

Kamila Wojas-Krawczyk, Paweł Krawczyk

Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Rozwój koncepcji przeciwnowotworowej immunoterapii

Development of anticancer immunotherapy idea

Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Paweł Krawczyk
 Katedra i Klinika Pneumonologii,
 Onkologii i Alergologii
 Uniwersytetu Medycznego
 ul. Jaczewskiego 8, 20-954 Lublin
 Tel./faks: +48 81 724 42 93
 e-mail: krapa@poczta.onet.pl

STRESZCZENIE

W ciągu kilkudziesięciu lat doszło do znaczącej ewolucji koncepcji przeciwnowotworowej immunoterapii, polegającej na stopniowym odejściu od metod swoistej immunoterapii czynnej w kierunku stosowania przeciwciał skierowanych na immunologiczne punkty kontrolne. Wyniki badań klinicznych wykazały ograniczoną skuteczność „szczepionek” przeciwnowotworowych zawierających antygeny lub całe komórki nowotworowe w leczeniu zaawansowanych postaci czerniaka, niedrobnokomórkowego raka płuca i raka jelita grubego oraz wielu innych nowotworów. Immunoterapia z zastosowaniem komórek immunologicznych napotyka duże problemy metodologiczne, choć rozwój inżynierii genetycznej daje nadzieję na opracowanie skutecznych metod immunoterapii adoptywnej (np. z udziałem modyfikowanych limfocytów T cytotoksycznych). Natomiast przeciwciała anti-CTLA-4, anti-PD-1 i anti-PD-L1 umożliwiają uzyskanie długotrwałej kontroli choroby u niektórych pacjentów z różnymi typami nowotworów. Konieczne jest jednak poszukiwanie czynników predykcyjnych dla tego rodzaju terapii.

Słowa kluczowe: immunoterapia, nowotwór, antygeny nowotworowe

ABSTRACT

Over the decades, significant evolution of anticancer immunotherapy idea has been seen, involving the gradual discontinuation of active specific immunotherapy methods towards the use of antibodies for immune checkpoints. Clinical studies have shown limited effectiveness of “vaccines” containing antigens or whole tumor cells in the treatment of advanced melanoma, non-small-cell lung cancer and colon cancer as well as many other tumours. Immunotherapy using immune cells encounters major methodological problems, although the development of genetic engineering gives hope for the development of effective methods for adoptive immunotherapy (eg. with modified cytotoxic T lymphocytes). In contrast, the use of anti-CTLA-4, anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies is possible to obtain long-term disease control in some patients with various types of cancer. The search for predictive factors of different immunotherapy methods is mandatory.

Key words: immunotherapy, cancer, tumour antigens

Onkol. Prak. Klin. 2015; 11, 2: 69–75

Onkologia w Praktyce Klinicznej
 2015, tom 11, nr 2, 69–75
 Copyright © 2015 Via Medica
 ISSN 1734–3542
 www.opk.viamedica.pl

Wprowadzenie

Warunkiem wystąpienia odpowiedzi immunologicznej przeciwnowotworowej jest obecność antygenów na powierzchni komórek nowotworowych, które mogą zostać rozpoznane przez komórki układu odpornościowego. Jedynie antygeny wirusowe pochodzące z wirusów wywołujących choroby nowotworowe, na przykład wirus brodawczaka ludzkiego (HPV, *human papilloma*

virus) lub wirus Ebsteina-Barr (EBV, *Ebstein-Barr virus*), są całkowicie odmienne od antygenów ludzkich. Inne antygeny występują powszechnie na prawidłowych i zapalnych komórkach, a komórki nowotworowe wykazują ich wybitnie wysoką ekspresję (np. CEA). Antygeny nowotworowe różnicowania (np. PSA, MART-1, gp100, tyrozynaza, MAGE-A3, NY-ESO-1) są obecne na komórkach nowotworowych i komórkach tkanki, z której wywodzi się nowotwór. Natomiast antygeny

swoiste dla komórek nowotworowych powstają w wyniku mutacji genowych lub aberracji chromosomowych w komórkach nowotworowych, co doprowadza do powstania białek niewystępujących naturalnie w tkankach ludzkich. Antygeny te najsilniej oddziałują na układ immunologiczny. Największe nagromadzenie mutacji somatycznych występuje w komórkach czerniaka oraz drobno- i niedrobnokomórkowego raka płuca (DRP, NDRP), a także w rakach pęcherza, przełyku i jelita grubego. Najrzadziej takie nieprawidłowości wykrywa się u chorych na gwiżdżiaka, glejaka wielopostaciowego i w ostrej białaczce limfatycznej. Ponadto liczba mutacji somatycznych zależy od intensywności oddziaływania czynników karcynogennych i jest na przykład znacznie większa u chorych na raka płaskonabłonkowego płuca palących intensywnie tytoń niż u niepalących chorych na raka gruczołowego płuca [1, 2]. Dlatego też właśnie pacjenci z tymi rodzajami nowotworów, które charakteryzują się największą liczbą mutacji somatycznych, mogą odnieść największą korzyść z immunoterapii.

