

# Immunoterapia z użyciem przeciwciał monoklonalnych ukierunkowanych na szlak PD-1/PD-L1 w chorobach nowotworowych

## Monoclonal antibodies against PD-1/PD-L1 pathway

### Article history:

Received: 10.08.2018

Accepted: 03.01.2019

Aneta Malesa, Justyna Nowak,  
Katarzyna Skórka, Marta Karp,  
Krzysztof Giannopoulos\*Zakład Hematoonkologii Doświadczalnej,  
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Lublin

### Streszczenie

Komórki nowotworowe modyfikują aktywność układu odpornościowego, wyciszając jego reakcję na rozwijający się nowotwór. Jednym z głównych szlaków prowadzących do wyciszenia aktywności limfocytów jest szlak PD-1/PD-L1, zatem jest jednym z głównych celów immunoterapii. Blokowanie PD-1 lub PD-L1 przy pomocy przeciwciał monoklonalnych umożliwia przywrócenie aktywności układu odpornościowego i wstrzymanie bądź cofnięcie choroby. W badaniach klinicznych określano skuteczność i bezpieczeństwo terapii przy użyciu przeciwciał anti-PD-1 oraz anti-PD-L1 w nowotworach litych oraz hematologicznych. Obiecujące wyniki badań, w monoterapii lub połączeniu z chemio- lub radioterapią, prowadzą do rejestracji terapii przeciwciał monoklonalnych anti-PD-1 i anti-PD-L1 w coraz większej liczbie chorych onkologicznych.

### Abstract

Cancer cells can modify activity of immune system, decreasing its response to ongoing disease progression. One of main pathways leading to the T-cell exhaustion is PD-1/PD-L1 pathway, so it became one of main targets of modern immunotherapy. Blocking PD-1 or PD-L1 with monoclonal antibodies leads to restoration of immune system activity and inhibits or even reverses the cancer progression. Clinical trials are evaluating anti-PD-1 and anti-PD-L1 monoclonal antibody treatment in solid and hematological malignancies. Promising results of those trials, in monotherapy or as an additional therapy to chemo- and radiotherapy, lead to the approval of monoclonal antibodies treatment in an increasing cancer modalities.

© 2018 Polish Society of Hematology and Transfusion Medicine, Institute of Hematology and Transfusion Medicine. All rights reserved.

### Słowa kluczowe:

PD-1, PD-L1, PD-L2, niwolumab, pembrolizumab, atezolizumab

### Keywords:

PD-1, PD-L1, PD-L2, niwolumab, pembrolizumab, atezolizumab

## WSTĘP

Badania ostatnich lat w dużym stopniu koncentrują się na poszukiwaniu i doskonaleniu nowych metod leczenia chorób nowotworowych. Jedną z obiecujących metod jest immunoterapia, która opiera się na pobudzeniu i wzmocnieniu odpowiedzi układu immunologicznego do walki z komórkami nowotworowymi. Immunoterapię można podzielić na swoistą, ukierunkowaną na ściśle określony rodzaj komórek, które mają być niszczone, oraz nieswoistą, aktywującą różne mechanizmy odpowiedzi układu odpornościowego. Obecnie najczęściej wykorzystywaną metodą immunoterapii nowotworów jest stosowanie przeciwciał monoklonalnych. Przeciwciała monoklonalne mogą być skierowane przeciwko swoistym antygenom nowotworowym lub przeciwko cząsteczkom modulującym odpowiedź immunologiczną, powodując jej nasilenie. Dodatkowo, przeciwciała monoklonalne mogą również hamować rozwój nowotworu przez blokowanie czynników niezbędnych do jego wzrostu [1, 2].

Wśród mechanizmów determinujących aktywność przeciwnowotworową przeciwciał rozpoznających antygeny nowotworowe wyróżnia się mechanizmy bezpośrednie oraz pośrednie. Mechanizmy bezpośrednie obejmują przede wszystkim aktywację apoptozy lub zahamowanie szlaków transdukcji sygnału przez związanie receptorów błonowych na powierzchni komórek nowotworowych. Natomiast do grupy mechanizmów pośrednich należą cytotoksyczność zależna od przeciwciał (*antibody-dependent cellular cytotoxicity* – ADCC) i cytotoksyczność zależna od dopełniacza (*complement-dependent cytotoxicity* – CDC). Istnieje również grupa przeciwciał ukierunkowanych na określone białka supresorowe stanowiące negatywne punkty kontrolne na powierzchni komórek immunologicznych lub eliminujące białka regulatorowe obecne w mikrośrodowisku nowotworu [3].

\* Corresponding author: Krzysztof Giannopoulos, Department of Experimental Hematooncology, Medical University of Lublin, Chodźki 4a, 20-093 Lublin, Poland, Phone: +48 81 448 66 32; Fax: +48 81 448 66 34, Email: [krzysztof.giannopoulos@gmail.com](mailto:krzysztof.giannopoulos@gmail.com)

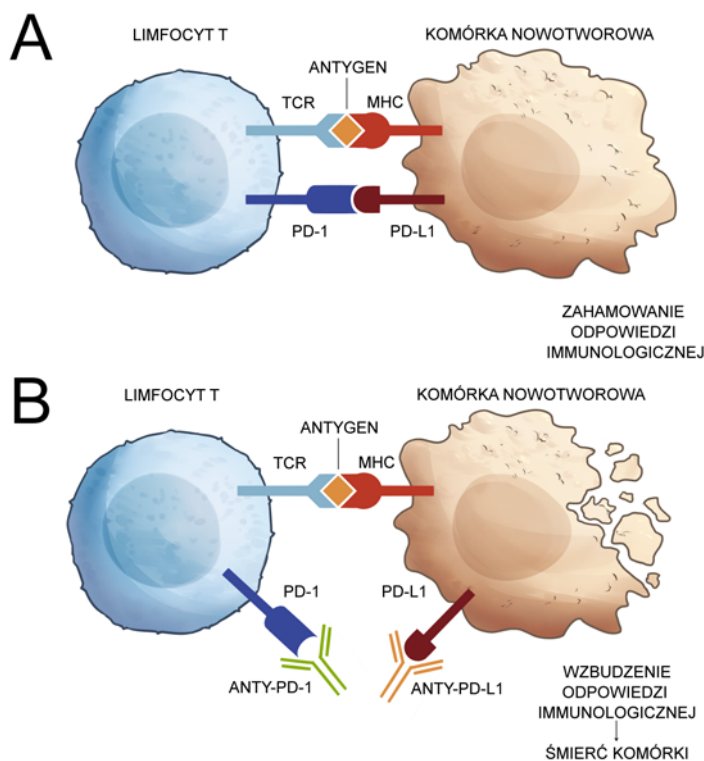
## IMMUNOLOGICZNE PUNKTY KONTROLNE

Układ odpornościowy do prawidłowego działania wymaga wytworzenia odpowiednich mechanizmów regulacji jego aktywności. Prawidłową homeostazę sygnałów pobudzających i hamujących odpowiedź immunologiczną regulują immunologiczne punkty kontrolne, które umożliwiają ukierunkowanie reakcji na szkodliwe dla organizmu czynniki patogenne, z jednoczesnym zachowaniem tolerancji wobec własnych tkanek [4].

W celu uniknięcia zjawisk autoimmunizacyjnych proces aktywacji limfocytów T musi być ściśle regulowany. Limfocyty T do pobudzenia wymagają co najmniej dwóch różnych sygnałów od komórek prezentujących antygen (*antigen presenting cells* – APC). Pierwszym sygnałem jest rozpoznanie antygeny, a dokładniej jego immunogennej części – epitopu umieszczonego w rowku głównego układu zgodności tkankowej (*major histocompatibility complex* – MHC) znajdującego się na APC, przez receptor znajdujący się na limfocycie T (*T-cell receptor* – TCR). Drugim sygnałem jest kostymulacja, np. poprzez

interakcję cząsteczki CD28 limfocyta T z cząsteczkami CD80 (B7.1) lub CD86 (B7.2) na APC. Pobudzenie limfocytów T jest również ściśle związane z innymi stymulującymi sygnałami wysłanymi do komórki na skutek połączenia się określonych par receptorów i ich ligandów, w tym indukowanego kortykosteroidami receptora martwicy nowotworu (*glucocorticoid-induced TNFR family related gene* – GITR) oraz jego swoistego ligandu GITRL, a także interakcji pomiędzy transbłonowym receptorem 4-1BB (CD137) a jego ligandem 4-1BBL (CD137L) [5-8].

W poszukiwaniu celów do immunoterapii przeciwnowotworowej zwraca się uwagę na negatywne punkty kontrolne, które stanowią jeden z mechanizmów ucieczki komórek spod nadzoru układu odporności. Do dwóch najlepiej poznanych hamujących immunologicznych punktów kontrolnych należą antygen 4 związany z limfocycem T cytotoksycznym (*cytotoxic T-lymphocyte antigen-4* – CTLA-4) oraz receptor programowanej śmierci 1 (*programmed death receptor-1* – PD-1) [9] (Ryc. 1A).



**Ryc. 1. Mechanizm działania inhibitorów PD-1 oraz PD-L1 na odpowiedź immunologiczną. (A) Do pobudzenia odpowiedzi immunologicznej wymagana jest interakcja TCR z cząsteczką MHC prezentującą antygen komórki. Prawidłowa odpowiedź ukierunkowana na komórkę nowotworową nie jest jednak możliwa na skutek interakcji cząsteczek PD-1 oraz PD-L1. (B) Zablokowanie cząsteczek PD-1 i PD-L1 przy pomocy przeciwciał monoklonalnych skutkuje wzbudzeniem odpowiedzi immunologicznej, prowadząc do zniszczenia komórki nowotworowej. TCR (T-cell receptor) – receptor limfocyta T; MHC (major histocompatibility complex) – główny układ zgodności tkankowej; PD-1 (programmed death receptor 1) – receptor programowanej śmierci 1; PD-L1 (programmed death ligand 1) – ligand programowanej śmierci 1**

**Fig. 1. The mechanism of action of PD-1 and PD-L1 inhibitors on immune response. (A) To stimulate the immune response, the interaction of TCR with the MHC molecule on antigen presenting cell is required. The correct response directed against cancer cell is not possible due to the interaction of the PD-1 and PD-L1 molecules. (B) Blocking the PD-1 and PD-L1 molecules with monoclonal antibodies results in the induction of an immune response, leading to the destruction of the tumor cell. TCR – T-cell receptor; MHC – major histocompatibility complex; PD-1 – programmed death receptor 1; PD-L1 – programmed death ligand 1**

## CHARAKTERYSTYKA CZĄSTECZKI PD-1

PD-1 to powierzchniowy, glikoproteinowy receptor komórkowy, należący do rodziny CD28. PD-1 zbudowany jest z 288 aminokwasów, a jego masa cząsteczkowa wynosi od 50 do 55 kDa [2]. Pod względem budowy PD-1 wykazuje około 31-33% homologię z cząsteczkami CTLA-4, CD28 i ICOS (*Inducible T-cell Costimulator*). Interakcje PD-1 z ligandami zapobiegają procesom autoimmunizacji z jednej strony przez indukcję apoptozy limfocytów T swoistych wobec autoantygenów, a z drugiej strony przez hamowanie apoptozy limfocytów T regulatorowych (Treg) [1]. Ekspresja PD-1 na limfocytach T oraz B jest następstwem aktywacji szlaku sygnałowego odpowiednio TCR lub BCR (*B cell receptor* – BCR) [10].

Białko PD-1 kodowane jest przez gen *PDCD-1* zlokalizowany na chromosomie 2 (2q.37.3) [11]. *PDCD-1* składa się z 5 eksonów. Ekson 1 koduje peptyd liderowy, który występuje od strony zewnątrzkomórkowej. Ekson 2 koduje domenę IgV-podobną (*immunoglobulin variable-like domain* – *IgV-like domain*). Przydomenie IgV-podobnej zlokalizowany jest ok. 20-aminokwasowy fragment oddzielający ją od błony komórkowej. W obrębie błony komórkowej zakotwiczona jest domena transbłonowa kodowana przez ekson 3. Eksony 4 i 5 kodują domenę wewnątrzkomórkową, w obrębie której wyróżniamy dwie tyrozyny, zlokalizowane w dwóch motywach aminokwasowych – proksymalnym (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif* – ITIM) oraz dystalnym (*immunoreceptor tyrosine-based switch motif* – ITSM) [12]. Wyżej wymienione cząsteczki tyrozyny odgrywają zasadniczą rolę w pełnieniu funkcji PD-1 jako inhibitora [13].

W warunkach fizjologicznych PD-1 ulega ekspresji na komórkach układu odpornościowego, w tym na dojrzałych limfocytach T CD4+ i CD8+, a także na limfocytach B oraz na limfocytach T podczas ich rozwoju w grasicy w czasie rearanżacji TCR. Ze względu na kluczową rolę ekspresji PD-1 podczas negatywnej, jak i pozytywnej selekcji limfocytów, PD-1 jest syntezowany w podwójnie ujemnych limfocytach T CD4-CD8- [14, 15]. Dodatkowo, ekspresję PD-1 stwierdza się na komórkach NK, niektórych subpopulacjach komórek dendrytycznych oraz monocytach [16, 17]. W formie niezwiązanej z błoną komórkową, PD-1 może występować w cytoplazmie limfocytów Treg i dziewiczych limfocytach CD4+ [18]. PD-1 może być regulowany przez różne czynniki, w tym hormony, cytokiny czy geny supresorowe, takie jak *PTEN* i *LKB1* [19]. Cytokinami stymulującymi ekspresję PD-1 są interleukina 2 (IL-2), IL-7, IL-15 oraz IL-21 [20]. Ponadto, zwiększenie ekspresji PD-1 w limfocytach T oraz na komórkach APC mogą powodować estrogeny [21]. Wykazano, że w indukcji ekspresji PD-1 w limfocytach T istotną rolę odgrywa jądrowy czynnik pobudzonych limfocytów Tc1 (*nuclear factor of activated T cells c1* – NF-ATc1). Dowiedziano również, że specyficzne hamowanie tego czynnika, polegające na zniesieniu jego translokacji do jądra powoduje, obniżenie ekspresji PD-1, zaś mutacja genu kodującego NF-ATc1 skutkuje całkowitym brakiem ekspresji receptora [22]. Czynniki powodującymi indukcję PD-1 w limfocytach B są czynniki stymulujące aktywację i proliferację tych limfocytów, w tym przeciwciała anty-IgM, anty-CD40 czy lipopolisacharydy (LPS) [10]. Pobudzająco na ekspresję PD-1 w komórkach dendrytycznych działa natomiast oddziaływanie z receptorami Toll-podobnymi (*Toll-like receptors* – TLR), takimi jak TLR2, TLR3, TLR4 oraz wiążąca nukleotydy domena

oligomeryzacji (*nucleotide-binding oligomerization domain* – NOD). Z kolei hamująco na ekspresję PD-1 w komórkach dendrytycznych działają IL-4 oraz TLR9 [23]. W makrofagach ekspresja PD-1 jest pobudzana przez element odpowiedzi stymulowanej przez interferon (*interferon-sensitive response element* – ISRE), białka przekazujące sygnał i aktywatory transkrypcji (*signal transducers and activators of transcription* – STAT) w tym STAT1 i STAT2 oraz interferon  $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ). Zwiększenie ekspresji PD-1 przez IFN- $\alpha$  jest możliwe poprzez ISRE [24].

## CHARAKTERYSTYKA LIGANDÓW PD-L1 i PD-L2

Ligand programowanej śmierci 1 (*programmed death ligand 1* – PD-L1), określane również jako B7-H1 lub CD274, jest transbłonową glikoproteiną typu I, zbudowaną z 290 aminokwasów, należącą do rodziny B7. Białko to posiada dwie domeny zewnątrzkomórkowe IgV- oraz IgC-podobne, przy czym domena IgV-podobna umożliwia oddziaływanie z analogiczną domeną receptora PD-1 [2]. Domena cytoplazmatyczna liganda PD-L1 jest krótka, a jej rola w przekazywaniu sygnałów wewnątrzkomórkowych nie została jeszcze określona [5].

Gen *CD274*, kodujący PD-L1, umiejscowiony jest na chromosomie 9, a w jego skład wchodzi siedem eksonów. Pierwszy ekson jest niekodujący i zawiera sekwencję 5'UTR. Następne trzy eksony kodują odpowiednio domenę IgV-podobną i dwie domeny IgC-podobne. Domena transbłonowa oraz domena wewnętrzna kodowane są przez kolejne dwa eksony. Ostatni ekson również koduje domenę wewnętrzną, jak i zawiera sekwencję 3'UTR [5, 25].

PD-L1 posiada jeden wariant obróbkowy powstały w wyniku alternatywnego splicingu [26]. Wariant mRNA PD-L1II powstaje przez wycięcie eksonu 2, kodującego domenę IgV-podobną, z zachowaniem pozostałych eksonów i bez przesunięcia ramki odczytu. Powstała izoforma PD-L1 II znajduje się w wewnętrznej części komórki, prawdopodobnie w rejonie retikulum endoplazmatycznego. Przeniesienie do części błonowej komórki nie jest możliwe, co sugeruje konieczność występowania domeny IgV-podobnej do prawidłowego złożenia białka i jego transportu. Powstała forma ligandu nie jest wówczas zdolna do połączenia się z receptorem PD-1. Alternatywny splicing może być więc jednym z mechanizmów regulacji elementów szlaku PD-1/PD-L1, determinującym ilość ligandów zdolnych do kontaktu z receptorem [27].

Ekspresja PD-L1 na poziomie mRNA jest wykrywana w niemal wszystkich komórkach. Ekspresja białka PD-L1 na komórkach hematopoetycznych ograniczona jest przede wszystkim do komórek APC, takich jak komórki dendrytyczne, makrofagi, oraz limfocyty B [28]. Do ekspresji PD-L1 dochodzi również na aktywowanych limfocytach T [29]. PD-L1 występuje także w tkankach nienależących do układu odpornościowego, w tym na komórkach wysp trzustkowych, komórkach gwiaździstych wątroby, komórkach śródbłonna naczyniowego czy komórkach trofoblastu łożyska [2, 30]. Ekspresja PD-L1 na limfocytach B pobudzana jest przez przeciwciała anty-IgM, LPS, IFN typu I i II, czynnik martwicy nowotworu (*tumor necrosis factor* – TNF) oraz IL-21. W przypadku limfocytów T czynnikami indukującymi ekspresję PD-L1 są przeciwciała anty-CD3 bądź cytokiny, takie jak: IL-2, IL-7, IL-15, IFN oraz TNF. Ekspresja PD-L1 na makrofagach jest pobudzana przez czynnik stymulujący

tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor* – GM-CSF), na monocytach przez IL-10, a na komórkach dendrytycznych przez IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-12 oraz GM-CSF [2, 20].

