

KOMBINACIJA ZAVIRALCEV IMUNSKIH KONTROLNIH TOČK Z RADIOTERAPIJO, KEMOTERAPIJO IN TARČNIM ZDRAVLJENJEM

COMBINING IMMUNE CHECKPOINT INHIBITORS WITH CHEMOTHERAPY, RADIOTHERAPY AND TARGETED THERAPY

AVTOR / AUTHOR:

Znan. sod. dr. Maša Bošnjak, mag. farm.
Prof. dr. Maja Čemažar, univ. dipl. biol.
Prof. dr. Gregor Serša, univ. dipl. biol.

*Onkološki inštitut Ljubljana,
Oddelek za eksperimentalno onkologijo,
Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana*

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: mbošnjak@onko-i.si

POVZETEK

V zadnjih letih je imunoterapija z razvojem zaviralcev imunskih kontrolnih točk postala eden izmed pomembnih načinov sistemskega zdravljenja različnih vrst raka. Kljub temu, da so zaviralci imunskih kontrolnih točk izkazali znaten klinični učinek pri bolnikih z napredovalimi oblikami raka, delež bolnikov, ki se odzovejo na terapijo ostaja majhen, prav tako le določen delež bolnikov doseže dolgotrajen odgovor. Da bi zaobšli ti dve ključni omejitvi, poleg kombinacije različnih zaviralcev imunskih kontrolnih točk veliko raziskav proučuje kombinacijo le-teh s klasično kemoterapijo, radioterapijo in tarčnimi zdravili. Kot pri številnih drugih terapijah pa tudi pri imunoterapiji vse bolj postaja pomemben individualiziran pristop. V tem prispevku bomo predstavili izsledke raziskav kombinacije zaviralcev imunskih kontrolnih točk z radioterapijo, kemoterapijo in tarčnim zdravljenjem.

KLJUČNE BESEDE:

kemoterapija, radioterapija, tarčno zdravljenje, zaviralci imunskih kontrolnih točk

ABSTRACT

Due to the development of immune checkpoint inhibitors in recent years, immunotherapy has become one of the important therapeutic strategies in the systemic treatment of various types of cancer. Although immune checkpoint inhibitors have shown significant clinical effects in patients with advanced cancer, the number of patients who respond to therapy remains low, and only a small proportion of patients achieve a long-term response. To overcome these two key limitations, in addition to immune checkpoint inhibitors combination, many studies focus on combination of immune checkpoint inhibitors with systemic chemotherapy, radiotherapy and target therapy. Like in many other therapeutic approaches, a personalized approach is becoming increasingly important also in immunotherapy. In this paper, the results of studies combining immune checkpoint inhibitors with radiotherapy, chemotherapy and targeted treatment will be presented.

KEY WORDS:

chemotherapy, immune checkpoint inhibitors, radiotherapy, targeted therapy

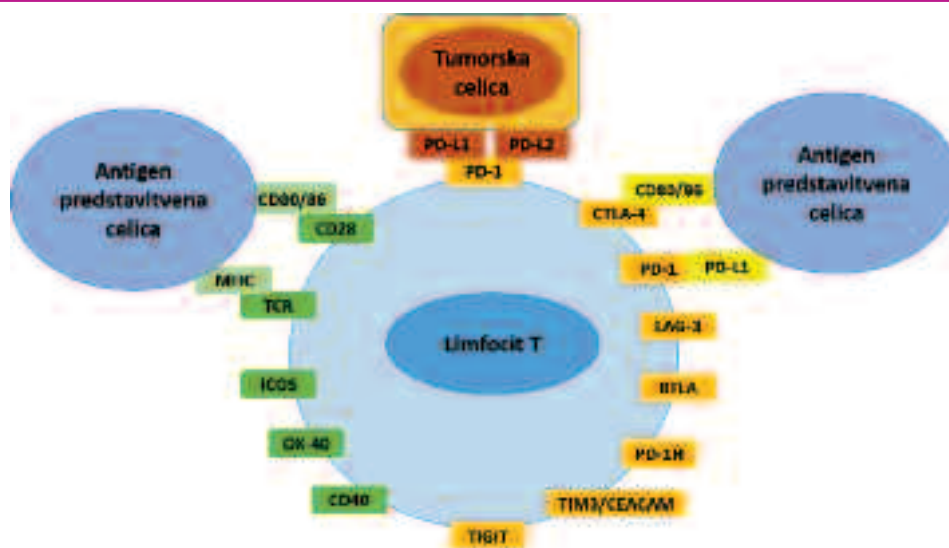


1 UVOD

V zadnjih letih je imunoterapija postala eden izmed pomembnih načinov sistemskega zdravljenja raka. **Zaviralci imunskih kontrolnih točk** (CPI, *immune checkpoint inhibitors*) so se izkazali za učinkovito obliko zdravljenja številnih vrst raka (1). To so prepoznali tudi na Karolinskem inštitutu in Nobelovo nagrado za fiziologijo in medicino za leto 2018 dodelil Jamesu P. Allisonu in Tasuku Honju. Allison iz Centra MD Anderson v Teksasu je preko proučevanja funkcij proteina CTLA-4, ki deluje kot zavora imunskega odziva, odkril potencial odstranitve te zavore, njegov kolega iz Japonske, Honjo, pa je proučeval drug protein na imunskih celicah, PD-1, ki ima enako funkcijo kot CTLA-4. Oba sta neodvisno pokazala, da zaviralci CTLA-4 in PD-1 odpravijo inhibicijo imunskega odziva.

