

Imunoterapie uroteliálního karcinomu močového měchýře – od BCG vakcín k cílené imunoterapii

Immunotherapy of Urothelial Carcinoma of the Bladder – from BCG Vaccines to Targeted Therapy

Matoušková M.

Urocentrum Praha

Souhrn

Zhoubné nádory močového měchýře postihují muže i ženy s vysokou prevalencí. Obvykle vycházejí z urotelu a více než 3/4 z nich bývají neinvazivní nádory močového měchýře. Základní léčebnou modalitu představuje transuretrální resekce tumoru. Její role je nezastupitelná při léčbě, ale i při stagingu nádorů močového měchýře. I u neinvazivních nádorů je standardem pokračovat lokální profylaxí s cílem snížení pravděpodobnosti rizika recidivy. Zatímco u nemocných s nízkým či středním rizikem bývá dostatečná lokální chemoprophylaxe, u vysoce rizikových neinvazivních nádorů preferujeme podání lokální imunoterapie pomocí *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG) vakcíny. U pokročilých nádorů spočívá farmakologické ovlivnění v chemoterapii samostatně nebo v kombinaci s lokoregionální léčbou. Výsledky klinických studií dokládají účinnost nových přípravků z oblasti imunoterapie i pro pokročilé nádory močového měchýře.

Klíčová slova

nádory močového měchýře – imunoterapie – BCG vakcína – kontrolní body imunitní reakce

Summary

Bladder cancer has high prevalence in men and women. Bladder cancer usually originates from urothelium. More than 75% of cases are classified as non-muscle-invasive bladder cancer. Urothelial bladder carcinoma is usually managed by transurethral resection of the bladder tumor. Role of transurethral resection of the bladder tumor is also essential in bladder cancer staging. Local prophylaxis is used in non-muscle-invasive bladder cancer to reduce risk of recurrence. While local chemoprophylaxis is sufficient in low and middle risk patients, intravesical instillation of *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG) is preferred in high risk bladder cancer. Chemotherapy alone or in combination with locoregional treatment is used in advanced bladder cancer. New immunotherapy modalities have proven their efficacy in several clinical studies in advanced bladder cancer.

Key words

urothelial bladder cancer – immunotherapy – BCG vaccine – checkpoint inhibitor

Autorka deklaruje, že v souvislosti s předmětem studie nemá žádné komerční zájmy.

The author declares she has 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 zaslané do biomedicínských časopisů.

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



MUDr. Michaela Matoušková

Urocentrum Praha

Karlovo náměstí 319/3

120 00 Praha 2

e-mail: matouskova@urocentrum.cz

Obdrženo/Submitted: 3. 9. 2015

Přijato/Accepted: 23. 10. 2015

<http://dx.doi.org/10.14735/amko20154S95>

Úvod

Zhoubné nádory močového měchýře jsou 11. nejčastější malignitou na světě [1]. ČR se nachází na 5. místě s incidencí 25,5/100 000 obyvatel, mezi ženami pak na 3. místě. Incidence je přibližně čtyřnásobně vyšší u mužů než u žen. V mortalitě patří nádorům močového měchýře 14. místo ve světovém měřítku. ČR je pak na 19. místě [1]. V incidenci i mortalitě v Evropě vede Španělsko. V roce 2012 bylo diagnostikováno více než 130 000 nádorů močového měchýře ve světě, z toho 2 210 v ČR a přibližně 34 000 pacientů na nádor zemřelo [2,3].

Uroteliální karcinomy nacházíme ve více než 90 % všech nádorů močového měchýře. Přibližně 70 % z nich nepřechází vrstvu muscularis propria, tyto nádory jsou označovány jako neinvazivní nádory močového měchýře (non-muscle invasive bladder cancer – NMIBC), před lety jsme také hovořili o „povrchových nádorech měchýře“. Mezi NMIBC jsou zastoupeny kategorie Ta (70 %), T1 (20 %) a Tis (10 %). Standardní primární léč-

bou je stratifikovaná transuretrální resekce tumoru (transurethral resection of bladder – TURB). Kromě vlastního terapeutického výkonu je náležité provedení nezbytné i pro nádorový staging. Přes náležité provedenou TURB je vysoké riziko recidiv (až 70 %), ale i vysoké riziko progresu (až 30 %) do invazivních forem [4]. Z hlediska rizika recidivy a progresu jsou tumory rozděleny do skupin s nízkým, středním a vysokým rizikem (tab. 1, 2). Pro výpočet se používá nejčastěji skórovací kalkulačka EORTC, dostupná na <http://www.eortc.be/tools/bladdercalculator/>. Podle míry rizika je postupováno při adjuvatní léčbě. U pacientů s nízkým rizikem jsou dostatečné endoskopické kontroly. U pacientů se středně rizikovými tumory je indikována další intravezikální chemoterapie nebo intravezikální imunoterapie *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG) vakcínou. U pacientů s vysoce rizikovými tumory je optimální podání intravezikální imunoterapie BCG vakcínou a v případě selhání léčby BCG vakcínou nebo

její nedostupnosti může být navržena cystektomie [5].

Intravezikální léčba

Hledání cest, jak oddálit recidivu a progresu, vedlo k využití intravezikální léčby. Intravezikální profylaxe ke snížení recidiv začala být používána v 60. letech minulého století. Z cytotoxických látek jsou do dnešní doby v Evropě používány mitomycin C a farmorubicin, v USA ještě thiotepa. Z roku 1976 pochází první práce Morales et al [6] s využitím BCG vakcíny u neinvazivních nádorů močového měchýře. Tato léčba se stala standardem v adjuvantní léčbě NMIBC. Při srovnání s cytotoxickými přípravky se zdá být účinnější v redukci recidiv, ale především ve snížení rizika progresu [7–9]. Při podání BCG vakcíny předpokládáme odpověď u 55–65 % papilárních nádorů a až 70–75 % karcinoma *in situ* (CIS), naopak u 30–45 % pacientů s NMIBC můžeme očekávat selhání BCG [7,10,11]. Přes kompletní odpověď je možné očekávat recidivu ve více než 50 % [8].

