

Izabela Chmielewska<sup>1</sup>, Michał Szczyrek<sup>1,2</sup>, Kamila Wojas-Krawczyk<sup>1</sup>, Aleksandra Grzywna<sup>1</sup>, Janusz Milanowski<sup>1</sup>, Paweł Krawczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

<sup>2</sup>Katedra Interny z Zakładem Pielęgniarstwa Internistycznego, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

# Wpływ mikroflory jelitowej na skuteczność immunoterapii z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko immunologicznym punktom kontroli — opis przypadku i przegląd literatury

The impact of intestinal microflora on the effectiveness of immunotherapy with antibodies against immune checkpoints — case report and literature review

## Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Chmielewska I, Szczyrek M, Wojas-Krawczyk K, Grzywna A, Milanowski J, Krawczyk P. The impact of intestinal microflora on the effectiveness of immunotherapy with antibodies against immune checkpoints — case report and literature review. *Oncol Clin Pract* 2018; 14. DOI: 10.5603/OC.P.2018.0026.

Należy cytować wersję pierwotną.

## Adres do korespondencji:

Prof. dr hab. n. med. Paweł Krawczyk  
 Katedra i Klinika Pneumonologii,  
 Onkologii i Alergologii  
 Uniwersytet Medyczny w Lublinie  
 e-mail: krapa@poczta.onet.pl

## STRESZCZENIE

Inhibitory immunologicznych punktów kontroli (IPK), do których należą przeciwciała anti-PD-1 i anti-PD-L1, wykazują skuteczność u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP) i znacząco wydłużają przeżycie pacjentów. Dotychczas nie zidentyfikowano czynników predykcyjnych, które pozwoliłyby na precyzyjną kwalifikację chorych na nowotwory do immunoterapii. Najlepiej zbadana pod tym względem jest ekspresja cząsteczki PD-L1 na komórkach nowotworowych, której występowanie wiąże się z częstszą odpowiedzią na immunoterapię oraz dłuższym czasem do progresji u chorych poddanych temu leczeniu. Ostatnio pojawiają się doniesienia, że skład mikroflory jelitowej chorego, obecność stanu zapalnego oraz stosowanie antybiotykoterapii przed lub w trakcie immunoterapii mogą mieć wpływ na skuteczność przeciwciał anti-PD-1 lub anti-PD-L1. Zachwianie naturalnej równowagi organizmu w wyniku działania antybiotyków może się wiązać z brakiem stymulacji układu immunologicznego przez antygeny pochodzące z bakterii występujących naturalnie w jelitach. Uzupełnienie mikroflory o niezbędne składniki może poprawić efektywność immunoterapii. Celem na przyszłość staje się opracowanie tzw. probiotyków immunoterapeutycznych, których stosowanie mogłoby wzmocnić efekt immunoterapii chorych na nowotwory.

**Słowa kluczowe:** mikrobiom, mikroflora jelitowa, immunoterapia, przeciwciała anti-PD-1 i anti-PD-L1, probiotyki

## ABSTRACT

Inhibitors of immune checkpoints (anti-PD-1 or anti-PD-L1 monoclonal antibodies) are effective in non-small cell lung cancer treatment, significantly extending the overall survival of some patients. However, there are no predictive factors, which could allow precise qualification of cancer patients to immunotherapy. The best evaluated in this regard is the expression of PD-L1 molecule on tumour cells, the occurrence of which is associated with higher response rate and prolonged time to progression in patients undergoing immunotherapy. Some recent reports indicate that the composition of the patient's intestinal microflora, the presence of inflammation, and antibiotic therapy used before or during immunotherapy may affect the effectiveness of anti-PD-1 or anti-PD-L1 antibodies. Disturbance of the body's natural balance, e.g. using antibiotic therapy, may reduce the effectiveness of immunotherapy. This may be due to a lack of stimulation of the immune system by antigens from bacteria found

naturally in the gut. On the other hand, supplementing the microflora with the necessary ingredients can improve the effectiveness of immunotherapy. The future goal is to develop so-called "immunotherapeutic probiotics", the use of which could enhance the effect of cancer immunotherapy.