V procesu nastanka in napredovanja raka ima imunski sistem ključno vlogo: tumorsko celico mora prepoznati in odstraniti. Celice, ki se jim uspe temu izogniti, se lahko zaradi velikega prilagoditvenega potenciala vseskozi spreminjajo ter vplivajo na delovanje imunskega sistema. Proces preureditve delovanja imunskega sistema med razvojem tumorjev imenujemo imunsko preurejanje in ga v grobem delimo na tri faze: eliminacijo, ravnovesje in imunski pobeg (1).

V fazi eliminacije imunski odziv skrbi za uspešno prepoznavanje tumorskih celic in njihovo odstranitev. Vnetni citokini, ki se sprostijo iz tumorskih celic, makrofagov in celic strome, aktivirajo številne celice prirojenega imunskega sistema, kot so naravne celice ubijalke (NK, *natural killer cells*) in naravne celice ubijalke T (NKT, *natural killer T cells*). NK, NKT in makrofagi v tumorju začnejo proizvajati interferon (IFN) gama in interleukin 12, ki spodbujata določene celice imunskega sistema in ubijata tumorske celice (1). V fazi ravnovesja imunski sistem še vedno nadzira razraščanje tumorja, vendar ne zmore več zmanjševati tumorske mase.



Slika 1: Shematičen prikaz kostimulatornih (zelene) in koinhibitornih (oranžne) molekul, ki se izražajo na limfocitih T, ter prikaz nekaterih molekul na tumorskih oz. antigen predstavitvenih celicah, ki se na te molekule vežejo. CTLA-4, *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*; PD-1, *programmed cell death protein-1*; PD-L1/L2, *programmed cell death-ligand 1/ligand 2*; LAG-3, *lymphocyte activation gene-3*; BTLA, *B and T lymphocyte attenuator*; PD-1H, *programmed death-1 homolog*; TIM-3, *T-cell immunoglobulin*; CEACAM1, *carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1*; TIGIT, *T cell immunoglobulin and immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif domain*; MHC, *major histocompatibility complex*; TCR, *T cell receptor*.

Figure 1: Schematic presentation of costimulatory (green) and coinhibitory (orange) molecules expressed on T cells, and of some molecules on tumor and antigen presenting cells that bind to costimulatory or coinhibitory molecules. CTLA-4, *cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*; PD-1, *programmed cell death protein-1*; PD-L1/L2, *programmed cell death-ligand 1/ligand 2*; LAG-3, *lymphocyte activation gene-3*; BTLA, *B and T lymphocyte attenuator*; PD-1H, *programmed death-1 homolog*; TIM-3, *T-cell immunoglobulin*; CEACAM1, *carcinoembryonic antigen cell adhesion molecule 1*; TIGIT, *T cell immunoglobulin and immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif domain*; MHC, *major histocompatibility complex*; TCR, *T cell receptor*.

V fazi imunskega pobega pa imunski sistem ne zmore več nadzorovati razvoja tumorja, tumor lahko nemoteno raste in metastazira v druge dele telesa.

2 DELOVANJE ZAVIRALCEV IMUNSKIH KONTROLNIH TOČK IN NJIHOVA UPORABA PRI ZDRAVLJENJU RAKA

Kontrolne točke imunskega sistema skrbijo za natančno uravnavanje spodbujanja in zaviranja imunskega sistema. Zaznava antigena še ne zadostuje za aktivacijo limfocitov T. Aktivacijo limfocitov T namreč uravnavajo številne molekule na njihovi površini, ki so kostimulatorne ali koinhibitorne. Prva taka opisana molekula je bil kostimulatorni receptor CD28 na površini naivnih limfocitov T, ki ob vezavi ligandov CD80/86, prisotnih na površini antigen predstavljene celice (APC), vodi v aktivacijo limfocitov T. Aktivirani limfociti T so CD4⁺ in CD8⁺ ter regulatorni limfociti T (Treg), ki poleg CD28 na svoji površini izražajo tudi koinhibitorni receptor CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4*), ki ima večjo afiniteto do proteinov CD80/86 kot CD28 in tako preprečuje preobsežno aktivacijo imunskega sistema. Na efektorskih limfocitih T, CD4⁺ (celice T pomagalke) in CD8⁺ (celice T ubijalke), vezava s CTLA-4 povzroči zaustavitev celičnega cikla, na Treg pa ojača njihovo imunosupresivno delovanje (2).

Kljub temu, da so klinično raziskavo faze I z agonistom CD28 (TGN1412) zaradi hudih neželenih učinkov predčasno prekinili, potekajo predklinične in klinične raziskave z učinkovinami, ki povečajo delovanje drugih kostimulatornih molekul, kot so OX-40, ICOS, CD137 idr. (2-4).

Druga pot ojačanja imunskega odziva je zaviranje koinhibitornih molekul, katerih število je pri mnogih vrstah raka povečano. Preboj v imunoterapiji raka je pomenil ipilimumab, humano monoklonsko protiteleso, ki cilja CTLA-4. Sledila so protitelesa proti PD-1 (*programmed cell death protein 1*) in njegovemu ligandu PD-L1 (slika 1). Z inhibicijo teh molekul se znova poveča imunska aktivnost organizma proti rakavim celicam (2).