Instilace BCG vakcínou preferujeme u nemocných s vysokým rizikem recidivy a progresu a u nemocných s karcinoma *in situ*. U nízkého a středně rizikových tumorů upřednostňujeme spíše podání lokální chemoprofylaxe. Optimální léčebný režim při intravezikální imunoprofylaxi není stále jednoznačně určen. V současné době zahajujeme podání v indukčním režimu, který zahrnuje podání šesti dávek BCG vakcíny. Na indukční režim navazuje udržovací léčba v rozsahu 1–3 let. Od roku 2012 došlo k celosvětovému výpadku ve výrobě BCG vakcíny. Nedostatek vedl k alternativním řešením u NMIBC a podání BCG vakcíny výhradně v indukčním režimu. Podle dostupných informací se zdá, že výroba je obnovována a BCG vakcína bude znovu k dispozici nemocným s NMIBC.

Intravezikální léčba je spojena s celou řadou nežádoucích účinků. V současnosti podávaná cytostatika mají velkou molekulovou hmotnost a prakticky se nevstřebávají do cévního řečiště. Jejich nejčastějšími vedlejšími účinky jsou chemická cystitida a iritační příznaky s ní spojené. Při aplikaci BCG je nutné počítat nejen s lokálními příznaky (hematurie, chemická cystitida, svař-

Tab. 1. Riziko recidivy neinvazivních nádorů močového měchýře podle EORTC [4].

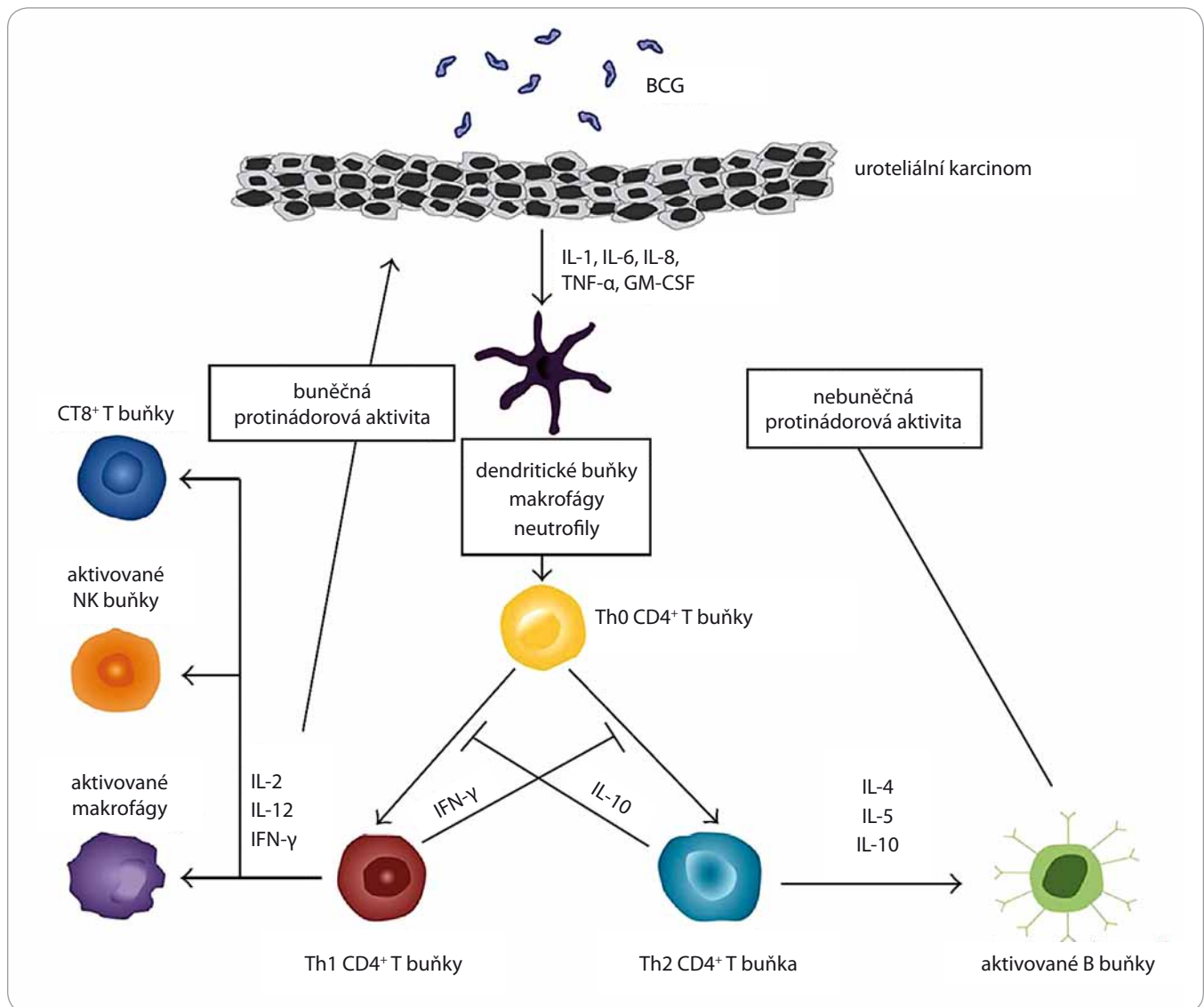
Skóre	Pravděpodobnost recidivy do roku (%)	Pravděpodobnost recidivy do 5 let (%)	Riziková skupina
0	15 (10–19)	31 (24–37)	LR
1–4	24 (21–25)	46 (42–49)	MR
5–9	38 (35–41)	62 (58–65)	
10–17	61 (55–67)	78 (73–84)	HR

LR – nádory s nízkým rizikem, MR – středně rizikové nádory, HR – nádory s vysokým rizikem

Tab. 2. Riziko progresu neinvazivních nádorů močového měchýře podle EORTC [4].

Skóre	Pravděpodobnost progresu do roku (%)	Pravděpodobnost progresu do 5 let (%)	Riziková skupina
0	0,2 (0–0,7)	0,8 (0–1,7)	LR
2–6	1 (0,4–1,6)	6 (5–8)	MR
7–13	5 (4–7)	17 (14–20)	HR
14–23	17 (10–24)	45 (35–55)	

LR – nádory s nízkým rizikem, MR – středně rizikové nádory, HR – nádory s vysokým rizikem



Obr. 1. Mechanismus účinku BCG vakcíny.

těly měchýř, obstrukce ureterů), ale i lokoregionálními (epididymitis, prostatitis, absces ledviny, pánevní lymfadenitida) a systémovými život ohrožujícími stavy. Systémové reakce zahrnují febrilní stavy, flu-like syndrom, alergické reakce, septické stavy, artralgie, cytopenie, BCG-itis či BCG hepatitis. Více než 20 % pacientů netoleruje podání BCG pro její nežádoucí účinky [9].

