

# Současné možnosti imunoterapie nádorových onemocnění

## Current Approaches in Cancer Immunotherapy

Otáhal P., Trněný M.

I. interní klinika – klinika hematologie 1. LF UK a VFN v Praze

### Souhrn

Metody nádorové imunoterapie pronikají po mnoha letech experimentálních výzkumů do klinické praxe. Existuje několik metod, které se ukázaly jako velmi účinné v případech již neléčitelného nádorového onemocnění. Protinádorové protilátky patří mezi základní pilíře nádorové imunoterapie a jsou úspěšně používány řadu let. Novější skupinou jsou imunomodulační protilátky, které mají schopnost prolomit nádorovou toleranci a navodit regresi nádorů prostřednictvím nespecifické aktivace imunitního systému. Bispecifické protilátky aktivující T lymfocyty reprezentují zcela novou třídu protinádorových léčiv, která navodí expanzi T lymfocytů *in vivo*. Představitel této třídy blinatumomab je v současnosti dostupný k léčbě B lymfoblastové leukemie. V metodách buněčné imunoterapie se ukazuje jako velmi účinná léčba B buněčných lymfoproliferací pomocí geneticky modifikovaných T lymfocytů exprimujících chimérické antigenní receptory. Ačkoliv se jedná o technicky složitou a nákladnou metodu, jde o velmi úspěšný postup, který je schopen navodit remisi i ve zcela beznadějných případech. Cílem tohoto článku je vysvětlit základní principy nádorové imunoterapie a shrnout nejnovější poznatky v této oblasti.

### Klíčová slova

rakovina – lymfomy – imunoterapie – monoklonální protilátky – genová terapie

### Summary

Methods of cancer immunotherapy have finally entered clinical medicine after years of preclinical research. Currently, there are several methods, which have proven to be very effective even in cases of incurable cancer. Antitumor monoclonal antibodies are among major therapeutic anti-cancer drugs and have been successfully used for many years. Novel group of antibodies are immunomodulatory antibodies which can break tumor-specific immune tolerance and induce regression of tumors by non-specific activation of immune system. Bispecific antibodies represent a novel class of anti-cancer agents which can induce expansion of T cells *in vivo*, blinatumomab is an example of such agents and is currently available for the treatment of acute B-cell leukemia. Cellular immunotherapy is also very effective, especially the use of Chimeric receptor modified T-cells for the therapy of B-cell lymphoproliferative diseases. Although it is a very complicated and expensive method, it is highly effective approach which can induce remission even in previously hopeless conditions. The goal of this article is to explain the basic principles of cancer immunotherapy and summarize the newest findings in this field.

### Key words

cancer – lymphoma – immunotherapy – monoclonal antibodies – gene therapy

Práce byla podpořena grantem IGA MZ ČR č. NT/14030-3.

This study was supported by grant of Internal Grant Agency of the Czech Ministry of Health No. NT/14030-3.

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



MUDr. Pavel Otáhal

I. interní klinika – klinika hematologie

1. LF UK a VFN v Praze

U Nemocnice 2

128 08 Praha 2

e-mail: pavel.otahal@vfn.cz

Obdrženo/Submitted: 23. 9. 2015

Přijato/Accepted: 27. 9. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20153S105>

**Úvod**

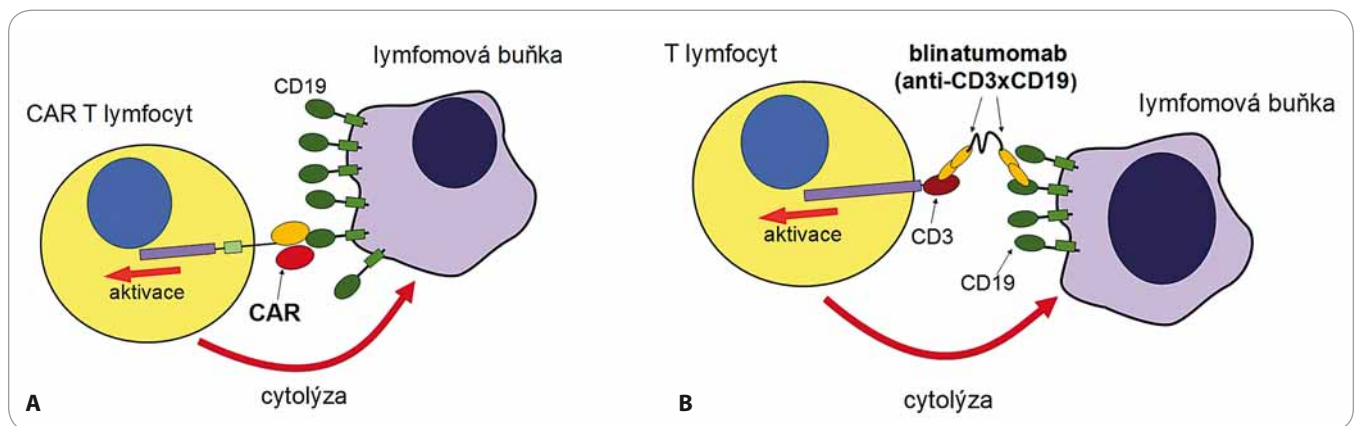
Vztah mezi imunitou a nádory je dynamický a komplexní systém. Nádorové buňky jsou charakterizovány přítomností mnoha genetických mutací a dysregulací v epigeneticky řízených genech a produkty těchto změn jsou rozpoznávány imunitním systémem jako cizí antigeny. Nicméně výsledek tohoto dynamického vztahu je paradoxně charakterizován rozvojem tolerance, při které jsou tyto *de novo* vzniklé nádorové antigeny viděny imunitním systémem jako antigeny tělu vlastní a jakákoliv imunitní odpověď je velmi účinně tlumena [1]. Rostoucí nádory obsahují obvykle relativně velké množství infiltrujících lymfocytů, které nejsou schopny navodit eliminaci nádoru *in vivo*, ale mimo imunosupresivní a tolerizující prostředí nádorového stromatu jsou plně funkční a schopny cytotoxického účinku, produkce cytokinů a proliferace. To je způsobeno charakteristickými vlastnostmi nádorového mikroprostředí, které vyvolává supresi lymfocytů mnoha mechanismy a vede k rozvoji tzv. nádorové tolerance [2]. Hlavní mechanismy, které účinně brání rozpoznání nádorů imunitním systémem, jsou vyvolány nenádorovou populací buněk ze skupiny myeloidních supresorových buněk a přítomností regulačních lymfocytů (CD4+ Treg). Dále řada nádorů přímo exprimuje na svém povrchu ligandy, které se vážou na inhibiční receptory na povrchu infiltrujících T lymfocytů (PD-1, LAG-3, CTL-4), a přímo tak navodí jejich supresi. A poslední mechanismus nádorové tolerance spočívá v produkci inhibičních

