

Received: 2015.05.22
Accepted: 2015.11.23
Published: 2016.01.26

Immunoterapie nowotworów działające na punkty kontrolne układu odpornościowego

Immune checkpoint-targeted cancer immunotherapies

Julian Swatler, Ewa Kozłowska

Zakład Immunologii, Instytut Zoologii, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego

Streszczenie

Komórki nowotworowe mogą zawierać na powierzchni antygeny, które doprowadzają do wykształcenia się odpowiedzi odpornościowej przeciwko nim. Nowotwór w organizmie ludzkim może wytwarzać wokół siebie immunosupresyjne środowisko, które hamuje działanie układu odpornościowego. Od lat są podejmowane próby opracowania skutecznej immunoterapii chorób nowotworowych, która doprowadzi do powstania skutecznej odpowiedzi przeciwnowotworowej i eliminacji choroby. Potencjalnie przełomową terapią jest blokada punktów kontrolnych układu odpornościowego, czyli receptorów kostymulatorowych, które negatywnie regulują działanie układu odpornościowego. Zahamowanie ich działania powinno doprowadzić do zaburzenia tolerancji wobec nowotworu i amplifikacji odpowiedzi przeciwnowotworowej. Za blokadą punktów kontrolnych układu odpornościowego przemawia też i to, że niektóre z nich oraz ich ligandy wykazują ekspresję na komórkach nowotworowych i limfocytach naciekających nowotwór, przyczyniając się tym samym do powstawania immunosupresyjnego mikrośrodowiska nowotworowego. Podczas prób klinicznych III fazy potwierdzono skuteczność terapeutyczną ipilimumabu - przeciwciała anti-CTLA-4, które zaakceptowano do stosowania w leczeniu zaawansowanego czerniaka. Dzięki obiecującym wynikom prób klinicznych I fazy, przeciwciała anti-PD-1 - nivolumab (w leczeniu zaawansowanego czerniaka i niedrobnokomórkowego raka płuca) i pembrolizumab (w leczeniu zaawansowanego czerniaka) otrzymały status leku przełomowego i wczesną akceptację do stosowania. Podobny status, w leczeniu zaawansowanego raka pęcherza moczowego, otrzymało przeciwciała anti-PD-L1 - MPDL3280A. Wczesnej ocenie poddawane są także inne punkty kontrolne - LAG-3, TIM-3, BTLA, B7-H3 i B7-H4.

Keywords: immunoterapia • punkty kontrolne układu odpornościowego • CTLA-4 • PD-1 • PD-L1 • ipilimumab • nivolumab • pembrolizumab • nowotwór

Summary

Tumor cells may express on their surface various characteristic antigens that can induce antitumor immunity. However, cancer in human body may induce an immunosuppressive microenvironment that limits immune response to its antigens. For many years scientists have tried to develop an immunotherapy which would induce a potent antitumor immune response and lead to an elimination of the disease. One of the most promising immunotherapies is blockade of immune checkpoints, i.e. a group of costimulatory molecules negatively regulating the immune system. Their blockade would overcome immune tolerance in the tumor microenvironment and amplify antitumor immunity. What's more, immune checkpoint blockade may turn out even more profitable, as some of immune checkpoints and their ligands are expressed on tumor surface and on tumor infiltrating lymphocytes, contributing to the immunosuppressive cancer microenvironment. Phase III clinical trials have confirmed efficacy of an anti-CTLA-4 antibody ipilimumab, thereby leading to its acceptance for the treatment of

Słowa kluczowe:	advanced melanoma. Thanks to promising results of the phase I clinical trials, a breakthrough therapy designation and an early approval for the treatment have been granted to anti-PD-1 antibodies - nivolumab (for the treatment of advanced melanoma and advanced non-small cell lung cancer) and pembrolizumab (for the treatment of advanced melanoma) and, in the treatment of advanced bladder cancer, an anti-PD-L1 antibody - MPDL3280A as well. Other immune checkpoints, such as LAG-3, TIM-3, BTLA, B7-H3 and B7-H4, are also under early evaluation.
	immunotherapy • immune checkpoints • CTLA-4 • PD-1 • PD-L1 • ipilimumab • nivolumab • pembrolizumab • cancer
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1192926
Word count:	6203
Tables:	3
Figures:	3
References:	91

Adres autorki: dr Ewa Kozłowska, Zakład Immunologii, Instytut Zoologii, Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa, e-mail: ekozlowska@biol.uw.edu.pl

Wykaz skrótów: **BRAF** – protoonkogenna kinaza serynowo-treoninowa (v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1), **BTLA** – atenuator (inhibitor) limfocytów T i B (B- and T-cell lymphocyte attenuator), **CTLA-4** – antygen 4 związany z limfocytom T cytotoksycznym (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4), **Foxp3** – czynnik transkrypcyjny z rodziny forkhead (forkhead box P3), **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), **HVEM** – receptor uczestniczący we wnikaniu herpeswirusów (herpesvirus entry mediator), **ICOS** – kostymulator indukowalny (inducible T-cell costimulator), **LAG-3** – 3 gen aktywacji limfocytów (lymphocyte-activation gene 3), **mCRPC** – rak stercza tworzący przerzuty oporny na kastrację (metastatic castration resistant prostate cancer), **mAb** – przeciwciało monoklonalne (monoclonal antibody), **mTOR** – ssaczy cel rapamycyny (mammalian target of rapamycin kinase), **PD-1** – receptor śmierci programowanej (programmed death-1), **PI3K** – kinaza-3 fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase), **PTEN** – homolog fosfatazy i tensyny (phosphatase and tensin homolog), **RECIST** – kryteria ewaluacji odpowiedzi guzów litych (response evaluation criteria in solid tumors), **S6K1** – kinaza beta-1 rybosomalnego białka S6 (ribosomal protein S6 kinase beta-1), **STAT** – transduktory sygnału i aktywatory transkrypcji (signal transducers and activators of transcription), **TIL** – limfocyt naciekający nowotwór (tumor infiltrating lymphocyte), **TIM-3** – transbłonowa immunoglobulina i mucyna 3 (T cell immunoglobulin and mucin domain 3)

WPROWADZENIE

Genom komórek nowotworowych zawiera liczne mutacje i modyfikacje epigenetyczne niespotykane w zdrowych tkankach, które mogą doprowadzić do ekspresji antygenów charakterystycznych dla komórek nowotworowych. Ich obecność może indukować powstanie odpowiedzi odpornościowej. Odkrycie to sprawiło, że immunoterapie są nadzieją na leczenie nowotworów [47,74]. Mimo istnienia odpowiedzi przeciwnowotworowej, po wykształceniu się guzów nowotworowych może dochodzić do indukcji tolerancji. W środowisku nowotworowym zauważono obecność swoistych limfocytów, pozbawionych jednak funkcji efektorowych. Wynika to z istnienia mechanizmów prowadzących do supresji odpowiedzi przeciwnowotworowej - należą do nich obecność licznych

regulatorowych limfocytów T, mieloidalnych komórek supresorowych, cytokin supresorowych oraz cząsteczek kostymulatorowych o aktywności supresyjnej. Celem immunoterapii nowotworów jest przełamanie tolerancji immunologicznej oraz wykształcenie efektywnej odpowiedzi odpornościowej. Szerokie zastosowanie w onkologii znalazły przeciwciała monoklonalne, które indukują przede wszystkim mechanizmy cytotoksyczności zależnej od przeciwciał. Szczegółowej ocenie poddano także szczepionki oparte na komórkach dendrytycznych, jednak w większości nie wykazały one skuteczności podczas prób klinicznych [47,74]. Środkiem terapeutycznym o potencjalnie przełomowym znaczeniu wydają się przeciwciała blokujące tzw. punkty kontrolne układu odpornościowego (immune checkpoints), czyli cząsteczki kostymulatorowe o aktywności supresyjnej (tabela 1) [47].

Tabela 1. Punkty kontrolne układu odpornościowego, przeciwciała je blokujące oraz stopień zaawansowania prób klinicznych [11,13]

Punkt kontrolny	Przeciwciało	Rodzaj przeciwciała	Stopień zaawansowania prób klinicznych
CTLA-4	Ipilimumab	Ludzkie	Zaakceptowane przez FDA w leczeniu czerniaka, próby kliniczne III fazy w kilku nowotworach
	Tremelimumab	Ludzkie	Próby kliniczne III fazy, obecnie zaprzestane
PD-1	Nivolumab	Ludzkie	Zaakceptowane przez FDA w leczeniu czerniaka i raka płuca, próby kliniczne III fazy w kilku nowotworach
	Pembrolizumab	Humanizowane	Zaakceptowane przez FDA w leczeniu czerniaka, próby kliniczne III fazy w kilku nowotworach
PD-L1	BMS-936559	Ludzkie	Próby kliniczne I fazy w kilku nowotworach
	MPDL3280A	Humanizowane	Zaakceptowane przez FDA w leczeniu raka pęcherza moczowego, próby kliniczne III fazy w kilku nowotworach
LAG-3	BMS-986916	Ludzkie	Próby kliniczne I fazy w kilku nowotworach
TIM-3			Badania przedkliniczne
BTLA			Badania przedkliniczne
B7-H3	MGA271	Humanizowane	Próby kliniczne I fazy w kilku nowotworach
B7-H4			Badania przedkliniczne

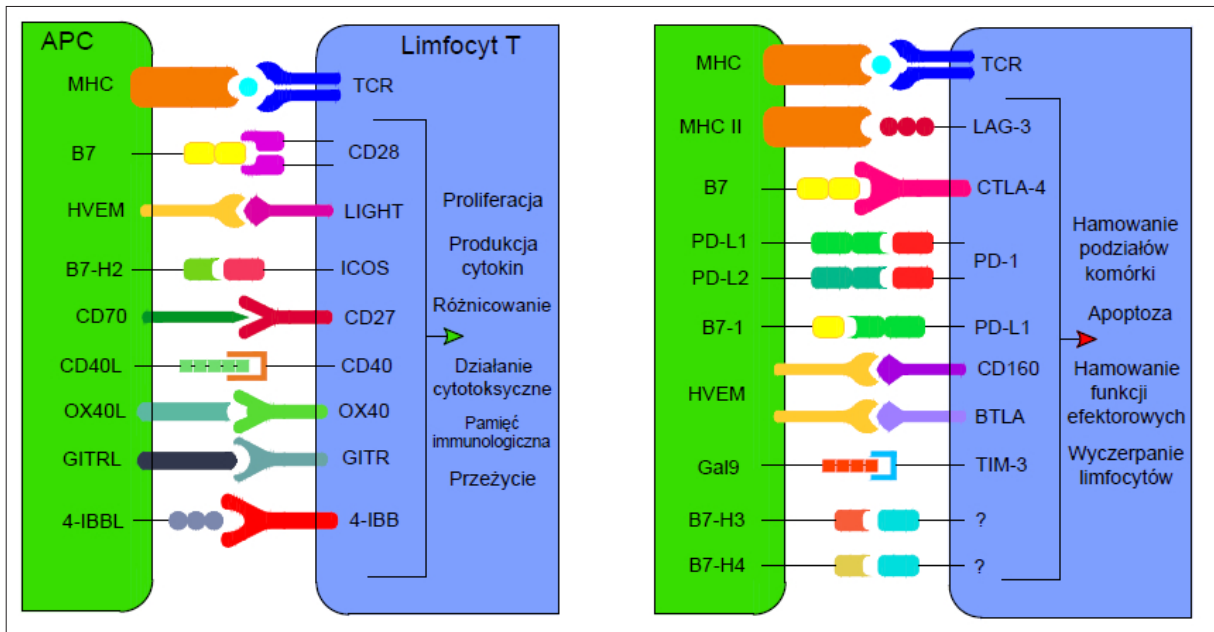
Komórki układu odpornościowego ulegają aktywacji zgodnie z modelem dwóch sygnałów. Prezentacja antygeny i aktywacja swoistych limfocytów T to skutek oddziaływania TCR z cząsteczką MHC prezentującą antygen. Do uzyskania pełnych funkcji efektorowych przez limfocyty niezbędny jest drugi sygnał – powstający podczas wiązania ligandów przez cząsteczki kostymulatorowe limfocytów. Brak drugiego sygnału skutkuje obniżoną odpowiedzią na dany antygen lub anergią limfocytów. Poza cząsteczkami kostymulatorowymi o aktywności aktywującej istnieją także cząsteczki kostymulatorowe o aktywności supresyjnej (co-inhibitors, tj. punkty kontrolne układu odpornościowego (ryc. 1)) [9,10]. Cząsteczki kostymulatorowe odgrywają rolę nie tylko w interakcjach między komórkami układu odpornościowego, ale również w ich kontakcie z pozostałymi komórkami organizmu [9]. Działanie układu odpornościowego jest w dużej mierze wypadkową ekspresji i oddziaływania cząsteczek kostymulatorowych o aktywności aktywującej i supresyjnej, zatem modulowanie ich aktywności może mieć zastosowanie terapeutyczne. Ponieważ cząsteczki kostymulatorowe o aktywności supresyjnej hamują działanie układu odpornościowego [9], ich blokada powinna doprowadzić do wzmocnienia odpowiedzi odpornościowej i potencjalnego działania terapeutycznego w przypadku chorób, w których dochodzi do lokalnej lub ogólniczej immunosupresji.

