémás kemoterápiától várható mérsékelt eredmény a betegek egy részénél. A célzott terápiák fejlesztése még csak korai szakaszban van (40). Laurie és munkatársai szerint metasztatizáló vagy recidiváló ACC esetén mitoxantrone vagy vinorelbine monoterápia szóba jöhet első vonalban, de antraciklinek, pl. epirubicin is megfelelő választás lehet. Monoterápiára sem a paklitaxel, sem a ciszplatin nem javasolt, mivel hatásosságuk nem bizonyított és mivel rendelkezésre állnak kevésbé toxikus szerek is. Kombinált kemoterápia esetén az irodalmi adatok szerint ciszplatin- és antraciklintartalmú kombináció javasolt (41). Dillon és munkatársai szerint ugyanakkor a kombinált kemoterápiának nincs előnye a monoterápiákkal szemben. A bizonytalan eredmények miatt azt javasolják, hogy a kemoterápiás kezelést csak tüneteket okozó, metasztatizáló, gyorsan progrediáló betegség

esetén válasszuk, és kizárólag akkor, ha egyéb kezelés – esetleg klinikai vizsgálat keretében – nem jön szóba (40).

MEC esetén sincs elfogadott kemoterápiás rezsim, de nem reszekálható tumor esetén kemoterápiás kezelés szóba jön. High-grade MEC esetén carboplatin és paklitaxel jó eredménnyel használható, de voltak biztató terápiás próbálkozások docetaxel kéthetente történő alkalmazásával is. Néhány vizsgálatban kemoterápiát és EGFR-TKI kezelést alkalmaztak, de az eredmények nem voltak meggyőzőek (42).

(A Ritka malignus tüdődaganatok fejezetben szereplő ismertetést nemrégiben egy összefoglaló közleményben jelentettük meg a Medicina Thoracalisban (43).)

1.3. Az immunterápia prediktív markerei; PD-1 és PD-L1 expresszió

Habár a tüdőrák továbbra is vezető halálok a daganatos halálozások között (1), az immunterápiának köszönhetően az elmúlt években – egyéb rosszindulatú daganatokhoz hasonlóan – jelentős javulás tapasztalható az NSCLC miatt kezelt betegek prognózisában és túlélésében is (44). Az anti-PD-1 és anti-PD-L1 immuncheckpoint-inhibitor terápiák bevezetésével mind ADC, mind SCC esetén jelentősen javult a túlélés (44-46).

A PD-1 fehérje a CD28/CTLA4 csoporthoz tartozik, amely az aktivált lymphoid sejteken fejeződik ki. Ennek egyik ligandja a PD-L1 (47). A PD-1/PD-L1 kötődés T-sejt kimerüléshez és immuntoleranciához vezet, ami gátolja az daganatellenes aktivitást. Ennek az útvonalnak a blokkolásával az immunrendszer ismét idegenként ismeri fel a PD-L1-et expresszáló tumorsejteket, így azokat el tudja pusztítani (44).

A különféle immuncheckpoint-gátló gyógyszerek engedélyeztetéséhez szükséges klinikai vizsgálatokban különböző immunhisztokémiai (IHC) platformokat használtak különböző PD-L1 antitestekkel a PD-L1 expressziójának értékelésére mind a tumorsejteken, mind a tumort infiltráló immunsejteken. Négy különböző PD-L1 IHC-tesztet regisztráltak, amelyek négy különböző PD-L1 antitestet (22C3, 28-8, SP263, SP142) használtak két különböző IHC-platformon (Dako és Ventana), mindkettőn saját értékelési rendszerrel. Bár a PD-L1 IHC használható az anti-PD-1 vagy anti-PD-L1 terápiára adott válasz valószínűségének előrejelzésére, a negatív eredményt adó betegek egy része is reagálhat az immunterápiára (44).

A PD-L1 prognosztikai értékével kapcsolatban elmondható, hogy bizonyos daganatokban a PD-L1 overexpressziója rossz prognózissal társul, ide tartozik a gyomorrák, a hepatocellularis carcinoma, a vesesejtes carcinoma, a nyelőcsőrák, a hasnyálmirigyrák, a petefészekrák és a húgyhólyagrák. Ezzel ellentétben vannak daganatok (pl. emlőrák, Merkel-sejtes carcinoma), amelyekben a magas PD-L1 expresszió jobb klinikai kimenetellel jár. Tüdőrákban, colorectalis carcinomában és melanomában a PD-L1 prognosztikai értéke ellentmondásos (48).

Bár az immuncheckpoint-gátlók megváltoztatták a különféle rosszindulatú daganatos megbetegedések, köztük az NSCLC kezelési lehetőségeit, nem minden beteg reagál megfelelően az immunterápiára, ezért a betegek kiválasztásához prediktív biomarkerekre van szükség. A tumor mutation burden vagy tumor mutációs terhelés (TMB), amelyet a tumor genomjának kódoló területére jutó szerzett, szomatikus mutációk teljes számaként határoznak meg (Mut/Mb), az immunellenőrzéspont-gátlókra adott válasz lehetséges prediktív biomarkere. Miután 2020-ban az amerikai Food and Drug Administration (FDA) jóváhagyta a PD-1-gátló pembrolizumab alkalmazását magas TMB-pontszámú (≥ 10 mutations/megabase) solid tumoroknál, függetlenül a daganat lokalizációjától, szükségessé vált az immuncheckpoint-gátlókkal történő kezeléshez szükséges prediktív biomarkerek meghatározásának javítása.

Mivel a kemoterápia mutagén hatású lehet, és így magasabb TMB-pontszámot idézhet elő a tumorban, ezért a kezdetben alacsonyabb TMB-pontszámú NSCLC a kezelés egy későbbi fázisában esetleg alkalmassá válhat az immunterápiára (49).

Az FDA gyorsított eljárással hagyta jóvá a pembrolizumab alkalmazását magas mikroszatellita-instabilitású (microsatellite instability-high, MSI-H) vagy mismatch repair-hiányos solid tumorokban szenvedő betegek esetében. Ez volt az első alkalom, hogy egy közös biomarker, nem pedig szervalapú megközelítés alapján hagytak jóvá egy rákkezelést. Az MSI-H vagy a mismatch repair gének öröklött csírvonalbeli mutációi vagy ezen gének epigenetikai inaktiválása miatt alakul ki. Az MSI-H szomatikus mutációk felhalmozódását okozza a tumorsejtekben és molekuláris biológiai változások széles spektrumához vezet, úgymint magas TMB, a neoantigének fokozott expressziója és a tumorinfiltráló lymphocyták (TIL) magas száma. Ezeket a változásokat összefüggésbe hozták az ellenőrzőpont-gátló gyógyszerekkel szembeni fokozott érzékenységgel (50).

Ellentétben az ADC-vel és az SCC-vel, SCLC-ben a PD-L1 expresszió rendkívül alacsony. Li és munkatársainak metaanalízise szerint SCLC-ben sem a PD-L1 pozitivitás, sem pedig a magas TMB nem megfelelő prediktív faktorok az immuncheckpoint-gátló kezelés hatásosságának előrejelzéséhez. Inkább az LDH-t, a diagnózis felállításakor meglévő májmetasztázist, a központi idegrendszeri áttét meglétét javasolják markerként. Emellett a nem-ázsiai SCLC betegekben jobb volt az immuncheckpoint-gátlók hatékonysága (51).

Az EXPRESS real-world vizsgálatban a PD-L1 expressziós szintjét NSCLC-s betegeknél 18 országban értékelték. A 2368 beteg közül, akiknek PD-L1-expresszió vizsgálatára megfelelő minta állt rendelkezésre, 52% (n=1232) volt a PD-L1 pozitív tumor cell proportion score [TPS] $\geq 1\%$ esetek aránya (52).

Egy másik vizsgálatban, nem szelektált, kaukázusi populációban $\geq 1\%$ és $\geq 50\%$ PD-L1 TPS-t mutató NSCLC betegek aránya 63% (n = 499), illetve 30% (n = 240) volt. A vizsgálat célja a PD-L1-pozitivitás gyakoriságának felmérése, a PD-L1-pozitivitás és a betegek klinikopatológiai jellemzői közötti összefüggés elemzése, valamint az immunterápia hatékonyságának értékelése volt. A betegek 97%-ának volt PD-L1 vizsgálatra alkalmas mintája. A többváltozós analízis során (cut-off érték TPS $\geq 50\%$ volt) az alacsonyabb tumorstádium a PD-L1-pozitivitás alacsonyabb gyakoriságával járt együtt (az I stádium odds ratio 0,31 volt a IV stádiumhoz viszonyítva). A PD-L1-expresszióban szignifikáns különbséget figyeltek meg az SCC és az ADC között (az ADC odds ratio 1,8 volt). A $\geq 1\%$ TPS cut-off érték mellett ugyanilyen irányú eredményt tapasztaltak. Egyik cut-off érték esetén sem volt statisztikailag szignifikáns hatással a PD-L1-expresszióra a PD-L1 elemzéshez használt biopsziás minta típusa és helye, az életkor, a nem, a dohányzási kórtörténet vagy a performance status. Az immunterápiára alkalmas betegek 54%-át elsővonalban pembrolizumab monoterápiával kezelték. Következtetésük szerint, ha az immunonkológiai kezelésre szoruló beteg stádiuma megváltozik, akkor egy korábban alacsonyabb stádiumban vett biopszián végzett negatív vagy alacsony pozitív PD-L1-teszt nem feltétlenül tükrözi az új, metasztatikus lézió PD-L1-expresszióját, ezért ilyen esetben megfontolandó a rebiopszia elvégzése (53).

Kutatócsoportunk az elmúlt években több PD-L1 expresszióval kapcsolatos vizsgálatot végzett tüdő ADC-ben, és az alábbi főbb megfigyeléseket tette. Nekrózis jelenléte esetén a tumorszövetben magasabb PD-L1 expresszió mutatható ki a tumorsejteken, és

magasabb PD-1 expresszió mutatható ki az immunsejteken (54). Egy másik hazai vizsgálat eredménye szerint primer tüdő ADC miatt operált, többszörös agyi áttétben szenvedő betegekben az alacsony PD-1 és PD-L1 expresszió jobb túléléssel jár (55). Operált primer tüdő ADC és ugyanazon beteg operált agyi áttétének IHC vizsgálata alapján igazolódott, hogy agyi áttétet adó primer tüdő ADC-ben erős korreláció mutatható ki a primer tumor és a hozzá tartozó agyi áttét PD-L1 expressziójában, amit az alkalmazott onkoterápiák nem befolyásoltak. (56) A PD-L1 pozitivitás tehát akár a primer tumorban, akár az agyi áttétben kerül kimutatásra, megfelelő prediktív markerként szolgálhat az immunterápiához.

1.4. PD-1 és PD-L1 expresszió ritka tüdőtumorkban

A nyálmirigy eredetű ACC-ben korai fázisú vizsgálatok zajlanak az immuncheckpoint-gátlók esetleges hatásosságáról, annak ellenére, hogy egyelőre kevés információ van ezen daganatok immunológiai mikrokörnyezetéről. Chen és munkatársai ACC-k immunmikrokörnyezetét vizsgálták és a túlélési adatokat a TIL-paraméterekkel és a PD-L1 expresszióval összevetve értékelték. 24 ACC beteg karakterisztikus jellemzőit, kezelési és prognosztikai adatait gyűjtötték össze. A TIL-ek cluster of differentiation 8+ (CD8+) és a tumorsejtek PD-L1 expresszióját immunhisztokémiai módszerrel vizsgálták. Eredményeik szerint a PD-L1 expresszió minden esetben negatív volt. A TIL-ek CD8+ expressziója változó eredményeket adott, de ez alapján nem mutatkozott különbség a betegségmentes vagy a teljes túlélésben. Következtetésük szerint az ACC tumorok esetén a daganat PD-L1 expressziója és a TIL-ek CD8+ expressziója valószínűleg nem használható az immunterápiára adott válasz prediktív biomarkereként (57).

Wu és munkatársai metaanalízisükben a PD-L1 expresszió és a túlélés közötti kapcsolatot vizsgálták különböző nyálmirigy carcinomában szenvedő betegek esetében. Összesen tíz tanulmányt értékelték 952 beteggel. A metaanalízis azt mutatta, hogy nyálmirigy carcinomában a pozitív PD-L1 expresszió szignifikánsan összefüggésbe hozható a férfi nemmel, az idősebb életkorral, a tumor stádiumával, a nyirokcsomó-metasztázisokkal, a high-grade tumorokkal és a nem-ACC szövettani altípussal. A magas PD-L1-expresszió

emellett rossz teljes túléléssel és betegségmentes túléléssel járt együtt. Következtetésük szerint a pozitív PD-L1-expresszió fontos szerepet játszhat, mint kedvezőtlen prognosztikai marker, és ezáltal a PD-L1-expresszió értékelése segítheti a nyálmirigy carcinómában szenvedők személyre szabott kezelését (58).

MEC-kel kapcsolatban még ennél is kevesebb adat áll rendelkezésre, de vannak biztató kezdeti eredmények, melyek jelzik az immunterápia esetleges prediktív markereinek kutatásának a fontosságát. Farhat és munkatársai számoltak be egy különleges esetről, ahol a beteget a parotis előrehaladott, high-grade MEC-je miatt elsővonásban pembrolizumabbal kezelték neoadjuváns terápiaként. A kezelés következtében a tumor teljes regressziót mutatott, ami lehetővé tette a parotis sikeres sebészi eltávolítását n. facialis sérülés nélkül. A sebészileg eltávolított szövet tumormentesnek bizonyult (59).

Pulmonalis eredetű ACC és MEC esetében eddig átfogó vizsgálatot nem végeztek. Wang és munkatársai 25 trachea ACC-t vizsgáltak, ebből 14 esetben volt PD-L1 IHC vizsgálatra alkalmas mintájuk, mely minden esetben negatívnak bizonyult. Ugyan egy esetben magas MSI-t és kromoszóma instabilitást találtak, de összességében eredményeik azt mutatták, hogy trachea ACC-re jellemző a tüdőrákban megfigyelhető driver mutációk hiánya, a negatív PD-L1 státusz és az alacsony CD3+ és CD8+ T sejt infiltráció (60).

1.5. A tight junction szerkezete és funkciói

A hámsejtek egyik fő funkciója a szervezet, ill. a szervezet élettani egységeinek összetételének megőrzése a változó és potenciálisan káros környezettel szemben. Ennek érdekében az epithelium gátat képez a víz és az oldott anyagok korlátlan és ellenőrizetlen áthaladása ellen, ugyanakkor szelektív átjárási helyeket is biztosít a gáton keresztül (61). A sejtmembránokon az integrált csatornák, ill. transzportfehérjék biztosítják a permeációs helyeket. Ha a hámsejtek közötti paracellularis útvonal nem lenne lezárva az ellenőrizetlen visszaszivárgás ellen, a transcellularisan átjutott anyagok azonnal visszadiffundálnának a sejtek között, ami megakadályozná az epithelium két oldala között grádiensek kialakulását. (61)

Ezt a paracellularis útvonalat zárja le egy tight junction (TJ) nevű sejtkapcsoló struktúra, amely a gát döntő részét képezi. Mivel az átjárhatatlanságért elsősorban a TJ felelős, molekuláris összetételének változásai drámaian befolyásolják az általános permeabilitást és a transzport hatékonyságát. A TJ továbbá megakadályozza a hámsejtek apicalis és basolateralis oldalán elhelyezkedő membránfehérjék keveredését (61).

A TJ-k komplex szupramolekuláris egységek, amelyek integrált membránfehérjékből, membrán-asszociált és szolubilis citoplazmatikus fehérjékből állnak, és protein-protein kölcsönhatások bonyolult és dinamikus rendszerében vesznek részt. Röntgenkristallográfiával, nukleáris mágneses rezonancia spektroszkópiával és krio-elektronmikroszkópiával számos TJ fehérje háromdimenziós szerkezetét határozták meg (62).

A TJ számos transzmembrán fehérjéből és citoplazmatikus plakkból áll. A transzmembrán fehérjék a citoplazmában számos más alkotóelemmel állnak kapcsolatban, amelyek egy nagy fehérjekomplexet, a citoplazmatikus plakkot alkotják. Ezek a molekulák horgonyozzák a transzmembrán fehérjéket az aktomiozin sejtvázhoz. A transzmembrán fehérjék extracelluláris doménjeikkel a paracellularis térben lépnek kölcsönhatásba egymással, a sejt belsejében a citoszkeletonhoz kapcsolódnak. A zonula occludens fehérjék ZO-1, ZO-2 és ZO-3, valamint két emlős polaritás komplex fehérje (PAR-3/PAR-6/aPKC és a Crumbs/ PALS1/PATJ) központi szereplői a citoplazmatikus plakknak (62).

A TJ transzmembrán fehérjéket csoportosíthatjuk transzmembrán szegmenseik száma alapján. A Crumbs proteinek (CRB), a junkcionális adhézios molekulák (JAM), az angulin proteinek és a coxsackievírus-adenovírus receptor (CAR) egyetlen transzmembrán szakasszal rendelkeznek. A blood-vessel epicardial substance (BVES), más néven Popeye domain-containing protein-1 (POPDC1) egy TJ-asszociált fehérje, melynek három transzmembrán szakasza van (62-64). A claudinoknak (CLDN), a tight junction-associated MARVEL-domain proteineknek (TAMP), azaz az occludinnak (MARVELD1), a tricellulinnak (MARVELD2) és a MARVELD3-nak négy transzmembrán szakasza van (62, 65).

Más felosztás szerint két fő TJ-fehérjecsaládot különböztethetünk meg, a CLDN-okat, amelyek emlősökben 27 tagból állnak, és a TAMP-okat, amelyek az occludinból, a tricellulinból és a MarvelD3-ból állnak (61). Ezek számos TJ-asszociált szabályozó és

horgonyzó fehérjéhez kapcsolódnak. A főbb TJ-fehérjéket fiziológiai szerepük alapján csoportosítjuk, aszerint, hogy a transzport megakadályozása, vagy annak biztosítása a feladatuk. A CLDN1, -3, -5, -11, -14, -19 és a tricellulinnak elsősorban lezáró szerepe van, ezzel szemben a CLDN-ok jelentős része csatornákat képez a TJ-on keresztül, melyek közt van amelyik kationok (CLDN2, -10b és -15), vagy anionok számára szelektívek (CLDN10a és -17), és van, amely a víz számára permeábilis (CLDN2) (61). Számos TJ-fehérje funkciója még nem tisztázott, mivel az epiteliális permeabilitásra gyakorolt hatásuk nem konzisztens (CLDN4, -7, -8, -16 és occludin). A TJ-k szabályozása a fehérjeösszetétel vagy a fehérjék mennyiségének megváltoztatása révén történik, de bizonyos patofiziológiai állapotok is a TJ fehérjeösszetétel megváltozásával járnak, ilyen pl. a TJ fehérjékhez kötődő kórokozók hatása, a TJ fehérjeösszetétel megváltozása gyulladás és fertőzés során, valamint a TJ fehérjék megváltozott expressziója malignus megbetegedésekben (61).

1.6. Claudinok

A claudinok (CLDN) a hám- és endothelsejtek TJ-jait alkotó, 4 transzmembrán doménnel és 2 extracelluláris hurokkal rendelkező, integrált fehérjék. Emberben eddig 27 típusát írták le (66). A vesében például minden tubularis szegmensen a CLDN-ok egy meghatározott fajtája található, amely a paracellularis útvonal permeabilitását és szelektivitását befolyásolva egyedi tulajdonságokkal ruházza fel az adott szegmenst. Egyes ritka, autoszomális recesszív betegség háttérében igazolták a meghatározott CLDN hibás működését. A CLDN10b variánsai HELIX-szindrómát okoznak (hipohidrózis, elektrolitzavar, könnymirigy diszfunkció, ichtiózis, szájszárazság) (66, 67). A CLDN16 vagy CLDN19 variánsai pedig családi hypomagnesinaemiát okoznak hypercalciuriával és vesekövességgel (67).

A CLDN1 mutációi ichtiózissal járó neonatális szklerotizáló cholangitist, a CLDN14 mutációi pedig nem szindrómás süketséget okoznak (66).

1.6.1. Claudin expresszió a tüdőben

A tüdőnek megfelelő határvonalat kell fenntartania a légterek és a folyadékkal teli szövetek között. A tüdő folyadékegyensúlyának fenntartásában központi szerepet játszanak a hámsejtek. E sejtek barrierfunkcióját elsősorban a CLDN-ok biztosítják. A hám barrierfunkciója a légzőrendszer egyes szegmenseinek különböző szerepétől függően változik. Az alsó légutakban folyadékra van szükség a mucociliaris clearance fenntartásához, míg a terminális alveolaris légterekben a surfactant vékony rétege csökkenti a felületi feszültséget a légtér összeomlásának megakadályozása érdekében, és kritikus fontosságú a gázcserehez. Mivel a légutak különböző szegmenseiben a hámsejtek különböznek, az ezekben a hámsejtekben található CLDN-ok összetétele is eltérő (68).

A tüdőben expresszálódó klasszikus CLDN-ok közül a legelterjedtebb a CLDN1, -3, -4, -5 és -7 (68-70), de szintén gyakran előfordul a CLDN8 és -10 (68, 70-73). A CLDN1 a fejlődés során látványosan feldúsul az alsó légúti bronchialis epitheliumban, de a transitionális légutakban nem, ellentétben a CLDN4-gyel és -7-tel, amelyek a légutakban mindenhol expresszálódnak (68, 74, 75). A CLDN5-öt mind a tüdőhámsejtek, mind az endothelsejtek kifejezik (68). A tüdőben messze a legelterjedtebb nem klasszikus CLDN a CLDN18, amely az alveolaris epitheliumban expresszálódik, de a légút többi részén nem mutatható ki (68, 69, 76).

Úgy tűnik, a CLDN18-nak változatos és összetett szerepe van az alveolaris epithelium szabályozásában, a postnatalis alveolarisatióban és valószínűleg általánosságban a tüdő epithelialis differenciálódásában is részt vesz (68). LaFemina és munkatársai egerekben vizsgálták a CLDN18 szerepét a tüdő postnatalis fejlődésében. Szövetteni vizsgálattal igazolták, hogy CLDN18 hiányos egerek 4 héttel a születés után károsodott alveolarisatiót mutattak a 3 napos állatokhoz képest, melyeken nem találtak kóros eltéréseket (77). A CLDN18 szerepe az alveolusok fejlődésében felveti annak lehetőségét, hogy a CLDN18 expressziójának vagy működésének zavara állhat bizonyos tüdőbetegségek hátterében, amelyek az alveolaris morfológia sérülésével járnak, mint a tüdőfibrozis vagy a krónikus obstruktív tüdőbetegség (COPD) (68).

A CLDN4 paracellularis permeabilitásra gyakorolt hatása függ a környezetétől. A TJ szerkezettől függően a CLDN4 lehet szelektív nátriumbarrier a kloridszelektivitás befolyásolása nélkül (78, 79), képezhet kloridcsatornát (80) vagy teljes gátat is (81). A

CLDN4 egyik élettani szerepe, hogy védő hatást gyakorol a tüdőkárosodással szemben (81-83).

Betegekben a megnövekedett CLDN4 szint jobb tüdőfolyadék eltávolítási képességgel járt és csökkent a fiziológiás légzési károsodás mértéke (83). Ezzel összhangban egerekben mechanikus trauma (VILI) vagy hyperoxia hatására a CLDN4 expressziója sokszorosára emelkedik (82, 84). Az egyik hipotézis szerint a CLDN4 folyadék eltávolítására gyakorolt fenti jótékony hatására az a magyarázat, hogy a CLDN4 az ioncsatornákon keresztül végbemenő nátriumtranszport kiegyensúlyozására útvonalat biztosít a paracellularis klorid-kiáramlás számára (85).