Copyright © 2018 Via Medica  
ISSN 2450-1646

**Key words:** microbiome, intestinal microflora, immunotherapy, anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies, probiotics

## Wstęp

Immunoterapia nowotworów odnosi się do szerokiego spektrum sposobów modyfikacji funkcjonowania układu immunologicznego u chorego na nowotwór, tak aby wzmocnić lub pobudzić działanie przeciwnowotworowe tego układu. Obecnie największą skuteczność kliniczną w leczeniu różnych typów nowotworów wykazują przeciwciała monoklonalne skierowane przeciwko cząsteczkom immunologicznych punktów kontroli (IPK). Dwie z nich, odgrywające najważniejszą rolę w immunoterapii, to cząsteczka programowanej śmierci komórki 1 (PD-1, *programmed cell death protein 1*), która występuje głównie na limfocytach T i B, oraz cząsteczka PD-L1 (*programmed death-ligand 1*) — ligand dla PD-1, występujący na komórkach odpowiedzi nieswoistej, to jest makrofagach czy komórkach dendrytycznych, prawidłowych komórkach organizmu oraz komórkach nowotworowych. Oddziaływanie cząsteczek PD-1 i PD-L1 wygasza aktywność limfocytów PD-1-pozytywnych. Obecność cząsteczki PD-L1 na powierzchni komórek nowotworowych i jej interakcja z PD-1 na powierzchni limfocytów prowadzą do braku aktywności tych ostatnich komórek. Z tych względów zablokowanie szlaku wygaszenia aktywności limfocytów poprzez zahamowanie cząsteczek PD-1 lub PD-L1 swoistymi przeciwciałami monoklonalnymi przywraca przeciwnowotworową aktywność limfocytów [1–3].

Zastosowanie inhibitorów IPK wpłynęło na skuteczność leczenia chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP) poprzez wydłużenie czasu przeżycia tych pacjentów. Jednym z najlepiej zbadanych czynników predykcyjnych odpowiedzi na terapię przeciwciałami anti-PD-1 czy anti-PD-L1 jest ekspresja cząsteczki PD-L1 na powierzchni komórek nowotworowych oraz komórek immunologicznych naciekających guz. Ciągłe jednak nie udało się ustalić, dlaczego u niektórych chorych nie występuje odpowiedź na leczenie anti-PD-1 lub anti-PD-L1 mimo potwierdzonej ekspresji cząsteczki PD-L1 na ich komórkach nowotworowych. Ponadto nie zostało wyjaśnione, dlaczego odpowiedź na immunoterapię może dotyczyć chorych bez ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworowych. Pierwotna oporność na IPK, obserwowana u około 60–70% chorych, może wynikać z niskiego obciążenia nowotworu mutacjami somatycznymi (TMB, *tumour mutation burden*), a co za tym idzie niskiej antygenowości komórek nowotworowych. Do innych przyczyn braku odpowiedzi na IPK należą wadliwe prezentowanie antygenów nowotworo-

wych przez komórki prezentujące antygen, miejscowa immunosupresja wywołana czynnikami wytwarzanymi przez komórki nowotworowe czy funkcjonalne wyczerpanie limfocytów T obecnych w mikrośrodkowisku nowotworowym [1–3].

Wiele ostatnio pojawiających się doniesień wskazuje, że na działanie przeciwnowotworowe IPK może wpływać skład mikroflory jelitowej chorych, który moduluje odpowiedź immunologiczną wrodzoną i nabytą. Wiadomo, że w ludzkim jelicie grubym znajduje się około 500–1000 unikalnych szczepów bakteryjnych. Określa się je mianem mikroflory jelitowej, gdy analizuje się zawartość poszczególnych szczepów bakteryjnych, lub mianem mikrobiomu, gdy analizuje się genetyczną „zawartość” tych bakterii. Chociaż wiele szczegółów pozostaje nieznanymi, dostępne badania przeprowadzone na myszach i z udziałem ludzi sugerują, że ta złożona społeczność bakteryjna jest niezbędna dla wielu aspektów zdrowia, w tym fizjologii, odporności na choroby i trawienia [4, 5].

W dotychczasowych badaniach oceniających skuteczność leków przeciwko IPK zupełnie pomijano kwestie mikroflory leczonego chorego. Szukając czynników predykcyjnych odpowiedzi na leczenie lekami ukierunkowanymi molekularnie, chemioterapią i immunoterapią, nie podejrzewano, jak ważną rolę może odgrywać mikrobom chorego. Interakcje pomiędzy mikrobiomem, procesem nowotworowym i systemem odpornościowym nie są dokładnie poznane. Wiele danych wskazuje na wpływ flory bakteryjnej na onkogenezę, progresję nowotworową i odpowiedź na zastosowaną immunoterapię. Zachwianie naturalnej równowagi flory bakteryjnej chorego, na przykład poprzez zastosowanie terapii antybiotykowej i chemioterapii, może mieć istotny wpływ na skuteczność leczenia przeciwnowotworowego [6, 7]. Czy zatem należy dyskwalifikować z immunoterapii chorych poddanych antybiotykoterapii? Znajomość mikrobiomu może stanowić czynnik predykcyjny odpowiedzi na terapię, ale z drugiej strony uzupełnienie mikroflory chorego o szczepy bakteryjne o udowodnionym pozytywnym wpływie na organizm może poprawić skuteczność immunoterapii.

