

Received: 24.01.2019
Accepted: 22.07.2019
Published: 31.12.2019

Strategie współczesnej immunoterapii nowotworów*

Strategies of current cancer immunotherapy

Zuzanna Rzepka, Marta Knapik, Dorota Wrześniok

Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Streszczenie

Nowotwory złośliwe są poważnym problemem zdrowotnym na świecie. Metodami leczenia stosowanymi najczęściej w onkologii są: chemioterapia, radioterapia i metody chirurgiczne. Poszukiwanie nowych rozwiązań terapeutycznych w tej dziedzinie medycyny, o możliwie jak największej skuteczności, przy uwzględnieniu wieloczynnikowego charakteru nowotworzenia, jest istotne zarówno z punktu widzenia naukowego, jak i medycznego, a z oczywistych względów wzbudza zainteresowanie nie tylko klinicystów.

Immunoterapia, mimo wielu lat początkowych niepowodzeń, stała się jedną z najważniejszych zatwierdzonych klinicznie nowych metod leczenia w onkologii i obecnie jest z powodzeniem stosowana w terapii niektórych typów nowotworów. Dotychczas opracowane strategie immunoterapeutyczne opierają się na wykorzystaniu przeciwciał monoklonalnych (m.in. inhibitorów immunologicznych punktów kontroli), cytokin, szczepionek przeciwnowotworowych, wirusów onkolitycznych, a także transferu adoktywnego komórek. W wielu postaciach immunoterapii nowotworów obserwuje się zwiększenie ich skuteczności przy zastosowaniu terapii skojarzonej zarówno z innymi rodzajami immunoterapii, jak również w połączeniu z terapią celowaną molekularnie, chemioterapią czy radioterapią.

Stwierdzany od początku XXI w. dynamiczny rozwój immunoterapii nowotworów jest związany z postępem w zakresie technik inżynierii genetycznej, a także poznaniem mechanizmów odpowiedzi organizmu skierowanej na eliminację komórek nowotworowych, jak również specyfiki komórek neoplastycznych – nieprawidłowości w ich metabolizmie, zdolności do tworzenia tzw. mikrośrodowiska nowotworowego oraz indukowania immunosupresji.

W artykule omówiono aktualne wiadomości z zakresu strategii współczesnej immunoterapii chorób nowotworowych.

Słowa kluczowe:

immunoterapia • onkologia • przeciwciała monoklonalne

Summary

Cancers are a significant health problem in the world. The most common therapeutic methods applied in oncology are chemotherapy, radiotherapy and surgical methods. Finding new therapies in this branch of medicine, as well as developing solutions with the highest possible effectiveness, taking into account the multifactorial nature of cancer, is important from both the scientific and medical point of view and, for obvious reasons, it is in the interest of many people.

*Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego nr KNW-I-o85/N/8/O finansowanego ze środków Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Keywords:	Immunotherapy, despite many years of initial failures, has become one of the most important clinically approved new treatments in oncology and is now successfully used in the treatment of certain types of cancer. Current immunotherapeutic strategies are based on monoclonal antibodies (including inhibitors of immune control points), cytokines, anti-cancer vaccines, oncolytic viruses, as well as adoptive cell transfer. For many cancer immunotherapies, an increase in their effectiveness is observed when they are used with other types of immunotherapy as well as in combination with molecular targeted therapy, chemotherapy or radiotherapy. The dynamic development of cancer immunotherapy since the beginning of the 21st century results from the advances in genetic engineering, as well as from the increase in knowledge about the anticancer immune response and the nature of cancer cells including abnormalities in their metabolism, the ability to create a tumor microenvironment and the induction of immunosuppression. The aim of the study is to present current knowledge in the field of cancer immunotherapy strategies. immunotherapy • oncology • monoclonal antibodies
GICID DOI: Word count: Tables: Figures: References:	01.3001.0013.7539 10.5604/01.3001.0013.7539 3728 1 5 57

Adres autorki:

dr hab. n. farm. Dorota Wrześniok, Katedra i Zakład Chemii i Analizy Leków, Wydział Nauk Farmaceutycznych w Sosnowcu, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, ul. Jagiellońska 4, 41-200 Sosnowiec; e-mail: dwrzesniok@sum.edu.pl

Wykaz skrótów:

ACS – Amerykańskie Stowarzyszenie Chorób Nowotworowych (American Cancer Society); **ACT** – transfer adoktywny komórek (adoptive cell transfer); **ADCC** – komórkowa cytotoksyczność zależna od przeciwciał (antibody-dependent cellular cytotoxicity); **ADCP** – fagocytoza komórkowa zależna od przeciwciał (antibody-dependent cellular phagocytosis); **ADEPT** – enzymatyczna terapia prolekowa kierowana przeciwciałem (antibody-directed enzyme prodrug therapy); **APCs** – komórki prezentujące antygen (antigen-presenting cells); **bsAbs** – przeciwciała bispecyficzne/biswoiste (bispecific antibodies); **CAR** – chimeryczny receptor antygenowy (chimeric antigen receptor); **CCR4** – receptor typu 4 chemokiny CC (CC chemokine receptor type 4), (limfocyt CAR-T – limfocyt T zawierający CAR; **CD** – antygen różnicowania komórkowego (cluster of differentiation); **CDC** – cytotoksyczność zależna od dopełniacza (complement-dependent cytotoxicity); **CTLA** – białko związane z cytotoksycznymi limfocytami T (cytotoxic T-lymphocyte associated protein); **DCs** – komórki dendrytyczne (dendritic cells); **EGF** – naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor); **EGFR** – receptor naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor receptor); **FDA** – Agencja Żywności i Leków (Food and Drug Administration); **GM-CSF** – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor); **HER** – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu (human epidermal growth factor receptor); **HSV** – wirus opryszczki pospolitej (herpes simplex virus); **mAbs** – przeciwciała monoklonalne (monoclonal antibodies); **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **OVs** – wirusy onkolityczne (oncolytic viruses); **PAP** – kwasna fosfataza sterczowa (prostatic acid phosphatase); **PBMCs** – komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells); **PD** – receptor programowanej śmierci (programmed death receptor); **PDGFR** – receptor płytkopochodnego czynnika wzrostu (platelet-derived growth factor receptor); **PD-L** – ligand receptora programowanej śmierci (programmed death-ligand); **TAAs** – antygeny związane z nowotworem (tumor-associated antigens); **TCR** – receptor limfocyty T (T-cell receptor); **TILs** – limfocyty naciekające guz (tumor-infiltrating lymphocytes); **TSAs** – antygeny swoiste nowotworu (tumor-specific antigens); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłónki naczyniowego (vascular endothelial growth factor); **VEGFR** – receptor czynnika wzrostu śródbłónki naczyniowego (vascular endothelial growth factor receptor).