Allison in sodelavci so prvi dokazali, da blokada CTLA-4 z monoklonskimi protitelesi povzroči zmanjšanje mišjih tumorjev (5). Izsledki klinične raziskave so pokazali, da ipilimumab poveča delež preživelih bolnikov z metastatskim melanomom za približno 10 %. Tako je ipilimumab postal prva učinkovina iz skupine CPI z dovoljenjem za promet za zdravljenje metastatskega melanoma. Kljub doprinosu

k preživetju pa je zdravljenje z ipilimumabom povezano z močnim izražanjem neželenih učinkov. Kar 60 % bolnikov prizadene eden izmed imunsko pogojenih neželenih učinkov, ki so najpogosteje gastrointestinalni, lahko pa se izražajo tudi na koži, jetrih, pljučih in še drugod.

Honjo s sodelavci je dokazal, da je izražanje PD-1 povečano na aktiviranih limfocitih T in B in makrofagih. Aktivirani PD-1 zavira delovanje limfocitov T in s tem imunskega sistema, saj spodbuja apoptozo antigen specifičnih celic T in zavira apoptozo Treg (1). PD-1 ima dva liganda, PD-L1 in PD-L2. Njuno izražanje je povečano na APC in tumorskih celicah. To še posebej velja za PD-L1, katerega izražanje je povečano na tumorskih celicah številnih vrst raka. Izražanje PD-L2 je bolj omejeno, predvsem na dendritične celice (DC) in le nekatere vrste raka (6). Klinične raziskave so potrdile učinkovitost terapije z zaviralci PD-1 za zdravljenje melanoma, karcinoma ledvic in nedrobnoceličnega pljučnega karcinoma (NSCLC). Neželeni učinki terapije so blagi, sistemska toksičnost pa nizka, kar kaže na bolj specifično ciljanje tumorskih celic z zaviralci PD-1 in PD-L1 kot zaviralci CTLA-4.

CPI, ki imajo v Sloveniji dovoljenje za promet z zdravilom, in njihove odobrene indikacije so navedeni v preglednici 1.

3 ZAKAJ JE ZAVIRALCE IMUNSKIH KONTROLNIH TOČK SMISELNO KOMBINIRATI Z DRUGIMI OBLIKAMI ZDRAVLJENJA?

Odgovor je preprost: ker je potrebno dodatno spodbuditi imunski sistem po odstranitvi zavor s CPI. S kombiniranjem terapij lahko povečamo imunogenost tumorja preko večje izpostavitve tumorskih (neo)antigenov, povečane kemo-takse, lažjega dostopa imunskih celic v sam tumor idr. (7, 8). Kljub temu, da so CPI izkazali znaten klinični učinek pri bolnikih z napredovalimi oblikami raka, delež bolnikov, ki se odzovejo na terapijo, ostaja majhen (9). Prav tako le določen delež bolnikov doseže dolgotrajen odgovor. Ta dva pojavi lahko pripišemo **primarni** in **sekundarni** rezistenci, ki sta posledici zapletenih interakcij med imunskimi celicami, celicami strome in tumorskimi celicami, ki skupaj tvorijo tumorsko mikrookolje (TMO) (10).

Primarna rezistenca na CPI nastane zaradi odsotnosti funkcionalnega imunskega sistema v tumorjih nizke imunogenosti. Ti imajo po navadi **nizko mutacijsko breme**, v nasprotju z njimi pa se tumorji z visokim mutacijskim bre-



Preglednica 1: CPI z dovoljenjem za promet z zdravilom s pripadajočimi indikacijami.

Table 1: CPI with obtained marketing authorization and indications.

Imunske kontrolne točke	Prisotnost	Ime učinkovine in zdravila	Indikacije
CTLA-4	Aktivirani CD4 ⁺ T limfociti Aktivirani CD8 ⁺ T limfociti Treg	ipilimumab Yervoy®	mM
PD-1	Aktivirani limfociti T Tumor-infiltrirajoči limfociti Treg Limfociti B NK	pembrolizumab Keytruda®	mM 1. linija zdravljenja mNSCLC, z najmanj 50-odstotno izraženostjo PD-L1, a odsotnostjo tumorskih mutacij EGRF/ALK v kombinaciji s pemetreksedom in KT na osnovi platine indicirano za prvo linijo zdravljenja metastatskega neploščatoceličnega NSCLC pri odraslih, z odsotnostjo tumorskih mutacij EGRF/ALK 2. linija zdravljenja napredovalega ali metastatskega NSCLC, z najmanj 1-odstotno izraženostjo PD-L1, po predhodni KT ponovljeni ali neodzivni klasični Hodgkinov limfom, kjer avtologna presaditev matičnih celic in zdravljenje z brentuksimabom vedotinom (BV) nista bila uspešna, oz. za zdravljenje odraslih bolnikov, ki za presaditev niso primerni, zdravljenje z BV pa pri njih ni bilo uspešno pri odraslih, predhodno zdravljenih s KT, ki je vključevala platino lokalno napredovali ali metastatski urotelijski karcinom pri odraslih, predhodno zdravljenih s KT, ki je vključevala platino lokalno napredovali ali metastatski urotelijski karcinom pri bolnikih, ki niso primerni za zdravljenje s KT, ki vsebuje cisplatin, in imajo tumorje z najmanj 10-odstotno izraženostjo PD-L1 ponovljeni ali metastatski HNSCC, z najmanj 50-odstotno izraženostjo PD-L1, ko je bolezen napredovala med zdravljenjem ali po zdravljenju s KT, ki je vključevala platino

