


Na skrzyżowaniu immunologii i onkologii: receptory TAM w regulacji odpowiedzi immunologicznej i procesów związanych z nowotworzeniem

Weronika Tokarska-Domżałowicz,

Daria Zdżalik-Bielecka 

Uniwersytet Warszawski, Wydział Biologii, Instytut Genetyki i Biotechnologii

https://doi.org/10.18388/pb.2017_619

 autor korespondujący: d.zdżalik-bielecka@uw.edu.pl

Słowa kluczowe: receptorowe kinazy tyrozynowe TAM, TYRO3, AXL, MER, GAS6, PROS1, eferocytoza, odpowiedź immunologiczna, nowotworzenie

Wykaz skrótów: ALK – kinaza chłoniaka anaplastycznego (ang. *anaplastic lymphoma kinase*); EGFR – receptor nabłonkowego czynnika wzrostu (ang. *epidermal growth factor receptor*); EMT – przejście epitelialno-mezenchymalne (ang. *epithelial-to-mesenchymal transition*); GAS6 – białko swoiste dla zahamowania wzrostu 6 (ang. *growth arrest specific 6*); NSCLC- niedrobnokomórkowy rak płuc (ang. *non-small-cell lung cancer*); PROS1 – białko S (ang. *protein S*); PtdSer – fosfatydyloseryna (ang. *phosphatidylserine*); RTK – receptorowe kinazy tyrozynowe (ang. *receptor tyrosine kinases*); TLR – receptory typu Toll (ang. *Toll-like receptors*); TNF – czynnik martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor*)

Podziękowania: Praca powstała podczas realizacji projektu badawczego OPUS25 2023/49/B/NZ3/03704 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Dziękujemy prof. dr hab. Tomaszowi Wilanowskiemu za uwagi do niniejszego manuskryptu i Maciejowi Bieleckiemu za jego krytyczne przeczytanie.

Ryciny oraz streszczenie graficzne zostały przygotowane przy użyciu oprogramowania Inkscape, natomiast bibliografię opracowano przy pomocy oprogramowania Mendeley.

STRESZCZENIE

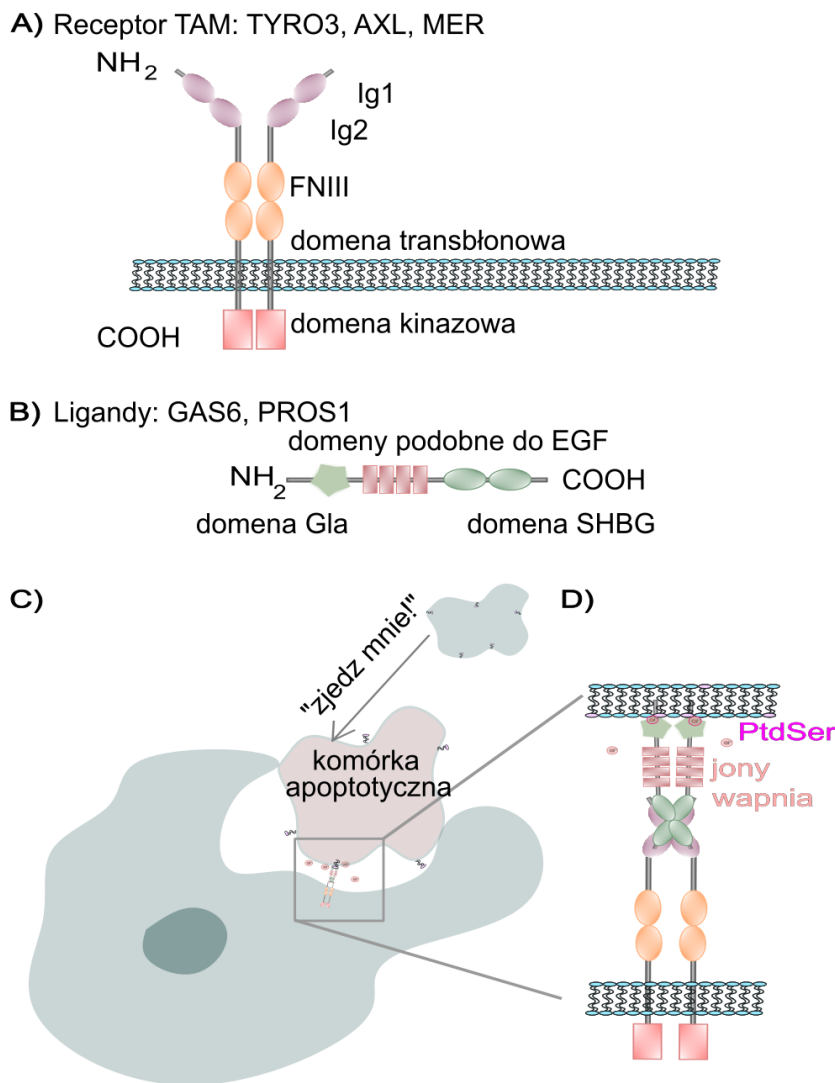
Receptorowe kinazy tyrozynowe TAM (TYRO3, AXL, MER) oraz ich ligandy: białko S (PROS1) i swoiste dla zahamowania wzrostu białko 6 (GAS6) pełnią kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu poprzez udział w procesie eferocytozy, czyli usuwaniu komórek apoptotycznych na drodze fagocytozy oraz tłumieniu wrodzonej odpowiedzi immunologicznej. Zaburzenia działania receptorów TAM prowadzą m.in. do rozwoju chorób autoimmunologicznych. Z kolei ich nadmierny poziom i aktywacja skorelowane są z inwazyjnym fenotypem komórek nowotworowych, przerzutowaniem, lekoopornością oraz złym rokowaniem dla pacjentów. Ponadto aktywacja tych receptorów przyczynia się do promowania immunosupresyjnego mikrośrodowiska nowotworowego i unikania odpowiedzi immunologicznej przez komórki nowotworowe. Co ważne, najnowsze badania sugerują, że receptory te są także zaangażowane we wnikanie do komórek wirusów, takich jak Zika czy SARS-CoV-2. W związku z tym w ostatnich latach intensywnie rozwijane są różnorodne strategie terapeutyczne polegające na blokowaniu receptorów TAM, a ich skuteczność jest oceniana w licznych badaniach przedklinicznych i klinicznych.

WPROWADZENIE

Niezbędnym warunkiem prawidłowego funkcjonowania komórek jest zdolność odbierania, przekazywania i reagowania na sygnały pochodzące z otaczającego je środowiska oraz innych komórek. Jest to możliwe dzięki obecności odpowiednich receptorów w błonie komórkowej. Ważną grupę takich receptorów stanowią receptorowe kinazy tyrozynowe (ang. *receptor tyrosine kinases*, RTK). U człowieka opisano 58 RTK sklasyfikowanych w 20 podrodzinach. Wszystkie mają podobną architekturę domen, składającą się z N-końcowej domeny zewnątrzkomórkowej, domeny transbłonowej i C-końcowej, cytoplazmatycznej domeny kinazy tyrozynowej [1]. Po związaniu liganda (czynnika wzrostu) do N-końcowej domeny zewnątrzkomórkowej, RTK dimeryzują lub oligomeryzują, a ich domeny kinazowe ulegają aktywacji i autofosforylacji. Następnie do ufosforylowanych tyrozyn znajdujących się w cytoplazmatycznej części receptora wiążą się różne białka adaptorowe, jak np. białka zwierające domenę PTB (ang. *phosphotyrosine-binding domain*) oraz białkowe i lipidowe kinazy zaangażowane w proces przekazywania sygnału. Aktywacja tych białek zapoczątkowuje kaskadę reakcji fosforylacji, dzięki którym aktywowane są kolejne białka, co umożliwia przekazanie sygnału do jądra komórkowego i indukcję ekspresji określonych genów docelowych. Stymulacja RTK zwykle prowadzi do aktywacji trzech głównych szlaków przekazywania sygnałów: szlaku PI3K-AKT (szlak kinaza 3-fosfatydyloinozytolu-kinaza AKT), Ras-Raf-MAPK (szlak kinaz białkowych aktywowanych mitogenami) oraz PLC-PKC (szlak fosfolipaza C-kinaza białkowa C). Aktywacja tych szlaków sygnałowych prowadzi do przekazania sygnału do jądra komórkowego i aktywacji różnych czynników transkrypcyjnych, które indukując ekspresję wielu genów uruchamiają i regulują w ten sposób szereg różnorodnych procesów komórkowych, takich jak wzrost, cykl komórkowy, różnicowanie, proliferacja, migracja, inwazja czy metabolizm [2,3]. Zatem RTK regulują wiele ważnych procesów w komórce, a zaburzenia ich prawidłowego działania są przyczyną wielu chorób, takich jak choroby autoimmunizacyjne, neurodegeneracyjne, czy nowotworowe [4]. Ważną grupę RTK, których nieprawidłowe funkcjonowanie leży u podłoża wszystkich wymienionych powyżej chorób stanowią receptory TAM.

RECEPTOROWE KINAZY TYROZYNOWE TAM I ICH LIGANDY

Podrodzina receptorowych kinaz tyrozynowych TAM składa się z trzech receptorów: TYRO-3, AXL oraz MER, a jej nazwa pochodzi od pierwszych liter jej członków. W porównaniu do innych RTK, receptory te pojawiły się stosunkowo późno w ewolucji, gdyż pierwsze homologi genów je kodujących zidentyfikowano w genomach bezkręgowych strunowców, takich jak Przejrzystka (*Ciona in-*



Rycina 1. Receptory TAM i zależna od nich fagocytoza komórek apoptotycznych (eferocytoza). (A) Budowa receptorów TAM i ich ligandów. TYRO3, AXL i MER składają się z dwóch domen immunoglobulinopodobnych (Ig1 i Ig2), dwóch domen fibronektyny typu III (FNIII), domeny transbłonowej i domeny kinazowej na C-końcu. (B) Ligandy GAS6 i PROS1 zbudowane są z N-końcowej domeny bogatej w kwas glutaminowy (domena Gla), po której następują cztery powtórzenia domeny podobnej do EGF i dwie globularne domeny podobne do lamininy G (LG) tworzące domenę SHBG. (C-D) Proces fagocytozy komórek apoptotycznych (eferocytozy) zależny od receptorów TAM. (C) Eksponowana w zewnętrznej warstwie błony komórki apoptotycznej PtdSer stanowi tzw. sygnał „zjedz mnie!” rozpoznawany przez komórkę fagocytarną, na której znajdują się receptory TAM. (D) N-końcowa domena Gla liganda (GAS6 lub PROS1) w obecności jonów wapnia wiąże PtdSer na komórce apoptotycznej, natomiast C-końcowa domena SHBG łączy się z domenami Ig receptora. Zatem GAS6 i PROS1 działają jako cząsteczki pomostowe łączące receptory TAM na komórkach fagocytarnych i PtdSer eksponowaną na komórkach apoptotycznych, co ułatwia fagocytozę komórek apoptotycznych (eferocytozę) zależną od receptorów TAM.

testinalis), szeroko wykorzystywanego w badaniach biologii rozwoju, genomiki porównawczej i ewolucji strunowców gatunku średnich rozmiarów kosmopolitycznej zachwy, który występuje w morzach na całym świecie. Cechą charakterystyczną tych receptorów jest obecność konserwowanej sekwencji KW(I/L)A(I/L)ES w domenie kinazowej oraz budowa rejonu zewnątrzkomórkowego, który składa się z dwóch domen immunoglobulinopodobnych (ang. *immunoglobulin-like*, Ig1 i Ig2) i dwóch domen fibronektyny typu III (Ryc. 1A) [5].