WPROWADZENIE

Podstawowymi metodami stosowanymi w leczeniu osób z chorobami nowotworowymi są chemioterapia, radioterapia, chirurgia oraz terapia celowana. Chemioterapia i radioterapia wiążą się z dużą toksycznością nie tylko wobec komórek nowotworowych, lecz także w stosunku do innych szybko dzielących się komórek. Istotną wadą chemioterapii i radioterapii jest możliwość wytworzenia przejściowej supresji immunologicznej zwiększającej ryzyko infekcji, a także sprzyjającej dalszemu rozwojowi nowotworu. Standardowe metody terapeutyczne w onkologii mogą być skutecznie wykorzystywane samodzielnie, jednak ich zwiększoną skuteczność obserwuje się po zastosowaniu razem z czynnikami pobudzającymi osłabioną odpowiedź immunologiczną [54].

Terapie celowane molekularnie mogą przewyższyć te ograniczenia, ponieważ są zaprojektowane tak, aby rozpoznawać i niszczyć zmutowane cząsteczki w tkankach objętych chorobą lub inne cząsteczki istotne dla funkcjonowania komórek nowotworowych [9].

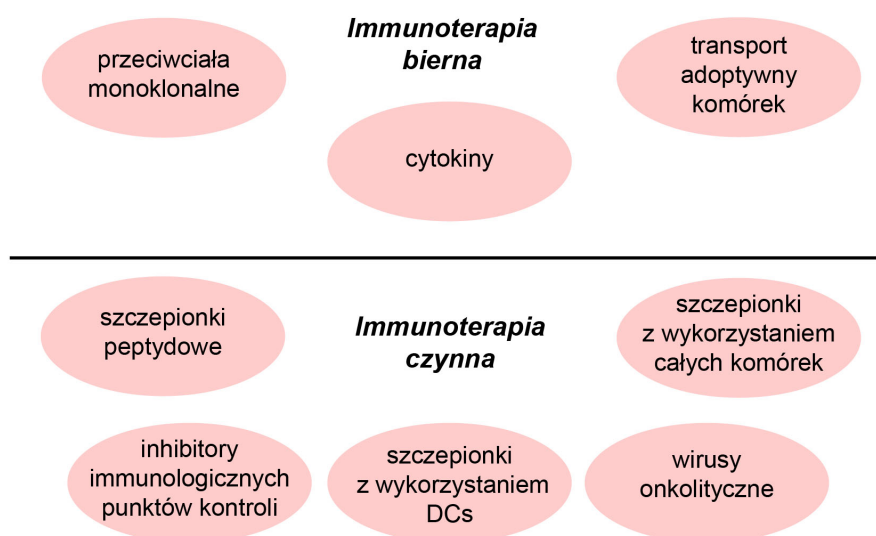
Amerykańskie Stowarzyszenie Chorób Nowotworowych (American Cancer Society, ACS) definiuje immunoterapię jako metodę leczenia polegającą na wykorzystywaniu elementów układu immunologicznego chorego w celu zwalczania choroby. Można to osiągnąć na dwa sposoby:

- stymulowanie układu immunologicznego pacjenta do efektywniejszej eliminacji komórek nowotworowych;
- podanie choremu określonych komponentów układu immunologicznego, np. cytokin, przeciwciał monoklonalnych lub komórek układu odpornościowego [52].

Obserwowany od 2000 r. dynamiczny rozwój immunoterapii nowotworów jest związany z poznaniem mechanizmów odpowiedzi antynowotworowej układu immunologicznego oraz rozwojem metod biotechnologii medycznej [41]. Według klasyfikacji zaproponowanej przez ACS [52] immunoterapię nowotworów można podzielić na strategie z zastosowaniem:

- przeciwciał monoklonalnych (monoclonal antibodies, mAbs) skierowanych przeciw antygenom nowotworowym,
- inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych,
- szczepionek przeciwnowotworowych,
- interleukin lub interferonów (immunoterapie nieswoiste).

Strategie immunoterapeutyczne, w zależności od ich zdolności do aktywacji układu odpornościowego pacjenta, można podzielić na bierne i czynne (ryc. 1). Immunoterapia bierna jest wykorzystywana wtedy, gdy układ immunologiczny pacjenta nie może wykształcić prawidłowej odpowiedzi immunologicznej, natomiast immunoterapię czynną stosuje się u pacjentów, których układ immunologiczny może pełnić funkcje efektorowe. Zgodnie z tą klasyfikacją, immunoterapia bierna obejmuje podawanie: cytokin, swoistych nowotworowo przeciwciał monoklonalnych, a także aktywowanych *ex vivo* komórek układu odpornościowego, głównie limfocytów T, pobranych wcześniej od pacjenta (tzw. transfer adoptywny komórek układu odpornościowego). Strategie polegające na podawaniu szczepionek przeciwnowotworowych oraz inhibitorów immunologicznych punktów kontroli wywołują efekt przeciwnowotworowy jedynie we współpracy z układem immunologicznym pacjenta, dlatego są zaliczane do immunoterapii czynnej [41, 47].



Ryc. 1. Podział immunoterapii na bierną i czynną; DCs – komórki dendrytyczne [na podstawie 41, 47]

PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNE – WIODĄCA METODA IMMUNOTERAPII NOWOTWORÓW

Przeciwciała są stosowane w celu precyzyjnego zwalczania chorób od końca XIX w., chociaż początek immunoterapii datuje się na 1796 r., kiedy Edward Jenner po raz pierwszy przeprowadził immunizację za pomocą wirusa krowianki w celu ograniczenia zachorowania na ospę prawdziwą. Pierwsza terapia za pomocą przeciwciała monoklonalnego została zatwierdzona przez Agencję Żywności i Leków (Food and Drug Administration, FDA) w 1975 r. [27].

Otrzymywanie przeciwciał monoklonalnych polega na immunizacji myszy odpowiednim antygenem, a następnie izolacji limfocytów śledziony zwierzęcia. W następnych etapach dokonuje się fuzji wyizolowanych limfocytów z komórkami szpiczaka i selekcjonuje się powstałe hybrydy przez zastosowanie pożywki umożliwiającej wzrost wyłącznie komórek hybrydowych. Kolejnym etapem jest tzw. screening, polegający na izolacji i dalszej hodowli linii hybryd wytwarzających swoiste względem danego antygeny przeciwciała monoklonalne [7]. Wykorzystując metody inżynierii genetycznej, otrzymuje się przeciwciała o zmniejszonej immunogenności oraz dłuższym czasie półtrwania w surowicy w porównaniu do przeciwciał pochodzenia mysiego [7, 42]:

- przeciwciała chimeryczne – zbudowane z mysich regionów zmiennych odpowiadających za rozpoznanie antygeny, które zostały przyłączone do części stałej przeciwciała ludzkiego (są w 65–90% immunoglobulinami ludzkimi),
- przeciwciała humanizowane, w których jedynie regiony hipermienne pochodzą od myszy (są w 95% immunoglobulinami ludzkimi),
- ludzkie przeciwciała monoklonalne – otrzymywane m.in. przez immunizację transgenicznych myszy posiadających geny ludzkich immunoglobulin (ich struktura jest w 100% ludzka).