		nivolumab Opdivo®	mM adjuvantno zdravljenje odraslih z melanomom, ki se je razširil na bezgavke, ali z metastatsko boleznijo po popolni kirurški odstranitvi ledvični karcinom po predhodnem zdravljenju 2. linija zdravljenja metastatskega ali napredovalega NSCLC po predhodni KT ponovljeni ali neodzivni klasični Hodgkinov limfom, kjer avtologna presaditev matičnih celic in zdravljenje z BV nista bila uspešna, in odraslih bolnikov, ki za presaditev niso primerni, zdravljenje z BV pa pri njih ni bilo uspešno ponovljeni ali metastatski HNSCC, pri katerih je bolezen napredovala med zdravljenjem ali po zdravljenju na osnovi platine lokalno napredovali, neoperabilni ali metastatski urotelijski karcinom, po neuspešnem predhodnem zdravljenju, ki je vključevalo platino
PD-L1PD-L2	Tumorske celice APC Supresorske celice mieloidnega izvora (MDSC)	atezolizumab Tecentriq®	2. linija zdravljenja metastatskega ali napredovalega NSCLC po predhodni KT.; bolniki, ki imajo EGFR/ALK tumorske mutacije morajo pred uvedbo atezolizumaba prejeti tudi tarčno zdravljenje napredovali ali metastatski urotelijski karcinom, po neuspešnem predhodnem zdravljenju, ki je vključevalo platino napredovali ali metastatski urotelijski karcinom, z več kot 5-odstotno izraženostjo PD-L1, ki ni primeren za zdravljenje s cisplatinom
		avelumab Bavencio®	karcinom Merklvih celic
		durvalumab Imfinzi®	napredovali NSCLC z najmanj 1-odstotno izraženostjo PD-L1, ki po KT na osnovi platine, ni napredoval
CTLA-4 in PD-1		kombinacija ipilimumaba in nivolumaba	mM

mM - metastatski melanom; mNSCLC – metastatski nedrobnocelični karcinom pljuč; KT – kemoterapija; HNSCC ploščatocelični karcinom glave in vratu

menom (melanom in NSCLC) načeloma dobro odzovejo na terapijo s CPI. Poleg tega je primarna rezistenca povezana z **nizko infiltracijo imunskih celic v tumorju**, zaradi oslabiljenega privabljanja tumor infiltrirajočih limfocitov T ali zaradi fizikalne bariere, ki jo predstavlja TMO. DC so v tumorju nujno potrebne za zagotavljanje imunogenosti tumorja. Prav tako so za delovanje CPI v tumorju pomembni tudi **efektorski limfociti T**. Primarna rezistenca na CPI je pogojena tudi z **visoko zastopanostjo inhibitornih imunskih celic**, kot so Treg, TAM (*tumor associated macrophages*) in supresorske celice mieloidnega izvora, ki nadvladajo protitumorsko delovanje limfocitov T v tumorju (10).

Sekundarna rezistenca je pojav, ki nastane po tem, ko se tumor prvotno odzove na terapijo s CPI. Najpogosteje nastane sekundarna rezistenca zaradi nezadostne **predstavitve antigena** na tumorskih celicah ob napredovanju bolezni ali pa zaradi mutacij v mehanizmih procesiranja in predstavitve tumorskega antigena CD8⁺ T limfocitom. Dodatno se lahko pojavi tudi zaradi mutacije same oz. zaradi utišanja/prenehanja izražanja tumorskega antigena. Zaradi mutacij lahko pride tudi do **rezistence na imunske efektorske citokine**, do **prevlade protumorskih signalov** nad protitumorskimi in izražanja dodatnih **koinhibitornih molekul PD-L1, LAG-3 in TIM-3**, ki dodatno prispevajo k inaktivaciji limfocitov T (10).

Da bi dosegli večji delež odgovorov na zdravljenje s CPI in prešli primarno ter sekundarno rezistenco, je smiselno CPI kombinirati s klasičnimi protitumorskimi terapijami in drugimi oblikami imunoterapije. Tako intenzivno proučujejo možnosti kombiniranja CPI med seboj (CTLA-4 in PD-1/PD-L1), s konvencionalnim zdravljenjem (kemoterapija, radioterapija), s kostimulatornimi molekulami (OX-40) (4), z različnimi tumorskimi vakcinami (DC vaccine), onkolitičnimi virusi idr.

4 ZAVIRALCI IMUNSKIH KONTROLNIH TOČK V KOMBINACIJI Z RADIOTERAPIJO, KEMOTERAPIJO IN TARČNIM ZDRAVLJENJEM

Tako radioterapija kot nekatere vrste kemoterapije lahko povzročijo **imunogeno celično smrt**. To je izraz za imunogeno obliko apoptoze rakavih celic, pri kateri umirajoče celice v okolico sprostitjo molekule DAMP (*damage associated molecular pattern*). Med najpomembnejše molekule

DAMP uvrščamo površinsko izpostavljen kalretikulin, molekule ATP in protein HMGB1 (*high mobility group protein B1*) (11). DAMP privabijo in stimulirajo celice prirojenega imunskega sistema, ki fagocitirajo ostanke celic in predstavijo antigene tumor specifičnim limfocitom T.