cytokinů (TGF β, IL-10) jak přímo nádorovými buňkami, tak nenádorovou populací supresorických buněk. Příkladem, jak alespoň trochu zamezit supresi T lymfocytů v nádorech, je nyní již historická aplikace IL-2 (Proleukin). Účinnost této léčby je diskutabilní. Používala se v léčbě melanomu a karcinomu ledviny. Podání IL-2 nespecificky stimulovalo imunitní systém a vyvolalo systémovou zánětlivou odpověď s typickými příznaky (teplota, hypotenze, průjem, zvracení, vyrážka), částečně to vedlo k aktivaci protinádorových T lymfocytů, ale zároveň bohužel došlo ke stimulaci supresorických T lymfocytů [3]. Tato léčba je nyní již překonána a intenzivní výzkum mechanismů nádorové tolerance přenesl pozornost na více specifické terapeutické cíle a odhalil nové možnosti léčby. Cílem tohoto článku je shrnout postupy protinádorové imunoterapie, které jsou dostupné pacientům v klinických studiích, a porovnat jejich účinnost.

**Nádorově specifické protilátky**

Monoklonální protilátky mají zásadní dopad na léčbu nádorových onemocnění a jsou označovány jako biologická protinádorová léčiva [4]. Rituximab (Mabthera®, anti-CD20), trastuzumab (Herceptin®, anti HER2/neu) a bevacizumab (Avastin®, anti-VEGEGF) jsou jedny z nejprodávanějších protinádorových léčiv. Protinádorové mAb fungují přes naprosto stejné mechanismy jako přirozené protilátky vznikající např. při virové infekci. Protilátky se naváží variabilní doménou na povrchové antigeny

na nádorových buňkách a konstantní doménou aktivují komplement a část lymfocytů označovaných jako NK buňky, což v důsledku vede ke zničení nádorové buňky. Aktivace NK buněk označovaná jako ADCC (antibody dependent cell cytotoxicity) je pravděpodobně hlavní efektorový mechanismus, alespoň pro rituximab představující jednu z prvních, a přesto stále neúspěšnějších terapeutických protilátek. Aktivace komplementu pomocí mAb (complement dependent cytotoxicity – CDC) je další mechanismus v protinádorovém působení protilátek. Je významný zejména u hematologických malignit, protože nádorové buňky jsou vystaveny působení komplementu v krevním řečišti a kostní dřeni. Existuje ale velmi málo důkazů, že efekt CDC má význam u solidních nádorů. Velmi malý efekt má pravděpodobně aktivace receptoru, na který se mAb váže na povrchu nádorových buněk. V současnosti se uplatňuje další generace protilátek, jež mají modifikované vlastnosti. Například ofatumumab [5] je anti-CD20 mAb, která má větší schopnost navodit CDC v porovnání s rituximabem. Jiný způsob modifikace mAb genetickou modifikací FC oblasti v místě vazby na ADCC naopak může selektivně zvýšit účinnost tohoto mechanismu, což je příklad anti-CD20 protilátky obinutuzumab [6]. Účinnost takto modifikovaných protilátek v porovnání s rituximabem však není jednoznačně vyřešena a stále se testuje v řadě klinických studií. První a dosud jediné přímé srovnání dvou anti-CD20 protilátek obinutuzumabu a rituximabu, v obou pří-



Obr. 1. Protinádorové působení CAR T lymfocytů (A) a blinatumomabu (B).

Tab. 1. Bispecifické protilátky testované v klinických studiích [7].