1.6.2. Caudin expresszió különböző tumorokban

Mivel a CLDN-ok felelősek a TJ-ok szerkezeti és funkcionális integritásáért, ezért kezdetben azt feltételezték, hogy csak a CLDN-ok expressziójának csökkenése vagy teljes hiánya tesz kárt a sejtek közötti-sejt adhézióban és a polarításban, ami növeli az epithelsejtek motilitását és migrációs potenciáljukat (86, 87). Valóban, meglehetősen nagyszámú klinikopatológiai vizsgálat támasztotta alá ezt a paradigmát, amelyek egyes CLDN-ok csökkenését vagy teljes hiányát mutatják ki különböző malignus megbetegedésekben (88). A közlemények túlnyomó többsége a CLDN család első nyolc tagjának tumorgenezisben betöltött szerepével foglalkozott, sokkal kevesebb kutatás foglalkozott a család fennmaradó tizenkilenc tagjával, utóbbiak közül leginkább CLDN11, -12, -14, -15, -16, -18 és -20 szerepét vizsgálták (88).

Méhnyakrákban pl. az alacsony CLDN12 szint rossz prognózist jelez (89). Emlőrákban a CLDN7 expresszió csökkenése korrelációt mutatott a tumor hisztológiai grádusával mind in situ ductalis carcinoma (DCIS), mind invazív ductalis carcinoma (IDC) esetében (90). Emlőrákban a CLDN1 expresszió korrelált a daganat kiújulási hajlamával és a malignus potenciáljával. A recidíváló tumorokban csökkent volt a CLDN1 szintje a nem recidíváló csoporthoz képest. Az alacsony CLDN1 expresszió rövidebb betegségmentes túléléssel járt, a nyirokcsomó áttét szintén alacsonyabb CLDN1 szinttel járt (91).

A CLDN1, -3, -4 és -5 expressziója alacsonyabb a gyomorrák diffúz típusában. Az expresszió csökkenése nem egyértelműen függött össze a rosszabb diagnózissal, kivéve a CLDN3 esetében, ahol az erős expresszió jobb kimenetellel járt (92).

Hepatocellularis carcinomában a CLDN1 csökkenése korrelált a malignitás fokával, a rosszul differenciált daganatok többségében (78%) csökkent a CLDN1 expresszió. A portalis inváziót mutató tumorokban szignifikánsan csökkent a CLDN1 expresszió és a májeltávolítást követő túlélés szignifikánsan kedvezőtlenebb volt alacsony CLDN1 szint esetén (93).

Nyelőcső laphámrákban a CLDN1 expresszió korrelált a kiújulási hajlammal és a rossz prognózissal. A nyirokér-invázióval járó esetekben a CLDN1 expresszió szignifikánsan alacsonyabb volt, továbbá a CLDN1 csökkent expressziója rövid betegségmentes túléléssel és teljes túléléssel járt együtt (94).

Prosztatarákban a CLDN1 és CLDN5 alacsony expressziója 7-es vagy magasabb Gleason pontszámmal és magas PSA-értékkel járt. Ezek alapján valószínűsíthető, hogy hatással vannak a prosztatarák kialakulására, progressziójára és prognózisára (95).

A csökkent CLDN expresszió kóroki szerepével kapcsolatos eredmények mellett azonban szabályozásra vonatkozó adatokkal együtt azonban fokozatosan felhalmozódtak az ezzel közvetlenül ellentétes információk is, miszerint a CLDN-ok túlzott expressziója szintén összefüggésbe hozható a tumor növekedésével és áttétképződésével (88, 96).

A CLDN1 overexpressziója pl. a vastagbélrák négyszeres növekedésével hozható összefüggésbe (97), valamint a sejtinvázió növekedésével szájüregi laphámsejtes carcinomában (98).

Óvária carcinomában gyakran emelkedett a CLDN3, CLDN4 expressziója (99). Serosus ovarium carcinomában a magas CLDN3 szint rövidebb teljes túléléssel járt együtt, ez alapján ebben a betegcsoportban a CLDN3 független negatív prognosztikai faktornak bizonyult (100).

A CLDN1 és -4 magas expressziója az emlőrák basal-like fenotípusával volt összefüggésben, valamint az ehhez az altípushoz kapcsolódó rossz prognózissal (101, 102), a CLDN4 magas szintje pozitívan korrelált az emlőrák nagyobb malignitásával, és megbízhatóan összefüggött a kiújulásmentes és a teljes túlélés csökkenésével (103).

Emlőrákban a CLDN2 mint független prognosztikai biomarker nemcsak az emlőrák kiújulásának valószínűségét, hanem a primer tumor májmetasztatikus potenciálját is képes megjósolni. A CLDN2 szignifikánsan overexpresszált volt a májmetasztázisokban a többi metastatikus helyhez képest, gyakrabban expresszáldott olyan betegek primer

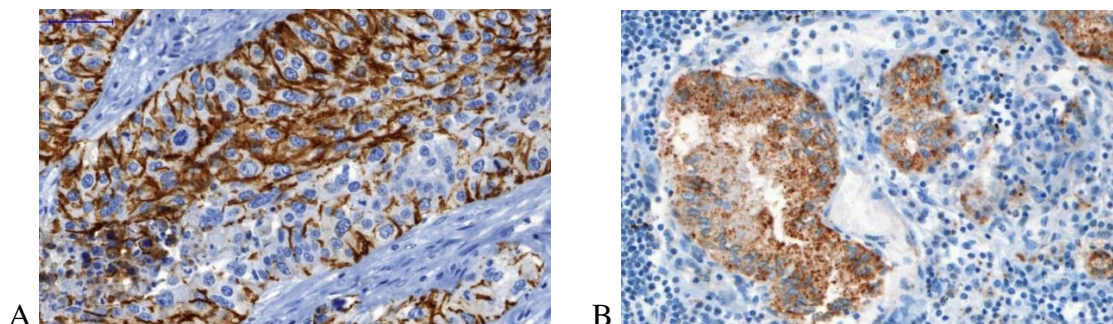
tumorjában, akiknél később májmetasztázisok alakultak ki, és a magas expresszió rövidebb metasztázismentes periódussal járt együtt (104).

A fentiekben idézett munkák összességében azt bizonyítják, hogy mind a CLDN-ok expressziójának csökkenése, mind a rendellenes túltermelődésük összefüggésbe hozható a rosszindulatú daganatok kialakulásával. Ebből a szempontból érdekes, hogy bizonyos esetekben egy adott daganatos betegségben több CLDN expresszióját vizsgálva egy bizonyos CLDN expressziójának csökkenése mellett egyidejűleg egy másik növekedését észlelik (88). Például a prosztatákban a CLDN1 és -7 expressziójának hiánya mellett a CLDN3, -4 szint együttes emelkedését írták le, és pontosan ez az expressziós mintázat járt együtt a tumor magasabb malignitásával (105).

A fenti példák azt mutatják, hogy számos tanulmány a CLDN-ok kóros expressziója és a prognózis különböző aspektusai közötti összefüggések feltárására irányul, mint pl. a betegek túlélésének és a betegség kiújulásának változói, valamint fontos klinikopatológiai paraméterek. Ezeken túlmenően azonban a CLDN expressziójának jellegzetes változásai a tumor lokalizációjától és típusától függően differenciáldiagnosztikai célokra is felhasználhatók (88, 106). A CLDN3 és -4 expressziója pl. rendszerint megnövekedik a metasztatikus pleurális carcinomákban, míg a mesotheliomában általában negatívak (107).

1.6.3. Claudin expresszió tüdőrákban

2007-ben hazai munkacsoport közölte le elsőként a tüdőrák különböző szövettani altípusainak CLDN1, -2, -3, -4 és -7 expresszióját, és leírták az egyes CLDN-ok intracelluláris lokalizációját (108). Míg a CLDN1, -3, -4 és -7 membránókus pozitivitást mutatott, addig a CLDN2 intracitoplazmatikusan helyezkedett el (5. ábra A és B).



5. ábra. CLDN IHC celluláris lokalizációja

A: CLDN1 membranózus immunpozitivitás SCC-ben, B: CLDN2 citoplazmatikus immunpozitivitás ADC-ben. (x200)

A vizsgálat során az egyes tüdőrák altípusok között szignifikáns CLDN expressziós profil különbség került leírásra. Az ADC és SCC között szignifikáns különbség mutatkozott a CLDN3, -4 és -7 expressziójában. Az SCLC-k erős immunpozitivitást mutattak a CLDN3, -4 és -7 esetében, és kevésbé erősen festődtek a CLDN1-gyel, a CLDN2 esetében azonban minden tumor negatív volt. Az SCLC-vel ellentétben a carcinoidok túlnyomó többsége nem mutatott CLDN1, -2, -3 és -4 immunpozitivitást. ADC és SCLC között csak a CLDN2 esetén volt szignifikáns különbség. ADC és carcinoid a CLDN1, -3, -4 esetén mutatott szignifikáns különbséget, SCC és SCLC CLDN2, -3, -4 esetén különböztek, SCC és carcinoid CLDN1 és -4 expressziójában különböztek (108).

2009-ben egy taiwani munkacsoport publikálta, hogy tüdő ADC-ben a CLDN1 metasztázis szupresszorként viselkedik és expressziója összefügg a klinikai lefolyással (109). Az alacsony CLDN1 expresszió rövidebb teljes túléléssel jár, továbbá a CLDN1 overexpressziója gátolja a rákos sejtek disszociációját, migrációját, invázióját és a metasztázisképződést. Vizsgálataik szerint a CLDN1 kiütése növelte a malignus sejtek invazivitását és metasztatizáló készségét. Ezzel szemben, 2016-ban egy kínai vizsgálat a fentiekkel ellentétes véleményt fogalmazott meg, ugyanakkor hivatkoztak közleményükben a fent említett taiwani eredményekre (110). 2017-ben Moldvay és munkatársai egy hazai vizsgálat során arra az eredményre jutottak, hogy a CLDN1 jó prognózissal jár együtt tüdő SCC-ben, de ADC esetén nem volt kimutatható összefüggés a CLDN1 expresszió és a betegség lefolyása között (111).

A CLDN6 alacsony expressziója NSCLC-ben a rossz prognózis független prognosztikai faktora, nyirokcsomó metasztázissal és alacsonyabb túlélési rátával társult (112).

A CLDN7 gátolja humán tüdőráksejtekben a sejtek migrációját és invázióját az ERK/MAPK jelátviteli útvonalon keresztül, válaszul a növekedési faktor stimulációjára (113).

Az emelkedett CLDN12 szint elősegíti a bronchialis epithelsejtek metasztatizáló fenotípusának kialakulását és rossz prognózissal jár tüdő SCC-ben (114).

Chae és munkatársai egy retrospektív vizsgálatban tüdő ADC miatt műtött, komplett resection átesett betegek mintáit vizsgálták, akik nem kaptak adjuváns kemoterápiát ill. sugárkezelést. A szövettani mintákon IHC-festéssel tanulmányozták a CLDN1, -3, -4, -5, -7 és -10 protein expressziót és ezek összefüggését a daganat kiújulásával. Nem volt összefüggés a hagyományos tényezők – beleértve a nyirok- és érinváziót – és a kiújulás között, szignifikáns összefüggés volt azonban a CLDN4 magas expressziója és a daganat kiújulása között, illetve a CLDN1, -4 és -5 magas expressziója és a betegségmentes túlélés csökkenése között. Véleményük szerint, mivel a CLDN4 fokozott expressziója negatív prognosztikai tényező volt, így felhasználható a magas kockázatú betegek azonosítására adjuváns kemoterápia szükségességének megítélése céljából, még akkor is, ha korai stádiumú tüdőrákról van szó. Eredményeik együttesen azt sugallják, hogy a CLDN expresszió, mint prognosztikai tényező, figyelembevétele a magas kockázatú betegek aktív posztoperatív kezelésében jobb terápiás eredményekhez vezethet kevesebb mellékhatással (115).

1.6.4. Claudin expresszió adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

Pulmonalis eredetű ACC-ben ill. MEC-ben nem vizsgálták még a CLDN-ok expresszióját és nyálmirigy eredetű ACC-vel és MEC-kel kapcsolatban is csak kevés információ áll rendelkezésre.

Ji és munkatársai a CLDN7 expressziójának és a sejtekben betöltött funkcióját vizsgálták nyálmirigy eredetű (salivary) ACC-ben (SACC) (116). Meghatározták a CLDN7 expresszióját a SACC tumorokban és értékelték a CLDN7 expresszió és a klinikopatológiai változók közötti összefüggést. Mindezek mellett létrehoztak egy CLDN7 knockdown SACC-LM sejtvonalat és felmérték biológiai viselkedésének változásait (a sejtleletképeség, migráció és invázió szempontjából), továbbá elemezték a

CLDN7 és az epithelialis-mesenchymalis transzformáció (EMT) közötti összefüggést. Ezenkívül egy subcutan tumorképződési modellt használtak a SACC-LM sejtek tumorigenitásának értékelésére a CLDN7 knockdownt követően. A vizsgálatban azt találták, hogy a CLDN7 expressziója a tumoros csoportban alacsonyabb volt, mint a normál nyálmirigy szövetben és ez szignifikánsan korrelált a nyirokcsomó-metasztázisokkal, a kiújulással és a nemmel. A CLDN7 knockdown növeli a SACC proliferációs- és metasztázisképességét, ezenkívül a CLDN7 knockdown elősegítette a tumor növekedését meztelen egerekben. A CLDN7 gátolja a sejtek proliferációját és metasztázisát azáltal, hogy inaktíválja a Wnt/b-catenin jelátviteli folyamatot a SACC-ban. Így a CLDN7 expresszió hasznos marker lehet a SACC progressziójának potenciális azonosítására.

A haematogen áttétképződés a SACC egy fontos klinikai jellemzője, mely leggyakrabban pulmonalis áttétet vezet (117). A tumorból származó exoszómákról (TDE) kimutatták, hogy részt vesznek a rákos sejtek terjedésének különböző lépéseiben, szerepük van a migráció és az invázió serkentésében az EMT aktiválásával a neoplasztikus epithelsejtekben (118).

Hou és munkatársai SACC sejtvonalon (SACC-83) vizsgálták, hogy az EMT részt vesz-e a migráció és invázió TDE által közvetített fokozásában. TDE kezelést követően western blot segítségével kimutattak egy sor olyan fehérjét, amelyek ismert EMT-markerek. Az eredmények azt mutatták, hogy nem volt szignifikáns különbség az E-cadherin, N-cadherin, vimentin expressziójában TDE-vel kezelt és a kontroll sejtek között, viszont a TJ-vel kapcsolatban hozható fehérjék expressziós szintjei, mint például a ZO-1, CLDN1 és β -catenin, szignifikánsan lecsökkentek a TDE-vel történő kezelés után. A TDE kezelés emelte a SACC-83 sejtek migrációs és inváziós kapacitását és növelte az endothelsejt permeabilitását. Bizonyították, hogy a TJ-vel kapcsolatos fehérjék (CLDN1, -5 és ZO-1) expressziója csökkent, ami valószínűleg szerepet játszott a SACC sejtek TDE-mediálta változásában, a migráció- és invázióhajlam, ill. a metasztázisképzés növekedésében. A CLDN5 specifikusan expresszálódik az endothelsejtekben, szerepet játszik az endothel-permeabilitás szabályozásában és a vascularis-endothelialis barrier fenntartásában (119).

Abd El-Ghani és munkatársai a CLDN4 expresszióját vizsgálták nyálmirigy daganatokban, és azt találták, hogy a CLDN4 expresszió fokozatosan csökkent a normál

szövetből, a jóindulatú daganatokon át, és a legalacsonyabb szintet a rosszindulatú nyálmirigy daganatokban érte el. Eredményeik alapján arra a megállapításra jutottak, hogy az alacsony CLDN4 expresszió a nyálmirigy-tumorokban a növekvő sejtes dezorientáltság és invázió jelének tekinthető (120).

Arruda és munkatársai szájüregi MEC-ekben vizsgálták a CLDN1, -3, -4, -5 és -7 expresszióját, értékelték összefüggéseiket a klinikopatológiai paraméterekkel (121). In vitro körülmények között, valós idejű RT-PCR technikával vizsgálták az EGF hatását a CLDN-ok génexpressziójára. Eredményeik szerint a szájüregi nyálmirigy MEC-ban a CLDN-ok expressziója fennmarad, a CLDN1, -3, -4, -5 és -7 a legtöbb MEC-ban erősen expresszálódott. Mintázatuk azt mutatta, hogy expressziójuk főként az intermedier és epidermoid sejtekben jelentkezik a normál szövetekhez hasonlóan. A CLDN1 magas expressziója a 40 év feletti életkorhoz és a kaukázusi rasszhoz társult. Az in vitro kísérletek azt mutatták, hogy a CLDN génexpresszió az EGF stimulációt követően tendenciaszerűen növekszik.

Arrojo és munkatársai TJ proteinek kódoló gének expresszióját vizsgálták MEC-ban és pleomorph adenomában RT-PCR segítségével (122). A CLDN1 és -7 magas, a CLDN3, -11 és TJP2 alacsony expresszióját figyelték meg MEC-ban a pleomorph adenomához képest. A CRTC1::MAML2 fúziót a MEC-minták 60%-ban mutatták ki, és ez összefüggött a CLDN7 expressziójával, míg a fúzió hiánya high-grade tumorokhoz társult. A CLDN5 fokozott expressziója a submandibularis mirigy tumorokhoz társult. Mivel az eredmények a TJ fehérjéket kódoló gének differenciált expresszióját és a tumor jellemzőivel való összefüggésüket mutatta ki, arra következtettek, hogy ezek a jövőben diagnosztikai és prognosztikai markerként játszhatnak szerepet.

Aro és munkatársai 39 beteg nyálmirigy eredetű MEC mintáján elemezték a CLDN1, -3, -4 és -7 expressziójának eloszlását és intenzitását, ill. a tumor grade és a túlélés közötti összefüggéseket (123). A CLDN1 magas expressziója low-grade MEC-ben volt megfigyelhető, és a jó prognózis megfelelő markerének tűnt. Az esetek 89,7%-ában a szövettani osztályozáshoz hasonlóan osztályozta a MEC-et. A CLDN3 magas expressziója intermediate- és high-grade MEC-ben volt megfigyelhető, míg a low-grade MEC-ben alacsony volt. A CLDN3 intenzitása az esetek 71,8%-ában helyesen osztályozta grade szerint a tumorokat. Fenti eredmények alapján arra a következtetésre

jutottak, hogy a CLDN1 és -3 festődési intenzitásának elemzése hasznos kiegészítő diagnosztikai és prognosztikai eszköz lehet a nyálmirigy MEC-ek diagnosztikájában.

2. CÉLKITŰZÉSEK

A jelen dolgozatban két közelmúltban publikált vizsgálat eredményeit ismertetjük, melyek témája ritka tüdőtumороk PD-1/PD-L1, illetve CLDN expressziójának vizsgálata volt (124, 125).

2.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumороkban

- Vizsgálatunk célja az volt, hogy meghatározzuk a PD-1 és PD-L1 protein expresszió mértékét ritka tüdőtumороkban, és ezáltal felmérjük az immunterápia lehetséges szerepét ezen tumороk kezelésében.
- A PD-L1 protein expressziót a tumorsejtekben és az immunsejtekben kívántuk vizsgálni, míg a PD-1 protein expressziót az immunsejtekben terveztük tanulmányozni.
- Célunk volt továbbá a két ritka tüdőrák szövettani típus PD-1 és PD-L1 expressziója közti különbség vizsgálata, valamint a főbb klinikopatológiai jellemzőkkel való korreláció vizsgálata.

2.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinómában és mucoepidermoid carcinómában

- Vizsgálatunk célja különböző CLDN fehérjék expressziójának vizsgálata volt tüdő eredetű ritka nyálkamirigy tumороkban.
- A CLDN expressziós mintázat leírása mellett célunk volt a vizsgált két ritka tüdőrák szövettani típus CLDN expressziójának összehasonlítása, továbbá a főbb klinikopatológiai paraméterekkel való korreláció tanulmányozása.

3. MÓDSZEREK

3.1. Betegcsoportok

3.1.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdődaganatokban

Retrospektív vizsgálatunkban 66 patológiailag verifikált ritka tüdődaganatot, köztük 26 MEC-et, 27 ACC-t és 13 tracheobronchialis papillomát (TBP) vizsgáltunk. Mivel a betegeket 1987-2019 között diagnosztizálták és kezelték az Országos Korányi Pulmonológiai Intézetben, ezért valamennyi tumorminta ismételt szövettani elemzését elvégeztük. Az ACC és a MEC diagnózisokat a következő IHC markerekkel erősítettük meg: pancytokeratin, aktin, S100 és p63. A betegek klinikopatológiai jellemzőit az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat. Az 1987-2019 között diagnosztizált és kezelt 66 beteg főbb jellemzői

MEC: mucoepidermoid carcinoma; ACC: adenoid cysticus carcinoma; TBP: tracheobronchial papilloma; NA: nincs adat

Szövettani típus		MEC	ACC	TBP
Esetszám		26	27	13
Nem	Férfi	16 (62%)	9 (33%)	11 (85%)
	Nő	10 (38%)	18 (67%)	2 (15%)
Átlagéletkor, tartomány (év)		43,4 (24-67)	54,4 (32-83)	54,2 (21-80)
Dohányzási anamnézis (soha/leszokott/dohányos/NA)		14/1/6/5	11/6/5/5	3/1/4/5
Bronchoszkópos / Sebészi minta		7/19	18/9	12/1
Stádium	IA/IB	9/8	0/7	
	IIA/IIB	0/3	0/1	
	IIIA/IIIB	2/0	16/0	
	IV/nd	1/3	0/3	

3.1.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

Retrospektív vizsgálatunkban 1987 és 2023 között diagnosztizált 12 ACC-t és 23 MEC-et tanulmányoztunk. 27 esetben sebészi resectio történt, 8 betegnél pedig merev bronchoszkóppal, általános érzéstelenítésben végzett bronchoszkópos tumoreltávolítás. A sebészi resectio eseteiben patológiai TNM-et (pTNM), míg a bronchoszkópos kimetszés eseteiben klinikai TNM-et (cTNM) alkalmaztunk. A betegek klinikopatológiai jellemzőit a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat. Az 1987-2023 között diagnosztizált és kezelt 35 beteg főbb jellemzői

ACC: adenoid cysticus carcinoma; MEC: mucoepidermoid carcinoma; NA: nincs adat;

¹Fisher exact teszt;²Kruskal-Wallis teszt; A P-értékek nem korrigált értékek, de vastag betűvel jelöltük azokat az összefüggéseket, amelyek a korrekció után is szignifikánsak maradtak.

A többszörös teszt korrekciót Benjamini-Hochberg-módszerrel végeztük.