Pochopení mechanismu účinku BCG (obr. 1), přestože není ještě zcela vyčerpávajícím způsobem popsán, a jeho jasných limitací je rozhodující pro zlepšení účinnosti léčby. Po instilaci BCG dochází k vazbě BCG k fibronektinu exprimovaného urotemem. Tak se mykobakterie stávají součástí normálních i nádorově

změněných buněk. Důsledkem je aktivace urotelu s následnou zánětlivou reakcí močového měchýře [12]. Na povrchu urotelialních buněk a antigen prezentujících buněk (antigen presenting cell – APC) je přítomný BCG antigen jako součást hlavního histokompatibilního komplexu (major histocompatibility complex – MHC) II. třídy, stimulující CD4⁺ T lymfocyty a indukující především T helper 1 (Th1) imunitní odpověď [13]. Tento komplex a robustní imunitní reakce navozená BCG dokazuje masivní krátkodobá sekrece cytokinů v moči, včetně interleukinů (IL)-1, IL-2, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, interferon-inducible protein (IP)-10, tumor necrosis factor α (TNF-α), granulocyte-monocyte colony

stimulating factor (GM-CSF) a interferon γ (IFN-γ) [14]. Ačkoliv úloha každého z cytokinů hrajících nějakou roli v léčbě urotelialních nádorů není zcela jasná, je zřejmé, že Th1 cytokiny (např. IFN-γ, IL-2 a IL-12) jsou spojeny s BCG odpovědí, naopak Th2 cytokiny (např. IL-10 a IL-6) korelují se selháním BCG [15]. Do příchodu BCG léčby nebyla k dispozici data podporující udržovací režimy spočívající v sérii krátkodobé reindukční léčby ve třech měsíčních intervalech, tak jak je doporučována SWOG (Southwest Oncology Group) [16].

Další možností je použití **interferonu α2b**. Interferony jsou glykoproteiny izolované v 50. letech minulého století, ceněné pro své antivirové vlast-

nosti. Postupně byly izolovány tři typy IFN- α (současně je celou skupinou interferonů), IFN- β a IFN- γ . IFN- α a IFN- β jsou sdruženy jako typ I interferonů, naopak IFN- γ jako typ II. Receptor typ I IFN má dvě součásti, IFNAR-I a IFNAR-II, které postupně vážou a fosforylují JAK molekuly spouštěcí kaskádu vedoucí k transkripci [17]. Rodina IFN- α vede ke stimulaci NK buněk, navozuje odpověď MHC třídy I a zvyšuje rozpoznání protilátek [18]. Protinádorové vlastnosti umožňuje přímý antiproliferační efekt a komplexní imunomodulační efekt [17]. Oba mohou být s výhodou uplatněny v léčbě nádorů močového měchýře. Dostupné v klinické praxi jsou IFN- α 2a a IFN- α 2b, více dat je k dispozici o IFN- α 2b, ať již samostatně, nebo v kombinaci s BCG, kde je popsáno synergní působení. Efekt BCG závisí na indukci objemu Th1 cytokinového profilu a IFN- α 2b může potencovat Th1 imunitní odpověď [14]. Ačkoliv teoreticky je kombinace slibná, v klinické praxi jsou výstupy smíšené.

Po dlouhá léta byl uplatňován u IFN- α především jeho antiproliferační efekt. V menší míře navodí přímo apoptózu nádorových buněk. IFN- α nezávisle indukuje TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) expresí UM-UC-12 uroteliálních nádorových buněk [18,19], která následně spouští apoptózu buněk s expresí příslušného receptoru. K buněčné smrti dochází v důsledku Fas-associated protein s FADD (death-domain) závislé na aktivaci DISC (death inducing signaling complex) a následnou aktivací kaspázy-8. IFN- α může stimulovat TRAIL mRNA a aktivovat aktivní TRAIL protein neutrofilů a monocytů, tím indikuje apoptotickou aktivitu proti TRAIL senzitivním leukemickým buněčným liniím [18]. Apoptotický účinek IFN- α však není omezen pouze na TRAIL, spíše ovlivňuje kaspázu-8 jednak cestou závislou na receptoru pro buněčnou smrt, ale i cestou nezávislou. BCG, podobně jako IFN- α , prokázal, že indukuje TRAIL, a to koreluje s odpovědí pacientů na léčbu BCG. Zároveň to vyvolalo zájem o společný výzkum. Dalším přímým efektem IFN- α je zvýšení cytotoxicity CD4⁺ T lymfocytů a zvýšení rozpoznání antigenů zvýšenou expresí MHC třídy I [19–21]. Rovněž bylo popsáno přímé potlačení proliferace in-