Výrobce	Název	Cíl BiTE	Typ nádoru
Trion Pharma	Removab	epithelial cell adhesion molecule (EpCam) × CD3	maligní ascites
Amgen	Blincyto	CD19 × CD3	Ph-neg. B-ALL
Amgen	AMG-110	EpCam × CD3	karcinomy
Affimed Therapeutics	AFM13	CD30 × CD16A	Hodgkinův lymfom
Merrimack Pharmaceuticals	MM-111	human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) × HER3	karcinom žaludku
Roche	RG7221 (RO5520985)	angiopoietin 2 (Ang-2) × vascular endothelial growth factor a (VEGF-A)	kolorektální karcinom
Genentech	RG7597 (MEDH7945A)	epidermal growth factor receptor (EGFR) × HER3	kolorektální karcinom, karcinomy hlavy a krku
Merus	MCLA-128	HER2 × HER3	karcinomy
Amgen	MEDI-565 (AMG-211)	carincoembryonic antigen × CD3	adenocarcinom GIT
Macrogenics	MGD006	CD123 × CD3	AML
Genentech	CD20 TDB	CD20 × CD3	B lymfoproliferace

padech v kombinaci s chlorambucilem u komorbidních nemocných s chronickou lymfocytární leukémií, ukázalo v tomto případě lepší efektivitu obinutuzumabu [6].

### Bispecifické protilátky

Jsou také označovány jako bi-specific T cell engagers (BiTE). Tyto protilátky jsou molekulární nástroje připravené genetickými manipulacemi [7]. Jedná se o protein tvořený dvěma protilátkami s různou specifitou. V případě blinatumomabu první protilátka rozpoznává antigen CD3 na povrchu T lymfocytů a druhá antigen CD19 na povrchu B lymfocytů (obr. 1) [8]. Vazba blinatumomabu na oba antigeny současně spojí efektorový T lymfocyt s maligním B lymfocytom, toto spojení navodí aktivaci T lymfocytu a zabití B lymfocytu. Blinatumomab si můžeme představit jako velmi silné „molekulární lepidlo“, které „slepí“ T lymfocyty s B lymfocyty, má tedy naprosto jiný mechanismus účinku než běžné terapeutické mAb. Současná vazba na receptor CD3 na T lymfocyttech s receptorem CD19 na B lymfocyttech navodí mohutnou proliferaci T lymfocytů a takto aktivované T lymfocyty začnou ihned zabíjet všechny B lymfocyty, na které jsou navázány. Blinatumomab je testován v klinické studii na

pacientech s refrakterní/relabující B buněčnou akutní leukémií. Předběžné výsledky ukazují doslova zázračnou účinnost této nové formy terapie [8]. Způsob podání je však velmi specifický – podává se v kontinuální infuzi po dobu čtyř týdnů na jeden cyklus léčby, protože má krátký biologický poločas v důsledku renální eliminace. Pro dostatečnou účinnost je nutné v organismu udržet dlouhodobě stabilní hladinu, neboť jakmile je blinatumomab eliminován, tak T lymfocyty přestávají reagovat s B lymfocyty a účinek léčby prudce klesá. Nežádoucí účinky (NÚ) této léčby jsou přítomny ve 100 % případů a jenom se liší svojí intenzitou. Bezprostřední NÚ spočívají v tzv. syndromu cytokinové bouře, kdy aktivací T lymfocytů blinatumomabem dojde k náhlému vyplavení prozánětlivých cytokinů (hlavně IL-6, IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ ) s celkovými projevy, jako je horečka, zimnice, bolesti hlavy a projevy neurotoxicity. NÚ mohou progredovat až do rozvoje šokového stavu s respiračním a oběhovým selháním v důsledku poškození cévního endotelu v kapilárách (capillary leak syndrom). Následující nežádoucí účinek je naopak ve své podstatě žádoucí, neboť je projevem mohutného protinádorového působení aktivovaných T lymfocytů. U pacientů s B-ALL je antigen CD19 přítomen jak na maligních

blastech, tak i na zdravých B lymfocyttech a to vede k eliminaci všech B lymfocytů včetně těch zdravých. Důsledkem léčby je absolutní deplece všech B lymfocytů v těle pacienta s následným rozvojem protilátkového deficitu. Nejedná se však o fatální komplikaci. Protilátkový deficit lze hradit podáváním imunoglobulinů a po ukončení léčby blinatumomabem dojde ke spontánní reparaci B lymfocytů.

BiTE patří mezi průlomové léky a jejich další rozvoj přinese zásadní léčebné úspěchy v řadě dalších malignit, zejména B-ALL. Pomocí BiTE lze teoreticky zacílit jakýkoliv nádor, protože princip fungování je univerzální na jakýkoliv povrchový antigen. V tab. 1 jsou uvedeny příklady v současnosti probíhajících klinických studií s BiTE na různé typy nádorů. Kromě již zmíněného blinatumomabu u ALL/lymfoblastového lymfomu a dalších lymfomů [9] se testuje protilátka AFM13 (CD30xCD16A) u Hodgkinova lymfomu, výsledky zkoušek fáze I ukazují odpověď 11,5 % a stabilizaci onemocnění u 50 % nemocných [10]. Dále je to protilátka CD20 TDB (CD3xCD20) vyvíjená firmou Genentech, která má farmakokinetické vlastnosti podobné klasickým protilátkám a nemusí být podávána kontinuální infuzí jako blinatumomab [11].

