

Imunoterapie v onkologii – kongres CITIM 2017

Koncem dubna 2017 proběhl v Praze v pořadí již pátý mezinárodní Kongres onkologické imunoterapie a imunomonitoringu (CITIM), na kterém se sešlo z celého světa přes 200 odborníků zaměřených na výzkum v těchto oborech. Hlavním pořadatelem kongresu byl italský lékař dr. Luca Vannucci, současný ředitel Laboratoře imunoterapie Akademie věd České republiky.

Kongresy CITIM jsou organizovány každé dva roky. Odborníci z oboru onkologické imunoterapie se na nich informují o aktuálních výsledcích v základním výzkumu a klinické praxi. Letošního kongresu se zúčastnili přední světoví odborníci, například prof. Giorgio Trinchieri z amerického National Cancer Institute, prof. Ron Apte z Ben Gurionovy univerzity v Izraeli, prof. Viktor Umansky z Německého střediska pro onkologický výzkum v Heidelbergu. Kongres proběhl pod záštitou Italského velvyslanectví v Praze, Italského kulturního institutu v Praze a České imunologické společnosti.

Na kongresu zazněla celá řada zajímavých přednášek. Protože není možno referovat o každé z nich, pokusíme se v tomto článku v přehledu shrnout možnosti současné protinádorové imunoterapie s tím, že odkážeme na vybrané kongresové prezentace.

Protinádorová imunita a mechanismy jejího oslabení

V jedné z úvodních přednášek kongresu CITIM Rolf Kiesling z Karolinska Institutet (Stockholm) nastínil v obrysech problematiku protinádorové imunity a ovlivnění imunity zhoubným bujením.¹ Imunitní systém má podstatnou roli v protiinfekční i protinádorové obraně a řada mechanismů je společných. Nejvýznamnější roli hrají cytotoxické T-lymfocyty a NK buňky (natural killers). Nádorové tkáně však často disponují schopností protinádorové imunitě unikát („immune escape“).² Zásadním důvodem, proč mohou nádorové buňky této obraně uniknout a množit se, je jejich částečná strukturní podobnost normálním buňkám a řada mechanismů, s jejichž pomocí nádorové buňky mohou unikát imunitním mechanismům. Zde je příčina, proč protinádorová imunita není tak efektivní jako protiinfekční.

Imunitní systém je schopen kontrolovat růst nádorových buněk především v raných stádiích kancerogeneze; s růstem tumoru mohou být imunitní mechanismy paralyzovány, nicméně právě imunoterapie může některé z nich podpořit. Nebezpečnou snahu maligních tumorů uniknout kontrole imunitního systému usnadňuje např. vysoká variabilita struktur nádorových buněk a mutace, které vedou ke změně nádorových antigenů. K „přehlédnutí“ nádorových buněk imunitním systémem

může dojít i díky nízké hustotě exprese nádorových antigenů a snížené expresi molekul HLA (human leukocyte antigen) I. třídy. Dále může nádor produkovat cytokiny potlačující imunitní reakci, např. interleukin-10 a transformující růstový faktor beta (transforming growth factor beta, TGF- β), což může vést k inhibici výkonných imunitních buněk – dendritických buněk a efektorových T-lymfocytů. Buňky tumoru na svém povrchu mohou exprimovat apoptotický receptor FasL a indukovat tak apoptózu protinádorových T-lymfocytů. Nádorové mikroprostředí může indukovat i nadměrnou expresi tzv. inhibičních molekul na T-lymfocyttech (např. CTLA 4 nebo PD 1) a tím zabránit jejich cytotoxickému působení na nádorovou buňku. Aktivace těchto inhibičních molekul má za fyziologických okolností za úkol bránit vzniku autoimunity, ale jejich patologická aktivace u onkologických pacientů vede k oslabení protinádorové imunity, ale i účinnosti imunoterapie. Svou roli v této „ochraně“ nádorových buněk před T-lymfocyty, ale i NK buňkami hrají u některých onkologických onemocnění např. myelomonocyty, produkující prozánětlivé faktory.¹

Možnosti imunoterapie v léčbě onkologických onemocnění

V současné koncepci léčby onkologických onemocnění má imunoterapie své místo vedle ostatních metod léčby (chemoterapie, radioterapie, operace). Důležité je správné načasování jednotlivých typů terapie tak, aby se metody vzájemně svým působením doplňovaly.³

Principy protinádorové imunoterapie se dají rozdělit na antigenně nespecifické a specifické. Mezi antigenně nespecifické metody patří např. aplikace cytokinů (IL-2 v léčbě renálního karcinomu, interferon-alfa u některých hematologických malignit), nespecifická stimulace zánětu (použití BCG vakcíny lokálně u karcinomu močového měchýře), aplika-