	ACC N=12	MEC N=23	p-value
nem:			1,000 ¹
nő	5 (41,7%)	10 (43,5%)	
férfi	7 (58,3%)	13 (56,5%)	
átlagéletkor, tartomány (év)	64 (32-81)	48 (19-67)	0,014 ²
dohányzás:			0,175 ¹
soha	4 (33,3%)	11 (47,8%)	
leszokott	2 (16,7%)	0 (0,00%)	
dohányos	4 (33,3%)	7 (30,4%)	
NA	2 (16,7%)	5 (21,7%)	
grade:			0,010 ¹
1	0 (0,00%)	11 (47,8%)	
2	10 (83,3%)	9 (39,1%)	
3	2 (16,7%)	3 (13,0%)	
vaszkuláris érintettség:			0,594 ¹
nem	10 (83,3%)	21 (91,3%)	
igen	2 (16,7%)	2 (8,70%)	
lymphoid infiltráció:			0,709 ¹
enyhe	9 (75,0%)	15 (65,2%)	
közepes	3 (25,0%)	8 (34,8%)	
nekrózis:			0,725 ¹
nem	7 (58,3%)	11 (47,8%)	
igen	5 (41,7%)	12 (52,2%)	
stádium kategória:			0,016 ¹
I.	3 (25,0%)	16 (69,6%)	
II.	2 (16,7%)	4 (17,4%)	
III.	5 (41,7%)	3 (13,0%)	
IV.	2 (16,7%)	0 (0,00%)	
minta típusa:			
bronchoszkópos minta	7 (58,3%)	1 (4,3%)	
sebészi minta	5 (41,7%)	22 (95,7%)	

3.2. Immunhisztokémia

3.2.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban

A sebészeti minták esetében immunhisztokémiai (IHC) festést végeztünk TMA (tissue microarrays) multiblokkokon (5×6 -os panel; átmérő 2 mm), páciensenként dupla vagy tripla kiszúrásokkal, melyek a formalinban rögzített, paraffinba ágyazott (FFPE) szövetminták reprezentatív területeiről származtak (TMA Master; 3DHistech, Budapest, Magyarország). A bronchoszkópos excindátumok esetében $3\mu\text{m}$ vastagságú metszetek készültek az IHC vizsgálathoz TMA nélkül.

Először Ventana SP142-t használtunk primer PD-L1 antitestként (SP142 klón, 1:100 hígítás; Spring Bioscience, Ventana; Oro Valley, AZ). Nem észleltünk azonban semmilyen immunreakciót sem a tumorsejteken (TC), sem az immunsejteken (IC), ezért ezt követően PharmDx 22C3 antitestet alkalmaztunk. A PD-1 festéshez Abcam 52587 antitestet használtunk. Az egér monoklonális PD-L1 és PD-1 antitesteket (PharmDx, 22C3-as klón, azonnal felhasználható, illetve Abcam, NAT105-ös klón, 1:50 hígítás) az IHC-hez standardizált protokollok szerint használtuk. Deparaffinizálás és rehidratálás után a metszeteket 3%-os H_2O_2 oldatban 10 percig inkubáltuk a nonspecifikus háttérfestés csökkentésére. Ezt követően 40 percig 10 mM citrát pufferben (pH 6,0) 98°C -on melegítettük. A mintákat ezután 5 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk Ultra V Block (UltraVision LP detection system, Lab Vision Corporation, Thermo Fisher Scientific Inc., Pittsburgh, MA, United States) használatával, majd a PD-L1 és PD-1 antitest inkubálása következett másnapig 4°C -on. Az immunreakciót az UltraVision LP Detection System használatával detektáltuk a gyártó ajánlásainak megfelelően (Lab Vision Corporation). Az antitest vizualizálását 3-3'-diaminobenzidinnel (DAB) és hematoxylin ellenfestéssel végeztük. Pozitív kontrollként placentaszövetet használtunk. Az összes mintát gyakorlott patológus vizsgálta meg ($\times 400$ -as nagyítással) és értékelte ki. A pozitív TC és IC értékét félkvantitatív módszerrel határoztuk meg, a pozitív sejtek százalékos arányaként. A TC-nek 1%, 5% és 50%, míg az IC-nek 1%, 5% és 10%-os határértékeket rögzítettünk, amelyek a leggyakrabban használt küszöbértékek, és amelyeket mi is alkalmaztunk a korábbi tanulmányainkban is (54-56, 126-128).

3.2.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

Mivel a biopsziás szövetminták túlnyomó többségét 2020 előtt vették, ezért az összes tumormintát újra megvizsgáltuk. Az ACC és a MEC diagnózisát a következő immunhisztokémiai (IHC) markerekkel erősítettük meg: pancytokeratin, aktin, S100 és p63. A szöveti jellemzőket, mint például a tumor grádusát (1-3), a nekrozis jelenlétét (igen/nem), az érinfiltráció jelenlétét (igen/nem) és a lymphoid infiltráció mértékét (enyhe/közepes) hematoxin-eozinnal festett metszeteken határoztuk meg.

A sebészeti minták esetében az IHC-festést TMA-kon (5x6; átmérő, 2 mm) végeztük. Szövetblokkokként egy vagy két kiszúrás (core biopszia) történt, amelyeket FFPE szövetminták kiválasztott területeiből készítettünk (TMA Master; 3DHistech, Budapest, Magyarország). A bronchoszkópos kimetszések esetén 3 µm vastagságú metszeteket készítettünk az IHC-khez TMA-készítés nélkül.

Az immunreakciókhoz a következő antitesteket és hígításokat használtuk: CLDN1 mAb (Invitrogen, 1:200), CLDN2 mAb (Invitrogen, 1:300), CLDN3 pAb (Invitrogen, 1:200), CLDN4 mAb (Invitrogen, 1:200), CLDN5 mAb (Invitrogen, 1:20), CLDN7 mAb (Invitrogen, 1:200) és CLDN18 mAb (Invitrogen, 1:200). Minden primer antitestet 42°C-on inkubáltunk 32 percig. Az IHC festéseket a Roche Ventana Benchmark ULTRA automatizált tárgylemezfestő készülékkel (Ventana Medical Systems, Roche Diagnostics, Franciaország) végeztük az UltraView univerzális DAB IHC Detection Kit (Roche, Franciaország) segítségével. Az antitestek vizualizálása után a tárgylemezeket hematoxinnal ellenfestettük. Pozitív kontrollként CLDN pozitív tüdőrákszöveteket használtunk a CLDN1, -2, -3, -4, -5, -7 és -18 reakciókhoz.

Minden metszetet két tapasztalt patológus 400x-os nagyítással vizsgált és értékelt. Az immunpozitivitás szintjét a H-score segítségével határoztuk meg, amelyet a festődés intenzitásának (osztályozva: 0 = nem festődik; 1 = gyenge; 2 = közepes; vagy 3 = erős) és a pozitív sejtek százalékos arányának szemikvantitatív értékelésével számoltunk ki.

3.3. Statisztikai analízis

3.3.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban

Minden statisztikai elemzést az SPSS Statistics 25.0 package (SPSS Inc., Chicago, IL, Egyesült Államok) szoftver segítségével végeztük. Az életkor szerinti felosztáshoz az onkológiai vizsgálatokban egyik leggyakrabban használt küszöbértéket (55 év) használtuk (129).

Az alacsony esetszám miatt a kategorikus adatokat, mint az életkor (≤ 55 év vs. > 55 év), a nem (férfi vs. nő) és a dohányzási előzmények (soha nem dohányzott vs. korábban dohányos volt vs. jelenleg is dohányos) a Fisher-féle egzakt próbával vizsgáltuk. A különböző PD-L1/PD-1 alcsoportok ($< 1\%$ vs. $\geq 1\%$) összehasonlítása szintén a Fisher-féle egzakt próbával történt. Minden közölt p-érték kétoldali próbából származott, és 0,05 vagy annál alacsonyabb értéket tekintettük statisztikailag szignifikánsnak.

3.3.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

Minden statisztikai elemzést az R 4.2.1-es verziójával végeztünk (R Foundation for Statistical Computing, Bécs, Ausztria). A kategorikus és ordinális paraméterek statisztikai elemzését Fisher-féle egzakt próbával végeztük. A folytonos változókat Mann-Whitney-teszttel vagy Kruskal-Wallis-teszttel hasonlítottuk össze. A minták hierarchikus klaszterezését a mért expressziós szintek alapján a ComplexHeatmap R szoftvercsomag használatával végeztük (v.2.10.0; URL: <https://jokergoo.github.io/ComplexHeatmap-reference/book/>; utolsó elérés dátuma: 5/10/2021). A távolságmátrixot az euklideszi távolságmértékkel számoltuk ki, a dendrogramokat pedig a ward.D klaszterezési módszerrel hoztuk létre. Az expressziós szintek korrelációit páronkénti módon, Pearson korreláció segítségével számoltuk ki. A lineáris korrelációs együttható (R) értéke -1 és 1 között változik mindkét értéket beleértve. Az elemzések során a Benjamini-Hochberg korrekciót alkalmaztuk a többszörös teszt korrekcióra.

3.4. Etikai engedélyek

A vizsgálatainkat a Helsinki Nyilatkozatban foglalt irányelvekkel összhangban végeztük. A vizsgálathoz ETT TUKEB ill. ÁNTSZ engedéllyel rendelkezünk (ETT 7214-1/2016/EKU [0109/16], ÁNTSZ IF-77-3/2016, SE IKEB241/2016). A retrospektív vizsgálathoz a betegektől beleegező nyilatkozatra nem volt szükség. A klinikai adatok összegyűjtését követően után a betegazonosítókat eltávolítottuk, hogy a betegeket sem direkt, sem indirekt módon ne lehessen azonosítani.

4. EREDMÉNYEK

4.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumzorokban

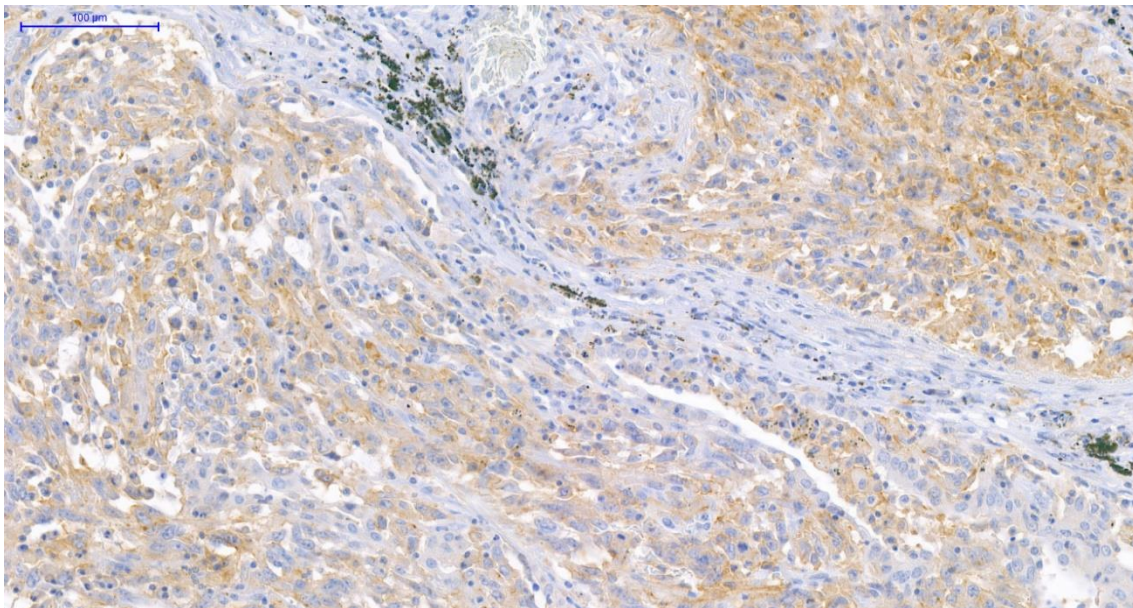
4.1.1. PD-1 expresszió

A PD-1 expressziót immunsejteken 5 MEC (19.2%), 4 ACC (14.8%) és 2 TBP (15.4%) esetén tudtunk kimutatni. Mindössze egyetlen MEC esetben mutatkozott 5%-nál nagyobb PD-1 expresszió az immunsejteken.

Mivel csak nagyon kevés mintán találtunk 5%-ot meghaladó PD-L1/PD-1 expressziót a tumorsejteken (TC) és az immunsejteken (IC), ezért dichotomizált kategóriákat használtunk a statisztikai analízishez (azaz pozitív ($\geq 1\%$) vs. negatív ($< 1\%$)).

4.1.2. PD-L1 expresszió

Tekintettel arra, hogy az elsőként használt Ventana SP142 antitesttel végzett PD-L1 immunfestés nem adott pozitív immunreakciót egyik mintán sem, ezért a továbbiakban PharmDx 22C3 antitestet használtunk. PD-L1 expressziót tumorsejteken 2 MEC mintán (7.7%) és 1 ACC mintán (3.7%) tudtuk kimutatni, és nem adott reakciót a TBP mintákon. Ugyanakkor PD-L1 expresszió az immunsejteken 9 MEC esetben (34.6%) és 4 ACC esetben (14.8%) volt kimutatható, és nem volt detektálható a TBP mintákon. A MEC minták nagyobb arányban festődtek, mint az ACC minták, de ez a különbség nem volt szignifikáns ($p = 0,119$). Mindegyik PD-L1 TC pozitív tumor mintán PD-L1 IC pozitivitást is megfigyeltünk. 5%-nál magasabb PD-L1 TC és/vagy IC expresszió csak egy ACC és 2 MEC esetben mutatkozott. Közülük az egyik MEC mintán, mely egy dohányos nőtől származott, tumorsejteken 50%-ot meghaladó, míg immunsejteken 10%-nál nagyobb immunpozitivitást tudtunk igazolni (6. ábra); egy férfitől származó MEC mintán 5-49% PD-L1 TC szint mutatkozott, egy másik férfitől származó ACC mintán 5-9% PD-L1 IC szint mutatkozott.



6. ábra. PD-L1 IHC MEC-ben

Az IHC >50% PD-L1 pozitív tumorsejteket és >10% PD-L1 pozitív immunsejteket mutat ($\times 200$).

4.1.3. Korreláció a PD-1/PD-L1 expresszió és a klinikopatológiai adatok között

Megvizsgáltuk a potenciális összefüggéseket a klinikopatológiai adatok és a tumorok különböző PD-1/PD-L1 expressziós profilja között. MEC esetén 1%-nál nagyobb immunpozitivitás tumorsejteken vagy immunsejteken szignifikánsan több esetben volt kimutatható 55 évesnél idősebbeknél, mint ennél fiatalabbaknál ($p = 0,046$ ill. $p = 0,01$). Ezen a megfigyelésen kívül semmilyen szignifikáns korrelációt nem találtunk a PD-1/PD-L1 expressziós szintek és a betegadatok között, mint kor, nem vagy dohányzási anamnézis. Az eredményeket a 3. a 4. és az 5. táblázatban foglaltuk össze.

3. táblázat. A tumorsejtek PD-L1 expressziója és klinikai jellemzők közötti összefüggések

a: a p-értékek a PD-L1 negatív versus PD-L1 pozitív alcsoportokra vonatkoznak; b: Fisher exact tesztet használtunk a kategorikus változók között; MEC: mucoepidermoid carcinoma; ACC: adenoid cysticus carcinoma; TBP: tracheobronchialis papilloma; NA: nincs adat; TC: tumorsejt; PD-L1: programmed death ligand-1.

Klinikopatológiai adatok		MEC (n=26)			ACC (n=27)			TBP (n=13)		
		PD-L1 TC <1%	PD-L1 TC ≥1%	p érték ^a	PD-L1 TC <1%	PD-L1 TC ≥1%	p érték ^a	PD-L1 TC <1%	PD-L1 TC ≥1%	p érték ^a
Kor (év)	≤55	20	0	0,046 ^b	11	1	0,444 ^b	7	0	0,999 ^b
	>55	4	2		15	0		6	0	
Nem	Férfi	15	1	0,999 ^b	8	1	0,333 ^b	11	0	0,999 ^b
	Nő	9	1		18	0		2	0	
Dohányzási anamnézis	Soha	13	1	0,604 ^b	10	1	0,681 ^b	3	0	0,999 ^b
	Leszokott	1	0		6	0		1	0	
	Dohányos	5	1		5	0		4	0	
	NA	5	0		5	0		5	0	

4. táblázat. Az immunsejtek PD-L1 expressziója és klinikai jellemzők közötti összefüggések

a: a p-értékek a PD-L1 negatív versus PD-L1 pozitív alcsoportokra vonatkoznak; b: Fisher exact tesztet használtunk a kategorikus változók között; MEC: mucoepidermoid carcinoma; ACC: adenoid cysticus carcinoma; TBP: tracheobronchiális papilloma; NA: nincs adat; IC: immunsejt; PD-L1: programmed death ligand-1.

Klinikopatológiai adatok		MEC (n=26)			ACC (n=27)			TBP (n=13)		
		PD-L1 IC <1%	PD-L1 IC ≥1%	p érték ^a	PD-L1 IC <1%	PD-L1 IC ≥1%	p érték ^a	PD-L1 IC <1%	PD-L1 IC ≥1%	p érték ^a
Kor (év)	≤55	16	4	0,01 ^b	11	1	0,999 ^b	7	0	0,999 ^b
	>55	1	5		12	3		6	0	
Nem	Férfi	12	4	0,667 ^b	7	2	0,581 ^b	11	0	0,999 ^b
	Nő	5	5		16	2		2	0	
Dohányzási anamnézis	Soha	9	5	0,613 ^b	9	2	0,582 ^b	3	0	0,999 ^b
	Leszokott	1	0		5	1		1	0	
	Dohányos	3	3		4	1		4	0	
	NA	4	1		5	0		5	0	

5. táblázat. Az immunsejtek PD-1 expressziója és klinikai jellemzők közti összefüggések

a: a p-értékek a PD-1 negatív versus PD-1 pozitív alcsoportokra vonatkoznak; b: Fisher exact tesztet használtunk a kategorikus változók között; MEC: mucoepidermoid carcinoma; ACC: adenoid cysticus carcinoma; TBP: tracheobronchialis papilloma; NA: nincs adat; IC: immunsejt; PD-1: programmed death-1.

Klinikopatológiai adatok		MEC (n=26)			ACC (n=27)			TBP (n=13)		
		PD-1 IC <1%	PD-1 IC ≥1%	p érték ^a	PD-1 IC <1%	PD-1 IC ≥1%	p érték ^a	PD-1 IC <1%	PD-1 IC ≥1%	p érték ^a
Kor (év)	≤55	17	3	0,558 ^b	11	1	0,999 ^b	6	1	0,999 ^b
	>55	4	2		12	3		5	1	
Nem	Férfi	13	3	0,999 ^b	7	2	0,582 ^b	9	2	0,999 ^b
	Nő	8	2		16	2		2	0	
Dohányzási anamnézis	Soha	11	3	0,613 ^b	9	2	0,582 ^b	3	0	0,218 ^b
	Leszokott	1	0		5	1		1	0	
	Dohányos	4	2		4	1		4	0	
	NA	5	0		5	0		3	2	

Fentiek mellett vizsgáltuk a kapcsolatot a tumor szövettani típusa és a tumorsejteken, illetve az immunsejteken mutakozó PD-L1 expresszió, valamint az immunsejteken detektált PD-1 expresszió között. 1%-ot meghaladó PD-L1 expressziós szint az immunsejteken MEC esetén szignifikánsan gyakoribb volt, mint TBP esetén (p<0,001). (6. táblázat)

Ettől eltekintve semmilyen további összefüggést nem észleltünk a szövettani altípusok és a PD-1/PD-L1 expressziós szintek között.

6. táblázat. Összefüggés a tumorok szövettani típusa és a PD-1/PD-L1 expresszió között

a: a p-értékek a PD-L1/PD-1 negatív versus PD-L1/PD-1 pozitív alcsoportokra vonatkoznak;

b: Fisher exact tesztet használtunk a kategorikus változók között; c: A PD-L1 $\geq 1\%$ -os expressziós szintje az IC-ken szignifikánsan gyakoribb volt a MEC-ban, mint a TBP-ban;

MEC: mucoepidermoid carcinoma; ACC: adenoid cysticus carcinoma; TBP: tracheobronchialis papilloma; NA: nincs adat; TC: tumorsejt; IC: immunsejt; PD-L1: programmed death ligand-1; PD-1: programmed death-1.

PD-L1 TC	MEC (%)	ACC (%)	TBP (%)	p érték ^a
<1%	24 (92,3%)	26 (96,3%)	13 (100%)	0,192 ^b
$\geq 1\%$	2 (7,7%)	1 (3,7%)	0 (0%)	
PD-L1 IC	MEC (%)	ACC (%)	TBP (%)	p érték ^a
<1%	17 (65,4%)	23 (85,2%)	13 (100%)	<0,001 ^{b,c}
$\geq 1\%$	9 (34,6%)	4 (14,8%)	0 (0%)	
PD-1 IC	MEC (%)	ACC (%)	TBP (%)	p érték ^a
<1%	21 (80,8%)	23 (85,2%)	11 (84,6%)	0,082 ^b
$\geq 1\%$	5 (19,2%)	4 (14,8%)	2 (15,4%)	

4.1.4. Korreláció a PD-1/PD-L1 expresszió és a szövetminták kora között

Mivel az FFPE blokkok kora befolyásolhatja az IHC reakciókat, ezért összehasonlítottuk a régebbi és az újabb szövettani mintákat, de nem találtunk szignifikáns különbséget az IHC pozitivitási szintek között a 2006 előtti és utáni minták elemzésekor.

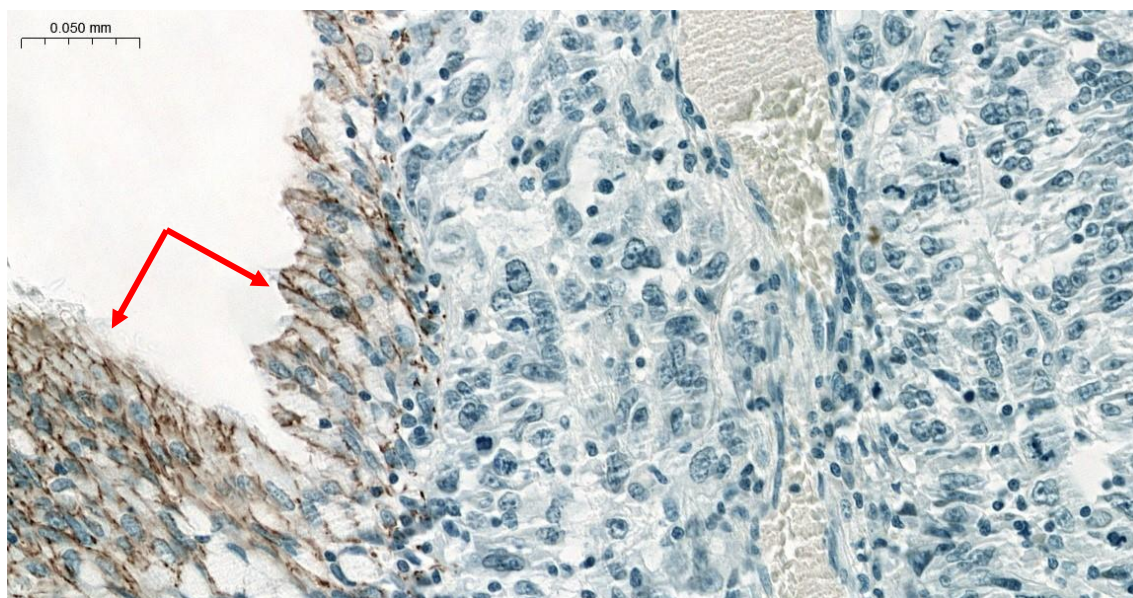
4.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

4.2.1. Az ACC és MEC minták klinikopatológiai jellemzőinek összehasonlítása

Megfigyeltük, hogy az ACC-tumorerő általában szignifikánsan magasabb grade-del rendelkeztek (korrigált p-érték = 0,044, 1. táblázat) és magasabb stádiumúak voltak (korrigált p-érték = 0,044, 2. táblázat), mint a MEC-tumorerő. Az ACC-tumorerő betegek általában idősebbek is voltak, mint a MEC-tumorerő betegek (medián: 64 vs. 48 év, korrigált p-érték = 0,044, 1. táblázat). A két altípus tumorainak összehasonlításakor nem lehetett más szignifikáns tendenciát kimutatni sem a nem, sem a dohányzás, sem az érrendszeri érintettség, sem a nyirokszervi infiltráció, sem a nekrozis tekintetében.