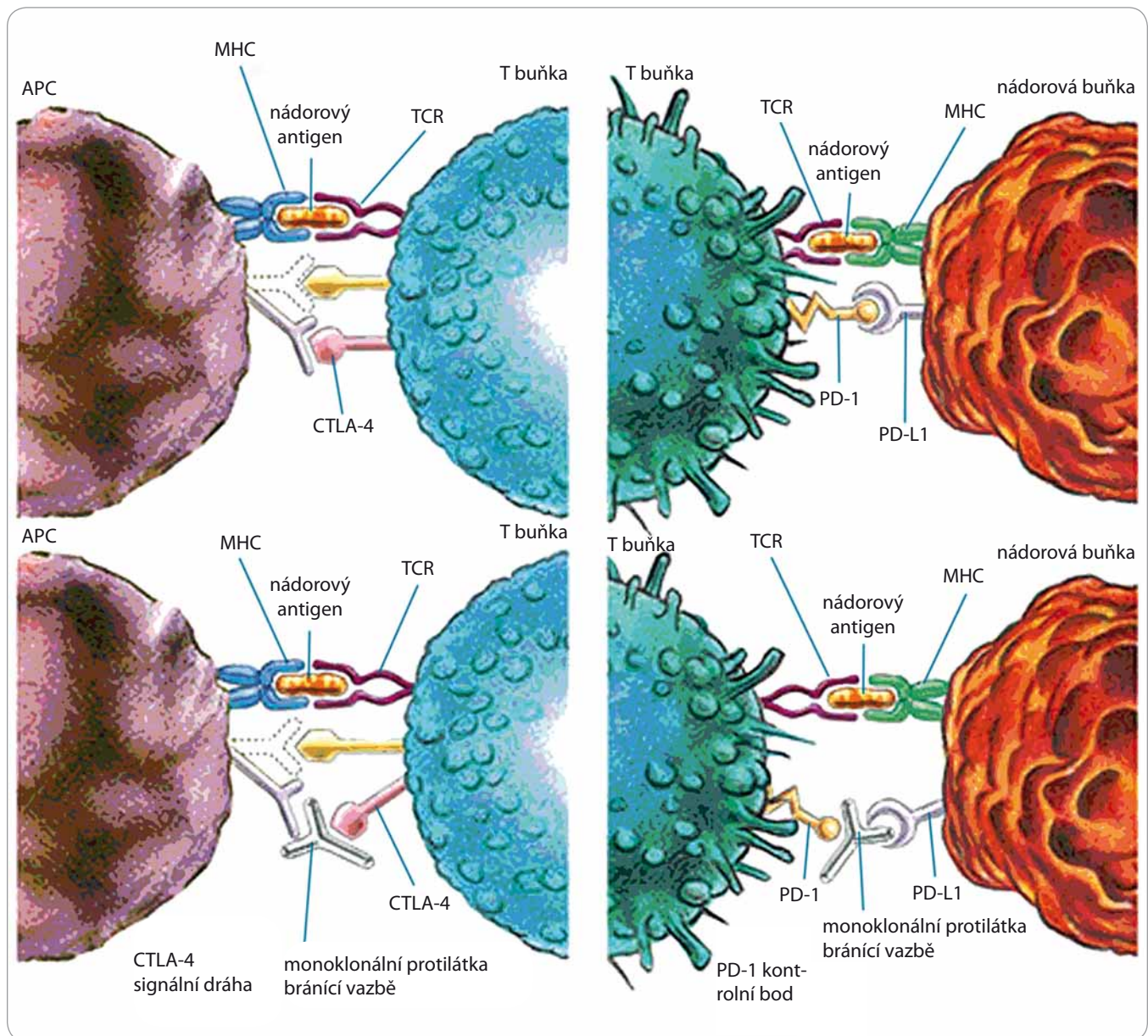
dukci tumor supresorových genů a inhibicí nádorových onkogenů [19,22]. Bylo popsáno i významné snížení angiogeneze v lidském urotelu při a po léčbě IFN- α 2b, která následovala po transuretrální resekcí povrchových nádorů močového měchýře [23].

Využití monoterapie IFN- α 2b v léčbě karcinomu močového měchýře bylo studováno několika skupinami. Glashan publikoval v roce 1990 data z randomizované kontrolované studie zkoumající režimy IFN- α 2b s vysokou (100×10^6 IU) a nízkou dávkou (10×10^6 IU) u pacientů s CIS [24]. Pacienti byli léčeni jednou týdně po dobu 12 týdnů a následně jednou měsíčně po dobu jednoho roku. Úplná odpověď byla sledována u 43 % pacientů ve skupině s vysokou dávkou a u 5 % pacientů ve skupině s nízkou dávkou. U pacientů ve skupině s vysokou dávkou, kteří dosáhli úplné odpovědi, bylo 90 % pacientů bez známek onemocnění po pouhých šesti měsících sledování. Hlavními nežádoucími účinky byl flu-like syndrom (8 % u nízké dávky a 17 % u vysoké dávky). Nevyskytovaly se ale iritační symptomy, které jsou často sledovány u léčby BCG. Když byli IFN- α 2b léčeni pacienti po selhání BCG léčby, u 8 z 12 pacientů došlo k rekurenci onemocnění po třech měsících sledování a pouze 1 z 12 pacientů byl bez známek onemocnění po 24 měsících [25]. Jak bylo již výše popsáno, antiproliferační a imunomodulační efekt IFN- α se nabízel pro kombinaci s BCG léčbou. Klinické využití kombinace IFN- α 2b a BCG bylo zpočátku zkoumáno u BCG refraktorních pacientů a následně i u BCG naivních pacientů [26–30].

Jinou možností je podání **interleukinu 2** (IL-2), jehož objev a popis byl jedním ze zásadních objevů na poli imunologie. Před jeho objevením existovalo přesvědčení, že lymfocyty jsou diferencovány a nejsou schopny další proliferace [31,32]. Od objevu faktu, že IL-2 zprostředkovává kontrolu růstu T lymfocytů v buněčných kulturách, byly dále odhaleny podrobnosti mechanismu jejich fungování. Relativně časně byl skutečně objeven, že IL-2 zvyšuje produkci cytotoxických lymfocytů, které jsou schopny navodit lýzu nádorových buněk, zatímco ušetří zdravé buňky. Tyto

IL-2 aktivované lymfocyty dostaly označení „lymphokine-activated killer“ (LAK) a vědci se domnívali, že hrají velkou roli v protinádorové imunitní reakci [33]. Dále bylo zjištěno, že IL-2 posiluje cytotoxickou aktivitu NK buněk a monocytů [34]. Dokonce bylo zjištěno, že IL-2 je důležitým faktorem pro aktivaci B lymfocytů [35]. Když byly popsány cytokinové profily CD4⁺ Th1 a Th2 lymfocytů, bylo zjevné, že IL-2 je cytokinem produkovaným převážně Th1 lymfocyty [36]. Právě cytotoxické protinádorové vlastnosti lymfocytů indukované IL-2 udělaly z IL-2 vhodnou látku pro imunologické ovlivnění nádorových onemocnění.

Zájem o využití IL-2 v karcinomu močového měchýře stoupl poté, co několik badatelů odhalilo zvýšené hladiny IL-2 (spolu s ostatními cytokiny) v moči pacientů léčených BCG, což naznačovalo imunomodulační účinek BCG [37]. Také bylo zdokumentováno zvýšení exprese receptoru pro IL-2 na T lymfocytech v moči u pacientů léčených BCG [38]. Zvýšené hladiny IL-2 v moči rovněž korelují s odpovědí na léčbu BCG. To podporuje domněnku, že Th1 cytokinový profil může souviset s příznivou odpovědí na BCG [14]. Dále také zvýšené hladiny IL-2 pozorované u pacientů s instilovaným BCG naznačují lokální a i systémovou imunitní odpověď na léčbu [39]. Výše popsané nálezy vedly k závěru, že IL-2 by se dal léčebně využít u karcinomu močového měchýře. Nicméně nepříznivý bezpečnostní profil systémově podávaného IL-2 vedl k jeho využití pouze jako léčby intravezikální. Zprávy o intravezikálním použití IL-2 odhalují významně příznivější bezpečnostní profil a prokazují i jistou míru účinnosti buď v monoterapii, či v kombinaci s BCG [40–43]. Den Otter et al podávali samotný IL-2 intravezikálně po nekompletní transuretrální resekcí T1 papilárního uroteliálního karcinomu, grade I–II a prokázali regresí lézí u 8 z 10 pacientů [44]. Další výzkumy se zaměřily na vývoj rekombinantního kmene BCG, který by produkoval IL-2 [45,46]. Zvířecí modely, které tento postup využily, ukázaly, že kmeny BCG produkující IL-2 v porovnání s normálními kmeny BCG zvýšily produkci IFN- γ , vedly k příznivějšímu poměru IFN- γ vůči IL-4, vylepšily antigenspecifickou proli-



Obr. 2. Mechanizmy úniku buněk před kontrolou imunitního systému.