BLOKADA RECEPTORA CTLA-4

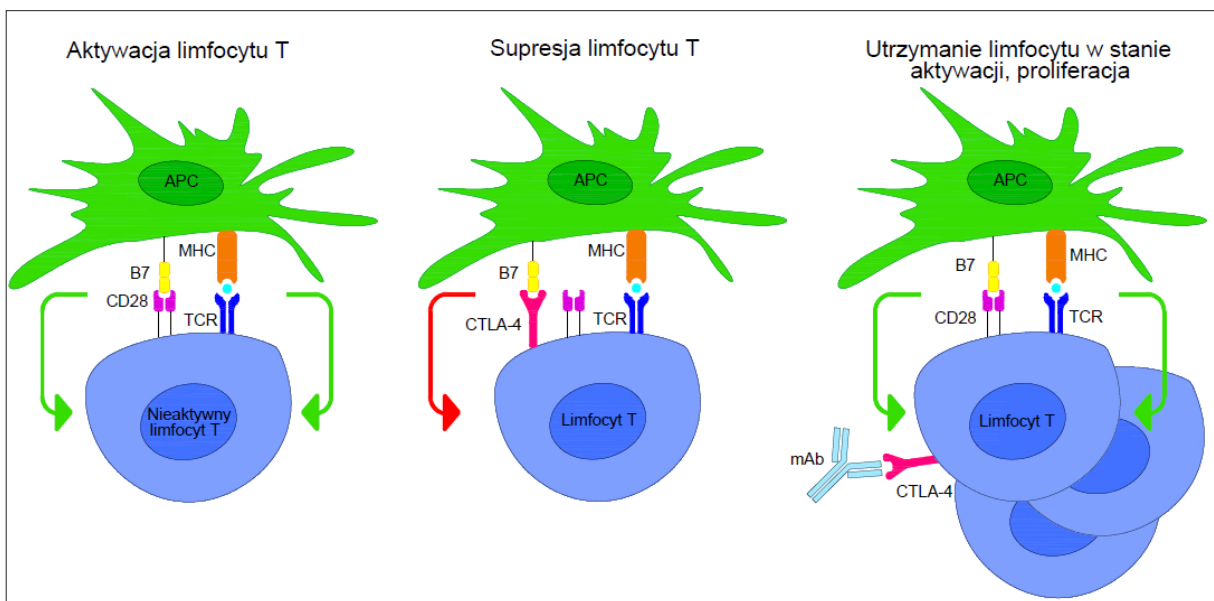
Biologia i funkcje receptora CTLA-4

Receptor CTLA-4 to transmembranowe białko, odpowiadające za hamowanie funkcji limfocytów T. Działa przede wszystkim przez konkurowanie z cząsteczką kostymulatorową CD28 o wiązanie do jej ligandów CD80 i CD86 na komórkach APC, blokując aktywujący limfocyty sygnał kostymulatorowy. CTLA-4 wykazuje większe powinowactwo do CD80/CD86 niż CD28, co umożliwia skuteczną supresję limfocytów. CTLA-4 ulega ekspresji na konwencjonalnych limfocytach T CD4+ i CD8+ po stymulacji receptora TCR, zapobiegając zbyt silnej reakcji odpornościowej na wczesnych etapach aktywacji. Odpowiada także za supresorowe funkcje regulatorowych limfocytów T CD4+ CD25+ FoxP3+. Ważną rolę CTLA-4 w regulacji układu odpornościowego potwierdza silnie autoimmunizacyjny, letalny fenotyp myszy knock-out CTLA-4^{-/-} [69].

Zgodnie z teorią, blokada receptora CTLA-4 przez przeciwciała monoklonalne powinna utrzymywać limfocyty T w stanie aktywacji i doprowadzić do amplifikacji odpowiedzi odpornościowej w organizmie (ryc. 2). Tym samym wzmocnieniu powinna ulec odpowiedź przeciw-



Ryc. 1. Przykłady ważniejszych cząsteczek kostymulatorowych o aktywności aktywującej i supresyjnej [wg 10, zmodyfikowano]



Ryc. 2. Mechanizm działania przeciwciał anti-CTLA4; mAb – przeciwciało monoklonalne [wg 81, zmodyfikowano]

nowotworowa, co stanowi podstawę klinicznego zastosowania przeciwciał monoklonalnych anti-CTLA-4 w immunoterapii nowotworów.

Początki badań nad wykorzystaniem blokady receptora CTLA-4 w terapii chorób nowotworowych

Początkowo nie brano pod uwagę wykorzystania receptora CTLA-4 jako potencjalnego celu terapii przeciwnowotworowych, ponieważ nie wykazano obecności jego ligandów na komórkach nowotworowych. W badaniach przeprowadzonych pod koniec XX w. [33] wykazano jednak, że usunięcie sygnałów blokujących kostymulację

może doprowadzić do wzmocnienia odpowiedzi przeciwnowotworowej. W eksperymentach na myszach, którym podawano komórki immunogenego raka jelita grubego, wykazano, że przeciwciała anti-CTLA-4, podawane przed transferem komórek nowotworowych, zapobiegały wykształceniu choroby. Doprowadzały również do regresji nowotworu, gdy były podawane myszom z wykształconymi już guzami. Podobne wyniki otrzymano w badaniach nad nowotworami słabo immunogennymi, przy zastosowaniu jednoczesnej stymulacji układu odpornościowego. U myszy z nieimmunogennym czerniakiem B16 działanie terapeutyczne wykazały przeciwciała anti-CTLA-4 podawane z komórkami

Tabela 2. Wyniki ważniejszych prób klinicznych przeciwciał blokujących punkty kontrolne układu odpornościowego. Kontrola oznacza środek, do którego porównywano dane przeciwciała (scharakteryzowane w tekście). W przypadku badania wielu dawek przeciwciała podany jest wynik ogółem dla całego badania (zgodnie z prezentacją wyników w publikacji źródłowej), chyba że wprowadzone jest dodatkowe oznaczenie. Skróty: niv. - nivolumab; ipil. – ipilimumab; pembr. – pembrolizumab; MPDL. - MPDL3280A; guz. PD-L1 +/- - pacjenci, których guzy wykazywały/nie wykazywały ekspresji PD-L1; BRAF wt/mut - pacjenci nieposiadający/posiadający mutację genu BRAF

Przeciwciało	Faza badania	Nowotwór (stadium)	Liczba pacjentów	Dawka [mg/ kg m.c.]	Mediana czasu przeżycia [miesiące]	Współczynnik 2-letniego przeżycia [%]	Współczynnik odpowiedzi [%]	Działania niepożądane (3/4 stopnia) związane z leczeniem [%]	Źródło
Tremelimumab	III	czerniak (III/IV)	655, wcześniej nieleczeni	15	trem. - 12,6 kontrola - 10,7	trem. - 26,4 kontrola - 22,7	trem. - 10,7 kontrola - 9,8	trem. - 52 kontrola - 37	[58]
Ipilimumab	III	czerniak (III/IV)	676, wcześniej leczeni	3	ipil. + gp100 - 10 ipil. - 10,1 kontrola - 6,4	ipil. + gp100 - 21,6 ipil. - 23,5 kontrola - 13,7	ipil. + gp100 - 5,7 ipil. - 10,9 kontrola - 1,5	ipil. + gp100 - 17,4 ipil. - 22,9 kontrola - 11,4	[25]
	III	czerniak (III/IV)	502, wcześniej nieleczeni	10	ipil. - 11,2 kontrola - 9,1	ipil. - 28,5 kontrola - 17,9	ipil. - 15,2 kontrola - 10,3	ipil. - 56,3 kontrola - 27,5	[65]
Nivolumab	I	zaawansowane nowotwory lite	296, wcześniej leczeni	0,1; 0,3; 1; 3; 10	czerniak (107 pacjentów), niv. - 16,8	czerniak (107 pacjentów), niv. - 43	czerniak, niv. - 28 rak płuca, niv. - 18 rak nerki, niv. - 27	niv. - 14	[72,73]
	I	zaawansowany NSCLC	129, wcześniej leczeni	1; 3; 10	ogółem niv. - 9,9 3mg/kg m.c. niv. - 14,9	ogółem niv. - 24 3mg/kg m.c. niv. - 42	ogółem niv. - 17,1 3mg/kg m.c. niv. - 24	niv. - 14	[19]
	I	chłoniak Hodgkina	23, wcześniej leczeni	3	BD	BD	niv. - 87	niv. - 22	[1]
	III	czerniak (III/IV)	418, wcześniej nieleczeni	3	niv. - nie osiągnięto kontrola - 10,8	roczny: niv. - 72,9 kontrola - 42,1	niv. - 40 kontrola - 13,9	niv. - 11,7 kontrola - 17,6	[62]
	III	czerniak (III/IV)	167, wcześniej leczeni	3	BD	BD	niv. - 31,7 kontrola - 10,6	niv. - 9 kontrola - 31	[79]
Pembrolizumab	I	czerniak (III/IV)	135, wcześniej leczeni i nieleczeni	10	BD	BD	pembr. - 38	pembr. - 13	[23]
	I	czerniak (III/IV)	173, wcześniej leczeni	2	BD	roczny: pembr. - 58	pembr. - 26	pembr. - 15	[63]
				10		roczny: pembr. - 63	pembr. - 26	pembr. - 8	
	III	czerniak (III/IV)	834, wcześniej leczeni i nieleczeni	10, co 2 tyg.	BD	roczny: pembr. - 74,1	pembr. - 33,7	pembr. - 13,3	[64]
10, co 3 tyg.				roczny: pembr. - 68,4		pembr. - 32,9	pembr. - 10,1		
MPDL3280A	I	zaawansowany rak pęcherza moczowego	205, wcześniej leczeni	15	BD	BD	guz. PD-L1+, MPDL. - 43 guz. PD-L1-, MPDL. - 11	MPDL. - 4	[52]
	I	czerniak (III/IV)	53, wcześniej leczeni	niv. - 0,3; 1; 3; 10 ipil. - 3; 10	BD	BD	ogółem niv. + ipil. - 40 wyznaczone dawki niv. + ipil. - 53	niv. + ipil. - 53	[83]
Nivolumab + Ipilimumab	I	czerniak (III/IV)	142, wcześniej nieleczeni	niv. - 1 ipil. - 3	BD	BD	Pacjenci BRAF wt/mut - niv. + ipil. - 61/52 kontrola - 11/10	niv. + ipil. - 54 kontrola - 24	[50]

wytwarzającymi czynnik GM-CSF, podczas gdy same przeciwciała anti-CTLA-4 nie wykazały skuteczności (prawdopodobnie ze względu na zbyt mały poziom prezentacji antygenów nowotworowych) [76]. W obu eksperymentach wykazano, że podawanie przeciwciał anti-CTLA-4 prowadzi do powstania pamięci immunologicznej przeciwko komórkom nowotworowym, co sugerował brak guzów u myszy, którym po wyzdrowieniu ponownie podano komórki nowotworowe [33,76]. Dowiedziono, że po podaniu przeciwciał anti-CTLA-4 w odpowiedzi przeciwnowotworowej biorą udział przede wszystkim limfocyty T CD8+ [76]. Skuteczne działanie przeciwciał anti-CTLA-4 i czynnika GM-CSF było pierwszą przesłanką, że skuteczniejsze niż monoterapia mogą się okazać terapie łączone. Obiecujące wyniki badań na modelu mysim były podstawą do rozpoczęcia badań klinicznych przeciwciał anti-CTLA-4 u ludzi chorych na nowotwory. W 2000 r. rozpoczęto badania kliniczne ludzkich przeciwciał monoklonalnych anti-CTLA-4 - tremelimumabu i ipilimumabu [46].

Tremelimumab był testowany w próbach klinicznych I i II fazy przede wszystkim u pacjentów chorujących na czerniaka z przerzutami (metastatic melanoma). Eksperymenty wykazały terapeutyczne właściwości tego przeciwciała - u 7-10% pacjentów doprowadziło do trwałej (do 8 lat) regresji nowotworu [57]. W toku dalszych badań, w randomizowanym badaniu klinicznym III fazy porównano działanie tremelimumabu oraz standardowej chemioterapii (dekarbazyna lub temozolomid) u pacjentów chorych na zaawansowanego czerniaka. Nie zaobserwowano jednak istotnych statystycznie różnic w medianie czasu przeżycia oraz odsetku obiektywnych odpowiedzi (tj. odpowiedzi, które można zmierzyć, zalicza się do nich pełną odpowiedź, tj. całkowity zanik zmian nowotworowych oraz częściową odpowiedź, czyli zmniejszenie się zmian nowotworowych) (tabela 2) [58].

Ipilimumab

Dokładniejszej ocenie poddano ipilimumab - wczesne próby kliniczne tego przeciwciała przeprowadzono u pacjentów chorych na różne nowotwory. Sprawdzano zarówno skuteczność ipilimumabu jako jedynego terapeutyku oraz podawanego z innymi środkami (IL-2, szczepionka gp100 [szczepionka zawierająca antygen charakterystyczny dla czerniaka - glikoproteinę 100], chemioterapeutyki). Odpowiedź obiektywną zaobserwowano u pacjentów chorych na czerniaka oraz raka stercza (mCRPC) [82].

W badaniach klinicznych II fazy sprawdzono skuteczność ipilimumabu u pacjentów (wcześniej leczonych i nieleczonych) w zaawansowanym stadium czerniaka [82]. Podczas poszczególnych prób obserwowano odpowiedź nawet u 11% pacjentów leczonych ipilimumabem [84], a także obiecujące współczynniki rocznego i 2-letniego przeżycia [45].