4.2.2. Claudin immunhisztokémia

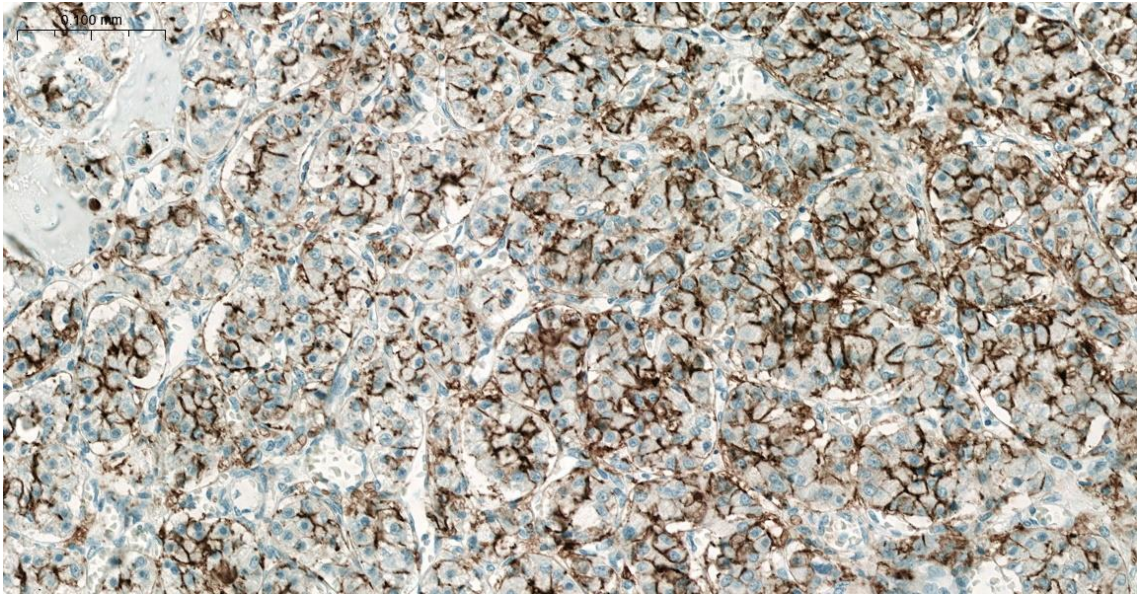
A CLDN IHC pozitív tumorok többsége erős és homogén festődést mutatott. A CLDN IHC negatív tumorok bizonyos eseteiben endogén pozitív kontrollként szolgáló nem-tumorerő szövet segítette a helyes kiértékelést (7. ábra).



7. ábra. Negatív CLDN4 IHC MEC-ben

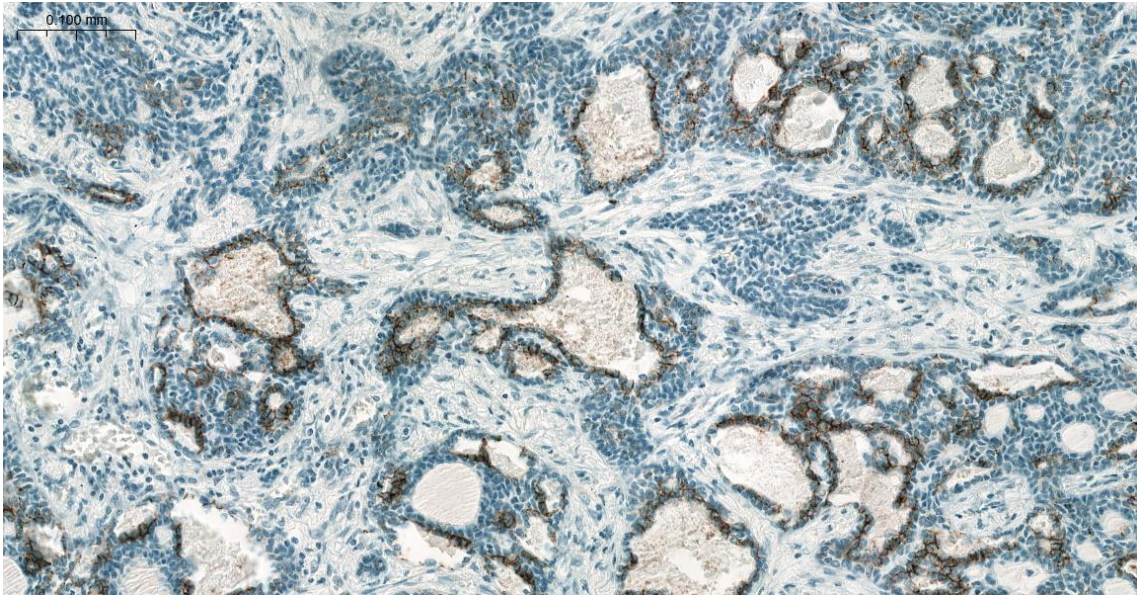
Figyeljük meg a pozitív endogén kontrollként szolgáló pozitív normál hörgősejteket (nyíl)! (x200)

A CLDN1, -3, -4 és -7 IHC esetében membranózus CLDN immunpozitivitás volt megfigyelhető, míg a CLDN2, -5 és -18 IHC esetében citoplazmatikus festődést találtunk. Általában minden pozitív tumor diffúzan és meglehetősen egyenletesen festődött. Az immunfestődés intenzitása általában hasonló – vagy akár erősebb – volt, mint a szomszédos normál hörgőhámé. Az expresszió heterogenitása ugyanazon tumor különböző területein csak nagyon kevés esetben volt megfigyelhető (8. és 9. ábra).



8. ábra. CLDN7 expresszió ACC-ben

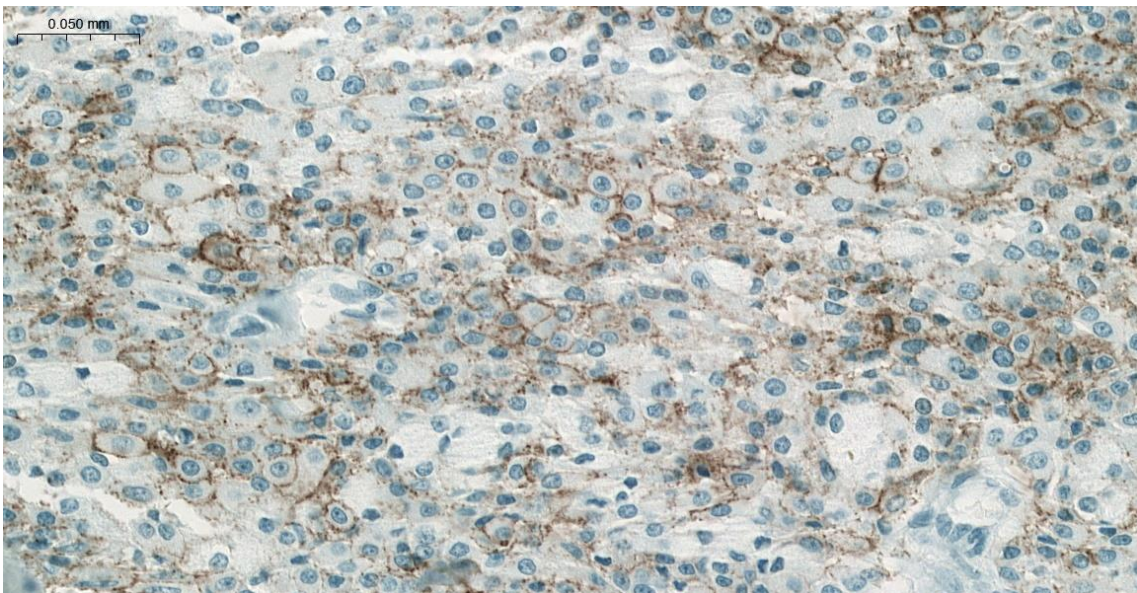
Nincs jelentős intratumorális heterogenitás (x200).



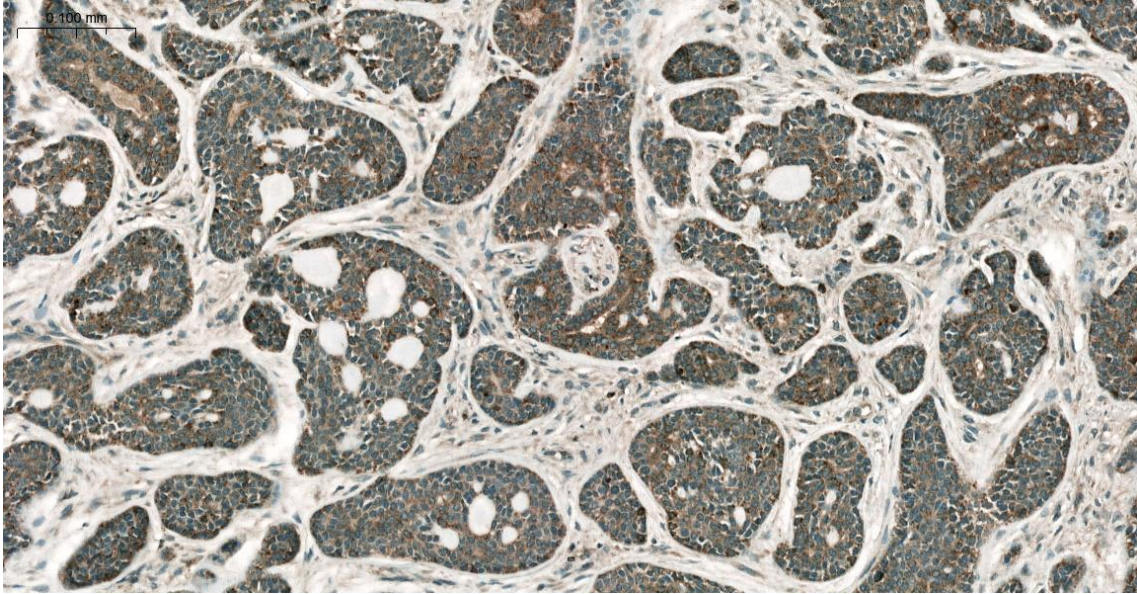
9. ábra. CLDN7 expresszió ACC-ben

Jelentős intratumorális heterogenitás (x100).

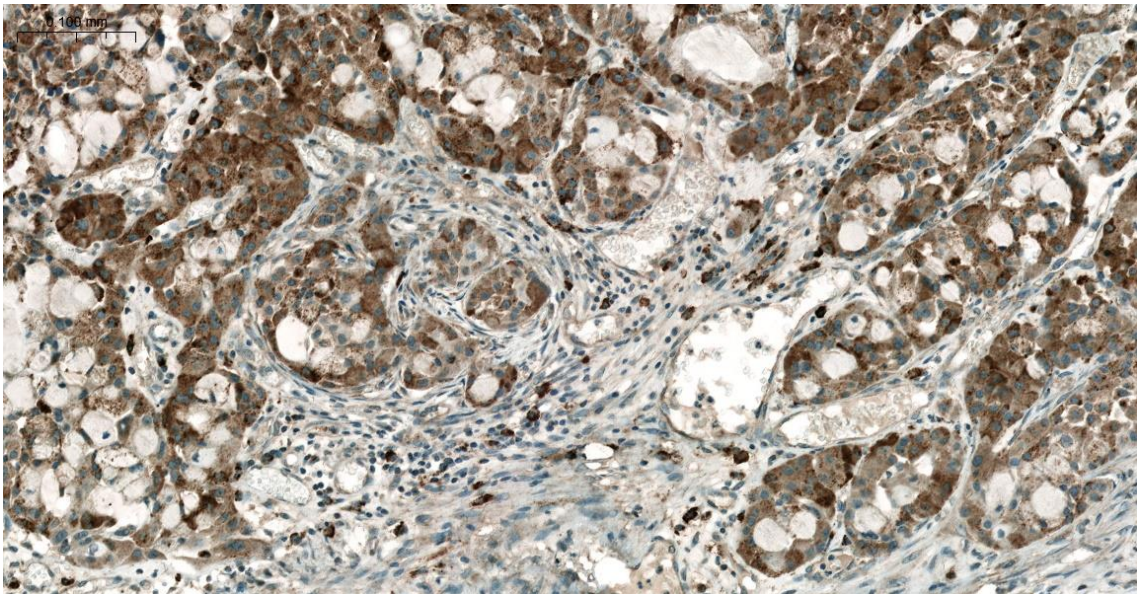
A különböző CLDN-ok reprezentatív IHC-reakcióit (IHC) pulmonalis ACC-ben és MEC-ben a 10-19. ábra mutatja.



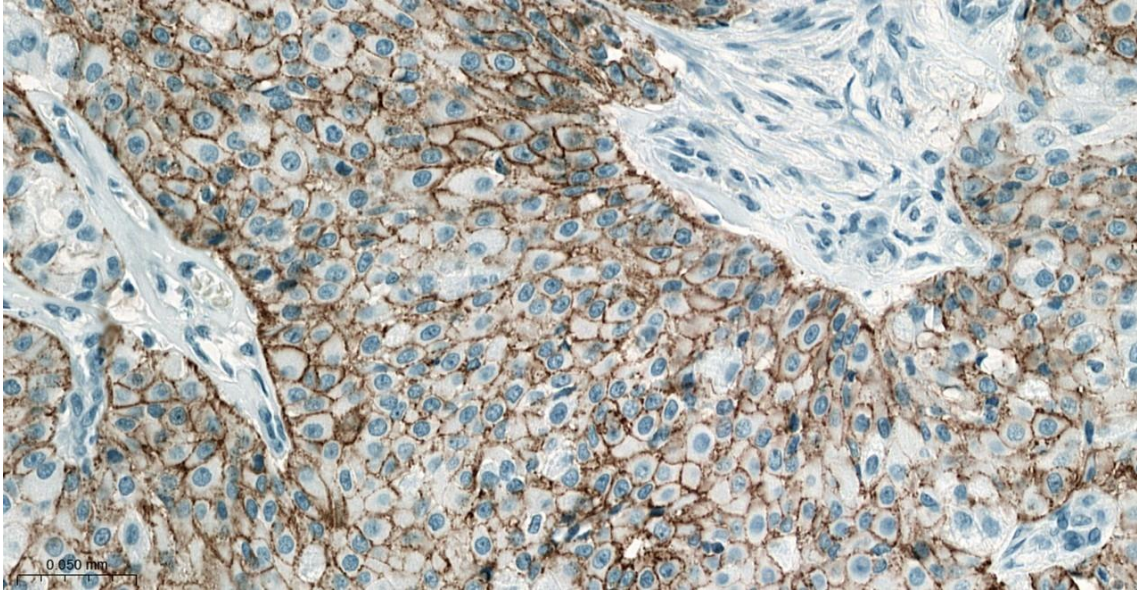
10. ábra. CLDN1 expresszió MEC-ben (x200)



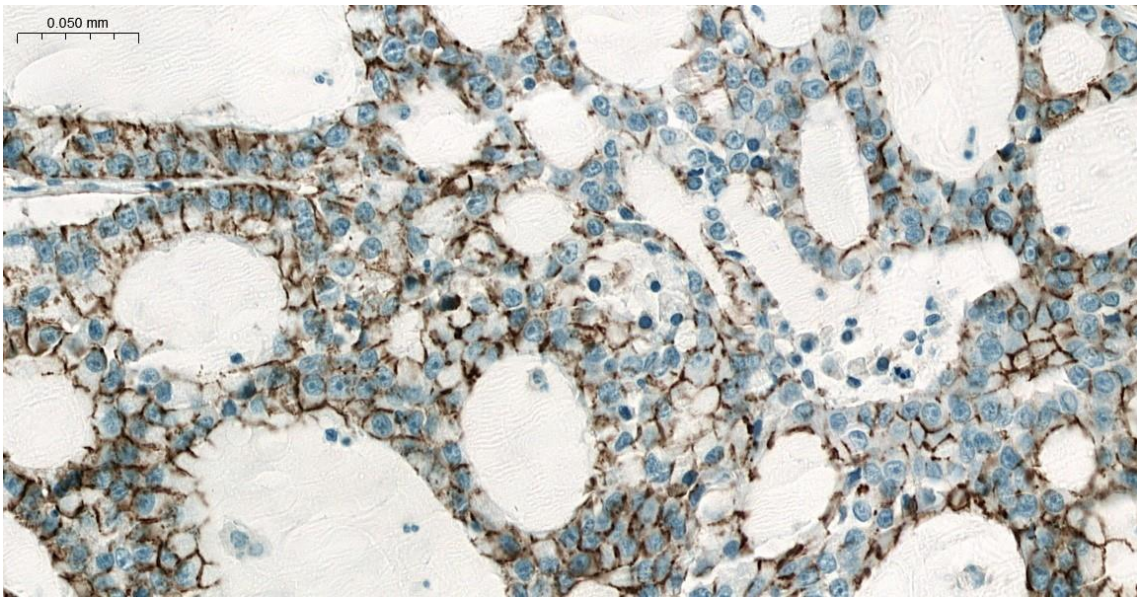
11. ábra. CLDN2 expresszió ACC-ben (x100)



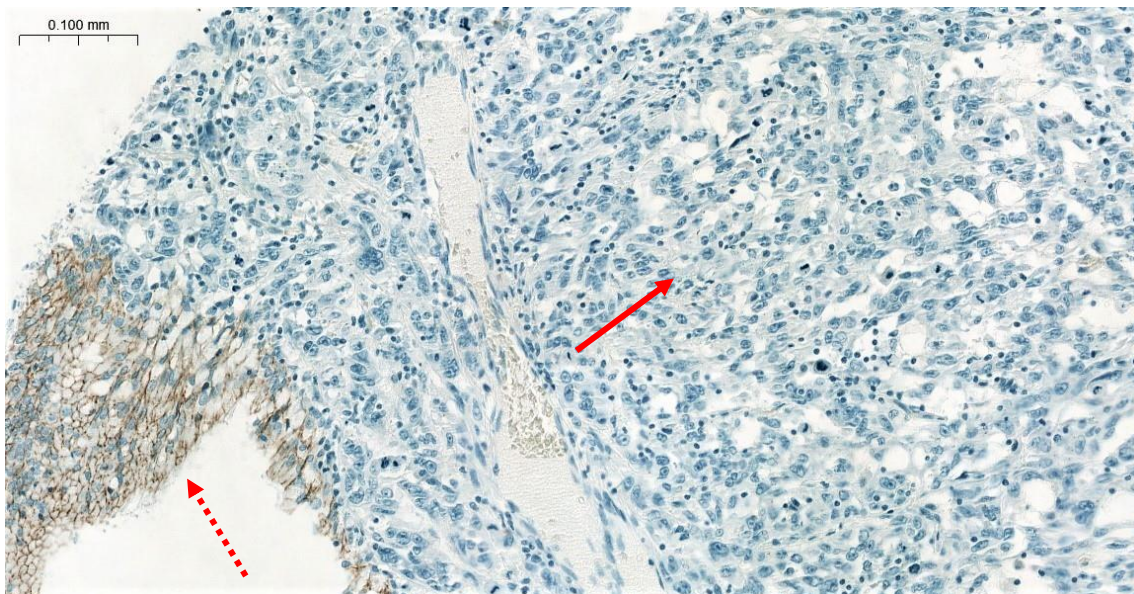
12 ábra. CLDN2 expresszió MEC-ben (x100)



13. ábra. CLDN3 expresszió MEC-ben (x200)

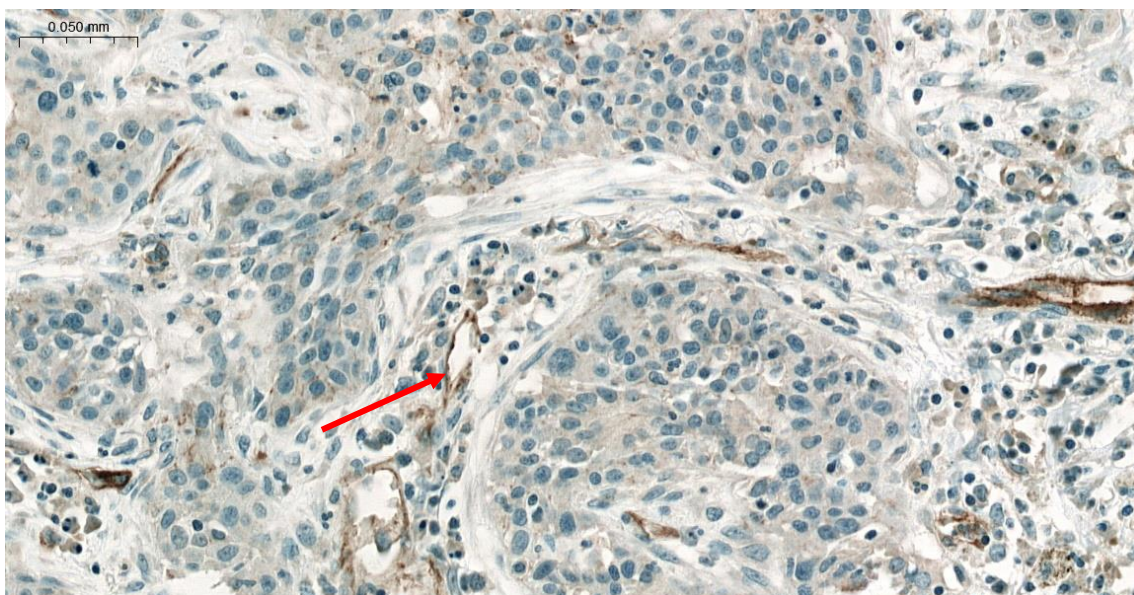


14. ábra. CLDN4 expresszió ACC-ben (x200)



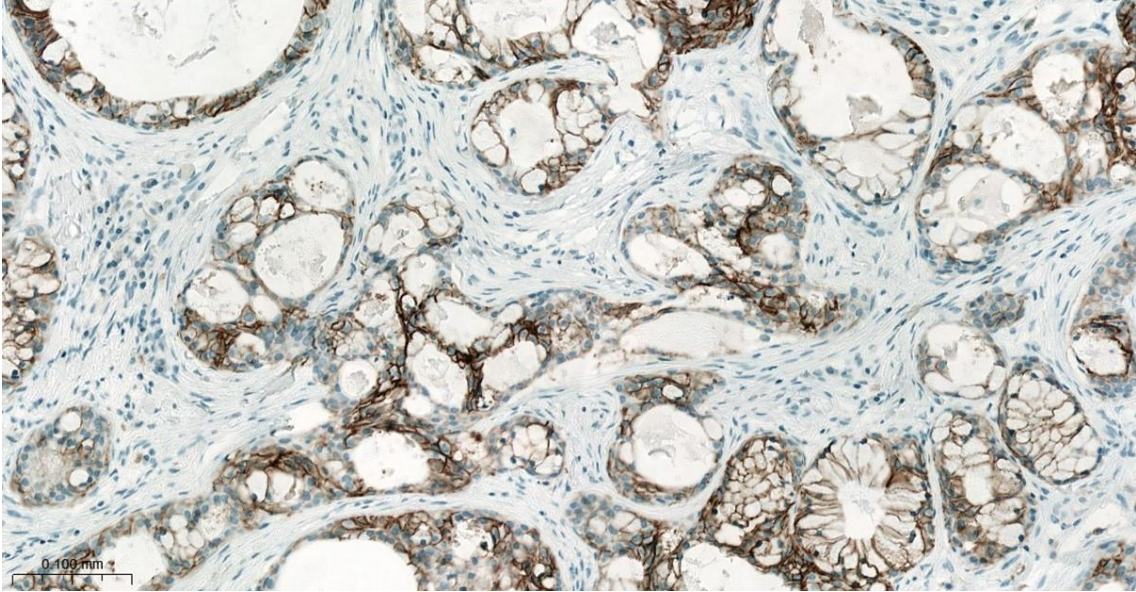
15. ábra. CLDN4 IHC negatív MEC.