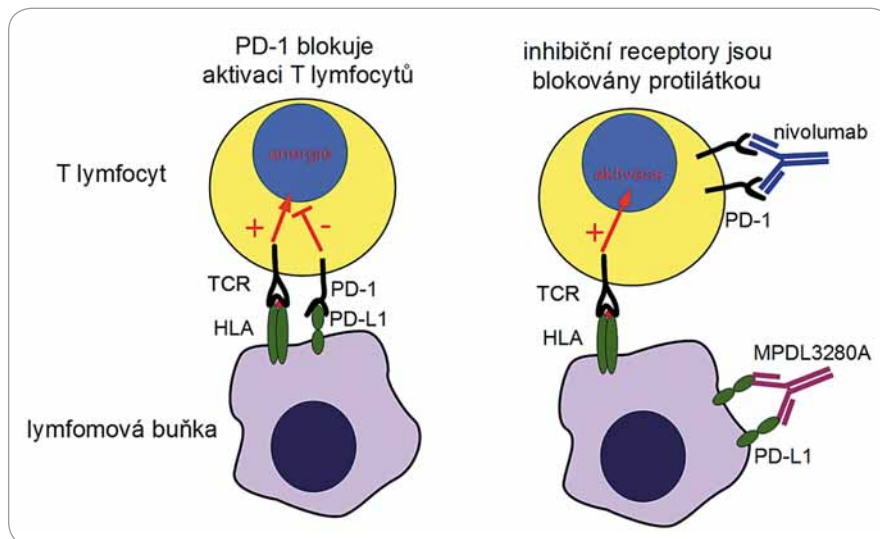
### Imunomodulační protilátky

Nádory jsou pro organizmus přirozeně imunogenní. Jednotlivé typy nádorů jsou charakterizovány přítomností několika málo typických antigenů, zároveň ale jsou nádory mezi jedinci velmi heterogenní a obsahují mnoho jedinečných antigenů pocházejících z mutovaných genů. Imunitní odpověď na tyto nádorové antigeny je však tlumena mechanismy nádorové tolerance, a tak nádory unikají zničení imunitním systémem, přestože jsou účinně rozpoznány. Reaktivita T lymfocytů na antigenní komplexy je výsledkem interakce mnoha povrchových receptorů. Primárně musí dojít k rozpoznání krátkého antigenního peptidu derivovaného z intracelulárních proteinů, který je navázán na molekuly his-

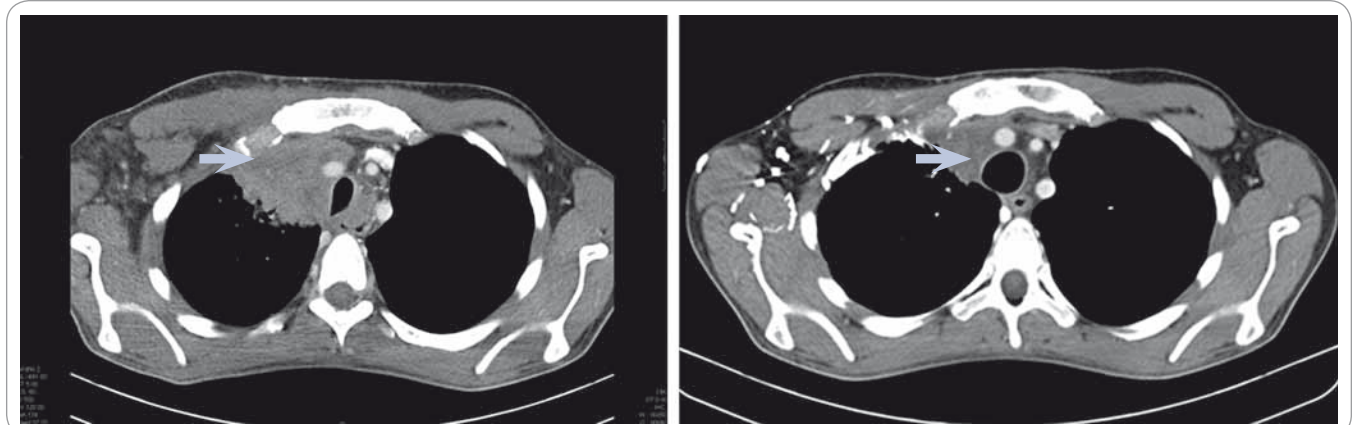
tokompatibilního systému (HLA). Tato interakce je ale modifikována aktivitou mnoha dalších povrchových receptorů obecně nazývaných kostimulační molekuly. Některé z těchto pomocných receptorů jsou aktivující (např. CD28) a některé naopak odpověď lymfocytů tlumí (PD-1, CTLA-4). Tlumící receptory lze jednoduše přirovnat k „brzdám“, které tlumí nadbytečnou imunitní odpověď a zamezují vzniku autoimunity (obr. 2, 3). Některé nádory, mezi nimi i krevní, např. Hodgkinův lymfom, vedou k aktivaci těchto inhibičních molekul a navozují útlum cytotoxické reakce a tak se chrání [12]. Nové trendy imunoterapie se soustředily na vývoj metod, které by vypnuly tyto inhibiční receptory a reaktivovaly existující imunitní odpověď proti mnoha ná-

dorovým antigenům současně. Léčba těmito tzv. immune checkpoint inhibitory (ICI) [13] je však charakterizována řadou NÚ, které pramení z navození náhlé a masivní aktivity T lymfocytů s projevy prudké a generalizované autoimunitní reakce (exantém, horečka, hepatotoxicita, kolitida, pneumonitida, hypofizitida). Zejména postižení plic může mít až fatální následky. Charakteristická vlastnost léčby ICI je tzv. nekonvenční odpověď na léčbu, která se liší od běžné odpovědi pozorované po podání klasické chemoterapie. Navození protinádorového účinku vyžaduje aktivaci T lymfocytů, což může u pacientů trvat překvapivě různě dlouhou dobu. Tento mechanismus může vést k opožděnému nástupu účinku léčby až do období několika týdnů až měsíců po zahájení terapie. V mezidobí byly popsány přechodné progrese nádorů neznamenající nutně selhání léčby. Klinicky testované protilátky se zkoušejí v podstatě na všechny typy nádorových onemocnění.