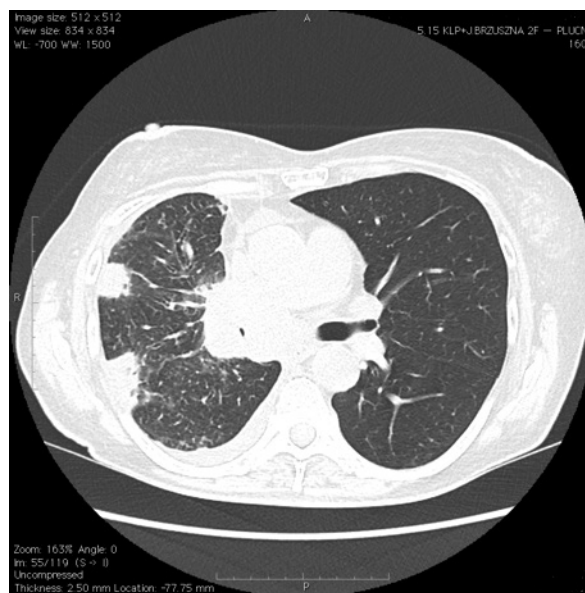
## Opis przypadku

Sześćdziesięciosześcioletnia kobieta, od wielu lat paląca tytoń, z rakiem piersi w wywiadzie rozpoznany w 2009 r. (stan po operacji i radioterapii) oraz rakiem pęcherza moczowego zdiagnozowanym w 2013 r.

(stan po przecewkowej resekcji guza), w 2016 roku została przyjęta do szpitala w celu diagnostyki z powodu niedającej żadnych objawów nieprawidłowej masy tkankowej w prawym płucu wykrytej podczas kontrolnego badania rentgenowskiego (RTG) klatki piersiowej.

Po ocenie obrazu w tomografii komputerowej (TK) wdrożono diagnostykę inwazyjną. Badanie patomorfologiczne materiału uzyskanego podczas bronchofiberoskopii ujawniło obecność komórek raka gruczołowego. Przeprowadzono badania molekularne, które nie potwierdziły obecności mutacji w genie *EGFR* i rearanżacji genu *ALK*. Ze względu na IV stopień zaawansowania choroby w chwili rozpoznania i brak możliwości zastosowania leczenia chirurgicznego pacjentkę zakwalifikowano do chemioterapii, którą rozpoczęto w październiku 2016 roku. Chora otrzymała łącznie 4 cykle leczenia systemowego opartego na pochodnych platyny. Początkowo stosowano cisplatynę, a następnie ze względu na działania niepożądane karboplatinę w połączeniu z winorelbina. Leczenie zakończono w grudniu 2016 roku ze względu na progresję choroby w kontrolnej TK. W lutym 2017 roku zastosowano radioterapię klatki piersiowej. Obszar guza naświetlono łączną dawką 20 Gy.

Z uwagi na pogarszający się stan ogólny chorej, utratę masy ciała (8 kg od chwili rozpoczęcia leczenia) oraz dostępną ówczasie możliwość leczenia przeciwciałem anti-PD-1 (niwolumabem) w programie rozszerzonego dostępu do tego leku podjęto decyzję o rozpoczęciu immunoterapii. W lutym 2017 roku rozpoczęto kwalifikację do leczenia. Wykonano TK, w której zobrazowano zmiany mierzalne (ryc. 1). Niestety, w chwili przyjęcia stan sprawności chorej określono jako średni (PS, *performance status* = 2). Chora gorączkowała do 38°C. We wstępnym badaniu TK uwidoczniono obecność odmy w szczycie prawego płuca, a w prawej jamie opłucnowej stwierdzono obecność płynu o grubości warstwy do około 30 mm. W badaniach laboratoryjnych odnotowano podwyższone stężenie białka C-reaktywnego (CRP, *C-reactive protein*) — 54,1 mg/l. Po konsultacji torakochirurgicznej odstąpiono od drenażu jamy opłucnej. Ze względu na podwyższone parametry stanu zapalnego i epizody podwyższonej temperatury ciała przeprowadzono szczegółową diagnostykę mikrobiologiczną. Nie uzyskano jednak jednoznacznego potwierdzenia pochodzenia gorączki. Wobec powyższego, po konsultacji onkologicznej, poprawie stanu ogólnego (PS = 1) i obniżeniu gorączki (temperatura ciała nie przekraczała 38°C, ale pozostawała podwyższona), zdecydowano o wdrożeniu leczenia niwolumabem w dawce 3 mg/kg mc. co 2 tygodnie w osłonie antybiotyku (zastosowano dożylnie cefamandol 3 × 1 g). Chora dobrze tolerowała pierwszy wlew niwolumabu, następnie wypisano ją do domu z zaleceniem przyjmowania klarytromycyny