W pierwszej zakończonej próbie klinicznej III fazy sprawdzano skuteczność ipilimumabu w porównaniu

do szczepionki gp100 u pacjentów chorych na nieoperacyjnego czerniaka w III lub IV stopniu zaawansowania, poddawanych wcześniejszemu leczeniu. Porównywano działanie samego ipilimumabu, ipilimumabu podawanego ze szczepionką oraz samej szczepionki. Otrzymano istotne statystycznie zwiększenie mediany czasu przeżycia oraz współczynnika 2-letniego przeżycia u osób przyjmujących ipilimumab, w porównaniu z grupą kontrolną (tabela 2) [25].

Ipilimumab jest pierwszym środkiem terapeutycznym, którego skuteczność potwierdzono w leczeniu czerniaka z przerzutami w ramach randomizowanych prób klinicznych III fazy. W 2011 r. został przyjęty przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) do leczenia pacjentów w zaawansowanym stadium choroby (pod nazwą komercyjną Yervoy™) [82].

W ramach randomizowanych badań klinicznych III fazy u pacjentów chorych na czerniaka z przerzutami sprawdzono także działanie ipilimumabu (w dawce 10 mg/kg m.c.) podawanego z chemioterapeutykiem - dekarbazyną (w porównaniu do dekarbazyny z placebo). W grupie przyjmującej ipilimumab zauważono wyższą medianę czasu przeżycia oraz współczynnik 2-letniego przeżycia (tabela 2) [65].

Warto zauważyć, że w obu badaniach klinicznych III fazy ipilimumab działał terapeutycznie, mimo iż w obu próbach pacjenci mieli złe rokowania związane ze stadium choroby (ponad 70% pacjentów w pierwszym z opisanych badań i ponad 50% w drugim było w stadium M1c - oznaczającym m.in. przerzuty do narządów trzewnych) i podwyższonym stężeniem dehydrogenazy mleczanowej (około 35% pacjentów w obu badaniach) [25,65]. U pacjentów w IV stadium czerniaka roczna przeżywalność nie przekracza 25% [82], co w porównaniu z roczną przeżywalnością zaobserwowaną w opisywanych próbach (43,6%, 45,6% [25], 47,3% [65]) podkreśla skuteczność terapii ipilimumabem.

Najważniejsza w analizie trwałości odpowiedzi i skuteczności leku w ramach stosunkowo krótkich (dla pojedynczego pacjenta) prób klinicznych jest analiza przeżywalności pacjentów w kolejnych latach. Analizy takie przeprowadzono u pacjentów chorujących na czerniaka z przerzutami, uczestniczących w wybranych badaniach klinicznych II i III fazy. U wcześniej leczonych pacjentów, którym podawano ipilimumab w dawce 3 mg/kg m.c. współczynnik 5-letniego przeżycia wyniósł 16,5%, natomiast u pacjentów, którzy przyjmowali ipilimumab w dawce 10 mg/kg m.c. współczynnik ten wyniósł 18,2-28,4%. [85]. Obserwowano bardzo małe różnice porównując przeżywalność w okresie od 3 do 6 lat od zakończenia leczenia [34,85]. Wśród pacjentów leczonych ipilimumabem w ramach pierwszej próby klinicznej III fazy uzyskano natomiast taki sam współczynnik 2- i 3-letniego przeżycia, podczas gdy przeżywalność pacjentów z grupy kontrolnej (leczonych szczepionką gp100), spadła z 19 do 15% [39]. Metaanaliza

obejmująca 1861 pacjentów chorujących na czerniaka, leczonych różnymi dawkami ipilimumabu, wykazała, że łączny współczynnik 5-letniego przeżycia wyniósł 22%. Na krzywej Kaplana-Meiera opracowanej w ramach tej metaanalizy, plateau obserwowane jest po 3 latach od rozpoczęcia terapii i sięga blisko 10 lat łącznego okresu śledzenia losów pacjentów [40].

Wyniki analiz długoterminowych w porównaniu z podawanym przez American Joint Committee on Cancer współczynnikiem 5-letniego przeżycia (~10%) [34,40,82] chorych na czerniaka w IV stadium zaawansowania dowodzą długofalowego działania ipilimumabu, które może być związane z powstawaniem pamięci immunologicznej. Po zakończeniu badań klinicznych pacjenci nie otrzymywali już przeciwciał, a nadal obserwowano odpowiedź odpornościową i stosunkowo dużą przeżywalność, podczas kiedy w przypadku chemioterapii skuteczność działania obserwowano tylko przy stałym podawaniu leku [39,85]. Wykazano również, że ipilimumab przyczynia się do powstawania cytotoksycznych limfocytów T CD8+ o nowej, wcześniej nieistniejącej u pacjentów swoistości (wobec antygenów nowotworowych, przeciwko którym nie istniała odpowiedź odpornościowa przed rozpoczęciem terapii) [31]. Nie stwierdzono jednoznacznej zależności między odsetkiem obiektywnych odpowiedzi i przeżywalnością u leczonych ipilimumabem. Dalszych badań wymaga również skuteczna dawka przeciwciał [39,85].

Charakterystyczna dla ipilimumabu jest swoista kinetyka jego działania (odmienna od kinetyki działania cytostatyków), charakteryzująca się późnym, nienatychmiastowym występowaniem odpowiedzi [82]. Podczas prób klinicznych II fazy, u wielu pacjentów odpowiedź obserwowano dopiero po 6-12 miesiącach od rozpoczęcia terapii, podczas których nieraz dochodziło nawet do progresji choroby [82]. Podobnych obserwacji dostarczyły próby kliniczne III fazy [65]. Charakterystyczne dla kinetyki leku jest opisane wyżej jego długofalowe działanie.

Według dotychczas przyjętych w leczeniu nowotworów kryteriów odpowiedzi (RECIST), szczególna kinetyka działania ipilimumabu uniemożliwia pewne stwierdzenie, czy u pacjenta dochodzi do odpowiedzi na terapeutyk. Przez WHO zostały więc przyjęte nowe, swoiste dla tej terapii kryteria odpowiedzi (irRC - immune-related response criteria) [81]. Prowadzone są jednocześnie prace nad znalezieniem prostszych wskaźników odpowiedzi na terapię, opartych o analizy krwi, a nie badania radiologiczne. We krwi pacjentów, u których stwierdzono odpowiedź na terapię, obserwowano wzrost całkowitej liczby leukocytów, liczby limfocytów T CD8+ czy limfocytów T CD4+ ICOS^{hi}. Jednocześnie wykazano, że bardziej podatni na terapię mogą być pacjenci, którzy przed rozpoczęciem leczenia mają we krwi przeciwciała anty-NY-ESO-1 (NY-ESO-1 - immunogeny antygen nowotworowy) czy mniejszą liczbę mieloidalnych komórek supresorowych [51].

Przy analizie działania każdego terapeutyku istotne jest zbadanie działań niepożądanych (tabela 2). W przypadku przeciwciał modulujących odpowiedź odpornościową szczególnie ważne są zaburzenia działania układu odpornościowego. Powstawanie autoreaktywnych komórek układu odpornościowego zauważono już podczas eksperymentów z użyciem przeciwciał anty-CTLA-4 na myszach [76]. Powikłania o charakterze autoimmunizacyjnym i zapalnym obserwowano również wśród pacjentów leczonych tremelimumabem [57,58] i podczas pierwszych prób klinicznych ipilimumabu [82]. Podczas pierwszych prób klinicznych III fazy działania niepożądane związane z odpowiedzią odpornościową (immune-related adverse events) 3 lub 4 stopnia obserwowano u 10-15% pacjentów [25]. Jeszcze częściej występowały one u pacjentów leczonych, w ramach prób klinicznych III fazy, ipilimumabem i dekarbazyną - u 38,1% zaobserwowano działania niepożądane związane z odpowiedzią odpornościową 3 lub 4 stopnia. Różnica mogła wynikać z większej dawki leku (10 mg/kg m.c.), jak i negatywnego działania dekarbazyny [65]. Do najczęstszych skutków należały: zmiany skórne, biegunki, stany zapalne jelita i wątroby - ich leczenie było możliwe przy odpowiednim zastosowaniu kortykosteroidów i środków immunosupresyjnych (np. infliksymabu - przeciwciała wiążącego i dezaktywującego TNF- α) [25,65]. W szczególnych przypadkach podczas leczenia immunosupresyjnego działań niepożądanych ipilimumabu dochodziło do infekcji oportunistycznych, np. zapalenia płuc wywołanego *Aspergillus fumigatus* [32]. Ryzyko infekcji oportunistycznej wskazuje na konieczność zachowania dużej ostrożności podczas leczenia działań niepożądanych terapii.

Podczas prób klinicznych stwierdza się jedynie działania niepożądane dające widoczne objawy. Więcej informacji dostarczają badania np. histologiczne i serologiczne. U pacjentów zauważono zmiany zapalne w błonie okrężnicy (infiltracja przez komórki stanu zapalnego) oraz fluktuacje w poziomie poszczególnych przeciwciał przeciwko florze komensalnej. Odnotowano również wzrost stężenia kalprotektyny w stolcu, która jest jednym z biomarkerów stanu zapalnego jelit. Wyniki te wskazują na zaburzenia odporności w obrębie układu pokarmowego [2].

Działania niepożądane związane z odpowiedzią odpornościową badano również pod kątem ich objawów radiologicznych, przypuszczalnie związanych ze zjawiskami autoimmunizacyjnymi oraz infiltracją tkanek przez limfocyty T. Zaobserwowano zmiany niedające objawów klinicznych - stany zapalne mięśni, tarczycy, stawów, powięzi oraz limfadenopatie. Jednocześnie zaobserwowano obiektywną odpowiedź u 30% pacjentów ze zmianami w obrazie radiologicznym, przy 6% wśród pacjentów bez takich zmian. Wskazuje to na potencjalną korelację między występowaniem objawów widocznych w obrazie radiologicznym, a rezultatami leczenia pacjentów, którym podano przeciwciała anty-CTLA-4 [6]. Podobną zależność zauważono podczas innych badań - wśród pacjentów z obserwowanymi działaniami

niepożądanymi 3 lub 4 stopnia zaobserwowano wyższy współczynnik objektywnych odpowiedzi i wyższą medianę czasu przeżycia [81].

Terapie łączone z użyciem przeciwciał anti-CTLA-4

Przeciwciała anti-CTLA-4 poddawane są dokładnej ocenie również w połączeniu z innymi środkami terapeutycznymi stosowanymi w chorobach nowotworowych. Synergistyczne działanie ipilimumabu i dekarbazyny wykazano w opisanym badaniu klinicznym III fazy [65]. Jednoczesne leczenie z użyciem przeciwciał anti-CTLA-4 i innych chemioterapeutyków oceniano dotychczas głównie podczas prób przedklinicznych i klinicznych I/II fazy. Skuteczne z przeciwciałami anti-CTLA-4 okazały się gemcytabina [35], iksabepilon, paklitaksel i etopozyd [27]. Jednocześnie dąży się do ustalenia optymalnego schematu podawania obu leków. Główny problem dotyczy ustalenia, czy skuteczniejsze terapeutycznie jest jednoczesne, czy rozdzielone w czasie podanie obu leków, uzyskane wyniki nie są jednoznaczne [35,87]. Wiadomo, że łączona terapia nie zaburza kinetyki działania ipilimumabu [65,80]. Skuteczność terapii jest weryfikowana obecnie w ramach prób klinicznych III fazy: testuje się paklitaksel i karboplatinę z ipilimumabem u pacjentów cierpiących na niedrobnokomórkowego raka płuca oraz etopozyd i cisplatinę/karboplatinę z ipilimumabem w rozsianej postaci drobnokomórkowego raka płuca [21].

Bardzo obiecujące wyniki, w tym pełną odpowiedź, uzyskano podczas próby klinicznej I/II fazy w jednoczesnym stosowaniu radioterapii i ipilimumabu u osób chorych na oporną na kastrację postać raka stercza (mCRPC). Wyniki sugerują skuteczność terapii, która jest obecnie oceniana w badaniu klinicznym III fazy [67]. Synergistyczne działanie terapeutyczne wykazywały także m.in. przeciwciała anti-CTLA-4 podawane ze szczepionką komórkową wytwarzającą czynnik GM-CSF [77] oraz ipilimumab z interleukiną 2 [30] czy bawacyzumabem (przeciwciałem monoklonalnym anti-VEGF) [24]. Poza wymienionymi terapiami, w I lub II fazie prób klinicznych są testowane terapie łączone ipilimumabu z takimi środkami jak interferon- α 2b, wemurafenib czy terapeutyczną depryzacją androgenów (w raku stercza) [21]. Terapie łączone mogą się okazać niezwykle skutecznym rozwiązaniem, ponieważ ich poszczególne elementy działają na różne komponenty układu odpornościowego i nowotworu.

BLOKADA RECEPTORÓW PD-1 I PD-L1

Biologia i funkcje receptora PD-1 i jego ligandów (PD-L1, PD-L2)

Podobnie jak receptor CTLA-4, regulacyjne funkcje w układzie odpornościowym pełnią także receptor PD-1 i jego ligandy - PD-L1 (określany także jako B7-H1 lub CD274) i PD-L2 (określany także jako B7-DC lub CD273).