Ipilimumab je mAb blokující receptor CTLA-4. Po léčbě je popsáno prodloužení OS v řádu několika měsíců u pacientů s melanomem [14] a malobuněčným karcinomem plic. U karcinomu prostaty je efekt ipilimumabu sporný; probíhá studie ipilimumab + vakcína Provenge. Tremelimumab také blokuje CTLA-4. Ten se naopak ukázal neúčinný na melanom. U části pacientek s karcinomem prsu došlo k dočasnému zastavení progrese onemocnění v řádu měsíců. Dále probíhá klinické testování fáze III u maligního mezoteliomu [15].



Obr. 2. Imunomodulační protilátky.



Obr. 3. Efekt nivolumabu u nemocného s primárně rezistentním Hodgkinovým lymfomem, relapsem dva měsíce po autologní transplantaci, progredující na terapii brentuximabem vedotinem.

Nivolumab blokuje receptor PD-1 a ukázal se velmi účinný u Hodgkinova lymfomu [16]. V této počtem malé studii fáze I dosáhlo odpovědi 87 % těžce předléčených nemocných, kompletních remisí bylo 17 %. Účinnost nivolumabu u karcinomu tlustého střeva, prostaty byla malá. Pembrolizumab je testován rovněž u Hodgkinova lymfomu. Předběžné výsledky hodnocené tři měsíce po zahájení léčby u populace nemocných, kde selhal brentuximab vedotin, ukázaly 53 % celkových odpovědí s 20 % kompletních remisí [17]. Ve velmi zajímavé studii s pidilizumabem v kombinaci s rituximabem u folikulárního lymfomu bylo dosaženo 52 % kompletních remisí a celková odpověď byla zaznamenána u 66 % nemocných [18]. Prováděné sekvenční biopsie před léčbou a v jejím průběhu u části nemocných ukázaly korelaci mezi stupněm T buněčné odpovědi a dobou do progresu. Další cestou je hledání kombinací těchto látek s chemoterapií, radioterapií, jinými imunomodulačními látkami či aktivní imunizací. Příklady testovaných protilátek jsou uvedeny v tab. 2.

### Protinádorové vakcíny a buněčná imunoterapie

První metody nádorové imunoterapie byly založeny na metodách aktivní imunizace (vakcinace) proti nádorům. Využívala se řada postupů – vakcinace pomocí dendritických buněk, mrtvých nádorových buněk, rekombinantně připravených proteinů, rekombinantních virů, či přímo směsí antigenních peptidů. Za dobu testování protinádorových vakcín proběhlo nemalé množství klinických studií a do těchto postupů bylo vkládáno mnoho nadějí. Bohužel výsledky nenaplnily očekávání a tyto postupy se ukázaly jako málo účinné. Příkladem může být vakcína proti karcinomu prostaty Provenge. Jednalo se o individuálně připravenou a pro každého pacienta jedinečnou vakcínu na bázi dendritických buněk. Tato vakcína byla testována ve třech studiích fáze III, které ukázaly benefit na OS v řádu několika měsíců [19]. Následně byla schválena FDA v roce 2010 k léčbě hormonálně rezistentního karcinomu prostaty. Problémem Provenge byl velmi špatný poměr cena-be-

Tab. 2. Přehled testovaných imunomodulačních protilátek.

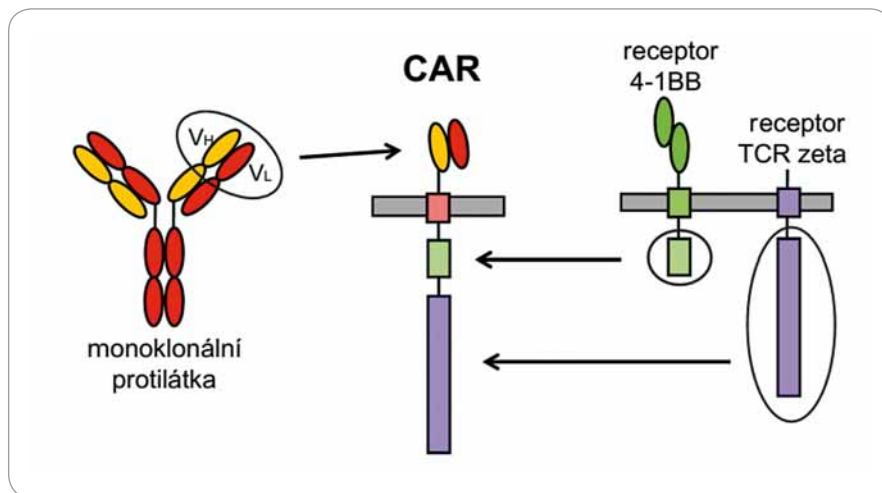
Název mAb	Blokovaný receptor	Typ nádoru
ipilimumab	CTLA-4	melanom, karcinomy prostaty, malobuněčný karcinom plic, GIT, ovaria, lymfomy
tremelimumab	CTLA-4	mezoteliom
nivolumab	PD-1	lymfomy, glioblastom, karcinomy GIT
pembrolizumab	PD-1	lymfomy, karcinomy plic, střeva, melanom
pidilizumab	PD-1	karcinomy prostaty, pankreatu, lymfomy, myeloidní leukemie, mnohočetný myelom, glioblastom
MPDL3280A	PD-L1	karcinom ledviny, močového měchýře, plic

