

# Preučevanje interakcije PD-1/PD-L1 v mikrookolju glioblastoma

Pia Mencin<sup>1,2</sup>, Metka Novak<sup>2</sup>, Barbara Breznik<sup>2</sup>



NACIONALNI INŠTITUT ZA BIOLOGIJO  
NATIONAL INSTITUTE OF BIOLOGY

<sup>1</sup>Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani

<sup>2</sup>Nacionalni inštitut za biologijo

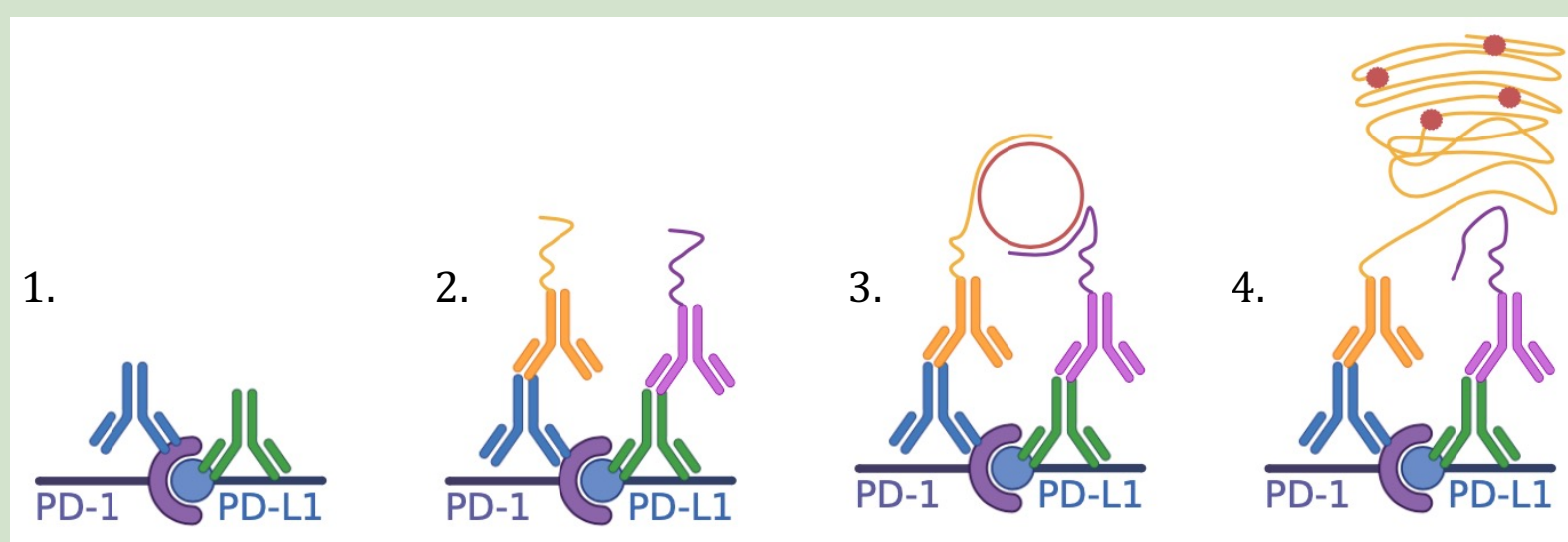


## UVOD

- Glioblastom je najpogostejši primarni maligni tumor osrednjega živčnega sistema, ki velja za neozdravljivega s trenutnimi terapevtskimi pristopi [1].
- Tumorsko mikrookolje glioblastoma je interheterogeno (med bolniki) in intraheterogeno (znotraj posameznega tumorja bolnika), kar otežuje razvoj univerzalno učinkovite terapije [2].
- Potencialne terapevtske tarče so imunske kontrolne točke, kot je tudi inhibitorni receptorski par: receptor programirane celične smrti 1/ligand programirane celične smrti 1 (PD-1/PD-L1) [3].
- Zaradi raznolikosti tumorjev med bolniki uporaba protiteles proti PD-1 in PD-L1 za zdravljenje številnih vrst raka ni uspešna pri vseh bolnikih. Zato je ključnega pomena identificirati bolnike, pri katerih bi bila ta terapija učinkovita.

## METODE

Trenutne študije kot potencialen indikator za uspešnost imunoterapije proti PD-1 in/ali PD-L1 predlagajo samo interakcijo PD-1/PD-L1. Za določitev interakcije smo izbrali metodo test ligacijske bližine (PLA), ki omogoča *in situ* vizualizacijo in kvantifikacijo proteinskih interakcij na molekularnem nivoju. Uporabili smo komplet reagentov Naveni PD1/PD-L1 Atto647N, proizvajalca Navinci.



Zgornja slika prikazuje glavne stopnje metode PLA: 1. inkubacijo s primarnimi protitelesi (Ab) proti tarčnima epitopoma, 2. inkubacijo z naveni Ab (sekundarna protitelesa konjugirana z enoverižnim oligonukleotidom), 3. nastanek krožne DNA iz plus in minus oligov naveni Ab in povezovalnih oligov, 4. podvojevanje in detekcija.