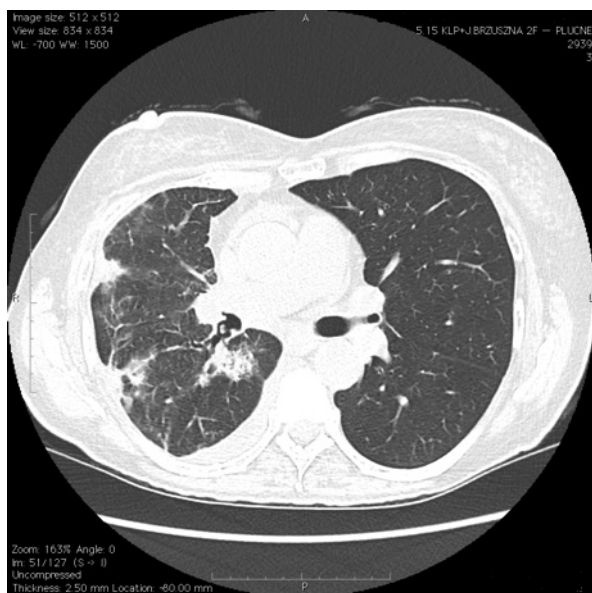
Rycina 1. Obraz tomografii komputerowej w momencie kwalifikacji do immunoterapii

w dawce 500 mg doustnie 2 razy dziennie przez 5 dni. W trakcie antybiotykoterapii stosowała probiotyczne formy bakterii (*Bifidobacterium sp.* i *Lactobacillus sp.*).

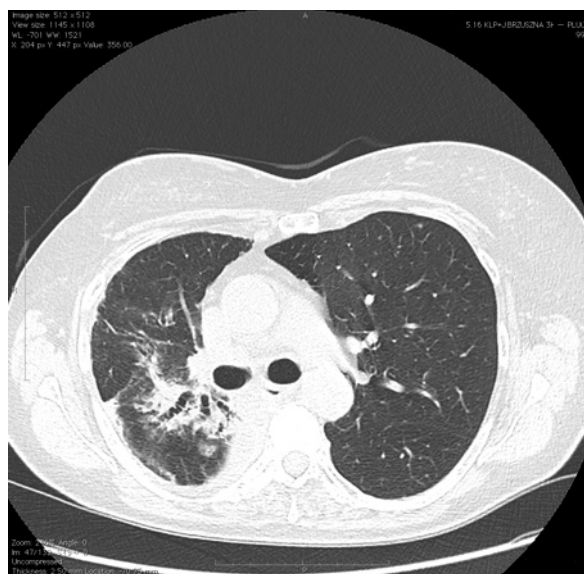
W kontrolnych badaniach laboratoryjnych wykonanych przed 2. podaniem niwolumabu stężenie CRP zmniejszyło się do 32,0 mg/l; chora przestała również gorączkować. Pacjentka przyjmowała kolejne dawki niwolumabu z dobrą tolerancją i widocznym efektem klinicznym. Stopniowo poprawiał się apetyt, nastąpiło zatrzymanie spadku, a następnie wzrost masy ciała i znaczna poprawa samopoczucia pacjentki. Podczas 5. podania niwolumabu stężenie CRP wynosiło 15,0 mg/l; ustąpiła też większość dolegliwości. W kontrolnej TK wykonanej po 6 dawkach leku odnotowano częściową regresję choroby (ryc. 2).

W kontrolnym badaniu TK po 14. podaniu leku zaobserwowano nasilenie zmian w płacie górnym prawego płuca o charakterze obszarów konsolidacji tkanki płucnej z bronchogramem powietrznym (ryc. 3). Wobec uzyskanej odpowiedzi klinicznej, przy braku innych możliwości terapeutycznych, zdecydowano o kontynuacji leczenia immunoterapią. Dobry efekt leczenia utrzymywał się. Stan chorej pozostawał stabilny, a zaobserwowane zmiany w obrębie miąższu płuc nie uległy dalszej progresji, a nawet częściowo wycofały się, co stwierdzono w kolejnych badaniach i skłoniło to do uznania zaobserwowanej konsolidacji za pseudoprogresję w przebiegu leczenia immunoterapią (ryc. 4).