APC – antigen prezentující buňka, MHC – major histocompatibility complex, TCR – T buněčný receptor

feraci, zvýšily protinádorovou cytotoxicitu a vedly k Th1 cytokinovému profilu i u imunosuprimovaných či IL-4 transgenních myší (to jsou dvě podmínky, jež favorizují Th2 odpověď) [45,47]. Vzhledem k tomu, že IL-2 hraje zásadní roli v Th1 odpovědi, dozajista zůstane v oblasti zájmu pro imunoterapii karcinomu močového měchýře.

Nemalé naděje jsou vkládány i do IL-10 a IL-12. Další studie potvrzující účinnost jsou ale nezbytné. Nicméně již nyní se ukazuje velký potenciál monoklonální protilátky proti

IL-10R1 (anti-IL-10R1 mAb), která nejenže vykazuje místní kontrolu onemocnění, ale potenciálně může navodit systémovou imunomodulaci pro prevenci metastatického karcinomu měchýře.

Systémová léčba

Na rozdíl od neinvazivních nádorů, kde je podání BCG vakcíny již dlouho považováno za standardní postup, u pokročilých nádorů možnosti imunoterapie teprve hledají své místo. Do současné doby nebyla BCG vakcína jinou látkou překonána, ať se to týká schopnosti sní-

žit riziko recurence onemocnění, či progresu. Naopak limitujícím faktorem BCG vakcíny je bezpečnostní profil a možnost výskytu závažné toxicity. Navíc stále existuje skupina pacientů (kolem 30 %), kteří na léčbu BCG nezareagují a dojde u nich k progresi onemocnění v invazivní formu zasahující do detruzoru.

Diskutuje se o využití genové léčby, toll-like receptorů a agonistů, virové léčby, terapeutických vakcín, různých cytokinů či monoklonálních protilátek proti kontrolním bodům imunitní reakce (checkpoint inhibitors).

Léčba onkolytickými viry využívá modifikované viry, které způsobí sebe-destrukci nádorových buněk a tak navodí vyšší imunitní odpověď právě proti nádoru. Jedním z příkladů je např. CG0070, což je onkolytický adenovirus, který rovněž exprimuje imunitní odpověď stimulující cytokin GM-CSF. Ten dále zvyšuje protinádorovou imunitní reakci. V současné době probíhá studie fáze I/II, která zkoumá intravezikální podání CG0070 u pacientů s CIS močového měchýře či pacientů s NMIBC s CIS močového měchýře, u kterých selhala léčba BCG (NCT01438112).

Využití **terapeutických vakcín** je stále ve stadiu výzkumu. Tyto vakcíny jsou navrženy tak, aby vybudily imunitní odpověď organismu proti nádorově specifickým antigenům či s nádorem spojenými antigeny. Tím dojde k posílení útoku na nádorové buňky nesoucí tyto antigeny. V současné době běží několik studií, které aktivně nabírají pacienti. Jednou z terapeutických vakcín je **HS-410**, vakcína vyrobená z buněčných linií lidského karcinomu močového měchýře, které byly ozářeny a změněny tak, aby exprimovaly rozpustný gp96, to je chaperon, který předkládá více nádorových antigenů imunitnímu systému a tím podporuje imunitní odpověď. Další vakcínou ve fázi časného klinického výzkumu je např. **DEC-205-NY-ESO-1**. Tato vakcína může pomoci vytvořit imunitní odpověď proti nádorovým buňkám, které exprimují testikulární nádorový antigen (cancer-testis antigen) NY-ESO-1.

Cytokiny jsou molekuly, které pomáhají kontrolovat růst a aktivitu buněk zapojených v systémové imunitní odpovědi. Jejich kombinace s **monoklonálními protilátkami**, tedy molekulami, které působí na specifický antigen nádoru, může zvýšit aktivitu imunitního systému. Jedním z příkladů je **ALT-801** – fúzní produkt IL-2 a protilátky rozpoznávající peptidy na povrchu nádorové buňky. Dvě studie fáze I/II zkoušejí ALT-801 v kombinaci s gemcitabinem u pacientů NMIBC, u nichž selhala léčba BCG (NCT01625260), a v kombinaci s gemcitabinem a cisplatinou u pacientů s nádorem močového měchýře prorůstajícím do svaloviny (NCT01326871).

Asi nejbližší klinickému využití, díky úspěchům v jiných terapeutických oblastech, jsou **monoklonální protilátky proti kontrolním bodům imunitní reakce**. Plejáda genetických a epigenetických změn, která provází rozvoj nádorů, vytváří různorodou sadu antigenů, které imunitní systém využívá při rozpoznávání nádorových buněk od jejich normálních protějšků. V případě T lymfocytů je síla odpovědi, jež je spuštěna rozpoznáním antigenu receptorem T lymfocytů (T-cell receptor – TCR), a její kvalita závislá na rovnováze mezi kostimulačními a inhibičními signály, tj. kontrolními body imunitní reakce. V normálních podmínkách jsou tyto kontrolní body zásadní pro udržení imunitní odpovědi pod kontrolou, aby nepoškodila vlastní zdravé buňky. Kontrolní body jsou tedy zásadní v rozvoji autoimunity. Nádorové buňky naopak disponují řadou mechanismů, díky kterým dokážou uniknout kontrole imunitního systému (obr. 2). Sníženou produkcí kostimulačních molekul dochází k anergii T lymfocytů. Dalším výsledkem změny v apoptotické signální dráze je také inhibice indukce apoptózy. Naopak vyšší expresí inhibičních molekul, jako jsou CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4) nebo PD-1 (membránový protein programované buněčné smrti, programmed cell death-1) na T lymfocytech, vede k útlumu aktivace T lymfocytů a jejich anergizaci, což je právě přirozený mechanismus předcházející autoimunitnímu onemocnění.