Figyeljük meg a negatív tumorsejteket (nyíl) és a pozitív endogén kontrollként szolgáló pozitív normál hörgőhámsejteket (szaggatott nyíl)! (x100)

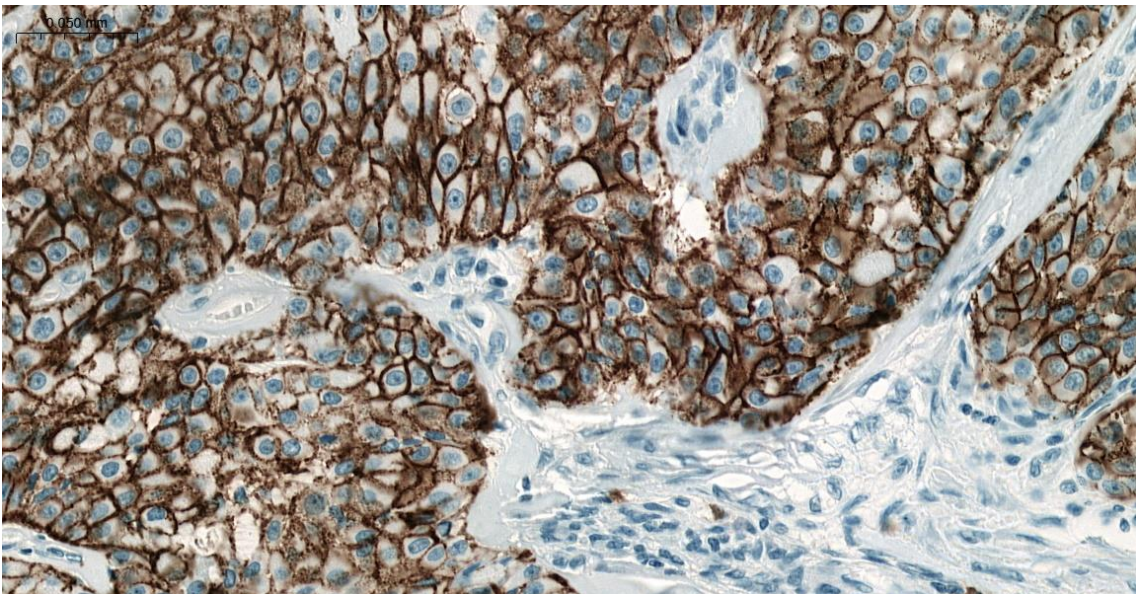


16. ábra. CLDN5 expresszió MEC-ben.

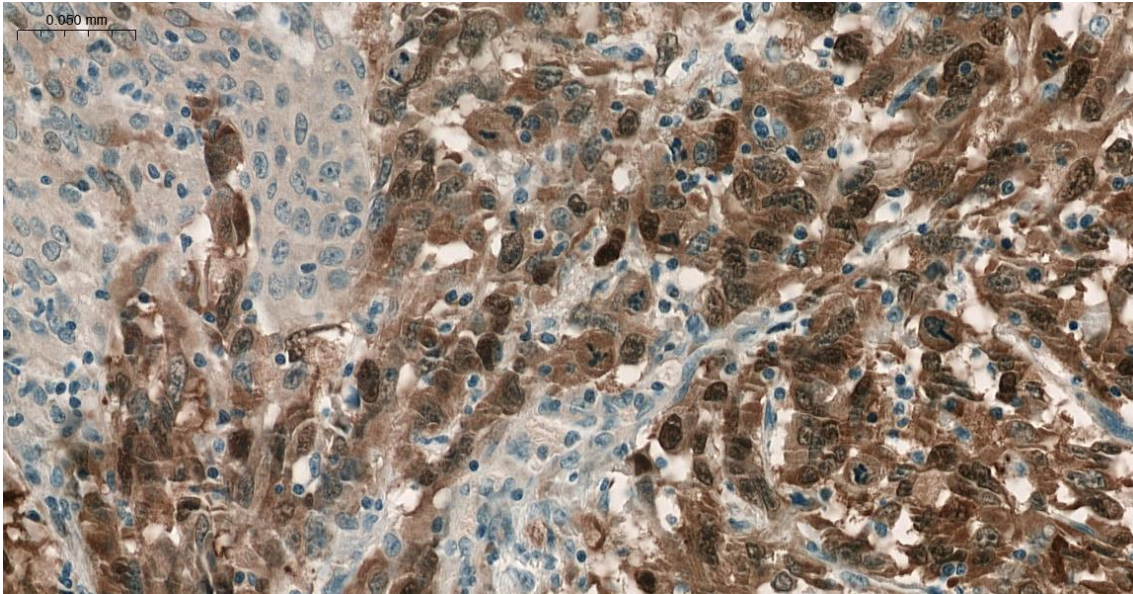
Gyenge pozitív festődés a tumorsejtekben, az erek (nyíl) pedig pozitív endogén kontrollként szolgálnak. (x200)



17. ábra. CLDN7 expresszió ACC-ben (x100)



18. ábra. CLDN7 expresszió MEC-ben (x200)



19. ábra. CLDN18 expresszió MEC-ben

Figyeljük meg az IHC festődés heterogenitását! (x200)

4.2.3. A claudin expresszió és a klinikopatológiai jellemzők közötti összefüggések

Tekintettel a rendelkezésre álló esetek alacsony számára, az expressziós szintek és más klinikopatológiai jellemzők közötti összefüggéseket az összes adaton vizsgáltuk, figyelmen kívül hagyva a tumor szövettani altípusát.

A CLDN expressziós szintek elemzésekor azt figyelhettük meg, hogy a CLDN4-et befolyásolják leginkább különböző klinikopatológiai tényezők. A grade 2-es tumorokban magasabb volt a CLDN4-expressziós szint, mint a grade 1-es fokozatúakban (medián H-érték: 60 vs. 1; Mann-Whitney-teszt p-értéke: 0,045), és pozitív korreláció volt megfigyelhető a stádium és a CLDN4-expresszió között (R = 0,5, p-érték: 0,003). A CLDN4-szintek pozitív összefüggést mutattak az életkorral (R = 0,49, p-érték: 0,004).

Mindemellett azt találtuk, hogy nekrozis megléte esetén a tumorok magasabb CLDN5-expressziót mutattak, mint azok a tumorok, amelyekben nem volt jelen nekrozis (medián H-érték: 60 vs. 0; Mann-Whitney-teszt p-érték: 0,009).

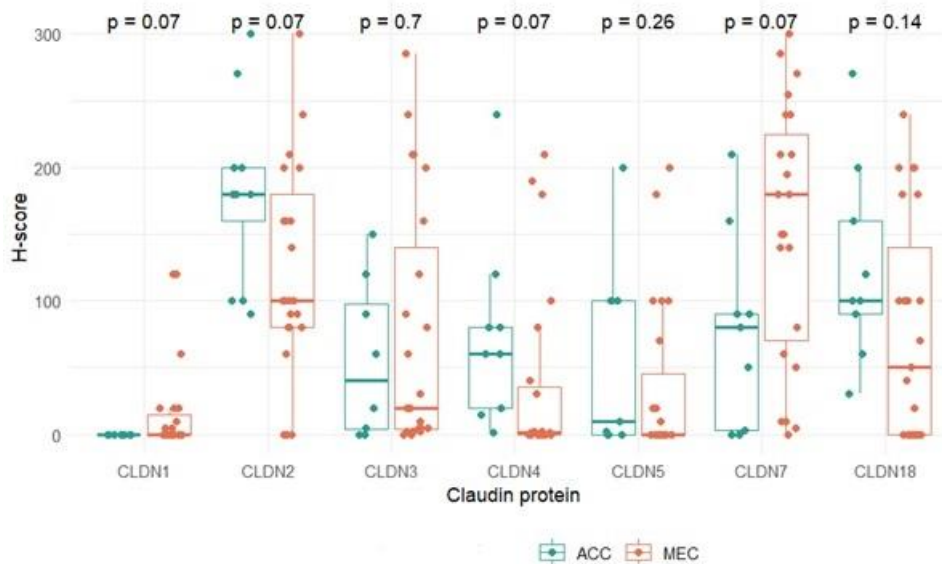
A legmeggyőzőbb összefüggést a CLDN18 expressziója és a dohányzás között figyelhettük meg: a soha nem dohányzók tumorai alacsonyabb CLDN18 expressziós

értéket mutattak, mint a jelenleg dohányzók tumorai (H-score értékek mediánja: 70 vs. 190, Mann-Whitney-teszt p-értéke: 0,003).

Mindezen összefüggések közül csak az utóbbi maradt szignifikáns a többszörös teszt korrekciót követően.

4.2.4. Claudin expressziós profil különbségek az adenoid cysticus carcinoma és a mucoepidermoid carcinoma között

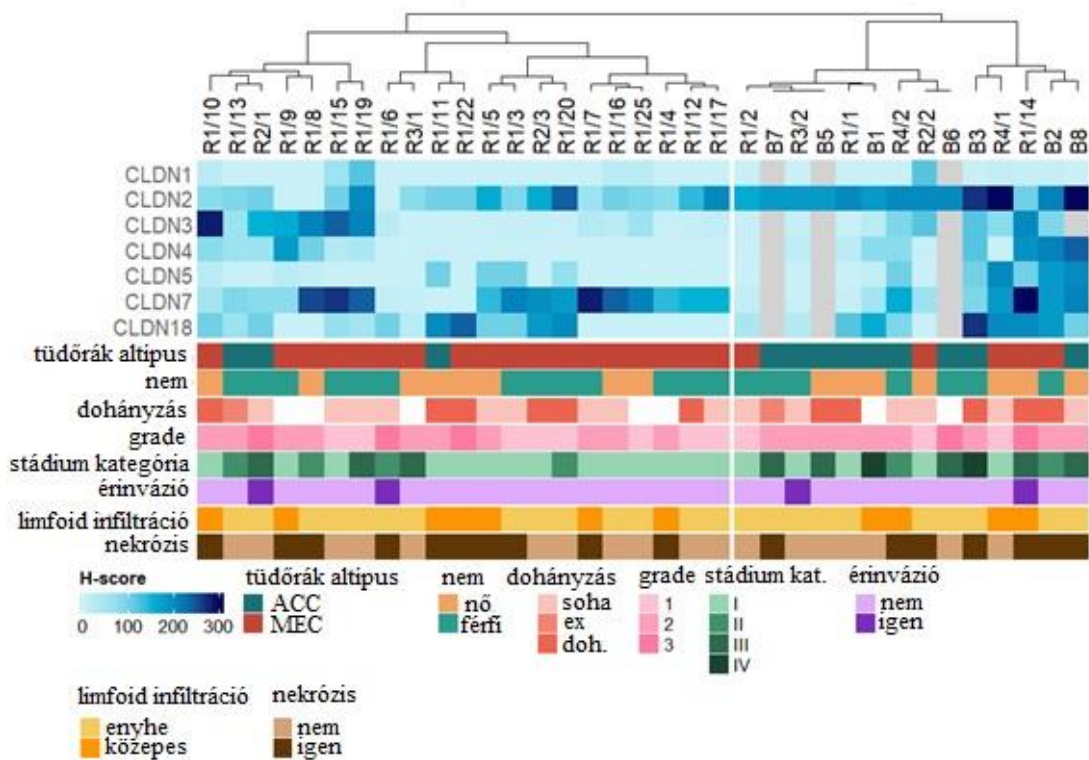
A CLDN1, -2, -4 és -7 expressziós szintje jelentősen eltérő eloszlást mutatott az ACC és a MEC tumorok esetében. Az ACC-mintákon jellemzőbb volt a CLDN2 és -4 fokozott expressziója, míg a MEC esetek a CLDN1 és -7 emelkedett szintjét mutatták. Egyik tendencia sem maradt azonban szignifikáns a többszörös teszt korrekciót követően (20. ábra). ACC-ben a CLDN1 volt az egyetlen olyan marker, amely minden tumorszövetben negatív volt, míg a MEC-ben nem volt olyan marker, amely minden mintában negatív lett volna.



20. ábra. A CLDN expressziós szintek eloszlása szövettani altípusok szerint csoportosítva

A p-értékek Benjamini-Hochberg-módszerrel többszörös teszttel korrigálva. ACC: adenoid cysticus carcinoma; MEC: mucoepidermoid carcinoma; CLDN: claudin

Annak érdekében, hogy részletesebb betekintést nyerjünk, a minták egyszerű, „nem felügyelt” hierarchikus klaszterezését végeztük el a mért expressziós szintek alapján (21. ábra).



21. ábra. A minták hierarchikus klaszterezése a CLDN expressziós szint alapján

A klinikopatológiai paraméterek alul oszlopmegjelölésként szerepelnek. Az IHC kiértékelésre alkalmatlan szövetminták szürke színkóddal szerepelnek. ACC: adenoid cysticus carcinoma; MEC: mucoepidermoid carcinoma; CLDN: claudin

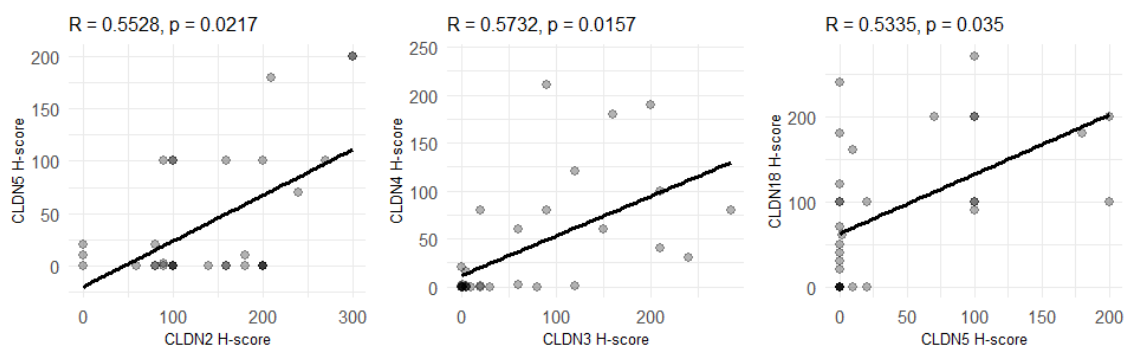
Az esetek így kapott dendrogramját két csoportra osztottuk. Az ábra alján található oszlopmegjegyzések azt mutatják, hogy a tüdőrák altípusai a két csoporton belül (néhány kivételtől eltekintve) meglehetősen egységesek, ami arra utal, hogy a CLDN expressziós mintázatai eredendően megkülönböztetik az ACC és a MEC tumorokat (korrigált p-érték = 0,032). Másrészt, a fennmaradó klinikopatológiai paraméterek viszonylag jól keverednek a két csoportban (kiigazított p-értékek: 1,0, 1,0, 1,0, 1,0, 0,468, 1,0, 1,0, 1,0, 1,0, 1,0 a nem, a dohányzás, a grade, a TNM stádium, a vaszkuláris érintettség, a

lymphoid infiltráció és a nekrozis tekintetében), ami azt jelzi, hogy a CLDN expressziós szintek alapján történő elkülönítést befolyásoló fő tényező valóban a tumor altípusa.

4.2.5. A különböző claudin expressziós szintek összefüggései

Az alacsony esetszám miatt a CLDN expresszió szintjei közötti összefüggéseket a tumor altípusától függetlenül a teljes adathalmazon értékeltük.

Pozitív korrelációt azonosítottunk a CLDN5 és -2 ($R = 0,55$, korrigált p -érték = $0,02$), a CLDN3 és -4 ($R = 0,57$, korrigált p -érték = $0,02$), valamint a CLDN5 és -18 ($R = 0,53$, korrigált p -érték = $0,04$) expressziós szintjei között (22. ábra). Mindezek az összefüggések szignifikánsak maradtak a többszörös teszt korrekciót követően is.



22. ábra. A CLDN expressziós szintek közötti korrelációk a teljes adathalmazban

A p -értékek Benjamini-Hochberg módszerrel többszörös tesztel korrigálva. Az R -értékek a Pearson-féle korrelációs együtthatónak felelnek meg. CLDN: claudin.

4.2.6. Az FFPE blokkok korának elemzése

Tekintettel az FFPE blokkok jól ismert időbeli minőségromlására, a fenti megfigyelt tendenciák validálása érdekében külön-külön újra elemeztük a régebbi és az újabb mintákat. A mintákat "rég" és "új" kohorszokba soroltuk az FFPE-blokkok készítésének éve alapján: a 2009 előtt készített blokkokat "réginek", míg az ezt követően készítetteket

"újnak" neveztük. A kategorizálás küszöbértékének az adatállományunkban szereplő FFPE-blokkok készítési éveinek mediánját választottuk.

Általánosságban – ahogyan az várható volt – a CLDN expressziós szintjét tekintve a régi esetek alacsonyabb expressziós szintet mutattak, mint az újak, bár a legtöbb esetben nem jelentős mértékben. Ez alól a tendencia alól a CLDN1 és -4 volt a kivétel, ahol a H-értékek mediánja mindkét mintacsoportban nagyon alacsony volt. (Mediánok és többszörös teszteléssel korrigált Kruskal-Wallis teszt p-értékei a régi vs. új esetekre: 0 vs. 0, $p = 0,76$ (CLDN1), 100 vs. 200, $p = 0,003$ (CLDN2), 20 vs. 50, $p = 0,90$ (CLDN3), 2 vs. 1, $p = 0,95$ (CLDN4), 0 vs. 10, $p = 0,56$ (CLDN5), 140 vs. 150, $p = 0,76$ (CLDN7), 50 vs. 160, $p = 0,11$ (CLDN18)). Ezen általános tendenciák ellenére azonban a fent tárgyalt eredmények az új és a régi minták esetében is érvényesek maradnak, ha külön-külön elemezzük őket, habár néhány esetben kissé csökkent statisztikai erővel. Ami az ACC és a MEC tumorok expressziós mintázatát illeti, a MEC esetek emelkedett CLDN1 és -7 szintje mind a régi, mind az új mintákban megfigyelhető volt. Az ACC minták mindkét kohorszban igazoltan magasabb CLDN4-szintet mutattak, továbbá a régi mintákon magasabb CLDN2-szint mutatkozott.

5. MEGBESZÉLÉS

5.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban

Az immunterápia szerepét a MEC és az ACC kezelésében még nem vizsgálták átfogóan, és a rendelkezésre álló publikációk többsége a fej-nyak régió nyálmirigy eredetű tumoraival foglalkozott. Egy nemrégiben közölt esetleírás szerint alacsony dózisu sugárterápia és immunterápia kombinációjával sikerrel kezeltek egy beteget, akinek metasztatizáló, submandibularis nyálmirigyből kiinduló ACC-je volt, azonban hasonló eredményeket pulmonalis ACC kapcsán még nem közöltek (130). Farhat és munkatársai számoltak be egy esetről, amikor egy parotisból kiinduló, előrehaladott, high-grade MEC-et első vonalban pembrolizumabbal kezeltek (59). A kezelést követően az elváltozás sebészi eltávolításra alkalmassá vált. 2022-ben két esetet is közöltek, mindkettőben bal oldali nyaki térfoglalást okozó high-grade MEC-et kezeltek pembrolizumabbal és hosszan tartó hatásosságot tapasztaltak (131).

2022-ben egy átfogó áttekintő cikk foglalta össze az új terápiás megközelítéseket, beleértve a célzott terápiát és az immunterápiát a nyálkamirigyek különböző altípusaiban (132). Azonban, ez a publikáció csak a fej-nyaki daganatokra összpontosított.

Szintén egy 2022. évi publikációban Hu és munkatársai alapos áttekintést adtak a tüdő MEC fő diagnosztikai és terápiás vonatkozásairól, kitérve a célzott terápiára, a kemoterápiára és az immunterápiára (133). Megerősítik, hogy az ilyen típusú daganatok immunterápiás megközelítése korlátozott és további mélyreható vizsgálatok szükségesek. Csak egyetlen olyan publikációról számoltak be, amely a pulmonalis MEC PD-L1/PD-1 expressziójával foglalkozik, azonban ez a cikk a Fujian Medical Journal című folyóiratban jelent meg, és nem érhető el a PubMedben (134).

A nyálkamirigy tumorok esetén a PD-L1/PD-1 expresszió potenciális prediktív értéke az immunterápia hatékonyságára vonatkozólag még nem tisztázott, és a legtöbb ACC-vel kapcsolatos publikáció a fej-nyaki tumorok PD-L1 és PD-1 expressziójával foglalkozik (135). Zheng és munkatársai összehasonlították a PD-L1 expressziót a tracheobronchialis ACC és SCC között, és nem találtak expressziót a vizsgált 16 ACC mintában, míg az

SCC-k 80%-a PD-L1 pozitív volt (136). A mi jelen vizsgálatunkhoz hasonló metodikát alkalmaztak, ugyanazt a PD-L1 klónt (PD-L1 22C3 klón) és PD-L1-pozitivitás küszöbértéket ($\geq 1\%$ -os expresszió) alkalmazták. A jelen munkánkban PD-L1 pozitív volt a TC-ken 1/27 ACC, az IC-ken pedig 4/27 tumor. Az egyik MEC mintánkban erős, $>50\%$ -os PD-L1 immunpozitivitás volt megfigyelhető a TC-ken.

Witte és munkatársai 94 fej-nyaki nyálkamirigy-rák PD-L1 expresszióját vizsgálták, köztük 41 ACC, 21 MEC, 16 acinussejtes carcinoma, 12 nem meghatározott ADC és 2 epithelialis-myoepithelialis carcinoma (egy nyálcsatorna carcinoma és egy pleomorph adenomából kialakult carcinoma) volt (137). A PD-L1 IHC-hoz SP263 klónt használva szignifikánsan emelkedett IC-pontszámokat mutattak ki a nem meghatározott ADC-kben az ACC-hoz és MEC-hoz képest. Saját vizsgálatunkban a PD-L1 pozitivitas az IC-ken gyakoribb volt MEC-ben, mint ACC-ben (34,6% vs. 14,8%), bár a különbség nem volt statisztikailag szignifikáns. 5%-nál magasabb expressziós szintet 3 MEC mintán figyeltünk meg, és 1 esetben ez az érték $>10\%$ volt.

A nyálmirigy tumorok esetében a PD-L1 expresszióhoz képest, a PD-1 expressziójára vonatkozó adatok még ritkébbak. Vizsgálatunkban a PD-1 expressziót az immunsejteken a MEC-ek 19,2%-ában, az ACC-k 14,8%-ában és a TBP minták 15,4%-ában találtunk. Ez alacsonyabb, mint amit Xu és munkatársai megfigyeltek nyálcsatorna carcinomában, ahol PD-1 pozitivitást az IC-ken az esetek 66%-ában észleltek, de magasabb, mint a Mosconi és munkatársai által végzett vizsgálatban, akik 36 nyálmirigy eredetű ACC-ben találtak ritka PD-1 pozitivitást (138, 139).

A TBP-kat gyakran bronchoszkópos kimetszéssel kezelik, és a tumor radikális eltávolítása általában teljes gyógyulást eredményez. Visszatérő esetekben és/vagy tracheobronchialis papillomatosisban fennáll a rosszindulatú laphámrákká való átalakulás kockázata, továbbá kiterjedt folyamat esetén a bronchoszkópos tumorresectio már nem kivitelezhető. Éppen ezért fontos meghatározni az immunterápia lehetséges szerepét irreszekábilis esetekben. Jelenleg a PD-L1 expresszió tumorsejteken és immunsejteken a legszélesebb körben használt prediktív biomarker a fej-nyaki SCC-k immunterápiájához. Mindazonáltal a PD-L1-negatív tumorral rendelkező betegek is reagálhatnak a kezelésre. Jelen vizsgálatunkban a TBP tumormintákban nem találtunk PD-L1-expressziót a tumorsejteken vagy az immunsejteken, és csak 2 TBP esetben (15,4%) mutattunk ki gyenge PD-1 pozitivitást immunsejteken.