PD-L1 może występować również w postaci izoformy rozpuszczalnej, określanej jako sPD-L1 (*soluble PD-L1* – sPD-L1). sPD-L1 jest aktywny biologicznie i może indukować apoptozę limfocytów T, wiążąc się z receptorem PD-1 na powierzchni limfocyta, prowadząc do hamowania jego aktywacji oraz proliferacji [31, 32]. sPD-L1 jest wykrywany przede wszystkim w supernatantach pochodzących z próbek zawierających błonowy PD-L1 (*membrane PD-L1* – mPD-L1). Sugeruje się, że PD-L1 ulegający ekspresji na powierzchni komórki nowotworowej może być jednym ze źródeł sPD-L1 powstającego w wyniku działania metaloproteinaz macierzowych na część zewnątrzkomórkową PD-L1 [32, 33]. sPD-L1 może być również uwalniany przez komórki pochodzenia szpikowego [31]. Do ekspresji sPD-L1 nie dochodzi jednak wyłącznie w przypadku chorób nowotworowych. Białko to wykrywane jest również w próbkach pochodzących od zdrowych osób, a jego ilość wzrasta wraz z wiekiem. Znaczenie występowania sPD-L1 w zdrowym organizmie nie jest jednak jeszcze w pełni określone [34].

Ligand programowanej śmierci 2 (*programmed death ligand 2* – PD-L2), określane również jako B7-DC oraz CD273, jest drugim ligandem zdolnym do przyłączenia się do receptora PD-1 [35]. PD-L2 jest transbłonową glikoproteiną typu I, kodowaną przez gen *PDCD1LG2* występujący na chromosomie 9. PD-L2 posiada zewnątrzkomórkowe domeny Ig-V- i IgC-podobne, oraz krótką domenę wewnątrzkomórkową. Ekspresja PD-L2, w porównaniu do PD-L1, nie jest tak powszechna i ogranicza się do makrofagów, komórek dendrytycznych, oraz niektórych subpopulacji limfocytów B [28, 36, 37]. Wykazano również częściową obecność PD-L2 na komórkach tucznych pochodzenia szpikowego, limfocytach T oraz na komórkach śródbłonka naczyniowego [25, 38].

## ZNACZENIE SZLAKU PD-1

Receptor PD-1 wchodzi w interakcję ze swoistymi ligandami – PD-L1 oraz PD-L2. Ligandy współzawodniczą ze sobą o wiązanie z PD-1, jednak to PD-L1 pełni główną rolę w regulacji szlaku PD-1/PD-L1/PD-L2. Chociaż PD-L2 wykazuje silniejsze powinowactwo do PD-1 w porównaniu do PD-L1, zakres ekspresji tej cząsteczki jest ograniczony [39]. Stechiometria oddziaływania pomiędzy ligandami a receptorem wynosi 1:1, natomiast mechanizmy samego wiązania ligandów do receptora różnią się w zależności od cząsteczki. Wiązanie PD-L1 do PD-1 powoduje zmianę konformacji przestrzennej liganda, natomiast wiązanie PD-L2 nie powoduje znaczących zmian w jego strukturze przestrzennej. Jest to prawdopodobnie związane z różnicą w składzie aminokwasów domen IgV-podobnych, które są głównymi miejscami wiązań PD-L1 oraz PD-L2 z receptorem. Dodatkowo, swoistość wiązania PD-L1 i PD-L2 jest różna, gdyż PD-L1 oddziałuje nie tylko z PD-1, ale również z cząsteczką CD80 obecną na powierzchni limfocyta [2].

Ekspresja PD-1 na limfocytach może być indukowana na skutek kontaktu receptora limfocyta z antygenem [17, 40]. Przekazanie sygnału przez TCR po jego pobudzeniu prowadzi do wiązania się NFAT z regionem promotorowym genu *PDCD1* [22]. Interakcja

PD-1 z ligandami skutkuje aktywacją fosfatazy fosfotyrozyny zawierającej domenę SH2 (*SH2-domain containing phosphotyrosine phosphatase* – SHP2) oraz spadkiem ekspresji Bcl-xL, prowadząc do zahamowania działania 3-kinazy fosfatidyloinozytolu/kinazy serynowo-treoninowej (*phosphatidylinositol 3-kinase/serine threonine protein kinase* – PI3K/AKT) [1].

Zarówno w przewlekłych infekcjach, stanach zapalnych, jak i chorobach nowotworowych obserwuje się dysfunkcję limfocytów T, w tym zmiany ekspresji PD-1 [41]. Podwyższony poziom ekspresji PD-1 obserwuje się na limfocytach naciekających nowotwór (*tumor infiltrating lymphocytes* – TIL), które wchodzi w interakcje z komórkami nowotworowymi przez łączenie się z występującymi na nich ligandami PD-L1 i PD-L2, co może prowadzić do wyczerpania czynnościowych limfocytów T. Zjawisko to prowadzi do osłabienia funkcji efektorowych limfocytów T, które tracą zdolność zabijania komórek nowotworowych i zarażonych wirusami. Ponadto, obserwuje się wiele innych zaburzeń uniemożliwiających limfocytom T skuteczną walkę z chorobą, m.in. zaburzenie ekspresji i funkcji czynników transkrypcyjnych, obniżenie ilości wydzielanych cytokin lub zaburzona odpowiedź limfocytów T pamięci [42, 43, 44].

Obecne na komórkach nowotworowych nietypowe białka o zmienionej sekwencji aminokwasów, tzw. neoantygeny, są rozpoznawane przez układ odpornościowy jako obce. W ten sposób dochodzi do rozwoju przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej, której głównym elementem są odpowiednie klony limfocytów T, zdolne do swoistego rozpoznania komórek nowotworowych. Wraz z progresją choroby nowotworowej, w obrębie guza rozwijają się jednak liczne mechanizmy prowadzące do obniżenia efektywności, a nawet zahamowania przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej zależnej od limfocytów T [45].

PD-1 odgrywa znaczącą rolę w adhezji limfocytów T, która ulega aktywacji po kontakcie z APC. Oddziaływanie tych komórek może zostać zakłócone przez sygnały hamujące pochodzące od PD-1, które są niezbędne do jego interakcji z PD-L1. Ta hipoteza umacniana jest dzięki eksperymentalnym badaniom *in vitro* wykazującym niższą mobilność komórek T i ulepszone interakcje limfocytów T z APC po zablokowaniu przeciwciałami PD-1 lub PD-L1 [46]. Wykazano również, że PD-1 może hamować adhezję limfocytów T i tworzenie się synaps immunologicznych [47, 48].

## EKSPRESJA PD-1 I JEJ ZNACZENIE W NOWOTWORACH LITYCH

Zwiększoną ekspresję cząsteczki PD-1 zaobserwowano w wielu nowotworach, co może wskazywać na jej zaangażowanie w mechanizmy prowadzące do ucieczki nowotworu spod nadzoru układu immunologicznego [39].

U chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (*non-small cell lung cancer* – NSCLC) TIL CD8+ charakteryzowały się podwyższoną ekspresją białka PD-1 oraz zaburzonym funkcjonowaniem, w tym obniżoną produkcją cytokin i zaburzoną zdolnością do proliferacji [49]. Zaobserwowano odwrotną korelację powierzchniowej ekspresji PD-1 na limfocytach T CD4+ we krwi u chorych na NSCLC z czasem przeżycia wolnym od progresji (*progression-free survival* – PFS) oraz krótszym czasem całkowitego przeżycia (*overall survival* – OS) [50]. W grupie chorych na raka nerkowokomórkowego

(*renal cell carcinoma* – RCC) wartość rokownicza ekspresji PD-1 nie jest jednoznacznie określona [51]. Wykazano, że ekspresja PD-1 na TIL związana była z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, w tym z większą masą guza, wyższym stopniem złośliwości histologicznej oraz zdolnością do tworzenia przerzutów do węzłów chłonnych. Dodatkowo zaobserwowano znacznie podwyższone ryzyko zgonu związanego z chorobą nowotworową u chorych, u których odnotowano ekspresję PD-1 na TIL [52]. Sugeruje się jednak, iż ekspresja PD-1 ma związek z niesprzyjającym przebiegiem choroby i obniżonym przeżyciem chorych głównie w przypadku koekspresji z innymi cząsteczkami inhibitorowymi, takimi jak TIM-3 [53]. Inne badania wskazują z kolei na brak powiązania ekspresji PD-1 z przebiegiem choroby nowotworowej u chorych na RCC [54]. Ekspresja PD-1 na limfocytach T CD8+ w przypadku raka wątrobowokomórkowego (*hepatocellular carcinoma* – HCC) związana jest z progresją i nawrotem nowotworu [55]. Wskazuje się również na związek PD-1 z większą masą guza oraz niskim stopniem zróżnicowania nowotworu [56].

Wykazano korelację ekspresji PD-1 z krótszym czasem przeżycia wolnym od choroby u chorych na raka żołądka. Dowiedziono, że wartość 3-letniego przeżycia w przypadku większej ekspresji PD-1 wynosiła 36,1%, w porównaniu do 64,7% u chorych, u których nie odnotowano ekspresji tego białka [57]. Podwyższony poziom PD-1 opisano na limfocytach T CD8+ oraz CD4+, które charakteryzowały się obniżoną zdolnością do wydzielania IFN- $\gamma$ . Dodatkowo, większa ekspresja PD-1 dotyczyła głównie chorych w zaawansowanych stadiach choroby [58].

U chorych na raka piersi ekspresja PD-1 na TIL korelowała z niekorzystnym przebiegiem choroby, z większym rozmiarem guza oraz wyższym stopniem zaawansowania nowotworu. Ilość TIL była również związana z krótszym OS u chorych [59]. Wyższy odsetek komórek TIL z ekspresją PD-1 obserwowano w przypadku nowotworów z obecnością receptora ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2 (*human epidermal growth factor 2* – HER-2) oraz przerzutów nowotworowych zajmujących węzły chłonne [60]. Wysoka ekspresja PD-1 była również obserwowana w potrójnie ujemnym raku piersi, charakteryzującym się brakiem ekspresji receptorów estrogenów, receptora progesteronu oraz HER2 [61]. Ekspresja PD-1 na TIL w tym typie nowotworu może być związana z korzystnym rokowaniem dzięki dużej ilości limfocytów w otoczeniu guza, o czym świadczą dłuższe czasy OS oraz przeżycia wolnego od choroby (*disease-free survival* – DFS) [62, 63].

U chorych na raka jajnika ekspresja PD-1 i jego ligandów na TIL może wiązać się z lepszym rokowaniem. Wartości OS i PFS w grupie o wyższej ekspresji PD-1 były dłuższe w porównaniu do grupy o niskiej ekspresji PD-1 [64]. Z kolei koekspresja PD-1 z LAG-3 na limfocytach T CD8+ u chorych na raka jajnika związana jest z ograniczeniem zdolności wydzielania IFN- $\gamma$  oraz TNF przez te komórki [65].

W nowotworach nabłonkowych głowy i szyi (*head and neck squamous cell carcinoma* – HNSCC) powiązanych z wirusem brodawczaka ludzkiego (*human papilloma virus* – HPV), naciek limfocytami T PD-1+ może być związany z lepszym rokowaniem [66]. Związek choroby z wirusem HPV koreluje również z podwyższoną ekspresją mRNA dla PD-1 [67]. Obecność PD-1 odnotowuje się także na

limfocytach CD8+ i CD4+ w HNSCC niezwiązanym z infekcją wirusa HPV, zarówno we krwi, jak i w mikrośrodkowisku nowotworu [68].

Ekspresję PD-1 zaobserwowano na komórkach NK w nowotworach przewodu pokarmowego, w tym w płaskonabłonkowym raku przełyku, HCC, raku żołądka oraz raku dróg żółciowych. Dowiedziono, że sygnały przekazywane przez PD-1 prowadziły do indukcji apoptozy komórek NK. Wyższą ekspresję PD-1 odnotowywano u chorych o agresywnym przebiegu choroby oraz z przerzutami do węzłów chłonnych [69].

## EKSPRESJA PD-1 I JEJ ZNACZENIE W NOWOTWORACH HEMATOLOGICZNYCH

Ekspresja PD-1 w nowotworach hematologicznych jest przedmiotem wielu badań w ostatnich latach [70, 71, 72]. U chorych na chłoniaka rozlanego z dużych limfocytów B (*diffuse large B-cell lymphoma* – DLBCL) wykazano zwiększoną ekspresję PD-1 na limfocytach T CD4+ we krwi. W mikrośrodkowisku nowotworu ekspresję PD-1 odnotowano również na innych komórkach układu odpornościowego, w tym na makrofagach, komórkach NK i limfocytach T CD8+. Wśród chorych na DLBCL, u których występowała podwyższona ekspresja PD-1 na limfocytach T CD4+, czas przeżycia wolnego od zdarzeń (*event-free survival* – EFS) oraz OS był istotnie krótszy w porównaniu do chorych o niższej ekspresji tego białka [71].

Ekspresja PD-1 została odnotowywana również u chorych na klasycznego chłoniaka Hodgkina (*classical Hodgkin lymphoma* – cHL). Podwyższony poziom PD-1 w cHL opisano na TIL oraz na limfocytach T we krwi [70]. U chorych na ograniczoną postać cHL ekspresja PD-1 w mikrośrodkowisku nowotworu niekorzystnie wpływała na wartość OS oraz świadczyła o większym ryzyku nawrotu lub progresji choroby [73].

Ekspresję PD-1 zaobserwowano również u chorych na chłoniaka grudkowego (*follicular lymphoma* – FL). Wykazano wyższą ekspresję PD-1 na TIL w porównaniu do limfocytów T we krwi. Ekspresja PD-1 na TIL w FL jest związana z brakiem lub znacznym obniżeniem ich odpowiedzi na działanie cytokin, co wskazuje na wyczerpanie czynnościowe tych limfocytów. Określono, że zaburzona odpowiedź na cytokiny w FL jest charakterystyczna dla TIL PD-1<sup>high</sup>CD4+, w tym grudkowych pomocniczych limfocytów T (*follicular T helper cells* – Tfh) oraz limfocytów T CXCR5-ICOS+ [74]. Inne badania pozwoliły scharakteryzować dwie różne subpopulacje limfocytów T CD4+PD-1+ w obrębie nowotworu, w tym subpopulację umiejscowioną w guzach w węzłach chłonnych o wysokiej ekspresji PD-1 i posiadającą fenotyp Tfh oraz subpopulację w rejonach międzygrudkowych o niskiej ekspresji PD-1, o fenotypie wyczerpanych limfocytów oraz zaburzonym funkcjonowaniu [75]. Wyżej wymieniona populacja wyczerpanych limfocytów T wykazywała ekspresję PD-1 oraz innych markerów wyczerpania na swojej powierzchni, takich jak TIM-3 oraz LAG-3 [4, 74, 76]. Biorąc pod uwagę zróżnicowany poziom ekspresji PD-1 na różnych subpopulacjach limfocytów T u chorych na FL, jednoznaczne określenie wartości rokowniczej obecności PD-1 nie jest możliwe. Ekspresja PD-1, w zależności od subpopulacji limfocytów T, na której występuje, może wiązać się zarówno z korzystnym, jak i niekorzystnym rokowaniem dla chorego na FL [77, 78].

U chorych na przewlekłą białaczkę limfocytową (*chronic lymphocytic leukemia* – CLL) i chłoniaka z małych komórek (*small lymphocytic*

*lymphoma* – SLL) ekspresja PD-1 jest obserwowana na limfocytach T, ale również na komórkach białaczkowych [79, 80]. Dodatkowo, dowiedziono, że ekspresja PD-1 na komórkach białaczkowych u chorych na CLL była wyższa w porównaniu do grupy osób zdrowych zarówno na poziomie transkryptyu jak i w formie białka błonowego [26]. Jednakże nie potwierdzono znaczenia ekspresji PD-1 oraz PD-L1 w kontekście prognostycznym [26]. Wykazano, że szczególnie wysoką ekspresją PD-1 charakteryzowały się efektorowe limfocyty T pamięci CD8+ u chorych we wczesnym stadium zaawansowania choroby, u których nie stwierdzono obecności wirusa cytomegalii (*cytomegalovirus* – CMV) [81]. Wyższą ekspresję PD-1 u chorych na CLL zaobserwowano również na powierzchni limfocytów T CD4+ [82]. Dodatkowo u chorych na CLL o wyższych stopniach zaawansowania choroby (stopnia III i IV wg klasyfikacji Rai) odnotowywano wyższy odsetek limfocytów T CD4+PD-1+ niż u chorych na mniej zaawansowaną chorobę [83]. Badania Nunes i in. [72] wykazały, że odwrócona proporcja limfocytów CD4:CD8, oraz związany z tym wyższy odsetek komórek CD8+PD-1+, wiąże się z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, krótszym czasem do leczenia oraz krótszym czasem PFS. Odnotowany wzrost liczby komórek efektorowych CD57+CD28-CD27-, w połączeniu ze zwiększoną ekspresją PD-1 na limfocytach CD8+, wskazuje, że duża część komórek efektorowych jest wysoce zróżnicowana, a zatem ma niższy potencjał proliferacyjny, co może przyczyniać się do spadku zdolności tych komórek do efektywnej reakcji na infekcję lub utrzymywania pamięci immunologicznej przeciwko antygenom nowotworowym.

W przypadku ostrej białaczki szpikowej (*acute myeloid leukemia* – AML) ekspresję PD-1 obserwuje się na subpopulacjach limfocytów T, w tym na limfocytach T efektorowych CD4+, Treg CD4+ oraz limfocytach T CD8+, zarówno u chorych nieleczonych, jak i w nawrocie choroby [84]. Podwyższona ekspresja PD-1 na limfocytach T CD8+ może być jednym z czynników prowadzących do dysfunkcji tej grupy komórek odpornościowych oraz obniżenia odpowiedzi immunologicznej na postępujący przebieg AML [85].

## POLIMORFIZMY PD-1

Badania potwierdziły, że polimorfizmy w obrębie genu kodującego PD-1 są związane z wieloma typami nowotworów, w tym z rakiem przełyku, piersi, żołądka, okrężnicy oraz HCC [86–90]. Do najczęstszych polimorfizmów istotnych w chorobach nowotworowych należą funkcjonalne polimorfizmy pojedynczego nukleotydu (*single nucleotide polymorphism* – SNP) PD-1, w tym: PD-1.1 (rs36084323), PD-1.3 (rs11568821), PD-1.5 (rs2227981), PD-1.9 (rs2227982) i PD-1 rs7421861 [38].