W przeciwieństwie jednak do działania CTLA-4, który hamuje aktywację limfocytów T głównie na zasadzie konkurencji o cząsteczkę CD80/CD86, PD-1 i jego ligandy stanowią osobny szlak sygnałowy [59]. PD-1, podobnie jak CTLA-4, ulega ekspresji na aktywowanych limfocytach T i B, jednak w przeciwieństwie do cząsteczki CTLA-4 podtrzymuje stan anergii i zapobiega procesom autoimmunizacyjnym w późniejszych etapach odpowiedzi odpornościowej w przebiegu infekcji [15]. Zaobserwowano również słabiej autoimmunizacyjny (nieletalny), w stosunku do CTLA-4^{-/-}, fenotyp myszy knock-out PD-1^{-/-} [59], co wskazuje, że blokada PD-1 może mieć łagodniejsze działania niepożądane u leczonych pacjentów.

PD-1 ulega ekspresji na aktywowanych limfocytach, komórkach NKT i monocytach [17,29,59]. Do ekspresji PD-1 dochodzi w następstwie związania antygeny przez receptor TCR lub BCR i jest ona utrzymywana wraz z ich dalszą stymulacją przez ten antygen. PD-L1 ulega stałej ekspresji na limfocytach, komórkach dendrytycznych i makrofagach. Wraz z aktywacją tych komórek, ekspresja PD-L1 na ich powierzchni rośnie. PD-L1 może ulegać ekspresji na licznych komórkach niehematopoetycznych, np. nabłonkowych i komórkach narządów immunologicznie uprzywilejowanych. PD-L2 nie ulega tak szerokiej ekspresji - po odpowiedniej stymulacji może być obecny m.in. na komórkach dendrytycznych, makrofagach i komórkach B pamięci [17,59].

Podstawową rolą receptora PD-1 jest hamowanie funkcji limfocytów T na skutek związania jednego z ligandów na komórce APC, co doprowadza do spowolnienia metabolizmu komórki, tym samym pozbawiając limfocyty ich funkcji efektorowych [17,60]. Zahamowaniu ulega wytwarzanie takich czynników jak IFN- γ , IL-2 czy TNF- α , obniżeniu ulega ilość antyapoptotycznego białka Bcl-xL [17,59]. Wysoka ekspresja PD-1 jest obserwowana na powierzchni limfocytów T CD8+ w przebiegu chronicznych infekcji wirusowych i pasożytniczych - limfocyty takie, określane mianem „wyczerpanych” są pozbawione cytotoksyczności [29]. Receptor PD-L1 ma również zdolność wiązania cząsteczki CD80 - konkuruje wówczas o nią z receptorem CD28 i blokuje sygnał kostymulatorowy [15].

Ścieżka sygnałowa PD-1:PD-L odgrywa także znaczącą rolę w indukcji i utrzymywaniu tolerancji na własne antygeny, np. w obrębie wysp trzustkowych. Zachwianie procesu może doprowadzić do wykształcenia się cukrzycy o podłożu autoimmunizacyjnym [15]. PD-L1 i PD-L2, których ekspresja jest obserwowana na tymocytach, uczestniczą także w kształtowaniu się tolerancji centralnej [17,59], regulują supresyjną funkcję regulatorowych limfocytów T i powstawanie indukowanych regulatorowych limfocytów T (iTreg) [59]. Związanie PD-L1 lub PD-L2 na powierzchni komórek dendrytycznych zapobiega ich dojrzewaniu, obniżając zdolność prezentacji antygenów i decydując tym samym o losach naiwnych limfocytów T [29].

Tabela 3. Ekspresja PD-L1 na komórkach poszczególnych nowotworów oraz obserwacje dotyczące powiązania ekspresji PD-L1 z wskaźnikami dotyczącymi choroby i limfocytów w środowisku nowotworu [wg 68,91]

Typ nowotworu	Liczba nowotworów PDL1+/badanych	Obserwacje, znaczenie prognostyczne
Białaczka	17/30	BD
Czerniak	22/22	negatywny czynnik prognostyczny
Glejak	10/10	BD
Rak nerki	130/196	negatywny czynnik prognostyczny
Rak głowy i szyi	16/24	BD
Rak jajnika	82/93	korelacja negatywna z ilością TILs, negatywny czynnik prognostyczny
Rak jelita grubego	16/25	BD
Rak pęcherza moczowego	28%	korelacja pozytywna z obecnością TILs
Rak piersi	24/56, 15/44	korelacja pozytywna z wielkością guza, stadium choroby, obecnością TILs
Rak płuca	52/52, 85/86	korelacja negatywna z ilością TILs w regionach guza wykazujących ekspresję PDL1 (w NSCLC)
Rak przełyku	18/41	negatywny czynnik prognostyczny
Rak szyjki macicy	19%	korelacja pozytywna z zaawansowaniem choroby
Rak trzustki	20/51	korelacja negatywna z ilością TILs, negatywny czynnik prognostyczny
Rak wątrobowokomórkowy	obecny PDL1	korelacja pozytywna z obecnością Tregs w środowisku nowotworu, negatywny czynnik prognostyczny
Rak żołądka	45/105	korelacja pozytywna z wielkością guza, obecnością metastaz, negatywny czynnik prognostyczny
Szpiczak mnogi	82/82	BD

BD – brak danych; TILs – limfocyty naciekające nowotwór, NSCLC – niedrobnokomórkowy rak płuca

Ekspresja PD-1 i jego ligandów w środowisku nowotworowym

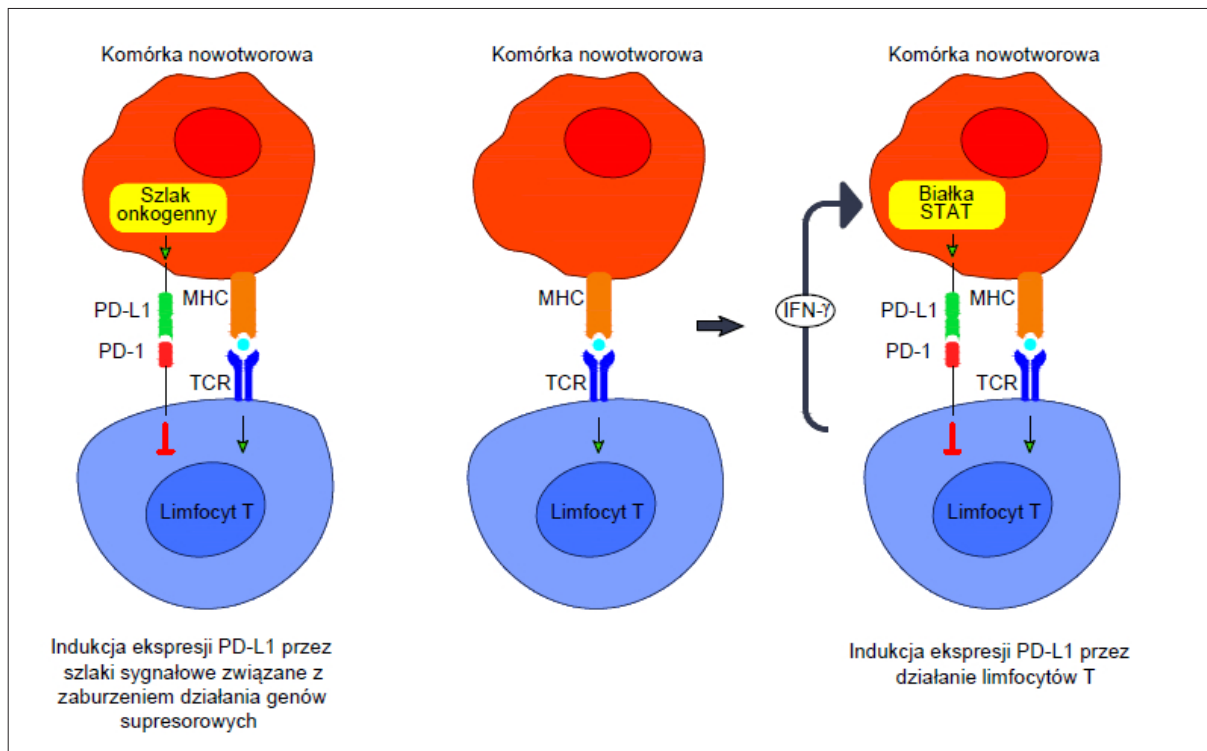
Jednym z najważniejszych komponentów tworzących immunosupresyjne mikrośrodowisko nowotworowe są receptory hamujące odpowiedź odpornościową, takie jak PD-1 i PD-L1. Znajdują się na komórkach zarówno nowotworowych, jak i komórkach układu odpornościowego swoistych wobec antygenów nowotworowych [91].

Ekspresję PD-L1 wykryto na komórkach wielu ludzkich nowotworów i w przypadku niektórych nowotworów jest on negatywnym czynnikiem prognostycznym przeżywalności pacjentów (tabela 3). W badaniach nad rakiem szyjki macicy wykazano jednak, że całkowita przeżywalność pacjentów, u których na komórkach guza obecne były cząsteczki PD-L1, okazała się większa [28], co wskazuje na konieczność analizy obecności PD-L1 jako czynnika prognostycznego w zależności od konkretnego rodzaju nowotworu. W niektórych doniesieniach opisano także powiązanie ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworu ze zmniejszoną liczbą limfocytów naciekających nowotwór

(TIL) [91]. Rzadziej na powierzchni nowotworów obserwowana jest ekspresja PD-L2 – jego obecność stwierdzono na komórkach raka szyjki macicy, raka wątrobowokomórkowego [68] i niektórych białaczek B-komórkowych [66].

Ważnych informacji dostarcza także analiza obecności PD-1 i jego ligandów na komórkach układu odpornościowego obecnych w środowisku nowotworu. W badaniach nad obecnością PD-1 na limfocytach naciekających nowotwór w raku piersi, chłoniaku Hodgkina i nowotworze głowy i szyi wykazano, że obecność PD-1 na nich koreluje z wielkością guza oraz niższą całkowitą przeżywalnością [42]. Wysoki poziom ekspresji PD-L1 wykazują także komórki dendrytyczne obecne w obrębie guzów nowotworowych, co ogranicza ich zdolność aktywacji limfocytów T [91].

Ekspresja cząsteczki PD-L1 na komórkach nowotworowych jest indukowana przez dwa odrębne mechanizmy - niezależny i zależny od aktywności układu odpornościowego (ryc. 3). W badaniach nad komórkami glejaka powiązano ekspresję PD-L1 na komórkach nowotworu z mutacjami w genie supresorowym PTEN.



Ryc. 3. Mechanizmy indukcji ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworowych: niezależna (lewa strona) i zależna od aktywności układu odpornościowego (prawa strona) oporność na działanie układu odpornościowego. W przypadku mechanizmu zależnego od aktywności układu odpornościowego w odpowiedzi na sygnał cytokinowy czynniki transkrypcyjne (białka STAT) indukują wytwarzanie mRNA kodującego białko PD-L1 i jego translację, co doprowadza do jego ekspresji na powierzchni nowotworu [wg 46, zmodyfikowano]

Białko PTEN reguluje negatywnie działanie kinazy PI3K, hamując tym samym aktywację kinazy Akt i dalszych elementów kaskady sygnałowej - kinaz mTOR i S6K1. W zdrowych komórkach są obserwowane transkrypty kodujące PD-L1, nie ulegają jednak translacji. Aktywacja kaskady PI3K-Akt-mTOR-S6K1 doprowadza najprawdopodobniej do translacji mRNA kodującego PD-L1 i jego ekspresji na powierzchni komórki. Utrata funkcji białka PTEN w komórce doprowadza do kaskady powyższych kinaz i tym samym do wytwarzania cząsteczek PD-L1. Kinaza S6K1 należy do wielu szlaków sygnałowych - możliwe więc, że ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych może być powiązana również z mutacjami w innych genach supresorowych [48].

Opisany mechanizm doprowadza do ekspresji PD-L1 na komórkach nowotworowych niezależnie od zdarzeń zachodzących w środowisku nowotworowym. Innym mechanizmem indukcji ekspresji PD-L1 jest natomiast reakcja na zmiany zachodzące w mikrośrodowisku nowotworowym. Zaobserwowano, że w 98% przypadków, w których na powierzchni melanocytów obecny był receptor PD-L1, w ich środowisku znajdowały się limfocyty naciekające nowotwór. Wcześniejsze badania wykazały natomiast, że ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych jest indukowana przez IFN-γ, wytwarzany właśnie przez limfocyty naciekające nowotwór. Te wyniki i obserwacje wskazują, że komórki nowotworowe odpowiadają na atak limfocytów (aktywowanych cyto-

kinami) przez ekspresję PD-L1, który następnie hamuje działanie limfocytów [70]. Podobne wnioski wyciągnięto w badaniach nad ostrą białaczką szpikową, gdzie zauważono ekspresję PD-L1 w obecności limfocytów naciekających nowotwór wytwarzających IFN-γ [88]. Obecność limfocytów naciekających nowotwór może świadczyć o immunogenności danego nowotworu, co jest dobrym prognostykiem. Jednak wiążąca się z obecnością limfocytów naciekających nowotwór ekspresja PD-L1 znacząco obniża skuteczność ich działania. Blokada receptora może się więc znacząco przyczynić do podniesienia skuteczności odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Receptor PD-L1 działa w środowisku nowotworowym na kilka sposobów, przede wszystkim doprowadza do supresji komórek układu odpornościowego. Oddziaływanie limfocytów z receptorem PD-L1 doprowadza do ich apoptozy, anergii lub wykształcenia się „wyczerpanych” limfocytów T. Powiązane z nowotworami komórki dendrytyczne, które wykazują ekspresję PD-L1, wytwarzają supresyjną interleukinę 10 [91]. W badaniach na modelu mysim ostrej białaczki szpikowej wykazano, że oddziaływanie PD-1:PD-L1 odpowiada również za zdolność regulatorowych limfocytów T do supresji działania limfocytów T CD8+ w środowisku nowotworu [90].