Zgodnie z zasadami nazewnictwa mAbs, przyjętymi przez Światową Organizację Zdrowia, początek nazwy powinien być jedynym dla danego przeciwciała. Następnym elementem jest człon określający pochodzenie: jeśli przeciwciało jest pochodzenia mysiego, końcówka poprzedzona jest literą „o”, w przypadku przeciwciała chimerycznego stosuje się człon „xi” („ksi”), humanizowanych „zu”, a do przeciwciała ludzkiego „u” (wyjątek: cemiplimab). Na końcu nazwy występuje niezmienny element „-mab” [53, 55].

Przeciwciała stosowane w onkologii mogą wywierać efekt farmakologiczny przez mechanizmy odpornościowe, takie jak komórkowa cytotoksyczność zależna od przeciwciał (antibody-dependent cellular cytotoxicity, ADCC), fagocytoza zależna od przeciwciał (antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP) lub cytotoksyczność zależna od dopełniacza (complement-dependent cytotoxicity, CDC) [9]. Poza tym, niektóre mAbs działają jako tzw. inhibitory immunolo-

gicznych punktów kontroli lub bezpośrednio hamują szlaki warunkujące powstawanie i rozwój nowotworów (mechanizmy nieodpornościowe) [4, 9]. Obecnie w leczeniu stosuje się trzy rodzaje przeciwciał monoklonalnych: nagie, skoniugowane (immunokoniugaty) oraz tzw. bispecyficzne (biswoiste) [26, 33].

Przeciwciała monoklonalne skierowane przeciw antygenom nowotworowym

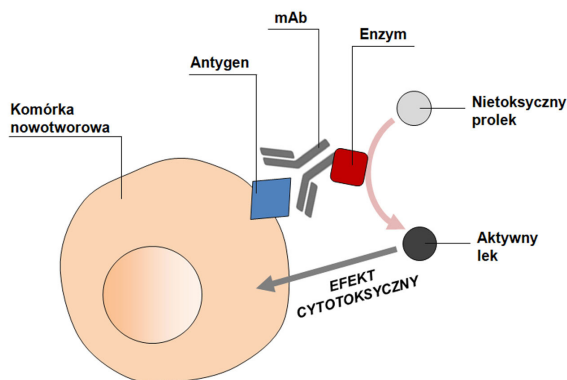
Nagie przeciwciała monoklonalne pełnią funkcje antynowotworowe, aktywując programowaną śmierć komórek przez przyłączenie się do epitopów obecnych na powierzchni komórki nowotworowej i aktywowanie mechanizmów odpornościowych, takich jak: ADCC, ADCP czy CDC [41].

Przeciwciała lub ich fragmenty mogą być sprzęgane (skoniugowane) z cząsteczkami radioaktywnymi, chemioterapeutykami lub toksynami w celu zwiększenia skuteczności immunoterapii. mAbs w takich połączeniach pełnią funkcję nośnika dla czynnika cytotoksycznego, dostarczając go bezpośrednio do komórek nowotworowych. Ważną strategią jest również tzw. enzymatyczna terapia prolekowa kierowana przeciwciałem (antibody-directed enzyme prodrug therapy, ADEPT), w której przeciwciało wykorzystuje się do przenoszenia enzymu przekształcającego nietoksyczny prolek w cytotoksyczną pochodną. ADEPT obejmuje dwa etapy: podanie koniugatu enzym-przeciwciało, który selektywnie wiąże się ze swoistym antygenem na powierzchni komórek nowotworowych, a następnie, po upływie czasu niezbędnego do usunięcia z układu krążenia niezwiązanego immunokoniugatu, podaje się prolek, który jest aktywowany enzymatycznie w obrębie tkanki nowotworowej (ryc. 2) [27, 41, 51].

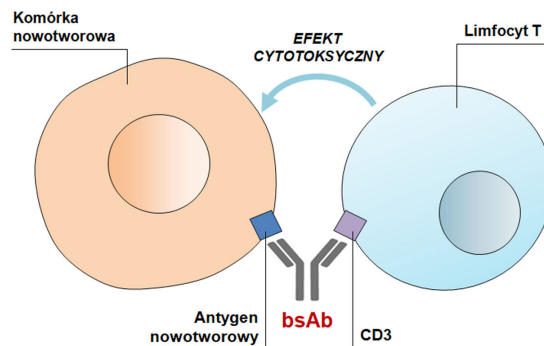
Przeciwciała bispecyficzne (bispecific antibodies, bsAbs) to rodzaj przeciwciał monoklonalnych wykazujących podwójną swoistość. Jedno ramię przeciwciała bispecyficznego jest skierowane przeciwko antygenowi znajdującemu się na powierzchni komórki nowotworowej, natomiast drugie pośredniczy w skuteczniejszej odpowiedzi przeciwnowotworowej, np. może być skierowane przeciwko antygenom komórek odpornościowych [42]. Jednym z rodzajów bsAbs są bispecyficzne przeciwciała, które wiążąc się z antygenem CD3 oraz antygenem komórek neoplastycznych mogą indukować aktywację limfocytów T ukierunkowaną na komórki zmienione nowotworowo (ryc. 3) [57].

Inhibitory immunologicznych punktów kontroli

Na powierzchni limfocytów T znajdują się cząsteczki modulujące ich aktywność, zwane punktami kontroli układu odpornościowego (immune checkpoints). Zalicza się do nich m.in. receptor programowanej śmierci 1 (programmed death receptor 1, PD-1) i białko związane z cytotoksycznymi limfocytami T (cytotoxic T lymphocyte associated antygen-4, CTLA-4) [29, 41]. Wykazano,



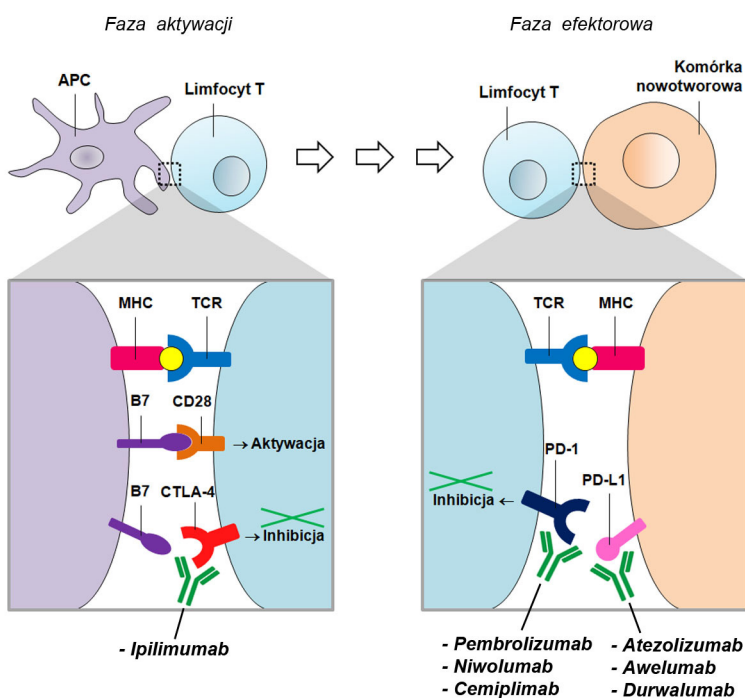
Ryc. 2. Enzymatyczna terapia prolekowa kierowana przeciwciałem (ADEPT); mAb – przeciwciało monoklonalne [na podstawie 49, 51]