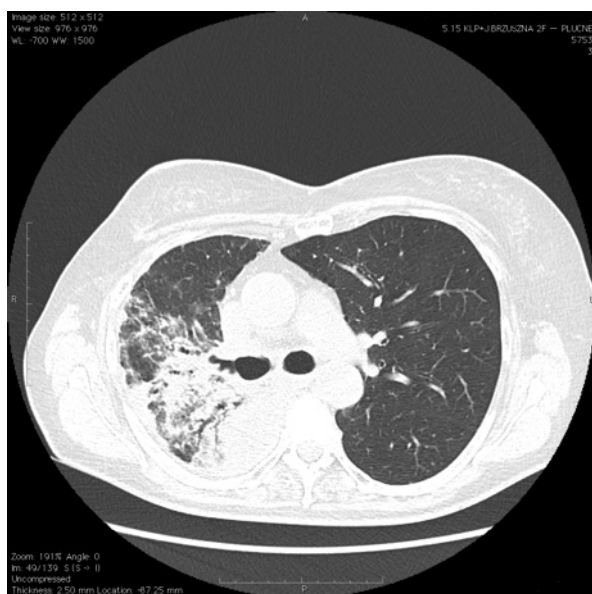
W kontrolnej TK wykonanej w marcu 2018 roku wykazano stabilizację zmian w obrębie klatki piersiowej. Badanie ujawniło natomiast obwodową zatorowość płucną o bezobjawowym przebiegu, co ponownie



**Rycina 2.** Obraz tomografii komputerowej świadczący o częściowej remisji niedrobnokomórkowego raka płuca. Widoczny rozpoczynający się proces konsolidacji tkanki płucnej



**Rycina 4.** Ustępowanie zmian konsolidacyjnych tkanki płucnej w trakcie kontynuacji immunoterapii



**Rycina 3.** Nasilenie zmian w płacie górnym prawego płuca o charakterze obszarów konsolidacji tkanki płucnej z powietrznym bronchogramem w obrazie tomografii komputerowej

spowodowało odroczenie podania niwolumabu oraz zastosowanie odpowiedniego leczenia zatorowości. Obecnie chora otrzymała 26. dawkę leku. Pozostaje w stanie ogólnym dobrym, bez objawów choroby nowotworowej, leczenie przeciwciałem anti-PD-1 jest kontynuowane.

## Przegląd literatury

Pierwsze wyniki badań dotyczące wpływu obecności wybranych szczepów bakterii jelitowych na skuteczność immunoterapii pojawiły się w 2015 roku [8]. Sivan i wsp. porównali wzrost czerniaka u dwóch szczepów myszy z odrębną komensalną florą bakteryjną i zaobserwowali różnice w spontanicznej odporności przeciwnowotworowej u tych zwierząt [8]. Wykazali, że doustne wprowadzenie wybranych bakterii jelitowych (w tym głównie suplementacja bakteriami *Bifidobacterium*) wraz z równoczesnymi iniekcjami z przeciwciałami anti-PD-L1 spowodowało zmniejszenie się masy guza u tych myszy w porównaniu z myszami nieotrzymującymi suplementacji bakteryjnej w trakcie immunoterapii. W pobranych materiałach tkankowych guzów nowotworowych autorzy obserwowali zwiększoną aktywność komórek dendrytycznych prowadzącą do nasilenia stymulacji i akumulacji limfocytów T CD8-pozytywnych w mikrośrodowisku nowotworu u zwierząt suplementowanych bakteriami jelitowymi. Autorzy sugerują, że manipulowanie mikroflorą jelitową immunizowanego organizmu może modulować odpowiedź na immunoterapię. Sivan i wsp. wskazują na rolę komensalnych *Bifidobacterium* w zwiększaniu odporności przeciwnowotworowej *in vivo*. Co więcej, odporność ta wydaje się rosnąć w sposób niezależny od prezentacji antygenów nowotworowych. Autorzy sugerują, że *Bifidobacterium* kolonizuje określony przedział w jelicie, co umożliwia mu interakcję z komórkami gospodarza, które są z kolei kluczowe dla modulowania funkcji komórek dendrytycznych i uwalniania przez nie czynników aktywujących (np. interleukina-12) pozostałe elementy komórkowe

układu immunologicznego immunizowanego organizmu [8].

W opublikowanych w *Journal of Thoracic Oncology* w 2017 roku wynikach badania retrospektywnego Thompson i wsp. ocenili skuteczność leczenia anty-PD-1 u chorych z przerzutowym NDRP, poddanych wcześniej antybiotykoterapii [9]. W badanej grupie (n = 74) 55% stanowili mężczyźni, a rozpoznanie gruczolakoraka potwierdzono u 57% chorych. U 15% badanych stwierdzono obecność ognisk przerzutowych do centralnego układu nerwowego, natomiast 38% przeszło radioterapię. Przed włączeniem immunoterapii 24% pacjentów otrzymywało antybiotyki (głównie fluorochinolony) z powodu infekcji układu oddechowego. Leczenie niwolumabem zastosowano u 95% chorych. Autorzy stwierdzili, że u pacjentów otrzymujących antybiotykoterapię do 6 tygodni przed włączeniem przeciwciała anty-PD-1 czas przeżycia wolnego od progresji (PFS, *progression-free survival*) był krótszy [współczynnik hazardu (HR, *hazard ratio*) 2,5; p = 0,02] podobnie jak czas całkowitego przeżycia (OS, *overall survival*) (HR 3,5; p = 0,004) w porównaniu z chorymi niepoddanymi wcześniejszej antybiotykoterapii. Thompson i wsp. wskazują na negatywny wpływ antybiotyków na florę jelitową przewodu pokarmowego, co może wpływać na mniejszą skuteczność immunoterapii u tych chorych [9]. Niewyjaśniona przez autorów pozostaje jednak kwestia, czy chorzy poddani antybiotykoterapii stosowali równocześnie suplementację probiotykami, co mogłoby poprawić skuteczność leczenia inhibitorami anty-PD-1.