Kombinacija z radioterapijo

Radioterapija lahko preko različnih mehanizmov:

- poveča imunogenost tumorja (povečano izražanje tumorskih antigenov, procesiranje antigenov, ekspresija molekul MHC in kostimulatornih signalov),
- preide imunosupresivno delovanje TMO (poveča izražanje imunostimulatornih citokinov),
- v tumor privabi APC in efektorske celice (8).

Ena izmed najboljše proučenih signalnih poti je z radioterapijo inducirana signalna pot cGAS-STING, ki preko IFN tipa I aktivira imunski odziv. V tej kaskadni reakciji cGAS zazna prisotnost DNA v citosolu, kjer se ta normalno ne nahaja. Ob vezavi DNA cGAS katalizira reakcijo biosinteze 2'3'-cGAMP, ta pa se nato veže na STING in povzroči njegovo oligomerizacijo ter translokacijo z endoplazemskega retikuluma v okolico jedra. Tam forsforilira interferon regulirajoči faktor 3 (IRF3), ki se translocira v jedro in sproži nastajanje IFN tipa I (12). Številne predklinične raziskave so potrdile, da kombinacija radioterapije s CPI privede do specifičnega protitumorskega odziva. Večina prikazov primerov bolnikov in majhnih nerandomiziranih raziskav je pokazala varnost in učinkovitost kombinacije brez povečane sistemske toksičnosti. Pri napredovali in metastatski bolezni kombinacija lahko poveča protitumorski imunski odgovor, ki zdravi obstoječe metastaze in preprečuje nastanek novih (8). V primeru stadija III NSCLC so pokazali, da dodatek durvalumaba po radio-kemoterapiji podaljša preživetje brez ponovitve bolezni v primerjavi s placebom za približno 11 mesecev (13). Nekatere raziskave pa so pokazale tudi negativne učinke obsevanja: povečalo se je število inhibitornih imunskih celic v TMO ali izražanje imunosupresivnih molekul, kot je transformirajoči rastni faktor beta (TGFβ). Neskladje izidov raziskav se da razložiti z različnimi režimi obsevanja. To je na predkliničnem modelu dokazala Demaria s sodelavci, ki je pokazala sinergistični učinek kombinacije zaviralca CTLA-4 s frakcioniranim obsevanjem z majhnim odmerkom, v nasprotju z enkratnim obsevanjem z velikim odmerkom. Majhni odmerki povzročijo lokalno izražanje IFN in posledično aktivirajo DC, medtem ko veliki odmerki sprožijo pot, ki razgrajuje DNA v citosolu in s tem prepreči aktivacijo imunskega sistema (10). Pomembno se je zavedati, da je kombinacija CPI in radioterapije lahko tudi dvorezen meč, ko gre za uravnavanje

tumorske imunosti; lahko deluje imunostimulatorno ali pa imunosupresivno (14). Zato je na podlagi dostopnih podatkov v klinični praksi potrebno dobro načrtovati kombinirano terapijo: (i) katere bolnike in s katero obliko bolezni je smiselno zdraviti s kombinirano terapijo, (ii) kakšen je režim radioterapije, (iii) kateri CPI izberemo in (iv) kakšno sosledje je najprimernejše za kombinirano terapijo. Za pridobitev bolj jasnih odgovorov je potrebno oblikovati izpopolnjen protokol randomizirane klinične raziskave kombinacije terapije CPI z radioterapijo in brez nje, ki bo pokazala, ali ima radioterapija klinično pomembno korist kot komplementarna terapija zdravljenju s CPI.

Kombinacija s kemoterapijo

Določeni citostatiki lahko preko različnih mehanizmov spodbudijo delovanje imunskega sistema. Najbolje raziskan in opisan mehanizem je indukcija imunogene celične smrti (15), ki jo sprožijo **ciklofosamid, antraciklini in oksaliplatin** (15, 16). **Cisplatin** in **karboplatin** lahko zmanjšata število PD-L2 na DC in tumorskih celicah in tako povečata aktivacijo limfocitov T. **Docetaksel** lahko privede do selektivnega zmanjšanja števila Treg (17).

Dve klinični raziskavi sta potrdili koristne učinke kombinacije dakarbazina, standardne kemoterapije za metastatski melanom, z **ipilimumabom**. Prva je dokazala, da več bolnikov odgovori na imunoterapijo v kombinaciji z dakarbazinom (14,3 %) kot na monoterapijo z ipilimumabom (5,4 %) (18). Druga klinična raziskava pa je proučevala celokupno preživetje, ki je bilo v prid kombinirane terapije (11,2 meseca) v primerjavi z dakarbazinom (9,1 mesec). Vendar pa je v drugi raziskavi močno poraslo število imunsko pogojenih neželenih učinkov (18).