Ekspresja PD-L1 na powierzchni komórek nowotworowych tworzy również tzw. „molekularną tarczę”, która chroni komórki nowotworowe przed lizą przez cytotok-

syczne limfocyty T. Mechanizm działania „molekularnej tarczy” nie został jeszcze poznany, choć wiadomo, że opiera się na oddziaływaniach PD-1:PD-L1 - nie dochodzi jednak do zaburzenia funkcji limfocytów, jak przy ich anergii czy apoptozie [91].

Receptor PD-1 oraz jego ligandy zapobiegają zjawiskom autoimmunizacyjnym w zdrowym organizmie. Na komórkach nowotworowych i komórkach układu odpornościowego w środowisku nowotworowym hamują odpowiedź przeciwnowotworową. Wydaje się więc, że blokada tych receptorów, podobnie jak blokada CTLA-4, może doprowadzić do zwiększenia odpowiedzi przeciwnowotworowej i uzyskania oczekiwanego działania terapeutycznego.

Próby kliniczne blokady receptorów PD-1 i PD-L1

Pierwsze doniesienia na temat roli PD-1 i PD-L1 w środowisku nowotworowym i skutków ich blokady opublikowano w 2002 r., kiedy zaobserwowano terapeutyczne działanie przeciwciał anti-PD-1 u myszy z eksperymentalnie wywoływanymi nowotworami (mastocytoma, szpiczak), których komórki wykazywały ekspresję PD-L1 [26]. Obiecujące wyniki tych badań, jak i innych prób przedklinicznych [68], dały impuls do rozpoczęcia prób klinicznych I fazy u ludzi chorych na nowotwory.

Już pierwsze wyniki prób klinicznych z przeciwciałami anti-PD-1 wykazały, że przeciwciało monoklonalne MDX-1106 (nazwane później nivolumab) jest dobrze tolerowane przez pacjentów i wykazuje działanie przeciwnowotworowe. Wśród 39 badanych pacjentów obserwowano pełną odpowiedź u jednego pacjenta i częściową odpowiedź u dwójga pacjentów [4]. Pełna odpowiedź była trwała, natomiast u pacjenta z częściową odpowiedzią doszło do pełnej remisji choroby, mimo zaprzestania przyjmowania przeciwciał. Powyższe obserwacje potwierdziły hipotezę o przywróceniu aktywności wyczerpanym limfocytom T i wytworzeniu limfocytów T pamięci, a więc utrzymaniu się odpowiedzi przeciwnowotworowej nawet długo po ukończeniu leczenia przeciwciałami anti-PD-1 [36]. Podczas pierwszego większego badania klinicznego nivolumabu, lek podawano pacjentom w zaawansowanym stadium choroby (czerniak z przerzutami, rak stercza, niedrobnokomórkowy rak płuca, rak nerki, rak jelita grubego). Obiektywną odpowiedź zaobserwowano u pacjentów chorych na czerniaka, raka płuca i raka nerki (tabela 2). Szczególnie wysoki odsetek obiektywnych odpowiedzi - 41%, stwierdzono u chorych na czerniaka, przyjmujących nivolumab w dawce 3 mg/kg m.c. Nivolumab okazał się skuteczny nie tylko w nowotworach immunogennych (czerniak, rak nerki), ale także i w niedrobnokomórkowym raku płuca, dotychczas uważanym za niewrażliwego na immunoterapię [72]. W trakcie dłuższej oceny przeprowadzonej wśród pacjentów chorych na czerniaka otrzymano też pierwsze dane na temat mediany czasu przeżycia i przeżywalności pacjentów (tabela 2) [73].

Nivolumab poddano dokładniejszej ocenie również u pacjentów chorujących na niedrobnokomórkowego raka płuca, opornych na wcześniejsze leczenie. Ponownie obserwowano korzystne współczynniki odpowiedzi [19,61], a także wysoką medianę czasu przeżycia i współczynnik rocznego przeżycia. Szczególnie wysoką medianę czasu przeżycia, roczną przeżywalność i odsetek obiektywnych odpowiedzi obserwowano u pacjentów przyjmujących nivolumab w dawce 3 mg/kg m.c. (tabela 2). Dla powszechnie stosowanych terapii drugiego rzutu u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca mediana czasu przeżycia wynosi około 8 miesięcy, roczna przeżywalność około 30%, odpowiedź obserwowana jest jedynie u 7-9% pacjentów [19].

Skuteczność nivolumabu oceniano również wśród pacjentów chorujących na chłoniaka Hodgkina. Na komórkach tego nowotworu ekspresji ulegają zarówno PD-L1, jak i PD-L2, co skutecznie hamuje odpowiedź odpornościową. W grupie pacjentów szczególnie opornych na terapię zaobserwowano obiektywne odpowiedzi u 87% pacjentów, w tym u 17,4% odpowiedź pełną (tabela 2) [1]. Nivolumab jest więc również obiecującym terapeutycznym w schorzeniach hematologicznych.

W pierwszych próbach klinicznych III fazy porównano skuteczność nivolumabu (w dawce 3 mg/kg m.c., podawanego co 2 tygodnie) z dekarbazyną u pacjentów chorych na czerniaka z przerzutami (bez mutacji genu *BRAF*). Zaobserwowano zwiększony współczynnik rocznego przeżycia pacjentów oraz wyższy odsetek obiektywnych odpowiedzi w stosunku do pacjentów przyjmujących dekarbazynę (tabela 2) [62]. W innej próbie klinicznej III fazy wykazano natomiast skuteczność nivolumabu (w dawce 3 mg/kg m.c., podawanego co 2 tygodnie) w stosunku do chemioterapii (dekarbazyna lub paklitaksel i karboplatyna) w leczeniu pacjentów chorych na zaawansowanego czerniaka, którzy nie odpowiedzieli na leczenie ipilimumabem (razem z wemurafenibem, u pacjentów z mutacją genu *BRAF*). Zaobserwowano wyższy odsetek obiektywnych odpowiedzi u pacjentów przyjmujących nivolumab niż chemioterapię (tabela 2) [79].

W terapii nivolumabem istotne wydają się niewielkie działania niepożądane (tabela 2), w tym związane z odpowiedzią odpornościową [4,19,61,62,72]. Analizy toksyczności u badanych pacjentów jednocześnie wskazują, że toksyczność nivolumabu nie kumuluje się podczas terapii (tj. nie rośnie wraz z otrzymywaniem kolejnych dawek leku), co obserwuje się w chemioterapii [73].

Warto podkreślić trwałość odpowiedzi w wyniku leczenia nivolumabem, która u większości pacjentów utrzymuje się przez co najmniej rok. W przypadku chemioterapeutyków czy inhibitorów kinaz tyrozynowych nie zaobserwowano tak długotrwałego działania [72,73]

Ocenie klinicznej jest także poddawane inne przeciwciała anti-PD-1 - pembrolizumab (wcześniej lambrolizumab). Podczas pierwszych prób klinicznych I fazy u pacjentów w zaawansowanym stadium czerniaka (część pacjentów poddawana była wcześniejszemu leczeniu ipilimumabem) zaobserwowano obiecujące odsetki obiektywnych odpowiedzi [23,63] i wysoką roczną przeżywalność (tabela 2) [63]. Na wykształcenie się odpowiedzi nie wpływało wcześniejsze leczenie ipilimumabem. Działanie pembrolizumabu, podobne jak nivolumabu czy ipilimumabu, jest trwałe, a niekiedy odpowiedź pojawia się późno, mimo początkowego powiększenia zmian nowotworowych [23]. Badania te potwierdziły, że pembrolizumab może być dobrym zamiennikiem u pacjentów opornych na działanie innych immunoterapeutyków [63]. Podczas obu prób obserwowano stosunkowo niski odsetek działań niepożądanych 3 lub 4 stopnia związanych z przyjmowaniem leku (tabela 2) [23,63]. Skuteczność pembrolizumabu wykazano także w pierwszych próbach klinicznych tego przeciwciała u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca [18].

W pierwszym badaniu klinicznym III fazy oceniono skuteczność pembrolizumabu u pacjentów chorujących na zaawansowanego czerniaka i porównywano ją z działaniem przeciwciała anti-CTLA-4 (ipilimumabu), które stanowi obecnie standard terapeutyczny. Pacjentów podzielono na 3 równe grupy badane - przyjmującą pembrolizumab w dawce 10 mg/kg m.c., co 2 lub 3 tygodnie oraz ipilimumab w standardowej dawce 3 mg/kg m.c., co 3 tygodnie. Wykazano wyższą roczną przeżywalność oraz odsetek obiektywnych odpowiedzi u pacjentów przyjmujących pembrolizumab w stosunku do osób leczonych ipilimumabem. Obserwowano również mniej działań niepożądanych związanych z leczeniem 3-5 stopnia w grupach przyjmujących pembrolizumab (tabela 2) [64]. Jest to pierwsze badanie, które bezpośrednio wykazuje lepszą skuteczność przeciwciała anti-PD-1 w porównaniu z ipilimumabem.

Wyniki prób klinicznych I fazy, które dowodzą terapeutycznego działania nivolumabu i pembrolizumabu doprowadziły do nadania im przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA) statusu leku przełomowego (breakthrough therapy designation). Przeciwciała te, pod komercyjnymi nazwami Keytruda™ (pembrolizumab, w dawce 2 mg/kg m.c., co 3 tygodnie) i Opdivo™ (nivolumab, w dawce 3 mg/kg m.c., co 2 tygodnie) zaakceptowano do leczenia pacjentów cierpiących na czerniaka z przerzutami, którzy nie odpowiadali na leczenie ipilimumabem oraz u pacjentów z mutacją genu *BRAF*, wemurafenibem [54,55]. Akceptacja nivolumabu została również rozszerzona do stosowania u chorych na płaskonabłonkowego niedrobnokomórkowego raka płuca, którzy nie zareagowali na leczenie chemioterapią opartą na związkach platyny [56].

Ponieważ ekspresję PD-L1 zaobserwowano na komórkach nowotworowych, podczas prób klinicznych prze-

ciwiał anti-PD-1 analizowany jest związek między ekspresją PD-L1 na komórkach guza, a odpowiedzią pacjentów na leczenie. Już podczas pierwszych prób nivolumabu zauważono, że odpowiedź zachodziła jedynie u pacjentów, których nowotwory miały na swojej powierzchni PD-L1 [4]. Podobnych obserwacji dostarczyły badania kolejnych pacjentów leczonych nivolumabem [72]. Przeanalizowano również dokładnie inne czynniki, które mogłyby być biomarkerami podatności na terapię przeciwciałami anti-PD-1, np. obecność limfocytów naciekających nowotwór PD-1+. Wykazano, że ekspresja PD-L1 na komórkach nowotworowych najsilniej koreluje z odpowiedzią na leczenie. Dalszych wniosków powinny dostarczyć prowadzone próby kliniczne II i III fazy, zwłaszcza że pojawiły się niespotykane dotychczas doniesienia o uzyskaniu odpowiedzi u pacjentów, których guzy nie wykazywały ekspresji PD-L1 [71]. Podczas badań pacjentów leczonych pembrolizumabem wykazano, że skuteczność terapii wymaga wcześniejszego istnienia w obrębie guza odpowiedzi odpornościowej zależnej od limfocytów T CD8+ [75].

Ocenie klinicznej są poddawane także przeciwciała anti-PD-L1. Mogą mieć różną skuteczność od przeciwciała anti-PD-1, ponieważ oba receptory mają inny zestaw ligandów. W badaniach przeciwciała anti-PD-L1 - BMS-936559, u pacjentów chorych na czerniaka, raka płuca, nerki, jajnika obserwowano obiektywne odpowiedzi, w tym odpowiedzi pełne. U większości pacjentów obserwowana odpowiedź była trwała [5]. Inne przeciwciała anti-PD-L1, MPDL3280A, testowano u pacjentów chorujących na raka pęcherza moczowego z przerzutami. U pacjentów, których guzy wykazywały ekspresję PD-L1 obserwowano wysoki odsetek odpowiedzi (tabela 2). Zauważono, że u tych pacjentów nie dochodzi do toksycznego uszkodzenia nerek, w związku z czym przeciwciała to może się okazać szczególnie skuteczne u starszych pacjentów, u których leczenie chemioterapeutykami grozi uszkodzeniem nerek. Podobnie jak pembrolizumab i nivolumab, przeciwciała MPDL3280A otrzymało wczesną akceptację przez FDA (status leku przełomowego) [52].

Terapie łączone z użyciem przeciwciała anti-PD-1, anti-PD-L1

Podobnie jak w przypadku przeciwciała anti-CTLA-4, również działanie przeciwciała anti-PD-1 jest sprawdzane w zestawieniu z innymi środkami terapeutycznymi. Badania przedkliniczne wykazały skuteczność kombinacji przeciwciała anti-PD-1 z chemioterapeutykami, egzogennymi cytokinami, w połączeniu ze stymulacją cząsteczek kostymulatorowych o aktywności aktywującej (CD137) [68], szczepionkami przeciwnowotworowymi [41] i radioterapią [89]. W terapiach łączonych istnieje niebezpieczeństwo nawarstwiania się działań niepożądanych wszystkich stosowanych leków, co zwraca uwagę na konieczność ostrożnego i ściśle zaplanowanego dawkowania [68].