Pierwsze próby immunoterapii chorób nowotworowych polegały na nieswoistej stymulacji układu immunologicznego (immunoterapia czynna nieswoista). W tym celu nie wykorzystywano antygenów czy komórek nowotworowych, ale immunostymulatory pochodzenia bakteryjnego lub wirusowego i adiuwanty odpowiedzi immunologicznej oraz cytokiny, na przykład interleukina 2 i 12 (IL-2, IL-12), interferon-alfa (IFN- α), czynnik martwicy guza alfa (TNF- α , *tumour necrosis factor α*), czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (GM-CSF, *granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*). Pionierem stosowania czynników bakteryjnych do stymulacji układu immunologicznego u chorych na nowotwory był Robert Coley, który zakazał swoich pacjentów różą i następnie — w celu uniknięcia konieczności wywołania niebezpiecznej infekcji — stosował w ramach leczenia toksyny z nadsączy z hodowli *Streptococcus pyogenes* i *Serratia marcescens*. Dzięki tego rodzaju terapii w niektórych typach nowotworów udawało się uzyskać długotrwałe remisje [3, 4].

Do preparatów pochodzących z mikroorganizmów stosowanych do dzisiaj w immunoterapii nowotworów należy szczepionka BCG (wlewy dopęcherzowe u chorych na raka pęcherza), OK-432 (preparat z niskowirulentnych szczepów *Streptococcus pyogenes*), ImPrime (polimer β -glukanu z *Saccharomyces cerevisiae*) i reolizyn (modyfikowany ludzki reowirus serotypu 3.). Cytokiny stosuje się (często w sposób miejscowy) u wybranych chorych na czerniaka, nowotwory nerki, białaczkę włochatokomórkową, przewlekłą białaczkę szpikową, mięsaka Kaposiego i inne [5]. U chorych na czerniaka, którego komórki wykazują obecność mutacji genu *BRAF* (V600E), trwają zaawansowane badania kliniczne nad skutecznością terapii skojarzonej wemu-

rafenibem i preparatami cytokinowymi (IL-2 i IFN- α). Do preparatów immunostymulujących należą lewamisol, stosowany w skojarzeniu z chemioterapią zawierającą fluorouracyl u chorych po resekcji raka jelita grubego, i rekombinowana ludzka laktoferyna (talaktoferyna badana u chorych na zaawansowanego raka płuca). Niektóre z adiuwantów odpowiedzi immunologicznej zostały zarejestrowane jako składniki szczepionek przeciwnowotworowych i przeciwwirusowych stosowanych w onkologii, w tym przede wszystkim monofosforyl lipid A (MPL), który jest składnikiem między innymi szczepionki przeciw wirusowi HPV [5, 6].

„Szczepionki” oparte na antygenach nowotworowych i peptydach

Immunoterapia oparta na podawaniu antygenów nowotworowych lub ich fragmentów (syntetycznych peptydów, których sekwencja odpowiada naturalnym epitopom) ma za zadanie stymulację *in vivo* swoistych limfocytów T cytotoksycznych i limfocytów T pomocniczych do odpowiedzi przeciwnowotworowej. Aktywacja taka jest możliwa dzięki działalności komórek prezentujących antygen, w tym przede wszystkim komórek dendrytycznych (DCs, *dendritic cells*), które pochłaniają, a następnie prezentują antygeny limfocytom. Warunkiem skuteczności „szczepionki” jest obecność na powierzchni komórek nowotworowych antygenów, których syntetyczne odpowiedniki wykorzystano do stymulacji odpowiedzi immunologicznej. Szczepionki takie stymulują zazwyczaj pojedynczy klon limfocytów cytotoksycznych specyficznych do antygenu zawartego w szczepionce, dlatego odpowiedź immunologiczna jest zazwyczaj monowalentna. Ten rodzaj immunoterapii określa się także mianem immunoterapii czynnej swoistej (w odróżnieniu od nieswoistej stymulacji odpowiedzi immunologicznej, np. przez antygeny bakteryjne). „Szczepionki” antygenowe są zwykle stabilne i bezpieczne dla chorego [7, 8].

Jednym z największych na świecie badań klinicznych III fazy wykorzystujących antygeny nowotworowe są badania MAGRIT i DERMA, w których podawana „szczepionka” przeciwnowotworowa zawierała rekombinowane białko MAGE-A3 (*melanoma-associated antigen* — jeden z powszechniej występujących antygenów nowotworowych). Ponadto w składzie „szczepionki” znalazły się białko D bakterii *Haemophilus influenza* oraz immunostymulatory AS02B lub AS15. Swoista immunoterapia przeciwnowotworowa (ASCI, *antigen-specific cancer immunotherapy*) z wykorzystaniem MAGE-A3 była stosowana w ramach leczenia adiuwantowego u chorych na NDRP oraz w postaci monoterapii u chorych na zaawansowanego czerniaka złośliwego [9]. Badanie MAGRIT poprzedziło badanie II fazy,