Polimorfizm PD-1.1 znajduje się w regionie promotora genu (-606A/G, pozycja -538 od miejsca rozpoczęcia transkrypcji). Wykazano, że mutacje w regionie promotora genu mogą dotyczyć miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych (*transcription factor binding site* – TFBS) i ich motywów, jak również przerywania aktywacji genu i rozpoczęcia transkrypcji [91]. Dlatego też, gdy polimorfizm znajduje się w regionie promotorowym genu *PDCD-1*, może również wpływać na transkrypcję i aktywację genu *PD-1*, przyczyniając się do rozwoju choroby nowotworowej. Polimorfizm PD-1.1 (G/A) został określony jako czynnik ryzyka NSCLC i powiązany z rozwojem raka piersi [87, 92].

Polimorfizm PD-1.3 znajduje się w intronie 4 (+7146A/G) i polega na zmianie guaniny (G) na adeninę (A) w intronie PD-1, który został opisany jako wspomagający ze względu na obecność czterech powtórzeń tandemowych, zawierających wiele sekwencji wiążących czynniki transkrypcyjne [93, 94]. Ostatnie badania wykazały, że polimorfizm PD-1.3 jest regulatorowym SNP, którego obecność wiąże się z wyższą podatnością zachorowania na raka jelita grubego [38]. Polimorfizm ten może również zmieniać wiązanie czynnika transkrypcyjnego 1 (*runt-related transcription factor 1* – RUNX1) oraz modyfikować regulację transkrypcyjną genu *PDCD1* [95]. Ponadto, obecność allelu A w polimorfizmie PD-1.3 zmienia miejsce wiązania dla czynników transkrypcyjnych RUNX1 i powoduje zaburzenie hamującego działania PD-1, co prowadzi do wzmożonej aktywności limfocytów. Powyższe dane wskazują, że obecność allelu A w PD-1.3 może podwyższać zdolność do przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej i wiązać się z mniejszą tendencją do rozwoju choroby nowotworowej [96].

Polimorfizm PD-1.5 znajduje się w eksonie 5 (+7785C/T) i jest to polimorfizm synonimiczny. Istotny związek pomiędzy PD-1.5 a nowotworami polega prawdopodobnie na zmianie łączenia się PD-1.5 z innymi polimorfizmami PD-1, co może wpływać na poziom ekspresji PD-1. Badania wykazały że polimorfizm PD-1.5 może być związany z występowaniem chorób nowotworowych takich jak: NSCLC [97], rak szyjki macicy, rak piersi, rak okrężnicy czy rak żołądka [89, 96].

Polimorfizm PD-1.9 zlokalizowany jest w eksonie 5 (+7625 G/A) przez co odgrywa rolę w obróbce transkryptyu genu. Jest to niesynonimiczny SNP PD-1, powodujący substytucję aminokwasową waliny (V) na alaninę (A), która może prowadzić do strukturalnych i funkcjonalnych odmian PD-1 [96, 98]. Ostatnie badania wskazują na istotny związek pomiędzy polimorfizmem PD-1.9 (C/T) a występowaniem raka żołądka oraz podwyższonym ryzykiem wystąpienia raka przełyku u kobiet [99].

PD-1 rs7421861 SNP znajduje się w intronie 1, gdzie obecne są liczne domeny regulatorowe oraz czynniki kontrolujące splicing. Mutacja w tej sekwencji może spowodować przerwanie splicingu, wstrzymanie translacji lub nawet modyfikację drugorzędowej struktury mRNA. Zatem PD-1 rs7421861 SNP może skutkować nieprawidłowym splicingiem, co prowadzi do zatrzymania translacji. Wykazano jednakże, że PD-1 7421861 T > C nie wpływa na ryzyko wystąpienia raka piersi i raka przełyku [100]. Dodatkowo, dowiedziono brak związku między ryzykiem zachorowania na raka a PD-1.9 (rs2227982) lub PD-1 rs7421861 SNP w modelach genetycznych [96]. Badania uzupełniające wykazały związek między polimorfizmem PD-1 rs2227982 i obniżeniem ryzyka wystąpienia raka piersi, szczególnie u chorych z obecnością genu *HER-2* [96, 101]. Zaobserwowano również, że obecność polimorfizmu rs2227982 podwyższa ryzyko wystąpienia gruczolakoraka żołądka [100].

## EKSPRESJA PD-L1 I JEJ ZNACZENIE W NOWOTWORACH LITYCH

Ekspresję PD-L1 zaobserwowano na wielu komórkach nowotworowych. Sekrecja przeciwzapalnych cytokin i ekspresja negatywnych regulatorów układu immunologicznego pozwala na wytworzenie immunosupresyjnego mikrośrodowiska. Do

nowotworów, które mogą wykorzystywać mechanizm inhibicji szlaku PD-1/PD-L1 przez wysoką ekspresję glikoprotein PD-L1 zaliczamy głównie nowotwory lite, m.in. czerniaka, raka tarczycy, RCC, raka płuca, HNSCC, raka pęcherza moczowego, raka jajnika, HCC, raka kory nadnerczy czy też raka piersi [38, 102].

Ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych w większości przypadków wiąże się z gorszym rokowaniem oraz progresją nowotworu [5]. Koreluje to jednak z lepszą odpowiedzią chorych o wysokiej ekspresji PD-L1 na terapię przeciwciałami monoklonalnymi ukierunkowanymi na ten ligand. Ocena ekspresji PD-L1 może być wykorzystywana jako biomarker do przewidywania skuteczności terapii. Jakkolwiek ocena ta nie może być jedynym wyznacznikiem skuteczności leczenia przeciwciałami anty-PD-L1, gdyż korzystne skutki terapii zaobserwowano również u chorych, u których ekspresji PD-L1 nie wykazano, bądź była ona na niskim poziomie. Ocena ekspresji tego liganda musi być więc uzupełniona o dodatkowe biomarkery bądź badania histopatologiczne, takie jak ocena składu, ilości, oraz stopnia aktywności komórek nacieku zapalnego w mikrośrodkowisku nowotworu [39, 103]. Heterogeniczność nowotworu również może mieć duże znaczenie przy określaniu poziomu PD-L1. Próbki komórek pobrane podczas biopsji mogą być niewystarczające rozmiarowo do prawidłowego określenia ekspresji tej cząsteczki. Dodatkowo, PD-L1 jest dynamicznym markerem, który może być regulowany w różnym stopniu przez miejscowy stan zapalny oraz niektóre onkogenne mutacje. Co więcej, nowotwór jest w stanie unikać odpowiedzi immunologicznej ze strony limfocytów T nie tylko przez ekspresję PD-L1 na swojej powierzchni, ale także w swoim mikrośrodkowisku. Może mieć to wpływ na uzyskanie nieprawidłowego wyniku analizy opartej na próbce tkankowej pobranej metodą biopsji [104].

W przypadku raka piersi ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych koreluje z wyższym stopniem histologicznej złośliwości, przerzutowaniem do węzłów chłonnych oraz niższą wartością PFS. Ekspresja PD-L1 u chorych na ten nowotwór może być również związana z krótszym OS [105, 106, 107]. Porównując dane chorych na raka piersi z ekspresją PD-L1 z chorymi, u których nie odnotowano obecności tego ligandu, określono medianę 5-letniego DFS na odpowiednio 78,6% oraz 85,9%, a także medianę OS równą odpowiednio 88% oraz 91,5% [106]. Zgłaszane są jednak również wyniki badań, według których ekspresja PD-L1 koreluje z lepszym rokowaniem, co może być związane z wyższą liczbą TIL w otoczeniu nowotworu [108]. Wysoka ekspresja PD-L1 w RCC koreluje z bardziej agresywnym przebiegiem choroby, jak i czterokrotnie wyższym ryzykiem zgonu [109]. W badaniach na większej liczbie chorych opisano przeżycie 5-letnie związane z nowotworem u chorych na RCC, które wyniosło 41,9% w grupie o ekspresji PD-L1 oraz 82,9% wśród chorych, u których nie odnotowano tego białka na komórkach nowotworowych [110]. W czerniaku ekspresja PD-L1 nie ma określonej wartości prognostycznej. W tej chorobie obecność PD-L1 może być związana ze zwiększoną złośliwością nowotworu, prowadząc do rozrostu pierwotnych zmian nowotworowych [104]. Ocena znaczenia rokowniczego i prognostycznego PD-L1 u chorych na czerniaka jest niejednoznaczna. Massi i in. [111] wskazują na niekorzystny wpływ PD-L1 na OS, z kolei Gadiot i in. [112] wykazali brak wpływu ekspresji PD-L1 na tę wartość u chorych na czerniaka. Taube i in. [113] sugerują natomiast, iż ekspresja PD-L1 w tym nowotworze może być

związana z dłuższym czasem przeżycia chorego. Z kolei u chorych na raka jelita grubego wykazano, że ekspresja PD-L1 koreluje z bardziej agresywnym przebiegiem choroby. Dowiedzono również, że czas przeżycia jest krótszy w porównaniu z chorymi, u których ekspresji PD-L1 nie stwierdzono [114]. Ekspresja PD-L1 wpływała negatywnie na wartości OS oraz DFS chorych na raka jelita grubego, gdyż 5-letni OS przy obecności ligandu wynosił 76,7% oraz 93,2% przy braku PD-L1, z kolei w przypadku DFS było to odpowiednio 69,7% i 83,3% [115]. W przypadku HCC ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych związana jest z niekorzystnym rokowaniem oraz może stanowić marker do oceny ryzyka nawrotu choroby, które w przypadku ekspresji PD-L1 było niemal dwukrotnie wyższe [55, 116]. Obecność PD-L1 miała związek z medianą DFS chorych, gdyż w grupie z ekspresją tego białka wynosiła ona 14,9 miesięcy, z kolei w przypadku braku ekspresji mediana nie została osiągnięta. W grupie chorych na nierzdeniastego raka tarczycy ekspresja PD-L1 wiąże się z krótszym przeżyciem oraz współwystępowaniem zapalenia tarczycy, jak i zwiększonym ryzykiem nawrotu choroby [117]. U chorych na brodawkowatego raka tarczycy ekspresja PD-L1 korelowała ze znacznie obniżoną medianą DFS, która wynosiła 36 miesięcy, z kolei w przypadku braku ekspresji tego białka było to 186 miesięcy [118]. Wysoka ekspresja mRNA PD-L1 we krwi chorych na raka żołądka związana była z niekorzystnym rokowaniem, jego podwyższony poziom odnotowywano u chorych na zaawansowane stadia nowotworu [119]. Dodatkowo, ekspresja mRNA PD-L1 istotnie korelowała z głębokością naciekania nowotworu, przerzutowaniem do odległych narządów oraz stopniem zaawansowania nowotworu. U chorych z wysoką ekspresją określono niższe 5-letnie przeżycie, które wynosiło 50,0%, z kolei w przypadku niskiej ekspresji PD-L1 było to 84,1%. Inne badania [120] również określały wartość mediany OS u chorych na raka żołądka z ekspresją PD-L1 na komórkach nowotworowych, w grupie PD-L1+ wynosiła ona 28 miesięcy, natomiast w grupie PD-L1- było to 60 miesięcy. W odniesieniu do raka płuca wykazano związek pomiędzy ekspresją PD-L1 a niekorzystnym rokowaniem choroby. Sugeruje się, że niekorzystne rokowanie ekspresji PD-L1 dotyczy głównie NSCLC oraz rzadkiej postaci raka wielkomórkowego (*pulmonary lymphoepithelioma-like carcinoma* – LELC), natomiast w przypadku drobnomórkowego raka płuca (*small cell lung cancer* – SCLC) obecność tego ligandu może wiązać się z łagodniejszym przebiegiem choroby [121]. Co więcej, niekorzystny wpływ podwyższonej ekspresji PD-L1 na rokowanie chorych w przypadku nowotworów litych obserwuje się w nowotworach jajnika, pęcherza moczowego, przełyku czy trzustki [25, 39, 122].

## EKSPRESJA PD-L1 I JEJ ZNACZENIE W NOWOTWORACH HEMATOLOGICZNYCH

Podobnie jak w nowotworach litych, ekspresja PD-L1 w wielu nowotworach hematologicznych jest w większości związana z niesprzyjającym rokowaniem dla chorego oraz cięższym przebiegiem choroby [4].

W przypadku cHL powielenie fragmentu chromosomu 9p24.1 prowadzi do amplifikacji genów kodujących PD-L1 (*CD274*) oraz PD-L2 (*PDCD1LG2*) [123]. Obszar 9p24.1 zawiera również locus genu *JAK2*, odpowiadającego za kinazę janusową 2 (*Janus*

kinase 2 – JAK2). Znajduje się on 322kbp nad CD274. JAK2 bierze udział w ścieżce sygnałowej JAK/STAT, która wpływa na dalszą ekspresję genów kodujących PD-L1 oraz PD-L2 [124]. Znaczenie prognostyczne wysokiej ekspresji PD-L1 w cHL nie jest jeszcze dokładnie zdefiniowane, jednak u chorych, u których występuje amplifikacja fragmentu 9p24.1, powiązana z nadekspresją tego ligandu, obserwuje się znacznie obniżoną wartość PFS [125]. Zmiany w ekspresji genu kodującego PD-L1 zaobserwowano również w przypadku DLBCL, w którym ekspresję PD-L1 wykazano zarówno na komórkach nowotworowych, jak i komórkach zrębu naciekających obszar nowotworu [126]. Podwyższona ekspresja tego ligandu na komórkach DLBCL koreluje z niekorzystnym rokowaniem chorego, o czym świadczy niższa wartość OS w porównaniu do chorych, u których ekspresji PD-L1 nie odnotowano [127]. Zaburzoną ekspresję fragmentów genomu odpowiadających za PD-L1 opisano również w pierwotnym chłoniaku śródpiersia (*primary mediastinal large B-cell lymphoma* – PMBCL), pierwotnym chłoniaku jądra (*primary testicular lymphoma* – PTL), czy też chłoniaku pierwotnym układu nerwowego (*primary nervous system lymphoma* – PNSL) [128, 129]. Chociaż częstość występowania tych zaburzeń genetycznych w powyższych chorobach jest rzadsza w porównaniu do innych nowotworów hematologicznych, zmiany te również mogą wpływać na ucieczkę komórek nowotworowych spod nadzoru immunologicznego [130]. Wykazano, że ekspresja PD-L1 w takich nowotworach jak chłoniak NK/T-komórkowy (*natural killer/T-cell lymphoma* – NKTCL) czy cHL może być związana z zakażeniem wirusem Epsteina-Barr (*Epstein-Barr virus* – EBV) [131, 132]. Odnotowano pozytywną korelację ekspresji PD-L1 z poziomem białka latentnego typu 1 (*latent membrane protein 1* – LMP1), co wskazuje na regulację PD-L1 przez LMP1 w szlaku kinaz aktywowanych mitogenami/jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B.

W przypadku NKTCL jednoznaczne określenie wpływu podwyższonej ekspresji ligandu PD-L1 na rokowanie dla chorego nie jest możliwe. Niektóre badania [133] wykazywały brak wyraźnego wpływu obecności PD-L1 na komórkach chłoniaka na długość przeżycia chorych, inne z kolei [134, 135] sugerowały związek ekspresji ligandu z wyższą medianą OS, jednak bez istotnej korelacji z wiekiem chorych, ich stanem ogólnym, stadium zaawansowania choroby, rozmiarem guza, występowaniem przerzutów bądź nawrotów, rodzajem przyjmowanej terapii i odpowiedzią na nią itp. U chorych na pozawęzłowy typ NKTCL wartość 5-letniego OS określono na 71% w grupie o ekspresji PD-L1, w porównaniu do 30% w przypadku braku tego białka. Ekspresja PD-L1 korelowała również z dłuższym 5-letnim czasem PFS, który wynosił 30% przy obecności PD-L1, z kolei przy braku ekspresji tego liganda było to 13% [134].

U chorych na FL komórki nowotworowe nie wykazują ekspresji PD-L1 na swojej powierzchni, jednak obecność tego białka wykryto na histiocytach w otoczeniu grudek, co umożliwiła interakcję PD-1/PD-L1 w celu przekazania sygnałów hamujących i wyczerpania TIL [74, 136].

Ekspresję PD-L1 zaobserwowano w dużym stopniu na komórkach plazmatycznych chorych na szpiczaka plazmocytozowego (*multiple myeloma* – MM) oraz w niewielkim stopniu u chorych na gammopatię monoklonalną o nieokreślonym znaczeniu (*monoclonal gammopathy of undetermined significance* – MGUS). Ekspresja PD-L1 w MM oraz MGUS może być stymulowana przez działanie IFN- $\gamma$ . Wpływ

na ekspresję PD-L1 w komórkach MM miało również odbieranie sygnałów przez receptory TLR [42].

Co więcej, podwyższoną ekspresję PD-L1 stwierdzono również u chorych na CLL [26, 137]. W CLL ekspresję PD-L1 odnotowano na nowotworowych limfocytach B. Ponadto, inne badania sugerowały ekspresję PD-L1 w mikrośrodkowisku nowotworu. Poziom wykrywalnego PD-L1 był podobny w próbkach ze szpiku kostnego oraz z krwi [76, 137]. W większości badań ekspresja PD-L1 u chorych na CLL nie miała znaczącej wartości prognostycznej, jednak część analiz wskazuje na związek ekspresji PD-L1 z niesprzyjającym rokowaniem. Nadekspresję PD-L1, wraz ze zwiększoną ekspresją cząsteczek PD-1 oraz CD200, odnotowano w grupie chorych o niesprzyjającym rokowaniu, wśród których medianę przeżycia określono na 38 miesięcy, w porównaniu z chorymi o korzystnym rokowaniu, u których mediana przeżycia wynosiła ponad 10 lat [138]. Sugeruje się, iż ekspresja PD-L1 na komórkach CLL jest związana z zaburzoną funkcją synapsy immunologicznej [4, 76, 137, 138]. Większość badań sugeruje, że u nowo zdiagnozowanych chorych na AML zwykle nie obserwuje się ekspresji PD-L1 na blastach [139]. Do nadekspresji PD-L1 w AML dochodzi zwykle w trakcie terapii, po przeszczepie allogenicznym oraz przy nawrocie choroby. Czynniki pobudzającymi ekspresję PD-L1 w AML są cytokiny, szczególnie IFN- $\gamma$  [140, 141, 142]. Obecność PD-L1 na komórkach nowotworowych u chorych na AML związana była z szybszym nawrotem choroby, a pacjenci przyjmujący chemioterapię rzadziej osiągnęli całkowitą remisję oraz częściej wykazywali brak odpowiedzi na leczenie, jeżeli dochodziło u nich do ekspresji PD-L1 [139]. Dodatkowo, nadekspresję PD-L1 odnotowano u chorych na AML z niską ekspresją oraz mutacjami *TP53* – genu kodującego białko supresorowe nowotworów. Ekspresja PD-L1 w AML związana jest więc z niekorzystnymi mutacjami, które wpływają na mikrośrodkowisko nowotworu i mogą prowadzić do pogorszenia przebiegu klinicznego choroby [143].