Ryc. 3. Schemat działania przeciwciała bispecyficznego (bsAb) (na podstawie 42, 57)

że niektóre komórki nowotworowe unikają nadzoru immunologicznego przez aktywację PD-1 i CTLA-4, a blokowanie tych szlaków znosi anergię limfocytów (ryc. 4). Za odkrycie tych mechanizmów James P. Allison i Tasuku Honjo otrzymali w 2018 r. Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny [13, 23, 31, 40]. Inhibitory immunologicznych punktów kontroli są obecnie jedną z najnowocześniejszych strategii terapeutycznych w immuno-onkologii.

Do leków z grupy inhibitorów immunologicznych punktów kontroli zalicza się następujące przeciwciała monoklonalne: ipilimumab, pembrolizumab, niwolumab, atezolizumab, awelumab, durwalumab i cemiplimab [31, 44]. Terapia z ich wykorzystaniem umożliwia utrzymanie aktywacji limfocytów T w mikrośrodku nowotworowym. Ponadto wykazano, że inhibicja szlaku CTLA-4 prowadzi do deplekcji supresorowych limfocytów T, a inhibicja szlaku PD-1 jest związana z reaktywacją „wyczerpanych”



Ryc. 4. Mechanizm działania inhibitorów immunologicznych punktów kontroli. W fazie aktywacji limfocyty T wchodzi w interakcję z komórkami prezentującymi antygen (APCs), odbierając dwa sygnały. Jednym z sygnałów jest rozpoznanie przez receptor limfocyty T (TCR) epitopu nowotworowego związanego z częścią głównego układu zgodności tkankowej (MHC) na komórce APC. Kolejnym sygnałem jest interakcja cząsteczek kostymulujących na obu komórkach – cząsteczki CD28 na powierzchni limfocyty T oraz cząsteczki B7 na powierzchni APC. Aktywowane limfocyty T ekspresują cząsteczkę CTLA-4, co stanowi sygnał ujemnego sprzężenia zwrotnego w odpowiedzi odpornościowej, nie dopuszczając do jej nadmiernego rozwoju. Blokowanie przez ipilimumab interakcji CTLA-4 z ligandem (białkiem B7) na powierzchni APC prowadzi do aktywacji limfocytów T. Natomiast podczas fazy efektorowej aktywowane limfocyty T przedostają się w pobliże komórek nowotworowych, gdzie za pomocą TCRs rozpoznają epitopy nowotworowe w kontekście MHC. Przeciwciała anti-PD1 lub anti-PD-L1 blokując szlak PD-1 powodują zniesienie supresji indukowanej przez nowotwór [na podstawie 31, 41, 44].

limfocytów T oraz zwiększeniem rozpoznawania komórek nowotworowych przez cytotoksyczne limfocyty T. Stwierdzono, że jednoczesne blokowanie obu tych szlaków znacząco zwiększa przeciwnowotworową reaktywność limfocytów T [9, 13, 41], w związku z czym opracowano terapię skojarzoną z zastosowaniem ipilimumabu i niwolumabu (połączenie zarejestrowane w leczeniu czerniaka oraz raka nerkowokomórkowego) [19].

Leki onkologiczne oparte na przeciwciałach monoklonalnych

Obecnie zarejestrowanych jest wiele leków opartych na mAbs, które wykorzystuje się w terapii chorób nowotworowych (tabela 1).

Skuteczność terapii z wykorzystaniem przeciwciał monoklonalnych jest ograniczona przez oporność komórek nowotworowych na te leki. Wyróżnia się oporność pierwotną oraz wtórną. Oporność pierwotna pojawia się, gdy lek o potwierdzonej skuteczności nie ma widocznego efektu leczniczego [9]. Może być to spowodowane nieobecnością antygenów na komórkach nowotworowych [48]. W przypadku oporności wtórnej terapia jest nieskuteczna terapii z powodu upośledzenia mechanizmów efektorowych, takich jak ADCC lub osłabienia prezentacji antygenów na powierzchni komórek nowotworowych [9].

SZCZEPIONKI PRZECIWNOWOTWOROWE

Celem immunoterapii z wykorzystaniem szczepionek onkologicznych jest eliminacja komórek nowotworowych. Szczepionki te zawierają pobrane od pacjenta i odpowiednio przygotowane komórki nowotworowe lub ich określone antygeny. Zwykle zawierają również adiuwanty – związki chemiczne stymulujące odpowiedź immunologiczną. Wiele szczepionek przeznaczonych do stosowania w onkologii oczekuje na ewaluację w badaniach klinicznych fazy III [2, 12].

Szczepionki przeciwnowotworowe można podzielić na trzy podstawowe rodzaje: peptydowe, z wykorzystaniem komórek dendrytycznych oraz szczepionki z wykorzystaniem całych komórek [22].

Szczepionki peptydowe

Immunizacja za pomocą szczepionek zawierających niezmienione peptydy bazujące na antygenach związanych z nowotworem (tumor-associated antigens, TAAs) lub antygenach swoistych dla nowotworu (tumor-specific antigens, TSAs) może znieść tolerancję immunologiczną (brak reakcji układu odpornościowego) bez konieczności prezentacji antygenów, gdyż takie peptydy mogą się łączyć bezpośrednio do cząsteczek MHC na DCs, zapewniając silną aktywację

Tabela 1. Zatwierdzone przez FDA przeciwciała monoklonalne stosowanie w onkologii [na podstawie 8, 15, 16, 17, 18]

Nazwa handlowa	Nazwa międzynarodowa	Cel molekularny	Wskazania
Rituxan	Rituximab	CD20	Chłoniaki nieziarnicze Przewlekła białaczka limfocytowa
Herceptin	Trastuzumab	EGF	Rak piersi Rak żołądka z przerzutami
Campath	Alemtuzumab	CD52	Przewlekła białaczka limfocytowa B komórkowa
Zevalin	Ibritumomab tiuxetan	CD20	Chłoniaki nieziarnicze
Erbix	Cetuximab	EGFR	Rak szyi i głowy Rak jelita grubego
Avastin	Bevacizumab	VEGF	Rak jelita grubego Niedrobnokomórkowy rak płuca Glejak
Mvasi			Rak nerkowokomórkowy Rak szyjki macicy
Vectibix			Panitumumab
Arzerra	Ofatumumab	CD20	Przewlekła białaczka limfocytowa
Yervoy	Ipilimumab	CTLA-4	Czerniak Rak nerkowokomórkowy Rak jelita grubego
Adcetris	Brentuximab vedotin	CD30	Chłoniak Hodgkina Chłoniak anaplastyczny z dużych komórek
Perjeta	Pertuzumab	HER2	Rak piersi