Számos antitestet használnak a PD-L1 fehérje expressziójának vizsgálatára. A 2010-es évek elején az SP142 bizonyult a legmegfelelőbb antitestnek. Néhány évvel később egy vizsgálatot végeztek, amelynek célja az volt, hogy összehasonlítsanak négy kereskedelmi forgalomban kapható antitestet, amelyek már megjelentek a klinikai gyakorlatban. Ennek során megállapították, hogy tüdőrákban a Ventana SP142 antitestje kevésbé érzékeny, mint a másik három antitest (Ventana SP263, Dako 22C3, Dako 28-8) (140). Jelen vizsgálatunk eredményei is megerősítik ezt megfigyelést, ugyanis nem találtunk IHC pozitív mintákat, amikor kezdetben az SP142 antitestet használtuk, és rávilágítanak annak fontosságára, hogy megfelelő érzékenységgű anti-PD-L1 antitestet alkalmazzunk az álnegatív IHC-eredmények elkerülése érdekében.

Tüdőrák esetén az immunterápia indikációi folyamatosan bővülnek. Korábban elsősorban előrehaladott stádiumú NSCLC esetén, másod- vagy harmadvonalbeli kezelésként alkalmazták, napjainkban azonban az indikációs kör kibővült, így elsővonalbeli immunterápiás kezelést is alkalmaznak általában kemoterápiával kombinálva (45).

Mindemellett az immunterápia szerepét vizsgálják neoadjuváns és adjuváns kezelésben is (141). Az elmúlt időszakban egyértelműen bebizonyosodott, hogy a legkedvezőbb terápiás válasz >50%-os PD-L1-expresszió esetén várható, habár a PD-L1-negatív tumorról rendelkező betegek is reagálhatnak az immunterápiára (142-144). Ezen túlmenően számos klinikai vizsgálatban a PD-L1 1%-os cut-off értékét használják beválasztási kritériumként.

Jelen munkánkban a MEC esetek 34,6%-a, illetve az ACC esetek 14,8%-a tartozott a $\geq 1\%$ -os PD-L1 IC csoportba, és 5%-nál magasabb expressziós szintet mutattunk ki a TC és/vagy IC esetében 1 ACC és 2 MEC mintán.

A korábban homogénnek tekintett tüdőrák altípusok egyre inkább heterogénnek bizonyulnak, aminek fontos terápiás következményei vannak. Tüdő ADC-ban a molekuláris altípus és a PD-L1 expresszió szintjének meghatározása ma már elengedhetetlen a terápiás döntések meghozatalához. Bár bizonyos molekuláris altípusok csak kevés betegben fordulnak elő (mint például a Her2 (3%), MET (3%), RET (1%) és ROS1 (1%)), a célzott terápia azonban jelentős előnyökkel járhat számukra (145). Hasonlóképpen, hamarosan a kissejtes tüdőrákot sem tekintjük már homogén szövettani csoportnak, mivel a közelmúltban négy molekuláris al csoportját fedezték fel, aminek komoly terápiás következményei lehetnek (146, 147). Vizsgálatunkban a MEC és az

ACC tumorokban kimutatott különböző PD-L1 és PD-1 expressziós szintek felvetik a heterogenitás lehetőségét ezekben a daganatcsoportokban is, amit a közelmúltban nyálmirigy ACC-kon végzett molekuláris genetikai vizsgálatok is alátámasztani látszanak (148).

Mindazonáltal eredményeinket befolyásolhatja a relatíve kis esetszám. Kétségtelen, hogy egy lényegesen nagyobb kohorsz megbízhatóbb betekintést nyújtana a fentebb említett biomarkerek expressziójáról MEC, ACC ill. TBP esetében, azonban a ritka tumorok esetében általában sok évbe telik, mire összegyűlik a megfelelő számú, alkalmas eset a hasonló vizsgálatokhoz. Az eredmények értékelését limitálhatja az FFPE szövetminták kora, amely befolyásolhatja a IHC-reakciókat. Ennek vizsgálata érdekében összehasonlítottuk a korai és a késői szövetminták IHC-eredményeit, azonban nem találtunk szignifikáns különbséget.

5.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

A CLDN expresszióját MEC-ben és ACC-ben kevésbé vizsgálták, és az eddig publikált eredmények csak a fej-nyaki eredetű nyálmirigy-tumorokra vonatkoznak (122).

Maria és munkatársai a CLDN1, -2, -3, -4 és -5 expresszióját vizsgálták 10 nyálmirigy-tumormintán (1 parotis és 9 submandibularis tumor további szövettani meghatározás nélkül), és azt találták, hogy a CLDN5 kivételével valamennyi CLDN expresszálódott (149). Aoyama és munkatársai a CLDN1, -4 és -7 expresszióját vizsgálták 2 parotis és 2 submandibularis nyálmirigy tumorban, és membrán immunpozitivitást írtak le minden vizsgált IHC marker esetében (150). Jelen munkánkban CLDN IHC immunpozitivitást figyeltünk meg az összes vizsgált IHC markerre, beleértve a CLDN5-öt is, azonban jelentős különbséget találtunk az immunpozitivitás lokalizációjában és az expresszió mértékében, ahogyan azt az eredmények leírásában is részleteztük. A CLDN expressziójának ACC-ben megfigyelt – tumorok közötti – heterogenitását megerősíteni látszanak azok a nyálmirigy ACC-vel kapcsolatos közelmúltbeli molekuláris genetikai

vizsgálatok, amelyekben molekuláris genetikai különbségeket írtak le, és 135 vizsgált betegből 28-nál (21%) találtak potenciálisan célozható molekuláris elváltozást (151).

Ha összehasonlítjuk az ACC CLDN expressziós mintázatát a tüdőrák szövettani altípusaiban korábban leírt eredményeinkkel, azt találjuk, hogy ACC-ben a CLDN1, -3 és -4 alacsonyabb, a CLDN2 pedig magasabb expressziós szintet mutat, mint az NSCLC tumorok (108). Az ACC CLDN expressziós mintázata – a CLDN1, -2, -3, -4 és -7 tekintetében – leginkább a lepidikusan terjedő tüdő adenocarcinomához hasonlít (111). Érdeemes kiemelni, hogy ACC-ben jelentős CLDN2 expressziót figyeltünk meg, ami ellentétes azzal, amit korábban SCLC-ben megfigyeltünk, ahol nem volt CLDN2 IHC pozitív tumor. A CLDN5 és a CLDN18 expresszió egyaránt először került leírásra pulmonalis ACC-ben. Az esetek fele mérsékelt CLDN5 immunfestődést mutatott, míg a tumorok egyharmadában különösen erős volt a CLDN18 festődés.

Ami a CLDN expresszióját illeti MEC-ben, Aoyama és munkatársai 6 parotis és 3 submandibularis nyálmirigy MEC-ben vizsgálták a CLDN1, -4 és -7 expresszióját, és valamennyi marker esetében membranózus immunfestődést figyeltek meg, ami hasonló a mi megfigyeléseinkhez (150). Aro és munkatársai a CLDN1, -3, -4 és -7 expresszióját elemezték nyálmirigy MEC tumorokban (123). Azt találták, hogy magas CLDN1 expresszió low-grade MEC-ben volt megfigyelhető, és úgy tűnt, hogy ez a jó prognózis egyik markere lehet. Intermediate- és high-grade MEC-ben magas volt a CLDN3 expresszió, míg low-grade MEC-ben alacsony volt. Munkánk során a tumor grade csak a CLDN4 expresszióval mutatott kapcsolatot (a grade 2 fokozatú tumorokban magasabb volt az expresszió, mint grade 1 tumorokban), de ez a tendencia nem volt jellemző a MEC esetekre, és nem maradt szignifikáns a többszörös teszt korrekciót követően.

Saját vizsgálatunkban MEC-ben a CLDN pozitívitas a CLDN2 és a CLDN7 esetében volt a legkiemelkedőbb, bár mindkét marker esetében megfigyeltünk IHC-negatív tumorokat is.

Ha a MEC CLDN expressziós mintázatát összehasonlítjuk a tüdőrák szövettani altípusaiban korábban leírt eredményeinkkel, akkor magas CLDN2 és CLDN7, valamint az alacsony CLDN3 expressziót figyelhetünk meg, ami a tüdőrákok közül leginkább az SCC-re volt jellemző (108).

Tagadhatatlan, hogy eredményeink a viszonylag kis esetszámból adódóan csak korlátozottan értékelhetők. Kétségtelen, hogy egy lényegesen nagyobb kohorsz

megbízhatóbb betekintést nyújtana a különböző CLDN-ok expressziójába pulmonalis ACC és MEC esetén, ugyanakkor az ilyen ritka tumorok esetében általában sok évbe telik, mire összegyűlik a vizsgálatokhoz alkalmas esetszám. Szélesebb körű elemzéshez szükség lesz a vizsgált anti-CLDN antitestek körének bővítésére (pl. CLDN6 és -18,2) és a klinikai adatok átfogóbb elemzésére. További problémát jelenthet az FFPE szövetminták kora, amely befolyásolhatja az IHC-reakciókat. Ennek vizsgálata érdekében összehasonlítottuk a régi és az új szövetminták IHC-eredményeit, és azt tapasztaltuk, hogy a vártnak megfelelően a mért H-értékek általában alacsonyabbak a régi esetek esetében. Ugyanakkor a teljes adathalmazon kapott eredményeinket külön-külön is validáltuk a régi és az új mintákon, és azt találtuk, hogy a különböző paraméterek között korábban megállapított összefüggések mindkét kohorszra igazak, bár természetesen alacsonyabb statisztikai erővel. E biztató eredmény ellenére az FFPE-blokkok korából adódó műtermékek lehetősége rávilágít nemzetközi, multicentrikus vizsgálatok szükségességére, amelyek még a ritkán előfordul malignus daganatok esetében is biztosíthatják a szükséges esetszámot és a megfelelő minőségű szövetmintákat.

A ritka tüdődaganatokban rendkívül nagy szükség lenne hatékonyabb terápiás módszerek kifejlesztésére, különösen előrehaladott stádiumú betegek esetében (130, 132, 133, 148, 152, 153).

Roehlen és munkatársai közelmúltbeli tanulmányában a nem junkcionális CLDN1-et (ami a humán hepatociták basolateralis membránján található) célzó molekuláris terápia határozottan csökkentette a tumor növekedését és invázióját hepatocelluláris carcinoma sejtvonal-alapú modelljeiben és betegből származó 3D ex vivo modellekben. Sőt, a tumor növekedésére gyakorolt erőteljes hatást in vivo is megerősítették számos sejtvonal-alapú xenograft és betegből származó xenograft egérmodellekben (154). Munkánk során az ACC nem expresszálta a CLDN1-et, a MEC pedig csak enyhe expressziót mutatott, ezért a CLDN1 célbavétele nem ígéretes terápiás stratégia ezekben a daganattípusokban.

Ezzel szemben a CLDN2 expressziója nagyon jellemző volt mind az ACC-re, mind a MEC-re. Wei és munkatársai colorectalis carcinomában kimutatták, hogy megemelkedett a CLDN2-szint és rossz túléléssel társult, továbbá, hogy a CLDN2 depléciója jelentősen elősegítette az N-myc downstream-regulated gene 1 (NDRG1) transzkripcióját, ami a rákos sejtek növekedésének és áttétképzésének megszűnéséhez vezetett in vitro és in vivo

egyaránt (155). Ezen eredmény alapján ez a tanulmány azt sugallta, hogy a CLDN2 ígéretes célpontként szolgálhat a vastagbélrák kezelésében.

A Clostridium perfringens enterotoxin (CPE) a CLDN3 és CLDN4 TJ proteinekhez való kötődése révén váltja ki a hámsejtek lízisét, ezért e fehérjék magas expressziója megkönnyítheti a CLDN ellenes terápiát a CPE használatával. Maeda és munkatársai a CPE terápiás hatását vizsgálták prosztatarák xenograftokon athymikus egerekben (156). A csökkent CLDN4 expresszió (de a csökkent CLDN3 nem) a citotoxicitás figyelemre méltó csökkenéséhez vezetett, és a PC3 xenograftok köré adott CPE injekció jelentősen csökkentette a tumor növekedését. Luo és munkatársai publikálták, hogy a CLDN4-re irányuló kezelés fokozza a kemoszenzitivitást emlőrákban (157). Vizsgálatunkban mind az ACC, mind a MEC CLDN3 és -4 IHC pozitivitást mutatott, de átlagosan csak mérsékelt fokban. Egyes tumorminták azonban, különösen a MEC csoportban, magas CLDN3 és -4 expressziót mutattak.

Eddig még nem írtak le terápiás megközelítést a CLDN5 ellen. Munkánk során a CLDN5 IHC-pontszáma mind az ACC-ben, mind a MEC-ben 0-200 között változott, ezért néhány magas expressziójú tumor esetében elméletileg megfontolható a CLDN5-ellenes kezelés. A CLDN7 mind az általunk korábban vizsgált tüdőrákokban, mind a most vizsgált ACC és MEC esetekben magasan expresszáldott, különösen a MEC-tumorerő felében. A CLDN7 szerepe a karcinogenezisben némileg ellentmondásos. Li és munkatársai 2018-ban kimutatták a CLDN7 korábban le nem írt szerepét, mint a világossejtes veserák szuppresszorát, és felvetették, hogy a CLDN7 elvesztése elősegítheti az EMT-t és a tumorprogressziót (158). Ezzel szemben Philip és munkatársai arról számoltak be, hogy a CLDN7 elősegíti az EMT-t humán colorectalis carcinoma sejtvonalakban (159). Hoggard és munkatársai érdekes tanulmányukban kimutatták, hogy a CLDN7 a kaszpáz útvonal felülszabályozásán keresztül növeli a cisplatinnal szembeni kemoszenzitivitást humán NCI-H522 tüdőráksejtekben (160).

A CLDN18 overexpressziója megnyitja az utat a CLDN18-ellenes antitestterápia előtt. Xu és munkatársai egy új anti-CLDN18.2/anti-CD3 bispecifikus antitest alkalmazásának eredményeit publikálták. Az antitest feladata a CD3+ effektor T-sejtek átirányítása a CLDN18.2+ célsejtekre vagy szövetekre. Az új antitest az anti-CD3-hoz alacsony affinitást, továbbá rendkívül specifikus kötődést, erős citotoxicitást és tumorelles aktivitást mutatott. Ezek az adatok megalapozzák e terápiás stratégia jövőbeli preklinikai

és klinikai fejlesztését. (161). Nemrégiben Wang és munkatársai arról számoltak be, hogy a CLDN18 2-es izoforma (CLDN18.2) erősen expresszálódik a primer petefészek mucinosus carcinomákban és a felső gastrointestinalis tractus primer tumoraiból származó metasztatikus gastrointestinalis mucinosus carcinomákban (162). Arra a következtetésre jutottak, hogy a CLDN18.2 célzott terápia potenciális terápiás stratégiaként szolgálhat ezen daganatok esetén. Nemrégiben egy multicentrikus, randomizált, kettős vak, 3. fázisú vizsgálatban (SPOTLIGHT) a CLDN18.2 ellen irányuló monoklonális antitest, a zolbetuximab mFOLFOX6-tal kombinálva szignifikánsan meghosszabbította a progressziómentes túlélést és a teljes túlélést CLDN18.2-pozitív, HER2-negatív, lokálisan előrehaladott, nem reszekálható vagy metasztatikus, gyomor- vagy gastro-oesophagealis átmeneti ADC-ben placebo plusz mFOLFOX6-hoz viszonyítva (163). E klinikai vizsgálat eredményei paradigmaváltást hozhatnak a CLDN fehérjéket overexpresszáló rosszindulatú daganatok kezelésében. Kohorszunkban a CLDN18 overexpressziója az ACC esetek 2/3-ában és a MEC esetek felében volt kifejezett. A tervezett CLDN18.2 immunfestést technikai okok miatt nem lehetett elvégezni.

6. KÖVETKEZTETÉSEK

6.1. PD-1 és PD-L1 expresszió vizsgálata ritka tüdőtumorkban

- Retrospektív tanulmányunk eredménye alapján kimondható, hogy tüdő eredetű MEC, ACC és TBP esetében ritka a PD-L1 és PD-1 expresszió.
- Tekintettel arra, hogy az egyik MEC-ben mintában nagyon erős PD-L1 immunpozitivitást találtunk mind a TC-ken, mind az IC-ken, további vizsgálatokat tartunk szükségesnek nagyobb betegkohorszon.
- Amennyiben MEC-ben a $\geq 50\%$ PD-L1 TC előfordulása megerősítést nyer, még akkor is, ha csak a betegeknek kis hányadában, akkor a magas PD-L1-expressziójú MEC-et külön alcsoportnak tekinthetjük, külön kezelési opcióval, mint például az immuncheckpoint-gátlók.
- Eredményeink arra utalnak, hogy a primer tüdő nyálkamirigydaganatok heterogének nemcsak a MEC/ACC alcsoportok tekintetében, hanem ezen szövettani altípusokon belül is. Ennek a megfigyelésnek nagyobb esetszámon történő vizsgálata hozzájárulhatna a ritka tüdőrákok személyre szabott terápiájához.

6.2. Claudin expresszió vizsgálata tüdő eredetű adenoid cysticus carcinomában és mucoepidermoid carcinomában

- Tanulmányunk – mely az első, amelyik tüdő ACC-ben és MEC-ben átfogóan leírja a CLDN expressziós mintázatot – azt igazolta, hogy egyes CLDN-ok túlzott expressziója mind az ACC-ben, mind a MEC-ben megnyithatja az utat az anti-CLDN kezelés előtt ezekben a ritka tüdőrák altípusokban.
- Eredményeink alapján pulmonalis ACC és MEC esetében leginkább a CLDN2, -7 és -18 elleni onkoterápiák lehetősége merül fel, de emellett a CLDN3 és -4 overexpresszió is célpontként szolgálhat.

7. ÖSSZEFOGLALÁS

A molekuláris célzott terápiák és az immunterápia új lehetőségeket kínálnak a tüdőrák kezelésében a hagyományos platinabázisú kemoterápia mellett.

A ritka tüdőtumorkban, mint az adenoid cysticus carcinomában (ACC) vagy a mucoepidermoid carcinomában (MEC) az optimális kezelés a sebészi eltávolítás. Kemoterápia, ill. radioterápia hatásosságáról nincsenek egyértelmű adatok. Tüdő ACC-ben az elmúlt években végzett klinikai vizsgálatok a kemoterápiás szerek alacsony hatásosságát mutatták metasztatizáló betegség esetén, a célzott terápiák fejlesztése pedig még csak korai szakaszban van. MEC esetén sincs elfogadott kemoterápiás rezsim, de nem reszekálható tumor esetén kemoterápiás kezelés szóba jön.

A PubMed publikációi alapján tanulmányunk volt az első, amelyik részletes adatokat közölt a programmed cell death protein 1 (PD-1) és a programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) expressziójáról primer pulmonalis MEC és tracheobronchialis papilloma (TBP) esetében, és megerősítette a tüdő eredetű ACC-ben végzett nagyon kevés publikált vizsgálat eredményeit. Ezen ritka tüdőtumork esetében nagy szükség lenne több, az eddigieknél hatékonyabb terápiás módszer kifejlesztésére, különösen azon betegek számára, akiknek betegsége előrehaladott stádiumú. Eredményeink azt mutatják, hogy a primer tüdő nyálkamirigydagatok heterogének nemcsak az ACC/MEC alcsoportok tekintetében, hanem ezen szövettani altípusokon belül is. Ennek a megfigyelésnek nagyobb esetszámon történő vizsgálata hozzájárulhatna a ritka tüdőrákok személyre szabott terápiájához. Ha MEC-ben a $\geq 50\%$ PD-L1 TC megerősítést nyer, még akkor is, ha a betegek csak kis hányadában, akkor a magas PD-L1-expressziójú MEC-et külön alcsoportnak tekinthetjük, külön kezelési opcióval, mint például az immuncheckpoint-gátlók.

A ritka tüdőrákok claudin (CLDN) expressziójával foglalkozó tanulmányunk az első volt, amely átfogóan leírja a CLDN expressziós mintázatot tüdő ACC-ben és MEC-ben. Bizonyos CLDN-ok overexpressziója mind az ACC-ben, mind a MEC-ben megnyithatja az utat az anti-claudin célzott terápia előtt ezekben a ritka tüdőrák altípusokban. Eredményeink alapján a pulmonalis ACC és MEC esetében leginkább a CLDN-2, -7 és -18 elleni onkoterápiák lehetősége merül fel, de overexpresszió esetén a CLDN-3 és -4 is célpontként szolgálhat.

SUMMARY

Molecular targeted therapies and immunotherapy offer new options for lung cancer treatment in addition to conventional platinum-based chemotherapy.

In rare lung tumours, such as adenoid cystic carcinoma (ACC) or mucoepidermoid carcinoma (MEC), surgical resection is the optimal treatment. There are no clear data on the effectiveness of chemotherapy or radiotherapy. Clinical trials in lung ACC in recent years have shown low efficacy of chemotherapeutic agents in metastatic disease, and the development of targeted therapies is still at an early stage. There is no agreed chemotherapeutic regimen for MEC, but chemotherapy is an option for non-resectable tumours.

Based on PubMed publications, our study is the first to report comprehensive data on programmed cell death protein 1 (PD-1) and programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) expressions in primary pulmonary MEC and (tracheobronchialis papilloma (TBP), and confirms the results of the very few published studies in lung ACC. In these rare pulmonary tumors, there is unmet need to develop more efficient therapeutic modalities, especially for patients with advanced-stage disease. Our results demonstrate that primary lung salivary gland tumors are heterogeneous not only in terms of the MEC/ACC subgroups, but also within these histologic subtypes. A more comprehensive exploration of this observation in a larger cohort may contribute to personalized therapy in rare lung cancers. If $\geq 50\%$ PD-L1 TC in MEC is confirmed, even if only in a low proportion of patients, MEC with high PD-L1 expression might be regarded as a separate subgroup with distinct treatment option, such as immune checkpoint inhibition therapy.

Our study on claudin (CLDN) expression in rare lung cancers is the first, which comprehensively describes the CLDN expression pattern in pulmonary ACC and MEC. The overexpression of certain CLDNs both in ACC and MEC opens the door to anti-claudin treatment in these rare lung cancer subtypes. Based on the results of our present study, in the case of pulmonary ACC and MEC, oncotherapies against CLDN-2, -7 and -18 arise mostly, but in some cases CLDN-3 and -4 overexpression might also serve as a target.