V současné době jsou do praxe uváděny monoklonální protilátky proti inhibičním molekulám CTLA-4, PD-1 a PD-L1 (programmed cell death ligand 1). CTLA-4 je receptor na povrchu T lymfocytu. Pokud dojde k vazbě ligandu (CD80 nebo CD86) na CTLA-4 receptor při vazbě antigen prezentující buňky, dochází k potlačení imunitní reakce organismu (downregulace). Protilátky, které brání vazbě ligandu na CTLA-4 receptor, tedy brání zastavení protinádorové imunitní odpovědi. Dalšími molekulami, které umíme ovlivnit, jsou PD-1 a PD-L1. Signální dráha přes kontrolní bod PD-1 slouží jako jistá záložní dráha pro dráhu prostřednictvím CTLA-4. Pokud dojde k vazbě receptoru

PD-1 se svým ligandem (např. PD-L1), dojde rovněž k omezení imunitní odpovědi. Protilátky proti PD-1 tedy brání vazbě ligandu na tento receptor a tím zachovávají funkční protinádorovou imunitní odpověď prostřednictvím T lymfocytů. Nádorové buňky jsou také schopny vytvořit právě inhibiční molekuly PD-L1 a PD-L2. Protilátky proti těmto inhibičním molekulám tedy zabrání jejich vazbě na PD-1, a tím opět zachovávají funkční protinádorovou imunitní odpověď [48,49].

Následující protilátky jsou v současné době uvedeny na trh v různých indikacích či jsou blízko ke schválení. U všech probíhají i studie v léčbě karcinomu močového měchýře (tab. 3) [50].

Atezolizumab (MPDL3280A, Roche/Genentech) byl testován ve studii fáze I u pacientů s dříve léčeným metastatickým karcinomem močového měchýře (NCT01375842). Výsledky z této studie jsou slibné, když 43 % pacientů s PD-L1 IHC 2/3 dosáhlo objektivní odpovědi a u pacientů, kteří dosáhli odpovědi, byl přínos z léčby delší [51]. Další studie fáze II nedávno začala nabírat pacienty (NCT02108652). Atezolizumabu byl v červnu 2014 udělen „Breakthrough Therapy“ status americkým lékovým úřadem (FDA).

Nivolumab (Opdivo, BMS) je protilátka proti PD-1 a **ipilimumab** (Yervoy®, BMS) je protilátka proti CTLA-4 [52]. Obě jsou v současné době testovány ve studii fáze I/II u pacientů s různými nádory včetně nádorů močového měchýře (NCT01928394). Pacienti jsou randomizováni na léčbu nivolumabem samotným či v kombinaci s ipilimumabem.

Pembrolizumab (Keytruda®, MSD) je další protilátka proti PD-1. Pembrolizumab v monoterapii prokázal u PD-L1 pozitivního pokročilého karcinomu močového měchýře celkovou míru odpovědi 24 % (n = 7/29). U 10 % nemocných bylo dosaženo úplné odpovědi (3/29). V době analýzy trvala odpověď od 16+ do 40+ týdnů, když u šesti ze sedmi pacientů odpovídajících na léčbu léčba pokračovala [53].

Durvalumab (MEDI4736, MedImmune, AstraZeneca) je IgG1 lidská monoklonální protilátka proti receptoru PD-L1, která brání vazbě PD-L1 na

Tab. 3. Přehled klinických studií s imunimunoterapií v léčbě zhoubných nádorů močového měchýře (podle [50]).

Třída	Látka	Cíl	Fáze	Onemocnění	Studie
monoklonální protilátky proti kontrolním bodům imunitní reakce	MPDL3280A	PD-L1	II	2. linie mBC	NCT02302807
	pembrolizumab	PD-1	III	2. linie mBC	
	pembrolizumab/BCG	PD-1	I	NMIBC	NCT02324582
	nivolumab ± ipilimumab	PD-1 CTLA-4	I	2. linie mBC	NCT01928394
	nivolumab + cabozantinib ± ipilimumab	PD-L1 cMET/VEGFR2 CTLA-4	I	2. linie mBC	NCT02308943
	MEDI4736	PD-L1	I	2. linie mBC	NCT01693562
	AMP-514	PD-L1	I	2. linie mBC	NCT02013804
	MSB0010718C	PD-L1	I	2. linie mBC	NCT01943461
agonisté imunitní odpovědi	MEDI6383	OX40	I	2. linie mBC	NCT02221960
	MOXR0916	OX40	I	2. linie mBC	NCT02219724
vakcíny	DN24-02	HER2/neu	II	adjuvance	NCT01353222
	AdHER2 DC	HER2/neu	I	adjuvance a 2. linie mBC	NCT01730118
	HS410	HSP gp96	I	NMIBC	NCT02010203
	PANVAC	CEA a MUC-1	I	NMIBC	NCT02015104
	MAGE-A3	MAGE-A3	II	adjuvance	NCT01435356
	DEC-205-NY-ESO-1 vakcína fúzním proteinem	NY-ESO-1	I	2. linie mBC	NCT01522820
adoptivní přenos T buněk	CAR	NY-ESO-1	II	2. linie mBC (NY-ESO pozitivní)	NCT01967823
	anti-MAGE-A3-DP4 TCR	MAGE-A3-DP4	I/II	2. linie mBC (MAGE-A3 ⁺)	NCT02111850

BCG – bacillus Calmette-Guerin, PD-1 – programed death-1, PD-L1 – programed death-ligand-1, HSP – heat shock protein, CAR – chimérický antigenní receptor, CTLA-4 – cytotoxický T lymfocytární antigen-4, NMIBC – neinvazivní nádor močového měchýře, mBC – metastatického karcinomu prsu, TCR – T buněčný receptor, DC – dendritická buňka

PD-1 a CD80. Durvalumab prokázal časovou (pět týdnů od zahájení) a dlouhotrvající aktivitu (> 56 týdnů) u různých typů nádorů (karcinom močového měchýře hodnocen nebyl) [54]. Durvalumab je nyní zkoušen i u karcinomu močového měchýře v monoterapii či kombinaci s tremelimumabem (protilátka proti receptoru CTLA-4) vs. standardní chemoterapie (NCT02516241).