Nazwa handlowa	Nazwa międzynarodowa	Cel molekularny	Wskazania
Kadcyla	Ado-trastuzumab emtansine	HER2	Rak piersi
Gazyva	Obinutuzumab	CD20	Przewlekła białaczka limfocytowa
Cyramza	Ramucirumab	VEGFR2	Rak żołądka Niedrobnokomórkowy rak płuca Rak jelita grubego
Keytruda	Pembrolizumab	PD-1	Czerniak Niedrobnokomórkowy rak płuca Klasyczny chłoniak Hodgkina Płaskonabłonkowy rak głowy i szyi Rak żołądka Rak szyjki macicy Rak wątrobowokomórkowy
Opdivo	Nivolumab	PD-1	Czerniak Niedrobnokomórkowy rak płuca
Unituxin	Dinutuximab	gangliozyd GD2	Nerwiak zarodkowy
Darzalex	Daratumumab	CD38	Szpiczak mnogi
Tecentriq	Atezolizumab	PD-L1	Rak pęcherza moczowego Niedrobnokomórkowy rak płuca
Lartruvo	Olaratumab	PDGFR-α	Mięsak tkanek miękkich
Bavencio	Avelumab	PD-L1	Rak z komórek Merkla Rak pęcherza moczowego
Imfinzi	Durvalumab	PD-L1	Niedrobnokomórkowy rak płuca Rak pęcherza moczowego
Besponsa	Inotuzumab ozogamicin	CD22	Ostra białaczka limfoblastyczna
Libtayo	Cemiplimab	PD-1	Rak kolczystokomórkowy skóry
Poteligeo	Mogamulizumab	CCR4	Ziarniniak grzybiasty

CCR4 – receptor typu 4 chemokiny CC; CD – antygen różnicowania komórkowego; CTLA – białko związane z limfocytami T; EGF – naskórkowy czynnik wzrostu; EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu; HER2 – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu; PD – receptor programowanej śmierci; PDGFR – receptor płytkopochodnego czynnika wzrostu; PD-L – ligand receptora programowanej śmierci; VEGF – czynnik wzrostu śródbłónki naczyniowej; VEGFR – receptor czynnika wzrostu śródbłónki naczyniowej.

limfocytów T [33]. Jednak monoterapie z zastosowaniem peptydów bazujących na TAAch czy TSAs cechuje ograniczona efektywność *in vivo*. Nowa generacja przeciwnowotworowych szczepionek peptydowych zawiera tzw. koktajle wielopeptydowe (multi-peptide cocktails), na które składają się długie syntetyczne peptydy lub peptydy hybrydowe powstałe w wyniku fuzji sekwencji aminokwasowych pochodzących z różnych peptydów [41].

Szczepionki oparte na komórkach dendrytycznych

Komórki dendrytyczne (dendritic cells, DCs) są najbardziej efektywnymi komórkami prezentującymi antygen i pełnią główną rolę w regulacji wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej. W onkologii do celów immunizacji wykorzystuje się własne DCs pacjenta. Po izolacji z krwi obwodowej hematopoetyczne komórki progenitorowe CD34+ lub monocyty są poddawane różnicowaniu do niedojrzałych komórek dendrytycznych. Następnie niedojrzałe DCs są inkubowane z cytokinami stymulującymi ich dojrzewanie oraz odpowiednimi antygenami nowotworowymi. Komórki dendrytyczne mogą być również poddawane transfekcji materiałem genetycznym zawierającym geny kodujące antygeny nowotworowe [14].

Przykładem szczepionki przeciwnowotworowej opartej na DCs jest sipuleucel-T – produkt pozyskiwany z autologicznych komórek jednojądrzastych krwi obwodowej aktywowanych *ex vivo* przez białko fuzyjne składające się z kwaśnej fosfatazy sterczowej (prostatic acid phosphatase, PAP), antygeny występującego w komórkach raka gruczołu krokowego oraz czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF). Infuzja tych komórek z powrotem do organizmu pacjenta pobudza układ odpornościowy do odpowiedzi przeciwko PAP. Badania nad skutecznością sipuleucel-T wykazały średnie wydłużenie przeżycia u pacjentów z rakiem prostaty o 4 miesiące [5, 54] i w 2010 r. został zarejestrowany przez FDA pod nazwą handlową Provenge [5].

Szczepionki z wykorzystaniem komórek nowotworowych

Szczepionki z wykorzystaniem całych komórek nowotworowych są skierowane przeciwko wielu różnym TAAch, co wywołuje bardziej zróżnicowaną odpowiedź immunologiczną. Szczepionkami tego typu są np. GVAX

Pancreas i GVAX Prostate, które składają się z napromieniowanych, allogenicznnych linii komórkowych z sekrecją GM-CSF odpowiednio gruczolaka przewodu trzustki lub raka prostaty [14, 33, 38].