Wśród badanych dorosłych chorych na chłoniaka/białaczkę z komórek T (*adult T-cell leukemia/lymphoma* – ATLL) u około 7% odnotowano obecność PD-L1 na komórkach nowotworowych, a u 59% do ekspresji PD-L1 dochodziło w mikrośrodkowisku nowotworu. Komórki zrębu wykazujące ekspresję PD-L1 charakteryzowały się zaokrąglonym jądrem komórkowym i obfitą cytoplazmą. Mogły być to komórki wywodzące się od monocytów, w tym makrofagi i komórki dendrytyczne. Biologiczne znaczenie ekspresji PD-L1 na tych komórkach w mikrośrodkowisku nowotworu nie jest jeszcze jednak w pełni określone. Wpływ ekspresji PD-L1 na rokowanie zależy od obecności ligandu na komórkach nowotworowych bądź w mikrośrodkowisku nowotworu. Wartość OS chorych, u których zaobserwowano ekspresję PD-L1 na komórkach nowotworowych, była istotnie niższa od OS chorych, u których nie odnotowano obecności tego ligandu na nowotworze. Mediany czasu przeżycia wynosiły odpowiednio 7,5 oraz 14,5 miesiąca. W grupie chorych, u których PD-L1 występowało jednak w mikrośrodkowisku nowotworu, wartość OS była wyższa od wartości OS u chorych, u których PD-L1 nie ulegało ekspresji, o czym świadczyły mediany czasu przeżycia odpowiednio 18,6 i 10,2 miesiąca. Sugeruje to, iż ekspresja PD-L1 może mieć zarówno negatywny, jak i pozytywny wpływ na przebieg ATLL [144].



**Tabela I. Przeciwciała monoklonalne obecnie zatwierdzone do terapii wybranych nowotworów na podstawie wyników badań klinicznych****Table I. Monoclonal antibodies currently approved for the treatment of selected cancers based on the results of clinical trials**

Przeciwciało	Wykorzystanie w terapii	Badanie, które doprowadziło do rejestracji	Faza badania	Data zatwierdzenia
<b>Przeciwciała anty-PD-1</b>				
Niwolumab	Czerniak	CheckMate-066 (NCT01721772), CheckMate-037 (NCT01721746)	III III	Czerwiec 2015 r.
	Płaskonabłonkowy NSCLC oraz niepłaskonabłonkowy NSCLC	CheckMate-057 (NCT01673867), CheckMate-017 (NCT01642004)	III III	Lipiec 2017 r.
	RCC	CheckMate-025 (NCT01668784)	III	Listopad 2015 r.
	HNSCC	CheckMate-141 (NCT02105636)	III	Listopad 2016 r.
	mUC	CheckMate-275 (NCT02387996)	II	
	cHL	CheckMate-205 (NCT02181738), CheckMate-039 (NCT01592370)	II II	Listopad 2016 r.
	Przerzutowy rak jelita grubego z potwierdzonym biomarkerem MSI-H lub dMMR	CheckMate-142 (NCT02060188)	II	Lipiec 2017 r.
	Rak wątroby	CheckMate-040 (NCT01658878)	I/II	Wrzesień 2017 r.
Pembrolizumab	Czerniak	KEYNOTE-001 (NCT01295827), KEYNOTE-002 (NCT01704287), KEYNOTE-006 (NCT01866319)	I III III	Sierpień 2014 r.
	NSCLC	KEYNOTE-001 (NCT01295827)	Ib	Październik 2015 r.
	HNSCC	KEYNOTE-012 (NCT01848834)	I	Sierpień 2016 r.
	UCC	KEYNOTE-045 (NCT02256436)	III	Maj 2017 r.
<b>Przeciwciała anty-PD-L1</b>				
Atezolizumab	Rak pęcherza moczowego	IMvigor210 (NCT02108652)	II	Maj 2016 r./kwiecień 2017 r.
	NSCLC	OAK (NCT02008227), POPLAR (NCT01903993)	III II	Październik 2016 r.
Durwalumab	mUC	1108 (NCT01693562)	I/II	Maj 2017 r.
	NSCLC	PACIFIC (NCT02125461)	III	Luty 2018 r.
Awelumab	Przerzutowy MCC	JAVELIN Merkel 200 (NCT0215564)	II	Marzec 2017 r.
	mUC	JAVELIN Solid Tumor (NCT01772004)	I	Maj 2017 r.

NSCLC (*non-small-cell lung carcinoma*) – niedrobnokomórkowy rak płuc, RCC (*renal cell carcinoma*) – rak nerkowokomórkowy, HNSCC (*head and neck squamous cell carcinoma*) – rak płaskonabłonkowy głowy i szyi, mUC (*metastatic urothelial carcinoma*) – przerzutowy rak urotelialny, cHL (*classical Hodgkin lymphoma*) – klasyczny chłoniak Hodgkina, MSI-H (*microsatellite instability-high*) – wysoka niestabilność mikrosatelitarna, dMMR (*mismatch repair deficient*) – niezgodność deficytu naprawczego, UCC (*urothelial carcinoma*) – rak urotelialny, MCC (*Merkel-cell carcinoma*) – rak z komórek Merkla

## ZNACZENIE PROGNOZTYCZNE STĘŻENIA SPD-L1

W przypadku nowotworów, wysokie stężenie SPD-L1 koreluje często z niesprzyjającym rokowaniem oraz podwyższonym ryzykiem zgonu chorego, np. u chorych na agresywną postać DLBCL szacowany 3-letni OS w grupie z wysokim poziomem sPD-L1 wynosił 76% w porównaniu do 89% wśród pacjentów charakteryzujących się niskim stężeniem tego ligandu. Natomiast w RCC podwyższony poziom SPD-L1 związany był z większą masą guza, wyższym stopniem zaawansowania choroby, a dwukrotnie wyższy poziom SPD-L1 powiązany ze wzrostem ryzyka zgonu o 41% [145, 146]. Z kolei w grupie chorych na HCC poziom SPD-L1 korelował ze stopniem zaawansowania marskości wątroby i samej choroby

nowotworowej, a także z wyższym ryzykiem zgonu w porównaniu do grupy o niskim stężeniu SPD-L1. Niskie poziomy SPD-L1 powiązano z kolei z lepszym rokowaniem chorego [147].

## BŁOKOWANIE SZLAKU PD-1/PD-L1/PD-L2

Szlak PD-1/PD-L1/PD-L2 może ulegać inhibicji przez blokowanie receptora PD-1 bądź jego ligandów. Blokowanie samej cząsteczki PD-1 uniemożliwia jego interakcję z PD-L1 jak i PD-L2, co wiąże się z najbardziej skuteczną aktywacją odpowiedzi immunologicznej (Ryc. 1B). Natomiast blokada PD-L1 ma wpływ jedynie na oś PD-1/PD-L1, jednak ze względu na powszechną ekspresję tego ligandu aktywacja odpowiedzi immunologicznej jest znacząca. Z uwagi na ograniczoną ekspresję ligandu PD-L2, nie jest on przedmiotem

terapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych [148]. Zatem w działaniu ukierunkowanym na szlak PD-1/PD-L1 używa się zarówno przeciwciał anty-PD-1, jak i anty-PD-L1 [39].

## PRZECIWCIAŁA ANTY-PD-1

### NIWOLUMAB

Niwolumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG4 skierowanym przeciwko PD-1, które blokuje jego oddziaływanie z PD-L1 i PD-L2, zapobiegając hamowaniu odpowiedzi immunologicznej. Przeciwciało zostało zatwierdzone przez Agencję ds. Żywności i Leków (*Food and Drug Administration – FDA*) w monoterapii czerniaka, początkowo w nieresekcyjnym lub przerzutowym, a następnie w leczeniu uzupełniającym chorych z zajęciem węzłów chłonnych lub w chorobie przerzutowej po wcześniejszej całkowitej resekcji. Niwolumab wykorzystywany jest również w terapii zaawansowanego płaskonabłonkowego oraz niepłaskonabłonkowego NSCLC, RCC, HNSCC, przerzutowego raka urotelialnego pęcherza moczowego, cHL, HCC oraz przerzutowego raka jelita grubego z niestabilnością mikrosatelitarną (*microsatellite instability-high – MSI-H*) lub upośledzeniem procesu naprawy niesparowanych zasad (*mismatch repair deficiency – dMMR*). Niwolumab do terapii czerniaka został zatwierdzony na bazie danych pochodzących z dwóch badań klinicznych III fazy – CheckMate-066 (NCT01721772) oraz CheckMate-037 (NCT01721746).

Badanie CheckMate-066 to randomizowane badanie kliniczne fazy III, mające na celu porównanie niwolumabu ( $n = 210$ ) z chemioterapią dakarbazyną ( $n = 208$ ) nieleczonych wcześniej chorych na zaawansowanego czerniaka (Tab. I). Badanie wykazało 73% roczne przeżycie po terapii niwolumabem w porównaniu do 42% u chorych leczonych dakarbazyną. Zaobserwowano również 58% obniżenie ryzyka zgonu wśród pacjentów przyjmujących to przeciwciało. Odsetek obiektywnych odpowiedzi (*objective response rate – ORR*) był wyższy w ramieniu niwolumabu niż wśród pacjentów przyjmujących dakarbazynę (odpowiednio: 40% i 14%). Bezpieczeństwo oceniano u wszystkich pacjentów leczonych obydwojema analizowanymi terapeutykami. Rzadziej wstrzymywano terapię wśród chorych leczonych niwolumabem niż w ramieniu dakarbazyny (odpowiednio: 6,8% i 11,7%). Wśród chorych przyjmujących badane przeciwciało zanotowano również mniej działań niepożądanych stopnia 3-4. związanych z leczeniem (11,7% vs. 17,6%). W żadnej grupie chorych nie stwierdzono zgonów związanych z toksycznością leczenia [149, 150].

Badanie CheckMate-037 to otwarte, kontrolowane badanie fazy III porównujące terapię niwolumabem ( $n=272$ ) z chemioterapią wybraną przez badacza ( $n = 133$ ) – monoterapią dakarbazyną lub schematem dwulekowym: karboplatiną z paklitakselem (Tab. I). W próbie brali udział chorzy na zaawansowanego czerniaka, którzy wcześniej byli leczeni ipilimumabem oraz, jeżeli wystąpiła mutacja, inhibitorem *BRAF*. Głównymi punktami końcowymi były wartości ORR oraz OS. Współczynnik ORR po niwolumabie wynosił 32%, zaś w przypadku chemioterapii – 11%. Na niwolumab odpowiedzieli zarówno chorzy z obecną mutacją w *BRAF*, jak i bez mutacji oraz niezależnie od poziomu ekspresji PD-L1. Bezpieczeństwo terapii zostało potwierdzone u wszystkich chorych. Działania niepożądane

3-4. stopnia związane z leczeniem były rzadsze przy stosowaniu niwolumabu (9% w porównaniu z 31% pacjentów stosujących chemioterapię). Przerwanie leczenia z powodu działania dowolnego stopnia związanego z lekami odnotowano u 3% chorych leczonych niwolumabem i 7% przyjmujących chemioterapię. Nie odnotowano zgonów związanych z toksycznością leków stosowanych w badaniu [151].

Niwolumab był również przedmiotem badań I fazy w terapii skojarzonej z IFN- $\beta$  chorych na zaawansowanego czerniaka. Jego skuteczność jest wyższa niż innych leków stosowanych w leczeniu czerniaka, dlatego terapie skojarzone z użyciem niwolumabu nasilają odpowiedź przeciwnowotworową u chorych na przerzutową postać tego nowotworu. Jak uprzednio doniesiono, *in vivo* IFN- $\beta$  nasila odpowiedź przeciwnowotworową przeciwciał anty-PD-1 przeciwko linii czerniaka B16F10 [152]. W celu zbadania połączenia IFN- $\beta$  z niwolumabem w leczeniu chorych na czerniaka, przeprowadzono badanie I fazy, w którym niwolumab podawano w dawce 2 mg/kg m.c. co 3 tygodnie, a IFN- $\beta$  był podawany w ilości 1, 2 lub 3 mln jednostek. Chorzy, którzy otrzymali analizowany schemat, nie zgłaszali działań niepożądanych. Wszyscy badani ukończyli tę fazę leczenia i kontynuowali terapię do 6 miesięcy po zakończeniu próby. Odnotowano dwie odpowiedzi całkowite (22%) i jedną częściową (11%), z czego wszystkie u chorych przyjmujących IFN- $\beta$  bezpośrednio na miesiąc przed badaniem. W badaniu tym ustalono bezpieczną dawkę IFN- $\beta$  w połączeniu z niwolumabem równą 3 milionom jednostek [153]. W celu określenia skuteczności tej skojarzonej terapii konieczne są dalsze badania fazy II. Na podstawie wyników badań III fazy CheckMate-017 (NCT01642004) oraz CheckMate-057 (NCT01673867) doszło do rejestracji niwolumabu w terapii zaawansowanego płaskonabłonkowego NSCLC oraz niepłaskonabłonkowego NSCLC (Tab. I) [154, 155]. Jego skuteczność była porównywana z docetakselem u chorych na płaskonabłonkowego i niepłaskonabłonkowego raka płuca (stopnia IIIB/IV).

W badaniu CheckMate-057 wykazano wydłużenie OS oraz obniżenie ryzyka zgonu o 27% u przeleczonych chorych na przerzutowego, niepłaskonabłonkowego NSCLC. Pacjenci, u których zastosowano immunoterapię opartą na niwolumabie, osiągnęli medianę OS równą 12,2 miesiąca w porównaniu do 9,4 miesiąca u chorych, którym podawano docetaksel (Tab. I). Niwolumab nie prowadził jednak do poprawy długości PFS i OS w pierwszej linii leczenia. Działania niepożądane stopnia 3-4 były istotnie rzadsze w porównaniu z grupą otrzymującą chemioterapię [154]. Aktualnie trwa badanie CheckMate-227 (NCT02041533), które ma na celu ocenę skuteczności połączenia niwolumabu i ipilimumabu u chorych wcześniej nieleczonych [156].

Pozarejestracyjnym wskazaniem do monoterapii niwolumabem jest zaawansowany RCC po wcześniejszym leczeniu. Niwolumab jest pierwszym i, na chwilę obecną, jedynym inhibitorem PD-1 zaakceptowanym w 28 państwach Unii Europejskiej, wykazującym korzyść terapeutyczną u dorosłych chorych na zaawansowaną postać RCC poddanych wcześniejszemu leczeniu. Rekomendacja ta opiera się na wynikach badania fazy III CheckMate-025 (NCT01668784), podczas którego porównywano skuteczność niwolumabu z ewerolimusem w leczeniu zaawansowanego RCC, po wcześniejszym zastosowaniu leczenia antyangiogenego (Tab. I).

W badaniu wykazano przewagę niwolumabu nad ewerolimusem pod względem wartości mediany OS równej odpowiednio 25 i 19,6 miesięcy [101].

Niwolumab został zarejestrowany również w monoterapii chorych na HNSCC. Rejestracji dokonano na podstawie wyników randomizowanego, otwartego badania klinicznego fazy III – CheckMate-141 (NCT02105636; Tab. I). W badaniu wzięło udział 240 chorych leczonych niwolumabem oraz 121 chorych poddanych klasycznej chemioterapii. W porównaniu ze standardowym leczeniem, niwolumab istotnie wydłużył przeżycie chorych: mediana OS wynosiła 7,5 miesiąca w grupie chorych otrzymujących niwolumab i 5,1 miesiąca w ramieniu chemioterapii. Roczne przeżycie zanotowano u 36% chorych leczonych niwolumabem w porównaniu do 17% leczonych chemioterapią [102].

Stosowanie niwolumabu w leczeniu miejscowo zaawansowanego, nieoperacyjnego lub przerzutowego raka urotelialnego u chorych po niepowodzeniu chemioterapii na bazie platyny sprawdzane jest w badaniu CheckMate-275 (NCT02387996; Tab. I). Jest to otwarte, wielośrodkowe, jednoramienne badanie II fazy, w którym wykazano wartość ORR na poziomie 19,6%. U 7 chorych obserwowano całkowitą odpowiedź na leczenie, a u 46 chorych – odpowiedź częściową [160].

Niwolumab może być stosowany również w leczeniu chorych na cHL, u których doszło do nawrotu choroby lub jej progresji po autologicznym przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych (*hematopoietic stem cell transplantation* – HSCT) oraz potransplantacyjnym zastosowaniu preparatu brentuksymab wedotin. Trwają badania kliniczne II fazy CheckMate-205 (NCT02181738) oraz CheckMate-039 (NCT01592370), w których sprawdzany jest profil skuteczności tego przeciwciała (Tab. I). Pierwszorzędowym punktem końcowym oceny skuteczności tych badań było bezpieczeństwo analizowanego preparatu oraz ORR. Za drugorzędowy punkt końcowy objęto czas trwania odpowiedzi (*duration of response* – DOR). Wskaźnik ORR po terapii wynosił 65%, zaobserwowano 58% odpowiedzi częściowych oraz 7% odpowiedzi całkowitych. Mediana czasu odpowiedzi wyniosła 2,1 miesiąca, natomiast mediana DOR 8,7 miesiąca [161, 162]. Skuteczność terapii niwolumabem analizowana jest również w leczeniu dorosłych oraz pediatrycznych chorych (powyżej 12. r.ż.) na przerzutowego raka jelita grubego z obecnością biomarkera *MSI-H* lub *dMMR* i progresją choroby po leczeniu fluoropirymidyną, oksaliplatyną i irynotekaniem w badaniu II fazy CA209-142 (CheckMate-142, NCT02060188; Tab. I). Do próby kwalifikowano pacjentów, u których doszło do progresji choroby podczas chemioterapii lub po jej zakończeniu, lub nietolerujących wcześniejszego leczenia opartego na fluoropirymidynach, oksaliplatynie i irynotekanie. Otrzymywali oni niwolumab w dawce 3mg/kg m.c., co 2 tygodnie do czasu progresji choroby, zgonu, niedopuszczalnego działania toksycznego lub wycofania się z badania. Pierwszorzędowym punktem oceny końcowej była wartość ORR. Przy medianie czasu obserwacji wynoszącej 12 miesięcy zanotowano 31,3% ORR (n = 23). U 8 chorych obserwowano odpowiedzi trwające 12 miesięcy lub dłużej [163].