Závěr

Imunoterapie představuje jednu z možných modalit léčby zhoubných nádorových onemocnění. Její uplatnění v urologické onkologii je spojeno s relativně dlouhou tradicí. Přes příznivou odpověď je podání BCG u neinvazivních ná-

dorů močového měchýře u přibližně 30 % nemocných spojeno s rezistencí vůči léčbě a progresí nádorového onemocnění. Ve snaze zlepšit odpověď jsou připravovány a zkoušeny nové přípravky samostatně nebo v kombinaci se současnou imunologickou nebo cytotoxickou léčbou. Velmi slibné se zdají přípravky ze skupiny monoklonálních protilátek proti kontrolním bodům imunitní reakce. Na výsledky randomizovaných studií a event. začlenění nových přípravků do léčebného algoritmu budeme muset vyčkat.

Poděkování za připomínky MUDr. Evě Vernerové a MUDr. Milotovi z Ústavu imunologie 2. LF UK v Praze. MUDr. Milota se podílel rovněž na korektuře článku.

Literatura

1. Ferlay J, Bray F, Forman D et al. GLOBOCAN 2008 v1.2, Cancer incidence and mortality worldwide: IARC cancer base No. 10 [monograph on the Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2010. Available from: www.iarc.fr/en/publications/eresources/cancerbases/index.php.
2. Globocan 2012: estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 [online]. Lyon: International Agency for Research on Cancer 2015. Available from: www.globocan.iarc.fr.
3. Nádory močového měchýře – Epidemiologie a populační data ČR [online]. Masarykova univerzita, Brno, 2015. [citováno 30. září 2015]. Dostupné z: www.uroweb.cz/index.php?pg=dg-nadory-mocoveho-mechyre-epidemiologie-ceska-republika-vyvoj-incidence-mortalityhttp://www.uroweb.cz.
4. Babjuk M, Böhle A, Burger M et al. Guidelines on non-muscle-invasive bladder cancer (T_a, T₁ and CIS), limited update March 2015 [monograph on the Internet]. European Association of Urology 2015. Available from: <http://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-Non-muscle-invasive-Bladder-Cancer-2015-v1.pdf>.