O wpływie mikrobiomu jelitowego na skuteczność immunoterapii z wykorzystaniem IPK traktuje praca Routy'ego i wsp. opublikowana w czasopiśmie *Science* w styczniu 2018 roku [10]. Autorzy przeprowadzili doświadczenie, w którym mikroflorę kałową pobraną od chorych na raka nerki lub nowotwory płuca odpowiadających na terapię przeciwciałami anty-PD-1 (*responders*) oraz od chorych, którzy nie odpowiedzieli na tę terapię (*non-responders*), przeszczepili chorym na nowotwory myszom ze szczepów „*germ-free*” (wolnych od drobnoustrojów) oraz myszom leczonym wcześniej antybiotykami. Przeciwnowotworową odpowiedź na terapię anty-PD-1 stwierdzono u szczepów myszy po przeszczepieniu mikroflory jelitowej od chorych odpowiadających na leczenie. Nie zaobserwowano odpowiedzi na terapię anty-PD-1 u zwierząt po przeszczepie mikroflory jelitowej od chorych nieodpowiadających na terapię anty-PD-1. Na podstawie identyfikacji mikroorganizmów z próbek kału chorych nieodpowiadających na leczenie IPK wykazano niższą liczbę bakterii *Akkermansia muciniphila*, *Bifidobacterium sp.* i *Faecalibacterium sp.* w porównaniu z kałem chorych odpowiadających na immunoterapię. U myszy, u których zastosowano doustną suplementację bakteriami *Akkermansia muciniphila*, stwierdzono poprawę odpowiedzi na immunoterapię,

mimo wcześniejszego przeszczepienia flory jelitowej od pacjentów niereagujących na leczenie. U zwierząt tych dochodziło do zwiększenia infiltracji tkanki nowotworowej limfocytami pomocniczymi z ekspresją receptorów dla chemokin: CCR9 i CXCR3 [10]. Routy i wsp. wskazują na konieczność zbadania składu mikroflory jelitowej pacjenta jako czynnika predykcyjnego dla immunoterapii przeciwciałami anty-PD-1, a w przypadku wykrytych nieprawidłowości lub wcześniejszego leczenia chorego antybiotykami sugerują konieczność suplementacji organizmu probiotykami [10]. W trakcie przewlekłych stanów zapalnych dochodzi do nadmiernego pobudzenia aktywności limfocytów, produkcji prozapalnych cytokin oraz chemokin przez komórki odpowiedzi nieswoistej, co jednak zwrótnie nasila ekspresję cząsteczek IPK na komórkach organizmu.

Istotny związek pomiędzy antybiotykoterapią a odpowiedzią na leczenie inhibitorami IPK przedstawił również zespół Derosa i wsp. [11]. Z 80 chorych na raka nerkowokomórkowego 67 było leczonych inhibitorami anty-PD-1 lub anty-PD-L1 w monoterapii, 10 otrzymało skojarzoną terapię anty-PD-1 i anty-CTLA-4, a u 3 chorych zastosowano przeciwciało anty-PD-L1 (atezolizumab) i bewacyzumab. W odniesieniu do grup ryzyka według modelu prognostycznego *International Metastatic Renal Cell Carcinoma Database Consortium* (IMDC) 21% chorych było w korzystnej prognostycznie grupie, 57% w grupie pośredniego ryzyka, a 22% w grupie o niskiej szansie odpowiedzi na leczenie. Jedna piąta chorych otrzymała antybiotykoterapię (w postaci  $\beta$ -laktamaz i fluorochinolonów) w czasie pierwszego miesiąca przed rozpoczęciem leczenia immunoterapią. Na podstawie wieloparametrowej analizy dotyczącej wieku, płci, grup ryzyka według IMDC, zastosowania antybiotykoterapii oraz TMB guza w odniesieniu do skuteczności immunoterapii wykazano, że u chorych otrzymujących antybiotykoterapię PFS był krótszy w wyniku stosowania immunoterapii w porównaniu z chorymi niepoddanymi leczeniu antybiotykami (2,3 miesiąca w porównaniu z 8,1 miesiąca; p < 0,001) niezależnie od stratyfikującego czynnika prognostycznego. Odsetek obiektywnych odpowiedzi na immunoterapię był również istotnie (p < 0,002) niższy w grupie przyjmującej antybiotyki przed immunoterapią [11].