Niwolumab ma również akceptowalny profil toksyczności w terapii raka wątroby, co potwierdzają wyniki badania CheckMate-040 (NCT01658878), przeprowadzonego na 154-osobowej grupie

chorych na raka wątroby i marskość wątroby typu A wg Childa-Pugha, wcześniej leczonych sorafenibem (Tab. I). Badani otrzymywali niwolumab w dawce 3 mg/kg m.c., co 2 tygodnie. Łącznie 22 chorych (14,3%) odpowiedziało na leczenie niwolumabem – w grupie tej odnotowano 3 odpowiedzi całkowite (1,9%) i 19 częściowych (12,3%). Mediana czasu odpowiedzi wynosiła 2,8 miesiąca [164].

Ze względu na wysoką skuteczność immunoterapii w leczeniu nowotworów, prowadzonych jest obecnie wiele badań klinicznych fazy I, II i III z użyciem niwolumabu. Wśród nowotworów, które są przedmiotem badań klinicznych, można wymienić m.in. czerniaka w stopniu zaawansowania IIIB/C/D lub IV po całkowitej resekcji, NSCLC, raka płaskonabłonkowego przełyku, raka żołądka lub połączenia żołądkowo-przełykowego, raka przełyku, nieoperacyjnego międzybłoniaka opłucnej, czy też wielopostaciowego glejaka [165, 166, 167].

### PEMBROLIZUMAB

Pembrolizumab, znany również pod nazwą MK-3475, to humanizowane przeciwciało monoklonalne klasy IgG4, które wiąże się z PD-1, blokując jego interakcję z ligandami PD-L1 oraz PD-L2. Przeciwciało to zatwierdzone jest obecnie przez FDA w terapii guzów z obecnością biomarkera *MSI-H* lub *dMMR*, czerniaka, NSCLC, HNSCC, raka urotelialnego, HL oraz pierwotnego chłoniaka śródpiersia.

W czerniaku pembrolizumab został zarejestrowany na podstawie wyników trzech badań klinicznych: KEYNOTE-001 (NCT01295827), KEYNOTE-002 (NCT01704287) oraz KEYNOTE-006 (NCT01866319) (Tab. I). Badania te miały na celu ocenę skuteczności i bezpieczeństwa leczenia pembrolizumabem chorych na zaawansowanego czerniaka w różnych stanach klinicznych (w zależności od wcześniejszej terapii, czynników prognostycznych, postaci nowotworu oraz obecności mutacji *BRAF*).

W próbie KEYNOTE-006 wykazano istotną przewagę pembrolizumabu nad ipilimumabem pod względem wartości PFS, OS oraz ORR, a także niższą częstość występowania ciężkich zdarzeń niepożądanych w terapii chorych na czerniaka (Tab. I). W dniu 24 marca 2015 r. ogłoszono przedterminowo zakończone badanie KEYNOTE-006 celem przyspieszonej jego rejestracji z powodu wysokiej skuteczności preparatu. Odsetek rocznego przeżycia po pembrolizumabie wynosił 74% wśród chorych przyjmujących lek co dwa tygodnie oraz 68% w grupie przyjmującej lek co 3 tygodnie. W przypadku ipilimumabu odsetek ten wyniósł 58% [168, 169, 170]. Ponadto, zaobserwowano niższy odsetek działań niepożądanych 3-5 stopnia w grupach leczonych pembrolizumabem [171]. Pembrolizumab jest zarejestrowany również w terapii chorych na przerzutowego NSCLC z ekspresją PD-L1 i progresją choroby w trakcie lub po chemioterapii. Decyzja oparta została na wynikach wielośrodkowego, otwartego badania KEYNOTE-021, w którym osiągnięto trwały ORR i akceptowalny profil toksyczności na grupie 550 chorych na przerzutowego NSCLC. W grupie badanej było 61 pacjentów z guzami o silnej ekspresji PD-L1, a osiągnięta wartość ORR była równa 41% (n = 25). Spośród 25 chorych odpowiadających na terapię, u 21 (84%) nie odnotowano postępu choroby, a u 11 chorych odpowiedź utrzymywała się minimum 6 miesięcy [172]. Zatwierdzenie pembrolizumabu w leczeniu nawrotowego lub

przerzutowego HNSCC odbyło się na podstawie wyników badania KEYNOTE-012 (NCT01848834; Tab. I). Do badania włączono 174 uprzednio leczonych chorych na nowotwory głowy lub szyi, którym podawano pembrolizumab. W badaniu osiągnięto trwały wskaźnik ORR równy 16%, a odpowiedzi na leczenie utrzymywały się przez 2,4–27,7 miesięcy. Wśród 28 chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie, u 23 (82%) odpowiedzi trwały 6 miesięcy lub dłużej [173]. Rejestracja przez FDA pembrolizumabu w leczeniu chorych na miejscowo zaawansowanego lub przerzutowego UC, u których doszło do progresji choroby w trakcie trwania leczenia bądź po zakończeniu terapii opartej o platynę lub w ciągu 12 miesięcy od leczenia neoadiuwantowego lub adiuwantowej chemioterapii zawierającej platynę, nastąpiła w oparciu o wyniki badania KEYNOTE-045 (NCT02256436; Tab. I). Chorzy zostali podzieleni na dwie grupy, z których pierwsza przyjmowała chemioterapię, a druga otrzymywała pembrolizumab. W badaniu wykazano statystycznie istotną poprawę współczynników OS i ORR w ramieniu pembrolizumabu w porównaniu z chorymi przyjmującymi chemioterapię. Mediana OS w grupie leczonej pembrolizumabem wyniosła 10,3 miesiąca, natomiast po chemioterapii – 7,4 miesiąca. Wartość ORR wynosiła odpowiednio 21% i 11%. Nie zaobserwowano istotnej różnicy w PFS między analizowanymi grupami [174].

Ponadto, FDA w oparciu o wyniki badania KEYNOTE-087 (NCT02453594) zatwierdziła pembrolizumab do terapii chorych na opornego cHL, u których wystąpił nawrót po minimum trzech wcześniejszych liniach leczenia. To przyspieszone zatwierdzenie zostało uzasadnione wysokimi wskaźnikami odpowiedzi na terapię i jej trwałością. W przytaczanej próbie osiągnięto ORR na poziomie 69%, uzyskano w tym 47% odpowiedzi częściowych oraz 22% całkowitych. Mediana DOR wyniosła 11,1 miesiąca [175].

Terapia pembrolizumabem jest również przedmiotem badań w opornym i nawrotowym szpiczaku plazmocytowym (*relapsed/refractory multiple myeloma* – RRMM). Jako że PD-1 oraz PD-L1 ułatwiają komórkom nowotworowym ucieczkę spod kontroli układu immunologicznego, założono, że pembrolizumab może nasilać odpowiedź komórkową przeciwko komórkom szpiczakowym wywołaną przez pomalidomid, prowadząc do poprawy odpowiedzi na leczenie. W II fazie badania klinicznego 1454GCC (NCT02289222) pembrolizumab otrzymało 48 chorych na RRMM po medianie 3 wcześniejszych linii terapii (zakres: 2-5) i o medianie wieku wynoszącej 64 lata (zakres: 35-83). Pacjenci otrzymywali zarówno leki immunomodulujące (*immunomodulatory drugs* – IMiD), jak i inhibitor proteasomu. Zdarzenia niepożądane 3-4. stopnia wystąpiły u 19 (40%) z 48 chorych – były to głównie toksyczności hematologiczne (19 chorych), hiperglikemia (12 chorych) oraz zapalenie płuc (7 chorych). Ogólne odpowiedzi (*overall response* – OR) wystąpiły u 29 z 48 chorych (60%), w tym u 4 (8%) odpowiedzi całkowite. Mediana DOR była równa 14,7 miesiąca. W analizie próbek szpiku pobranych przed rozpoczęciem leczenia zidentyfikowano tendencję do podwyższonej ekspresji PD-L1 i większego nacieczenia limfocytami T u chorych odpowiadających, co wiązało się z dłuższym PFS niezależnie od ekspresji PD-1. Pembrolizumab, pomalidomid i deksametazon w małej dawce mają akceptowalne bezpieczeństwo i pozwalają na osiągnięcie trwałych odpowiedzi u chorych na RRMM. Terapia skojarzona z wykorzystaniem przeciwciał skierowanych

przeciwko szlakowi PD-1/PD-L1 oraz IMiD stanowi nowe podejście terapeutyczne dla chorych na RRMM [176] (Tab. I).

## PRZECIWCIAŁA ANTY-PD-L1

### ATEZOLIZUMAB

Atezolizumab, MPDL3280A, to humanizowane przeciwciało monoklonalne klasy IgG1 hamujące wiązanie PD-L1 do cząsteczki PD-1, przywracając antynowotworową odpowiedź komórek T [177]. Przeciwciało to posiada mutację punktową w domenie Fc, dzięki czemu nie indukuje cytotoksyczności ADCC, jak i cytotoksyczności zależnej od dopełniacza. Atezolizumab jest obecnie zatwierdzony przez FDA w terapii raka pęcherza moczowego oraz NSCLC. Wciąż trwają badania kliniczne ukierunkowane na pozostałe nowotwory. Grupa 1. badania klinicznego fazy II IMvigor210 (NCT02108652) obejmowała chorych na miejscowo zaawansowanego lub przerzutowego raka urotelialnego wcześniej nieleczonych, którzy nie kwalifikowali się do chemioterapii z wykorzystaniem cisplatyny (Tab. I). Tych 119 pacjentów otrzymywało co 3 tygodnie atezolizumab w dawce 1200 mg. Punktem końcowym badania była wartość ORR, która dla mediany okresu obserwacji wynoszącej 17,2 miesiący była równa 23%, w tym do całkowitej odpowiedzi doszło u 9% chorych. Medianę PFS określono na 2,7 miesiąca, a medianę OS – 15,9 miesiący. Działania niepożądane 3-4. stopnia odnotowano u 19 chorych (16%), przy czym najczęściej występujące było zmęczenie (3,4%, n = 4), podwyższony poziom aminotransferazy alaninowej (3,4%, n = 4) oraz aminotransferazy asparaginianowej (2,5%, n = 3). Tylko jedno z czterech zgłoszonych działań niepożądanych 5. stopnia zostało uznane przez badaczy za związane z terapią – była to sepsa o niezidentyfikowanym źródle infekcji. Działania niepożądane o podłożu immunologicznym zgłosiło 14 chorych podejmujących się terapii (12%), przy czym stopnia 3. lub wyższego – 8 pacjentów (7%). Nie odnotowano w tej grupie istotnego wpływu ekspresji PD-L1 na intensywność odpowiedzi na terapię [178].

W 2. grupie badania IMvigor210 atezolizumab podawano chorym na miejscowo zaawansowanego bądź przerzutowego raka pęcherza moczowego, będącym po wcześniej chemioterapii z użyciem związków opartych na platynie (Tab. I). W próbie 310 chorych otrzymywało atezolizumab dożylnie w dawce 1200 mg co 3 tygodnie. Pierwszorzędownym punktem końcowym tego badania był ORR, który wynosił ponad 15%, przy czym do całkowitej odpowiedzi na leczenie doszło u 15 (5%) z 310 chorych. Mediana OS wyniosła 7,9 miesiąca. Działania niepożądane 3-4. stopnia powiązane z terapią, wśród których najczęstszym było zmęczenie, zaobserwowano u 16% chorych. Z kolei toksyczności 3-4. stopnia o podłożu immunologicznym odnotowano u 5% chorych poddanych terapii, z najczęściej występującym zapaleniem płuc. W próbie udowodniono długotrwałą skuteczność i dobrą tolerancję atezolizumabu w tej populacji chorych. Podwyższony poziom PD-L1 na komórkach odpornościowych był związany z lepszą odpowiedzią na leczenie, jednak ekspresja tego liganda na komórkach nowotworowych nie miała związku z wartością ORR [179, 180]. Atezolizumab uzyskał przyspieszoną rejestrację jako przełomowa terapia raka pęcherza moczowego [181]. Obecnie kontynuowane są badania nad skutecznością tego przeciwciała w raku pęcherza moczowego w próbach fazy III

IMvigor130 (NCT02807636) oraz IMvigor211 (NCT02302807) [178]. Atezolizumab jest obecnie jedynym przeciwciałem anti-PD-L1 zatwierdzonym w leczeniu chorych na NSCLC. Przeciwciałem to uzyskało rejestrację przez FDA do terapii tego nowotworu w oparciu o wyniki dwóch prób klinicznych – OAK (NCT02008227) oraz POPLAR (NCT01903993) (Tabela I) [182, 183, 184].

Badanie OAK to randomizowane badanie kliniczne III fazy porównujące skuteczność atezolizumabu i docetakselu w leczeniu chorych na NSCLC w stadium IIIB/IV, którzy wcześniej poddawani byli chemioterapii (Tab. I). Do próby włączono 1225 chorych w celu umożliwienia dokładniejszego porównania OS u chorych z podwyższoną ekspresją PD-L1, jednak pierwotną analizę przeprowadzono na grupie 850 pacjentów, których przydzielono w stosunku 1:1 do grup otrzymujących atezolizumab bądź docetaksel – po 425 do każdej grupy. Punktami końcowymi było określenie OS w populacji *intention-to-treat* (ITT) oraz w populacji wykazującej ekspresję PD-L1. Współczynnik OS wśród pacjentów o wysokim poziomie PD-L1 uległ poprawie w ramieniu atezolizumabu ( $n = 241$ ) w porównaniu z docetakselem ( $n = 222$ ) – mediana OS wynosiła odpowiednio 15,7 i 10,3 miesiące. Chorzy, u których stwierdzono niski poziom PD-L1 bądź brak ekspresji tego ligandu, również wykazywali poprawę OS w wyniku terapii atezolizumabem, jednak najwyższa wartość OS odnotowana została w grupie z istotnie podwyższoną ekspresją tego ligandu. Również w populacji ITT wartość OS uległa poprawie w wyniku terapii atezolizumabem w porównaniu do docetakselu – mediana OS wynosiła odpowiednio 13,8 i 9,6 miesiące. Jednak czas PFS w populacji ITT był podobny dla obu analizowanych leków: mediana PFS w przypadku atezolizumabu wynosiła 2,8 miesiąca w porównaniu do 4,0 miesiące po docetakselu. Nie zaobserwowano również różnic w OR w populacji ITT w zależności od przyjmowanego leku, jednak mediana czasu trwania odpowiedzi na leczenie była istotnie wyższa w grupie przyjmującej analizowane przeciwciałem – 16,3 miesiąca w grupie atezolizumabu i 6,2 miesiąca po docetakselu. Wskaźnik OR w grupie przyjmującej atezolizumab wynosił 14% dla populacji ITT i 18% dla populacji PD-L1, z kolei docetaksel dawał odpowiednio 13% i 16% OR. Bezpieczeństwo terapii zostało określone w oparciu o analizę danych większej grupy chorych. Działania niepożądane 3-4. stopnia związane z terapią występowały rzadziej w przypadku chorych przyjmujących atezolizumab – 15% (90 z 609 chorych) vs. 43% (247 z 578 chorych) [183].

W randomizowanym badaniu klinicznym II fazy POPLAR atezolizumab podawano chorym na NSCLC z progresją choroby po chemioterapii (Tab. I). Była to próba porównująca skuteczność terapii przeciwciałem i docetakselem. Zakwalifikowano do niej 287 chorych, których zrandomizowano do dwóch grup: 144 pacjentów przypisanych zostało do grupy przyjmującej 1200 mg atezolizumabu, a 143 do ramienia docetakselu w dawce 75 mg/m<sup>2</sup>. Pierwszorzędownym punktem końcowym badań było OS, którego mediana wynosiła 12,6 miesiące w grupie przyjmującej atezolizumab w porównaniu do 9,7 miesiące w ramieniu docetakselu. Czas PFS w obydwu ramionach był podobny, wynosił odpowiednio 2,7 i 3 miesiące. Po atezolizumabie uzyskano trwałe OR o medianie 14,3 miesiące, z kolei w grupie docetakselu – 7,2 miesiąca. U 12 z 21 chorych przyjmujących przeciwciałem anti-PD-L1, którzy odpowiedzieli na leczenie, obserwowano długotrwałą

reakcją, podczas gdy w grupie docetakselu trwała odpowiedź odnotowano u 5 z 21. Wśród leczonych atezolizumabem wartość OS wzrastała razem z poziomem ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworowych oraz TIL. Pacjenci charakteryzujący się wysoką ekspresją genu kodującego PD-L1 czy pozostałych elementów szlaku PD-1/ PD-L1, osiągnęli wysokie OS. Zaobserwowano również dodatnią zależność między wysokim odsetkiem OS a podwyższoną ekspresją genów związanych z IFN- $\gamma$  oraz efektorowymi limfocytami T wśród pacjentów leczonych atezolizumabem. Dane te wskazują, iż ekspresja PD-L1 może mieć wysoką wartość predykcyjną w ocenie skuteczności terapii atezolizumabem chorych na NSCLC. Działania niepożądane 3-4. stopnia zaobserwowano u 11% chorych ( $n = 16$ ) przyjmujących atezolizumab i 39% ( $n = 52$ ) leczonych docetakselem. Wśród zdarzeń 3. stopnia związanych z atezolizumabem, do najczęściej występujących należało zapalenie płuc (2%) oraz podwyższony poziom aminotransferazy asparaginianowej (2%). Nie odnotowano działań 4. stopnia po terapii przeciwciałem anti-PD-L1. W ramieniu atezolizumabu wśród działań niepożądanych 5. stopnia zaobserwowano pojedyncze przypadki niewydolności serca, zapalenia płuc, krwawiących wrzodów, odmy opłucnowej, zatoru tętnicy płucnej oraz zatorowości. W grupie przyjmującej docetaksel wśród działań niepożądanych 5. stopnia odnotowano dwa zgony z nieznanymi przyczynami (jeden związany z leczeniem), dwa przypadki sepsy, przy czym jeden związany był z terapią, oraz zespół ostrej niewydolności oddechowej u 1 pacjenta [180, 184].

Obecnie prowadzonych jest szereg badań klinicznych fazy I, II i III nad atezolizumabem zarówno w leczeniu nowotworów litych, tj.: NSCLC, SCLC, RCC, HNSCC, raka pęcherza moczowego, raka jelita grubego, czerniaka, raka jajnika, raka piersi; jak i hematologicznych nowotworów: DLBCL, FL, cHL, MM oraz CLL. Dotyczy to zarówno monoterapii, jak i uzupełnienia innymi metodami leczenia, w tym chemioterapią czy radioterapią [4, 185, 186].