w którym wzięło udział 182 chorych na NDRP (122 osób otrzymało MAGE-A3 ASCI). Powikłania w postaci silnej reakcji miejscowej (zaczernienie, ból w miejscu podania) i nasilenie objawów przewlekłej obturacyjnej choroby płuc zaobserwowano u 9,6% pacjentów. U 30,6% chorych otrzymujących MAGE-A3 ASCI nie odnotowano wznowy po resekcji mięszu płucnego (grupa kontrolna: 43,3%). Zgon w czasie obserwacji po leczeniu wystąpił u 21,3% chorych leczonych MAGE-A3 ASCI i u 31,6% pacjentów otrzymujących placebo. Na podstawie tych wyników rozpoczęto badanie III fazy, w którym MAGE-A3 ASCI podawano chorym po całkowitej resekcji NDRP w stopniach zaawansowania IB, II, IIIA (leczenie stosowano po zakończeniu chemioterapii adiuwantowej lub u osób poddawanych jedynie pooperacyjnej obserwacji). W badaniu MAGRIT wzięło udział 10 000 chorych, a 2700 pacjentów ze stwierdzoną ekspresją antygeny MAGE-A3 otrzymało immunoterapię [7, 9–11]. Badanie MAGRIT zakończono wiosną 2014 roku z powodu braku istotnej skuteczności leczenia, zarówno w grupie chorych wcześniej poddanych chemioterapii pooperacyjnej, jak i bez tego rodzaju leczenia oraz porównując skuteczność „szczepionki” między tymi grupami. Najwyższą korzyść z terapii MAGE-A3 ASCI odnoszą prawdopodobnie chorzy z największą liczbą mutacji w komórkach nowotworowych, co doprowadza do powstania dużej liczby antygenów swoistych dla nowotworu. W związku z tym sygnatury genowe oznaczone za pomocą technik mikromacierzy lub sekwencjonowania następnej generacji (NGS, *next generation sequencing*) mogą w przyszłości stać się czynnikami predykcyjnymi dla tego rodzaju swoistych immunoterapii czynnych [12, 13].

Wyniki badania II fazy u chorych na zaawansowanego czerniaka wykazały skuteczność MAGE-A3 ASCI w połączeniu z immunostymulatorem AS15 — u 25% pacjentów nie wykazano progresji choroby w ciągu 6 miesięcy od rozpoczęcia leczenia w ramieniu otrzymującym MAGE-A3 ASCI i AS15 w porównaniu z 14% chorymi w ramieniu otrzymującym MAGE-A3 ASCI i AS02B, a mediany czasu życia w tych grupach wynosiły, odpowiednio, 33 i 19,9 miesiąca. Skuteczność preparatu MAGE-A3-AS15 była przedmiotem badania klinicznego III fazy — DERMA. Jednak tylko pewne subpopulacje chorych na czerniaka otrzymujących MAGE-A3 ASCI w tym badaniu odniosły istotną korzyść z immunoterapii, a badanie zostało zakończone wiosną 2014 roku z powodu braku osiągnięcia zamierzonych celów [9, 14].

Zakończyły się także badania III fazy nad „szczepionką” zawierającą sekwencję białkową (209-217) glikoproteiny 100 u chorych na czerniaka. W proteinie gp100 wprowadzono metioninę w pozycji 210 łańcucha peptydowego, uzyskując swoisty antygen czerniakowy. W grupie 185 chorych na zaawansowanego lub miej-

scowo zaawansowanego czerniaka stwierdzono istotnie dłuższy czas wolny do progresji (2,2 wobec 1,6 miesiąca; $p = 0,008$), jednak nieistotnie dłuższy czas życia (25,8 wobec 11,1 miesiąca; $p = 0,06$) u chorych otrzymujących gp100 i IL-2 w porównaniu z osobami leczonymi tylko za pomocą IL-2. Wczesne fazy badań klinicznych z antygenami MART-1 i tyrozynazą u chorych na czerniaka także nie przyniosły spektakularnych sukcesów [15].

Zakończyły się lub trwają bardzo duże badania III fazy dotyczące skuteczności immunoterapii czynnej za pomocą antygenów nowotworowych u chorych na miejscowo zaawansowanego lub zaawansowanego NDRP [16, 17]. Tekemotydy (L-BLP 25) ma formę liposomalnej kapsułki zawierającej 20-aminokwasową tandemową sekwencję występującą w domenie zewnątrzkomórkowej ludzkiego białka MUC-1 i adiuwant MPL. „Szczepionka” przeszła pozytywnie badania kliniczne II fazy przeprowadzone u 171 chorych w stadium IIIB lub IV NDRP, pozostających w częściowej remisji lub stabilizacji choroby po I linii chemioterapii. Nie zaobserwowano istotnej toksyczności preparatu. Przeżycia 3-letnie stwierdzono u 48,6% chorych poddawanych immunoterapii w porównaniu z 26% pacjentów stosujących leczenie objawowe. W 2007 roku rozpoczęto III fazę badań klinicznych z wykorzystaniem antygeny MUC-1. Do badania START kwalifikowano osoby z nieoperacyjnym NDRP w stadium III, pozostające w dobrym stanie ogólnym, które po chemioterapii związkami platyny w połączeniu z radioterapią były w remisji lub stabilizacji choroby. Jedynie niektóre podgrupy chorych odnosiły zmienną korzyść z tego rodzaju leczenia. Przede wszystkim byli to pacjenci leczeni tekemotydem po jednoczesnej chemioradioterapii w porównaniu z chorymi, którzy otrzymali chemioterapię i napromienianie sekwencyjne (29,4 wobec 20,8 miesiąca; $p = 0,026$). Korzystnym czynnikiem predykcyjnym dla terapii tekemotydem były także: wysokie stężenie rozpuszczalnego antygeny MUC-1 (sMUC-1) i obecność przeciwciał przeciwdrożdżowych w surowicy krwi. Jednak w całej grupie chorych poddanych badaniu START nie udało się wykazać znamienych korzyści ze stosowania immunoterapii. Obecnie trwa badanie III fazy — INSPIRE w grupie azjatyckich pacjentów z nieoperacyjnym NDRP. We wszystkich tych badaniach są prowadzone próby opracowania sygnatury genowej, która mogłaby wpływać na skuteczność immunoterapii i wykazałaby użyteczność w kwalifikacji do leczenia [16–18].