Do tej pory opisano pięć białek, które mogą aktywować receptory TAM: GAS6 (ang. *growth arrest specific 6*), PROS1 (ang. *protein S*), Tubby (ang. *TUB bipartite transcription factor*), Tulp1 (ang. *tubby-like protein 1*) i galektynę-3. Jednak jedynie dwa pierwsze białka, GAS6 i PROS1, są powszechnie uznawane za ligandy receptorów TAM, a ich zdolność akty-

wacji tychże receptorów została potwierdzona przez liczne badania. Uważa się, że PROS1 aktywuje TYRO3 i MER, natomiast GAS6 jest w stanie wiązać wszystkie trzy receptory TAM wykazując najwyższe powinowactwo do AXL [5-8]. Jednakże nasze ostatnie badania sugerują, że GAS6 może być specyficznym ligandem dla AXL, ale nie dla receptorów TYRO3 i MER [9-11]. Oba ligandy, GAS6 i PROS1, są wydzielane jako glikoproteiny zbudowane z N-końcowej domeny bogatej w reszty kwasu glutaminowego (Gla), po której następują cztery powtórzenia EGF-podobne i dwie globularne domeny podobne do lamininy G (LG), zawierające region SHBG (ang. *sex hormone binding hormone like domain*) (Ryc. 1B). Region ten odpowiada za wiązanie i aktywację receptorów TAM. Co ważne, do pełnej aktywacji reszty kwasu glutaminowego w domenie Gla ligandów wymagana jest γ -karboksylacja zależna od witaminy K. Dimeryzacja receptorów TAM po związaniu liganda przebiega

dwuetapowo: najpierw jedna cząsteczka liganda wiąże jedną cząsteczkę receptora poprzez kontakt domen LG1/Ig1, a następnie uformowane kompleksy ligand-receptor dimeryzują ze sobą poprzez oddziaływanie domen LG1/Ig2 [12].

U ludzi receptory TAM są powszechnie wyrażane w różnych typach komórek, w tym w komórkach układu odpornościowego, nerwowego, naczyniowego, rozrodczego, szkieletowego i naczyniowego [13]. Mimo że receptory te są obecne w tkankach zarodkowych, w odróżnieniu od innych RTK nie odgrywają znaczącej roli w procesie embriogenezy. Potrójne mysie mutanty *Tyro3-/-Axl-/-Mer-/-* rodzą się żywe i w początkowych etapach życia są nie do odróżnienia od myszy typu dzikiego. Natomiast po upływie około roku u mutantów tych obserwuje się liczne zaburzenia, co omawiamy w dalszej części tego artykułu [5,6,14]. Receptory TAM odgrywają również ważną rolę w patogenezie i progresji chorób nowotworowych zwiększając m.in. przeżywalność, migrację i inwazyjność komórek nowotworowych [5]. Co ważne, ostatnie badania wskazują, że receptory te pośredniczą również we wnikaniu do wnętrza komórek wirusów otoczkowych, takich jak Zika czy SARS-CoV-2, oraz odgrywają rolę w patogenezie COVID-19 [15].

RECEPTORY TAM W PROCESIE EFEROCYTOZY

W dorosłym organizmie główną i dobrze opisaną funkcją receptorów TAM jest usuwanie komórek apoptotycznych na drodze „immunologicznie cichej” fagocytozy, zwanej eferocytozą (Ryc. 1C, D). Szacuje się, że każdego dnia w ludzkim organizmie co sekundę około 2 miliony zużytych, uszkodzonych, starych lub niepotrzebnych komórek ulega programowanej śmierci komórkowej, czyli apoptozie. Dla zachowania prawidłowej homeostazy organizmu i uniknięcia niechcianej aktywacji układu immunologicznego komórki te muszą być szybko usunięte. W trakcie eferocytozy N-końcowa domena GlA ligandów GAS6 i PROS1 wiąże fosfatydyloserynę (ang. *phosphatidylserine*, PtdSer) eksponowaną na powierzchni komórek apoptotycznych [5,16]. W komórkach eukariotycznych ten fosfolipid jest składnikiem wewnętrznej warstwy błony komórkowej. Natomiast podczas apoptozy ulega on przemieszczeniu z wewnętrznej do zewnętrznej warstwy błony [17]. Ekspozycja na powierzchni PtdSer służy jako tzw. sygnał „zjedz mnie”, dzięki któremu komórki apoptotyczne są rozpoznawane przez komórki fagocytarne, wśród których wyróżniamy fagocyty profesjonalne (monocyty, makrofagi i neutrofile) oraz nieprofesjonalne (m.in. komórki nabłonka, niektóre komórki tkanki łącznej, a także komórki śródbłonka naczyniowego). Zatem podczas eferocytozy zależnej od TAM, ligandy GAS6 i PROS1 służą jako cząsteczki pomostowe łączące receptory TAM na komórkach fagocytarnych i PtdSer eksponowaną na komórkach apoptotycznych. Dodatkowo wiązanie PtdSer przez domeny GlA GAS6 i PROS1 wymaga obecności jonów Ca^{2+} , które stabilizują ich strukturę i wiązanie PtdSer (Ryc. 1D) [16]. Aktywacja TAM indukuje następnie pobieranie komórki apoptotycznej do wnętrza fagocytu na drodze fagocytozy. Jednocześnie aktywowane receptory TAM blokują indukcję odpowiedzi immunologicznej m.in. poprzez tłumienie produkcji cytokin prozapalnych [np. interleukiny 6 (IL-6), IL-12, czynnika martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor*, TNF), interferonów typu I (IFN)] i promowa-

nie produkcji cytokin przeciwzapalnych [np. IL-4, IL-10, transformującego czynnika wzrostu- β (ang. *transforming growth factor beta*, TGF- β)] [13,18-20].

Najliczniejszą populację komórek wymagających usunięcia z organizmu na drodze eferocytozy stanowią stare i uszkodzone erytrocyty. Są one fagocytowane przez makrofagi miazgi czerwonej śledziony, które to charakteryzują się najwyższym poziomem mRNA dla MER i AXL. Drugą największą populacją komórek, która musi być usunięta na drodze eferocytozy, są zużyte neutrofile, powstałe w trakcie procesu zapalnego. Pobierane są one przez makrofagi tkankowe, które wykazują silną ekspresję receptora MER [16]. Eferocytoza zależna od receptorów TAM zachodzi również intensywnie w tych miejscach w organizmie, gdzie stale generowane są nowe komórki. Przykładem są kanaliki nasienne jąder, gdzie w wyniku spermatogenezy powstają miliony komórek apoptotycznych, za usuwanie których odpowiedzialne są komórki Sertoliego. Brak receptorów TAM zaburza zdolności fagocytarne tych komórek, co prowadzi do degeneracji komórek płciowych i w efekcie powoduje bezpłodność samców potrójnych mysich mutantów *Tyro3-/-Axl-/-Mer-/-* [5,16]. Innym procesem gdzie fagocytoza zależna od receptorów TAM odgrywa ważną rolę jest usuwanie uszkodzonych w trakcie procesu widzenia dysków znajdujących się w zewnętrznych odcinkach fotoreceptorów (pręcików i czopków) przez komórki nabłonka barwnikowego siatkówki. Warto zauważyć, że w tym przypadku nie mamy do czynienia z usuwaniem komórek apoptotycznych, ale fragmentów żywych komórek. Zaburzenie tego procesu w wyniku usunięcia receptorów TAM skutkuje degeneracją wszystkich fotoreceptorów, która w konsekwencji prowadzi do ślepoty. Obok męskiej bezpłodności i ślepoty, do charakterystycznych fenotypów spowodowanych brakiem receptorów TAM – w dużej mierze wynikających z zaburzenia procesu eferocytozy, należą przewlekłe stany zapalne i rozwój chorób autoimmunologicznych, co omawiamy bardziej szczegółowo w dalszej części artykułu [5,13,16].

TYRO3

TYRO3 jest najmniej poznanym receptorem podrodziny TAM. Gen kodujący ten receptor został niezależnie sklonowany przez kilka grup badawczych, co spowodowało, że w literaturze nosi on wiele nazw, w tym TYRO3, SKY, RSE, BYK i TIF [21,22]. TYRO3 ulega największej ekspresji w układzie nerwowym, a także w jajnikach, jądrach, piersiach, płucach, nerkach, osteoklastach i siatkówce oraz komórkach krwi, takich jak monocyty/makrofagi i płytki krwi [12]. Ponadto nadekspresję TYRO3 obserwuje się w wielu typach nowotworów, w tym nowotworach pęcherza moczowego, jelita grubego, piersi, raka wątrobowokomórkowego i czerniaka, a poziom tej ekspresji często koreluje z gorszym rokowaniem u pacjentów [23]. TYRO3 koduje białko składające się z 890 aminokwasów o przewidywanej masie cząsteczkowej wynoszącej 97 kDa, chociaż rzeczywista masa uwzględniająca modyfikacje potranslacyjne mieści się w przedziale 120-140 kDa [21,22]. Badania sugerują, że TYRO3 może być aktywowany przez oba ligandy TAM, GAS6 i PROS1 [23].

Zgodnie z wysoką ekspresją TYRO3 w wielu typach komórek układu nerwowego, receptor ten odgrywa ważne

role w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, a jego brak prowadzi do zwiększonej śmiertelności komórek nerwowych i rozwoju różnych zaburzeń neurologicznych. Dodatkowo badania wskazują, że TYRO3 odgrywa rolę w procesie krzepnięcia krwi i stabilizacji powstałego skrzepu oraz resorpcji kości przez osteoklasty [21]. Ponadto badania Wolf i wsp. sugerują, że TYRO3 może również odgrywać rolę we właściwym pozycjonowaniu wrzeciona podziałowego podczas mitozy [24].

AXL

Receptorowa kinaza tyrozynowa AXL została odkryta jako gen transformujący w przewlekłej białaczce szpikowej. Ze względu na zdolność transformacji komórek, receptor ten został nazwany od greckiego słowa „anexelekto”, które oznacza „niekontrolowany” [5]. Wśród receptorów TAM, AXL jest najbardziej znany ze swego zaangażowania w patogenezę wielu nowotworów, w tym przede wszystkim przerzutowanie i zjawisko oporności komórek nowotworowych na różne terapie przeciwnowotworowe, co omawiamy bardziej szczegółowo w dalszej części artykułu [25–27]. Ponadto wiele badań sugeruje, że receptor AXL uczestniczy także we wnikananiu do wnętrza komórek wirusów, takich jak wirus Ebola, ZIKA czy SARS-CoV-2. Na przykład wykazano, że wnikanie wirusa Ebola zachodzi na drodze makropinocytozy (rodzaju endocytozy zależnej od aktywności polegającej na nieselektywnym pobieraniu płynu pozakomórkowego do dużych pęcherzyków zwanych makropinosomami) aktywowanej przez receptor AXL [28,15].

Gen AXL jest zlokalizowany na chromosomie 19 (19q13.2) i koduje białko składające się z 894 aminokwasów o przewidywanej masie około 98 kDa. Jednak rzeczywista masa AXL waha się między 100–140 kDa z powodu modyfikacji potranslacyjnych, takich jak glikozylacja, fosforylacja i ubikwitynacja [12]. W dorosłym organizmie AXL jest wyrażany w wielu różnych komórkach i tkankach, przy czym znaczny poziom jego ekspresji obserwuje się w hipokampie i mózdku, monocytach/makrofagach, płytkach krwi, komórkach śródbłonna, sercu, mięśniach szkieletowych, wątrobie, nerkach czy jądrach [12]. Badania wskazują, że ekspresja genu AXL może być regulowana na kilku poziomach. Do tej pory opisano, że ekspresja ta może być aktywowana przez różne kompleksy czynników transkrypcyjnych, włączając między innymi czynniki transkrypcyjne Fos i Jun, TEAD (ang. *TEA domain transcription factors*), czy czynnik indukowany hipoksją 1 (ang. *hypoxia-inducible factor 1*, HIF-1). Transkrypcja AXL może być również hamowana przez mikroRNA miR-34a i miR-199a/b, które wiążą się z regionem 3'-UTR genu AXL. Dodatkowo synteza mRNA AXL może być regulowana przez modyfikacje epigenetyczne, takie jak acetylowanie histonów czy metylacja histonów i DNA [29,30]. Co więcej, gen AXL jest jednym z wielu genów, których ekspresja wzrasta w trakcie przejścia epitelialno-mezenchymalnego (ang. *epithelial-to-mesenchymal transition*, EMT), a sam AXL jest uznawany za marker stanu mezenchymalnego [26,31].