5. Zhubný novotvar močového měchýře (C67) [online]. Modrá kniha. [citováno 30. září 2015]. Dostupné z: www.linkos.cz/informace-pro-praxi/modra-kniha/22-zhubny-novotvar-mocoveho-mechyre-c67/.
6. Morales A, Eidinger D, Bruce AW. Intracavitary Bacillus Calmette Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol* 1976; 116(2): 180–183.
7. Lamm DL, Blumenstein BA, Crawford ED et al. A randomized trial of intravesical doxorubicin and immunotherapy with bacille Calmette-Guerin for transitional-cell carcinoma of the bladder. *N Engl J Med* 1991; 325(17): 1205–1209.
8. Malmström PU, Wijkström H, Lundholm C et al. 5-year follow-up of a randomized prospective study comparing mitomycin C and bacillus Calmette-Guerin in patients with superficial bladder carcinoma. *J Urol* 1999; 161(4): 1124–1127.
9. van der Meijden AP, Sylvester RJ, Oosterlinck W et al. Maintenance bacillus Calmette-Guerin for Ta T1 bladder tumors is not associated with increased toxicity: results from a European organisation for research and treatment of cancer genito-urinary group phase III trial. *Eur Urol* 2003; 44(4): 429–434.
10. Morales A, Ottenhof P, Emerson L. Treatment of residual, non-infiltrating bladder cancer with bacillus Calmette-Guerin. *J Urol* 1981; 125(5): 649–651.
11. Hall MC, Chang SS, Dalbagni G et al. Guideline for the management of nonmuscle invasive bladder cancer (stages Ta, T1, and Tis): 2007 update. *J Urol* 2007; 178(6): 2314–2330.
12. Kavoussi R, Brown JE, Ritchey JK et al. Fibronectin-mediated Calmette-Guerin bacillus attachment to murine bladder mucosa. Requirement for the expression of an antitumor response. *J Clin Invest* 1990; 85(1): 62–67.
13. Zuiverloon TC, Nieuweboer AJ, Vékony H et al. Markers predicting response to bacillus Calmette-Guérin immunotherapy in high-risk bladder cancer patients: a systematic review. *Eur Urol* 2012; 61(1): 128–145. doi: 10.1016/j.eururo.2011.09.026.
14. Luo Y, Chen X, O'Donnell MA. Role of Th1 and Th2 cytokines in BCG-induced IFN- γ production: cytokine promotion and simulation of BCG effect. *Cytokine* 2003; 21(1): 17–26.
15. Saint F, Patard JJ, Maille P et al. Prognostic value of a T helper 1 urinary cytokine response after intravesical bacillus Calmette-Guerin treatment for superficial bladder cancer. *J Urol* 2002; 167(1): 364–367.
16. Lamm DL, Blumenstein BA, JCrissman JD et al. Maintenance bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for recurrent Ta, T1 and carcinoma in situ transitional cell carcinoma of the bladder: a randomized Southwest Oncology Group study. *J Urol* 2000; 163(4): 1124–1129.
17. Jonasch E, Haluska FG. Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities. *Oncologist* 2001; 6(1): 34–55.
18. Kamat AM, Lamm DL. Immunotherapy for bladder cancer. *Curr Urol Rep* 2001; 2(1): 62–69.
19. Belardelli F, Ferrantini M, Proietti E et al. Interferon-alpha in tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002; 13(2): 119–134.
20. Droller MJ, Gomolka D. Enhancement of natural cytotoxicity in lymphocytes from animals with carcinogen-induced bladder cancer. *J Urol* 1983; 129(3): 625–629.
21. Parronchi P, De Carli M, Manetti R et al. IL-4 and IFN (α and γ) exert opposite regulatory effects on the development of cytolytic potential by Th1 or Th2 human T cell clones. *J Immunol* 1992; 149(9): 2977–2983.
22. Slaton JW, Perrotte P, Inoue K et al. Interferon- α -mediated down-regulation of angiogenesis-related genes and therapy of bladder cancer are dependent on optimization of biological dose and schedule. *Clin Cancer Res* 1999; 5(10): 2726–2734.
23. Giannopoulos A, Adamakis I, Evangelou K et al. Interferon- α 2b reduces neo-microvascular density in the,normal' urothelium adjacent to the tumor after transurethral resection of superficial bladder carcinoma. *Onkologie* 2003; 26(2): 147–152.
24. Gashan RW. A randomized controlled study of intravesical α -2b-interferon in carcinoma in situ of the bladder. *J Urol* 1990; 144(3): 658–661.
25. Hudson MA, Ratliff TL. Failure of intravesical interferon- α 2b for the treatment of patients with superficial bladder cancer previously failing intravesical BCG therapy. *Urol Oncol* 1995; 1(3): 115–118.
26. Portillo J, Martin B, Hernandez R et al. Results at 43 months' follow-up of a double-blind, randomized, prospective clinical trial using intravesical interferon alpha-2b in the prophylaxis of stage pT1 transitional cell carcinoma of the bladder. *Urology* 1997; 49(2): 187–190.
27. Gan YH, Zhang Y, Khoo HE et al. Antitumor immunity of bacillus Calmette-Guerin and interferon alpha in urine bladder cancer. *Eur J Cancer* 1999; 35(7): 1123–1129.
28. Luo Y, Chen X, Downs TM et al. IFN- α 2B enhances Th1 cytokine responses in bladder cancer patients receiving Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin immunotherapy. *J Immunol* 1999; 162(4): 2399–2405.
29. Lam JS, Benson MC, O'Donnell MA et al. Bacillus Calmette-Guérin plus interferon- α 2B intravesical therapy maintains an extended treatment plan for superficial bladder cancer with minimal toxicity. *Urol Oncol* 2003; 21(5): 354–360.
30. Nagabhushan TL, Maneval DC, Benedict WF et al. Enhancement of intravesical delivery with Syn3 potentiates interferon- α 2b gene therapy for superficial bladder cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2007; 18(5–6): 389–394.
31. Gillis S, Smith KA. Long term culture of tumour specific cytotoxic T cells. *Nature* 1977; 268(5616): 154–156.
32. Di Sabato G, Chen DM, Erickson JW. Production by murine spleen cells of an activity stimulating the PHA responsiveness of thymus lymphocytes. *Cell Immunol* 1975; 17(2): 495–504.
33. Lotze MT, Grimm EA, Mazumder A. Lysis of fresh and cultured autologous tumor by human lymphocytes cultured in T-cell growth factor. *Cancer Res* 1981; 41(11): 4420–4425.
34. Henney CS, Kuribayashi K, Kern DE et al. Interleukin-2 augments natural killer cell activity. *Nature* 1981; 291(5813): 335–338.
35. Waldmann TA, Goldman CK, Robb RJ. Expression of interleukin 2 receptors on activated human B cells. *J Exp Med* 1984; 160(5): 1450–1466.
36. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW et al. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136(7): 2348–2357.
37. De Reijke TM, De Boer EC, Kurth KH et al. Urinary interleukin-2 monitoring during prolonged bacillus Calmette-Guerin treatment: can it predict the optimal number of instillations? *J Urol* 1999; 161(1): 67–71.
38. De Boer EC, De Jong WH, Steerenberg PA et al. Leukocytes and cytokines in the urine of superficial bladder cancer patients after intravesical immunotherapy with bacillus Calmette-Guerin. *In Vivo* 1991; 5(6): 671–677.
39. Magno C, Melloni D, Galli A et al. The anti-tumor activity of bacillus Calmette-Guerin in bladder cancer is associated with an increase in the circulating level of interleukin-2. *Immunol Lett* 2002; 81(3): 235–238.
40. Merguerian PA, Donahue L, Cockett AT. Intraluminal interleukin 2 and bacillus Calmette-Guerin for treatment of bladder cancer: a preliminary report. *J Urol* 1987; 137(2): 216–219.
41. Huland E, Huland H. Local continuous high dose interleukin 2: a new therapeutic model for the treatment of advanced bladder carcinoma. *Cancer Res* 1989; 49(19): 5469–5474.
42. Cockett AT, Davis RS, Cos LR et al. Bacillus calmette-guerin and interleukin-2 for treatment of superficial bladder cancer. *J Urol* 1991; 146(3): 766–769.
43. Gomella LG, McGinnis DE, Lattime EC et al. Treatment of transitional cell carcinoma of the bladder with intravesical interleukin-2: a pilot study. *Cancer Biother* 1993; 8(3): 223–227.
44. Den Otter W, Dobrowski Z, Bugajski A et al. Intravesical interleukin-2 in T1 papillary bladder carcinoma: regression of marker lesion in 8 of 10 patients. *J Urol* 1998; 159(4): 1183–1186.
45. O'Donnell MA, Aldovini A, Duda RB et al. Recombinant Mycobacterium bovis BCG secreting functional interleukin-2 enhances gamma interferon production by splenocytes. *Infect Immun* 1994; 62(6): 2508–2514.
46. Young SL, O'Donnell MA, Buchan GS. IL-2-secreting recombinant bacillus Calmette Guerin can overcome a type 2 immune response and corticosteroid-induced immunosuppression to elicit a type 1 immune response. *Int Immunol* 2002; 14(7): 793–800.
47. Zhang X, Shi X, Li J et al. Novel immunotherapy for metastatic bladder cancer using vaccine of human interleukin-2 surface-modified MB 49 cells. *Urology* 2011; 78(3): 722. doi: 10.1016/j.jurology.2011.04.044.
48. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012; 12(4): 252–264. doi: 10.1038/nrc3239.
49. Finn OJ. Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncol* 2012; 23 (Suppl 8): viii6–viii9. doi: 10.1093/annonc/mds256.
50. Kim JW, Tomita Y, Trepel J et al. Emerging immunotherapies for bladder cancer. *Curr Opin Oncol* 2015; 27(3): 191–200. doi: 10.1097/CCO.000000000000177.
51. Powels T, Eder JP, Fine GD et al. MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature* 2014; 515(7528): 558–562. doi: 10.1038/nature13904.
52. Tarhini A, Lo E, Minor DR. Releasing the brake on the immune system: ipilimumab in melanoma and other tumors. *Cancer Biother Radiopharm* 2010; 25(6): 601–613. doi: 10.1089/cbr.2010.0865.
53. Plimack ER, Gupta S, Bellmunt J et al. A phase 1b study of pembrolizumab (Pembro; MK-3475) in patients (pts) with advanced urothelial tract cancer. *Ann Oncol* 2014; 25(5): 1–41. doi: 10.1093/annonc/mdu438.
54. Segal NH, Hamid O, Hwu W et al. A phase I multi-arm dose-expansion study of the anti-programmed cell death-ligand-1 (PD-L1) antibody MEDI4736: preliminary data. *Ann Oncol* 2014; 25 (Suppl 4): iv361–iv372. doi: 10.1093/annonc/mdu342.