Produkcja antygeny MUC-1 w organizmie immunizowanego chorego jest celem immunoterapii preparatem TG4010, który zawiera fragment genu poxwirusa z DNA dla białka MUC-1 i IL-2. Trwa badanie III fazy — TIME, w którym bierze udział 217 chorych na zaawansowanego NDRP leczonych chemioterapią lub chemioterapią w połączeniu z TG4010. Odsetek akty-

wowanych komórek NK (*natural killers*) był badany jako czynnik predykcyjny tej immunoterapii [19–21].

Zawiodły nadzieje na opracowanie skutecznej czynnej immunoterapii u chorych na uogólnionego raka piersi w remisji po chemioterapii I linii. W badaniu III fazy przeprowadzonym u 1028 kobiet nie wykazano przedłużenia czasu przeżycia całkowitego oraz wolnego od progresji choroby po zastosowaniu preparatu złożonego z antygeny sialyl-Tn i adiuwantu KLH (*keyhole limpet hemocyanin*). Ewidentne korzyści odnosiły jedynie chore, u których stosowano jednoczesną immunoterapię i hormonoterapię (czas przeżycia całkowitego wynosił 39,6 miesiąca u osób leczonych w sposób skojarzony w porównaniu z 25,4 miesiąca u pacjentów poddanych jedynie hormonoterapii) [19].

Wydaje się, że większe możliwości zastosowania szczepionek peptydowych powinny dawać nowotwory o dobrze zdefiniowanym i szerokim profilu antygenowym. Przykład może stanowić rak jelita grubego i odbytnicy, w którym scharakteryzowano kilka antygenów: CEA, MUC-1, EGFR, SART3 (antygen 3. raka płaskonabłonkowego rozpoznawalny przez limfocyty T), β -hCG, WT1, surwiwina 2B, MAGE-A3, p53, KRAS. Szeroka gama antygenów nowotworowych nie przełożyła się jednak na skuteczność kliniczną „szczepionek” peptydowych, a przeprowadzone badania obejmowały zwykle nieliczne grupy chorych. Wykazano skuteczność terapii z zastosowaniem surwiwiny-2B (odpowiedź kliniczna i immunologiczna) oraz długiego fragmentu białka p53 (odpowiedź immunologiczna). Bardzo wczesne badania kliniczne prowadzone są również nad „szczepionką” peptydową (surwiwina, EphA2, WT-1 i IL-13R α 2) u chorych na nowotwory ośrodkowego układu nerwowego (gwiazdziaki, wysokozróżnicowane glejaki). U chorych na zaawansowane postaci raka prostaty (antygen PSA) i raka nerki badania kliniczne także nie wyszły poza wstępne fazy [19, 22].

Szczepionki oparte na całych komórkach nowotworowych

Inną metodą immunoterapii czynnej jest zastosowanie „szczepionek” w postaci całych komórek nowotworowych lub ich fragmentów (np. ciałek apoptotycznych lub lizatów). Komórki nowotworowe wykazują ekspresję wszystkich antygenów, które są związane z procesem nowotworowym, a tym samym ich podanie może stymulować poliklonalną odpowiedź immunologiczną. Taka strategia działania w większym stopniu niż stosowanie antygenów nowotworowych uniemożliwia komórkom nowotworowym ucieczkę spod nadzoru immunologicznego. Metoda jest jednak obciążona dużymi trudnościami ze względu na brak możliwości opracowania uniwersalnej „szczepionki”, która mo-

głaby być odtwarzalnie i komercyjnie produkowana dla wszystkich chorych [8].

„Szczepionkę” OncoVAX, składającą się z autologicznych komórek nowotworowych i immunostymulatora BCG, zastosowano u pacjentów po wycięciu raka jelita grubego. W badaniu III fazy, w wyniku stosowania immunoterapii adiuwantowej, zaobserwowano 42-procentową redukcję ryzyka nawrotu choroby (u chorych w II stadium — zmniejszenie ryzyka nawrotu o 60%). Uzyskano także znamienne wydłużenie czasu przeżycia całkowitego pacjentów poddawanych immunoterapii, a odsetek osób żyjących 15 lat od rozpoczęcia leczenia wynosił ponad 75% [19, 22, 23].