Jedynym powszechnie uznanym ligandem AXL jest GAS6, jednak badania wskazują, że AXL może być również aktywowany na drodze niezależnej od liganda np. w wyniku nadekspresji, działania reaktywnych form tlenu czy też

poprzez heterodimeryzację z innymi RTK, jak np. z EGFR (ang. *epidermal growth factor receptor*) [26]. Warto wspomnieć, że wykorzystując metodę biotynylacji zbliżeniowej (ang. *proximity-dependent biotin identification*, BioID) opisaliśmy pierwszy interaktom AXL, dzięki któremu odkryliśmy, że AXL oddziałuje z wieloma białkami zaangażowanymi w regulację dynamiki cytoszkieletu aktynowego, a ścieżka sygnalizacyjna GAS6-AXL aktywuje w komórce liczne procesy zależne od aktywności, takie jak fałdowanie błony komórkowej, przebudowę miejsc adhezji i makropinocytozę [11].

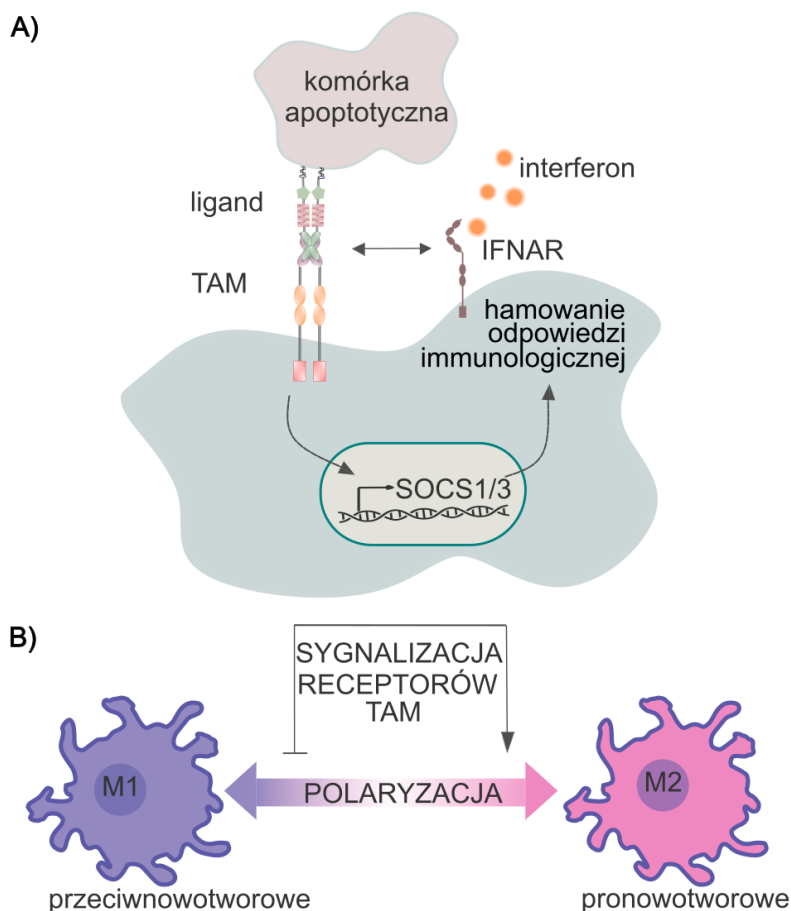
MER (MERTK)

Gen kodujący receptor MER (znany również jako MERTK, ang. *Mer Tyrosine Kinase*) zawdzięcza swą nazwę temu, że ulega ekspresji głównie w komórkach mieloidalnych, nabłonkowych i komórkach układu rozrodczego (ang. *myeloid, epithelial, and cells of the reproductive tract*) [32,33]. MER znajduje się na chromosomie 2 (2q14.1) i zawiera 19 eksonów. Koduje receptor zbudowany z 999 aminokwasów o przewidywanej masie 110 kDa. Jednak podobnie jak w przypadku AXL i TYRO3, rzeczywista masa MER, ze względu na modyfikacje potranslacyjne, wynosi około 165–205 kDa [12,32]. MER ulega wysokiej ekspresji w wielu różnych komórkach krwi, takich jak: monocyty, makrofagi, komórki dendrytyczne, komórki NK, limfocyty T, megakariocyty czy płytki krwi. Wysoki poziom MER jest również wykrywany w oocytach, spermatogoniach, komórkach Sertolego czy komórkach nabłonka barwnikowego siatkówki [12,33].

Liczne badania wskazują, że wśród receptorów TAM to właśnie MER jest głównym receptorem zaangażowanym w regulację homeostazy poprzez udział w eferocytozie przez komórki odpornościowe pochodzące z monocytów (takie jak makrofagi) oraz komórki nabłonkowe. Makrofagi pozbawione MER nie usuwają skutecznie komórek apoptotycznych ani szczątków komórkowych. Co ciekawe, makrofagi te rozpoznają i wiążą komórki apoptotyczne, ale nie są w stanie ich pobierać [34]. Zgodnie z tymi wynikami odkryto, że aktywowany MER fosforyluje czynnik wymiany nukleotydów guaninowych VAV1 (ang. *vav guanine nucleotide exchange factor 1*), który następnie aktywuje małe GTPazy: RAC1 (ang. *Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1*) i RHOA (ang. *Ras homolog family member A*). Te dwa ostatnie białka indukują zmiany kształtu komórki i reorganizację cytoszkieletu, które z kolei umożliwiają pobieranie komórek apoptotycznych [34]. U myszy *Mer*^{-/-} obserwuje się także bliznowacenie i zwyrodnienie siatkówki, co związane jest z upośledzoną fagocytozą uszkodzonych w procesie widzenia fragmentów fotoreceptorów przez komórki nabłonka barwnikowego siatkówki. Co więcej, mutacje w genie kodującym MER są przyczyną barwnikowego zapalenia siatkówki u szczurów i ludzi, a terapia genowa korygująca te mutacje jest obecnie testowana w pierwszej fazie badania klinicznego (NCT01482195) [34].

RECEPTORY TAM JAKO REGULATORY ODPOWIEDZI IMMUNOLOGICZNEJ

Receptory TAM produkowane są w wielu typach komórek odpornościowych, m.in. monocytach, makrofagach,



Rycina 2. Rola receptorów TAM w regulacji odpowiedzi immunologicznej. (A) Hamowanie odpowiedzi immunologicznej przez receptory TAM. Aktywowany w odpowiedzi na bodziec immunologiczny receptor interferonu typu I (IFNAR) stymuluje produkcję cytokin i stan zapalny, a także indukuje ekspresję genów kodujących receptory TAM, które z kolei indukują transkrypcję białek SOCS1 i SOCS3 hamujących wydzielanie cytokin i odpowiedź immunologiczną. (B) Receptory TAM blokują polaryzację makrofagów w kierunku fenotypu M1, czyli populacji makrofagów wykazujących działanie przeciwnowotworowe poprzez wydzielanie cytokin prozapalnych i aktywację komórek cytotoksycznych. Jednocześnie TAM indukują polaryzację w kierunku populacji makrofagów M2 posiadających właściwości przeciwzapalne sprzyjające immunosupresji w środowisku nowotworowym.

komórkach dendrytycznych (DC), a także komórkach NK (ang. *natural killer cells*) i NKT (ang. *natural killer T cells*) [35]. Badania ostatnich lat (włączając te obejmujące potrójne mysie mutanty *Tyro3^{-/-}Axl^{-/-}Mer^{-/-}*) ujawniły kluczowe funkcje tych receptorów w komórkach układu immunologicznego, głównie wrodzonego układu odpornościowego. Znaczenie receptorów TAM dla prawidłowego funkcjonowania tego układu wynika przede wszystkim z udziału tychże receptorów w opisanym powyżej procesie usuwania komórek apoptotycznych przez profesjonalne fagocyty, czyli w szczególności makrofagi i w mniejszym stopniu komórki dendrytyczne [5,36]. Co ciekawe, badania Zagórskiej i wsp. wykazały, że w zależności od warunków fizjologicznych, głównym receptorem na makrofagach zaangażowanym w eferocytozę jest receptor MER lub AXL. Badacze ci odkryli, że MER działa głównie na spoczynkowych makrofagach i podczas immunosupresji, podczas gdy AXL specyficznie pośredniczy w fagocytozie komórek apoptotycznych w środowisku o charakterze zapalnym, a jego poziom wzrasta po zadziałaniu czynnika zapalnego np. lipopolisacharydu bakteryjnego [37].

Jak już wspomniano, w ludzkim ciele każdego dnia generowanych jest około miliarda komórek apoptotycznych, które muszą zostać usunięte. Biorąc udział w fagocytozie tych komórek, receptory TAM zapobiegają akumulacji komórek nekrotycznych i ich szczątków, które mogłyby stanowić źródło autoantygenów aktywujących odpowiedź układu odpornościowego. Jednocześnie aktywacja receptorów TAM hamuje reakcję zapalną poprzez indukowanie produkcji i uwalniania przeciwzapalnych cytokin, jak np. IL-4, IL-10, IL-13 i TGF- β . Uważa się, że tłumienie wrodzonej odpowiedzi zapalnej jest również ważne w przypadku odpowiedzi komórek dendrytycznych i makrofagów na patogeny. Komórki żerne, w tym właśnie komórki dendrytyczne i makrofagi, wykorzystują receptory typu Toll (ang. *Toll-like receptors*, TLR) oraz inne receptory rozpoznające wzorce do wykrywania obecności „obcych” wzorców molekularnych, takich jak lipopolisacharyd bakteryjny czy dwuniciowy, wirusowy RNA. Aktywacja tych receptorów prowadzi do produkcji prozapalnych cytokin, takich jak TNF α , IL-6 i interferon typu I. Cytokiny te są niezbędne do zwalczania patogenów, jednak ich produkcja i aktywność muszą być ściśle regulowane oraz hamowane po ustaniu odpowiedzi im-

munologicznej. Ich niekontrolowane działanie prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego i również może aktywować reakcję organizmu przeciwko samemu sobie [5,13]. Badania Rothlin i wsp. wykazały, że receptory TAM hamują TLR i zależną od nich produkcję cytokin prozapalnych. Co istotne, autorzy ci odkryli, że tłumienie stanu zapalnego przez TAM odbywa się poprzez receptor interferonu typu I (ang. *interferon alpha and beta receptor subunit*; IFNAR1) i związany z nim czynnik transkrypcyjny STAT1 (ang. *signal transducer and activator of transcription 1*). Aktywacja IFNAR-STAT1 przez TLR zwiększa ekspresję genów kodujących receptory TAM, które następnie przejmują ścieżkę IFNAR-STAT1 aby indukować białka SOCS1 (ang. *suppressor of cytokine signaling 1*) i SOCS3 (ang. *suppressor of cytokine signaling 3*) będące supresorami cytokin i TLR (Ryc. 2A). Zatem receptory TAM stanowią ważny element umożliwiający samoregulację stanu zapalnego, w którym aktywacja szlaku sygnałowego TAM przejmuje kontrolę nad prozapalną ścieżką. Zapewnia to wewnętrzny mechanizm sprzężenia zwrotnego, który hamuje odpowiedź immunologiczną, indukowaną zarówno przez TLR, jak i wydzielane cytokiny [13,19]. Zgodnie z opisanym powyżej hamującym działaniem receptorów TAM na odpowiedź zapalną i sekrecję prozapalnych cytokin, badania wykazały, że receptory te również blokują polaryzację makrofagów w kierunku tzw. fenotypu M1, który charakteryzuje się działaniem prozapalnym. Jednocześnie indukują one polaryzację M2, czyli właśnie w kierunku populacji makrofagów posiadających właściwości przeciwzapalne (Ryc. 2B) [35,38].