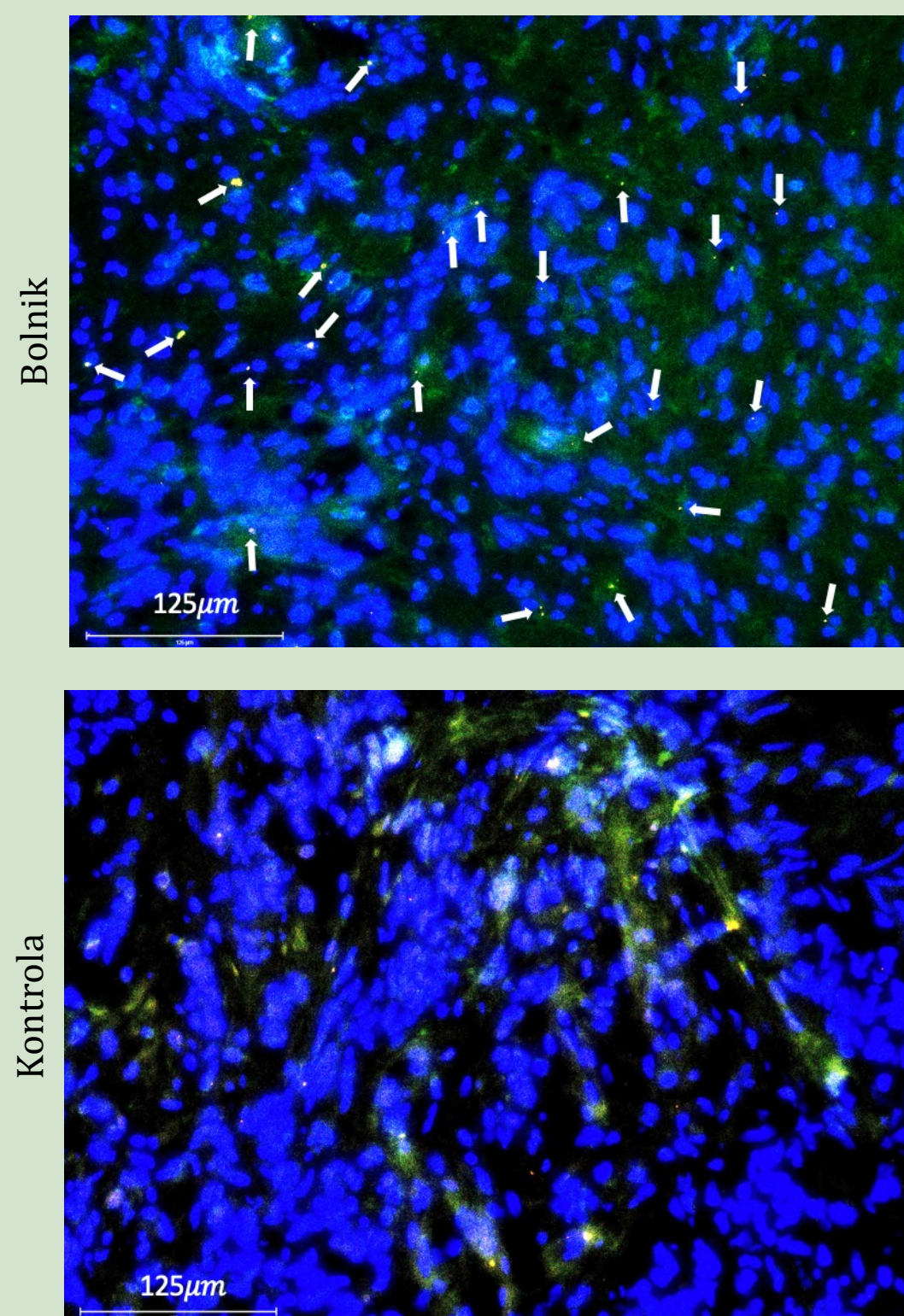
## ZAKLJUČEK

V sklopu diplomske naloge smo potrdili prisotnost interakcije PD-1/PD-L1 v tumorskih biopsijah in organoidih glioblastoma ter primerljivo število interakcij PD-1/PD-L1 v tumorskih biopsijah in organoidih glioblastoma. Pa vendar na podlagi pridobljenih rezultatov ne moremo narediti zagotovih sklepov, saj je eksperimentalno delo zajemalo premajhno število vzorcev in so bili signali negativnih kontrol razmeroma visoki. Kljub temu rezultati predstavljajo obetaven začetek identifikacije metod za določanje primernosti terapij proti PD-1 in PD-L1. Uporaba metode PLA bi bila lahko aplikativna tudi pri zdravljenju ostalih heterogenih tumorjev, ne le glioblastoma.

## REFERENCE

- [1] Q. T. Ostrom, M. Price, C. Neff, G. Cioffi, K. A. Waite, C. Kruchko, J. S. Barnholtz-Sloan: CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016–2020. *Neuro Oncol* **2023**, *25*, iv1–iv99.
- [2] S. DeCordova, A. Shastri, A. G. Tzolaki, H. Yasmin, L. Klein, S. K. Singh, U. Kishore: Molecular Heterogeneity and Immunosuppressive Microenvironment in Glioblastoma. *Front Immunol* **2020**, *11*, 1402.
- [3] T. Yang, Z. Kong, W. Ma: PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitors in glioblastoma: clinical studies, challenges and potential. *Hum Vaccin Immunother* **2021**, *17*, 546.

## REZULTATI



Prisotnost interakcij PD-1/PD-L1 na tkivni rezini biopsije glioblastoma bolnika (zgoraj) in pripadajoča negativna kontrola (spodaj). Na vzorcih je bil izveden PLA, inkubacija s fluorescenčno označenimi protitelesi proti označevalcu levkocitov CD45 ter barvanje jeder s Hoechst. Z belo puščico so označene zaznane interakcije PD-1/PD-L1. Vzorci so bili opazovani s fluorescentnim invertnim mikroskopom pri 200× povečavi, merilo na slikah je 125 μm.

## KONTAKT

piamencin@gmail.com