Przedstawiony w niniejszym opracowaniu opis przypadku chorej poddanej antybiotykoterapii oraz immunoterapii za pomocą przeciwciała anty-PD-1 wskazuje na możliwość uzyskania klinicznej odpowiedzi na immunoterapię mimo zastosowania równoczesnej antybiotykoterapii. Wydaje się, że ogromne znaczenie dla uzyskania odpowiedzi na niwolumab miało w tym przypadku współistnienie przewlekłego stanu zapalnego oraz suplementacja probiotykami w trakcie leczenia antybiotykami. Przewlekły stan zapalny mógł przyczynić się do długotrwałej stymulacji układu immunologicz-

nego, co dodatkowo wzmacniało przeciwnowotworową komórkową odpowiedź immunologiczną. Co więcej, antybiotykoterapia prowadzona była u chorej kilkakrotnie w trakcie utrzymujących się stanów podgorączkowych, jednak nie wpłynęło to na obniżenie skuteczności leczenia anty-PD-1. Wydaje się, że inna sytuacja występuje u chorych, u których dochodzi do ostrej infekcji, zmuszającej do stosowania antybiotykoterapii. W tym przypadku naturalną reakcją organizmu jest wygaszenie aktywności układu immunologicznego w momencie opanowania infekcji w celu niedopuszczenia do rozwoju reakcji autoimmunologicznych. To z kolei indukuje ekspresję cząsteczek IPK, w tym PD-L1, na różnych komórkach organizmu. Dlatego u chorych po przebyciu ostrej infekcji i antybiotykoterapii efekt immunoterapii może być znikomy [12].

Kluczowym pytaniem, na które należy odpowiedzieć, jest to, w jaki sposób kolonizacja jelita niektórymi gatunkami drobnoustrojów może wzmacniać odpowiedź na immunoterapię przeciwciałami anty-PD-1 czy anty-PD-L1. Jednym z rozwiązań może być to, że mimikra antygenowa, występująca pomiędzy antygenami mikrobiologicznymi i nowotworowymi, może nasilać aktywację odpowiedzi immunologicznej [13]. W takim przypadku wydaje się, że każdy pacjent wymagałby innych gatunków bakterii, które naśladowałyby unikalny dla jego nowotworu profil neoantygenowy. Ponadto możliwe jest tworzenie reakcji krzyżowych pomiędzy antygenami mikrobiomu chorego a antygenami wspólnymi dla nowotworu [13].

Pamiętać też należy, że stała cyrkulacja komórek immunologicznych i immunomodulatorów pomiędzy tkanką limfatyczną zawiązaną z jelitami oraz krążeniem obwodowym i węzłami chłonnymi może również w sposób niespecyficzny „wzmacniać” odporność w mechanizmie zwiększonego wytwarzania cytokin prozapalnych przez komórki prezentujące antygen (np. komórki dendrytyczne). Co więcej, może to indukować również zjawiska autoimmunologiczne, które u pacjentów leczonych przeciwciałami anty-PD-1 występują u 10–15% przypadków. Chorzy doświadczający autoimmunizacji wykazują lepszą odpowiedź na leczenie IPK niż chorzy, u których nie stwierdzono zjawisk autoimmunizacyjnych, co udowodniono w badaniach klinicznych [13, 14]. Z drugiej jednak strony pacjenci ci zagrożeni są poważnymi powikłaniami immunoterapii związanymi z reakcjami z autoagresji, takimi jak zapalenie tarczycy, śluzówki jelita czy śródmiąższowe zapalenie płuc.

Jednym z dokładniej zbadanych czynników predykcyjnych o istotnym wpływie na uzyskanie odpowiedzi i wydłużenie PFS u chorych poddanych immunoterapii przeciwciałami anty-PD-1 i anty-PD-L1 jest niewątpliwie ekspresja cząsteczki PD-L1 na komórkach nowotworowych. W przypadku wpływu mikrobiomu na skuteczność leczenia anty-PD-1 i anty-PD-L1 konieczne jest usta-

lenie, czy występowanie wybranych gatunków bakterii w mikroflorze jelitowej może służyć jako pojedynczy czynnik predykcyjny dla immunoterapii, czy też należy jego analizę łączyć z badaniem ekspresji PD-L1 i TMB. Czy należy rutynowo przed rozpoczęciem leczenia IPK badać mikrobiom chorych na nowotwory?