Prof. Jiřina Bartůňková z Ústavu imunologie 2. LF UK v Praze



ce různých imunostimulačních látek, nejčastěji mikrobiálního původu (např. bakteriální lyzáty, vysokodávkovaný vitamin C). K omezením terapeutického využití cytokinů patří např. jejich toxicita v protinádorově účinné dávce a nevýhodná farmakokinetika. Zkoušejí se i tzv. imunocytokiny – fúzní proteiny mezi protilátkou a cytosinem, zkoušejí se aktivátory dendritických buněk, zejména analoga toll-like receptorů.⁴

K antigeně specifickým látkám patří monoklonální protilátky proti některým nádorovým antigenům, např. trastuzumab, monoklonální protilátka proti antigenu HER2/neu exprimovanému na buňkách karcinomu prsu. K dalším antigeně specifickým postupům patří např. expanze nádorově specifických lymfocytů *ex vivo*, obvykle získaných přímo z nádoru jako tzv. TIL (tumor infiltrující lymfocyty). Imunizace samotnou nádorovou buňkou nebo nádorovým antigenem je obvykle neúčinná a vyžaduje účinné adjuvans (tuto funkci mohou plnit např. dendritické buňky, které zajistí rozpoznání nádorové buňky, její zpracování a prezentaci T-lymfocytům).

K protinádorovým imunoterapeutickým přípravkům v různých fázích klinického zkoušení patří dále např. vakcíny na bázi rekombinantních virových vektorů, sloužících např. k exprimování genu pro prostatický specifický antigen (PSA) s následnou indukci cytotoxických T-lymfocytů proti buňkám karcinomu prostaty (tz. heterologní prime/boost strategie). K příkladům buněčné imunoterapie patří přípravek Sipuleucel T, užívaný u pacientů s metastatickým kastročně rezistentním karcinomem prostaty (metastatic castration resistant prostate cancer, mCRPC). Je vyráběn z autologních mononukleárů zahrnujících antigen prezentující buňky (APC) pacienta, získaných leukaferézou; tyto buňky jsou pak aktivované fúzním proteinem z GM-CSF (granulocyte macrophage colony stimulating factor) a prostatické kyselý fosfatázy (PAP). Takto zpracované buňky jsou podány zpět pacientovi s tím, že stimulují imunitní reakci proti PAP a tím i proti buňkám karcinomu prostaty.⁴

Další metodu specifické imunoterapie představuje aktivní buněčná imunoterapie. Příkladem může být imunoterapie na bázi dendritických buněk, kterou prezentovala na kongresu CITIM prof. Jiřina Bartůňková z Ústavu imunologie 2. LF UK v Praze.⁵ (Z přehledového článku této autorky⁴ přebíráme také některé informace k tématu protinádorové

imunologie). Jak uvedla prof. Bartůňková, dendritické buňky mají schopnost indukovat imunitní odpověď prostřednictvím aktivace cytotoxických T-lymfocytů, které představují nejdůležitější buňky protinádorové imunity. Metoda imunoterapie na bázi dendritických buněk spočívá v *ex vivo* kultivaci monocytů periferní krve, které byly od pacientů získány v průběhu leukaferézy, jejich laboratorní přeměnou na nezralé dendritické buňky a následné kultivaci s nádorovými antigeny. Po dalším zpracování jsou dendritické buňky jako protinádorová vakcína podány zpět pacientovi. S českým přípravkem tohoto typu probíhá klinické studie (včetně kombinace s chemoterapií) např. u pacientů s karcinomem prostaty.⁵

Rozdílný přístup než uvedená aktivní buněčná terapie představuje pasivní imunizace zaměřená na blokádu inhibičních molekul. O této problematice hovořil na kongresu CITIM dr. Robert Ferris (University of Pittsburgh Cancer Institute, USA).⁶ Jako tzv. inhibiční molekuly se označují molekuly exprimované na cytotoxických T-lymfocytech po aktivaci a sloužící za fyziologických podmínek k inhibici přehnané imunitní reakce, což umožňuje zabránit autoimunitnímu poškození (viz výše). Jde např. o molekuly CTLA 4, PD 1 a PD L1,2 (programmed cell death ligand 1,2). V mikroprostředí tumoru dochází často k akumulaci tzv. regulačních T-lymfocytů exprimujících tyto molekuly a k útlumu protinádorové imunitní reakce. Blokování inhibičních molekul monoklonálními protilátkami vede ke snížení aktivity regulačních lymfocytů a cytotoxické lymfocyty mohou pak plně fungovat v protinádorové imunitní reakci.