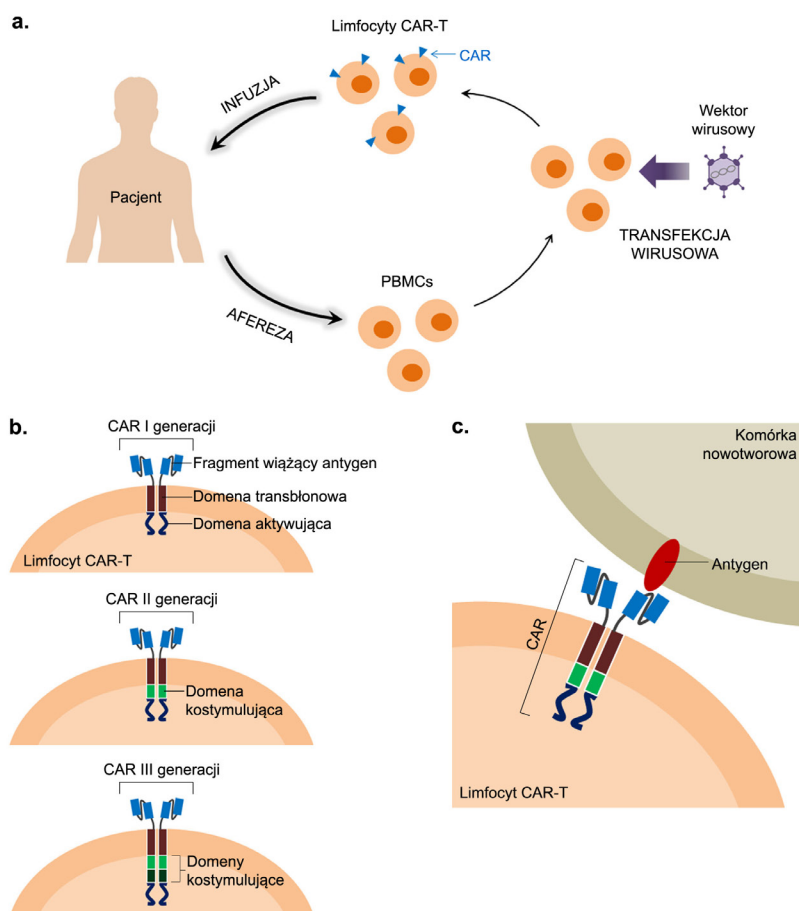
TRANSFER ADOPTYWNY KOMÓREK

Transfer adoktywny komórek (adoptive cell transfer, ACT) jest jedną z metod biernej immunoterapii stosowanej w zwalczaniu chorób nowotworowych i polega na autologicznej transplantacji komórek układu immunologicznego o aktywności cytotoksycznej wobec komórek nowotworowych. Komórki pobiera się od pacjenta (izolując je z krwi obwodowej, węzłów chłonnych umiejscowionych w pobliżu guzów lub bezpośrednio z tkanki nowotworowej), namnaża i aktywuje pozaustrojowo w obecności czynników wzrostu. Następnie zaktywowane komórki przeszczepia się z powrotem pacjentowi [14, 27, 33].

Podstawowa metoda ACT polega na wykorzystaniu limfocytów T pozyskanych z próbek guza, tzw. limfocytów naciekających guz (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs) [27]. Stosowanie TILs oparto na założeniu, że są bogate w populację limfocytów T o działaniu przeciwnowotworowym [33].

Zwiększenie skuteczności ACT jest możliwe dzięki zastosowaniu metod inżynierii genetycznej. Przykładem jest terapia z wykorzystaniem limfocytów CAR-T, czyli limfocytów T zdolnych do ekspresji chimericznych receptorów antygenowych (chimeric antigen receptors, CARs) – ryc. 5a [21, 43]. Najprostsze CARs są zbudowane z fragmentu wiążącego antygen nowotworowy, pochodzącego z przeciwciała oraz z domeny aktywującej, pochodzącej z kompleksu receptora limfocyta T. W nowszych generacjach receptorów CARs występują dodatkowo cząsteczki kostymulujące (ryc. 5b) [3, 21].

Jedną z metod, umożliwiającą uzyskanie limfocytów T, wykazujących ekspresję CARs, jest modyfikacja *ex vivo* komórek jednojądrzastych krwi obwodowej (peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) pobranych od pacjenta w procesie aferezy. Modyfikację przeprowadza się z użyciem wektorów wirusowych – w wyniku transfekcji wirusowej gen kodujący CAR zostaje wbudowany do genomu komórki docelowej, co umożliwia otrzymanie limfocytów CAR-T zdolnych do aktywacji i proliferacji *in vivo*, po kontakcie z antygenem. Największą zaletą CARs jest unikatowy mechanizm rozpoznawania antygenów na komórkach nowotworowych. W przeciwieństwie do fizjologicznego receptora



Ryc. 5. Terapia oparta na limfocytach CAR-T (a). Struktura CAR I, II i III generacji (b). Wiązanie antygeny nowotworowy przez CAR (c). CAR – chimericzny receptor antygenowy; limfocyty CAR-T – limfocyt z ekspresją CAR; PBMCs – komórki jednojądrzaste krwi obwodowej [na podstawie 3, 10, 21, 46]

limfocyty T (T-cell receptor, TCR), CAR rozpoznaje i wiąże antygen nowotworowy niezależnie od powierzchniowej ekspresji białka MHC (ryc. 5c). Jest to niezwykle istotne, gdyż komórki nowotworowe mają często obniżony poziom ekspresji MHC. Wadą tej metody może być reakcja wobec zdrowych komórek ekspresujących antygen, będący celem limfocytów CAR-T, a także pracochłonność, kosztowność i potencjalna toksyczność tej metody, która wynika z tego, iż zmodyfikowane limfocyty T, po wszczęciu pacjentowi, wydzielają duże ilości cytokin mobilizujących układ odpornościowy [33]. Skutkiem tzw. burzy cytokinowej (cytokine storm) może być gorączka, objawy grypopodobne, nagłe spadki ciśnienia czy uszkodzenie nerek [36, 50].

Warto zaznaczyć, że terapia z wykorzystaniem limfocytów CAR-T przynosi obiecujące rezultaty w leczeniu nowotworów hematologicznych, zwłaszcza w terapii wykorzystującej CARs skierowane przeciwko cząsteczkom CD-19, obecnym na limfocytach B i na komórkach nowotworowych wywodzących się z tych limfocytów [36].

WIRUSY ONKOLITYCZNE

Według definicji National Cancer Institute wirusy onkolityczne (oncolytic viruses, OV) to wirusy, które selektywnie infekują komórki nowotworowe i powodują ich rozpad, nie naruszając komórek prawidłowych [37]. Pierwotnie wirusy onkolityczne były projektowane jako czynniki powodujące liżę komórek nowotworowych. Obecnie stosuje się je także do zainicjowania ogólnoustrojowej, przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej [30]. Jako OV wykorzystuje się m.in. parwowirusy [34], adenowirusy [25], poliovirusa [6], wirusa choroby Newcastle [28, 56], wirusa opryszczki pospolitej [32] czy wirusa pęcherzykowego zapalenia jamy ustnej [24].

W dostępnej literaturze pojawia się coraz więcej danych wskazujących, że odpowiedź układu odpornościowego gospodarza może mieć kluczowe znaczenie dla skuteczności terapii z zastosowaniem OV. Reakcja immunologiczna organizmu może szybko ograniczyć replikację wirusa, obniżając tym samym skuteczność leczenia. Natomiast liza zainfekowanej wirusem komórki nowotworowej prowadzi do uwolnienia z niej antygenów, które następnie są prezentowane przez APCs. Skutkiem tego jest zainicjowanie ogólnoustrojowej, przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej i niszczenie tych komórek nowotworowych, które nie uległy bezpośredniej lizie w wyniku infekcji

wirusowej [1, 30, 41]. Ponadto, OV mogą być modyfikowane genetycznie w sposób umożliwiający ekspresję w zainfekowanych komórkach swoistych cytokin zwiększających rekrutację komórek układu odpornościowego [14].