Autologiczne komórki nowotworowe są trudne do pozyskania (jedynie w wyniku zabiegu operacyjnego), a metodyka ich preparatyki skomplikowana i niejednorodna. Dlatego też w większości badań klinicznych podjęto próby zastosowania allogenicznych komórek nowotworowych namnażanych w postaci linii komórkowych w hodowlach *in vitro*.

Belagenpumatucel-L, stosowany w badaniach klinicznych II/III fazy u chorych na zaawansowanego NDRP, składa się z czterech linii komórkowych NDRP (linii raka gruczołowego, dwóch linii raka płaskonabłonkowego oraz linii raka wielkomórkowego). Komórki te są transferowane sekwencją antysensowną dla genu *TGF- β 2* oraz napromieniane dawką 10 000 Gy. Preparat był stosowany w leczeniu podtrzymującym u pacjentów, w przypadku których osiągnięto kontrolę choroby po chemioterapii I linii. Nie wykazano uogólnionych objawów ubocznych immunoterapii, a jedynie obrzęk i zaczerwienienie w miejscu podania „szczepionki”. Niestety, w badaniu III fazy — STOP nie udowodniono, aby immunoterapia podtrzymująca istotnie wydłużała czas życia wszystkich chorych. Jedynie u osób z rozpoznaniem raka gruczołowego zaobserwowano istotne wydłużenie czasu przeżycia całkowitego w wyniku stosowania immunoterapii (19,9 wobec 12,3 miesiąca; $p = 0,036$). Trwa badanie III fazy z analogicznym preparatem algenpantucel-L (komórki raka trzustki transfekowane genem dla α -1,3-galaktozydyltransferazy) u chorych z miejscowo zaawansowanym rakiem trzustki [7, 24, 25].

Dwa największe badania kliniczne (łącznie 1034 chorych), dotyczące zastosowania „szczepionki” z allogenicznych komórek nowotworowych transfekowanych genem dla GM-CSF, przeprowadzono u chorych na zaawansowanego raka prostaty opornego na kastrację. W badaniu VITAL-1 testom poddano „szczepionkę” AlloGVAX stosowaną w ramach monoterapii, a jej skuteczność porównywano z chemioterapią z zastosowaniem docetakselu. Nie wykazano wydłużenia czasu życia chorych poddawanych immunoterapii. W badaniu VITAL-2 stwierdzono nawet skrócenie czasu życia osób otrzymujących skojarzenie docetakselu i AlloGVAX

w porównaniu z pacjentami poddanymi tylko chemioterapii (12,2 wobec 14,1 miesiąca) [19, 26].

Należy wspomnieć o polskiej „szczepionce” stosowanej u chorych na czerniaka i opracowanej przez zespół prof. Andrzeja Mackiewicza. W II fazie badań klinicznych dwie linie komórek nowotworowych czerniaka transfekowane genem kodującym IL-6 i sIL-6R są stosowane w ramach immunoterapii adiuwantowej u chorych po usunięciu przerzutów czerniaka. Odsetek chorych żyjących ponad 5 lat od rozpoczęcia immunoterapii waha się w zależności od stadium od 26,1% do 66,7% [27].

Mimo zrealizowania zaawansowanych badań klinicznych, w których zrekrutowano kilkadziesiąt tysięcy chorych na różne typy nowotworów, nie opracowano dotychczas jednolitej i skutecznej metody immunoterapii z zastosowaniem antygenów nowotworowych czy całych komórek nowotworowych. Wydaje się, że ten sposób leczenia może w przyszłości odgrywać rolę uzupełniającą dla innych metod terapii chorób nowotworowych oraz wspomagającą dla metod immunoterapii z wykorzystaniem metod leczenia wpływających na immunologiczne punkty kontrolne. Przykładem takiej obiecującej próby klinicznej jest połączenie terapii ipilimumabem (przeciwciałem anti-CTLA-4, *cytotoxic T cell antigen 4*) oraz „szczepionką” GVAX Pancreas lub „szczepionką” GVAX Pancreas i preparatem CRS-207 u chorych na raka trzustki. Rak trzustki ze względu na niską liczbę mutacji somatycznych w komórkach nowotworowych i stosunkowo niewielką liczbę znanych obecnie nowotworowych antygenów swoistych nie jest uznawany za nowotwór silnie immunogenny. W opisywanej próbie efektywność immunoterapii za pomocą szczepionki GVAX Pancreas u chorych na raka trzustki (90 osób) była wzmacniana za pomocą immunostymulacji atenuowanymi bakteriami *Listeria monocytogenes* transfekowanymi genem dla ludzkiej mezoteliny (CRS-207) oraz przez usunięcie lub zahamowanie limfocytów T regulatorowych (Treg) odpowiedzialnych za immunotolerancję (cyklofosfamid lub ipilimumab). Mediana przeżycia całkowitego chorych na gruczolowego raka trzustki (po niepowodzeniu chemioterapii) poddawanych immunoterapii III lub kolejnych linii (minimum 3 dawki) wynosiła aż 9,7 miesiąca, co jest niezwykłym wynikiem w takiej grupie pacjentów [19, 28].