8. IRODALOMJEGYZÉK

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-49.
2. Barta JA, Powell CA, Wisnivesky JP. Global Epidemiology of Lung Cancer. *Ann Glob Health.* 2019;85(1).
3. Goss PE, Strasser-Weippl K, Lee-Bychkovsky BL, Fan L, Li J, Chavarri-Guerra Y, Liedke PE, Pramesh CS, Badovinac-Crnjevic T, Sheikine Y, Chen Z, Qiao YL, Shao Z, Wu YL, Fan D, Chow LW, Wang J, Zhang Q, Yu S, Shen G, He J, Purushotham A, Sullivan R, Badwe R, Banavali SD, Nair R, Kumar L, Parikh P, Subramanian S, Chaturvedi P, Iyer S, Shastri SS, Digumarti R, Soto-Perez-de-Celis E, Adilbay D, Semiglazov V, Orlov S, Kaidarova D, Tsimafeyeu I, Tatishchev S, Danishevskiy KD, Hurlbert M, Vail C, St Louis J, Chan A. Challenges to effective cancer control in China, India, and Russia. *Lancet Oncol.* 2014;15(5):489-538.
4. Bogos K, Ostoros G. Tüdőrák. *Korányi Bulletin.* 2022(1):30-9.
5. Thandra KC, Barsouk A, Saginala K, Aluru JS, Barsouk A. Epidemiology of lung cancer. *Contemp Oncol (Pozn).* 2021;25(1):45-52.
6. Kerpel-Fronius A, Monostori Z, Kovacs G, Ostoros G, Horvath I, Solymosi D, Pipek O, Szatmari F, Kovacs A, Markoczy Z, Rojko L, Renyi-Vamos F, Hoetzenecker K, Bogos K, Megyesfalvi Z, Dome B. Nationwide lung cancer screening with low-dose computed tomography: implementation and first results of the HUNCHEST screening program. *Eur Radiol.* 2022;32(7):4457-67.
7. Collins LG, Haines C, Perkel R, Enck RE. Lung cancer: diagnosis and management. *Am Fam Physician.* 2007;75(1):56-63.
8. Liam CK, Lee P, Yu CJ, Bai C, Yasufuku K. The diagnosis of lung cancer in the era of interventional pulmonology. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2021;25(1):6-15.
9. Alexander M, Kim SY, Cheng H. Update 2020: Management of Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung.* 2020;198(6):897-907.
10. Bogos K, Sárosi V, Agócs L, Balikó Z, Csada E, Gálffy G, Horvát Á, Moldvay J, Pápai-Székely Z, Szilasi M, Szondy K, Ostoros G. Multidiszciplináris team szerepe a tüdőrák ellátásban. *Medicina Thoracalis.* 2018;71.(5.):295-6.

11. Pignon JP, Tribodet H, Scagliotti GV, Douillard JY, Shepherd FA, Stephens RJ, Dunant A, Torri V, Rosell R, Seymour L, Spiro SG, Rolland E, Fossati R, Aubert D, Ding K, Waller D, Le Chevalier T. Lung adjuvant cisplatin evaluation: a pooled analysis by the LACE Collaborative Group. *J Clin Oncol*. 2008;26(21):3552-9.
12. Tsuboi M, Herbst RS, John T, Kato T, Majem M, Grohé C, Wang J, Goldman JW, Lu S, Su WC, de Marinis F, Shepherd FA, Lee KH, Le NT, Dechaphunkul A, Kowalski D, Poole L, Bolanos A, Rukazenzov Y, Wu YL. Overall Survival with Osimertinib in Resected EGFR-Mutated NSCLC. *N Engl J Med*. 2023;389(2):137-47.
13. Pirker R. Chemotherapy remains a cornerstone in the treatment of nonsmall cell lung cancer. *Curr Opin Oncol*. 2020;32(1):63-7.
14. Denisenko TV, Budkevich IN, Zhivotovsky B. Cell death-based treatment of lung adenocarcinoma. *Cell Death Dis*. 2018;9(2):117.
15. Paik PK, Pillai RN, Lathan CS, Velasco SA, Papadimitrakopoulou V. New Treatment Options in Advanced Squamous Cell Lung Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2019;39:e198-e206.
16. Vinod SK, Hau E. Radiotherapy treatment for lung cancer: Current status and future directions. *Respirology*. 2020;25 Suppl 2:61-71.
17. Aronowitz JN. Afterloading: The Technique That Rescued Brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2015;92(3):479-87.
18. Qiu B, Jiang P, Ji Z, Huo X, Sun H, Wang J. Brachytherapy for lung cancer. *Brachytherapy*. 2021;20(2):454-66.
19. Sekine I, Kodama T, Yokose T, Nishiwaki Y, Suzuki K, Goto K, Nagai K, Kuriyama T. Rare pulmonary tumors - a review of 32 cases. *Oncology*. 1998;55(5):431-4.
20. Gaissert HA, Mark EJ. Tracheobronchial gland tumors. *Cancer Control*. 2006;13(4):286-94.
21. Abu Saleh WK, Aljabbari O, Ramchandani M. Mucoepidermoid Carcinoma of the Tracheobronchial Tree. *Methodist DeBakey Cardiovasc J*. 2015;11(3):192-4.
22. Zaleski MP, Kalhor N, Moran CA. Mucous Gland Adenoma: The Spectrum of Growth Patterns and the Diagnostic Challenges. *Adv Anat Pathol*. 2020;27(6):371-9.
23. Spencer H. Bronchial mucous gland tumours. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*. 1979;383(1):101-15.

24. Zhu Z, Lian X, Yang D. Right main bronchial pleomorphic adenoma: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(42):e12648.
25. Qing S, Zhou K, Liu X, Li X, Deng F, Ma Y. Primary pulmonary adenoid cystic carcinoma: clinicopathological analyses of 12 cases. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015;8(6):7619-26.
26. Macchiarini P. Primary tracheal tumours. *Lancet Oncol*. 2006;7(1):83-91.
27. Ho AS, Kannan K, Roy DM, Morris LG, Ganly I, Katabi N, Ramaswami D, Walsh LA, Eng S, Huse JT, Zhang J, Dolgalev I, Huberman K, Heguy A, Viale A, Drobnjak M, Leversha MA, Rice CE, Singh B, Iyer NG, Leemans CR, Bloemena E, Ferris RL, Seethala RR, Gross BE, Liang Y, Sinha R, Peng L, Raphael BJ, Turcan S, Gong Y, Schultz N, Kim S, Chiosea S, Shah JP, Sander C, Lee W, Chan TA. The mutational landscape of adenoid cystic carcinoma. *Nat Genet*. 2013;45(7):791-8.
28. Ho AS, Ochoa A, Jayakumaran G, Zehir A, Valero Mayor C, Tepe J, Makarov V, Dalin MG, He J, Bailey M, Montesion M, Ross JS, Miller VA, Chan L, Ganly I, Dogan S, Katabi N, Tsiouras P, Ha P, Agrawal N, Solit DB, Futreal PA, El Naggar AK, Reis-Filho JS, Weigelt B, Ho AL, Schultz N, Chan TA, Morris LG. Genetic hallmarks of recurrent/metastatic adenoid cystic carcinoma. *J Clin Invest*. 2019;129(10):4276-89.
29. García JJ, Hunt JL, Weinreb I, McHugh JB, Barnes EL, Ciepły K, Dacic S, Seethala RR. Fluorescence in situ hybridization for detection of MAML2 rearrangements in oncocytic mucoepidermoid carcinomas: utility as a diagnostic test. *Hum Pathol*. 2011;42(12):2001-9.
30. O'Neill ID. t(11;19) translocation and CRTCl-MAML2 fusion oncogene in mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncol*. 2009;45(1):2-9.
31. Clauditz TS, Gontarewicz A, Wang CJ, Münscher A, Laban S, Tsourlakis MC, Knecht R, Sauter G, Wilczak W. 11q21 rearrangement is a frequent and highly specific genetic alteration in mucoepidermoid carcinoma. *Diagn Mol Pathol*. 2012;21(3):134-7.
32. Wang Y, Cai S, Xue Q, Mu J, Gao Y, Tan F, Mao Y, Wang D, Zhao J, Gao S, He J. Treatment outcomes of patients with tracheobronchial mucoepidermoid carcinoma compared with those with adenoid cystic carcinoma. *Eur J Surg Oncol*. 2020;46(10 Pt A):1888-95.

33. Resio BJ, Chiu AS, Hoag J, Dhanasopon AP, Blasberg JD, Boffa DJ. Primary Salivary Type Lung Cancers in the National Cancer Database. *Ann Thorac Surg.* 2018;105(6):1633-9.
34. Zhu F, Liu Z, Hou Y, He D, Ge X, Bai C, Jiang L, Li S. Primary salivary gland-type lung cancer: clinicopathological analysis of 88 cases from China. *J Thorac Oncol.* 2013;8(12):1578-84.
35. Komiya T, Perez RP, Yamamoto S, Neupane P. Primary lung mucoepidermoid carcinoma: analysis of prognostic factors using surveillance, epidemiology and end results program. *Clin Respir J.* 2017;11(6):847-53.
36. Wang X, Luo Y, Li M, Yan H, Sun M, Fan T. Management of salivary gland carcinomas - a review. *Oncotarget.* 2017;8(3):3946-56.
37. Kalhor N, Moran CA. Pulmonary mucoepidermoid carcinoma: diagnosis and treatment. *Expert Rev Respir Med.* 2018;12(3):249-55.
38. Tamura K, Uchimura K, Furuse H, Imabayashi T, Matsumoto Y, Tsuchida T. Mucoepidermoid carcinoma cured by a combination of high-frequency snare and photodynamic therapy: A case report. *Thorac Cancer.* 2023;14(14):1306-10.
39. Ding YM, Wang Q. Endoscopic resection of bronchial mucoepidermoid carcinoma in a young adult man: A case report and review of literature. *World J Clin Cases.* 2022;10(32):11921-8.
40. Dillon PM, Chakraborty S, Moskaluk CA, Joshi PJ, Thomas CY. Adenoid cystic carcinoma: A review of recent advances, molecular targets, and clinical trials. *Head Neck.* 2016;38(4):620-7.
41. Laurie SA, Ho AL, Fury MG, Sherman E, Pfister DG. Systemic therapy in the management of metastatic or locally recurrent adenoid cystic carcinoma of the salivary glands: a systematic review. *Lancet Oncol.* 2011;12(8):815-24.
42. Bajpai J, Rajagopal TV, Kant S, Shukla S, Pradhan A, Bajaj DK. Curious case of primary pulmonary mucoepidermoid carcinoma. *J Family Med Prim Care.* 2019;8(12):4039-41.
43. Gyulai M, Harkó T, Moldvay J. Adenoid cystikus carcinoma és mucoepidermoid carcinoma a tüdőben. *Medicina Thoracalis.* 2023;76.:7.

44. Ancevski Hunter K, Socinski MA, Villaruz LC. PD-L1 Testing in Guiding Patient Selection for PD-1/PD-L1 Inhibitor Therapy in Lung Cancer. *Mol Diagn Ther.* 2018;22(1):1-10.
45. Shao T, Zhao M, Liang L, Tang W. A systematic review and network meta-analysis of first-line immune checkpoint inhibitor combination therapies in patients with advanced non-squamous non-small cell lung cancer. *Front Immunol.* 2022;13:948597.
46. O'Byrne K, Popoff E, Badin F, Lee A, Yuan Y, Lozano-Ortega G, Eccles LJ, Varol N, Waser N, Penrod JR, Goring S. Long-term comparative efficacy and safety of nivolumab plus ipilimumab relative to other first-line therapies for advanced non-small-cell lung cancer: A systematic literature review and network meta-analysis. *Lung Cancer.* 2023;177:11-20.
47. Brown JA, Dorfman DM, Ma FR, Sullivan EL, Munoz O, Wood CR, Greenfield EA, Freeman GJ. Blockade of programmed death-1 ligands on dendritic cells enhances T cell activation and cytokine production. *J Immunol.* 2003;170(3):1257-66.
48. Wang X, Teng F, Kong L, Yu J. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *Onco Targets Ther.* 2016;9:5023-39.
49. Bravaccini S, Bronte G, Ulivi P. TMB in NSCLC: A Broken Dream? *Int J Mol Sci.* 2021;22(12).
50. Chang L, Chang M, Chang HM, Chang F. Microsatellite Instability: A Predictive Biomarker for Cancer Immunotherapy. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2018;26(2):e15-e21.
51. Li LL, Yu CF, Xie HT, Chen Z, Jia BH, Xie FY, Cai YF, Xue P, Zhu SJ. Biomarkers and factors in small cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: A meta-analysis. *Cancer Med.* 2023;12(10):11211-33.
52. Dietel M, Savelov N, Salanova R, Micke P, Bigras G, Hida T, Antunez J, Guldhammer Skov B, Hutarew G, Sua LF, Akita H, Chan OSH, Piperdi B, Burke T, Khambata-Ford S, Deitz AC. Real-world prevalence of programmed death ligand 1 expression in locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer: The global, multicenter EXPRESS study. *Lung Cancer.* 2019;134:174-9.
53. Skov BG, Rørvig SB, Jensen THL, Skov T. The prevalence of programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer in an unselected, consecutive population. *Mod Pathol.* 2020;33(1):109-17.

54. Reiniger L, Téglási V, Pipek O, Rojkó L, Glasz T, Vágvölgyi A, Kovalszky I, Gyulai M, Lohinai Z, Rásó E, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Moldvay J. Tumor necrosis correlates with PD-L1 and PD-1 expression in lung adenocarcinoma. *Acta Oncol.* 2019;58(8):1087-94.
55. Téglási V, Reiniger L, Fábíán K, Pipek O, Csala I, Bagó AG, Várallyai P, Vízkeleti L, Rojkó L, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Swanton C, Moldvay J. Evaluating the significance of density, localization, and PD-1/PD-L1 immunopositivity of mononuclear cells in the clinical course of lung adenocarcinoma patients with brain metastasis. *Neuro Oncol.* 2017;19(8):1058-67.
56. Téglási V, Pipek O, Lózsa R, Berta K, Szüts D, Harkó T, Vadász P, Rojkó L, Döme B, Bagó AG, Tímár J, Moldvay J, Szállási Z, Reiniger L. PD-L1 Expression of Lung Cancer Cells, Unlike Infiltrating Immune Cells, Is Stable and Unaffected by Therapy During Brain Metastasis. *Clin Lung Cancer.* 2019;20(5):363-9.e2.
57. Chen W, Fung AS, McIntyre JB, Simpson R, Afzal AR, Hao D, Lau H. Assessment Of Tumour Infiltrating Lymphocytes And Pd-11 Expression In Adenoid Cystic Carcinoma Of The Salivary Gland. *Clin Invest Med.* 2021;44(1):E38-41.
58. Wu L, Jiang C, Zhu Z, Sun Y, Zhang T. Prognostic role of PD-L1 expression in patients with salivary gland carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2022;17(7):e0272080.
59. Farhat R, Asna N, Avraham Y, Khater A, Asakla M, Safia A, Szvalb S, Elkhatib N, Merchavy S. Pembrolizumab as a first line therapy in a patient with extensive mucoepidermoid salivary gland carcinoma. A complete clinical, radiological and pathological response. A very specific case. *Discov Oncol.* 2022;13(1):37.
60. Wang F, Xie X, Song M, Ji L, Liu M, Li P, Guan Y, Lin X, Qin Y, Xie Z, Zhang J, Ouyang M, Gu Y, Deng H, Xia X, Xin Y, Zhou C. Tumor immune microenvironment and mutational analysis of tracheal adenoid cystic carcinoma. *Ann Transl Med.* 2020;8(12):750.
61. Günzel D, Fromm M. Claudins and other tight junction proteins. *Compr Physiol.* 2012;2(3):1819-52.
62. Heinemann U, Schuetz A. Structural Features of Tight-Junction Proteins. *Int J Mol Sci.* 2019;20(23).

63. Russ PK, Pino CJ, Williams CS, Bader DM, Haselton FR, Chang MS. Bves modulates tight junction associated signaling. *PLoS One*. 2011;6(1):e14563.
64. Han P, Lei Y, Li D, Liu J, Yan W, Tian D. Ten years of research on the role of BVES/ POPDC1 in human disease: a review. *Onco Targets Ther*. 2019;12:1279-91.
65. Sánchez-Pulido L, Martín-Belmonte F, Valencia A, Alonso MA. MARVEL: a conserved domain involved in membrane apposition events. *Trends Biochem Sci*. 2002;27(12):599-601.
66. Hadj-Rabia S, Brideau G, Al-Sarraj Y, Maroun RC, Figueres ML, Leclerc-Mercier S, Olinger E, Baron S, Chaussain C, Nochy D, Taha RZ, Knebelmann B, Joshi V, Curmi PA, Kambouris M, Vargas-Poussou R, Bodemer C, Devuyst O, Houillier P, El-Shanti H. Multiplex epithelium dysfunction due to CLDN10 mutation: the HELIX syndrome. *Genet Med*. 2018;20(2):190-201.
67. Prot-Bertoye C, Houillier P. Claudins in Renal Physiology and Pathology. *Genes (Basel)*. 2020;11(3).
68. Schlingmann B, Molina SA, Koval M. Claudins: Gatekeepers of lung epithelial function. *Semin Cell Dev Biol*. 2015;42:47-57.
69. Soini Y. Claudins in lung diseases. *Respir Res*. 2011;12(1):70.
70. Lappi-Blanco E, Lehtonen ST, Sormunen R, Merikallio HM, Soini Y, Kaarteenaho RL. Divergence of tight and adherens junction factors in alveolar epithelium in pulmonary fibrosis. *Hum Pathol*. 2013;44(5):895-907.
71. Zemke AC, Snyder JC, Brockway BL, Drake JA, Reynolds SD, Kaminski N, Stripp BR. Molecular staging of epithelial maturation using secretory cell-specific genes as markers. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2009;40(3):340-8.
72. Ohta H, Chiba S, Ebina M, Furuse M, Nukiwa T. Altered expression of tight junction molecules in alveolar septa in lung injury and fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012;302(2):L193-205.
73. Rezaee F, Georas SN. Breaking barriers. New insights into airway epithelial barrier function in health and disease. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;50(5):857-69.
74. Kaarteenaho R, Merikallio H, Lehtonen S, Harju T, Soini Y. Divergent expression of claudin -1, -3, -4, -5 and -7 in developing human lung. *Respir Res*. 2010;11(1):59.
75. Kaarteenaho-Wiik R, Soini Y. Claudin-1, -2, -3, -4, -5, and -7 in usual interstitial pneumonia and sarcoidosis. *J Histochem Cytochem*. 2009;57(3):187-95.

76. Niimi T, Nagashima K, Ward JM, Minoo P, Zimonjic DB, Popescu NC, Kimura S. claudin-18, a novel downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1 homeodomain transcription factor, encodes lung- and stomach-specific isoforms through alternative splicing. *Mol Cell Biol.* 2001;21(21):7380-90.
77. LaFemina MJ, Sutherland KM, Bentley T, Gonzales LW, Allen L, Chapin CJ, Rokkam D, Sweerus KA, Dobbs LG, Ballard PL, Frank JA. Claudin-18 deficiency results in alveolar barrier dysfunction and impaired alveologenesis in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2014;51(4):550-8.
78. Van Itallie CM, Fanning AS, Anderson JM. Reversal of charge selectivity in cation or anion-selective epithelial lines by expression of different claudins. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2003;285(6):F1078-84.
79. Van Itallie C, Rahner C, Anderson JM. Regulated expression of claudin-4 decreases paracellular conductance through a selective decrease in sodium permeability. *J Clin Invest.* 2001;107(10):1319-27.
80. Hou J, Renigunta A, Yang J, Waldegger S. Claudin-4 forms paracellular chloride channel in the kidney and requires claudin-8 for tight junction localization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010;107(42):18010-5.
81. Mitchell LA, Overgaard CE, Ward C, Margulies SS, Koval M. Differential effects of claudin-3 and claudin-4 on alveolar epithelial barrier function. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2011;301(1):L40-9.
82. Wray C, Mao Y, Pan J, Chandrasena A, Piasta F, Frank JA. Claudin-4 augments alveolar epithelial barrier function and is induced in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2009;297(2):L219-27.
83. Rokkam D, Lafemina MJ, Lee JW, Matthay MA, Frank JA. Claudin-4 levels are associated with intact alveolar fluid clearance in human lungs. *Am J Pathol.* 2011;179(3):1081-7.
84. Kage H, Flodby P, Gao D, Kim YH, Marconett CN, DeMaio L, Kim KJ, Crandall ED, Borok Z. Claudin 4 knockout mice: normal physiological phenotype with increased susceptibility to lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2014;307(7):L524-36.
85. Eaton DC, Helms MN, Koval M, Bao HF, Jain L. The contribution of epithelial sodium channels to alveolar function in health and disease. *Annu Rev Physiol.* 2009;71:403-23.

86. Martin TA, Jiang WG. Loss of tight junction barrier function and its role in cancer metastasis. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1788(4):872-91.
87. Tabariès S, Siegel PM. The role of claudins in cancer metastasis. *Oncogene*. 2017;36(9):1176-90.
88. Popova OP, Kuznetsova AV, Bogomazova SY, Ivanov AA. Claudins as biomarkers of differential diagnosis and prognosis of tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2021;147(10):2803-17.
89. Rahman A, Kobayashi M, Sugimoto K, Endo Y, Kojima M, Furukawa S, Watanabe T, Soeda S, Hashimoto Y, Fujimori K, Chiba H. Reduced Claudin-12 Expression Predicts Poor Prognosis in Cervical Cancer. *Int J Mol Sci*. 2021;22(7).
90. Kominsky SL, Argani P, Korz D, Evron E, Raman V, Garrett E, Rein A, Sauter G, Kallioniemi OP, Sukumar S. Loss of the tight junction protein claudin-7 correlates with histological grade in both ductal carcinoma in situ and invasive ductal carcinoma of the breast. *Oncogene*. 2003;22(13):2021-33.
91. Morohashi S, Kusumi T, Sato F, Odagiri H, Chiba H, Yoshihara S, Hakamada K, Sasaki M, Kijima H. Decreased expression of claudin-1 correlates with recurrence status in breast cancer. *Int J Mol Med*. 2007;20(2):139-43.
92. Soini Y, Tammola S, Helin H, Martikainen P. Claudins 1, 3, 4 and 5 in gastric carcinoma, loss of claudin expression associates with the diffuse subtype. *Virchows Arch*. 2006;448(1):52-8.
93. Higashi Y, Suzuki S, Sakaguchi T, Nakamura T, Baba S, Reinecker HC, Nakamura S, Konno H. Loss of claudin-1 expression correlates with malignancy of hepatocellular carcinoma. *J Surg Res*. 2007;139(1):68-76.
94. Miyamoto K, Kusumi T, Sato F, Kawasaki H, Shibata S, Ohashi M, Hakamada K, Sasaki M, Kijima H. Decreased expression of claudin-1 is correlated with recurrence status in esophageal squamous cell carcinoma. *Biomed Res*. 2008;29(2):71-6.
95. Seo KW, Kwon YK, Kim BH, Kim CI, Chang HS, Choe MS, Park CH. Correlation between Claudins Expression and Prognostic Factors in Prostate Cancer. *Korean J Urol*. 2010;51(4):239-44.
96. Leech AO, Cruz RG, Hill AD, Hopkins AM. Paradigms lost-an emerging role for over-expression of tight junction adhesion proteins in cancer pathogenesis. *Ann Transl Med*. 2015;3(13):184.

97. Pope JL, Ahmad R, Bhat AA, Washington MK, Singh AB, Dhawan P. Claudin-1 overexpression in intestinal epithelial cells enhances susceptibility to adenomatous polyposis coli-mediated colon tumorigenesis. *Mol Cancer*. 2014;13:167.
98. Oku N, Sasabe E, Ueta E, Yamamoto T, Osaki T. Tight junction protein claudin-1 enhances the invasive activity of oral squamous cell carcinoma cells by promoting cleavage of laminin-5 gamma2 chain via matrix metalloproteinase (MMP)-2 and membrane-type MMP-1. *Cancer Res*. 2006;66(10):5251-7.
99. Rangel LB, Agarwal R, D'Souza T, Pizer ES, Alò PL, Lancaster WD, Gregoire L, Schwartz DR, Cho KR, Morin PJ. Tight junction proteins claudin-3 and claudin-4 are frequently overexpressed in ovarian cancer but not in ovarian cystadenomas. *Clin Cancer Res*. 2003;9(7):2567-75.
100. Choi YL, Kim J, Kwon MJ, Choi JS, Kim TJ, Bae DS, Koh SS, In YH, Park YW, Kim SH, Ahn G, Shin YK. Expression profile of tight junction protein claudin 3 and claudin 4 in ovarian serous adenocarcinoma with prognostic correlation. *Histol Histopathol*. 2007;22(11):1185-95.
101. Blanchard AA, Skliris GP, Watson PH, Murphy LC, Penner C, Tomes L, Young TL, Leygue E, Myal Y. Claudins 1, 3, and 4 protein expression in ER negative breast cancer correlates with markers of the basal phenotype. *Virchows Arch*. 2009;454(6):647-56.
102. Kulka J, Szász AM, Németh Z, Madaras L, Schaff Z, Molnár IA, Tokés AM. Expression of tight junction protein claudin-4 in basal-like breast carcinomas. *Pathol Oncol Res*. 2009;15(1):59-64.
103. Lanigan F, McKiernan E, Brennan DJ, Hegarty S, Millikan RC, McBryan J, Jirstrom K, Landberg G, Martin F, Duffy MJ, Gallagher WM. Increased claudin-4 expression is associated with poor prognosis and high tumour grade in breast cancer. *Int J Cancer*. 2009;124(9):2088-97.
104. Kimbung S, Kovács A, Bendahl PO, Malmström P, Fernö M, Hatschek T, Hedenfalk I. Claudin-2 is an independent negative prognostic factor in breast cancer and specifically predicts early liver recurrences. *Mol Oncol*. 2014;8(1):119-28.
105. Sheehan GM, Kallakury BV, Sheehan CE, Fisher HA, Kaufman RP, Jr., Ross JS. Loss of claudins-1 and -7 and expression of claudins-3 and -4 correlate with prognostic variables in prostatic adenocarcinomas. *Hum Pathol*. 2007;38(4):564-9.