nefit, neboť léčba stála cca 100 000 USD při prodloužení OS o cca čtyři měsíce (dle studií) a poněkud pochybná účinnost [20]. Takto z klinického pohledu limitovaná účinnost zamezila širšímu rozšíření. Vakcína je však stále dostupná a v současnosti probíhá klinická studie kombinace ipilimumab-Provenge. V oblasti lymfomů existuje řada studií testujících vakcinační přístup, výsledkem randomizovaných fází III studií bylo buď neprokázání benefitu vakcinace, nebo jen mírný klinický benefit v době trvání odpovědi [21]. Problémem těchto studií obecně je, že byly prováděny ještě před „rituximabovou“ érou. Nedostatečná účinnost protinádorových vakcín spočívá v mechanismech nádorové tolerance, které zabraňují vzniku dostatečného počtu protinádorových T lymfocytů po imunizaci. Jednou z možností, jak toto obejít, je „vyrobit“ velké množství protinádorových T lymfocytů *in vitro* a následně je aplikovat pacientovi. Tyto postupy se také testují již dlouhou dobu a přinesly jen o trochu lepší výsledky než vakcinace, tj. byly popsány ojedinělé regrese nádorů – nejčastěji metastázy melanomu. Příčina selhání je opět v nádorové toleranci, protože podané nádorově specifické lymfocyty byly v prostředí nádoru aktivně tlumeny. Poznání těchto příčin neúspěchu vedlo k vývoji nových metod buněčné imunoterapie založených na genetické modifikaci T lymfocytů pomocí vnesení umělých genů, kterými byly T lymfocyty učiněny rezistentními na mechanismy nádorové tolerance. Jedná se o tzv. CAR (chimé-

rické antigenní receptory) modifikované T lymfocyty [22].

Cytotoxické T lymfocyty rozpoznávají cizí antigeny pomocí povrchového receptoru, který velmi specificky reaguje s hlavními histokompatibilními antigeny (HLA), jež mají na povrchu navázány antigeny ve formě krátkých peptidů. Tato aktivace je velmi komplexní a složitý proces. T lymfocyty musí reagovat s komplexem peptid-HLA s přesně danou afinitou, která závisí na průběhu maturace T lymfocytů v thymu, a každý jedinec má svoje T lymfocyty přesně „vychované“ na svoje individuální alely HLA. V protikladu k tomu stojí protilátky, které reagují s antigeny přímočaře a univerzálně, ale nejsou schopny vyvolat tak intenzivní a dlouhotrvající cytotoxickou reakci. Existuje způsob, jak kombinovat jednoduchost rozpoznávání antigenů protilátkami s cytotoxicitou lymfocytů. Spojíme-li část protilátky reagující s nějakým povrchovým antigenem s intracelulární signální částí T receptoru, tak tento umělý receptor (CAR) bude fungovat v principu stejně jako normální T receptor, avšak jeho specifita bude definována protilátkovou částí a nebude omezena variabilitou HLA molekul (obr. 4). Po vnesení tohoto umělého genu do T lymfocytů pacienta a jejich namnožení *in vitro* získáme ohromný počet cytotoxických T lymfocytů rozpoznávajících námi zvolený povrchový antigen.

Léčba probíhá v několika fázích. Nejprve jsou pacientům odebrány z krve lymfocyty, ty jsou následně aktivovány *in vitro* pomocí protilátek stimulujících



Obr. 4. Schéma chimerického antigenního receptoru.

T receptor a kostimulační molekulu CD28 a pomocí rekombinantního lentivirového vektoru je do nich vnesen transgen pro chimerický receptor specifický na antigen CD19. Tento antigen byl zvolen, protože maligní buňky leukemií a lymfomů vycházejících z B lymfocytů si zachovávají expresi liniových antigenů, což je právě povrchová molekula CD19. Aktivované T lymfocyty se expandují v kultivačním médiu po dobu asi 14 dnů, během této krátké doby exponenciálně rostou až na množství řádově  $10^9$ – $10^{10}$  buněk. Buňky se následně zamrazí a čekají na vhodnou dobu pro podání pacientovi, z jehož krve byly připraveny. Příprava buněk je velmi náročná, protože musí probíhat ve speciálních superčistých laboratořích. Pokud proběhla příprava buněk úspěšně, lze přistoupit k jejich podání pacientovi formou běžné intravenózní infuze. Jakmile CAR T buňky rozpoznají antigen CD19 na povrchu nádorů pomocí chimerického receptoru, spustí se aktivační signály a buňky se velmi těsně přilepí na povrch nádorových buněk, uvolní cytotoxická granula a zabijí je. Zároveň aktivace přes CAR navodí další proliferaci T lymfocytů a vede k ještě větší reakci proti nádoru (obr. 1). Léčba směřovaná na antigen CD19 má závažný, ale nikoliv zásadní nežádoucí účinek – dojde k eliminaci všech buněk exprimujících CD19, tedy i zdravých B lymfocytů stejně jako při léčbě blinatumomabem.