Oktobra 2018 je FDA odobrila **pembrolizumab** v kombinaciji s karboplatinom in paklitakselom (ali nab-paklitakselom) kot prvo linijo zdravljenja ploščatoceličnega NSCLC, neodvisno od izražanja PD-L1. Odobritev so podali na podlagi klinične raziskave faze III (KEYNOTE-407), ki je pokazala značilen učinek na celokupno preživetje bolnikov.

V kliničnih raziskavah je tudi **nivolumab** (relativni celokupni odziv (ORR) 23 %) v kombinaciji gemcitabin-cisplatin (33 %), pemetreksat-cisplatin (47 %), paklitaksel-karboplatin (43 %) izkazal večji ORR. Prav tako je večji ORR v kombinaciji karboplatin-paklitaksel (36 %), karboplatin-pemetreksat (68 %), karboplatin-*nab*-paklitaksel (46 %) izkazal **atezolizumab** (ORR 26 %). V kombinaciji karboplatin-*nab*-paklitaksel so dosegli celo štiri popolne odgovore na zdravljenje. Žal pa je v vseh skupinah poraslo tudi število resnih neželenih učinkov, vključno s smrtnimi primeri (17).

Te ugotovitve kažejo na sinergijo med citotoksično kemoterapijo in CPI (slika 2). Preliminarne klinične raziskave nakazujejo prednosti kombinirane terapije v primerjavi z monoterapijami. Kljub temu pa znanje o odmerkih, frekvenci in najbolj učinkovitem citostatiku ostaja pomanjkljivo in prav zato so potrebne nadaljnje raziskave.

Kombinacija s tarčnim zdravljenjem

Klinični podatki kažejo, da se pri bolnikih z melanomom, ki so na terapiji z zaviralci BRAF, pojavi imunski pobeg v približno 14 dneh po začetku terapije. Tako so raziskovalci prišli na idejo, da bi kombinacija s CPI lahko delovala sinergistično (19).

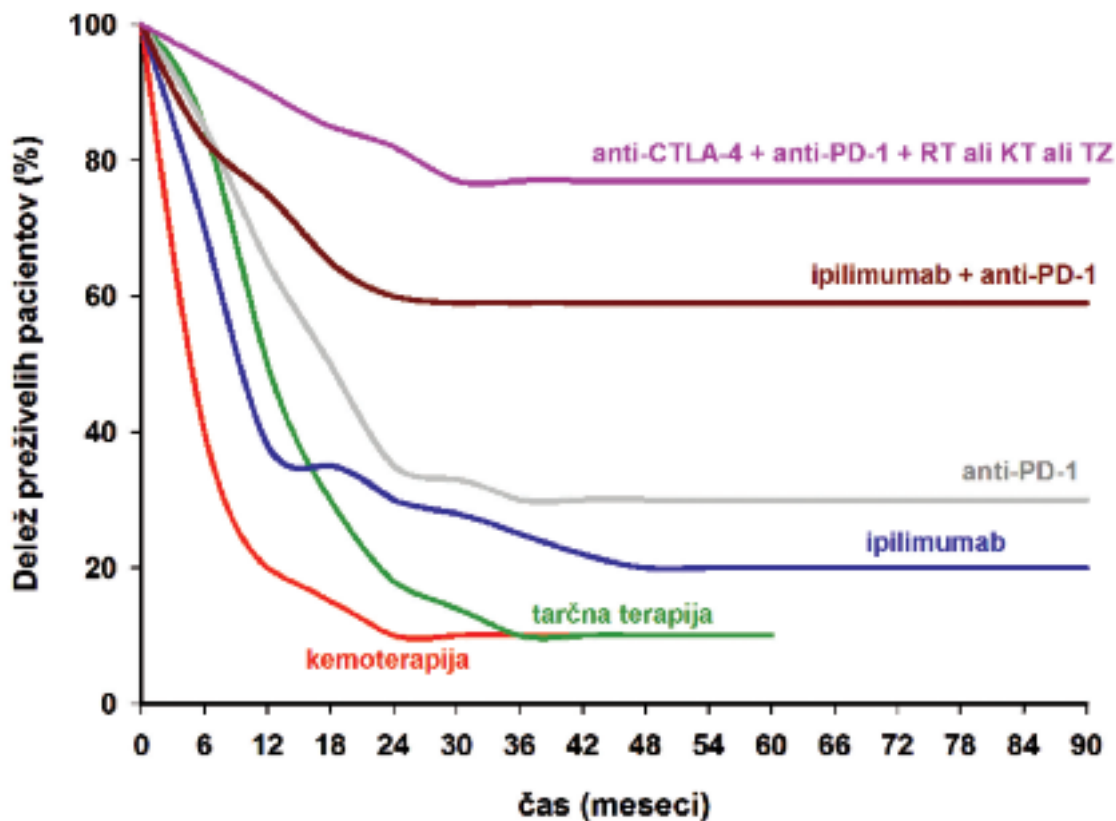
Klinično raziskavo kombinacije **vemurafeniba** (zaviralec BRAF) in **ipilimumaba** so zaradi hude hepatotoksičnosti prekinili, raziskava **dabrafeniba** (zaviralec BRAF) v kombinaciji z **ipilimumabom** pa še vedno poteka, vendar izsledki še niso znani. Po anti-BRAF terapiji je na tumorskih celicah število PD-L1 povečano, zato je zaviralce BRAF smiselno kombinirati z zaviralci PD-1/PD-L1. Predklinične raziskave so potrdile, da kombinirana terapija poveča protitumorski učinek na mišjih melanomskih tumorjih.

