

Predikce odpovědi na léčbu imunoterapií checkpoint inhibitory u pacientů s pokročilými solidními nádory

Prediction of the response to the immunotherapy with checkpoint inhibitors in patients with advanced solid tumors

Bořilová S.¹, Fabian P.², Zdražilová Dubská L.³, Müller P.⁴, Kiss I.¹, Grell P.¹

¹ Klinika komplexní onkologické péče LF MU a MOÚ Brno

² Oddělení onkologické patologie, MOÚ Brno

³ Oddělení klinické mikrobiologie a imunologie, FN Brno

⁴ RECAMO, MOÚ Brno

Souhrn

Východiska: I přes široké využití imunoterapie v léčbě solidních nádorů je terapie checkpoint inhibitory účinná pouze u 20–40 % pacientů. Proto cílem našeho projektu je predikovat odpověď na imunoterapii na základě komplexní analýzy nádoru, jeho mikroprostředí a imunitního stavu pacienta. **Materiál a metody:** Doposud jsme prospektivně zařadili 70 pacientů s pokročilými nebo metastatickými solidními nádory, kteří byli léčeni protilátkami proti receptoru programované buněčné smrti (anti-PD-1) / protilátkami proti ligandu receptoru programované buněčné smrti (PD-L1), u kterých provádíme komplexní molekulární charakterizaci nádoru a imunoprofilaci periferní krve pacienta. Tkáň tumoru se hodnotí imunohistochemickým barvením pro různé subpopulace imunitních buněk (CD3+, CD4+, CD8+, CD45RO+, FoxP3+) a markery (PD-L1, Tim-3, granzym B, indolamin 2,3-dioxygenáza 1, interferon gama, mismatch repair proteiny). Dále bylo provedeno komplexní genomické sekvenování. V buňkách periferní krve provádíme deskriptivní imunoprofilaci základních imunitních regulátorů a efektorů a jejich dynamiku během imunoterapie. **Výsledky:** Zde uvádíme předběžnou analýzu deskriptivní imunoprofilu u 70 pacientů (34× maligní melanom, 23× nemalobuněčný karcinom plic, 8× renální karcinom, 2× kolorektální karcinom, 1× karcinom močového měchýře, 1× karcinom jícnu a 1× testikulární nádor), medián věku byl 67 let, zařazeno bylo 52 mužů. Odpověď na léčbu byla následující: kompletní odpověď (complete response – CR) u 10 %, parciální odpověď (parcial response – PR) u 24 %, stabilizace u 10 % a progresse onemocnění u 52 % pacientů (u 7 % nehodnoceno). Medián přežití bez progresse byl 7,3 měsíce (95% CI 5,1–12,9) a medián celkového přežití 17,6 měsíce (95% CI 11,8–25,4). U části pacientů byla provedena deskriptivní imunoprofilace imunitních regulátorů a efektorů periferní krve a jejich dynamiku. Pozorovali jsme signifikantně vyšší výchozí (před léčbou) počet T lymfocytů ($p = 0,008$) a podíl CD8+ cytotoxických T lymfocytů ($p = 0,013$) u respondérů (CR + PR). Nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v CD4+, absolutní počet lymfocytů a regulačních T buňkách. **Závěr:** Na konferenci budou prezentovány aktualizované a rozšířené výsledky odpovědi na léčbu ve vztahu k perifernímu imunoprofilu a výsledkům imunohistochemie.

Klíčová slova

imunoterapie – checkpoint inhibitory – nádorové onemocnění – biomarkery – odpověď na léčbu

Projekt byl podpořen Ministerstvem zdravotnictví ČR, grant č. NV18-03-00339.

The project was supported by the Ministry of Health of the Czech Republic, grant No. NV18-03-00339.

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

The author declares he 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 zasílané do biomedicínských časopisů.

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



MUDr. Peter Grell, Ph.D.

Klinika komplexní onkologické péče
Masarykův onkologický ústav
Žlutý kopec 7
656 53 Brno