106. Soini Y. Expression of claudins 1, 2, 3, 4, 5 and 7 in various types of tumours. *Histopathology*. 2005;46(5):551-60.
107. Soini Y, Kinnula V, Kahlos K, Pääkkö P. Claudins in differential diagnosis between mesothelioma and metastatic adenocarcinoma of the pleura. *J Clin Pathol*. 2006;59(3):250-4.
108. Moldvay J, Jäckel M, Páska C, Soltész I, Schaff Z, Kiss A. Distinct claudin expression profile in histologic subtypes of lung cancer. *Lung Cancer*. 2007;57(2):159-67.
109. Chao YC, Pan SH, Yang SC, Yu SL, Che TF, Lin CW, Tsai MS, Chang GC, Wu CH, Wu YY, Lee YC, Hong TM, Yang PC. Claudin-1 is a metastasis suppressor and correlates with clinical outcome in lung adenocarcinoma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(2):123-33.
110. Sun BS, Yao YQ, Pei BX, Zhang ZF, Wang CL. Claudin-1 correlates with poor prognosis in lung adenocarcinoma. *Thorac Cancer*. 2016;7(5):556-63.
111. Moldvay J, Fábián K, Jäckel M, Németh Z, Bogos K, Furák J, Tiszlavicz L, Fillinger J, Döme B, Schaff Z. Claudin-1 Protein Expression Is a Good Prognostic Factor in Non-Small Cell Lung Cancer, but only in Squamous Cell Carcinoma Cases. *Pathol Oncol Res*. 2017;23(1):151-6.
112. Wang Q, Zhang Y, Zhang T, Han ZG, Shan L. Low claudin-6 expression correlates with poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Onco Targets Ther*. 2015;8:1971-7.
113. Lu Z, Ding L, Hong H, Hoggard J, Lu Q, Chen YH. Claudin-7 inhibits human lung cancer cell migration and invasion through ERK/MAPK signaling pathway. *Exp Cell Res*. 2011;317(13):1935-46.
114. Sun L, Feng L, Cui J. Increased expression of claudin-12 promotes the metastatic phenotype of human bronchial epithelial cells and is associated with poor prognosis in lung squamous cell carcinoma. *Exp Ther Med*. 2019;17(1):165-74.
115. Chae MC, Park CK, Keum DY, Hwang I, Kwon KY, Jang BC. Prognostic significance of claudin 4 in completely resected adenocarcinoma of the lung. *Korean J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;47(3):262-8.
116. Ji H, Ding X, Zhang W, Zheng Y, Du H, Zheng Y, Song H, Li M, Jiang Y, Xie J, Wu M, Jiao P, Wang Z, Wu H, Zhong Y. Claudin-7 Inhibits Proliferation and Metastasis

in Salivary Adenoid Cystic Carcinoma Through Wnt/ β -Catenin Signaling. *Cell Transplant*. 2020;29:963689720943583.

117. Ko JJ, Siever JE, Hao D, Simpson R, Lau HY. Adenoid cystic carcinoma of head and neck: clinical predictors of outcome from a Canadian centre. *Curr Oncol*. 2016;23(1):26-33.

118. Syn N, Wang L, Sethi G, Thiery JP, Goh BC. Exosome-Mediated Metastasis: From Epithelial-Mesenchymal Transition to Escape from Immunosurveillance. *Trends Pharmacol Sci*. 2016;37(7):606-17.

119. Hou J, Wang F, Liu X, Song M, Yin X. Tumor-derived exosomes enhance invasion and metastasis of salivary adenoid cystic carcinoma cells. *J Oral Pathol Med*. 2018;47(2):144-51.

120. Abd El-Ghani SF, Kasem RF, Ghallab NA, Shaker OG. Detection of claudin-4 in salivary gland neoplasms (a study utilizing RT-PCR and immunohistochemistry). *J Oral Pathol Med*. 2013;42(10):781-7.

121. Arruda CFJ, Coutinho-Camillo CM, Marques MM, Nagano CP, Bologna SB, Bettim BB, Germano JN, Pinto CAL, Hsieh R, Lourenço SV. Claudin expression is maintained in mucoepidermoid carcinoma of the salivary gland. *Pathol Res Pract*. 2020;216(11):153161.

122. Arrojo ML, Oliveira KK, Bettim BB, Kowalski LP, Carraro DM, Meira I, Torrezan GT, Lourenço SV, Coutinho-Camillo CM. Tight junction gene expression in salivary gland tumors. *Pathol Res Pract*. 2022;238:154113.

123. Aro K, Rosa LE, Bello IO, Soini Y, Mäkitie AA, Salo T, Leivo I. Expression pattern of claudins 1 and 3-an auxiliary tool in predicting behavior of mucoepidermoid carcinoma of salivary gland origin. *Virchows Arch*. 2011;458(3):341-8.

124. Gyulai M, Megyesfalvi Z, Reiniger L, Harko T, Ferencz B, Karsko L, Agocs L, Fillinger J, Dome B, Szallasi Z, Moldvay J. PD-1 and PD-L1 expression in rare lung tumors. *Pathol Oncol Res*. 2023;29:1611164.

125. Gyulai M, Harko T, Fabian K, Karsko L, Agocs L, Szigeti B, Fillinger J, Szallasi Z, Pipek O, Moldvay J. Claudin expression in pulmonary adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma. *Pathology and Oncology Research*. 2023;29.

126. Yang CY, Lin MW, Chang YL, Wu CT, Yang PC. Programmed cell death-ligand 1 expression is associated with a favourable immune microenvironment and better overall survival in stage I pulmonary squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer*. 2016;57:91-103.
127. Festino L, Botti G, Lorigan P, Masucci GV, Hipp JD, Horak CE, Melero I, Ascierto PA. Cancer Treatment with Anti-PD-1/PD-L1 Agents: Is PD-L1 Expression a Biomarker for Patient Selection? *Drugs*. 2016;76(9):925-45.
128. Rojkó L, Reiniger L, Téglási V, Fábíán K, Pipek O, Vágvölgyi A, Agócs L, Fillinger J, Kajdácsi Z, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Moldvay J. Chemotherapy treatment is associated with altered PD-L1 expression in lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2018;144(7):1219-26.
129. Guan R, Lyu Q, Lin A, Liang J, Ding W, Cao M, Luo P, Zhang J. Influence of Different Age Cutoff Points on the Prediction of Prognosis of Cancer Patients Receiving ICIs and Potential Mechanistic Exploration. *Front Oncol*. 2021;11:670927.
130. Li D, Pang X, Zhu X, Shanzhou Q, Wen G, Ma D. Low-dose radiotherapy combined with immunotherapy for suboral adenoid cystic carcinoma with bilateral lung metastasis: A case report and literature review. *Oncol Lett*. 2022;24(2):279.
131. Pharaon RR, Gernon T, Chang S, Vora N, Villaflor VM, Bell D, Afkhami M, Amini A, Sampath S, Kang R, Maghami EG, Massarelli E. Prolonged response to checkpoint inhibitor therapy in two metastatic mucoepidermoid salivary gland carcinoma cases: a research report. *Cold Spring Harb Mol Case Stud*. 2022;8(3).
132. Mueller SK, Haderlein M, Lettmaier S, Agaimy A, Haller F, Hecht M, Fietkau R, Iro H, Mantsopoulos K. Targeted Therapy, Chemotherapy, Immunotherapy and Novel Treatment Options for Different Subtypes of Salivary Gland Cancer. *J Clin Med*. 2022;11(3).
133. Hu S, Gong J, Zhu X, Lu H. Pulmonary Salivary Gland Tumor, Mucoepidermoid Carcinoma: A Literature Review. *J Oncol*. 2022;2022:9742091.
134. Liu J WL, Lin Q. Expression of programmed death receptor 1 and its ligand in primary lung mucoepidermoid carcinoma and its clinical significance. *Fujian Med J*. 2018;40(6):16-9.
135. Gerdabi S, Asadian F, Kiani R, Khademi B, Haghshenas MR, Erfani N. Simultaneous Expression of PD-1 and PD-L1 in Peripheral and Central Immune Cells

and Tumor Cells in the Benign and Malignant Salivary Gland Tumors Microenvironment. *Head Neck Pathol.* 2023;17(1):178-92.

136. Zheng KF, Liu YJ, Ma N, Xiong YL, Tang XY, Zhang Q, Luo ZL, Tian HH, Hofman P, Ichiki Y, Metro G, Tachihara M, Gong L, Li XF, Zhao JB. PD-L1 expression and immune cells infiltration in primary tracheobronchial neoplasm. *Transl Lung Cancer Res.* 2021;10(12):4617-30.

137. Witte HM, Gebauer N, Lappöhn D, Umatham VG, Riecke A, Arndt A, Steinestel K. Prognostic Impact of PD-L1 Expression in Malignant Salivary Gland Tumors as Assessed by Established Scoring Criteria: Tumor Proportion Score (TPS), Combined Positivity Score (CPS), and Immune Cell (IC) Infiltrate. *Cancers (Basel).* 2020;12(4).

138. Xu B, Jungbluth AA, Frosina D, Alzumaili B, Aleynick N, Slodkowska E, Higgins K, Ho A, Morris L, Ghossein R, Katabi N. The immune microenvironment and expression of PD-L1, PD-1, PRAME and MHC I in salivary duct carcinoma. *Histopathology.* 2019;75(5):672-82.

139. Mosconi C, de Arruda JAA, de Farias ACR, Oliveira GAQ, de Paula HM, Fonseca FP, Mesquita RA, Silva TA, Mendonça EF, Batista AC. Immune microenvironment and evasion mechanisms in adenoid cystic carcinomas of salivary glands. *Oral Oncol.* 2019;88:95-101.

140. Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, Young RJ, Sturrock S, Cooper WA, Fox SB. Comparison of Four PD-L1 Immunohistochemical Assays in Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2018;13(3):367-76.

141. Peng Y, Li Z, Fu Y, Pan Y, Zeng Y, Liu J, Xiao C, Zhang Y, Su Y, Li G, Wu F. Progress and perspectives of perioperative immunotherapy in non-small cell lung cancer. *Front Oncol.* 2023;13:1011810.

142. Shah M, Marmarelis ME, Mamtani R, Hennessy S. Association Between Survival and Very High Versus High PD-L1 Expression in Patients Receiving Pembrolizumab as First-line Treatment for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Lung Cancer.* 2022;23(8):731-6.

143. Stinchcombe TE. Narrative review: blood and tumor biomarker testing in non-small cell lung cancer without an oncogenic driver. *Transl Lung Cancer Res.* 2023;12(1):158-67.

144. Wankhede D, Hofman P, Grover S. PD-1/PD-L1 inhibitors in treatment-naïve, advanced non-small cell lung cancer patients with <1% PD-L1 expression: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2023;149(5):2179-89.
145. Chevallier M, Borgeaud M, Addeo A, Friedlaender A. Oncogenic driver mutations in non-small cell lung cancer: Past, present and future. *World J Clin Oncol.* 2021;12(4):217-37.
146. Lang C, Lantos A, Megyesfalvi Z, Egger F, Hoda MA, Mosleh B, Klikovits T, Oberndorfer F, Timelthaler G, Ferencz B, Fillinger J, Schwendenwein A, Querner AS, Boettiger K, Renyi-Vamos F, Hoetzenecker K, Laszlo V, Schelch K, Dome B. Clinical and prognostic implications of CD47 and PD-L1 expression in surgically resected small-cell lung cancer. *ESMO Open.* 2022;7(6):100631.
147. Qi J, Zhang J, Liu N, Zhao L, Xu B. Prognostic Implications of Molecular Subtypes in Primary Small Cell Lung Cancer and Their Correlation With Cancer Immunity. *Front Oncol.* 2022;12:779276.
148. de Sousa LG, Jovanovic K, Ferrarotto R. Metastatic Adenoid Cystic Carcinoma: Genomic Landscape and Emerging Treatments. *Curr Treat Options Oncol.* 2022;23(8):1135-50.
149. Maria OM, Kim JW, Gerstenhaber JA, Baum BJ, Tran SD. Distribution of tight junction proteins in adult human salivary glands. *J Histochem Cytochem.* 2008;56(12):1093-8.
150. Aoyama T, Takasawa A, Murata M, Osanai M, Takano K, Hasagawa T, Sawada N. Immunoreactivity patterns of tight junction proteins are useful for differential diagnosis of human salivary gland tumors. *Med Mol Morphol.* 2019;52(1):23-35.
151. Morris LGT, Chandramohan R, West L, Zehir A, Chakravarty D, Pfister DG, Wong RJ, Lee NY, Sherman EJ, Baxi SS, Ganly I, Singh B, Shah JP, Shaha AR, Boyle JO, Patel SG, Roman BR, Barker CA, McBride SM, Chan TA, Dogan S, Hyman DM, Berger MF, Solit DB, Riaz N, Ho AL. The Molecular Landscape of Recurrent and Metastatic Head and Neck Cancers: Insights From a Precision Oncology Sequencing Platform. *JAMA Oncol.* 2017;3(2):244-55.
152. Garg PK, Sharma G, Rai S, Jakhetiya A. Primary salivary gland-type tumors of the lung: A systematic review and pooled analysis. *Lung India.* 2019;36(2):118-22.

153. de Sousa LG, Neto FL, Lin J, Ferrarotto R. Treatment of Recurrent or Metastatic Adenoid Cystic Carcinoma. *Curr Oncol Rep.* 2022;24(5):621-31.
154. Roehlen N, Muller M, Nehme Z, Crouchet E, Jühling F, Del Zompo F, Cherradi S, Duong FHT, Almeida N, Saviano A, Fernández-Vaquero M, Riedl T, El Saghire H, Durand SC, Ponsolles C, Oudot MA, Martin R, Brignon N, Felli E, Pessaux P, Lallement A, Davidson I, Bandiera S, Thumann C, Marchand P, Moll S, Nicolay B, Bardeesy N, Hoshida Y, Heikenwälder M, Iacone R, Toso A, Meyer M, Elson G, Schweighoffer T, Teixeira G, Zeisel MB, Laquerriere P, Lupberger J, Schuster C, Mailly L, Baumert TF. Treatment of HCC with claudin-1-specific antibodies suppresses carcinogenic signaling and reprograms the tumor microenvironment. *J Hepatol.* 2023;78(2):343-55.
155. Wei M, Zhang Y, Yang X, Ma P, Li Y, Wu Y, Chen X, Deng X, Yang T, Mao X, Qiu L, Meng W, Zhang B, Wang Z, Han J. Claudin-2 promotes colorectal cancer growth and metastasis by suppressing NDRG1 transcription. *Clin Transl Med.* 2021;11(12):e667.
156. Maeda T, Murata M, Chiba H, Takasawa A, Tanaka S, Kojima T, Masumori N, Tsukamoto T, Sawada N. Claudin-4-targeted therapy using *Clostridium perfringens* enterotoxin for prostate cancer. *Prostate.* 2012;72(4):351-60.
157. Luo Y, Kishi S, Sasaki T, Ohmori H, Fujiwara-Tani R, Mori S, Goto K, Nishiguchi Y, Mori T, Kawahara I, Kondoh M, Kuniyasu H. Targeting claudin-4 enhances chemosensitivity in breast cancer. *Cancer Sci.* 2020;111(5):1840-50.
158. Li Y, Gong Y, Ning X, Peng D, Liu L, He S, Gong K, Zhang C, Li X, Zhou L. Downregulation of CLDN7 due to promoter hypermethylation is associated with human clear cell renal cell carcinoma progression and poor prognosis. *J Exp Clin Cancer Res.* 2018;37(1):276.
159. Philip R, Heiler S, Mu W, Büchler MW, Zöller M, Thuma F. Claudin-7 promotes the epithelial-mesenchymal transition in human colorectal cancer. *Oncotarget.* 2015;6(4):2046-63.
160. Hoggard J, Fan J, Lu Z, Lu Q, Sutton L, Chen YH. Claudin-7 increases chemosensitivity to cisplatin through the upregulation of caspase pathway in human NCI-H522 lung cancer cells. *Cancer Sci.* 2013;104(5):611-8.
161. Xu G, Qian N, Liu Y, Li H, Yang C, Wang J, Wang F, Chen L, Bai G, Xu Q, Pan X, Gao X. Preclinical characterization of a Fab-like CD3/CLDN18.2 XFab® bispecific antibody against solid tumors. *Immunobiology.* 2022;227(6):152283.

162. Wang F, Yang Y, Du X, Zhu X, Hu Y, Lu C, Sui L, Zhao H, Song K, Yao Q. Claudin18.2 as a potential therapeutic target for primary ovarian mucinous carcinomas and metastatic ovarian mucinous carcinomas from upper gastrointestinal primary tumours. *BMC Cancer*. 2023;23(1):44.
163. Shitara K, Lordick F, Bang YJ, Enzinger P, Ilson D, Shah MA, Van Cutsem E, Xu RH, Aprile G, Xu J, Chao J, Pazo-Cid R, Kang YK, Yang J, Moran D, Bhattacharya P, Arozullah A, Park JW, Oh M, Ajani JA. Zolbetuximab plus mFOLFOX6 in patients with CLDN18.2-positive, HER2-negative, untreated, locally advanced unresectable or metastatic gastric or gastro-oesophageal junction adenocarcinoma (SPOTLIGHT): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet*. 2023;401(10389):1655-68.

9. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

9.1. A disszertációhoz kapcsolódó közlemények

1. Gyulai M, Harkó T, Fábíán K, Karskó L, Agócs L, Szigeti B, Fillinger J, Szállási Z, Pipek O, Moldvay J. Claudin expression in pulmonary adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2023. 29:1611328. IF: 2,8
2. Gyulai M, Megyesfalvi Z, Reiniger L, Harkó T, Ferencz B, Karskó L, Agócs L, Fillinger J, Döme B, Szállási Z, Moldvay J. PD-1 and PD-L1 expression in rare lung tumors. *Pathol Oncol Res.* 2023. 29:1611164. IF: 2,8
3. Gyulai M., Harkó T., Moldvay J. Adenoid cystikus carcinoma és mucoepidermoid carcinoma a tüdőben. *Medicina Thoracalis.* 2023. 76.(4.) p.183-189. IF: -

9.2. Egyéb közlemények

1. Reiniger L, Téglási V, Pipek O, Rojkó L, Glasz T, Vágvölgyi A, Kovalszky I, Gyulai M, Lohinai Z, Rásó E, Tímár J, Döme B, Szállási Z, Moldvay J. Tumor necrosis correlates with PD-L1 and PD-1 expression in lung adenocarcinoma. *Acta Oncol.* 2019. 58(8):1087-1094. IF: 3,701
2. Klikovits T, Lohinai Z, Fábíán K, Gyulai M, Szilasi M, Varga J, Baranya E, Pipek O, Csabai I, Szállási Z, Tímár J, Hoda MA, László V, Hegedűs B, Rényi-Vámos F, Klepetko W, Ostoros G, Döme B, Moldvay J. New insights into the impact of primary lung adenocarcinoma location on metastatic sites and sequence: A multicenter cohort study. *Lung Cancer.* 2018. 126. p.139-148. IF: 4,599

3. Fábrián K, Gyulai M, Furák J, Várallyay P, Jäckel M, Bogos K, Döme B, Pápay J, Tímár J, Szállási Z, Moldvay J. Significance of Primary Tumor Location and Histology for Brain Metastasis Development and Peritumoral Brain Edema in Lung Cancer. *Oncology*. 2016. 91.(5.) p. 237-242. IF: 2,262
4. Podmaniczky E, Fábrián K, Pápay J, Puskás R, Gyulai M, Furák J, Tiszlavicz L, Losonczy Gy, Tímár J, Moldvay J. Decreased ERCC1 expression after platinum-based neoadjuvant chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Pathol Oncol Res*. 2015. 21.(2.) p.423-431. IF:1,94
5. Cserepes M, Ostoros G, Lohinai Z, Rásó E, Barbai T, Tímár J, Rózsás A, Moldvay J, Kovalszky I, Fábrián K, Gyulai M, Ghanim B, László V, Klikovits T, Hoda MA, Grusch M, Berger W, Klepetko W, Hegedűs B, Döme B. Subtype-specific KRAS mutations in advanced lung adenocarcinoma: a retrospective study of patients treated with platinum-based chemotherapy, *Eur J Cancer*. 2014, 50:1819-1828. IF: 5,417
6. Fábrián K, Furák J, Gyulai M, Jäckel M, Várallyay P, Pápay J, Losonczy Gy, Moldvay J. Agyi áttétet adó tüdőrákok klinikopatológiai analízise. *Medicina Thoracalis*. 2013. 66.(3.) p.106-112. IF: -
7. Pápay J, Sári Z, Egri G, Gyulai M, Szende B, Losonczy G, Tímár J, Moldvay J. Platinum-based chemotherapy in lung cancer affects the expression of certain biomarkers including ERCC1. *Pathol Oncol Res*. 2009.15.(3.) p. 445-450. IF: 1,152
8. Gyulai M, Slavei K, Péntes I, Strausz J. Malignus és benignus légúti szűkületek megoldása légúti protézis (stent) beültetéssel. *Orv Hetil*. 2006, 45:2163-2166. IF: -

10. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Elsőként szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, Prof. Dr. Moldvay Juditnak, hogy az elmúlt években klinikusi munkám mellett részt vehettem számos kutatási projektben. Szeretném megköszönni azt a rendkívül sok segítséget és biztatást, amit közös munkánk során kaptam tőle.

Köszönöm munkahelyem a Törökbálinti Tüdőgyógyintézet volt és jelenlegi vezetőinek Dr. Antal Gabriellának és Dr. Gállfy Gabriellának a támogatását.

Hálás vagyok volt mentoromnak és osztályvezetőmnek Dr. Lantos Ákosnak, akitől rendkívül sokat tanultam, és aki hosszú éveken át segített mind emberileg, mind szakmailag.

Köszönöm a sok segítséget szerzőtársaimnak Dr. Agócs Lászlónak, Dr. Döme Baláznak, Dr. Fábíán Katalinnak, Dr. Ferencz Bencének, Dr. Fillinger Jánosnak, Dr. Harkó Tündének, Dr. Karskó Lucának, Dr. Megyesfalvi Zsoltnak, Dr. Reiniger Lillának, Pipek Orsolyának, Dr. Szállási Zoltánnak és Szigeti Baláznak.

Végül, de nem utolsósorban hálás szívvel mondok köszönetet családomnak, akik végig támogattak ezen időszak alatt.