FDA w 2015 r. zatwierdziła wirus onkolityczny talimogen laherparepwek (T-VEC) w zwalczaniu czerniaka. Jest to genetycznie zmodyfikowany, atenuowany (odczadliwiony) HSV z wprowadzoną sekwencją kodującą GM-CSF. T-VEC jest podawany w iniekcjach wprost do guza (w obrębie skóry), a także do węzłów chłonnych, gdzie są przerzuty. Mechanizm działania T-VEC jest złożony: T-VEC powoduje liżę komórek czerniaka i uwolnienie antygenów nowotworowych, a jednocześnie indukuje wytwarzanie GM-CSF o właściwościach immunostymulujących [35, 45].

Na uwagę zasługuje również eksperymentalna terapia z wykorzystaniem rekombinowanego atenuowanego wirusa polio (PVS-RIPO) u pacjentów z glejakiem [11]. PVS-RIPO wnika do komórek gospodarza przez selektywne połączenie się z receptorem poliowirusa CD155. Wysoką ekspresję tego receptora stwierdza się w wielu typach komórek nowotworowych [11, 20]. Na podstawie wyników badań klinicznych I fazy obejmujących 61 pacjentów z nawracającym glejakiem wielopostaciowym poddanych immunoterapii opartej na podaniu PVS-RIPO bezpośrednio do guza stwierdzono, że wskaźnik 2-letniego przeżycia u tych pacjentów wyniósł 21% [11]. Badania są kontynuowane [39].

PODSUMOWANIE

Układ immunologiczny dysponuje wieloma mechanizmami umożliwiającymi eliminowanie komórek nowotworowych. Modulowanie tej naturalnej przeciwnowotworowej odpowiedzi organizmu to niezwykle istotny kierunek we współczesnej onkologii. Wraz z postępem w zakresie technik inżynierii genetycznej, od początku drugiej dekady XXI w. obserwuje się dynamiczny rozwój metod immunoterapeutycznych w leczeniu pacjentów z różnymi typami nowotworów złośliwych – białaczek, chłoniaków, raków, a także czerniaka czy glejaka. Obecnie wiodące strategie w immuno-onkologii opierają się na stosowaniu przeciwciał monoklonalnych, w tym tzw. inhibitorów immunologicznych punktów kontroli. Poza tym, w oparciu o obiecujące wyniki badań klinicznych, coraz większe zainteresowanie budzą immunoterapie z wykorzystaniem szczepionek przeciwnowotworowych, wirusów onkolitycznych czy transferu adoptywnego komórek.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Augustyniak J., Sawicki K., Skrzypczak M., Kapka-Skrzypczak L.: Zastosowanie wirusów onkolitycznych w terapii przeciwnowotworowej. *Probl. Hig. Epidemiol.*, 2012; 93: 654–662
- [2] Bandy A.H., Jeelani S., Hruby V.J.: Cancer vaccine adjuvants-recent clinical progress and future perspectives. *Immunopharmacol. Immunotoxicol.*, 2015; 37: 1–11
- [3] Biagi E., Marin V., Attianese G.M., Pizzitola I., Tettamanti S., Criboli E., Biondi A.: New advances in leukaemia immunotherapy by the use of chimeric artificial antigen receptors (CARs): state of the art and perspectives for the near future. *Ital. J. Pediatr.*, 2011; 37: 46
- [4] Boross P., Leusen J.H.: Mechanisms of action of CD20 antibodies. *Am. J. Cancer Res.*, 2012; 2: 676–690
- [5] Brower V.: Approval of provenge seen as first step for cancer treatment vaccines. *J. Natl. Cancer Inst.*, 2010; 102: 1108–1110
- [6] Brown M.C., Dobrikova E.Y., Dobrikov M.I., Walton R.W., Gemberling S.L., Nair S.K., Desjardins A., Sampson J.H., Friedman H.S., Friedman A.H., Tyler D.S., Bigner D.D., Gromeier M.: Oncolytic polio virotherapy of cancer. *Cancer*, 2014; 120: 3277–3286
- [7] Brüggemann M., Osborn M.J., Ma B., Buelow R.: Strategies to ob-

tain diverse and specific human monoclonal antibodies from transgenic animals. *Transplantation*, 2017; 101: 1770–1776

[8] Cai H.H., Chen X.: Monoclonal antibodies for cancer therapy approved by FDA. *MOJ Immunol.*, 2016; 4: 00120

[9] Carvalho S., Levi-Schaffer F., Sela M., Yarden Y.: Immunotherapy of cancer: from monoclonal to oligoclonal cocktails of anti-cancer antibodies: IUPHAR Review 18. *Br. J. Pharmacol.*, 2016; 173: 1407–1424

[10] Chang Z.L., Chen Y.Y.: CARs: Synthetic immunoreceptors for cancer therapy and beyond. *Trends Mol. Med.*, 2017; 23: 430–450

[11] Desjardins A., Gromeier M., Herndon J.E., Beaubier N., Bolognesi D.P., Friedman A.H., Friedman H.S., McSherry F., Muscat A.M., Nair S., Peters K.B., Randazzo D., Sampson J.H., Vlahovic G., Harrison W.T., McLendon R.E., Ashley D., Bigner D.D.: Recurrent glioblastoma treated with recombinant poliovirus. *N. Engl. J. Med.*, 2018; 379: 150–161

[12] Dreno B., Thompson J.F., Smithers B.M., Santinami M., Jouary T., Gutzmer R., Levchenko E., Rutkowski P., Grob J.J., Korovin S., Drucis K., Grange F., Machel L., Hersey P., Krajsova I. i wsp.: MAGE-A3 immunotherapeutic as adjuvant therapy for patients with resected, MAGE-A3-positive, stage III melanoma (DERMA): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.*, 2018; 19: 916–929

[13] Dyck L., Mills K.H.: Immune checkpoints and their inhibition in cancer and infectious diseases. *Eur. J. Immunol.*, 2017; 47: 765–779

[14] Farkona S., Diamandis E.P., Blasutig I.M.: Cancer immunotherapy: the beginning of the end of cancer? *BMC Med.*, 2016; 14: 73

[15] Food and Drug Administration: FDA Approved Drug Products. [https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/\(18.01.2019\)](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/(18.01.2019))

[16] Food and Drug Administration: Novel drug approvals for 2016. <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/ucm483775.htm> (18.01.2019)

[17] Food and Drug Administration: Novel drug approvals for 2017. <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/ucm537040.htm> (18.01.2019)

[18] Food and Drug Administration: Novel drug approvals for 2018. <https://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/DrugInnovation/ucm592464.htm> (18.01.2019)

[19] Gao X., McDermott D.F.: Ipilimumab in combination with nivolumab for the treatment of renal cell carcinoma. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2018; 18: 947–957

[20] Goetz C., Gromeier M.: Preparing an oncolytic poliovirus recombinant for clinical application against glioblastoma multiforme. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2010; 21: 197–203

[21] Golubovskaya V., Wu L.: Different subsets of T cells, memory, effector functions, and CAR-T immunotherapy. *Cancers*, 2016; 8: E36