Obdrženo/Submitted: 2. 9. 2021

Přijato/Accepted: 15. 9. 2021

Summary

Background: Despite the widespread use of immunotherapy in the treatment of solid tumors, checkpoint inhibitors are only effective in 20–40% of patients. Therefore, the goal of our project is to predict the response to immunotherapy based on a comprehensive analysis of the tumor, its microenvironment and the patient's immune status. **Material and methods:** We have prospectively included 70 patients with advanced or metastatic solid tumors who were treated with anti-programmed cell death receptor (PD-1) / anti-programmed cell death receptor ligand (PDL-1) antibodies, in whom we perform complex molecular characterization of the tumor and immunoprofiling of the patient's peripheral blood. Tumor tissue is assessed by immunohistochemical staining for different subpopulations of immune cells (CD3+, CD4+, CD8+, CD45RO+, FoxP3+) and markers (PD-L1, Tim-3, granzyme B, indolamine 2,3-dioxygenase 1, interferon gamma and mismatch repair proteins). Furthermore, complex genomic sequencing was performed. In peripheral blood cells, we perform descriptive immunoprofiling of basic immune regulators and effectors and their dynamics during immunotherapy. **Results:** Here we present a preliminary analysis of a descriptive immunoprofile in 70 patients (34 malignant melanomas, 23 on-small cell lung cancer, 8 renal cell carcinomas, 2 colorectal carcinomas, 1 bladder carcinomas, 1 esophageal carcinomas and 1 testicular tumor); the median age was 67 years, 52 men were included. The response to treatment was as follows: complete response (CR) in 10%, partial response (PR) in 24%, stabilization in 10% and disease progression in 52% (not evaluated in 7%). The median progression-free survival was 7.3 months (95% CI 5.1–12.9) and the median overall survival was 17.6 months (95% CI 11.8–25.4). Descriptive immunoprofiling of immune regulators and peripheral blood effectors and their dynamics were performed in some patients. We observed a significantly higher baseline (pre-treatment) number of T cells ($P = 0.008$) and the proportion of CD8+ cytotoxic T cells ($P = 0.013$) in responders (CR + PR). No significant differences were found in CD4+, absolute lymphocyte count and regulatory T cells. **Conclusion:** The conference will present updated and expanded results of response to treatment in relation to peripheral immunoprofile and immunohistochemistry results.

Key words

immunotherapy – checkpoint inhibitors – cancer – biomarkers – tumor response

Imunoterapie a zejména použití inhibitorů imunitního kontrolního bodu, (immune checkpoint inhibitors – ICIs) způsobila v posledních letech revoluci v léčbě několika typů nádorů. Od roku 2011, kdy FDA schválil první checkpoint inhibitor – anti CTLA-4 protilátku (ipilimumab) pro léčbu metastatického maligního melanomu, se využití ICIs rozšířilo i pro další diagnózy, a to nejenom v monoterapii ale i jako součást kombinačních režimů s jinými ICIs nebo s chemoterapií. Terapie ICIs může navodit dlouhodobou odpověď, nicméně tato efektivita je pozorována pouze u 20–40 % pacientů [1]. Bohužel léčba ICIs vede nejen k nežádoucím účinkům, ale i k významné finanční zátěži a proto je vyvíjeno nemalé úsilí k nalezení prediktivních biomarkerů.

Protinádorová imunitní odpověď je složitý několikastupňový proces. Chen et al popsal konkrétně 7 navazujících kroků protinádorové imunitní odpovědi: 1. uvolnění antigenů z nádorových buněk, 2. prezentace antigenů na povrchu antigen prezentujících buněk, 3. „priming“ a aktivace T lymfocytů v sekundárních lymfatických orgánech, 4. přenos T lymfocytů k nádoru, 5. infiltrace nádorové tkáně T lymfocyty, 6. rozpoznání nádoru T lymfocyty a 7. usmrcení nádorových buněk cytotoxickými T lymfocyty [2]. Jakákoliv chyba v jednom z těchto 7 kroků může vést k selhání

protinádorové imunity a také k rezistenci na terapii ICIs. Komplexnost protinádorové imunity potvrzuje, že je obtížné predikovat odpověď ICIs pouze na základě jednoho univerzálního a tumor agnostického prediktivního biomarkeru.

Všechny doposud známé prediktivní markery můžeme rozdělit do třech základních skupin: 1. nádorový genom 2. nádorové imunitní mikroprostředí a 3. biomarkery související s prostředím hostitele. Hlavními prediktory z první skupiny jsou vysoká nádorová mutační nálož (tumor mutation burden – TMB) nebo mikrosatelitní instabilita (microsatellite instability – MSI) nádoru, vedoucí k vysoké mutační náloži. Tyto prediktory vykazují větší potenciál vzniku nádorových neoantigenů, a tím mohou zlepšovat terapeutickou odpověď ICIs. Několik studií potvrdilo spojitost mezi vysokou TMB [3–5] nebo MSI [6] a efektivitou ICIs. Nádorové imunitní prostředí je důležitým faktorem v protinádorové imunitě. Dostatečná přítomnost tumor infiltrujících lymfocytů v nádorovém prostředí zlepšuje protinádorovou reakci, a i odpověď na imunoterapii [7,8]. Další charakteristikou nádorového prostředí je nádorová exprese PD-L1, která může vést k zhoršenému rozpoznání nádorových buněk T lymfocyty. Mnoho klinických studií prokázalo, že vyšší PD-L1 exprese koreluje s lepší odpovědí na léčbu