Mikrobiom má zásadní význam pro slizniční i systémovou imunitu a obranu proti vzniku chronického zánětu, který je rizikovým faktorem kancerogeneze (na vzniku 16 % onkologických chorob má podíl infekční agens, zvláště na kolorektálním karcinomu)

Jedním ze způsobů pasivní imunizace zaměřené na blokádu inhibičních molekul je terapie anti CTLA 4 pomocí ipilimumabu, monoklonální protilátky IgG1, která se selektivně váže na antigen CTLA 4 na povrchu T-lymfocytů. Zablokování CTLA4 vede k aktivaci cytotoxických T-lymfocytů a jejich zásahu proti nádorovým buňkám. Ipilimumab se osvědčil i v kombinaci s chemoterapií v klinických studiích u pacientů s melanomem, u nichž prodloužil dobu přežití. Podává se ve studiích u pacientů s karcinomem prostaty, ledvin a plic. Nežádoucí účinky ipilimumabu vyplývají z mechanismu účinku – nebezpečí rozvoje autoimunity (např. v oblasti endokrinních žláz či kůže). Dalším příkladem pasivní imunizace zaměřené na blokádu inhibičních molekul jsou monoklonální protilátky proti inhibiční molekule PD 1 na T-lymfocytech nebo proti jejímu ligandu PD L1,2 na nádorových buňkách. Protilátky anti PD 1 (nivolumab a pembrolizumab) se jeví jako účinné u pacientů s pokročilými solidními

nádory. Samostatnou skupinou léčiv jsou protilátky proti ligandu PD L1,2 na nádorových buňkách.⁴

Na kongresu CITIM byly diskutovány i výsledky výzkumu dalších možností imunoterapie. Příkladem byla přednáška, již přednesl americký lékař dr. Giorgio Trinchieri z Centra pro výzkum onkologických onemocnění Národního onkologického ústavu (Center for Cancer Research, National Cancer Institute, National Institute of Health, Bethesda, Maryland, USA).⁷ Hovořil o nádorovém bujení jako o onemocnění symbiontu/metaorganismu. Hovořil o zásadní roli, kterou hraje v lidské imunitě mikrobiom, který spolu s organismem tvoří vyšší celek – metaorganismus. Mikrobiom má zásadní význam pro slizniční i systémovou imunitu a obranu proti vzniku chronického zánětu, který je rizikovým faktorem kancerogeneze (na vzniku 16 % onkologických chorob má podíl infekční agens, zvláště na kolorektálním karcinomu). Jak ukazuje výzkum, poruchy mikrobiomu jsou rizikovým faktorem, který může přispívat k rozvoji řady patologických stavů, včetně vzniku a progresu onkologických onemocnění a imunitních poruch, jež umožňují jejich šíření v organismu. Význačnou roli v tomto procesu hraje rozvoj zánětlivých změn. Mikrobiom také hraje roli v odezvě onkologických pacientů na chemoterapii a imunoterapii. Hlavní komponentou nádorového mikroprostředí jsou myeloidní buňky, které hrají ambivalentní roli – působí jak v protinádorové imunitě, tak v šíření metastáz. Tyto buňky reagují na signály přicházející z mikrobiomu. Vhodné zásahy do mikrobiomu (např. probiotiky) tak mohou prospěšně ovlivnit protinádorovou imunitu a tím i úspěch terapie.

Příspěvky našich autorů

V této souvislosti je možno zmínit dvě práce českých autorů (prof. Pavel Klener et al.), prezentované na kongresu CITIM. První z nich⁸ se zabývala významem probiotik, vysokodávkovaného vitamínu C, glutathionu a dalších látek jako komplementární terapie u onkologicky nemocných. Jak bylo uvedeno, probiotika svým působením na mikrobiom ovlivňují příznivě protinádorovou imunitu. Vysokodávkovaný vitamin C a glutathion jsou významná antioxidanta, přispívající k ochraně zdravých buněk (včetně imunitních) před nežádoucími účinky chemo- a radioterapie. Jak bylo uvedeno, pro protinádorovou imunitu je důležité fyziologické složení mikrobiomu; podávání probiotik může pomoci nastolit normalizaci narušeného mikrobiomu a tím imunitu podpořit. Další významnou imunomodulační látkou je vitamin C; podporuje protinádorovou imunitu řadou mechanismů. Jde např. o zvýšení exprese MHC I. třídy na nádorových buňkách. Jedním ze způsobů obrany nádorových buněk před napadením T-cytotoxickými lymfocyty je potlačení povrchové exprese MHC I. třídy. Vitamin C tím, že zvyšuje expresi tohoto komplexu na povrchu nádorových buněk, zvyšuje jejich rozpoznatelnost pro cytotoxické T-lymfocyty a umožňuje tak jejich protinádorové působení.⁹ Dalším mechanismem podpory protinádorové imunity vitamínem C je potlačení produkce IL-18, cytokinu, který je některými nádorovými buňkami zvýšeně produkován, což snižuje jejich postizitelnost imunitním systémem.¹⁰ Potlačení produkce IL-18 vitamínem C zvyšuje účinnost protinádorové imunity.¹¹ Vitamin C podporuje protinádorovou imunitu v její humorální i buněčné složce.^{12,13} Zlepšuje funkci lymfocytů, aktivitu fagocytů,¹⁵ posiluje proliferaci a funkci NK buněk,^{14,16} například podporou produkce interferonu gamma.¹⁹ V další práci¹⁷ prezentoval na kongresu CITIM český autorský kolektiv klinické zkušenosti s uvedenou komplementární léčbou u 928 onkologicky nemocných. Výsledky ukázaly, že podávání této doplňkové léčby (probiotik, infuzně podávaného vysokodávkovaného vitamínu C, glu-