Mimo licznych doniesień na temat negatywnego wpływu antybiotyków przyjmowanych przed leczeniem IPK i w jego trakcie, należy przede wszystkim zrozumieć, czy istnieje związek między czasem stosowania, rodzajem antybiotyków i wskazaniem do stosowania antybiotyków a efektywnością immunoterapii. Ponadto trzeba również pamiętać, że obecność stanu zapalnego w organizmie może się wiązać ze zwiększoną ekspresją cząsteczek IPK, w tym aktywacji szlaku wyhamowania aktywności układu immunologicznego poprzez interakcję PD-1 i PD-L1. Z drugiej strony obecność przewlekłego stanu zapalnego powoduje stałą aktywację układu immunologicznego, co może zwiększać jego zdolność do prowadzenia odpowiedzi przeciwnowotworowej [np. udowodniono, że nowotwory u chorych na gruźlicę wykazują często wolny przebieg, a szczepionka BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) jest do dzisiaj stosowana w leczeniu uzupełniającym raka pęcherza]. Tezy te wymagają udowodnienia w badaniach klinicznych, które mogłyby wyłonić nowe czynniki predykcyjne odpowiedzi na immunoterapię zawarte w mikroflorze chorego. Takie badania mają także na celu opracowanie tzw. probiotyków immunoterapeutycznych, których stosowanie mogłoby wzmacnić efekt immunoterapii chorób nowotworowych [13].

## Piśmiennictwo

- Ribas A, Wolchok JD. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science*. 2018; 359(6382): 1350–1355, doi: [10.1126/science.aar4060](https://doi.org/10.1126/science.aar4060), indexed in Pubmed: [29567705](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29567705/).
- Yao S, Chen L. PD-1 as an immune modulatory receptor. *Cancer J*. 2014; 20(4): 262–264, doi: [10.1097/PPO.000000000000060](https://doi.org/10.1097/PPO.000000000000060), indexed in Pubmed: [25098286](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25098286/).
- Weber JS, Hodi FS, Wolchok JD, et al. Safety Profile of Nivolumab Monotherapy: A Pooled Analysis of Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol*. 2017; 35(7): 785–792, doi: [10.1200/JCO.2015.66.1389](https://doi.org/10.1200/JCO.2015.66.1389), indexed in Pubmed: [28068177](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28068177/).
- Ley RE, Peterson DA, Gordon JL. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell*. 2006; 124(4): 837–848, doi: [10.1016/j.cell.2006.02.017](https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.017), indexed in Pubmed: [16497592](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16497592/).
- Malinowska M, Tokarz-Deptuła B, Deptuła W. Mikrobiom człowieka. *Post. Mikrobiol*. 2017; 56(1): 33–42.
- Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science*. 2018; 359(6371): 97–103, doi: [10.1126/science.aan4236](https://doi.org/10.1126/science.aan4236), indexed in Pubmed: [29097493](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29097493/).
- Matson V, Fessler J, Bao R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science*. 2018; 359(6371): 104–108, doi: [10.1126/science.aao3290](https://doi.org/10.1126/science.aao3290), indexed in Pubmed: [29302014](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29302014/).
- Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. 2015; 350(6264): 1084–1089, doi: [10.1126/science.aac4255](https://doi.org/10.1126/science.aac4255), indexed in Pubmed: [26541606](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26541606/).
- Thompson J, Szabo A, Arce-Lara C, et al. Microbiome and immunotherapy: Antibiotic use is associated with inferior survival for lung cancer patients receiving PD-1 inhibitors. *J Thor Oncol*. 2017; 12: 11(S1998).

10. Routy B, Chatelier EL, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. 2017; 359(6371): 91–97, doi: [10.1126/science.aan3706](https://doi.org/10.1126/science.aan3706).
11. Derosa L, Routy B, Enot D, et al. Impact of antibiotics on outcome in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with immune checkpoint inhibitors. *Journal of Clinical Oncology*. 2017; 35(6\_suppl): 462–462, doi: [10.1200/jco.2017.35.6\\_suppl.462](https://doi.org/10.1200/jco.2017.35.6_suppl.462).
12. Kaderbhai C, Richard C, Fumet JD, et al. Antibiotic Use Does Not Appear to Influence Response to Nivolumab. *Anticancer Res*. 2017; 37(6): 3195–3200, doi: [10.21873/anticancer.11680](https://doi.org/10.21873/anticancer.11680), indexed in Pubmed: [28551664](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28551664/).
13. Sears CL, Pardoll DM. The intestinal microbiome influences checkpoint blockade. *Nat Med*. 2018; 24(3): 254–255, doi: [10.1038/nm.4511](https://doi.org/10.1038/nm.4511), indexed in Pubmed: [29509750](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29509750/).
14. Nallasamy P, Chava S, Verma SS, et al. PD-L1, inflammation, non-coding RNAs, and neuroblastoma: Immuno-oncology perspective. *Semin Cancer Biol*. 2017 [Epub ahead of print], doi: [10.1016/j.semcancer.2017.11.009](https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.11.009), indexed in Pubmed: [29196189](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29196189/).