Badania sugerują, że receptory TAM odgrywają także ważną rolę w regulowaniu aktywności komórek NK, które również są komórkami zaangażowanymi we wrodzoną odpowiedź immunologiczną organizmu. Caraux i wsp. wykazali, że receptory te są niezbędne do prawidłowego dojrzewania komórek NK oraz prawidłowej ekspresji genów kodujących receptory regulujące działanie tych komórek (hamujących i aktywujących te komórki). Najprawdopodobniej receptory TAM przekazują sygnały, które są niezbędne do powstawania funkcjonalnych komórek NK [20]. Receptory TAM mają również wpływ na nabytą odpowiedź immunologiczną, np. poprzez regulowanie aktywacji limfocytów T. Wykazano, że w porównaniu do myszy typu dzikiego, limfocyty T proliferują wydajniej, gdy zostaną wszczepione do myszy pozbawionych receptorów TAM. Ponadto receptory te mogą również hamować aktywację tych limfocytów poprzez zwiększenie ekspresji genów kodujących ligandy tzw. punktów kontrolnych układu odpornościowego. Ligandy punktu kontrolnego PD-1 (PD-L1 i PD-L2) wiążą receptor PD-1 na limfocytach T i hamują ich aktywność. Wykazano, że egzogenna ekspresja TYRO3, AXL lub MER w komórkach nabłonkowych zwiększa ekspresję ligandów PD-L1 i PD-L2. Co ciekawe, badania wskazują, że również eferocytoza zwiększa ekspresję PD-L1 na makrofagach [35].

Biorąc pod uwagę wyżej opisane procesy ważne dla prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego, w które zaangażowane są receptory TAM, nie dziwi fakt, że u myszy pozbawionych tych receptorów obserwuje się wysoki poziom autooprzeciwciał oraz szereg chorób autoimmunologicznych, włączając reumatoidalne zapalenie stawów i toczeń rumieniowaty układowy. I właśnie zaburzenia auto-

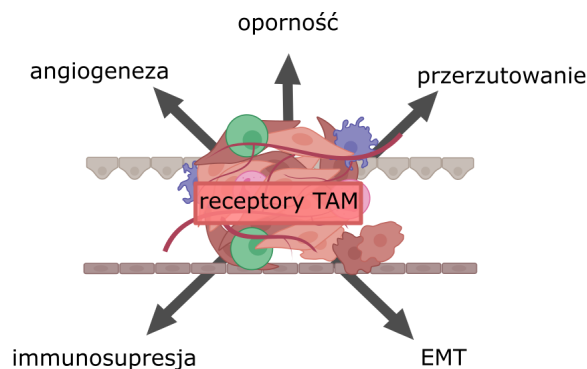
immunologiczne stanowią główne zaburzenia obserwowane u myszy mutantów TAM (*Tyro3^{-/-}Axl^{-/-}Mer^{-/-}*). Dodatkowo u myszy tych obserwuje się splenomegalię, limfadenopatię oraz naciek limfocytów praktycznie wszystkich tkanek [5,36].

RECEPTORY TAM W PATOGENEZIE CHOROÓB NOWOTWOROWYCH

Liczne badania wskazują, że receptory TAM i ich ligandy odgrywają istotną rolę w patogenezie wielu nowotworów, a nadmierna ekspresja genów je kodujących występuje w wielu różnych typach nowotworów hematologicznych i litych. W przypadku nowotworów hematologicznych, nadmierną ekspresję wszystkich trzech receptorów TAM zaobserwowano w próbkach pobranych od pacjentów z ostrą białaczką szpikową. Ponadto zwiększony poziom MER wykryto w szpiczaku mnogim oraz ostrej białaczce limfoblastycznej, wywodzącej się zarówno z limfocytów B, jak i T. Z kolei wysoki poziom AXL jest również obserwowany w przewlekłej białaczce limfoidalnej i przewlekłej białaczce szpikowej, a MER i TYRO3 – w niektórych podtypach chłoniaka. Wśród nowotworów litych nadekspresja AXL została m.in. wykazana w raku piersi, nerki, jajnika, płuc, glejakach oraz czerniaku. Zwiększoną ekspresję MER obserwowano w raku płuc i prostaty, glejakach i czerniaku, natomiast TYRO3 w raku płuc, prostaty, endometrium, tarczycy, czerniaku i nerwiaku osłonkowym [18,35].

Choć geny kodujące receptory TAM ulegają często nieprawidłowej (zwiększonej) ekspresji w wielu nowotworach, to ich mutacje lub amplifikacje obserwowane są rzadko, a dodatkowo w przypadku mutacji ich funkcjonalne znaczenie nie jest znane. Molekularne mechanizmy odpowiedzialne za nadmierną ekspresję genów kodujących receptory TAM w wielu przypadkach również nie są znane [18,35]. Dotychczasowe badania wykazały, że za zwiększoną ekspresję AXL w komórkach nowotworowych odpowiada m.in.: hipometylacja jego promotora, zwiększony przez występujące w guzie niedotlenienie poziom czynnika HIF-1 α oraz zmiany w poziomie miRNA [39].

Co ważne, wysoki poziom receptorów TAM jest zazwyczaj związany z gorszym rokowaniem, zaawansowanym



Rycina 3. Rola receptorów TAM w patogenezie chorób nowotworowych. Zwiększony poziom receptorów TAM jest związany z EMT i wzmacnia przerzutowanie, hamuje przeciwnowotworową odpowiedź immunologiczną (immunosupresja), promuje tworzenie się naczyń krwionośnych w rosnącym guzie (angiogeneza) oraz sprzyja nabywaniu oporności przez komórki nowotworowe na standardowe i celowane terapie przeciwnowotworowe.

stadium choroby oraz nasileniem procesów metastatycznych. Na przykład wykazano, że wysoki poziom AXL koreluje ze zwiększonym stopniem zaawansowania nowotworu i gorszym przeżyciem pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc (ang. *non-small-cell lung cancer*, NSCLC), rakiem macicy lub jajników. U pacjentów cierpiących na glejaka wielopostaciowego, u których stwierdzono wysoki poziom ekspresji AXL lub koekspresję AXL/GAS6, obserwowano znacznie krótszy czas przeżycia wolny od progresji choroby oraz mniejszą przeżywalność [40]. Dodatkowo blokowanie aktywności AXL zmniejszało migrację, inwazyjność i proliferację komórek glejaka, a także poprawiało przeżywalność myszy po przeszczepie tych komórek [41]. Ekspresja AXL koreluje również z zaawansowanym stadium choroby i niekorzystnym przeżyciem oraz stanowi potencjalny czynnik prognostyczny u pacjentów z jasnokomórkowym rakiem nerki (ang. *clear cell renal cell carcinoma*, ccRCC). Również u pacjentów z czerniakiem wysoki poziom TAM jest związany z gorszym rokowaniem, a poziom MER wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania choroby i jest najwyższy w przypadku czerniaka przerzutowego. Co ważne, ekspresja AXL i TYRO3 jest również związana z gorszymi rokowaniami dla pacjentów z gruczolakorakiem przewodowym trzustki, a więc nowotworem o najgorszym rokowaniu onkologicznym [18,35].

Co ważne, mimo że cDNA kodujący AXL i MER został po raz pierwszy sklonowany odpowiednio z linii białaczki szpikowej i linii limfoblastoidalnej, a pierwsze doniesienia mówiły o zdolności tych receptorów do indukowania transformacji nowotworowej, to jednak obecnie receptory te nie są uznawane za czynniki onkogenne. W przeciwieństwie do innych RTK, receptory TAM nie promują silnie proliferacji, ale raczej sprzyjają przeżyciu komórek nowotworowych w warunkach stresowych, np. ograniczonej dostępności tlenu czy składników odżywczych często występujących w guzie, oraz wzmagają ich inwazyjny i agresywny fenotyp [18,23]. Jednym z mechanizmów przyczyniających się do zwiększania przeżywalności komórek nowotworowych jest zapobieganie apoptozie przez receptory TAM, a ich blokowanie hamuje wzrost wielu linii komórkowych wywodzących się z różnych typów nowotworów. Receptory TAM wpływają na proces apoptozy poprzez regulację białek proapoptotycznych i antyapoptotycznych, w tym białek rodziny BCL-2 (ang. *B-cell CLL/Lymphoma 2*) [35]. Przede wszystkim jednak, jak już wspomniano, nadmierny poziom receptorów TAM jest często związany ze złym rokowaniem onkologicznym i zaawansowanym stadium choroby nowotworowej, a procesy, w które zaangażowane są te receptory, promują progresję choroby nowotworowej. Są to głównie takie procesy, jak EMT, angiogeneza (tworzenie nowych naczyń krwionośnych, które dostarczają komórkom guza tlen i składniki odżywcze), inwazja i przerzutowanie, unikanie odpowiedzi immunologicznej czy nabywanie lekooporności przez komórki nowotworowe [42] (Ryc. 3).

WPLYW RECEPTORÓW TAM NA KOMÓRKI ODPORNOŚCIOWE MIKROŚRODOWISKA NOWOTWOROWEGO

Oprócz wpływu na komórki nowotworowe, receptory TAM wykazują również działanie immunosupresyjne na

komórki odpornościowe tworzące mikrośrodowisko nowotworowe, co sprzyja unikaniu odpowiedzi immunologicznej przez komórki nowotworowe. Głównymi komórkami odpornościowymi odpowiedzialnymi za promowanie i utrzymanie supresji immunologicznej w mikrośrodowisku nowotworowym są komórki supresyjne pochodzące z linii mieloidalnej oraz makrofagi związane z guzem (ang. *tumor-associated macrophages*), które na swojej powierzchni wyrażają receptory TAM [43]. Jednym z mechanizmów oddziaływania receptorów TAM na makrofagi związane z guzem jest, podobnie jak w przypadku innych makrofagów, promowanie ich polaryzacji w kierunku formy M2, która to właśnie charakteryzuje się działaniem immunosupresyjnym i pronowotworowym [18,43]. Dotychczasowe badania wskazują na szczególnie istotną rolę receptora MER w tym procesie. Badania Cook i wsp. pokazały, że zmniejszeniu przerzutowania przez komórki raka piersi, jelita grubego i czerniaka u myszy *Mer*^{-/-} towarzyszyła zmiana profilu cytokin charakterystycznego dla makrofagów M2 na profil prozapalny i przeciwnowotworowy, typowy dla makrofagów M1. Dodatkowo, u myszy pozbawionych receptora MER obserwowano wzrost liczby limfocytów cytotoksycznych T CD8⁺ naciekających guz [44]. Innym ważnym mechanizmem pozwalającym na unikanie reakcji układu immunologicznego przez komórki nowotworowe jest aktywacja wspomnianego już punktu kontroli układu odpornościowego PD-1, w którym ligandy PD-L1 i PD-L2 wiążą receptor PD-1 na limfocytach T hamując ich aktywność, tym samym blokując niszczenie komórek nowotworowych przez te limfocyty. Wykazano, że nadekspresja receptorów TAM (głównie MER) oraz ich aktywacja przez GAS6 i komórki apoptotyczne (źródło PtdSer) powoduje wzrost poziomu liganda PD-L1 na komórkach nowotworowych [43,45,46]. Co ważne, wykorzystując myszy model potrójnie ujemnego raka piersi wykazano, że farmakologiczne hamowanie aktywności kinazowej TAM w połączeniu z przeciwciałami anti-PD-1 zwiększało odpowiedź immunologiczną przeciw komórkom nowotworowym. To przekładało się na znaczne zmniejszenie tempa wzrostu guza i częstość występowania przerzutów do płuc [47]. Receptory TAM są również zaangażowane w supresję komórek NK, które obok makrofagów i limfocytów, również znajdują się w mikrośrodowisku nowotworowym. Co ciekawe, Paolino i wsp. odkryli, że receptory TAM są substratami ligazy ubikwityny CBLB (ang. *Cbl Proto-Oncogene B*), a jej usunięcie blokuje ubikwytynację i degradację tych receptorów, wydłużając tym samym czas ich aktywacji. To z kolei hamuje komórki NK i prowadzi do zwiększonego przerzutowania, które może być zablokowane poprzez farmakologiczne hamowanie aktywności kinazowej receptorów TAM [48]. Zatem blokowanie receptorów TAM może przekształcić mikrośrodowisko nowotworowe z immunosupresyjnego w prozapalne, umożliwiając tym samym aktywowanie odpowiedzi immunologicznej przeciwko komórkom nowotworowym [18,49,50].