tathionu a dalších látek) výrazně zlepšilo kvalitu života pacientů (k hodnocení byl použit ECOG performance status).

Závěr

Stav imunitního systému hraje rozhodující roli v obraně organismu proti vzniku a rozvoji nádorového bujení. Podpora protinádorové imunity má mimořádný význam v prevenci i léčbě onkologických onemocnění. Její role je však komplikována faktem, že tumory uplatňují řadu mechanismů, jejichž prostřednictvím mohou působení imunity uniknout. Tím větší význam má racionální imunoterapie, která se v současnosti stává součástí komplexní léčby řady onkologických onemocnění. Probíhají klinické studie, které upřesňují různé způsoby podpory protinádorové imunity, možnosti léčebných kombinací a optimálního načasování imunoterapie. Na řadu možností podpory protinádorové imunity upozornily přednášky prezentované na kongresu CITIM, jehož pátý ročník proběhl v roce 2017 v Praze.

MUDr. Pavel Kostiuk, CSc., PharmDr. Lucie Kotlářová, Edukafarm, Praha
MUDr. Lucca Vannucci, Ph.D., Laboratoř imunoterapie, Mikrob. ústav AV ČR

Literatura

1. Kiesling R. Counteracting tumor induced immunosuppression. 5th International conference Cancer immunotherapy and immunomonitoring (CITIM). Abstracts, Praha, 2017:31.
2. Igney FH, et al. Immune escape of tumors: apoptosis resistance and tumor counterattack. *J Leukoc Biol* 2002; 6: 907–920.
3. Bevravand Nejad E, et al. The importance of correctly timing cancer immunotherapy. *Expert Opin Biol Ther* 2017;17:87–103.
4. Bartůňková J, et al. Imunoterapie v léčbě nádorových onemocnění. *Remedia* 2015;25: 34–38.
5. Bartůňková J. Cell-based immunotherapy for solid tumors. 5th International conference Cancer immunotherapy and immunomonitoring (CITIM). Abstracts, Praha, 2017:36.
6. Ferris R. Novel immunotherapeutic strategies and combinations to overcome immune escape in head and neck cancer. 5th International conference Cancer immunotherapy and immunomonitoring (CITIM). Abstracts, Praha, 2017:31.
7. Trinchieri G. Cancer as disease of the symbiont/metaorganism. 5th International conference Cancer immunotherapy and immunomonitoring (CITIM). Abstracts, Praha, 2017:31.
8. Klener P, et al. Pharmacologically adjuvant compounds in oncology. 5th International conference Cancer immunotherapy and immunomonitoring (CITIM). Abstracts, Praha, 2017:78.
9. Yu Y, et al. The anti-tumor activity of vitamin C via the increase of Fas (CD95) and MHC I expression on human stomach cancer cell line SNU1. *Immune Netw* 2011;11:210–5.
10. Kang JS, et al. Interleukin-18 increases metastasis and immune escape of stomach cancer via the downregulation of CD70 and maintenance of CD44. *Carcinogenesis* 2009;30:1987–96.
11. Lee WJ. The prospects of vitamin C in cancer therapy. *Immune Netw* 2009;9: 147–152.
12. Lewin S. Vitamin C. Its molecular biology and medical potential. New York: Academic Press;1976.
13. D. Holmannová, et al. Fyziologická úloha vitamínu C ve vztahu ke složkám imunitního systému. *Vnitř Lek* 2012;58:743–749.
14. Goetzl EJ, et al. Enhancement of random migration and chemotactic response of human leukocytes by ascorbic acid. *J Clin Invest* 1974;53:813–8.
15. Wintergerst ES, et al. Immune-enhancing role of vitamin C and zinc and effect on clinical conditions. *Ann Nutr Metab* 2006; 50: 85–94.
16. Dahl H, et al. The effect of ascorbic acid on production of human interferon and the antiviral activity in vitro. *Acta Pathol Scand Sect B* 1976;84:280–4.
17. Klener P, et al. Adjuvant usage of parenteral infusions of vitamin C, glutathion and other substances in oncologic patients at InPharm Clinic. 5th International conference Cancer immunotherapy and immunomonitoring (CITIM). Abstracts, Praha, 2017:77.