[22] Guo C., Manjili M.H., Subjeck J.R., Sarkar D., Fisher P.B., Wang X.Y.: Therapeutic cancer vaccines: past, present, and future. *Adv. Cancer Res.*, 2013; 119: 421–475

[23] Guo Z.S.: The 2018 Nobel Prize in medicine goes to cancer immunotherapy (editorial for BMC Cancer). *BMC Cancer*, 2018; 18: 1086

[24] Hastie E., Grdzlishvili V.Z.: Vesicular stomatitis virus as a flexible platform for oncolytic virotherapy against cancer. *J. Gen. Virol.*, 2012; 93: 2529–2545

[25] Jiang H., Gomez-Manzano C., Lang F.F., Alemany R., Fueyo J.: Oncolytic adenovirus: preclinical and clinical studies in patients with human malignant gliomas. *Curr. Gene Ther.*, 2009; 9: 422–427

[26] Kamta J., Chaar M., Ande A., Altomare D.A., Ait-Oudhia S.: Advancing cancer therapy with present and emerging immuno-oncology approaches. *Front. Oncol.*, 2017; 7: 64

[27] Karlitepe A., Ozalp O., Avci C.B.: New approaches for cancer immunotherapy. *Tumour Biol.*, 2015; 36: 4075–4078

[28] Khansari N., Bonab S.F.: Virotherapy with Newcastle disease virus for cancer treatment and its efficacy in clinical trials. *MOJ Immunol.*, 2017; 5: 00176

[29] Kyi C., Postow M.A.: Checkpoint blocking antibodies in cancer immunotherapy. *FEBS Lett.*, 2014; 588: 368–376

[30] Lichty B.D., Breitbach C.J., Stojdl D.F., Bell J.C.: Going viral with cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer*, 2014; 14: 559–567

[31] Liu S.Y., Wu Y.L.: An immunological storm for cancer therapy: 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine. *Sci. Bull.*, 2018; 63: 1608–1610

[32] Ma W., He H., Wang H.: Oncolytic herpes simplex virus and immunotherapy. *BMC Immunol.*, 2018; 19: 40

[33] Makkouk A., Weiner G.J.: Cancer immunotherapy and breaking immune tolerance. New approaches to an old challenge. *Cancer Res.*, 2015; 75: 5–10

[34] Marchini A., Bonifati S., Scott E.M., Angelova A.L., Rommelaere J.: Oncolytic parvoviruses: from basic virology to clinical applications. *Virol. J.*, 2015; 12: 6

[35] Marin-Acevedo J.A., Soyano A.E., Dholaria B., Knutson K.L., Lou Y.: Cancer immunotherapy beyond immune checkpoint inhibitors. *J. Hematol. Oncol.*, 2018; 11: 8

[36] National Cancer Institute: CAR T-cell therapy approved for some children and young adults with leukemia. <https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2017/tisagenlecleucel-fda-childhood-leukemia> (18.01.2019)

[37] National Cancer Institute: NCI Dictionary of Cancer Terms – oncolytic virus. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/oncolytic-virus?redirect=true> (18.01.2019)

[38] National Cancer Institute: NCI Drug Dictionary – GVAX pancreatic cancer vaccine. <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-drug/def/gvax-pancreatic-cancer-vaccine> (18.01.2019)

[39] National Cancer Institute: PVSRIPO with/without Lomustine. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/clinical-trials/search/v?id=NCI-2019-00002&r=1> (18.01.2019)

[40] Nobelprize.org: Press release: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2018. [https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/press-release/\(18.01.2019\)](https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/press-release/(18.01.2019))

[41] Papaioannou N.E., Beniata O.V., Vitsos P., Tsitsilonis O., Samara P.: Harnessing the immune system to improve cancer therapy. *Ann. Transl. Med.*, 2016; 4: 261

[42] Powroźnik B., Kubowicz P., Pękala E.: Przeciwciała monoklonalne w terapii celowanej. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2012; 66: 663–673

[43] Ramos C.A., Dotti G.: Chimeric antigen receptor (CAR)-engineered lymphocytes for cancer therapy. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2011; 11: 855–873

[44] Ribas A.: Tumor immunotherapy directed at PD-1. *N. Engl. J. Med.*, 2012; 366: 2517–2519

[45] Rutkowski P., Zdzenicki M.: Talimogen laherparepwek (T-VEC) – nowa terapia czerniaków skóry zmodyfikowanym genetycznie wirusem onkolitycznym. *Nowotwory J. Oncol.*, 2016; 66: 234–237

[46] Sadelain M., Brentjens R., Rivière I.: The basic principles of chimeric antigen receptor design. *Cancer Discov.*, 2013; 3: 388–398

[47] Schuster M., Nechansky A., Kircheis R.: Cancer immunotherapy. *Biotechnol. J.*, 2006; 1: 138–147

[48] Sharma P., Hu-Lieskovan S., Wargo J.A., Ribas A.: Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell*, 2017; 168: 707–723

[49] Sharma S.K., Bagshawe K.D.: Antibody directed enzyme pro-drug therapy (ADEPT): Trials and tribulations. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2017; 118: 2–7

- [50] Skoczyńska M., Wiland P.: Mechanizmy immunologiczne odpowiedzialne za działania niepożądane leków biologicznych. *Alerg. Astma Immun.*, 2018; 23: 14–23
- [51] Stańczak A., Szumilak M.: Proleki w terapii nowotworów. Część II. Strategie ADEPT i V/GDEPT. *Farm. Prz. Nauk.*, 2010; 5: 11–16
- [52] The American Cancer Society medical and editorial content team: What is cancer immunotherapy? <https://www.cancer.org/treatment/treatments-and-side-effects/treatment-types/immunotherapy/what-is-immunotherapy.html> (18.01.2019)
- [53] United States Adopted Names: Monoclonal antibodies. <https://www.ama-assn.org/about/united-states-adopted-names/monoclonal-antibodies> (18.01.2019)
- [54] Vinay D.S., Ryan E.P., Pawelec G., Talib W.H., Stagg J., Elkord E., Lichter T., Decker W.K., Whelan R.L., Kumara H.M., Signori E., Honoki K., Georgakilas A.G., Amin A., Helderich W.G., et al.: Immune evasion in cancer: mechanistic basis and therapeutic strategies. *Semin. Cancer Biol.*, 2015; 35: S185–S198
- [55] World Health Organization: Revised mAb nomenclature scheme. http://www.who.int/medicines/services/inn/Revised_mAb_nomenclature_scheme.pdf (19.01.2019)
- [56] Zamarin D., Palese P.: Oncolytic Newcastle disease virus for cancer therapy: old challenges and new directions. *Future Microbiol.*, 2012; 7: 347–367
- [57] Zhu Y., Choi S.H., Shah K.: Multifunctional receptor-targeting antibodies for cancer therapy. *Lancet Oncol.*, 2015; 16: e543–e554
-

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.