### DURWALUMAB

Durwalumab, znany również jako MEDI4736, to ludzkie przeciwciałem monoklonalne IgG1k o wysokim powinowactwie i specyficzności do PD-L1. Podobnie jak w przypadku atezolizumabu, domena Fc tego przeciwciała została zmodyfikowana w celu obniżenia działań cytotoksycznych [187]. Obecnie durwalumab został zatwierdzony przez FDA do terapii chorych na miejscowo zaawansowanego bądź przerzutowego raka urotelialnego z postępującą chorobą w czasie bądź po chemioterapii oraz do leczenia chorych na NSCLC [188, 189].

W badaniu III fazy PACIFIC (NCT02125461) wzięło udział 709 chorych na NSCLC, których w stosunku 2:1 przydzielono do dwóch grup: 473 chorych otrzymało durwalumab w dawce 10 mg/kg m.c., a 236 przyjmowało placebo (Tab. I). Pierwszorzędownymi punktami końcowymi były wartości PFS oraz OS. Mediana PFS wyniosła 16,8 miesiąca w grupie przyjmującej durwalumab oraz 5,6 miesiąca w grupie placebo. Z kolei 12-miesięczny PFS osiągnęło odpowiednio 55,9% i 35,3% chorych, a po 18. miesiącach wskaźnik ten wynosił odpowiednio 44,2% oraz 27,0%. Wartość ORR była istotnie wyższa w grupie przyjmującej durwalumab – 28,4% w porównaniu z placebo – 16,0%. Działania niepożądane 3-4. stopnia odnotowano u 29,9%

chorych przyjmujących durwalumab i 26,1% w grupie placebo, najczęściej było to zapalenie płuc [190].

W badaniu II fazy ATLANTIC (NCT02087423) wzięło udział 444 chorych na NSCLC, uprzednio leczonych chemioterapią. Zostali oni podzieleni na 3 grupy: grupa 1. (n = 111) obejmowała chorych na NSCLC z mutacjami *EGFR+ALK+*, u których ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych wynosiła co najmniej 25% lub poniżej 25%. Druga grupa (n = 265) obejmowała pacjentów o podobnym poziomie ekspresji PD-L1, jednak z NSCLC bez mutacji w tych genach (grupa *EGFR-/ALK-*). Do 3. grupy (n = 68) przydzielono chorych z PD-L1 obecnym na co najmniej 90% komórek nowotworowych. Pacjenci otrzymywali durwalumab w dawce 10 mg/kg m.c. co 2 tygodnie. Pierwszorzędownym punktem końcowym badań była wartość ORR. Wśród chorych z ekspresją PD-L1 na poziomie co najmniej 25% OR osiągnęło 9 (12,2%) z 74 osób, w grupie 2. było to 24 (16,4%) z 146, natomiast w grupie 3. u 21 (30,9%) z 68 chorych. Działania niepożądane 3. i 4. stopnia odnotowano u 40 (9%) z 444 uczestników badania, głównie były to zapalenia płuc, podwyższony poziom gamma-glutamylotransferazy oraz biegunka [191].

W badaniu klinicznym fazy I/II (NCT01693562) za pierwszorzędowny punkt końcowy obrano bezpieczeństwo terapii durwalumabem oraz wartość ORR (Tab. I). Próba ta obejmowała chorych na nowotwory lite w zaawansowanym stadium, w tym 191 chorych na przerzutowego, bądź miejscowo zaawansowanego raka urotelialnego, przy czym 182 chorych leczonych było wcześniej chemioterapią opartą na związkach platyny. Wśród pacjentów ze zdiagnozowanym rakiem urotelialnym, uzyskano ORR rzędu 17,6%, w tym 27,4% w grupie charakteryzującej się wysoką ekspresją ligandu PD-L1 oraz 4,1% w grupie o obniżonej, bądź niewystępującej ekspresji PD-L1. Odnotowano 7 całkowitych odpowiedzi na leczenie. Mediany PFS oraz OS wynosiły odpowiednio 1,5 miesiąca i 18,2 miesiące, a 12-miesięczne OS równe było 55%. Chorzy dobrze reagowali na terapię, zaobserwowano działania niepożądane 1-2 stopnia, natomiast działania 3-4. stopnia zgłaszało jedynie 6,8% (n = 13) chorych. Odnotowano dwa zgony związane z terapią w wyniku zapalenia wątroby o podłożu autoimmunologicznym oraz z powodu zapalenia płuc [192, 193].

Ważnymi badaniami klinicznymi z wykorzystaniem durwalumabu u chorych na NSCLC są również badania MYSTIC (NCT02453282) oraz NEPTUNE (NCT02542293), jednak ich wyniki nie zostały jeszcze opublikowane [192].

Obecnie trwa wiele badań klinicznych z wykorzystaniem durwalumabu zarówno w mono-, jak i politerapii. Wśród badań fazy III można wymienić terapię HNSCC, NSCLC, raka piersi, raka urotelialnego, SCLC. Badania fazy II prowadzone są w kierunku raka jajnika, raka piersi, SCLC, NSCLC, nowotworów przewodu pokarmowego, czerniaka, HCC, glejaka, mięsaków, raka trzustki, CLL. Natomiast próby I fazy są ukierunkowane na m.in. raka jajnika, raka piersi, NSCLC, HNSCC, raka gruczołu krokowego, FL czy DLBCL [187].

## AWELUMAB

Awelumab jest ludzkim przeciwciałem monoklonalnym klasy IgG1, wywołującym głównie odpowiedź typu ADCC, co skutkuje bezpośrednią lizą komórek nowotworowych. Przy terapii tym przeciwciałem istnieje ryzyko lizy pozostałych, nienowotworowych

komórek wykazujących ekspresję PD-L1 [194], jednak działania niepożądane związane z awelumabem nie różnią się istotnie od zdarzeń obserwowanych przy użyciu innych inhibitorów tego ligandu [195].

Użycie awelumabu jest wysoce skuteczne w terapii rzadkiego rodzaju nowotworu skóry – raka z komórek Merkla (*Merkel-cell carcinoma* – MCC) [196]. W badaniu klinicznym fazy II JAVELIN Merkel 200 (NCT02155647) wzięło udział 88 chorych na MCC, którzy otrzymywali awelumab w dawce 10 mg/kg m.c. co 2 tygodnie (Tab. I). Pierwszorzędownym punktem końcowym badań była wartość OR, która wynosiła 31,8% (n = 28), w tym u 8 chorych odnotowano całkowitą odpowiedź na terapię oraz 20 odpowiedzi częściowych. Mediana PFS równa była 2,7 miesiąca, a mediana OS – 11,3 miesiące. U 5 pacjentów obserwowano toksyczności stopnia 3., w tym limfopenię u dwóch chorych oraz pojedyncze przypadki podwyższenia poziomu fosfatazy kreatyninowej, aminotransferazy oraz cholesterolu. Działań 4-5. stopnia ani zgonów w wyniku leczenia nie odnotowano [197]. Podczas badań klinicznych fazy I JAVELIN Solid Tumor (NCT01772004) 249 chorym na zaawansowanego bądź przerzutowego raka urotelialnego podawano awelumab w dawce 10 mg/kg m.c. co 2 tygodnie (Tab. I). Pierwszorzędownymi punktami końcowymi badań było określenie wartości OR. Wśród 161 chorych uprzednio leczonych chemioterapią z użyciem związków platyny, OR odnotowano w 27 przypadkach, w tym całkowitą odpowiedź u 9 (6%) pacjentów oraz 18 (11%) odpowiedzi częściowych. Działania niepożądane stopnia 3. i wyższego występowały u 21 (8%) pacjentów, najczęściej było to zmęczenie, astenia, podwyższony poziom lipazy, hipofosfatemia i zapalenie płuc. Odnotowano jeden zgon związany leczeniem w wyniku zapalenia płuc [198].

Do badań klinicznych III fazy z wykorzystaniem awelumabu włączone zostały terapie chorych m.in. na NSCLC, RCC, raka żołądka, raka jajników, raka urotelialnego. Wśród badań klinicznych fazy II wyróżnić należy MCC oraz NSCLC. Badania kliniczne I fazy są prowadzone również u chorych na inne nowotwory lite, AML czy CHL [4, 199].

## PODSUMOWANIE

Blokowanie szlaku PD-1 przyniosło rewolucję w terapii wielu typów nowotworów. Leczenie z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko receptorowi PD-1 bądź jego ligandowi, PD-L1, jest skuteczne zarówno w mono-, jak i politerapii nowotworów litych oraz hematologicznych. Terapia ta sprawdzana jest w wielu toczących się badaniach klinicznych w różnych wskazaniach, jako że posiada udowodnioną skuteczność i akceptowalny profil bezpieczeństwa.

### Wkład autorów/Authors' contributions

AM, JN – opracowanie tekstu artykułu; KS, MK – koncepcja pracy, wprowadzenie poprawek do całości tekstu, weryfikacja całości tekstu; KG – wprowadzenie poprawek do całości tekstu, weryfikacja całości tekstu; wszyscy autorzy zaakceptowali ostateczną wersję artykułu

### Konflikt interesu/Conflict of interest

Nie występuje

**Finansowanie/Financial support**

Praca jest finansowana ze środków projektu badawczego w ramach działalności statusowej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie MNsd 462 przyznanego dla KG.

**Etyka/Ethics**

Treści przedstawione w artykule są zgodne z zasadami Deklaracji Helsińskiej, dyrektywami EU oraz ujednoliconymi wymaganiami dla czasopism biomedycznych.

**Piśmiennictwo/References**

- [1] Krawczyk P, Wojas-Krawczyk K. Przeciwciała monoklonalne przeciw immunologicznym punktom kontroli w leczeniu chorych na nowotwory. *Onkol Prak Klin*. 2015;2(11):76–86.
- [2] Grzywnowicz M, Giannopoulos K. Znaczenie receptora programowanej śmierci 1 oraz jego ligandów w układzie immunologicznym oraz nowotworach. *Acta Haematol Pol*. 2012;43(2a):132–45.
- [3] Wysocki PJ. Mechanizmy działania przeciwciał monoklonalnych w nowotworach litych. *Onkol Prak Klin*. 2014;10(4):175–83.
- [4] Pianko MJ, Liu Y, Bagchi S, Lesokhin AM. Immune checkpoint blockade for hematologic malignancies: a review. *Stem Cell Investig*. 2017 Apr;4:32.
- [5] Chen J, Jiang CC, Jin L, Zhang XD. Regulation of PD-L1: A novel role of pro-survival signalling in cancer. *Ann Oncol*. 2016;27(3):409–16.
- [6] Lee H-W, Park S-J, Choi BK, Kim HH, Nam K-O, Kwon BS. 4-1BB Promotes the Survival of CD8+ T Lymphocytes by Increasing Expression of Bcl-xL and Bfl-1. *J Immunol*. 2002;169(9):4882–8.
- [7] Kim ES, Kim JE, Patel MA, Mangraviti A, Ruzevick J, Lim M. Immune Checkpoint Modulators: An Emerging Antiglioma Armamentarium. *J Immunol Res*. 2016;2016:1–14.
- [8] Ronchetti S, Zollo O, Bruscoli S, Agostini M, Bianchini R, Nocentini G, et al. Frontline: GITR, a member of the TNF receptor superfamily, is costimulatory to mouse T lymphocyte subpopulations. *Eur J Immunol*. 2004;34(3):613–22.
- [9] Mędra A, Majchrzak A, Smolewski P. Inhibitory immunologicznych punktów kontrolnych podziału komórki w leczeniu chorób nowotworowych. *Acta Haematol Pol*. 2016;47(2):155–62.
- [10] Yamazaki T, Akiba H, Iwai H, Matsuda H, Aoki M, Tanno Y, et al. Expression of programmed death 1 ligands by murine T cells and APC. *J Immunol*. 2002;169(10):5538–45.
- [11] Shinohara T, Taniwaki M, Ishida Y, Kawaichi M, Honjo T. Structure and chromosomal localization of the human PD-1 gene (PDCD1). *Genomics*. 1994;23(3):704–6.
- [12] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992;11(11):3887–95.
- [13] Dougall WC, Kurtulus S, Smyth MJ, Anderson AC. TIGIT and CD96: new checkpoint receptor targets for cancer immunotherapy. *Immunol Rev*. 2017;276(1):112–20.
- [14] Liang SC, Latchman YE, Buhlmann JE, Tomczak MF, Horwitz BH, Freeman GJ, et al. Regulation of PD-1, PD-L1, and PD-L2 expression during normal and autoimmune responses. *Eur J Immunol*. 2003;33(10):2706–16.
- [15] Nishimura H, Agata Y, Kawasaki A, Sato M, Imamura S, Minato N, et al. Developmentally regulated expression of the PD-1 protein on the surface of double-negative (CD4-CD8-) thymocytes. *Int Immunol*. 1996;8(5):773–80.
- [16] Kobayashi M, Kawano S, Hatachi S, Kurimoto C, Okazaki T, Iwai Y, et al. Enhanced expression of programmed death-1 (PD-1)/PD-L1 in salivary glands of patients with Sjögren's syndrome. *J Rheumatol*. 2005;32(11):2156–63.
- [17] Agata Y, Kawasaki A, Nishimura H, Ishida Y, Tsubata T, Yagita H, et al. Expression of the PD-1 antigen on the surface of stimulated mouse T and B lymphocytes. *Int Immunol*. 1996;8(5):765–72.
- [18] Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita D, Morelli AE, Thomson AW. Regulated compartmentalization of programmed cell death-1 discriminates CD4+CD25+ resting regulatory T cells from activated T cells. *J Immunol*. 2006;176(5):2808–16.
- [19] Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, Vanguri VK, Freeman GJ, Kuchroo VK, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med*. 2009;206(13):3015–29.
- [20] Kinter AL, Godbout EJ, McNally JP, Sereti I, Roby GA, O'Shea MA, et al. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J Immunol*. 2008;181(10):6738–46.
- [21] Polanczyk MJ, Hopke C, Vandenbark AA, Offner H. Estrogen-mediated immunomodulation involves reduced activation of effector T cells, potentiation of Treg cells, and enhanced expression of the PD-1 costimulatory pathway. *J Neurosci Res*. 2006;84(2):370–8.
- [22] Oestreich KJ, Yoon H, Ahmed R, Boss JM. NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation. *J Immunol*. 2008;181(7):4832–9.
- [23] Yao S, Wang S, Zhu Y, Luo L, Zhu G, Flies S, et al. PD-1 on dendritic cells impedes innate immunity against bacterial infection. *Blood*. 2009;113(23):5811–8.
- [24] Cho H-Y, Lee S-W, Seo S-K, Choi I-W, Choi I, Lee S-W. Interferon-sensitive response element (ISRE) is mainly responsible for IFN-alpha-induced upregulation of programmed death-1 (PD-1) in macrophages. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1779(12):811–9.
- [25] Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. PD-1 and Its Ligands in Tolerance and Immunity. *Annu Rev Immunol*. 2008;26(1):677–704.
- [26] Grzywnowicz M, Zaleska J, Mertens D, Tomczak W, Wlasiuk P, Kosior K, et al. Programmed Death-1 and Its Ligand Are Novel Immunotolerant Molecules Expressed on Leukemic B Cells in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Lapteva N, editor. PLoS One*. 2012;7(4):e35178.
- [27] He XH, Xu LH, Liu Y. Identification of a novel splice variant of human PD-L1 mRNA encoding an isoform-lacking IgV-like domain. *Acta Pharmacol Sin*. 2005;26(4):462–8.
- [28] Hawkes EA, Grigg A, Chong G. Programmed cell death-1 inhibition in lymphoma. *Lancet Oncol*. 2015;16(5):e234–45.
- [29] Iwai Y, Hamanishi J, Chamoto K, Honjo T. Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway. *J Biomed Sci*. 2017;24(1):26–36.