RECEPTORY TAM W LEKOOPORNOŚCI KOMÓREK NOWOTWOROWYCH

Jedną z ważnych przyczyn niepowodzeń terapii przeciwnowotworowych jest nabywanie przez komórki nowotworowe lekooporności, czyli niewrażliwości na podawane pacjentom leki przeciwnowotworowe. Zjawisko to powo-

duje, że terapia przestaje działać, a to prowadzi do wznowy choroby nowotworowej i jej progresji. Molekularne mechanizmy rozwoju lekooporności są złożone, zależne od typu komórki i wynikają z szeregu zaburzeń w różnych procesach biologicznych. Do najważniejszych należą: (i) nasilony wpływ leku z komórki spowodowany zwiększoną ekspresją genów kodujących białka z rodziny transporterów kasety wiążącej ATP (ABC), (ii) metaboliczna inaktywacja leku wskutek wzmożonej aktywności enzymów detoksykacyjnych, (iii) zaburzenia w indukcji apoptozy wynikające ze zmniejszenia poziomu białek proapoptotycznych lub zwiększania poziomu białek antyapoptotycznych (iv) reaktywacja hamowanych lub aktywacja alternatywnych szlaków przekazywania sygnału, (v) zmiany celu molekularnego leku (np. mutacje lub amplifikacje genu kodującego białko docelowe) oraz (vi) zmiana fenotypu komórki, np. w wyniku EMT [51-53]. W przypadku oporności na terapie celowane, w tym terapie oparte o inhibitory RTK, dwoma kluczowymi mechanizmami są: pojawianie się mutacji w domenie kinazowej, które upośledzają wiązanie inhibitora lub zwiększają aktywność kinazową, oraz aktywacja kompensacyjnych szlaków promujących wzrost i proliferację, niezależnie od obecności inhibitora [54]. Temu ostatniemu procesowi często towarzyszy zmiana fenotypu na drodze EMT [55-57]. Liczne badania wykazały, że zwiększona ekspresja receptorów TAM związana jest z opornością na różne terapie przeciwnowotworowe, od standardowych chemioterapii po terapie celowane, w tym te polegające na blokowaniu innych RTK [42,58].

Wśród receptorów TAM, AXL jest najbardziej znany ze swojej roli w powstawaniu oporności komórek nowotworowych. Wyniki licznych badań wykazały, że aktywacja AXL stanowi mechanizm oporności na standardowe chemioterapie, immunoterapie, radioterapie i celowane terapie przeciwnowotworowe, w szczególności ukierunkowane na RTK [25,29,35]. W wielu przypadkach pokazano, że genetyczne i farmakologiczne blokowanie AXL jest wystarczające do przywrócenia wrażliwości opornych komórek nowotworowych na terapię, co przemawia za kluczową rolę tego receptora w powstawaniu i utrzymywaniu oporności [29]. W przypadku oporności na inhibitory RTK, liczne badania powiązały AXL z powstawaniem oporności na najszerszej stosowane do leczenia pacjentów onkologicznych inhibitory EGFR: pierwszej (gefitynib) i erlotynib), drugiej (afatynib) i trzeciej (osimertynib) generacji [25,29,35,56,59,60], a zwiększoną ekspresję AXL stwierdzono m.in. w próbkach biopsji pobranych od pacjentów z NSCLC, u których wystąpiła oporność [35,56]. W przypadku oporności na terapię celujące w inne RTK, takie jak HER2 (lapatynib), ALK (kryzotynib, alektynib, ceritynib) oraz w odniesieniu do leków o szerszym spektrum działania, jak sorafenib czy sunitinib, również obserwowano zwiększenie ekspresji/aktywacji AXL [35,61]. Ponadto AXL jest również związany z powstawaniem oporności na inhibitory kinaz innych niż RTK, w tym kinazy lipidowej PI3K α [62,63]. Oporności związanej ze zwiększoną aktywacją AXL często towarzyszy również zmiana fenotypu komórek opornych na drodze EMT. Na przykład zwiększoną aktywację AXL i EMT obserwowano w wielu modelach *in vitro* i *in vivo* raka płuc z nabytą opornością na erlotynib [56] oraz komórkach raka płuc i nerwia-

ka zarodkowego z nabytą opornością na inhibitory ALK np. kryzotynib [55,65-66].

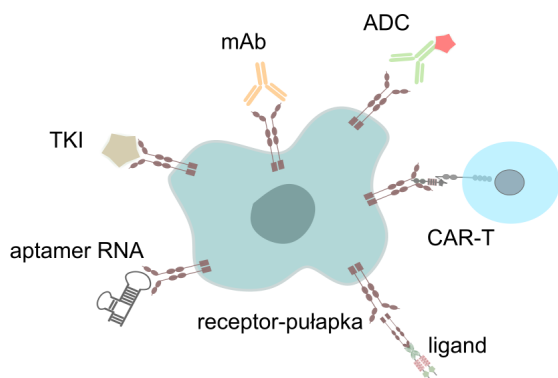
Zwiększony poziom dwóch pozostałych receptorów TAM (TYRO3 i MER) obserwowano również w komórkach nowotworowych opornych na różne terapie przeciwnowotworowe. Między innymi wykazano, że zwiększona ekspresja TYRO3 prowadzi do nabycia oporności na leki cytostaticzne (np. taksol przez komórki raka jajnika, 5-fluorouracyl i gemcytabinę przez komórki raka trzustki) i wielocelowe inhibitory RTK (sunitinib przez komórki grasiczaka oraz sorafenib przez komórki raka wątrobowokomórkowego) [66-69]. W komórkach raka jelita grubego opornych na 5-fluorouracyl obserwowano zwiększoną ekspresję TYRO3, której towarzyszył proces EMT, a wyciszenie TYRO3 hamowało ten proces i odwracało lekooporność tych komórek [70,71]. Liczne badania udowodniły również, że blokowanie receptora MER zwiększa wrażliwość na standardowe chemioterapie zarówno w przypadku białaczek, jak i nowotworów litych [34,72-75]. Ponadto wykazano, że MER, podobnie jak AXL, jest związany z rozwojem oporności na terapie celowane. W szczególności ujawniono, że zwiększona ekspresja MER w komórkach NSCLC była wystarczająca, aby nadać tym komórkom oporność na erlotynib i osimertynib [34,76,77].

Co ważne, receptory TAM są również zaangażowane w powstawanie oporności na terapie oparte na blokowaniu aktywności negatywnych punktów kontrolnych układu odpornościowego (np. punktu PD-1/PD-L1), które to terapie mają aktywować limfocyty T i pobudzać je do zabijania komórek nowotworowych. Wykazano, że nadekspresja konstytutywnie aktywnych wersji receptorów TAM lub aktywacja komórek ligandem GAS6 i liposomami zawierającymi PtdSer powodowała zwiększenie poziomu PD-L1 na powierzchni komórek [46]. Analiza bioinformatyczna dużych zestawów danych z badań klinicznych i przesiewowych wykazała, że AXL jest jednym z najwyższej ocenianych potencjalnych celów terapeutycznych, których blokowanie może przezwyciężyć oporność na inhibitory punktów kontrolnych układu odpornościowego [35,78]. Zgodnie z tą analizą wykazano, że wysoki poziom AXL wiąże się z gorszą odpowiedzią pacjentów z rakiem nerkowokomórkowym, rakiem płuc czy czerniakiem na terapię anty-PD-1/PD-L1 [35,79-83]. Guzy myszy i pacjentów z wysoką ekspresją TYRO3 również charakteryzowały się opornością na inhibitory punktu kontrolnego PD-1/PD-L1. Co ciekawe, odkryto, że TYRO3 blokuje ferroptozę (zależną od żelaza formę programowanej śmierci komórkowej) komórek nowotworowych wywołaną przez terapię anty-PD-1/PD-L1 i promuje powstawanie pronowotworowego mikrośrodowiska poprzez aktywację fenotypu M2 makrofagów. Z kolei hamowanie TYRO3 indukowało ferroptozę i uwrażliwiało komórki nowotworowe na terapię anty-PD-1 [84]. Zatem w świetle opisanych powyżej badań, połączenie inhibitorów TAM z równoczesnym blokowaniem punktów kontrolnych wydaje się obiecującym podejściem terapeutycznym, pozwalającym na poprawę skuteczności i przełamanie oporności na immunoterapie.

TAM JAKO CELE TERAPII PRZECIWNOWOTWOROWYCH

W związku z tym, że nadmierna aktywacja receptorów TAM, w tym przede wszystkim AXL, związana jest z progresją wielu nowotworów, powstawaniem oporności na terapię przeciwnowotworowe oraz większą zdolnością komórek nowotworowych do tworzenia przerzutów, opracowywane są różne strategie terapeutyczne celujące w te receptory. Ponadto najnowsze badania wskazują, że receptory TAM, a w szczególności AXL, są również zaangażowane we wnikanie do komórek różnych wirusów, w tym wirusa Zika czy SARS-CoV-2, co czyni je również obiecującymi celami terapeutycznymi w leczeniu zakażeń wirusowych [85]. W badaniach przedklinicznych i klinicznych testowane są różnorodne terapeutyki hamujące aktywność tych receptorów, obejmujące drobnocząsteczkowe inhibitory domeny kinazowej (ang. *tyrosine kinase inhibitors*, TKI), przeciwciała monoklonalne, koniugaty przeciwciało-lek (ang. *antibody-drug conjugates*, ADCs), chimeryczne receptory antygenowe (ang. *chimeric antigen receptor*, CAR), aptamery RNA oraz białka fuzyjne receptorów-pułapek (ang. *decoy receptor fusion proteins*) (Ryc. 4) [29,35].