Immunoterapia adoptywna

Strategia immunoterapii adoptywnej polega na modyfikacji autologicznych komórek układu immunologicznego poza organizmem chorego (*ex vivo*) i zwrotnym podaniu tego rodzaju „szczepionki”. W immunoterapii adoptywnej wykorzystuje się komórki LAK (*lymphokine activated killer*), TIL (*tumour-infiltrating lymphocytes*)

oraz DCs. Komórki LAK otrzymuje się w wyniku stymulacji limfocytów za pomocą IL-2, a następnie namnożeniu tak aktywowanych komórek *ex vivo*. Limfocyty naciekające guz, po transfekcji *ex vivo* genami dla TNF lub IL-2, mogą być zwrotnie podawane choremu. Komórki dendrytyczne należą do najbardziej efektywnych komórek prezentujących antygen. Generowane są w hodowlach komórkowych najczęściej z autologicznych monocytów krwi obwodowej, a następnie, po stymulacji cytokinami i uczuleniu antygenami nowotworowymi *ex vivo*, podawane są zwrotnie choremu [7, 8, 17].

Możliwości wykorzystania komórek LAK i TIL w immunoterapii chorych na czerniaka oraz inne nowotwory (np. rak nerki i wątroby) są badane od wielu lat. U chorych na zaawansowanego czerniaka trwają próby ze skojarzoną terapią za pomocą pozyskanych z guza i modyfikowanych w hodowlach TIL, cyklofosfamidu i fludarabiny (leki cytotoksyczne są stosowane w celu usunięcia limfocytów Treg) i wysokich dawek IL-2 lub preparatu aldesleukin [29].

W każdym przypadku immunoterapii adoptywnej konieczne jest opracowanie procedur pozyskiwania i obróbki komórek immunologicznych od chorego. Najwięcej trudności wiąże się z terapią wykorzystującą komórki dendrytyczne, która jest w wysokim stopniu zindywidualizowana. Generację DCs przeprowadza się według potrzeb konkretnego pacjenta i jest to proces długotrwały oraz kosztowny. Dlatego też próby kliniczne z wykorzystaniem komórek dendrytycznych były dotychczas prowadzone w małych i heterogennych populacjach chorych, a badania kliniczne III fazy dotyczące tego rodzaju immunoterapii należą do rzadkości [8, 30, 31].

Jedyną zarejestrowaną do wykorzystania klinicznego „szczepionką” tego typu (rok 2010 w Stanach Zjednoczonych) jest preparat sipuleucel T do stosowania u chorych na uogólnionego raka prostaty w stadium hormonooporności. W skład preparatu wchodzi autologiczne komórki mononuklearne prezentujące antygen, otrzymane na drodze leukaferezy i hodowane w obecności rekombinowanego białka fuzyjnego PA2024. Białko to składa się z antygenów PSA i PAP oraz immunostymulatora GM-CSF. W badaniu rejestracyjnym (badanie 9902B), preparat sipuleucel-T otrzymało 341 chorych (grupę kontrolną stanowiło 171 pacjentów). Mediana całkowitego czasu przeżycia wynosiła 25,8 miesiąca u chorych otrzymujących sipuleucel-T w porównaniu z 21,7 miesiąca u osób z grupy kontrolnej badania ($p = 0,032$). Nie stwierdzono różnic w czasie wolnym od progresji choroby w obu badanych grupach. Większość odnotowanych działań niepożądanych nie była zbyt poważna (występowanie dreszczy, gorączki, zmęczenia, bólu pleców, głowy i stawów) [32, 33].

Trwają badania nad skutecznością „szczepionki” z komórek dendrytycznych o nazwie DCVax-L u chorych na różne rodzaje nowotworów. Co ciekawe, podjęto

obiecujące próby kliniczne leczenia tym preparatem pacjentów z nowotworami uznawanymi za niskoimmunogenne (rak trzustki — II faza badań klinicznych i glejak wielopostaciowy — III faza badań klinicznych) [30].

Przykładem postępu w immunoterapii, który osiągnięto w ostatnich latach, jest opracowanie technologii otrzymywania modyfikowanych cytotoksycznych limfocytów T, wykazujących ekspresję chimerycznych receptorów dla specyficznych antygenów nowotworowych (CARs, *chimeric antigen receptors*) [39]. CARs stanowią zazwyczaj pojedyncze fragmenty części zmiennej przeciwciała i fragmenty cząsteczek kostymulujących (CD3, CD28, CD137). W błonie limfocytów cytotoksycznych receptor chimeryczny jest połączony specjalnymi domenami przezbłonowymi z cytoplazmatycznymi regionami sygnałowymi, które są zdolne do wzbudzenia aktywacji limfocytów cytotoksycznych. Aktywacja ta nie wymaga prezentacji antygeny ze strony komórek prezentujących antygen (APC, *antigen presenting cells*), a limfocyty cytotoksyczne z ekspresją CARs są zdolne do wydzielania IL-2 i powodują lizę komórek nowotworowych, posiadających wybrany antygen nowotworowy. Skuteczność kliniczną modyfikowanych limfocytów T wykazano w leczeniu chorych na różne nowotwory, ale oceniane grupy były raczej nieliczne (nerwiak zarodkowy, rak jajnika, rak jelita grubego, nowotwory regionu głowy i szyi oraz rak nerki). Największą skuteczność modyfikowane limfocyty T cytotoksyczne wykazują w terapii rozrostowych chorób układu chłonnego (przewlekła białaczka limfatyczna i ostra białaczka limfoblastyczna) [34].