ICIs [9,10]. Poslední skupina prediktorů představuje prostředí samotného pacienta, a to konkrétně složení střevního mikrobiomu a imunitních buněk v periferní krvi. Imunoprofilováním periferní krvi bylo například prokázáno, že absolutní počet lymfocytů nebo počet cytotoxických CD8+ lymfocytů koreluje s lepší terapeutickou odpovědí na ICIs [11,12]. Vyšetřování střevního mikrobiomu odhalilo u respondérů ICIs hojný výskyt typických bakteriálních druhů jako *Bifidobacterium longum*, *Collinsella aerofaciens* a *Enterococcus faecium* [13].

Doposud jsme zmínili jenom pozitiva potenciálních i v praxi dnes již využívaných prediktorů, avšak potenciálně biomarkery jako imunoprofilování periferní krvi, nádorového mikroprostředí nebo střevního mikrobiomu nadále vyžadují rozsáhlejší studie. Také v praxi dnes používané prediktory jako PD-L1 exprese, MSI nebo TMB mají své slabá místa. Například mezní hodnota PD-L1 exprese i TMB u mnohých nádorů stále zůstává nadále těžce definovatelná a MSI, která ačkoliv je silným prediktorem například u kolorektálního karcinomu, není zcela tumor agnostický prediktor. Proto v rámci našeho projektu hledáme prediktory ICIs integrující komplexní molekulární charakteristiky nádoru s imunoprofilováním nádorového mikroprostředí a periferní krvi pacienta.

Doposud jsme prospektivně zařadili 70 pacientů s pokročilými nebo metastatickými solidními nádory, kteří byli léčeni anti-PD-1 / anti-PDL-1 protilátkami, u kterých provádíme komplexní molekulární charakterizaci nádoru a imunoprofilaci periferní krve pacienta. Tkáň tumoru se hodnotí imunohistochemickým barvením pro různé subpopulace imunitních buněk (CD3+, CD4+, CD8+, CD45RO+, FoxP3+) a markery (PD-L1, Tim-3, granzym B, indolamin 2,3-dioxygenáza 1, interferon gama, mismatch repair proteiny). Dále bylo provedeno komplexní genomické profilování. V buňkách periferní krve provádíme deskriptivní imunoprofilaci základních imunitních regulátorů a efektorů a jejich dynamiku během imunoterapie.

Zde uvádíme předběžnou analýzu deskriptivní imunoprofilu u 70 pacientů (34× maligní melanom, 23× nemalobuněčný karcinom plic, 8× renální karcinom, 2× kolorektální karcinom, 1× karcinom močového měchýře, 1× karcinom jícnu a 1× testikulární nádor); medián věku byl 67 let, zařazeno bylo 52 mužů. Odpověď na léčbu byla následující: kompletní odpověď u (complete response – CR) 10 %, parciální odpověď (parcial response – PR) u 24 %, stabilizace u 10 %

a progresu onemocnění u 52 % pacientů (u 7 % nezhodnoceno). Medián přežití bez progresu byl 7,3 měsíce (95% CI 5,1–12,9) a medián celkového přežití 17,6 měsíce (95% CI 11,8–25,4). U části pacientů byla provedena deskriptivní imunoprofilace imunitních regulátorů a efektorů periferní krve a jejich dynamiku. Pozorovali jsme signifikantně vyšší výchozí (před léčbou) počet T lymfocytů ($p = 0,008$) a podíl CD8+ cytotoxických T lymfocytů ($p = 0,013$) u respondérů (CR + PR). Nebyl zjištěn žádný významný rozdíl v CD4+, absolutní počet lymfocytů a regulačních T buňkách.

Na konferenci budou prezentovány aktualizované a rozšířené výsledky odpovědi na léčbu ve vztahu k perifernímu imunoprofilu a výsledkům imunohistochemie.

Literatura

- Espinosa E, Márquez-Rodas I, Soria A et al. Predictive factors of response to immunotherapy—a review from the Spanish Melanoma Group (GEM). *Ann Transl Med* 2017; 5(19): 389. doi: 10.21037/atm.2017.08.10.
- Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 2013; 39(1): 1–10. doi: 10.1016/j.immuni.2013.07.012.
- Rooney MS, Shukla SA, Wu CJ et al. Molecular and genetic properties of tumors associated with local immune cytolytic activity. *Cell* 2015; 160(1): 48–61. doi: 10.1016/j.cell.2014.12.033.