Szereg wielocelowych TKI znajdujących się w różnych fazach badań klinicznych również hamuje receptory TAM. Przykładem takiego inhibitora jest gilterytynib – inhibitor FLT3 (ang. *FMS-like tyrosine kinase 3*), który m.in. blokuje aktywność kinazową AXL. Gilterytynib został niedawno zatwierdzony przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA) do leczenia pacjentów z nawrotową lub oporną na leczenie ostrą białaczką szpikową (ang. *acute myeloid leukaemia*, AML) z mutacją FLT3 [86]. Badania Zhang i wsp. wykazały, że gilterytynib hamuje proliferację, migrację i inwazyjność komórek raka przełyku, jajnika i żołądka wykazujących ekspresję AXL [87]. Jednocześnie liczne ośrodki naukowe i firmy farmaceutyczne rozwijają selektywne inhibitory AXL/TAM, które ze względu na większą specyficzność dają szansę ograniczenia potencjalnych skutków ubocznych. W 2013 roku firma BergenBio ogłosiła rozpoczęcie badań klinicznych bemcentynibu (R428, BGB324), pierwszego w swojej klasie inhibitora AXL. Obecnie trwają badania kliniczne drugiej fazy oceniające bezpieczeństwo i skuteczność tego inhibitora (również



Rycina 4. Terapie przeciwnowotworowe ukierunkowane na hamowanie aktywności receptorów TAM, do których należą: drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych (TKI), przeciwciała monoklonalne (mAb), koniugaty przeciwciało-lek (ADC), limfocyty T produkujące chimeryczne receptory antygenowe (CAR-T), aptamery RNA oraz białka fuzyjne receptorów-pułapek.

w połączeniu z różnymi innymi lekami) u pacjentów z zaawansowanymi lub przerzutowymi nowotworami [88,89]. W badaniach przedklinicznych bemcentynib hamował migrację i inwazyjność komórek nowotworowych *in vitro*, a także ograniczał angiogenezę, tworzenie przerzutów oraz wydłużał przeżycie w modelach *in vivo* przerzutowego raka piersi [90]. Ponadto przywracał wrażliwość różnych opornych komórek nowotworowych na TKI lub standardowe chemioterapeutyki [65,91–93]. Na uwagę zasługuje fakt, że bemcentynib w badaniu klinicznym drugiej fazy wykazał również skuteczność w leczeniu hospitalizowanych pacjentów z COVID-19 [94,95]. Co więcej, niedawne badania pokazały, że gilterytynib również wykazuje działanie przeciwwirusowe przeciwko SARS-CoV-2 [96]. Z kolei nasze badania wykazały, że bemcentynib i gilterytynib powodują wakuolizację komórek i zaburzą układ endo-lizosomalny i autofagię, a także wykazują działanie cytotoksyczne wobec komórek, a wszystkie te efekty są niezależne od AXL [10]. Zatem w świetle naszych badań, wyniki uzyskane z wykorzystaniem tych inhibitorów powinny być interpretowane z zachowaniem szczególnej ostrożności.

Innym sposobem blokowania ścieżki sygnałowej GAS6-AXL jest stosowanie specyficznych przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko receptorowi AXL. W badaniach przedklinicznych wykazano, że przeciwciała anti-AXL, takie jak YW327.6S2, MAb173, D9 i E8, hamowały wzrost, migrację i inwazyjność różnych komórek nowotworowych [97,98]. Równoległe do przeciwciał rozwijane są także koniugaty przeciwciało-lek. Łączą one wysoką specyficzność przeciwciała wraz z cytotoksycznym działaniem związanego z nim leku, umożliwiając precyzyjne dostarczanie substancji toksycznych bezpośrednio do komórek nowotworowych, na których powierzchni znajduje się AXL [99]. Przykładami takich koniugatów, które wykazały działanie przeciwnowotworowe we wczesnych fazach badań klinicznych, są: Enapotamab Vedotin, Mecbotamab Vedotin i Mipasetamab Uzoptirine [35,97].

Do blokowania ścieżki sygnałowej zależnej od AXL wykorzystywane są również tzw. receptory-pułapki, które wylapują ligand GAS6, uniemożliwiając jego wiązanie z receptorem AXL znajdującym się na komórkach. Przykładowo batiraxcept (AVB-S6-500) to rekombinowany dimer białkowy, składający się ze zmutowanej, zewnątrzkomórkowej domeny receptora AXL połączonej z łańcuchem ciężkim ludzkiego przeciwciała IgG1. Mutacje wprowadzone w sekwencji kodującej AXL znacznie zwiększają jego powinowactwo do liganda GAS6, a tym samym jego wiązanie przez receptor-pułapkę [35,100]. Ponadto do hamowania AXL wykorzystywane są również aptamery nukleotydowe, czyli krótkie, ustrukturyzowane jednoniciowe RNA lub DNA zdolne do wiązania swoich celi. Przykładowo, aptamer RNA, GL21.T wiąże się specyficznie z obszarem receptora AXL odpowiedzialnym za jego wiązanie z ligandem GAS6. W badaniach przedklinicznych wykazano, że aptamer GL21.T hamował sygnalizację AXL *in vitro* i *in vivo*, zapobiegając wzrostowi guza w modelach NSCLC i raka jajnika [98,101].

Inna obiecująca strategia ukierunkowana na AXL opiera się na wykorzystaniu limfocytów T wyrażających chimeryczne receptory antygenowe (CAR-T). W tej nowoczesnej

immunoterapii, z którą wiązane są duże nadzieje, pobrane od pacjenta limfocyty są genetycznie modyfikowane, aby wyrażały na swojej powierzchni chimeryczne receptory antygenowe (CAR) rozpoznające określony, docelowy antygen na powierzchni komórek nowotworowych i w ten sposób selektywnie je niszczyły. Jej wariant, AXL-CAR, rozpoznaje receptor AXL na powierzchni komórek nowotworowych i indukuje ich eliminację przez limfocyty CAR-T. W badaniach przedklinicznych wykazano znaczącą aktywność przeciwnowotworową limfocytów T wyrażających AXL-CAR w modelu *in vivo* potrójnie ujemnego raka piersi [97,102]. CCT301-38, CAR skierowany przeciwko AXL, był testowany w fazie I/II badań klinicznych u pacjentów z AXL-dodatnim nawrotowym lub opornym raku nerkowo-komórkowym (NCT03393936) i mięsakach (NCT05128786), jednak badania te zostały przerwane [97].

Warto podkreślić, że chociaż brak receptorów TAM u myszy prowadzi do różnych zaburzeń, w tym rozwoju chorób autoimmunologicznych i przewlekłych stanów zapalnych, inhibitory TAM są dość dobrze tolerowane przez pacjentów w badaniach klinicznych. Przykładowo, bemcentynib stosowany jako monoterapia wykazywał korzystny profil bezpieczeństwa, a najczęściej zgłaszane działania niepożądane miały charakter łagodny lub umiarkowany i obejmowały zmęczenie, biegunkę, nudności, wysypkę, zaburzenia smaku oraz przemijające podwyższenie poziomu enzymów wątrobowych [10,18,35]. Nie można oczywiście wykluczyć, że przewlekłe i długotrwałe hamowanie receptorów TAM może prowadzić do deregulacji odpowiedzi immunologicznej i sprzyjać rozwojowi zaburzeń obserwowanych w modelach zwierzęcych. Jednak w praktyce klinicznej terapie celujące w receptory TAM mają jednak najczęściej charakter krótkoterminowy (np. w leczeniu infekcji wirusowych) lub są stosowane okresowo – jak ma to miejsce w terapii nowotworów.

PODSUMOWANIE

Receptory TAM (TYRO3, AXL, MER) pełnią ważną rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej i wielu procesów leżących u podłoża progresji nowotworowej. W warunkach fizjologicznych receptory te są zaangażowane w utrzymanie homeostazy immunologicznej, głównie poprzez udział w eferocytozie, czyli fagocytarnym usuwaniu komórek apoptotycznych, co zapobiega akumulacji autoantygenów i rozwojowi chorób autoimmunologicznych. Hamują one również odpowiedź zapalną, ograniczając aktywność receptorów TLR i produkcję cytokin prozapalnych (IL-6, TNF- α , IFN typu I) poprzez szlak IFNAR-STAT1 oraz indukcję białek supresorowych SOCS1 i SOCS3. Dodatkowo promują polaryzację makrofagów w kierunku fenotypu przeciwzapalnego (M2), regulują dojrzewanie i funkcjonowanie komórek NK oraz aktywację limfocytów T, m.in. poprzez zwiększenie ekspresji ligandów punktów kontrolnych (PD-L1, PD-L2), co sprzyja immunosupresji. To immunosupresyjne działanie jest jednocześnie odpowiedzialne za tworzenie pronowotworowego mikrośrodowiska wspierającego wzrost komórek nowotworowych i unikanie przez nie odpowiedzi immunologicznej, a receptory TAM i ich ligandy, w tym przede wszystkim AXL, odgrywają kluczową rolę w rozwoju i progresji wielu hematologicznych i litych

nowotworów. Przy czym nie działają one jak klasyczne onkogeny, ale wspierają przeżywalność komórek nowotworowych w warunkach stresowych, promują ich inwazyjność i nabywanie oporności na leczenie oraz angiogenezę, a ich wysoki poziom często koreluje z zaawansowanym stadiem choroby, gorszym rokowaniem i przerzutowaniem.

Ze względu na liczne implikacje receptorów TAM w procesy związane z progresją nowotworową, a także na ich zaangażowanie we wnikanie do komórek wirusów (np. Zika i SARS-CoV-2), opracowywane są różnorodne strategie terapeutyczne polegające na blokowaniu ich aktywności, takie jak drobnocząsteczkowe inhibitory kinaz tyrozynowych, przeciwciała monoklonalne, koniugaty przeciwciałolek, chimeryczne receptory antygenowe (CAR-T), aptamery RNA oraz receptory-pułapki. Skuteczność tych strategii, często w połączeniu z innymi terapiami, jest obecnie oceniana w licznych badaniach przedklinicznych i klinicznych, a hamowanie receptorów TAM, szczególnie w terapii skojarzonej z inhibitorami punktów kontrolnych układu immunologicznego, stanowi obiecującą strategią terapeutyczną leczenia nowotworów o wysokiej oporności na konwencjonalne terapie.

PERSPEKTYWY BADAWCZE

Pomimo intensywnych poszukiwań strategii terapeutycznych opartych o blokowanie receptorów TAM, wciąż zaskakująco niewiele wiadomo na temat procesów wewnątrzkomórkowych regulowanych przez te receptory. Co więcej, wciąż nie jest jasne, czy istnieją funkcjonalne różnice między AXL, TYRO3 i MER w poszczególnych tkankach i nowotworach. Podobnie, choć związek AXL z EMT oraz rozwojem oporności na leczenie i przerzutowaniem został dobrze udokumentowany, znacznie mniej wiadomo na temat zaangażowania TYRO3 i MER w te procesy. Wiele dotychczasowych badań wskazuje na częściową funkcjonalną redundancję tych receptorów, natomiast wciąż brak jest jednoznacznych dowodów na istnienie receptorowo-specyficznych mechanizmów ich działania. Zatem niezbędne są dalsze badania porównawcze, które pozwolą poznać unikalne cechy biologiczne każdego z receptorów TAM, co może mieć także istotne znaczenie dla opracowywania nowych i bardziej skutecznych strategii terapeutycznych. Konieczne są również dalsze badania zmierzające do lepszego scharakteryzowania roli TYRO3 i MER w procesach leżących u podłoża nowotworzenia oraz rozwój selektywnych inhibitorów blokujących aktywność poszczególnych receptorów TAM.

Istotnym kierunkiem przyszłych badań jest także identyfikacja i walidacja biomarkerów predykcyjnych umożliwiających selekcję pacjentów, którzy będą odnosić korzyść z terapii celujących w receptory TAM. Podobnie, ważne jest także przeprowadzenie analiz korelacji pomiędzy obecnością współistniejących mutacji onkogennych a odpowiedzią na inhibitory TAM w nowotworach z nadmierną ekspresją tych receptorów. Co ważne, mimo że geny kodujące receptory TAM rzadko ulegają mutacjom, w niektórych typach nowotworów opisano obecność mutacji, których znaczenie funkcjonalne i kliniczne pozostaje niejasne. Zatem koniecz-

ne jest przeprowadzenie dalszych analiz w celu ich charakterystyki.