Szczególną kombinacją jest ipilimumab i nivolumab. W ramach próby klinicznej I fazy pacjentom w zaawansowanym stadium czerniaka podawano jednocześnie oba przeciwciała w różnych dawkach. Obserwowano liczne działania niepożądane związane z leczeniem 3 lub 4 stopnia, co zmusiło część osób do zaprzestania terapii. W związku z przekroczeniem dopuszczalnego poziomu toksyczności w wielu badanych układach, wyznaczono maksymalne dawki obu przeciwciał - 1 mg/kg m.c. nivolumabu i 3 mg/kg m.c. ipilimumabu, których podawanie nie wiązało się z nieakceptowalnymi działaniami niepożądanymi. Obserwowano obiektywne odpowiedzi (w tym odpowiedzi pełne), szczególnie wysoki odsetek u pacjentów przyjmujących wyznaczone maksymalne dopuszczalne dawki (tabela 2) [83]. Te same wytypowane dawki przeciwciał oceniono w innym badaniu klinicznym, w którym podawano pacjentom nivolumab i ipilimumab lub ipilimumab i placebo. Obserwowano wyższe współczynniki odpowiedzi u pacjentów, którzy poza ipilimumabem przyjmowali też nivolumab (tabela 2) [50]. Otrzymane dane sugerują, że jednoczesne zastosowanie przeciwciał anti-CTLA-4 i anti-PD-1 może doprowadzić do szybszej i pełniejszej odpowiedzi przeciwnowotworowej niż w przypadku oddzielnego stosowania obu terapeutyków, przy jednoczesnym akceptowalnym poziomie działań niepożądanych.

Ogromny potencjał łącznego podawania ipilimumabu i nivolumabu obrazuje przypadek kobiety chorej na czerniaka, u której w przeciągu 3 tygodni od przyjęcia pierwszej dawki ipilimumabu (3 mg/kg m.c.) i nivolumabu (1 mg/kg m.c.) doszło do całkowitego zniknięcia guza nowotworowego, co doprowadziło do powstania w jego miejscu pustej „jamy”. Tak szybka reakcja wydaje się niezwykle obiecująca, choć tak duże ubytki mogłyby być potencjalnie śmiertelne w przypadku przerzutów np. w obrębie mięśnia sercowego [8]. Potencjalna przewaga jednoczesnego stosowania ipilimumabu i nivolumabu nad monoterapiami analizowana jest obecnie w ramach próby klinicznej III fazy. Dalszym próbom klinicznym fazy I i II poddawane są również kombinacje przeciwciał anti-PD-1 z chemioterapeutykami, inhibitorami kinaz, szczepionkami przeciwnowotworowymi oraz innymi środkami modulującymi układ odpornościowy, takimi jak IL-21, przeciwciała anti-KIR i rytuksymab [68,73].

INNE OBIECUJĄCE PUNKTY KONTROLNE

TIM-3

Receptor TIM-3 ulega ekspresji przede wszystkim na wytwarzających IFN- γ limfocytach Th1. Ligandem TIM-3 jest galektyna-9, której związanie doprowadza do apoptozy limfocytów Th1 [43]. Blokada TIM-3 zwiększa wytwarzanie IFN- γ przez limfocyty, co potwierdza jego rolę w negatywnej kontroli odpowiedzi odpornościowej i zapobieganiu autoimmunizacji [44]. Na powierzchni wielu nowotworów (np. raka piersi) stwierdza się ekspresję galektyny-9 [46], natomiast ekspresje TIM-3 zaob-

serwowano na limfocytach T CD8+ naciekających guzy nowotworowe u myszy. TIM-3 wykazuje koekspresję z receptorem PD-1. Na podstawie badań pacjentek chorych na raka szyjki macicy, u których wykazano korelację ekspresji TIM-3 na komórkach nowotworowych z obniżoną przeżywalnością i obecnością przerzutów, i badań *in vitro* komórek HeLa sądzi się też, że TIM-3 może odgrywać rolę w przerzutowaniu [7].

Pierwsze próby blokady receptora TIM-3 przeprowadzono u myszy. Wykazano, że przeciwciała anti-TIM-3 wywołują odpowiedź przeciwnowotworową, zależną przede wszystkim od limfocytów T CD8+, wytwarzania przez nie IFN- γ oraz limfocytów T CD4+. Przeciwciała anti-TIM-3 doprowadziły do spowolnienia wzrostu wywołanych u myszy nowotworów, zmniejszając odsetek niefunkcyjnych limfocytów TIM3+. Szczególnie obiecującą odpowiedź przeciwnowotworową otrzymano w przypadku jednoczesnego podawania przeciwciał anti-TIM-3 z przeciwciałami anti-PD-1 lub anti-CTLA-4 (w porównaniu do każdej z monoterapii). Jednoczesna blokada TIM-3 i PD-1 doprowadziła w niektórych przypadkach do pełnej remisji nowotworu u myszy [43,44].

LAG-3

Nadmiernej aktywności układu odpornościowego zapobiega także receptor LAG-3, który hamuje funkcje cytotoksycznych limfocytów T. Obecność LAG-3 stwierdzono na limfocytach T CD8+ swoistych wobec antygenów raka jajnika i stercza, co sugeruje jego rolę w kształtowaniu się supresyjnego mikrośrodowiska nowotworowego. Wykazano, że blokada LAG-3 przywraca funkcje i prowadzi do proliferacji cytotoksycznych limfocytów T, ograniczając zarazem funkcje regulatorowych limfocytów T [22].

Podczas prób przedklinicznych skuteczność blokady LAG-3 przez przeciwciała monoklonalne oceniano przede wszystkim w połączeniu z przeciwciałami anti-CTLA-4 i anti-PD-1 (jako że LAG-3 wykazuje koekspresję z PD-1 na limfocytach naciekających nowotwór). W przypadku pojedynczej blokady LAG-3 i PD-1 obserwowano niski odsetek (0-40%) myszy, które nie wykształciły guzów po transferze komórek linii nowotworowej. Podwójna blokada pozwoliła uniknąć zachorowania u 70-80% myszy. Przy blokadzie zarówno LAG-3 i PD-1 obserwowano zwiększony odsetek limfocytów T CD8+ (wytwarzających IFN- γ) i CD4+ [86]. Potrójna blokada LAG-3, PD-1 i CTLA-4 zwiększyła istotnie skuteczność działania podawanych drogą adoptywnego transferu cytotoksycznych limfocytów T u myszy cierpiących na białaczkę. Chociaż użycie samych przeciwciał anti-LAG-3 nie podniosło znacząco skuteczności podawanych limfocytów, to blokada LAG-3 okazała się niezbędna do pełnej skuteczności blokady PD-1 i CTLA-4 [3].

Ligandem LAG-3 jest cząsteczka MHC II, a ich oddziaływanie moduluje działanie komórek dendrytycznych.

W badaniach na modelu mysim i liniach komórkowych odkryto, że białko fuzyjne LAG-3-Ig przyłączając się do MHC II komórek dendrytycznych stymuluje ich dojrzewanie i promuje odpowiedź typu Th1. U myszy podawanie rozpuszczalnego kompleksu LAG-3-Ig prowadzi do regresji nowotworów, co sugeruje jego potencjalne zastosowanie kliniczne. Środek IMP321 (komercyjna postać białka fuzyjnego LAG-3-Ig) poddany został testom klinicznym, wykazując skuteczność w ramach prób klinicznych I fazy u chorych na raka piersi [20]. Skuteczność rozpuszczalnej postaci LAG-3 opiera się na stymulacji komórek dendrytycznych, jednocześnie jednak LAG-3 działa supresyjnie w stosunku do limfocytów. Dlatego konieczne są dalsze badania podstawowe i ocena podczas badań klinicznych.

BTLA

Receptor BTLA negatywnie reguluje działanie limfocytów po związaniu swojego liganda - cząsteczki HVEM. Cząsteczka HVEM wiąże jednak wiele cząsteczek i pełni zróżnicowane funkcje. Związanie BTLA i CD160 wywołuje supresję komórek układu odpornościowego, natomiast przyłączenie LIGHT ich stymulację. Badania nad fenotypem myszy knock-out HVEM^{-/-} wykazały jednak, że przeważają jego funkcje supresyjne [49]. BTLA negatywnie reguluje działanie limfocytów T, hamując proliferację limfocytów CD8⁺, wytwarzanie cytokin prozapalnych oraz powstawanie limfocytów T pamięci, kształtując zarazem tolerancję obwodową [16]. Ekspresję zarówno HVEM, jak i BTLA zaobserwowano na komórkach przewlekłej białaczki limfoidalnej B-komórkowej. Na komórkach czerniaka wykryto obecność HVEM [49], podczas gdy u pacjentów cierpiących na zaawansowanego czerniaka ekspresję BTLA zaobserwowano na limfocytach T CD8⁺ swoistych wobec antygeny nowotworowego NY-ESO-1. Blokada receptora BTLA w hodowli *in vitro* limfocytów T CD8⁺ swoistych wobec NY-ESO-1 doprowadziła do ich zwiększonej proliferacji i intensywnego wytwarzania IFN- γ , TNF- α i IL-2. Działanie zostało wzmocnione przy potrójnej blokadzie (anty-BTLA, anty-PD-1 i anty-TIM-3) [16]. Dwojaka funkcja HVEM sprawia, że blokada BTLA wymaga dokładnej oceny, zarówno w ramach badań podstawowych, jak i przedklinicznych.

B7-H3

Rola receptora B7-H3 nie została jeszcze dokładnie wyjaśniona, nie jest znany jego ligand. Uważa się, że uczestniczy w negatywnej regulacji funkcji limfocytów T, w tym limfocytów zaangażowanych w odpowiedź przeciwnowotworową (jego ekspresję zaobserwowano na komórkach raka piersi, trzustki, jajnika i czerniaka) [14].

W badaniach nad ekspresją B7-H3 u pacjentów chorujących na czerniaka zauważono zwiększoną ekspresję receptora wraz z rozwojem choroby oraz korelację poziomu jego ekspresji z przeżywalnością pacjentów. Wykazano także rolę B7-H3 w migracji komórek rako-

wych [78]. Zaobserwowano również korelację wysokiej ekspresji receptora z przeżywalnością pacjentów chorujących na czerniaka [78] i raka jajnika [14]. Pierwsze próby blokady receptora B7-H3 podjęto *in vitro* w hodowlach linii komórkowych raka jajnika (w porównaniu do chemioterapeutyków). Przeciwciała monoklonalne zahamowały wzrost linii komórkowych opornych na chemioterapię. Podanie przeciwciał anty-B7-H3 zmniejszyło również odsetek komórek macierzystych nowotworów. Natomiast w hodowli poddanej działaniu karboplatyny odsetek tych komórek wzrósł siedmiokrotnie [14].

B7-H4

Niewiele wiadomo również o funkcjach B7-H4, którego ligand jest również nieznan [37]. B7-H4 hamuje przede wszystkim działanie limfocytów T CD4⁺ i CD8⁺ [56].

Obecność tego receptora stwierdzono na komórkach wielu nowotworów: czerniaka, raka płuca, żołądka i innych. Jego ekspresja w wielu przypadkach została powiązana z postępem choroby [56]. B7-H4 w komórkach nowotworowych występuje zarówno wewnątrz komórki, jak i na powierzchni błony komórkowej, wydaje się jednak, że powierzchniowa ekspresja zanika wraz z rozpoczęciem hodowli *in vitro* komórek guza [12]. B7-H4 wykazano także na makrofagach i komórkach dendrytycznych występujących w środowisku nowotworu, które hamują odpowiedź przeciwnowotworową [12,56]. Białko B7-H4 przypisano również rolę w utrzymywaniu proliferacji, przeżywalności, zdolności do migracji i tworzenia kolonii komórek raka trzustki [37].

Blokada B7-H4 przez humanizowane przeciwciała monoklonalne zniosła w hodowlach komórkowych hamujące działanie makrofagów i komórek dendrytycznych B7-H4⁺ na limfocyty T, powodując ich ponowną aktywację i zwiększając wytwarzanie interferonu. Podobne działanie przeciwciał stwierdzono w przypadku hodowli komórek nowotworowych B7-H4⁺ z limfocytami. Przeciwciała anty-B7-H4 poddano ocenie *in vivo* w humanizowanych myszach z eksperymentalnie wywołanym rakiem jajnika. Potwierdzono ekspresję B7-H4 na makrofagach naciekających nowotwór oraz na samych komórkach nowotworowych. Podanie przeciwciał doprowadziło do opóźnienia wzrostu nowotworu u większości osobników z wykształconymi guzami [12].