- Hellmann MD, Ciuleanu T-E, Pluzanski A et al. Nivolumab plus ipilimumab in lung cancer with a high tumor mutational burden. *N Engl J Med* 2018; 378(22): 2093–2104. doi: 10.1056/NEJMoa1801946.
- Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 2015; 348(6230): 124–128. doi: 10.1126/science.aaa1348.
- Le DT, Uram JN, Wang H et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015; 372(26): 2509–2520. doi: 10.1056/NEJMoa1500596.
- Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature* 2014; 515(7528): 568–571. doi: 10.1038/nature13954.
- Plescia I, Tunger A, Müller L et al. Characteristics of tumor-infiltrating lymphocytes prior to and during immune checkpoint inhibitor therapy. *Front Immunol* 2020; 11: 364. doi: 10.3389/fimmu.2020.00364.
- Motzer RJ, Rini BI, McDermott DF et al. Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma: results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 2015; 33(13): 1430–1437. doi: 10.1200/JCO.2014.59.0703.
- Garon EB, Rizvi NA, Hui R et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015; 372(21): 2018–2028. doi: 10.1056/NEJMoa1501824.
- Wistuba-Hamprecht K, Martens A, Heubach F et al. Peripheral CD8 effector memory type 1 T-cells correlate with outcome in ipilimumab-treated stage IV melanoma patients. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 2017; 73: 61–70. doi: 10.1016/j.ejca.2016.12.011.
- Diehl A, Yarchoan M, Hopkins A et al. Relationships between lymphocyte counts and treatment-related toxicities and clinical responses in patients with solid tumors treated with PD-1 checkpoint inhibitors. *Oncotarget* 2017; 8(69): 114268–114280. doi: 10.18632/oncotarget.23217.
- 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.



...tam, kde se
podobnost a kvalita
navzájem potkávají...

ALYMSYS®
Bevacizumab

▼ Tento léčivý přípravek podléhá dalšímu sledování. To umožní rychlé získání nových informací o bezpečnosti. Žádáme zdravotnické pracovníky, aby hlásili jakákoli podezření na nežádoucí účinky.