Léčba pomocí CAR19 specifických T lymfocytů je tedy velmi podobná léčbě blinatumomabem – nežádoucí účinky jsou v podstatě totožné, nicméně účinnost této léčby může být větší. Několik pacientů s B-ALL, kteří progredovali po léčbě blinatumomabem, bylo úspěšně léčeno pomocí CAR T lymfocytů [22]. Na rozdíl od blinatumomabu se CAR buňky podají jenom jednou a pacienti nemusí být několik týdnů napojeni na kontinuální infuzi. Nevyřešena je otázka trvalé deplece B buněk vyvolaná CAR T lymfocyty. To však není tak velký medicínský problém, neboť pacientům lze snadno suplementovat imunoglobuliny a v některých studiích se ukázalo, že CAR T buňky po určité době v řádu měsíců až jednoho roku z organismu zmizí a následně dojde k reparaci B lymfopoézy.

Výsledky léčby CAR jsou v současnosti nejlepší u nemocných s ALL, následovaných nemocnými s CLL. Efektivita se zatím jeví nejnižší u nemocných s lymfomy, zejména agresivními, i když i zde jsou výsledky u rezistentních lymfomů velmi slibné [22–25]. V současnosti se intenzivně hledají způsoby, jak po navození remise onemocnění podané CAR lymfocyty z organismu odstranit. Například regulovatelnou expresí CAR genu nebo pomocí vnesení sebevražedného genu společně s genem pro CAR, což by umožnilo kontrolovat hlavní NÚ léčby – trvalou depleci B lymfocytů. Výzkum v této oblasti se dnes soustřeďuje na identifikaci nových cílů na ostatních typech hematologických malignit,

např. antigen CD123 u akutní myeloidní leukemie [26].

### Shrnutí

Imunoterapeutické postupy léčby nádorových onemocnění prodělaly bouřlivý rozvoj. V posledních letech jsme byli svědky nejprve tiché revoluce, která v posledních asi dvou letech doslova mediálně explodovala. Po mnoha letech nic neříkajících a diskutabilních výsledků máme nyní k dispozici několik fungujících léčebných postupů s jednoznačně prokázaným efektem rovnajícím se zázraku. Tato revoluce byla odstartována prvními velmi úspěšnými klinickými studiemi s CART lymfocyty u pacientů s beznadějně progredujícími B lymfoproliferacemi. Krátce nato se ukázaly podobně vynikající výsledky léčby s blinatumomabem u pacientů s B-ALL. Další metodou s prokazatelným efektem jsou imunomodulační protilátky, jako je např. léčba nivolumabem u pacientů s Hodgkinovým lymfomem. Nevyřešenou otázkou je, proč vidíme tak dramatický rozdíl v účinnosti imunoterapie v léčbě hematologických malignit v porovnání s nehematologickými nádory. Zatímco efekt léčby B-ALL a B lymfomů pomocí CAR buněk nebo blinatumomabu se rovná naprostému vymizení choroby, v léčbě karcinomů se pohybujeme maximálně v prodloužení OS v řádu měsíců. Úkolem výzkumu tedy bude zejména vyřešit problém nízké účinnosti imunoterapie na nehematologické nádory. Do budoucna lze přesto očekávat, že CAR T buňky, BiTEs a Checkpoint blockage inhibitors se stanou spolu s kinázovými inhibitory poslední linií léčby rezistentních nádorových onemocnění. Cílem tohoto článku není shrnout všechny imunoterapeutické postupy, které kdy byly zkoušeny, ale naopak z mnoha existujících metod zdůraznit ty metody, u nichž byla dokumentována nepochybná účinnost a s kterými se budeme nepochybně v blízké budoucnosti setkávat v klinické praxi (tab. 3).

### Literatura

1. Ansell SM. Targeting immune checkpoints in lymphoma. *Curr Opin Hematol* 2015; 22(4): 337–342. doi: 10.1097/MOH.0000000000000158.
2. Joyce JA, Fearon DT. T cell exclusion, immune privilege, and the tumor microenvironment. *Science* 2015; 348(6230): 74–80. doi: 10.1126/science.aaa6204.

**Tab. 3. Shrnutí.**

Imunoterapeutická metoda	Léčený typ nádorů	Efekt léčby
protinádorové protilátky	lymfomy, leukemie, solidní nádory	jednoznačný benefit léčby u hematologických malignit (rituximab, ofatumumab, obinutuzumab) a u některých solidních nádorů (trastuzumab)
bispecifické protilátky	B lymfoproliferace	velmi účinné
imunomodulační protilátky	hematologické malignity, karcinomy	pozorovány jasné regrese hematologických malignit, klíčové studie stále probíhají
protinádorové vakcíny (dendritické buňky, proteiny peptidy, buněčné lyzáty)	hematologické malignity, karcinomy, řada dalších	nebyla prokázána jasná účinnost, efekt sporný
autologní nádorové lymfocyty	solidní nádory	ojedinele dokumentovaná regrese nádorů
autologní NK buňky	solidní nádory	ojedinele dokumentovaná regrese nádorů
CART lymfocyty	hlavně B lymfoproliferace, dále se zkouší na mnoho typů jiných nádorů	velmi účinné na B lymfoproliferace – možná ještě větší efekt než blinatumomab; u solidních nádorů je efekt sporný

3. Sim GC, Martin-Orozco N, Jin L et al. IL-2 therapy promotes suppressive ICOS+ Treg expansion in melanoma patients. *J Clin Invest* 2014; 124(1): 99–110.