Podsumowanie

Nieswoista immunoterapia czynna pełni wspomagającą rolę w leczeniu niektórych schorzeń nowotworowych, jednak jej zastosowanie nie poprawia w sposób spektakularny jakości i czasu życia chorych, a stosunkowo skuteczne w niektórych przypadkach leczenie z wykorzystaniem cytokin wiąże się ze znaczną toksycznością. Przedstawione wyniki badań klinicznych wskazują także na ograniczoną skuteczność „szczepionek” przeciwnowotworowych zawierających antygeny lub całe komórki nowotworowe w terapii chorych na zaawansowane czerniaki, NDRP i raki jelita grubego oraz wiele innych nowotworów. Duże problemy metodologiczne napotyka immunoterapia z zastosowaniem komórek dendrytycznych lub limfocytów naciekających guz, choć rozwój inżynierii genetycznej daje nadzieję na opracowanie skutecznych metod immunoterapii adoptywnej (np. limfocyty CARs). W związku z tym jedynie kilka preparatów z zakresu immunoterapii czynnej lub adoptywnej doczekało się rejestracji do leczenia chorób nowotworowych w niektórych krajach. W ciągu kilkudziesięciu lat doszło jednak do ewolucji koncepcji immunoterapii chorób

nowotworowych, polegającej na stopniowym odejściu od metod immunoterapii czynnej i adoptywnej w kierunku stosowania przeciwciał monoklonalnych przeciwko receptorom powierzchniowym komórek nowotworowych oraz skierowanych na immunologiczne punkty kontrolne. Pierwsza grupa przeciwciał blokuje przewodzenie sygnału do proliferacji i aktywacji komórek, powodując ich apoptozę oraz, w niektórych przypadkach, wywołując swoistą odpowiedź immunologiczną przeciw opłaszczonym przeciwciałami komórkom nowotworowym (immunoterapia bierna). Natomiast przeciwciała anty-CTLA-4, anty-PD-1 (*programmed cell death protein 1*) i anty-PD-L1 (*programmed cell death protein ligand 1*) umożliwiają uzyskanie długotrwałej kontroli choroby u niektórych pacjentów z różnymi typami nowotworów.

Największe autorytety w dziedzinie immunoterapii chorób nowotworowych uznają jej rozwój za jedno z najważniejszych odkryć ostatniego dziesięciolecia, stwierdzając przy tym, że immunoterapia stanie się, obok terapii ukierunkowanych molekularnie, najważniejszą metodą leczenia zaawansowanych postaci nowotworów.

Piśmiennictwo

- Alexandrov L.B., Nik-Zainal S., Wedge D.C. i wsp. Signatures of mutational processes in human cancer. *Nature* 2013; 500: 415–421.
- Govindan R., Ding L., Griffith M. i wsp. Genomic landscape of non-small cell lung cancer in smokers and never-smokers. *Cell* 2012; 150: 1121–1134.
- Richardson M.A., Ramirez T., Russell N.C., Moya L.A. Coley toxins immunotherapy: a retrospective review. *Altern. Ther. Health. Med.* 1999; 5: 42–47.
- Haux J. Infection and cancer. *Lancet* 2001; 14: 358: 155–156.
- Decker G.M. Pharmacologic and biologic therapies in cancer care. *Clin. J. Oncol. Nurs.* 2000; 4: 242–244.
- Cluff C.W. Monophosphoryl lipid A (MPL) as an adjuvant for anti-cancer vaccines: clinical results. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2010; 667: 111–123.
- Anagnostou V.K., Brahmer J.R. Cancer immunotherapy: a future paradigm shift in the treatment of non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer. Res.* 2015; 21: 976–984.
- Rini B. Future approaches in immunotherapy. *Semin. Oncol.* 2014; 41 (Suppl. 5): S30–S40.
- Kruit W.H., Suci S., Dreno B. i wsp. Selection of immunostimulant AS15 for active immunization with MAGE-A3 protein: results of a randomized phase II study of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Melanoma Group in Metastatic Melanoma. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 2413–2420.
- Pujol J.L., Vansteenkiste J.F., De Pas T.M. i wsp. MAGE-A3 cancer immunotherapeutic in resected stage IB-III NSCLC patients with or without sequential or concurrent chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2012; 30 (Suppl.): abstract 7013.
- Vansteenkiste J., Zielinski M., Linder A. i wsp. Adjuvant MAGE-A3 immunotherapy in resected non-small-cell lung cancer: phase II randomized study results. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 2396–2403.
- Ulloa-Montoya F., Louahed J., Dizier B. i wsp. Predictive gene signature in MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 2388–2395.
- Wang E., Bedognetti D., Marincola F.M. Prediction of response to anticancer immunotherapy using gene signatures. *J. Clin. Oncol.* 2013; 31: 2369–2371.
- Kirkwood J.M., Dreno B., Hauschild A. i wsp. DERMA phase III trial of MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapeutic (ASCI) as adjuvant therapy in patients with MAGE-A3-positive resected stage III melanoma. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (Suppl.): abstract TPS232.
- Schwartzentruber D.J., Lawson D.H., Richards J.M. i wsp. gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.* 2011; 364: 2119–2127.