Zkrácená informace o přípravku • **Alymsys 25 mg/ml koncentrát pro infuzní roztok** • **Léčivá látka:** Jeden ml koncentrátu obsahuje bevacizumabum 25 mg. **Indikace:** K léčbě dospělých pacientů s metastazujícím karcinomem tlustého střeva nebo rekta v kombinaci s chemoterapeutickým režimem obsahujícím fluoropyrimidin; V kombinaci s paklitaxelem je indikován k první linii léčby dospělých pacientů s metastazujícím karcinomem prsu; V kombinaci s kapecitabinem je indikován k první linii léčby dospělých pacientů s metastazujícím karcinomem prsu, u kterých se léčba jinou možnou chemoterapií, včetně antracyklinů a taxanů, nepovažuje za vhodnou. Pacienti, kteří byli v posledních 12 měsících léčeni režimem obsahujícím taxan a antracyklin v adjuvantním podání, nemají být léčeni kombinací přípravku Alymsys s kapecitabinem; Přidání k chemoterapeutickému režimu s platinou je indikován k první linii léčby dospělých pacientů s neresekabilním pokročilým, metastazujícím nebo rekurentním nemalobuněčným plicním karcinomem jiného histologického typu, než predominantně z dlaždicových buněk; V kombinaci s erlotinibem je indikován k první linii léčby dospělých pacientů s neresekovatelným pokročilým, metastazujícím nebo rekurentním nedlaždicovým nemalobuněčným plicním karcinomem s aktivující mutací receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR); V kombinaci s interferonem alfa-2a je indikován k první linii léčby dospělých pacientů s pokročilým a/ nebo metastazujícím karcinomem ledviny; V kombinaci s karboplatinou a paklitaxelem je indikován k úvodní léčbě dospělých pacientek s pokročilým (stadia III B, III C a IV dle klasifikace FIGO) epitelovým nádorem vaječníků, vejcovodů nebo primárním nádorem pobříšnice; V kombinaci s karboplatinou a gemcitabinem nebo v kombinaci s karboplatinou a paklitaxelem je indikován k léčbě dospělých pacientek s první rekurencí epitelového nádoru vaječníků, vejcovodů nebo primárního nádoru pobříšnice citlivého na platinu, které nebyly dosud léčeny bevacizumabem nebo jinými inhibitory růstového faktoru cévního endotelu (VEGF) nebo receptoru VEGF; V kombinaci s topotekanem nebo pegylovaným liposomálním doxorubicinem je indikován k léčbě dospělých pacientek s rekurencí epitelového nádoru vaječníků, vejcovodů nebo primárního nádoru pobříšnice rezistentního k platině, které nebyly léčeny více než dvěma předchozími režimy chemoterapie a které nebyly dosud léčeny bevacizumabem nebo jiným inhibitory růstového faktoru cévního endotelu (VEGF) nebo receptoru VEGF; V kombinaci s paklitaxelem a cisplatinou nebo alternativně u pacientek, kterým nemůže být podána léčba platinou, s paklitaxelem a topotekanem, je indikován k léčbě dospělých pacientek s převládajícím, rekurentním nebo metastazujícím karcinomem děložního čípku. **Dávkování a způsob podání:** Doporučené dávkování pro jednotlivé diagnózy naleznete v nezkráceném aktuálním Souhrnu údajů o přípravku Alymsys. První dávka přípravku má být podána během 90 minut ve formě intravenózní infuze. Jestliže je první infuze dobře snášena, druhá infuze může být podána během 60 minut. Jestliže je dobře snášena infuze podaná během 60 minut, všechny následující infuze mohou být podány během 30 minut. Nemá se podávat jako bolus v intravenózní injekci nebo bolusovou injekcí. Snížení dávky z důvodu nežádoucích účinků se nedoporučuje, léčba má být buď trvale ukončena, nebo dočasně pozastavena. Infuze přípravku nesmí být podávány nebo míchány s roztoky glukózy. **Kontraindikace:** Hypersenzitivita na léčivou látku nebo na kteroukoli pomocnou látku. Hypersenzitivita na látky produkované ovariálními buňkami čínských křečků nebo na jiné rekombinantní lidské nebo humanizované protilátky. **Těhotenství a kojení:** Během léčby bevacizumabem může být zvýšeno riziko vzniku gastrointestinální perforace a píštěle, gastrointestinálně-vaginální píštěle, non-GI píštěle. Bevacizumab může nepříznivě ovlivnit proces hojení ran. Byla zaznamenána zvýšená incidence hypertenze. Byly vzácně hlášeny známky a příznaky odpovídající syndromu zadní reverzibilní encefalopatie. Zvýšené riziko vzniku proteinurie. Zvýšená incidence arteriální a žilní tromboembolie. Zvýšené riziko vzniku krvácení. **Interakce:** U metastatického karcinomu ledviny byla u 7 kombinací bevacizumabu a sunitinib-malátu hlášena mikroangiopatická hemolytická anemie (MAHA). Monoklonální protilátky proti EGFR nemají být podávány k léčbě metastazujícího kolorektálního karcinomu v kombinaci s režimem chemoterapie zahrnujícím bevacizumab. **Fertilita, těhotenství a kojení:** Bevacizumab může narušit ženskou fertilitu. Ženy ve fertilním věku musí během léčby (a až 6 měsíců po jejím ukončení) používat účinnou antikoncepci. V těhotenství kontraindikován. Během léčby a alespoň po dobu 6 měsíců po podání poslední dávky nekojit. **Účinky na schopnost řídit a obsluhovat stroje:** Nemá žádný nebo má zanedbatelný vliv. **Nežádoucí účinky:** Nejzávažnějšími nežádoucími účinky byly: gastrointestinální perforace, krvácení, včetně plicního krvácení/hemoptýzy, které je častější u pacientů s nemalobuněčným plicním karcinomem, arteriální tromboembolie. Nejčastěji pozorovanými nežádoucími účinky v různých klinických studiích byly hypertenze, únava nebo astenie, průjem a bolest břicha. **Uchovávání:** Uchovávejte v chladničce (2 °C - 8 °C). Chráněte před mrazem. Uchovávejte injekční lahvičku v krabici, aby byl přípravek chráněn před světlem. **Velikost balení:** 4 ml nebo 16 ml roztoku v injekční lahvičce obsahující 100 mg nebo 400 mg bevacizumabu. **Držitel rozhodnutí o registraci:** Mabixience Research SL, C/ Manuel Pombo Angulo 28 - 3a y 4a Planta, 28050 Madrid, Španělsko **Datum revize textu:** 8.7.2021 Výdej je vázán na lékařský předpis. Přípravek je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění, podmínky úhrady viz: www.sukl.cz. Před použitím přípravku se seznámte s úplnou informací o přípravku, které obdržíte na adrese: Zentiva, k. s., U Kabelovny 130, 102 37 Praha 10, Česká republika.