PODSUMOWANIE

Ostatnie lata przyniosły znaczący postęp w opracowaniu immunoterapii nowotworów opartej o blokadę punktów kontrolnych układu odpornościowego. Wydaje się, że terapia ta może mieć przewagę nad innymi rodzajami terapii, w tym szeroko stosowaną chemioterapię. Chemioterapeutyki nie tylko wykazują mniejszą skuteczność terapeutyczną (w opisanych wyżej próbach klinicznych III fazy), ale mogą także stymulować proliferację komórek macierzystych nowotworów, mimo hamowa-

nia podziałów komórek już zróżnicowanych [38]. Terapia przeciwciałami blokującymi punkty kontrolne układu odpornościowego odbywa się w stosunkowo krótkich, kilku- lub kilkunastotygodniowych cyklach oraz nie wymaga osobnego przygotowania dla każdego pacjenta (jak np. szczepionki oparte o komórki dendrytyczne). Opisana terapia ma stosunkowo niewielkie działania niepożądane, które w razie wystąpienia łatwo usunąć. Immunoterapia nakierowana na punkty kontrolne układu odpornościowego musi zostać poddana dalszej ocenie - zarówno w celu bezpośredniego porównania skuteczności określonych przeciwciał (w jednej z wyżej opisanych prób klinicznych wykazano lepszą skuteczność pembrolizumabu od ipilimumabu), jak i opraco-

wania odpowiednich dawek i schematów podawania leków, opracowania precyzyjnych kryteriów podatności na terapię czy łatwych w użyciu kryteriów odpowiedzi na terapię. Badania te są intensywnie prowadzone w ramach dalszych prób klinicznych, jak i analiz opartych o badania podstawowe. Niezwykle ważne wydają się terapie łączące zarówno przeciwciała blokujące punkty kontrolne i inne terapeutyki (np. chemioterapeutyki), jak i łączące przeciwciała blokujące jednocześnie kilka punktów kontrolnych układu odpornościowego. Wydaje się, że terapie nakierowane na punkty kontrolne układu odpornościowego trwale zmieniają sposób leczenia nowotworów, w tym nowotworów opornych na inne rodzaje terapii.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ansell S.M., Lesokhin A.M., Borrello I., Halwani A., Scott E.C., Gutierrez M., Schuster S.J., Millenson M.M., Cattry D., Freeman G.J., Rodig S.J., Chapuy B., Ligon A.H., Zhu L., Grosso J.F. i wsp.: PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 372: 311-319
- [2] Berman D., Parker S.M., Siegel J., Chasalow S.D., Weber J., Galbraith S., Targan S.R., Wang H.L.: Blockade of cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 by ipilimumab results in deregulation of gastrointestinal immunity in patients with advanced melanoma. *Cancer Immun.*, 2010; 10: 11
- [3] Berrien-Elliott M.M., Jackson S.R., Meyer J.M., Rouskey C.J., Nguyen T.L., Yagita H., Greenberg P.D., DiPaolo R.J., Teague R.M.: Durable adoptive immunotherapy for leukemia produced by manipulation of multiple regulatory pathways of CD8+ T-cell tolerance. *Cancer Res.*, 2013; 73: 605-616
- [4] Brahmer J.R., Drake C.G., Wollner I., Powderly J.D., Picus J., Sharfman W.H., Stankevich E., Pons A., Salay T.M., McMiller T.L., Gilson M.M., Wang C., Selby M., Taube J.M., Anders R. i wsp.: Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J. Clin. Oncol.*, 2010; 28: 3167-3175
- [5] Brahmer J.R., Tykodi S.S., Chow L.Q., Hwu W.J., Topalian S.L., Hwu P., Drake C.G., Camacho L.H., Kauh J., Odunsi K., Pitot H.C., Hamid O., Bhatia S., Martins R., Eaton K. i wsp.: Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366: 2455-2465
- [6] Bronstein Y., Ng C.S., Hwu P., Hwu W.J.: Radiologic manifestations of immune-related adverse events in patients with metastatic melanoma undergoing anti-CTLA-4 antibody therapy. *Am. J. Roentgenol.*, 2011; 197: W992-W1000
- [7] Cao Y., Zhou X., Huang X., Li Q., Gao L., Jiang L., Huang M., Zhou J.: Tim-3 expression in cervical cancer promotes tumor metastasis. *PLoS One*, 2013; 8: e53834
- [8] Chapman P.B., D'Angelo S.P., Wolchok J.D.: Rapid eradication of a bulky melanoma mass with one dose of immunotherapy. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 372: 2073-2074
- [9] Chen L.: Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat. Rev. Immunol.*, 2004; 4: 336-347
- [10] Chen L., Flies D.B.: Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat. Rev. Immunol.*, 2013; 13: 227-242
- [11] ClinicalTrials.gov. <https://clinicaltrials.gov/ct2/home> (29.12.2014)
- [12] Dangaj D., Lanitis E., Zhao A., Joshi S., Cheng Y., Sandaltzopoulos R., Ra H.J., Danet-Desnoyers G., Powell D.J.Jr, Scholler N.: Novel recombinant human b7-h4 antibodies overcome tumoral immune escape to potentiate T-cell antitumor responses. *Cancer Res.*, 2013; 73: 4820-4829
- [13] Drake C.G., Lipson E.J., Brahmer J.R.: Breathing new life into immunotherapy: review of melanoma, lung and kidney cancer. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 2014; 11: 24-37
- [14] Fauci J.M., Sabbatino F., Wang Y., Londoño-Joshi A.I., Straughn J.M.Jr., Landen C.N., Ferrone S., Buchsbaum D.J.: Monoclonal antibody-based immunotherapy of ovarian cancer: targeting ovarian cancer cells with the B7-H3-specific mAb 376.96. *Gynecol. Oncol.*, 2014; 132: 203-210
- [15] Fife B.T., Pauken K.E., Eagar T.N., Obu T., Wu J., Tang Q., Azuma M., Krummel M.F., Bluestone J.A.: Interactions between PD-1 and PD-L1 promote tolerance by blocking the TCR-induced stop signal. *Nat. Immunol.*, 2009; 10: 1185-1192
- [16] Fourcade J., Sun Z., Pagliano O., Guillaume P., Luescher I.F., Sander C., Kirkwood J.M., Olive D., Kuchroo V., Zarour H.M.: CD8+ T cells specific for tumor antigens can be rendered dysfunctional by the tumor microenvironment through upregulation of the inhibitory receptors BTLA and PD-1. *Cancer Res.*, 2012; 72: 887-896
- [17] Francisco L.M., Sage P.T., Sharpe A.H.: The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol. Rev.*, 2010; 236: 219-242
- [18] Garon E.B., Rizvi N.A., Hui R., Leighl N., Balmanoukian A.S., Eder J.P., Patnaik A., Aggarwal C., Gubens M., Horn L., Carcereny E., Ahn M.J., Felip E., Lee J.S., Hellmann M.D. i wsp.: Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N. Eng. J. Med.*, 2015; 372: 2018-2028
- [19] Gettinger S.N., Horn L., Gandhi L., Spigel D.R., Antonia S.J., Rizvi N.A., Powderly J.D., Heist R.S., Carvajal R.D., Jackman D.M., Sequist L.V., Smith D.C., Leming P., Carbone D.P., Pinder-Schenck M.C. i wsp.: Overall survival and long-term safety of nivolumab (anti-programmed death 1 antibody, BMS-936558, ONO-4538) in patients with previously treated advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2015; 33: 2004-2012
- [20] Goldberg M.V., Drake C.G.: LAG-3 in cancer immunotherapy. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2011; 344: 269-278
- [21] Grosso J.F., Jure-Kunkel M.N.: CTLA-4 blockade in tumor models: an overview of preclinical and translational research. *Cancer Immun.*, 2013; 13: 5-18
- [22] Grosso J.F., Kelleher C.C., Harris T.J., Maris C.H., Hipkiss E.L., De Marzo A., Anders R., Netto G., Getnet D., Bruno T.C., Goldberg M.V., Pardoll D.M., Drake C.G.: LAG-3 regulates CD8+ T cell accumulation and effector function in murine self- and tumor-tolerance systems. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 3383-3392

- [23] Hamid O., Robert C., Daud A., Hodi F.S., Hwu W.J., Kefford R., Wolchok J.D., Hersey P., Joseph R.W., Weber J.S., Dronca R., Gangadhar T.C., Patnaik A., Zarour H., Joshua A.M. i wsp.: Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 369: 134-144
- [24] Hodi F.S., Lawrence D., Lezcano C., Wu X., Zhou J., Sasada T., Zeng W., Giobbie-Hurder A., Atkins M.B., Ibrahim N., Friedlander P., Flaherty K.T., Murphy G.F., Rodig S., Velazquez E.F. i wsp.: Bevacizumab plus ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *Cancer Immunol. Res.*, 2014; 2: 632-642
- [25] Hodi F.S., O'Day S.J., McDermott D.F., Weber R.W., Sosman J.A., Haanen J.B., Gonzalez R., Robert C., Schadendorf D., Hassel J.C., Akerley W., van den Eertwegh A.J., Lutzky J., Lorigan P., Vaubel J.M. i wsp.: Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 2010; 363: 711-723
- [26] Iwai Y., Ishida M., Tanaka Y., Okazaki T., Honjo T., Minato N.: Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 12293-12297
- [27] Jure-Kunkel M., Masters G., Girit E., Dito G., Lee F., Hunt J.T., Humphrey R.: Synergy between chemotherapeutic agents and CTLA-4 blockade in preclinical tumor models. *Cancer Immunol. Immunother.*, 2013; 62: 1533-1545
- [28] Karim R., Jordanova E.S., Piersma S.J., Kenter G.G., Chen L., Boer J.M., Melief C.J., van der Burg S.H.: Tumor-expressed B7-H1 and B7-DC in relation to PD-1+ T-cell infiltration and survival of patients with cervical carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 6341-6347
- [29] Keir M.E., Francisco L.M., Sharpe A.H.: PD-1 and its ligands in T-cell immunity. *Curr. Opin. Immunol.*, 2007; 19: 309-314
- [30] Korman A.J., Peggs K.S., Allison J.P.: Checkpoint blockade in cancer immunotherapy. *Adv. Immunol.*, 2006; 90: 297-339
- [31] Kvistborg P., Philips D., Kelderman S., Hageman L., Ottensmeier C., Joseph-Pietras D., Welters M.J., van der Burg S., Kapiteijn E., Michielin O., Romano E., Linnemann C., Speiser D., Blank C., Haanen J.B., Schumacher T.N.: Anti-CTLA-4 therapy broadens the melanoma-reactive CD8+ T cell response. *Sci. Transl. Med.*, 2014; 6: 254ra128
- [32] Kyi C., Hellmann M.D., Wolchok J.D., Chapman P.B., Postow M.A.: Opportunistic infections in patients treated with immunotherapy for cancer. *J. Immunother. Cancer*, 2014; 2: 19
- [33] Leach D.R., Krummel M.F., Allison J.P.: Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science*, 1996; 271: 1734-1736
- [34] Lebbé C., Weber J.S., Maio M., Neyns B., Harmankaya K., Hamid O., O'Day S.J., Konto C., Cykowski L., McHenry M.B., Wolchok J.D.: Survival follow-up and ipilimumab retreatment of patients with advanced melanoma who received ipilimumab in prior phase II studies. *Ann. Oncol.*, 2014; 25: 2277-2284
- [35] Lesterhuis W.J., Salmons J., Nowak A.K., Rozali E.N., Khong A., Dick I.M., Harken J.A., Robinson B.W., Lake R.A.: Synergistic effect of CTLA-4 blockade and cancer chemotherapy in the induction of anti-tumor immunity. *PLoS One*, 2013; 8: e61895
- [36] Lipson E.J., Sharfman W.H., Drake C.G., Wollner I., Taube J.M., Anders R.A., Xu H., Yao S., Pons A., Chen L., Pardoll D.M., Brahmer J.R., Topalian S.L.: Durable cancer regression off-treatment and effective reinduction therapy with an anti-PD-1 antibody. *Clin. Cancer Res.*, 2013; 19: 462-468
- [37] Liu W., Shibata K., Koya Y., Kajiyama H., Senga T., Yamashita M., Kikkawa F.: B7-H4 overexpression correlates with a poor prognosis for cervical cancer patients. *Mol. Clin. Oncol.*, 2014; 2: 219-225
- [38] Markstein M., Dettorre S., Cho J., Neumüller R.A., Craig-Müller S., Perrimon N.: Systematic screen of chemotherapeutics in *Drosophila* stem cell tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014; 111: 4530-4535
- [39] McDermott D., Haanen J., Chen T.T., Lorigan P., O'Day S.: Efficacy and safety of ipilimumab in metastatic melanoma patients surviving more than 2 years following treatment in a phase III trial (MDX010-20). *Ann. Oncol.*, 2013; 24: 2694-2698
- [40] McDermott D., Lebbé C., Hodi F.S., Maio M., Weber J.S., Wolchok J.D., Thompson J.A., Balch C.M.: Durable benefit and the potential for long-term survival with immunotherapy in advanced melanoma. *Cancer Treat. Rev.*, 2014; 40: 1056-1064
- [41] Mkrtichyan M., Najjar Y.G., Raulfs E.C., Abdalla M.Y., Samara R., Rotem-Yehudar R., Cook L., Khleif S.N.: Anti-PD-1 synergizes with cyclophosphamide to induce potent anti-tumor vaccine effects through novel mechanisms. *Eur. J. Immunol.*, 2011; 41: 2977-2986
- [42] Muenst S., Soysal S.D., Gao F., Obermann E.C., Oertli D., Gillanders W.E.: The presence of programmed death 1 (PD-1)-positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.*, 2013; 139: 667-676
- [43] Ngiew S.F., Teng M.W., Smyth M.J.: Prospects for TIM3-targeted antitumor immunotherapy. *Cancer Res.*, 2011; 71: 6567-6571
- [44] Ngiew S.F., von Scheidt B., Akiba H., Yagita H., Teng M.W., Smyth M.J.: Anti-TIM3 antibody promotes T cell IFN- γ -mediated antitumor immunity and suppresses established tumors. *Cancer Res.*, 2011; 71: 3540-3551
- [45] O'Day S.J., Maio M., Chiarion-Sileni V., Gajewski T.F., Pehamberger H., Bondarenko I.N., Queirolo P., Lundgren L., Mikhailov S., Roman L., Verschraegen C., Humphrey R., Ibrahim R., de Pril V., Hoos A., Wolchok J.D.: Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study. *Ann. Oncol.*, 2010; 21: 1712-1717
- [46] Pardoll D.M.: The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2012; 12: 252-264
- [47] Pardoll D.M., Drake C.: Immunotherapy earns its spot in the ranks of cancer therapy. *J. Exp. Med.*, 2012; 209: 201-209
- [48] Parsa A.T., Waldron J.S., Panner A., Crane C.A., Parney I.F., Barry J.J., Cachola K.E., Murray J.C., Tihan T., Jensen M.C., Mischel P.S., Stokoe D., Pieper R.O.: Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat. Med.*, 2007; 13: 84-88
- [49] Pasero C., Olive D.: Interfering with coinhibitory molecules: BTLA/HVEM as new targets to enhance anti-tumor immunity. *Immunol. Lett.*, 2013; 151: 71-75
- [50] Postow M.A., Chesney J., Pavlick A.C., Robert C., Grossmann K., McDermott D., Linette G.P., Meyer N., Giguere J.K., Agarwala S.S., Shaheen M., Ernstoff M.S., Minor D., Salama A.K., Taylor M. i wsp.: Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 21: 2006-2017
- [51] Postow M.A., Yuan J., Kitano S., Lesokhin A.M., Wolchok J.D.: Markers for anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) therapy in melanoma. *Methods Mol. Biol.*, 2014; 1102: 83-95
- [52] Powles T., Eder J.P., Fine G.D., Braiteh F.S., Loriot Y., Cruz C., Bellmunt J., Burris H.A., Petrylak D.P., Teng S.L., Shen X., Boyd Z., Hegde P.S., Chen D.S., Vogelzang N.J.: MPDL3280A (anti-PD-L1) treatment leads to clinical activity in metastatic bladder cancer. *Nature*, 2014; 515: 558-562
- [53] Press Announcements > FDA approves Keytruda for advanced melanoma. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm412802.htm> (29.12.2014)
- [54] Press Announcements > FDA approves Opdivo for advanced melanoma. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm427716.htm> (29.12.2014)
- [55] Press Announcements > FDA expands approved use of Opdivo to treat lung cancer. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm436534.htm> (09.05.2015)
- [56] Qian Y., Hong B., Shen L., Wu Z., Yao H., Zhang L.: B7-H4 enhances oncogenicity and inhibits apoptosis in pancreatic cancer cells. *Cell. Tissue. Res.*, 2013; 353: 139-151