PIŚMIENNICTWO

1. Cadena DL, Gill GN (1992) Receptor tyrosine kinases. *FASEB J* 6:2332-7
2. Lemmon MA, Schlessinger J (2010) Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 141:1117-34
3. Schlessinger J (2014) Receptor tyrosine kinases: legacy of the first two decades. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:a008912
4. Gouni-Berthold I, Sachinidis A (2005) Molecular Mechanisms Explaining the Preventive Effects of Catechins On the Development of Proliferative Diseases. *Curr Pharm Des* 10:1261-71
5. Lemke G (2013) Biology of the TAM receptors. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5:a009076
6. Van Der Meer JHM, Van Der Poll T, Van't Veer C (2014) TAM receptors, Gas6, and protein S: roles in inflammation and hemostasis. *Blood* 123:2460-9
7. Caberoy NB, Alvarado G, Bigcas JL, Li W (2012) Galectin-3 is a new MerTK-specific eat-me signal. *J Cell Physiol* 227:401-7
8. Caberoy NB, Zhou Y, Li W (2010) Tubby and tubby-like protein 1 are new MerTK ligands for phagocytosis. *EMBO J* 29:3898-910
9. Poświata A, Kozik K, Miaczyńska M, Zdzalik-Bielecka D (2022) Endocytic trafficking of GAS6-AXL complexes is associated with sustained AKT activation. *Cell Mol Life Sci* 79:31610. Zdzalik-Bielecka D, Kozik K, Poświata A, Jastrzębski K, Jakubik M, Miaczyńska M (2022) Bemcentinib and Gilteritinib Inhibit Cell Growth and Impair the Endo-Lysosomal and Autophagy Systems in an AXL-Independent Manner. *Mol Cancer Res* 20:446-55
11. Zdzalik-Bielecka D, Poświata A, Kozik K, Jastrzębski K, Schink KO, Brewinska-Olchowik M, et al. (2021) The GAS6-AXL signaling pathway triggers actin remodeling that drives membrane ruffling, macropinocytosis, and cancer-cell invasion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118:e2024596118
12. Linger RMA, Keating AK, Earp HS, Graham DK (2008) TAM receptor tyrosine kinases: biologic functions, signaling, and potential therapeutic targeting in human cancer. *Adv Cancer Res* 100:35-83
13. Lemke G, Rothlin C V (2008) Immunobiology of the TAM receptors. *Nat Rev Immunol* 8:327-36
14. Lu Q, Lemke G (2001) Homeostatic regulation of the immune system by receptor tyrosine kinases of the Tyro 3 family. *Science* (1979) 293:306-11
15. Wang ZY, Wang PG, An J (2021) The Multifaceted Roles of TAM Receptors during Viral Infection. *Virology* 36:1-12
16. Lemke G (2017) Phosphatidyserine Is the Signal for TAM Receptors and Their Ligands. *Trends Biochem Sci* 42:738-48
17. Arandjelovic S, Ravichandran KS (2015) Phagocytosis of apoptotic cells in homeostasis. *Nat Immunol* 16:907-17
18. Graham DK, Deryckere D, Davies KD, Earp HS (2014) The TAM family: phosphatidyserine sensing receptor tyrosine kinases gone awry in cancer. *Nat Rev Cancer* 14:769-85
19. Rothlin C V., Ghosh S, Zuniga EI, Oldstone MBA, Lemke G (2007) TAM receptors are pleiotropic inhibitors of the innate immune response. *Cell* 131:1124-36
20. Caraux A, Lu Q, Fernandez N, Riou S, Di Santo JP, Raullet DH, et al. (2006) Natural killer cell differentiation driven by Tyro3 receptor tyrosine kinases. *Nat Immunol* 7:747-54
21. Smart SK, Vasileiadi E, Wang X, DeRyckere D, Graham DK (2018) The Emerging Role of TYRO3 as a Therapeutic Target in Cancer. *Cancers* 2018, Vol. 10, Page 474 10:474
22. Min L, Chen Y, Zhong F, Gu L, Lee K, He JC (2024) Role and Mechanisms of Tyro3 in Podocyte Biology and Glomerular Disease. *Kidney Diseases* :398-406
23. Hsu PL, Jou J, Tsai SJ (2019) TYRO3: A potential therapeutic target in cancer. *Exp Biol Med* (Maywood) 244:83-99
24. Wolf B, Busso C, Gönczy P (2019) Live imaging screen reveals that TYRO3 and GAK ensure accurate spindle positioning in human cells. *Nat Commun* 10
25. Paccetz JD, Vogelsang M, Parker MI, Zerbini LF (2014) The receptor tyrosine kinase Axl in cancer: Biological functions and therapeutic implications. *Int J Cancer* 134:1024-33
26. Goyette MA, Côté JF (2022) AXL Receptor Tyrosine Kinase as a Promising Therapeutic Target Directing Multiple Aspects of Cancer Progression and Metastasis. *Cancers (Basel)* 14:466
27. Feneyrolles C, Spenlinhauer A, Guiet L, Fauvel B, Daydé-Cazals B, Warnault P, et al. (2014) Axl kinase as a key target for oncology: Focus on small molecule inhibitors. *Mol Cancer Ther* 13:2141-8
28. Brindley MA, Hunt CL, Kondratowicz AS, Bowman J, Sinn PL, McCray PB, et al. (2011) Tyrosine kinase receptor Axl enhances entry of Zaire ebolavirus without direct interactions with the viral glycoprotein. *Virology* 415:83-94
29. Zhu C, Wei Y, Wei X (2019) AXL receptor tyrosine kinase as a promising anti-cancer approach: functions, molecular mechanisms and clinical applications. *Mol Cancer* 2019 18:1 18:1-22
30. Schoumacher M, Burbridge M (2017) Key Roles of AXL and MER Receptor Tyrosine Kinases in Resistance to Multiple Anticancer Therapies. *Curr Oncol Rep* 19:19
31. Antony J, Huang RYJ (2017) AXL-driven EMT state as a targetable conduit in cancer. *Cancer Res* 77:3725-32
32. Verma A, Warner SL, Vankayalapati H, Bearss DJ, Sharma S (2011) Targeting Axl and Mer kinases in cancer. *Mol Cancer Ther* 10:1763-73
33. Lahey KC, Gadiyar V, Hill A, Desind S, Wang Z, Davra V, et al. (2022) Mertk: An emerging target in cancer biology and immuno-oncology. *Int Rev Cell Mol Biol* 368:35-59
34. Huelse JM, Fridlyand DM, Earp S, DeRyckere D, Graham DK (2020) MERTK in cancer therapy: Targeting the receptor tyrosine kinase in tumor cells and the immune system. *Pharmacol Ther* 213:107577
35. DeRyckere D, Huelse JM, Earp HS, Graham DK (2023) TAM family kinases as therapeutic targets at the interface of cancer and immunity. *Nat Rev Clin Oncol* 2023 20:11 20:755-79
36. Burstyn-Cohen T, Fresia R (2023) TAM receptors in phagocytosis: Beyond the mere internalization of particles. *Immunol Rev* 319:7-26
37. Zagórska A, Través PG, Lew ED, Dransfield I, Lemke G (2014) Diversification of TAM receptor tyrosine kinase function. *Nat Immunol* 15:920-8
38. Myers K V., Amend SR, Pienta KJ (2019) Targeting Tyro3, Axl and MerTK (TAM receptors): Implications for macrophages in the tumor microenvironment. *Mol Cancer* 18:94
39. Yadav M, Sharma A, Patne K, Tabasum S, Suryavanshi J, Rawat L, et al. (2025) AXL signaling in cancer: from molecular insights to targeted therapies. *Signal Transduct Target Ther* 10:37
40. Hutterer M, Knyazev P, Abate A, Reschke M, Maier H, Stefanova N, et al. (2008) Axl and growth arrest-specific gene 6 are frequently overexpressed in human gliomas and predict poor prognosis in patients with glioblastoma multiforme. *Clin Cancer Res* 14:130-8
41. Vajkoczy P, Knyazev P, Kunkel A, Capelle HH, Behrndt S, Von Tengge-Kobligk H, et al. (2006) Dominant-negative inhibition of the Axl receptor tyrosine kinase suppresses brain tumor cell growth and invasion and prolongs survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:5799-804
42. Miao YR, Rankin EB, Giaccia AJ (2023) Therapeutic targeting of the functionally elusive TAM receptor family. *Nat Rev Drug Discov* 23:201
43. Gadiyar V, Patel G, Davra V (2020) Immunological role of TAM receptors in the cancer microenvironment. *Int Rev Cell Mol Biol* 357:57-79
44. Cook RS, Jacobsen KM, Wofford AM, DeRyckere D, Stanford J, Prieto AL, et al. (2013) MerTK inhibition in tumor leukocytes decreases tumor growth and metastasis. *J Clin Invest* 123:3231-42
45. Nguyen KQN, Tsou WI, Calareso DA, Kimani SG, Singh S, Hsieh S, et al. (2014) Overexpression of MERTK receptor tyrosine kinase in epithelial cancer cells drives efferocytosis in a gain-of-function capacity. *J Biol Chem* 289:25737-49
46. Kasikara C, Kumar S, Kimani S, Tsou WI, Geng K, Davra V, et al. (2017) Phosphatidyserine sensing by TAM receptors regulates AKT-depen-