Vendar pa zaviranje BRAF lahko vodi v aktivacijo signalne kaskade MAPK v limfocitih T, kjer BRAF ni inhibiran, in posledično v imunosupresijo. Predklinične raziskave zaviralcev signalne poti MAPK/ERK na mišjih tumorjih so pokazale sinergistični učinek trametiniba (zaviralec MEK) v kombinaciji z zaviralci PD-1, PD-L1 ali CTLA-4. Kombinacija trametiniba, dabrafeniba in ipilimumaba je pri bolnikih z metastatskim melanomom v raziskavi faze I/II povzročila hudo gastrointestinalno toksičnost (20). Nasprotno se je kombinacija trametiniba in dabrafeniba v klinični raziskavi izkazala kot varna (21). To nakazuje na varnost kombinacije zaviralcev MEK in BRAF z zaviralci PD-L1, vendar so raziskave o klinični učinkovitosti še v teku.

5 OBETI ZA PRIHODNOST

Imunoterapija raka obeta veliko, zato se veliko raziskovalcev ukvarja z raziskovanjem **novih CPI**. V kliničnih preskušanjih že testirajo zaviralce LAG3, PD-1H in BTLA, številni drugi pa so v predkliničnih raziskavah (2). Raziskave CPI so doprinesle znanje, da različne kontrolne točke uravnavajo različne stopnje in različne celice imunskega sistema, zato je smiselno **kombinirati različne CPI**. Kombiniranje zavi-





Slika 2: Shematičen prikaz učinkovitosti posameznih sistemskih terapij in pričakovana učinkovitost kombinirane terapije. KT = kemoterapija, RT = radioterapija, TZ = tarčno zdravljenje.

Figure 2: Schematic presentation of monotherapy effectiveness and anticipated effectiveness of combined therapy. KT = chemotherapy, RT = radiotherapy, TZ = targeted therapy.

ralcev CTLA-4 in PD-1 za zdravljenje melanoma je že izkazalo klinično pomembnost. CTLA-4 naj bi bil pomemben predvsem v zgodnji regulaciji aktivacije limfocitov T v bezgavkah, PD-1 pa pri uravnavanju aktivnosti efektorskih limfocitov T. Kombinacije CPI bodo tako doprinesle k boljši regulaciji imunskega sistema na različnih nivojih, k večji protitumorski učinkovitosti in manjšim imunsko pogojenim neželenim učinkom (2).

Iskanje novih načinov in kombinacij zdravljenja, ki bi s CPI delovali aditivno ali celo sinergistično, brez sočasnega povečanja sistemske toksičnosti, nam predstavlja velik izziv. Kljub temu, da je večina imunoterapij usmerjena na limfocite T in pridobljeni imunski sistem, se vedno več raziskovalcev ukvarja s proučevanjem prirojenega imunskega sistema (9).

Najnovejše raziskave izpostavljajo pomembnost posameznikove črevesne **mikrobiote** za odgovor na CPI. Bolnike lahko namreč na podlagi njihove črevesne mikrobiote razdelimo na tiste, ki odgovorijo na imunoterapijo z zaviralci

PD-1, in tiste, ki nanjo ne odgovorijo. Tisti, ki odgovorijo, imajo večje število bakterij iz rodov *Bifidobacterium*, *Faecalibacterium* in *Akkermansia*, medtem ko imajo tisti, ki ne odgovorijo, povečano število *Bacteroidales* (22). Raziskave na miših so dokazale, da je pri prvih v tumorju prisotno večje število CD8⁺ T limfocitov, pri drugih pa CD4⁺ Treg. Še več, pilotne študije so pokazale, da zdravljenje z antibiotiki negativno vpliva na odgovor na imunoterapijo (23). Tako se porajata vprašanja, ali je med imunoterapijo z zaviralci PD-1 smiselno uporabljati probiotike za namen dodajanja koristnih bakterij in ali bo uporaba antibiotikov kontraindicirana.

Trenutno je najboljši biološki označevalec za napovedovanje odgovora na imunoterapijo določevanje izražanja PD-L1 v tumorju. Visoko izražanje sovпада z dobrim odgovorom na terapijo, vendar pa v neskladju s tem nekateri bolniki z nizkim izražanjem PD-L1 prav tako dobro odgovorijo na terapijo. Zato je veliko raziskav usmerjenih v iskanje novih **napovednih označevalcev**, kot so mutacijsko breme tumorja, neoantigenski odtis idr.

6 SKLEP

V zadnjih letih je imunoterapija doživela razcvet z uvedbo CPI. Žal se še vedno veliko bolnikov nezadostno odzove na terapijo, prav tako le pri določenem deležu opazimo dolgotrajen učinek. Da bi izboljšali učinkovitost imunoterapije, raziskujejo kombinacije CPI s kemoterapijo, radioterapijo in tarčnimi zdravili, ki kažejo doprinos k odgovoru na zdravljenje. Vendar pa tudi pri imunoterapiji vse bolj postaja pomemben individualiziran pristop, ki temelji na napovednih bioloških označevalcih. Zato je v prihodnjih raziskavah prednostna naloga vzpostavitev ustreznih bioloških označevalcev, še posebej za kombinirano terapijo.