16. Butts C., Murray N.R., Smith C.J. i wsp. A multicenter open-label study to assess the safety of a new formulation of BLP25 liposome vaccine in patients with unresectable stage III non-small-cell lung cancer. *Clin. Lung. Cancer* 2010; 11: 391–395.
17. Mostafa A.A., Morris D.G. Immunotherapy for lung cancer: has it finally arrived? *Front. Oncol.* 2014; 22: 288.
18. Butts C., Socinski M.A., Mitchell P.L. i wsp. Tecemotide (L-BLP25) versus placebo after chemoradiotherapy for stage III non-small-cell lung cancer (START): a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014; 15: 59–68.
19. Melero I., Gaudernack G., Gerritsen W. i wsp. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2014; 11: 509–524.
20. Quoix E., Ramlau R., Westeel V. i wsp. Therapeutic vaccination with TG4010 and first-line chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer: a controlled phase 2B trial. *Lancet Oncol.* 2011; 12: 1125–1133.
21. Quoix E., Sequist L., Nemunaitis J. i wsp. TG4010 immunotherapy combined with first-line therapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): phase IIb results of the TIME study. *J. Immunol. Ther. Cancer* 2014; 2 (Suppl. 3): O12.
22. Koido S., Ohkusa T., Homma S. i wsp. Immunotherapy for colorectal cancer. *World J. Gastroenterol.* 2013; 19: 8531–8542.
23. Hanna M.G. Immunotherapy with autologous tumor cell vaccines for treatment of occult disease in early stage colon cancer. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2012; 8: 1156–1160.
24. Reck M. What future opportunities may immuno-oncology provide for improving the treatment of patients with lung cancer? *Ann. Oncol.* 2012; 23: Suppl. 8.
25. Bazhenova L., Giaccone G., Nemunaitis J.J. i wsp. An international, multicenter, randomized, double-blind phase III study of maintenance belagenpumatucel-I in non-small cell lung cancer (NSCLC): Updated analysis of patients enrolled within 12 weeks of completion of chemotherapy. *J. Clin. Oncol.* 2014; 32 (Suppl. 5): abstract 8056.
26. Drake C.G. Immunotherapy for prostate cancer: walk, don't run. *J. Clin. Oncol.* 2009; 27: 4035–4037.
27. Mackiewicz-Wysocka M., Żolnierek J., Wysocki P.J. New therapeutic options in systemic treatment of advanced cutaneous melanoma. *Expert. Opin. Investig. Drugs* 2013; 22: 181–190.
28. Le D.T., Wang-Gillam A., Picozzi V. Safety and survival with GVAX pancreas prime and listeria monocytogenes-expressing mesothelin (CRS-207) boost vaccines for metastatic pancreatic cancer. *J. Clin. Oncol.* 2015 Jan 12. pii: JCO.2014.57.4244.
29. Itzhaki O., Levy D., Zikich D. i wsp. Adoptive T-cell transfer in melanoma. *Immunotherapy* 2013; 5: 79–90.
30. Anguille S., Smits E.L., Lion E., van Tendeloo V.F., Berneman Z.N. Clinical use of dendritic cells for cancer therapy. *Lancet Oncol.* 2014; 15: e257–e67.
31. Pizzurro G.A., Barrio M.M. Dendritic cell-based vaccine efficacy: aiming for hot spots. *Front. Immunol.* 2015 Mar 3; 6: 91. doi: 10.3389/fimmu.2015.00091. eCollection 2015.
32. Sims R.B. Development of sipuleucel-T: autologous cellular immunotherapy for the treatment of metastatic castrate resistant prostate cancer. *Vaccine.* 2012; 30: 4394–4397.
33. Wesley J.D., Whitmore J., Trager J., Sheikh N. An overview of sipuleucel-T: autologous cellular immunotherapy for prostate cancer. *Hum. Vaccin. Immunother.* 2012; 8: 520–527.
34. Duong C.P., Yong C.S., Kershaw M.H., Slaney C.Y., Darcy P.K. Cancer immunotherapy utilizing gene-modified T cells: from the bench to the clinic. *Mol. Immunol.* 2015, pii: S0161-5890(14)00351-4. doi: 10.1016/j.molimm.2014.12.009.
35. Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. *Cancer immunotherapy.* *Science* 2013; 342: 1432–1433.