4. Suresh T, Lee LX, Joshi J et al. New antibody approaches to lymphoma therapy. *J Hematol Oncol* 2014; 7: 58. doi: 10.1186/s13045-014-0058-4.

5. van Oers MH et al. Ofatumumab maintenance versus observation in relapsed chronic lymphocytic leukaemia (PROLONG): an open-label, multicentre, randomized phase 3 study. *Lancet Oncol* 2015.

6. Goede V, Fischer K, Busch R et al. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370(12): 1101–1110. doi: 10.1056/NEJMoa1313984.

7. Sheridan C. Amgen's bispecific antibody puffs across finish line. *Nat Biotechnol* 2015; 33(3): 219–221. doi: 10.1038/nbt0315-219.

8. Topp MS, Gökbuget N, Zugmaier G et al. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2014; 32(36): 4134–4140. doi: 10.1200/JCO.2014.56.3247.

9. Bargou R, Leo E, Zugmaier G et al. Tumor regression in cancer patients by very low doses of a T cell-engaging antibody. *Science* 2008; 321(5891): 974–977. doi: 10.1126/science.1158545.

10. Rothe A, Sasse S, Topp MS et al. A phase 1 study of the bispecific anti-CD30/CD16A antibody construct AFM13 in patients with relapsed or refractory Hodgkin lymphoma. *Blood* 2015; 125(26): 4024–4031. doi: 10.1182/blood-2014-12-614636.

11. Sun LI, Ellerman D, Mathieu M et al. Anti-CD20/CD3 T cell-dependent bispecific antibody for the treatment of

B cell malignancies. *Sci Transl Med* 2015; 7(287): 287ra70. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa4802.

12. Eyre TA, Collins GP. Immune checkpoint inhibition in lymphoid disease. *Br J Haematol* 2015; 170(3): 291–304. doi: 10.1111/bjh.13397.

13. Mahoney KM, Rennett PD, Freeman GJ. Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14(8): 561–584. doi: 10.1038/nrd4591.

14. Valsecchi ME. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; 373(13): 1270. doi: 10.1056/NEJM1509660#SA1.

15. Calabrò L, Morra A, Fonsatti E et al. Efficacy and safety of an intensified schedule of tremelimumab for chemotherapy-resistant malignant mesothelioma: an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Respir Med* 2015; 3(4): 301–309. doi: 10.1016/S2213-2600(15)00092-2.

16. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2015; 372(4): 311–319. doi: 10.1056/NEJMoa1411087.

17. Moskowitz CH, Ribrag V, Michot JM et al. PD-1 Blockade with the monoclonal antibody pembrolizumab (MK-3475) in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure: preliminary results from a phase 1b study (KEYNOTE-013). *Blood* 2014; 124(21): 290.

18. Westin JR, Chu F, Zhang M et al. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2014; 15(1): 69–77. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70551-5.

19. Tanimoto T, Hori A, Kami M. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl*

*J Med* 2010; 363(20): 1966; author reply 1967–1968. doi: 10.1056/NEJM1009982#SA1.

20. Huber ML, Haynes L, Parker C et al. Interdisciplinary critique of sipuleucel-T as immunotherapy in castration-resistant prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104(4): 273–279. doi: 10.1093/jnci/djr514.

21. Schuster SJ, Neelapu SS, Gause BL et al. Vaccination with patient-specific tumor-derived antigen in first remission improves disease-free survival in follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2011; 29(20): 2787–2794. doi: 10.1200/JCO.2010.33.3005.

22. Porter DL, Hwang WT, Frey NV et al. Chimeric antigen receptor T cells persist and induce sustained remissions in relapsed refractory chronic lymphocytic leukemia. *Sci Transl Med* 2015; 7(303): 303ra139. doi: 10.1126/scitranslmed.aac5415.

23. Maude SL, Teachey DT, Porter DL et al. CD19-targeted chimeric antigen receptor T-cell therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 2015; 125(26): 4017–4023. doi: 10.1182/blood-2014-12-580068.

24. Kochenderfer JN, Dudley ME, Kassim SH et al. Chemotherapy-refractory diffuse large B-cell lymphoma and indolent B-cell malignancies can be effectively treated with autologous T cells expressing an anti-CD19 chimeric antigen receptor. *J Clin Oncol* 2015; 33(6): 540–549. doi: 10.1200/JCO.2014.56.2025.

25. Klebanoff CA, Yamamoto TN, Restifo NP. Immunotherapy: treatment of aggressive lymphomas with anti-CD19 CAR T cells. *Nat Rev Clin Oncol* 2014; 11(12): 685–686. doi: 10.1038/nrclinonc.2014.190.

26. Mardiros A, Dos Santos C, McDonald T. T cells expressing CD123-specific chimeric antigen receptors exhibit specific cytolytic effector functions and antitumor effects against human acute myeloid leukemia. *Blood* 2013; 122(18): 3138–3148. doi: 10.1182/blood-2012-12-474056.