7 LITERATURA

1. Hočevar M, Strojnar P, editors. *Onkologija učbenik za študente medicine* [Internet]. Ljubljana: Onkološki inštitut Ljubljana, www.onko-i.si; 2018. Available from: https://www.onko-i.si/fileadmin/onko/datoteke/Dejavnosti/Raziskovalna_in_izobrazevalna_dejavnost/onkologija/Onkologija_ucbenik_april2018.pdf
2. Torphy RJ, Schulick RD, Zhu Y. Newly emerging immune checkpoints: Promises for future cancer therapy. *Int J Mol Sci.* 2017 Dec;8(12).
3. Attarwala H. TGN1412: From Discovery to Disaster. *J Young Pharm.* 2010 Jul;2(3):332-6.
4. Davis RJ, Ferris RL, Schmitt NC. Costimulatory and coinhibitory immune checkpoint receptors in head and neck cancer: unleashing immune responses through therapeutic combinations. *Cancers Head Neck.* 2016 Dec;1:2.
5. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science.* 1996 Mar;271(5256):1734-6.
6. Taube JM, Anders RA, Young GD, Xu H, Sharma R, McMiller TL, et al. Colocalization of inflammatory response with B7-H1 expression in human melanocytic lesions supports an adaptive resistance mechanism of immune escape. *Sci Transl Med.* 2012 Mar 28;4(127):127ra37.
7. Yi M, Qin S, Zhao W, Yu S, Chu Q, Wu K. The role of neoantigen in immune checkpoint blockade therapy. *Exp Hematol Oncol* [Internet]. 2018;7(1):1–11. Available from: <https://doi.org/10.1186/s40164-018-0120-y>
8. Ko EC, Formenti SC. Radiotherapy and checkpoint inhibitors: a winning new combination? *Ther Adv Med Oncol* [Internet]. 2018;10:175883591876824. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1758835918768240>
9. Jiang W, Chan CK, Weissman IL, Kim BYS, Hahn SM. Immune Priming of the Tumor Microenvironment by Radiation. *Trends Cancer.* 2016 Nov;2(11):638-645.
10. Dammeyer F, Lau SP, van Eijck CHJ, van der Burg SH, Aerts JGJV. Rationally combining immunotherapies to improve efficacy of immune checkpoint blockade in solid tumors. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017 Aug;36:5-15.
11. Krysko D V, Garg AD, Kaczmarek A, Krysko O, Agostinis P, Vandenabeele P. Immunogenic cell death and DAMPs in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2012;12(12):860–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrc3380%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23151605>
12. Wang Y, Deng W, Li N, Neri S, Sharma A, Jiang W, et al. Combining immunotherapy and radiotherapy for cancer treatment: Current challenges and future directions. *Front Pharmacol.* 2018 Mar;9:185.
13. Antonia SJ, Villegas A, Daniel D, Vicente D, Murakami S, Hui R, et al. Overall Survival with Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC. *N Engl J Med.* 2018 Dec;379(24):2342–2350.
14. Tang C, Jiang W, Yap TA. Efficacy and Toxic Effects of Cancer Immunotherapy Combinations—A Double-edged Sword. *JAMA Oncol* [Internet]. 2018 Aug 1 [cited 2018 Aug 17];4(8):1116. Available from: <http://oncology.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jamaoncol.2017.4606>
15. Gotwals P, Cameron S, Cipelletta D, Cremasco V, Crystal A, Hewes B, et al. Prospects for combining targeted and conventional cancer therapy with immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2017 May;17(5):286-301.
16. Galluzzi L, Buqué A, Kepp O, Zitvogel L, Kroemer G. Immunological Effects of Conventional Chemotherapy and Targeted Anticancer Agents. *Cancer Cell.* 2015 Dec 14;28(6):690-714.
17. Mathew M, Enzler T, Shu CA, Rizvi NA. Combining chemotherapy with PD-1 blockade in NSCLC. *Pharmacol Ther.* 2018 Jun;186:130-137.
18. Hersh EM, O'Day SJ, Powderly J, Khan KD, Pavlick AC, Cranmer LD, et al. A phase II multicenter study of ipilimumab with or without dacarbazine in chemotherapy-naïve patients with advanced melanoma. *Invest New Drugs.* 2011 Jun;29(3):489–98.
19. Edward B. Garon MD for the K-001 I. Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2015;372:2018–28.
20. Minor DR, Puzanov I, Callahan MK, Hug BA, Hoos A. Severe gastrointestinal toxicity with administration of trametinib in combination with dabrafenib and ipilimumab. *Pigment Cell Melanoma Res.* 2015 Sep;28(5):611-2.
21. Ribas A, Butler M, Lutzky J, Lawrence D, Robert C, Miller W et al. Phase I study combining anti-PD-L1 (MEDI4736) with BRAF (dabrafenib) and/or MEK (trametinib) inhibitors in advanced melanoma. *J Clin Oncol.* 2015;33(suppl):abstr 3003.
22. Jobin C. Precision medicine using microbiota. *Science.* 2018 Jan;359(6371):32-34.
23. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1 based immunotherapy against epithelial tumors *Science.* 2018 Jan;359(6371):91-97.