- [57] Ribas A.: Clinical development of the anti-CTLA-4 antibody tremelimumab. *Semin. Oncol.*, 2010; 37: 450-454
- [58] Ribas A., Kefford R., Marshall M.A., Punt C.J., Haanen J.B., Marmol M., Garbe C., Gogas H., Schachter J., Linette G., Lorigan P., Kendra K.L., Maio M., Trefzer U., Smylie M. i wsp.: Phase III randomized clinical trial comparing tremelimumab with standard-of-care chemotherapy in patients with advanced melanoma. *J. Clin. Oncol.*, 2013; 31: 616-622
- [59] Riella L.V., Peterson A.M., Sharpe A.H., Chandraker A.: Role of the PD-1 pathway in the immune response. *Am. J. Transplant.*, 2012; 12: 2575-2587
- [60] Riley J.L.: PD-1 signaling in primary T cells. *Immunol. Rev.*, 2009; 229: 114-125
- [61] Rizvi N.A., Mazières J., Planchard D., Stinchcombe T.E., Dy G.K., Antonia S.J., Horn L., Lena H., Minenza E., Mennequier B., Otterson G.A., Campos L.T., Gandara D.R., Levy B.P., Nair S.G. i wsp.: Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol.*, 2015; 16: 257-265
- [62] Robert C., Long G.V., Brady B., Dutriaux C., Maio M., Mortier L., Hassel J.C., Rutkowski P., McNeil C., Kalinka-Warzocho E., Savage K.J., Hernberg M.M., Lebbé C., Charles J., Mihalcioiu C. i wsp.: Nivolumab in previously untreated melanoma without BRAF mutation. *N. Engl. J. Med.*, 2015; 372: 320-330
- [63] Robert C., Ribas A., Wolchok J.D., Hodi F.S., Hamid O., Kefford R., Weber J.S., Joshua A.M., Hwu W.J., Gangadhar T.C., Patnaik A., Dronca R., Zarour H., Joseph R.W., Boasberg P. i wsp.: Anti-programmed-death-receptor-1 treatment with pembrolizumab in ipilimumab-refractory advanced melanoma: a randomised dose-comparison cohort of a phase 1 trial. *Lancet*, 2014; 384: 1109-1117
- [64] Robert C., Schachter J., Long G.V., Arance A., Grob J.J., Mortier L., Daud A., Carlino M.S., McNeil C., Lotem M., Larkin J., Lorigan P., Neyns B., Blank C.U., Hamid O. i wsp.: Pembrolizumab versus ipilimumab in Advanced Melanoma. *N. Eng. J. Med.*, 2015; 372: 2521-2532
- [65] Robert C., Thomas L., Bondarenko I., O'Day S., Weber J., Garbe C., Lebbe C., Baurain J.F., Testori A., Grob J.J., Davidson N., Richards J., Maio M., Hauschild A., Miller W.H. Jr i wsp.: Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 2011; 364: 2517-2526
- [66] Rosenwald A., Wright G., Leroy K., Yu X., Gaulard P., Gascoyne R.D., Chan W.C., Zhao T., Haioun C., Greiner T.C., Weisenburger D.D., Lynch J.C., Vose J., Armitage J.O., Smeland E.B. i wsp.: Molecular diagnosis of primary mediastinal B cell lymphoma identifies a clinically favorable subgroup of diffuse large B cell lymphoma related to Hodgkin lymphoma. *J. Exp. Med.*, 2003; 198: 851-862
- [67] Slovin S.F., Higano C.S., Hamid O., Tejwani S., Harzstark A., Alunkal J.J., Scher H.L., Chin K., Gagnier P., McHenry M.B., Beer T.M.: Ipilimumab alone or in combination with radiotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer: results from an open-label, multicenter phase I/II study. *Ann. Oncol.*, 2013; 24: 1813-1821
- [68] Sznol M., Chen L.: Antagonist antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the treatment of advanced human cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2013; 19: 1021-1034
- [69] Tai X., Van Laethem F., Pobeziński L., Guinter T., Sharrow S.O., Adams A., Granger L., Kruhlik M., Lindsten T., Thompson C.B., Feigenbaum L., Singer A.: Basis of CTLA-4 function in regulatory and conventional CD4(+) T cells. *Blood*, 2012; 119: 5155-5163
- [70] Taube J.M., Anders R.A., Young G.D., Xu H., Sharma R., McMiller T.L., Chen S., Klein A.P., Pardoll D.M., Topalian S.L., Chen L.: Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci. Transl. Med.*, 2012; 4: 127-137
- [71] Taube J.M., Klein A., Brahmer J.R., Xu H., Pan X., Kim J.H., Chen L., Pardoll D.M., Topalian S.L., Anders R.A.: Association of PD-1, PD-1 ligands, and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin. Cancer Res.*, 2014; 20: 5064-5074
- [72] Topalian S.L., Hodi F.S., Brahmer J.R., Gettinger S.N., Smith D.C., McDermott D.F., Powderly J.D., Carvajal R.D., Sosman J.A., Atkins M.B., Leming P.D., Spigel D.R., Antonia S.J., Horn L., Drake C.G. i wsp.: Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366: 2443-2454
- [73] Topalian S.L., Sznol M., McDermott D.F., Kluger H.M., Carvajal R.D., Sharfman W.H., Brahmer J.R., Lawrence D.P., Atkins M.B., Powderly J.D., Leming P.D., Lipson E.J., Puzanov I., Smith D.C., Taube J.M. i wsp.: Survival, durable tumor remission, and long term safety in patients with advanced melanoma with nivolumab. *J. Clin. Oncol.*, 2014; 32: 1020-1030
- [74] Topalian S.L., Weiner G.J., Pardoll D.N.: Cancer immunotherapy comes of age. *J. Clin. Oncol.*, 2011; 29: 4828-4836
- [75] Tumeš P.C., Harview C.L., Yearley J.H., Shintaku I.P., Taylor E.J., Robert L., Chmielowski B., Spasic M., Henry G., Ciobanu V., West A.N., Carmona M., Kivork C., Seja E., Cherry G. i wsp.: PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature*, 2014; 515: 568-571
- [76] van Elsas A., Hurwitz A.A., Allison J.P.: Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-producing vaccines induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied by autoimmune depigmentation. *J. Exp. Med.*, 1999; 190: 355-366
- [77] Wada S., Jackson C.M., Yoshimura K., Yen H.R., Getnet D., Harris T.J., Goldberg M.V., Bruno T.C., Grosso J.F., Durham N., Netto G.J., Pardoll D.M., Drake C.G.: Sequencing CTLA-4 blockade with cell-based immunotherapy for prostate cancer. *J. Transl. Med.*, 2013; 11: 89
- [78] Wang J., Chong K.K., Nakamura Y., Nguyen L., Huang S.K., Kuo C., Zhang W., Yu H., Morton D.L., Hoon D.S.: B7-H3 associated with tumor progression and epigenetic regulatory activity in cutaneous melanoma. *J. Invest. Dermatol.* 2013; 133: 2050-2058
- [79] Weber J.S., D'Angelo S.P., Minor D., Hodi F.S., Gutzmer R., Neyns B., Hoeller C., Khushalani N.I., Miller W.H. Jr., Lao C.D., Linette G.P., Thomas L., Lorigan P., Grossmann K.F., Hassel J.C. i wsp.: Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol.*, 2015; 16: 375-384
- [80] Weber J., Hamid O., Amin A., O'Day S., Masson E., Goldberg S.M., Williams D., Parker S.M., Chasalow S.D., Alaparthi S., Wolchok J.D.: Randomized phase I pharmacokinetic study of ipilimumab with or without one of two different chemotherapy regimens in patients with untreated advanced melanoma. *Cancer Immun.*, 2013; 13: 7-15
- [81] Weber J.S., Kahler K.C., Hauschild A.: Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. *J. Clin. Oncol.*, 2012; 30: 2691-2697
- [82] Wolchok J.D., Hodi S.F., Weber J.S., Allison J.P., Urba W.J., Robert C., O'Day S.J., Hoos A., Humphrey R., Berman D.M., Lonberg N., Korman A.J.: Development of ipilimumab: a novel immunotherapeutic approach for the treatment of advanced melanoma. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2013; 1291: 1-13
- [83] Wolchok J.D., Kluger H., Callahan M.K., Postow M.A., Rizvi N.A., Lesokhin A.M., Segal N.H., Ariyan C.E., Gordon R.A., Reed K., Burke M.M., Caldwell A., Kronenberg S.A., Agunwamba B.U., Zhang X. i wsp.: Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N. Engl. J. Med.*, 2013; 369: 122-133
- [84] Wolchok J.D., Neyns B., Linette G., Negrier S., Lutzky J., Thomas L., Waterfield W., Schadendorf D., Smylie M., Guthrie T. Jr., Grob J.J., Chesney J., Chin K., Chen K., Hoos A. i wsp.: Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncol.*, 2010; 11: 155-164

[85] Wolchok J.D., Weber J.S., Maio M., Neyns B., Harmankaya K., Chin K., Cykowski L., de Pril V., Humphrey R., Lebbé C.: Four-year survival rates for patients with metastatic melanoma who received ipilimumab in phase II clinical trials. *Ann. Oncol.*, 2013; 24: 2174-2180

[86] Woo S.R., Turnis M.E., Goldberg M.V., Bankoti J., Selby M., Nirschl C.J., Bettini M.L., Gravano D.M., Vogel P., Liu C.L., Tangsombatvisit S., Grosso J.F., Netto G., Smeltzer M.P., Chau A. i wsp.: Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res.*, 2012; 72: 917-927

[87] Wu L., Yun Z., Tagawa T., Rey-McIntyre K., de Perrot M.: CTLA-4 blockade expands infiltrating T cells and inhibits cancer cell repopulation during the intervals of chemotherapy in murine mesothelioma. *Mol. Cancer Ther.*, 2012; 11: 1809-1819

[88] Yao S., Chen L.: Adaptive resistance: A tumor strategy to evade immune attack. *Eur. J. Immunol.*, 2013; 43: 576-579

[89] Zeng J., See A.P., Phallen J., Jackson C.M., Belcaid Z., Ruzevick J., Durham N., Meyer C., Harris T.J., Albesiano E., Pradilla G., Ford E., Wong J., Hammers H.J., Mathios D. i wsp.: Anti-PD-1 blockade and stereotactic radiation produce long-term survival in mice with intracranial gliomas. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 2013; 86: 343-349

[90] Zhou Q., Munger M.E., Highfill S.L., Tolar J., Weigel B.J., Riddle M., Sharpe A.H., Vallera D.A., Azuma M., Levine B.L., June C.H., Murphy W.J., Munn D.H., Blazar B.R.: Program death-1 signaling and regulatory T cells collaborate to resist the function of adoptively transferred cytotoxic T lymphocytes in advanced acute myeloid leukemia. *Blood*, 2010; 116: 2484-2493

[91] Zou W., Chen L.: Inhibitory B7-family molecules in the tumour microenvironment. *Nat. Rev. Immunol.*, 2008; 8: 467-477

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.