- dent chemoresistance and PD-L1 expression. *Mol Cancer Res* 15:753-64
47. Kasikara C, Davra V, Calianese D, Geng K, Spires TE, Quigley M, et al. (2019) Pan-TAM Tyrosine Kinase Inhibitor BMS-777607 Enhances Anti-PD-1 mAb Efficacy in a Murine Model of Triple-Negative Breast Cancer. *Cancer Res* 79:2669-83
 48. Paolino M, Choidas A, Wallner S, Pranjic B, Uribealago I, Loeser S, et al. (2014) The E3 ligase Cbl-b and TAM receptors regulate cancer metastasis via natural killer cells. *Nature* 507:508-12
 49. Akalu YT, Rothlin C V., Ghosh S (2017) TAM Receptor Tyrosine Kinases as Emerging Targets of Innate Immune Checkpoint Blockade for Cancer Therapy. *Immunol Rev* 276:165
 50. Vouri M, Hafizi S (2017) TAM Receptor Tyrosine Kinases in Cancer Drug Resistance. *Cancer Res* 77:2775-8
 51. Zheng HC (2017) The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers. *Oncotarget* 8:59950-64
 52. Ward RA, Fawell S, Floc'H N, Flemington V, McKerrecher D, Smith PD (2021) Challenges and Opportunities in Cancer Drug Resistance. *Chem Rev* 121:3297-351
 53. Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, Johnston PG (2013) Cancer drug resistance: An evolving paradigm. *Nat Rev Cancer* 13:714-26
 54. Alexander PB, Wang XF (2015) Resistance to receptor tyrosine kinase inhibition in cancer: molecular mechanisms and therapeutic strategies. *Front Med* 9:134-8
 55. Kim HR, Kim WS, Choi YJ, Choi CM, Rho JK, Lee JC (2013) Epithelial-mesenchymal transition leads to crizotinib resistance in H2228 lung cancer cells with EML4-ALK translocation. *Mol Oncol* 7:1093-102
 56. Zhang Z, Lee JC, Lin L, Olivias V, Au V, Laframboise T, et al. (2012) Activation of the AXL kinase causes resistance to EGFR-targeted therapy in lung cancer. *Nat Genet* 44:852-60
 57. Morgillo F, Della Corte CM, Fasano M, Ciardiello F (2016) Mechanisms of resistance to EGFR-targeted drugs: Lung cancer. *ESMO Open* 1:e000060
 58. Yan D, Earp HS, Deryckere D, Graham DK (2021) Targeting MERTK and AXL in EGFR Mutant Non-Small Cell Lung Cancer. *Cancers (Basel)* 13:5639
 59. Taniguchi H, Yamada T, Wang R, Tanimura K, Adachi Y, Nishiyama A, et al. (2019) AXL confers intrinsic resistance to osimertinib and advances the emergence of tolerant cells. *Nat Commun* 10:259
 60. Yoshioka T, Shien K, Takeda T, Takahashi Y, Kurihara E, Ogoshi Y, et al. (2019) Acquired resistance mechanisms to afatinib in HER2-amplified gastric cancer cells. *Cancer Sci* 110:2549-57
 61. Ghosh S, Garige M, Haggerty PR, Norris A, Chou CK, Wu WW, et al. (2024) Impact of sunitinib resistance on clear cell renal cell carcinoma therapeutic sensitivity in vitro. *Cell Cycle* 23:43-55
 62. Ruicci KM, Meens J, Plantinga P, Stecho W, Pinto N, Yoo J, et al. (2020) TAM family receptors in conjunction with MAPK signalling are involved in acquired resistance to PI3K α inhibition in head and neck squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 39:217
 63. Elkabets M, Pazarentzos E, Juric D, Sheng Q, Pelosof RA, Brook S, et al. (2015) AXL mediates resistance to PI3K α inhibition by activating the EGFR/PKC/mTOR Axis in Head and neck and esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Cell* 27:533-46
 64. Debruyne DN, Bhatnagar N, Sharma B, Luther W, Moore NF, Cheung NK, et al. (2016) ALK inhibitor resistance in ALKF1174L-driven neuroblastoma is associated with AXL activation and induction of EMT. *Oncogene* 35:3681-91
 65. Nakamichi S, Seike M, Miyayama A, Chiba M, Zou F, Takahashi A, et al. (2018) Overcoming drug-tolerant cancer cell subpopulations showing AXL activation and epithelial-mesenchymal transition is critical in conquering ALK-positive lung cancer. *Oncotarget* 9:27242-55
 66. Hara K, Horikoshi Y, Morimoto M, Nakaso K, Sunaguchi T, Kurashiki T, et al. (2023) TYRO3 promotes chemoresistance via increased LC3 expression in pancreatic cancer. *Transl Oncol* 28:101608
 67. Küffer S, Grabowski J, Okada S, Sojka N, Welter S, von Hammerstein-Equord A, et al. (2022) Phosphoproteomic Analysis Identifies TYRO3 as a Mediator of Sunitinib Resistance in Metastatic Thymomas. *Cancers (Basel)* 14:4762
 68. Lee C (2015) Overexpression of Tyro3 receptor tyrosine kinase leads to the acquisition of taxol resistance in ovarian cancer cells. *Mol Med Rep* 12:1485-92
 69. Kabir TD, Ganda C, Brown RM, Beveridge DJ, Richardson KL, Chaturvedi V, et al. (2018) A microRNA-7/growth arrest specific 6/TYRO3 axis regulates the growth and invasiveness of sorafenib-resistant cells in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 67:216-31
 70. Chien CW, Hou PC, Wu HC, Chang YL, Lin SC, Lin SC, et al. (2016) Targeting TYRO3 inhibits epithelial-mesenchymal transition and increases drug sensitivity in colon cancer. *Oncogene* 35:5872-81
 71. Shao X, Sun Y, Zhong K, Gu J, Yu Y, Hu T, et al. (2023) TYRO3 promotes tumorigenesis and drug resistance in colorectal cancer by enhancing the epithelial-mesenchymal transition process. *Aging* 15:3035-51
 72. Linger RMA, Lee-Sherick AB, DeRyckere D, Cohen RA, Jacobsen KM, McGranahan A, et al. (2013) Mer receptor tyrosine kinase is a therapeutic target in pre-B-cell acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 122:1599-609
 73. Wang Y, Moncayo G, Morin P, Xue G, Grzmil M, Lino MM, et al. (2013) Mer receptor tyrosine kinase promotes invasion and survival in glioblastoma multiforme. *Oncogene* 32:872-82
 74. Keating AK, Kim GK, Jones AE, Donson AM, Ware K, Mulcahy JM, et al. (2010) Inhibition of Mer and Axl receptor tyrosine kinases in astrocytoma cells leads to increased apoptosis and improved chemosensitivity. *Mol Cancer Ther* 9:1298-307
 75. Linger RMA, Cohen RA, Cummings CT, Sather S, Migdall-Wilson J, Middleton DHG, et al. (2013) Mer or Axl receptor tyrosine kinase inhibition promotes apoptosis, blocks growth and enhances chemosensitivity of human non-small cell lung cancer. *Oncogene* 32:3420-31
 76. Xie S, Li Y, Li X, Wang L, Yang N, Wang Y, et al. (2015) Mer receptor tyrosine kinase is frequently overexpressed in human non-small cell lung cancer, confirming resistance to erlotinib. *Oncotarget* 6:9206-19
 77. Yan D, Parker RE, Wang X, Frye S V., Shelton Earp H, DeRyckere D, et al. (2018) MERTK promotes resistance to irreversible EGFR tyrosine kinase inhibitors in non-small cell lung cancers expressing wild-type EGFR family members. *Cli Cancer Res* 24:6523-35
 78. Fu J, Li K, Zhang W, Wan C, Zhang J, Jiang P, et al. (2020) Large-scale public data reuse to model immunotherapy response and resistance. *Genome Med* 12:21
 79. Li H, Liu Z, Liu L, Zhang H, Han C, Girard L, et al. (2022) AXL targeting restores PD-1 blockade sensitivity of STK11/LKB1 mutant NSCLC through expansion of TCF1+ CD8 T cells. *Cell Rep Med* 3:100554
 80. Goyette MA, Elkholi IE, Apcher C, Kuasne H, Rothlin C V., Muller WJ, et al. (2021) Targeting Axl favors an antitumorigenic microenvironment that enhances immunotherapy responses by decreasing Hif-1 α levels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 118:e2023868118
 81. Hugo W, Zaretsky JM, Sun L, Song C, Moreno BH, Hu-Lieskovan S, et al. (2017) Erratum: Genomic and Transcriptomic Features of Response to Anti-PD-1 Therapy in Metastatic Melanoma *Cell* 168:542
 82. Terry S, Dalban C, Rioux-Leclercq N, Adam J, Meylan M, Buart S, et al. (2021) Association of AXL and PD-L1 Expression with Clinical Outcomes in Patients with Advanced Renal Cell Carcinoma Treated with PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res* 27:6749-60
 83. Guo Z, Li Y, Zhang D, Ma J (2017) Axl inhibition induces the antitumor immune response which can be further potentiated by PD-1 blockade in the mouse cancer models. *Oncotarget* 8:89761-74
 84. Jiang Z, Lim SO, Yan M, Hsu JL, Yao J, Wei Y, et al. (2021) TYRO3 induces anti-PD-1/PD-L1 therapy resistance by limiting innate immunity and tumoral ferroptosis. *J Clin Invest* 131:e139434
 85. Persaud M, Martinez-Lopez A, Buffone C, Porcelli SA, Diaz-Griffero F (2018) Infection by Zika viruses requires the transmembrane protein AXL, endocytosis and low pH. *Virology* 518:301
 86. Dhillon S (2019) Gilteritinib: First Global Approval. *Drugs* 79:331-9
 87. Zhang Z, Hu R, Liu J, Yang X, Xiao Y, Xu X, et al. (2025) Antitumor activity of gilteritinib, an inhibitor of AXL, in human solid tumors. *Cell Death Discov* 11:124

88. Sheridan C (2013) First Axl inhibitor enters clinical trials. *Nat Biotechnol* 31:775–6
89. Holt RJ, Micklem D, Brown A, Yule M, Loges S, Lorens J (2018) Identification of predictive and pharmacodynamic biomarkers associated with the first-in-class selective axl inhibitor bemcentinib across multiple phase II clinical trials. *J Clin Oncol* 36:2559–2559
90. Holland SJ, Pan A, Franci C, Hu Y, Chang B, Li W, et al. (2010) R428, a selective small molecule inhibitor of Axl kinase, blocks tumor spread and prolongs survival in models of metastatic breast cancer. *Cancer Res* 70:1544–54
91. Quinn JM, Greenwade MM, Palisoul ML, Opara G, Massad K, Guo L, et al. (2019) Therapeutic inhibition of the receptor tyrosine kinase AXL improves sensitivity to platinum and taxane in ovarian cancer. *Mol Cancer Ther* 18:389–98
92. Giles KM, Kalinowski FC, Candy PA, Epis MR, Zhang PM, Redfern AD, et al. (2013) Axl mediates acquired resistance of head and neck cancer cells to the epidermal growth factor receptor inhibitor erlotinib. *Mol Cancer Ther* 12:2541–58
93. Palisoul ML, Quinn JM, Schepers E, Hagemann IS, Guo L, Reger K, et al. (2017) Inhibition of the receptor tyrosine kinase AXL restores paclitaxel chemosensitivity in uterine serous cancer. *Mol Cancer Ther* 16:2881–91
94. Wilkinson T, Dixon R, Page C, Carroll M, Griffiths G, Ho LP, et al. (2020) ACCORD: A Multicentre, Seamless, Phase 2 Adaptive Randomisation Platform Study to Assess the Efficacy and Safety of Multiple Candidate Agents for the Treatment of COVID-19 in Hospitalised Patients: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials* 21:691
95. Wang S, Qiu Z, Hou Y, Deng X, Xu W, Zheng T, et al. (2021) AXL is a candidate receptor for SARS-CoV-2 that promotes infection of pulmonary and bronchial epithelial cells. *Cell Res* 31:126–40
96. Bouhaddou M, Memon D, Meyer B, White KM, Rezelj V V., Correa Marrero M, et al. (2020) The Global Phosphorylation Landscape of SARS-CoV-2 Infection. *Cell* 182:685–712.e19
97. Bhalla S, Gerber DE (2023) AXL Inhibitors: Status of Clinical Development. *Curr Oncol Rep* 25:521
98. Tang Y, Zang H, Wen Q, Fan S (2023) AXL in cancer: a modulator of drug resistance and therapeutic target. *J Exp Clin Cancer Res* 42:1–14
99. Wu AM, Senter PD (2005) Arming antibodies: prospects and challenges for immunoconjugates. *Nat Biotechnol* 23:9 23:1137–46
100. Kariolis MS, Miao YR, Jones DS, Kapur S, Mathews II, Giaccia AJ, et al. (2014) An engineered Axl “decoy receptor” effectively silences the Gas6-Axl signaling axis. *Nat Chem Biol* 10:977–83
101. Cerchia L, Esposito CL, Camorani S, Rienzo A, Stasio L, Insabato L, et al. (2012) Targeting Axl with an high-affinity inhibitory aptamer. *Mol Ther* 20:2291–303
102. Wei J, Sun H, Zhang A, Wu X, Li Y, Liu J, et al. (2018) A novel AXL chimeric antigen receptor endows T cells with anti-tumor effects against triple negative breast cancers. *Cell Immunol* 331:49–58

At the intersection of immunology and oncology: TAM receptors in the regulation of immune responses and tumorigenesis-related processes

Weronika Tokarska-Domżałowicz, Daria Zdżalik-Bielecka✉

University of Warsaw, Faculty of Biology, Institute of Genetics and Biotechnology

✉corresponding author: d.zdżalik-bielecka@uw.edu.pl

Keywords: TAM receptor tyrosine kinases, TYRO3, AXL, MER, GAS6, PROS1, efferocytosis, immune response, tumorigenesis

ABSTRACT

TAM receptor tyrosine kinases (TYRO3, AXL, MER) and their ligands, protein S (PROS1) and growth inhibition-specific protein 6 (GAS6), play a key role in maintaining homeostasis and regulating the immune response through involvement in efferocytosis, i.e., phagocytic removal of apoptotic cells, and suppression of the innate immune response. Thus, their dysfunction leads, among others, to the development of autoimmune diseases. In turn, excessive production of TAM receptors correlates with the invasive phenotype of cancer cells, metastasis, drug resistance, and poor prognosis for patients with cancer. Moreover, activation of these receptors contributes to the promotion of an immunosuppressive tumor microenvironment and evading the immune response by cancer cells. Interestingly, recent studies suggest that these receptors are also involved in the cellular entry of viruses such as Zika or SARS-CoV-2. Therefore, in recent years, various therapeutic strategies targeting TAM receptors have been intensively developed, and their effectiveness has been assessed in numerous preclinical and clinical studies.