- [30] Stewart R, Morrow M, Hammond SA, Mulgrew K, Marcus D, Poon E, et al. Identification and Characterization of MEDI4736, an Antagonistic Anti- PD-L1 Monoclonal Antibody. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(9):1052–62.
- [31] Frigola X, Inman BA, Krco CJ, Liu X, Harrington SM, Bulur PA, et al. Soluble B7-H1: differences in production between dendritic cells and T cells. *Immunol Lett.* 2012;142(1–2):78–82.
- [32] Li Y, Xiao Y, Su M, Zhang R, Ding J, Hao X, et al. Role of soluble programmed death-1 (sPD-1) and sPD-ligand 1 in patients with cystic echinococcosis. *Exp Ther Med.* 2016;11(1):251–6.
- [33] Zhu X, Lang J. Soluble PD-1 and PD-L1: predictive and prognostic significance in cancer. *Oncotarget.* 2017;8:97671–82.
- [34] Chen Y, Wang Q, Shi B, Xu P, Hu Z, Bai L, et al. Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1 + cell lines. *Cytokine.* 2011;56(2):231–8.
- [35] Messal N, Serriari N, Pastor S, Nunès JA, Olive D. PD-L2 is expressed on activated human T cells and regulates their function. *Mol Immunol.* 2011;48(15–16):2214–9.
- [36] Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol.* 2001;2(3):261–8.
- [37] Zhong X, Tumang JR, Gao W, Bai C, Rothstein TL, Rothstein TL. PD-L2 expression extends beyond dendritic cells/macrophages to B1 cells enriched for VH11/VH12 and phosphatidylcholine binding. *Eur J Immunol.* 2007;37(9):2405–10.
- [38] Salmaninejad A, Khoramshahi V, Azani A, Soltaninejad E, Aslani S, Zamani MR, et al. PD-1 and cancer: molecular mechanisms and polymorphisms. *Immunogenetics.* 2017;4:1–14.
- [39] Ohaegbulam KC, Assal A, Lazar-Molnar E, Yao Y, Zang X. Human cancer immunotherapy with antibodies to the PD-1 and PD-L1 pathway. *Trends Mol Med.* Elsevier Ltd; 2015;21(1):24–33.
- [40] Chemnitz JM, Parry R V, Nichols KE, June CH, Riley JL. SHP-1 and SHP-2 associate with immunoreceptor tyrosine-based switch motif of programmed death 1 upon primary human T cell stimulation, but only receptor ligation prevents T cell activation. *J Immunol.* 2004;173(2):945–54.
- [41] Kim PS, Ahmed R. Features of responding T cells in cancer and chronic infection. *Curr Opin Immunol.* 2010;22(2):223–30.
- [42] Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al. Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- $\gamma$  and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood.* 2007;110(1):296–304.
- [43] Li S, Liao W, Chen M, Shan S, Song Y, Zhang S, et al. Expression of Programmed Death-1 (PD-1) on CD4+ and CD8+ T cells in Rheumatoid Arthritis. *Inflammation.* 2014;37(1):116–21.
- [44] Wherry EJ, Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015;15(8):486–99.
- [45] Sfanos KS, Bruno TC, Meeker AK, De Marzo AM, Isaacs WB, Drake CG. Human prostate-infiltrating CD8+ T lymphocytes are oligoclonal and PD-1+. *Prostate.* 2009;69(15):1694–703.
- [46] Fife BT, Pauken KE, Eagar TN, Obu T, Wu J, Tang Q, et al. Interactions between PD-1 and PD-L1 promote tolerance by blocking the TCR-induced stop signal. *Nat Immunol.* 2009;10(11):1185–92.
- [47] Patsoukis N, Sari D, Bousiotis VA. PD-1 inhibits T cell proliferation by upregulating p27 and p15 and suppressing Cdc25A. *Cell Cycle.* 2012;11(23):4305–9.
- [48] Zinselmeyer BH, Heydari S, Sacristán C, Nayak D, Cammer M, Herz J, et al. PD-1 promotes immune exhaustion by inducing antiviral T cell motility paralysis. *J Exp Med.* 2013;210(4):757–74.
- [49] Zhang Y, Huang S, Gong D, Qin Y, Shen Q. Programmed death-1 upregulation is correlated with dysfunction of tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes in human non-small cell lung cancer. *Cell Mol Immunol.* Chinese Society of Immunology and The University of Science and Technology; 2010;7(5):389–95.
- [50] Zheng H, Liu X, Zhang J, Rice SJ, Wagman M, Kong Y, et al. Expression of PD-1 on CD4+ T cells in peripheral blood associates with poor clinical outcome in non-small cell lung cancer. *Oncotarget.* 2016;7(35):56233–56240.
- [51] Erlmeier F, Weichert W, Schrader AJ, Autenrieth M, Hartmann A, Steffens S, et al. Prognostic impact of PD-1 and its ligands in renal cell carcinoma. *Med Oncol.* 2017;34(6):99.
- [52] Thompson RH, Dong H, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. PD-1 Is Expressed by Tumor-Infiltrating Immune Cells and Is Associated with Poor Outcome for Patients with Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007;13(6):1757–61.
- [53] Granier C, Dariane C, Combe P, Verkarre V, Urien S, Badoual C, et al. Tim-3 Expression on Tumor-Infiltrating PD-1 + CD8 + T Cells Correlates with Poor Clinical Outcome in Renal Cell Carcinoma. *Cancer Res.* 2017;77(5):1075–82.
- [54] Kim KS, Sekar RR, Patil D, Dimarco MA, Kissick HT, Bilen MA, et al. Evaluation of programmed cell death protein 1 (PD-1) expression as a prognostic biomarker in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncoimmunology.* 2018;7(4):e1413519.
- [55] Shi F, Shi M, Zeng Z, Qi R-Z, Liu Z-W, Zhang J-Y, et al. PD-1 and PD-L1 upregulation promotes CD8+ T-cell apoptosis and postoperative recurrence in hepatocellular carcinoma patients. *Int J Cancer.* 2011;128(4):887–96.
- [56] Li Z, Li B, Peng D, Xing H, Wang G, Li P, et al. Expression and clinical significance of PD-1 in hepatocellular carcinoma tissues detected by a novel mouse anti-human PD-1 monoclonal antibody. *Int J Oncol.* 2018;52(6):2079–92.
- [57] Eto S, Yoshikawa K, Nishi M, Higashijima J, Tokunaga T, Nakao T, et al. Programmed cell death protein 1 expression is an independent prognostic factor in gastric cancer after curative resection. *Gastric Cancer.* Springer Japan; 2016;19(2):466–71.
- [58] Saito H, Kuroda H, Matsunaga T, Osaki T, Ikeguchi M. Increased PD-1 expression on CD4+ and CD8+ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer. *J Surg Oncol.* 2013;107(5):517–22.
- [59] Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;139(3):667–76.
- [60] Sun S, Fei X, Mao Y, Wang X, Garfield DH, Huang O, et al. PD-1+ immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients. *Cancer Immunol Immunother.* 2014;63(4):395–406.
- [61] Gatalica Z, Snyder C, Maney T, Ghazalpour A, Holterman DA, Xiao N, et al. Programmed Cell Death 1 (PD-1) and Its Ligand (PD-L1) in



- Common Cancers and Their Correlation with Molecular Cancer Type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(12):2965–70.
- [62] Ren X, Wu H, Lu J, Zhang Y, Luo Y, Xu Q, et al. PD1 protein expression in tumor infiltrated lymphocytes rather than PDL1 in tumor cells predicts survival in triple-negative breast cancer. *Cancer Biol Ther.* Taylor & Francis; 2018;19(5):373–80.
- [63] Brockhoff G, Seitz S, Weber F, Zeman F, Klinkhammer-Schalke M, Ortmann O, et al. The presence of PD-1 positive tumor infiltrating lymphocytes in triple negative breast cancers is associated with a favorable outcome of disease. *Oncotarget.* 2018;9(5):6201–12.
- [64] Darb-Esfahani S, Kunze CA, Kulbe H, Sehouli J, Wienert S, Lindner J, et al. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma. *Oncotarget.* 2016;7(2):1486–99.
- [65] Matsuzaki J, Gnjjatic S, Mhaweck-Fauceglia P, Beck A, Miller A, Tsuji T, et al. Tumor-infiltrating NY-ESO-1-specific CD8 + T cells are negatively regulated by LAG-3 and PD-1 in human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci.* 2010;107(17):7875–80.
- [66] Badoual C, Hans S, Merillon N, Van Ryswick C, Ravel P, Benhamouda N, et al. PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer. *Cancer Res.* 2013;73(1):128–38.
- [67] Partlová S, Bouček J, Kloudová K, Lukešová E, Zábrodský M, Grega M, et al. Distinct patterns of intratumoral immune cell infiltrates in patients with HPV-associated compared to non-virally induced head and neck squamous cell carcinoma. *Oncoimmunology.* 2015;4(1):e965570.
- [68] Malm I-J, Bruno TC, Fu J, Zeng Q, Taube JM, Westra W, et al. Expression profile and in vitro blockade of programmed death-1 in human papillomavirus-negative head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck.* 2015;37(8):1088–95.
- [69] Liu Y, Cheng Y, Xu Y, Wang Z, Du X, Li C, et al. Increased expression of programmed cell death protein 1 on NK cells inhibits NK-cell-mediated anti-tumor function and indicates poor prognosis in digestive cancers. *Oncogene.* 2017;36(44):6143–53.
- [70] Yamamoto R, Nishikori M, Kitawaki T, Sakai T, Hishizawa M, Tashima M, et al. PD-1 PD-1 ligand interaction contributes to immunosuppressive microenvironment of Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2008;111(6):3220–4.
- [71] [71] Zhang W, Bai J-F, Zuo M-X, Cao X-X, Chen M, Zhang Y, et al. PD-1 expression on the surface of peripheral blood CD4 + T cell and its association with the prognosis of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Med.* 2016;5(11):3077–84.
- [72] Nunes C, Wong R, Mason M, Fegan C, Man S, Pepper C. Expansion of a CD8+PD-1+ Replicative Senescence Phenotype in Early Stage CLL Patients Is Associated with Inverted CD4:CD8 Ratios and Disease Progression. *Clin Cancer Res.* 2012;18(3):678–87.
- [73] Koh YW, Jeon YK, Yoon DH, Suh C, Huh J. Programmed death 1 expression in the peritumoral microenvironment is associated with a poorer prognosis in classical Hodgkin lymphoma. *Tumor Biol.* 2016;37(6):7507–14.
- [74] Myklebust JH, Irish JM, Brody J, Czerwinski DK, Houot R, Kohrt HE, et al. High PD-1 expression and suppressed cytokine signaling distinguish T cells infiltrating follicular lymphoma tumors from peripheral T cells. *Blood.* 2013;121(8):1367–76.
- [75] Smeltzer JP, Jones JM, Ziesmer SC, Grote DM, Xiu B, Ristow KM, et al. Pattern of CD14+ Follicular Dendritic Cells and PD1+ T Cells Independently Predicts Time to Transformation in Follicular Lymphoma. *Clin Cancer Res.* 2014;20(11):2862–72.
- [76] Xu-Monette ZY, Zhou J, Young KH. PD-1 expression and clinical PD-1 blockade in B-cell lymphomas. *Blood.* 2018;131(1):68–83.
- [77] Yang Z-Z, Grote DM, Ziesmer SC, Xiu B, Novak AJ, Ansell SM. PD-1 expression defines two distinct T-cell sub-populations in follicular lymphoma that differentially impact patient survival. Yang Z-Z, editor. *Blood Cancer J.* 2015;5(2):e281.
- [78] Lopez-Guillermo A, Carreras J, Roncador G, Villamor N, Colomo L, Martinez A, et al. High numbers of tumor-infiltrating programmed cell death 1-positive regulatory lymphocytes are associated with improved overall survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2009;27(9):1470–6.
- [79] Xerri L, Chetaille B, Serriari N, Serriari N, Attias C, Guillaume Y, et al. Programmed death 1 is a marker of angioimmunoblastic T-cell lymphoma and B-cell small lymphocytic lymphoma/chronic lymphocytic leukemia. *Hum Pathol.* 2008 ;39(7):1050–8.
- [80] Grzywnowicz M, Karabon L, Karczmarczyk A, Zajac M, Skorka K, Zaleska J, et al. The function of a novel immunophenotype candidate molecule PD-1 in chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Lymphoma.* 2015;56(10):2908–13.
- [81] Riches JC, Davies JK, McClanahan F, Fatah R, Iqbal S, Agrawal S, et al. T cells from CLL patients exhibit features of T-cell exhaustion but retain capacity for cytokine production. *Blood.* 2013;121(9):1612–21.
- [82] Brusa D, Serra S, Coscia M, Rossi D, D'Arena G, Laurenti L, et al. The PD-1/ PD-L1 axis contributes to T-cell dysfunction in chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica.* 2013;98(6):953–63.
- [83] Rusak M, Eljaszewicz A, Bołkun Ł, Łuksza E, Łapuć I, Piszcz J, et al. Prognostic significance of PD-1 expression on peripheral blood CD4+ T cells in patients with newly diagnosed chronic lymphocytic leukemia. *Pol Arch Med Wewn.* 2015;125(7–8):553–9.
- [84] Daver N, Basu S, Garcia-Manero G, Cortes JE, Ravandi F, Ning J, et al. Defining the Immune Checkpoint Landscape in Patients (pts) with Acute Myeloid Leukemia (AML). *Blood.* 2016;128(22):2900.
- [85] Tan J, Chen S, Lu Y, Yao D, Xu L, Zhang Y, et al. Higher PD-1 expression concurrent with exhausted CD8+ T cells in patients with de novo acute myeloid leukemia. *Chinese J Cancer Res.* 2017;29(5):463–70.
- [86] Qiu H, Zheng L, Tang W, Yin P, Cheng F, Wang L. Programmed death-1 (PD-1) polymorphisms in Chinese patients with esophageal cancer. *Clin Biochem.* 2014;47(7–8):612–7.
- [87] Hua Z, Li D, Xiang G, Xu F, Jie G, Fu Z, et al. PD-1 polymorphisms are associated with sporadic breast cancer in Chinese Han population of Northeast China. *Breast Cancer Res Treat.* 2011;129(1):195–201.
- [88] Haghshenas MR, Naeimi S, Talei A, Ghaderi A, Erfani N. Program death 1 (PD1) haplotyping in patients with breast carcinoma. *Mol Biol Rep.* 2011;38(6):4205–10.
- [89] Savabkar S, Azimzadeh P, Chaleshi V, Nazemalhosseini Mojarad E, Aghdai HA. Programmed death-1 gene polymorphism (PD-1.5 C/T) is associated with gastric cancer. *Gastroenterol Hepatol from bed to bench.* 2013;6(4):178–82.
- [90] Liu S-G, Yuan S, Wu H-Y, Huang C-S, Liu J. The programmed cell death 6 interacting protein insertion/deletion polymorphism is associated with non-small cell lung cancer risk in a Chinese Han population. *Tumor Biol.* 2014;35(9):8679–83.

- [91] Liu C, Jiang J, Gao L, Hu X, Wang F, Shen Y, et al. A Promoter Region Polymorphism in PDCD-1 Gene Is Associated with Risk of Rheumatoid Arthritis in the Han Chinese Population of Southeastern China. *Int J Genomics*. 2014;2014:1–8.
- [92] Sasaki H, Tatemaysu T, Okuda K, Moriyama S, Yano M, Fujii Y. PD-1 gene promoter polymorphisms correlate with a poor prognosis in non-small cell lung cancer. *Mol Clin Oncol*. 2014;2(6):1035–42.
- [93] Mahmoudi M, Rezaieamaneh A, Salmaninejad A, Harsini S, Poursani S, Bahrami T, et al. PDCD1 single nucleotide genes polymorphisms confer susceptibility to juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity*. 2015;48(7):488–93.
- [94] Prokunina L, Castillejo-López C, Öberg F, Gunnarsson I, Berg L, Magnusson V, et al. A regulatory polymorphism in PDCD1 is associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus in humans. *Nat Genet*. 2002;32(4):666–9.
- [95] Suarez-Gestal M, Ferreiros-Vidal I, Ortiz JA, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A. Analysis of the functional relevance of a putative regulatory SNP of PDCD1, PD1.3, associated with systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*. 2008;9(4):309–15.
- [96] Dong W, Gong M, Shi Z, Xiao J, Zhang J, Peng J. Programmed cell death-1 polymorphisms decrease the cancer risk: A meta-analysis involving twelve case-control studies. *PLoS One*. 2016;11(3):1–19.
- [97] Yin L, Guo H, Zhao L, Wang J. The programmed death-1 gene polymorphism (PD-1.5 C/T) is associated with non-small cell lung cancer risk in a Chinese Han population. *Int J Clin Exp Med*. 2014;7(12):5832–6.
- [98] Mamat U, Arkinjan M. Association of programmed death-1 gene polymorphism rs2227981 with tumor: evidence from a meta analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):13282–8.
- [99] Zhou R-M, Li Y, Wang N, Huang X, Cao S-R, Shan B-E. Association of programmed death-1 polymorphisms with the risk and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Genet*. 2016;209(9):365–75.
- [100] Tang W, Chen Y, Chen S, Sun B, Gu H, Kang M. Programmed death-1 (PD-1) polymorphism is associated with gastric cardia adenocarcinoma. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):8086–93.
- [101] Ren H-T, Li Y-M, Wang X-J, Kang H-F, Jin T-B, Ma X-B, et al. PD-1 rs2227982 Polymorphism Is Associated With the Decreased Risk of Breast Cancer in Northwest Chinese Women: A Hospital-Based Observational Study. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(21):e3760.
- [102] Swaika A, Hammond WA, Joseph RW. Current state of anti-PD-L1 and anti-PD-1 agents in cancer therapy. *Mol Immunol*. Elsevier Ltd; 2015;67(2):4–17.
- [103] Festino L, Botti G, Lorigan P, Masucci G V., Hipp JD, Horak CE, et al. Cancer Treatment with Anti-PD-1/PD-L1 Agents: Is PD-L1 Expression a Biomarker for Patient Selection? *Drugs*. Springer International Publishing; 2016;76(9):925–45.
- [104] Mahoney KM, Freeman GJ, McDermott DF. The next immune-checkpoint inhibitors: Pd-1/pd-l1 blockade in melanoma. *Clin Ther*. 2015;37(4):764–82.
- [105] Kim HM, Lee J, Koo JS. Clinicopathological and prognostic significance of programmed death ligand-1 expression in breast cancer: a meta-analysis. *BMC Cancer*. *BMC Cancer*; 2017;17(1):690–700.
- [106] Qin T, Zeng Y, Qin G, Xu F, Lu J, Fang W, et al. High PD-L1 expression was associated with poor prognosis in 870 Chinese patients with breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6(32):33972–81.
- [107] Muenst S, Schaeferli AR, Gao F, Däster S, Trella E, Droeser RA, et al. Expression of programmed death ligand 1 (PD-L1) is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;146(1):15–24.
- [108] Schalper KA, Velcheti V, Carvajal D, Wimberly H, Brown J, Pusztai L, et al. In situ tumor PD-L1 mRNA expression is associated with increased TILs and better outcome in breast carcinomas. *Clin Cancer Res*. 2014;(10):2773–82.
- [109] Thompson RH, Gillett MD, Chevillat JC, Lohse CM, Dong H, Webster WS, et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: Indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target. *Proc Natl Acad Sci*. 2004;101(49):17174–9.
- [110] Thompson RH, Kuntz SM, Leibovich BC, Dong H, Lohse CM, Webster WS, et al. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up. *Cancer Res*. 2006;66(7):3381–5.
- [111] Massi D, Brusa D, Merelli B, Ciano M, Audrito V, Serra S, et al. PD-L1 marks a subset of melanomas with a shorter overall survival and distinct genetic and morphological characteristics. *Ann Oncol*. 2014;25(12):2433–42.
- [112] Gadiot J, Hooijkaas AI, Kaiser ADM, Van Tinteren H, Van Boven H, Blank C. Overall survival and PD-L1 expression in metastasized malignant melanoma. *Cancer*. 2011;117(10):2192–201.
- [113] Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-h1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med*. 2012;4(127):127ra37.
- [114] Shi S-J, Wang L-J, Wang G-D, Guo Z-Y, Wei M, Meng Y-L, et al. B7-H1 Expression Is Associated with Poor Prognosis in Colorectal Carcinoma and Regulates the Proliferation and Invasion of HCT116 Colorectal Cancer Cells. Souglakos J, editor. *PLoS One*. 2013;8(10):e76012.
- [115] Enkhbat T, Nishi M, Takasu C, Yoshikawa K, Jun H, Tokunaga T, et al. Programmed Cell Death Ligand 1 Expression Is an Independent Prognostic Factor in Colorectal Cancer. *Anticancer Res*. 2018 Jun;38(6):3367–73.
- [116] Gao Q, Wang XY, Qiu SJ, Yamato I, Sho M, Nakajima Y, et al. Overexpression of PD-L1 significantly associates with tumor aggressiveness and postoperative recurrence in human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2009;15(3):971–9.
- [117] Aghajani M, Graham S, McCafferty C, Shaheed CA, Roberts T, DeSouza P, et al. Clinicopathologic and Prognostic Significance of Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Patients with Non-Medullary Thyroid Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thyroid*. 2018;28(3):349–61.
- [118] Chowdhury S, Veyhl J, Jessa F, Polyakova O, Alenzi A, MacMillan C, et al. Programmed death-ligand 1 overexpression is a prognostic marker for aggressive papillary thyroid cancer and its variants. *Oncotarget*. 2016;7(22):32318–28.
- [119] Amatatsu M, Arigami T, Uenosono Y, Yanagita S, Uchikado Y, Kijima Y, et al. Programmed death-ligand 1 is a promising blood marker for predicting tumor progression and prognosis in patients with gastric cancer. *Cancer Sci*. 2018;109(3):814–20.

