

PD-1 ellenes immun ellenőrzőpont gátló hatásra kifejtett hatásának vizsgálata egereken

Miklós Gabriella, Szepes Judit, Zelles Tibor

Semmelweis Egyetem Általános Orvostudományi Kar, Farmakológiai és Farmakoterápiás Intézet

miklosgala@gmail.com

Bevezetés

Az immun ellenőrzőpont gátlók a CTLA4, PD-1 és PD-L1 molekulák gátlása révén indukálják a gazdaszervezet tumorellenes immunválaszt. Ezen hatásmechanizmusuk miatt sajátos mellékhatásprofilal rendelkeznek: számos szervben indukálhatnak autoimmun folyamatokat. A szakirodalomban közölt néhány, immun ellenőrzőpont gátlók alkalmazása során fellépő hirtelen kétoldali halláskárosodást bemutató esettanulmány felveti a túlzott immunaktivitás jelenlétének lehetőségét a belsőfülben is. Ezt egyelőre nem vizsgálták kísérletes tanulmányok, ezért volt célunk a PD-1 ellenes antitest hallásfunkcióra és cochleáris morfológiára gyakorolt hatásának preklinikai vizsgálata.

Anyag és módszer

10-10 db 8-10 hetes C57BL/6J egeret kezeltünk 4 héten keresztül (intraperitoneálisan, heti 3x, 200 µg/egér/alkalom) InVivoMab PD-1 ellenes monoklonális antitesttel, ill. InVivoMab izotípus kontroll antitesttel. A kezelés befejeztével az állatok hallásfunkcióját agytörzsi kiváltott válasz (ABR) méréssel tanulmányoztuk. A cochleákat szövettanilag feldolgoztuk: a külső és belső szőrsejteket, a ganglion spirale neuronokat és a makrofágokat vizsgáltuk Alexa Fluor 594 phalloidin, hematoxin-eozin, ill. Iba1-festést követően.

Eredmények

A hallásfunkció és a ganglion spirale neuronjainak száma, állapota nem mutatott különbséget a két csoport között. A szőrsejtek mennyiségét vizsgálva (kétszemponos ANOVA) az apicalis és középső kanyarulatban egyik csoportban sem találtunk szőrsejtdegenerációt. A 32 kHz-nél magasabb frekvenciák érzékeléséért felelős basalis kanyarulatban a PD-1 ellenes antitesttel kezelt csoportban az időskori külső szőrsejt pusztulás kontrollhoz viszonyított szignifikáns ($p = 0,04$) mérséklődését tapasztaltuk. Ugyanezen régió Iba1-pozitív makrofágjainak száma a PD-1 ellenes antitesttel kezelt csoportban a kontroll csoport 1,56-szorosa volt.

Következtetés

Eredményeink azt mutatják, hogy a PD-1 ellenes monoklonális antitest kezelésnek nem volt hatása a hallásfunkcióra és cochleáris morfológiára a legrelevánsabb (4-32 kHz) frekvenciatartományban. Az autoimmun halláskárosodást mint mellékhatást nem igazoltuk. A basalis régióban (32-70 kHz) tapasztalt megnövekedett makrofágaktivitás és az időskori külső szőrsejt degeneráció csökkenése felveti az immunrendszer aktivitásának enyhe megnövelésével járó otoprotektív hatás lehetőségét.

Kulcsszavak: szenzorineurális halláskárosodás, immun ellenőrzőpont gátló, szőrsejtek, ganglion spirale, makrofág

Effects of an anti - PD-1 immune checkpoint inhibitor on hearing in a murine model

Gabriella Miklós, Judit Szepeszy, Tibor Zelles

Semmelweis University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology and Pharmacotherapy

miklosgala@gmail.com

Introduction

The mechanism of action of immune checkpoint inhibitors (ICIs) is based on inhibiting molecules like CTLA4, PD-1 and PD-L1 thus activating the immune system against the tumor. This activation often leads to side effects called immune-related adverse events (irAEs). Although the immune response plays an important role in the pathomechanism of hearing losses, only sporadic cases of sudden bilateral hearing loss are reported following ICI administration. Thorough preclinical studies on the effect of ICIs on the audiovestibular system have not been performed yet. Our aim was to investigate the effect of PD-1 inhibition on hearing function and cochlear morphology in mice.

Material and methods

C57BL/6J mice were treated for 4 weeks (intraperitoneally, 200 µg/mouse, 3 times/week) either with InVivoMAb rat IgG2a isotype control monoclonal antibody (n = 10) or InVivoMAb anti-mouse PD-1 monoclonal antibody (n = 10). At the end of the treatment period hearing thresholds were measured with auditory brainstem response audiometry (ABR). Cochleae were histologically processed: outer and inner hair cells, spiral ganglion neurons and macrophages were examined with Alexa Fluor 594 phalloidin, hematoxylin-eosin, and Iba1 staining, respectively.

Results

Hearing function and the number and morphology of spiral ganglion neurons showed no difference between the two groups. Examining the number of hair cells with two-way ANOVA, inner and outer hair cells were unaltered in the apical-middle cochlear turns. However, a significant ($p = 0.04$) reduction of age-related hair cell degeneration was observed in the basal cochlear turn of the ICI treated group at frequencies higher than 32 kHz. In the same region, the number of Iba1-positive macrophages showed a 1.56-fold increase in the ICI treated group.

Conclusion

We conclude that the anti – PD-1 monoclonal antibody treatment had no effect on hearing function and cochlear morphology in the most relevant frequency range (4-32 kHz). Our results do not prove that ICI treatment can lead to IrAEs in the inner ear. However, the increased macrophage activity in the basal region (32-70 kHz) and the concomitant protection against age-related hair cell degeneration suggests that a slight increase in the cochlear immune activity might have otoprotective effects.

Keywords: sensorineural hearing loss, immune checkpoint inhibitor, hair cells, spiral ganglion, macrophage