- [120] Geng Y, Wang H, Lu C, Li Q, Xu B, Jiang J, et al. Expression of costimulatory molecules B7-H1, B7-H4 and Foxp3+ Tregs in gastric cancer and its clinical significance. *Int J Clin Oncol*. 2015;20(2):273–81.
- [121] Zhang M, Li G, Wang Y, Wang Y, Zhao S, Haihong P, et al. PD-L1 expression in lung cancer and its correlation with driver mutations: a meta-analysis. *Sci Rep*. Springer US; 2017;7(1):10255–64.
- [122] Wang Q, Liu F, Liu L. Prognostic significance of PD-L1 in solid tumor. *Medicine (Baltimore)*. 2017;96(18):e6369.
- [123] Chen BJ, Chapuy B, Ouyang J, Sun HH, Roemer MGM, Xu ML, et al. PD-L1 Expression Is Characteristic of a Subset of Aggressive B-cell Lymphomas and Virus-Associated Malignancies. *Clin Cancer Res*. 2013;19(13):3462–73.
- [124] Green MR, Monti S, Rodig SJ, Juszczynski P, Currie T, O'Donnell E, et al. Integrative analysis reveals selective 9p24.1 amplification, increased PD-1 ligand expression, and further induction via JAK2 in nodular sclerosing Hodgkin lymphoma and primary mediastinal large B-cell lymphoma. *Blood*. 2010;116(17):3268–77.
- [125] Roemer MGM, Advani RH, Ligon AH, Natkunam Y, Redd RA, Homer H, et al. PD-L1 and PD-L2 genetic alterations define classical hodgkin lymphoma and predict outcome. *J Clin Oncol*. 2016;34(23):2690–7.
- [126] Kiyasu J, Miyoshi H, Hirata A, Arakawa F, Ichikawa A, Niino D, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 is associated with poor overall survival in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2015;126(19):2193–201.
- [127] Cheng Z, Dai Y, Wang J, Shi J, Ke X, Fu L. High PD-L1 expression predicts poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Ann Hematol*. *Annals of Hematology*; 2018;97(6):1085–8.
- [128] Vranic S, Ghosh N, Kimbrough J, Bilalovic N, Bender R, Arguello D, et al. PD-L1 Status in Refractory Lymphomas. Dolcetti R, editor. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166266.
- [129] Georgiou K, Chen L, Berglund M, Ren W, de Miranda NFCC, Lisboa S, et al. Genetic basis of PD-L1 overexpression in diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. 2016;127(24):3026–34.
- [130] Merryman RW, Armand P, Wright KT, Rodig SJ. Checkpoint blockade in Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. *Blood*. 2017;1(26):2643–54.
- [131] Bi X, Wang H, Zhang W, Wang J, Liu W, Xia Z, et al. PD-L1 is upregulated by EBV-driven LMP1 through NF- $\kappa$ B pathway and correlates with poor prognosis in natural killer/T-cell lymphoma. *J Hematol Oncol*. *Journal of Hematology & Oncology*; 2016;9(1):109–20.
- [132] Green MR, Rodig S, Juszczynski P, Ouyang J, Sinha P, O'Donnell E, et al. Constitutive AP-1 activity and EBV infection induce PD-1 in Hodgkin lymphomas and posttransplant lymphoproliferative disorders: Implications for targeted therapy. *Clin Cancer Res*. 2012;18(6):1611–8.
- [133] Jo J-C, Kim M, Choi Y, Kim H-J, Kim JE, Chae SW, et al. Expression of programmed cell death 1 and programmed cell death ligand 1 in extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type. *Ann Hematol*. *Annals of Hematology*; 2017;96(1):25–31.
- [134] Kim WY, Jung HY, Nam SJ, Kim TM, Heo DS, Kim CW, et al. Expression of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) in advanced stage EBV-associated extranodal NK/T cell lymphoma is associated with better prognosis. *Virchows Arch*. *Virchows Archiv*; 2016;469(5):581–90.
- [135] Nagato T, Ohkuri T, Ohara K, Hirata Y, Kishibe K, Komabayashi Y, et al. Programmed death-ligand 1 and its soluble form are highly expressed in nasal natural killer/T-cell lymphoma: a potential rationale for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. Springer Berlin Heidelberg; 2017;66(7):877–90.
- [136] Wang Y, Wu L, Tian C, Zhang Y. PD-1-PD-L1 immune-checkpoint blockade in malignant lymphomas. *Ann Hematol*. Nature Publishing Group; 2018;97(2):229–37.
- [137] Grzywnowicz M, Karczmarczyk A, Skorka K, Zajac M, Zaleska J, Chocholska S, et al. Expression of Programmed Death 1 Ligand in Different Compartments of Chronic Lymphocytic Leukemia. *Acta Haematol*. 2015;134(4):255–62.
- [138] Ramsay AG, Clear AJ, Fatah R, Gribben JG. Multiple inhibitory ligands induce impaired T-cell immunologic synapse function in chronic lymphocytic leukemia that can be blocked with lenalidomide: establishing a reversible immune evasion mechanism in human cancer. *Blood*. 2012;120(7):1412–21.
- [139] Zhang Z-F, Zhang Q-T, Xin H-Z, Gan S-L, Ma J, Liu Y-F, et al. Expression of Programmed Death Ligand-1 (PD-L1) in Human Acute Leukemia and Its Clinical Significance. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2015;23(4):930–4.
- [140] Annibali O, Crescenzi A, Tomarchio V, Pagano A, Bianchi A, Grifoni A, et al. PD-1 /PD-L1 checkpoint in hematological malignancies. *Leuk Res*. Elsevier Ltd; 2018;67:45–55.
- [141] Krönig H, Kremmler L, Haller B, Englert C, Peschel C, Andreesen R, et al. Interferon-induced programmed death-ligand 1 (PD-L1/B7-H1) expression increases on human acute myeloid leukemia blast cells during treatment. *Eur J Haematol*. 2014;92(3):195–203.
- [142] Jelinek T, Mihalyova J, Kascak M, Duras J, Hajek R. PD-1/PD-L1 inhibitors in haematological malignancies: update 2017. *Immunology*. 2017;152(3):357–71.
- [143] Zajac M, Zaleska J, Dolnik A, Bullinger L, Giannopoulos K. Expression of CD274 (PD-L1) is associated with unfavourable recurrent mutations in AML. *Br J Haematol*. 2017;274:1–3.
- [144] Miyoshi H, Kiyasu J, Kato T, Yoshida N, Shimono J, Yokoyama S, et al. PD-L1 expression on neoplastic or stromal cells is respectively a poor or good prognostic factor for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*. 2016;128(10):1374–81.
- [145] Frigola X, Inman BA, Lohse CM, Krco CJ, Cheville JC, Thompson RH, et al. Identification of a Soluble Form of B7-H1 That Retains Immunosuppressive Activity and Is Associated with Aggressive Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2011;17(7):1915–23.
- [146] Rossille D, Gressier M, Damotte D, Maucourt-Boulch D, Pangault C, Semana G, et al. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-Cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial. *Leukemia*. Nature Publishing Group; 2014;28(12):2367–75.
- [147] Finkelmeier F, Canli Ö, Tal A, Pleli T, Trojan J, Schmidt M, et al. High levels of the soluble programmed death-ligand (sPD-L1) identify hepatocellular carcinoma patients with a poor prognosis. *Eur J Cancer*. 2016;59:152–9.
- [148] Rotte A, Jin JY, Lemaire V. Mechanistic overview of immune checkpoints to support the rational design of their combinations in cancer immunotherapy. *Ann Oncol*. 2018;29(1):71–83.
- [149] Long G V, Weber JS, Larkin J, Atkinson V, Grob J-J, Schadendorf D, et al. Nivolumab for Patients With Advanced Melanoma Treated

- Beyond Progression: Analysis of 2 Phase 3 Clinical Trials. *JAMA Oncol.* 2017;3(11):1511–9.
- [150] Robert C, Long G V, Brady B, Dutriaux C, Maio M, Mortier L, et al. Nivolumab in Previously Untreated Melanoma without BRAF Mutation. *N Engl J Med.* 2015;372(4):320–30.
- [151] Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, Hodi FS, Gutzmer R, Neyns B, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2015;16(4):375–84.
- [152] Kakizaki A, Fujimura T, Furudate S, Kambayashi Y, Yamauchi T, Yagita H, et al. Immunomodulatory effect of peritumorally administered interferon-beta on melanoma through tumor-associated macrophages. *Oncoimmunology.* 2015;4(11):e1047584.
- [153] Fujimura T, Hidaka T, Kambayashi Y, Furudate S, Kakizaki A, Tono H, et al. Phase I study of nivolumab combined with IFN- $\beta$  for patients with advanced melanoma. *Oncotarget.* 2017;8(41):71181–7.
- [154] Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(17):1627–39.
- [155] Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015;373(2):123–35.
- [156] Hellmann MD, Ciuleanu T-E, Pluzanski A, Lee JS, Otterson GA, Audigier-Valette C, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N Engl J Med.* 2018;378(22):2093–104.
- [157] Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, George S, Hammers HJ, Srinivas S, et al. Nivolumab versus Everolimus in Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med.* 2015;373(19):1803–13.
- [158] Socinski M, Creelan B, Horn L, Reck M, Paz-Ares L, Steins M, et al. NSCLC, metastatic CheckMate 026: A phase 3 trial of nivolumab vs investigator's choice (IC) of platinum-based doublet chemotherapy (PT-DC) as first-line therapy for stage iv/recurrent programmed death ligand 1 (PD-L1)-positive NSCLC. *Ann Oncol.* 2016 Oct;27(suppl\_6):vi552–vi587.
- [159] Ferris RL, Blumenschein G, Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, et al. Nivolumab for Recurrent Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1856–67.
- [160] Sharma P, Retz M, Siefker-Radtke A, Baron A, Necchi A, Bedke J, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2017;18(3):312–22.
- [161] Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, Halwani A, Scott EC, Gutierrez M, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med.* 2015;372(4):311–9.
- [162] Younes A, Santoro A, Shipp M, Zinzani PL, Timmerman JM, Ansell S, et al. Nivolumab for classical Hodgkin's lymphoma after failure of both autologous stem-cell transplantation and brentuximab vedotin: a multicentre, multicohort, single-arm phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016;17(9):1283–94.
- [163] Overman MJ, McDermott R, Leach JL, Lonardi S, Lenz H-J, Morse MA, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2017 Sep;18(9):1182–91.
- [164] El-Khoueiry AB, Sangro B, Yau T, Crocenzi TS, Kudo M, Hsu C, et al. Nivolumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma (CheckMate 040): an open-label, non-comparative, phase 1/2 dose escalation and expansion trial. *Lancet (London, England).* 2017 Jun;389(10088):2492–502.
- [165] Kelly RJ, Lockhart AC, Jonker DJ, Melichar B, Andre T, Chau I, et al. CheckMate 577: A randomized, double-blind, phase 3 study of nivolumab (Nivo) or placebo in patients (Pts) with resected lower esophageal (E) or gastroesophageal junction (GEJ) cancer. *J Clin Oncol.* 2017 Feb;35(4\_suppl):TPS212-TPS212.
- [166] Janjigian YY, Adenis A, Aucoin J-S, Barone C, Boku N, Chau I, et al. Checkmate 649: A randomized, multicenter, open-label, phase 3 study of nivolumab (Nivo) plus ipilimumab (Ipi) versus oxaliplatin plus fluoropyrimidine in patients (Pts) with previously untreated advanced or metastatic gastric (G) or gastroesophageal junct. *J Clin Oncol.* 2017 Feb;35(4\_suppl):TPS213-TPS213.
- [167] Weller M, Vlahovic G, Khasraw M, Brandes AA, Zwirter R, Tatsuoka K, et al. A randomized phase 2, single-blind study of temozolomide (TMZ) and radiotherapy (RT) combined with nivolumab or placebo (PBO) in newly diagnosed adult patients (pts) with tumor O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT)-methylated glioblastoma (GBM)—Ch. *Ann Oncol.* 2016 Oct;27(suppl\_6):356TiP.
- [168] Petrella TM, Robert C, Richtig E, Miller WH, Masucci G V, Walpole E, et al. Patient-reported outcomes in KEYNOTE-006, a randomised study of pembrolizumab versus ipilimumab in patients with advanced melanoma. *Eur J Cancer.* 2017;86:115–24.
- [169] Schadendorf D, Dummer R, Hauschild A, Robert C, Hamid O, Daud A, et al. Health-related quality of life in the randomised KEYNOTE-002 study of pembrolizumab versus chemotherapy in patients with ipilimumab-refractory melanoma. *Eur J Cancer.* 2016;67:46–54.
- [170] Ribas A, Hamid O, Daud A, Hodi FS, Wolchok JD, Kefford R, et al. Association of Pembrolizumab With Tumor Response and Survival Among Patients With Advanced Melanoma. *JAMA.* 2016 Apr;315(15):1600–9.
- [171] Robert C, Schachter J, Long G V, Arance A, Grob JJ, Mortier L, et al. Pembrolizumab versus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 2015 Jun;372(26):2521–32.
- [172] Sul J, Blumenthal GM, Jiang X, He K, Keegan P, Pazdur R. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Patients With Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer Whose Tumors Express Programmed Death-Ligand 1. *Oncologist.* 2016 May;21(5):643–50.
- [173] Larkins E, Blumenthal GM, Yuan W, He K, Sridhara R, Subramaniam S, et al. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma with Disease Progression on or After Platinum-Containing Chemotherapy. *Oncologist.* 2017 Jul;22(7):873–8.
- [174] Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, Fradet Y, Lee J-L, Fong L, et al. Pembrolizumab as Second-Line Therapy for Advanced Urothelial Carcinoma. *N Engl J Med.* 2017;376(11):1015–26.
- [175] Chen R, Zinzani PL, Fanale MA, Armand P, Johnson NA, Brice P, et al. Phase II Study of the Efficacy and Safety of Pembrolizumab for Relapsed/Refractory Classic Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2017 Jul;35(19):2125–32.

- [176] Badros A, Hyjek E, Ma N, Lesokhin A, Dogan A, Rapoport AP, et al. Pembrolizumab, pomalidomide, and low-dose dexamethasone for relapsed/refractory multiple myeloma. *Blood*. 2017 Sep;130(10):1189–97.
- [177] Powles T, Eder JP, Fine GD, Braithel FS, Loria Y, Cruz C, et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature*. Nature Publishing Group; 2014 Nov;515(7528):558–62.
- [178] Balar A V, Galsky MD, Rosenberg JE, Powles T, Petrylak DP, Bellmunt J, et al. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet*. 2017 Jan;389(10064):67–76.
- [179] Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, Van Der Heijden MS, Balar A V, Necchi A, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: A single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet*. Elsevier Ltd; 2016;387(10031):1909–20.
- [180] Markham A. Atezolizumab: First Global Approval. *Drugs*. Springer International Publishing; 2016;76(12):1227–32.
- [181] Ning Y, Suzman D, Maher VE, Zhang L, Tang S, Ricks T, et al. FDA Approval Summary: Atezolizumab for the Treatment of Patients with Progressive Advanced Urothelial Carcinoma after Platinum-Containing Chemotherapy. *Oncologist*. 2017;22(6):743–9.
- [182] Ramamurthy C, Godwin JL, Borghaei H. Immune Checkpoint Inhibitor Therapy: What Line of Therapy and How to Choose? *Curr Treat Options Oncol*. Current Treatment Options in Oncology; 2017;18(6).
- [183] Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2017;389(10066):255–65.
- [184] Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanz M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016 Apr;387(10030):1837–46.
- [185] Alsaab HO, Sau S, Alzhrani R, Tatiparti K, Bhise K, Kashaw SK, et al. PD-1 and PD-L1 checkpoint signaling inhibition for cancer immunotherapy: mechanism, combinations, and clinical outcome. *Front Pharmacol*. 2017;8(AUG):1–15.
- [186] Jelinek T, Hajek R. PD-1/PD-L1 inhibitors in multiple myeloma: The present and the future. *Oncoimmunology*. 2016 Dec;5(12):e1254856.
- [187] Li Y, Li F, Jiang F, Lv X, Zhang R, Lu A, et al. A mini-review for cancer immunotherapy: Molecular understanding of PD-1/PD-L1 pathway & translational blockade of immune checkpoints. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7):1–22.
- [188] Hsu F-S, Su C-H, Huang K-H. A Comprehensive Review of US FDA-Approved Immune Checkpoint Inhibitors in Urothelial Carcinoma. *J Immunol Res*. Hindawi; 2017;2017(2017):6940546.
- [189] Tomasini P, Greillier L, Boyer A, Jeanson A, Barlesi F. Durvalumab after chemoradiotherapy in stage III non-small cell lung cancer. *J Thorac Dis*. 2018 Apr;10(59):S1032–6.
- [190] Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017 Nov;377(20):1919–29.
- [191] Garassino MC, Cho B-C, Kim J-H, Mazières J, Vansteenkiste J, Lena H, et al. Durvalumab as third-line or later treatment for advanced non-small-cell lung cancer (ATLANTIC): an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2018 Apr;19(4):521–36.
- [192] Syed YY. Durvalumab: First Global Approval. *Drugs*. Springer International Publishing; 2017;77(12):1369–76.
- [193] Powles T, O'Donnell PH, Massard C, Arkenau H-T, Friedlander TW, Hoimes CJ, et al. Efficacy and Safety of Durvalumab in Locally Advanced or Metastatic Urothelial Carcinoma. *JAMA Oncol*. 2017 Sep;3(9):e172411.
- [194] Bellmunt J, Powles T, Vogelzang NJ. A review on the evolution of PD-1/PD-L1 immunotherapy for bladder cancer: The future is now. *Cancer Treat Rev*. The Authors; 2017;54:58–67.
- [195] Kotsakis A, Georgoulas V. Avelumab, an anti-PD-L1 monoclonal antibody, shows activity in various tumour types. *Lancet Oncol*. Elsevier Ltd; 2017;18(5):556–7.
- [196] Reichert JM. Antibodies to watch in 2017. *MAbs*. Taylor & Francis; 2017;9(2):167–81.
- [197] Kaufman HL, Russell J, Hamid O, Bhatia S, Terheyden P, D'Angelo SP, et al. Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: a multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2016;17(10):1374–85.
- [198] Patel MR, Ellerton J, Infante JR, Agrawal M, Gordon M, Aljumaily R, et al. Avelumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum failure (JAVELIN Solid Tumor): pooled results from two expansion cohorts of an open-label, phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2018 Jan;19(1):51–64.
- [199] Kim ES. Avelumab: First Global Approval. *Drugs*. Springer International Publishing; 2017 May;77(8):929–37.