

Immunológiai biomarkerek a rákellenes kezelés hatásának megjósolásában

LADÁNYI ANDREA

Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, Budapest

A MUNKA AZ OTKA 105132 SZ. GRANT TÁMOGATÁSÁVAL KÉSZÜLT.

Levelezési cím:

Dr. Ladányi Andrea, Országos Onkológiai Intézet, Sebészeti és Molekuláris Patológiai Osztály, 1122 Budapest, Ráth Gy. u. 7–9.
Tel.: +36-1-224-8600/1155, Fax: +36-1-224-8706,
e-mail: ladanyi@oncol.hu

Közlésre érkezett:

2015. december 17.

Elfogadva:

2015. december 23.

Az immunterápiás kezelésmódok új osztályát képviselő, immunellenőrző pontokon ható ellenanyagok a daganatok egyre szélesedő spektrumán bizonyítják tartós klinikai választ kiváltó hatásukat a betegek egy része esetén. A hatékonyság növelése érdekében elsődleges fontosságú olyan biomarkerek kutatása, melyek alapján meg lehetne jósolni a terápiás hatás valószínűségét. A potenciális immunológiai prediktív tényezők vizsgálatának eddigi eredményei azt sugallják, hogy a betegek meglévő – bár önmagában a daganat progresszióját megfékezni nem képes – tumorellenes immunaktivitása megnövelheti a különböző immunterápiák hatásfokát. Az immunológiai mechanizmusok szerepének fontosságát ugyanakkor más rákellenes kezelésmódok, mint a kemo-, sugár- és célzott terápia hatásában is kimutatták. Az immunrendszerben rejlő lehetőségek teljesebb kiaknázása valószínűleg az immunterápiáknak ezekkel, illetve egymással való kombinációja útján lesz lehetséges, mely a beteg és a tumor immunstátuszát jellemző, többkomponensű biomarkerrendszer kifejlesztését teheti szükségessé. Magyar Onkológia 60:4-10, 2016

Kulcsszavak: rákterápia, immunterápia, immunellenőrző-pont-gátlók, biomarker, prediktív marker

Immune checkpoint agents, representing a new class of immunotherapeutic modalities, have proven their beneficial effect inducing durable clinical response in a widening spectrum of tumor types. To enhance their efficacy it is of primary importance to search for biomarkers that could help predict the likelihood of therapeutic effect. Results of studies on potential predictive immunological parameters suggest that the existing antitumor immune activity detectable in the patients, although not sufficient to control tumor progression in itself, could increase the efficacy of different immunotherapies. Moreover, the contribution of immune reactions to the effect of other antitumor treatment modalities as chemo-, radio-, and targeted therapy has also been demonstrated. Combinations of immunotherapies with these and with each other will probably represent treatment approaches resulting in the highest therapeutic effect, which may necessitate the development of biomarker panels with multiple components characterizing the immune status of the patient and the tumor as well.

Ladányi A. Immunologic biomarkers in predicting the efficacy of cancer therapy. Hungarian Oncology 60:4-10, 2016

Keywords: cancer therapy, immunotherapy, immune checkpoint inhibitors, biomarker, predictive marker

BEVEZETÉS

Az elmúlt néhány év az immunterápiás modalitások drámai előretörését hozta magával a daganatok kezelésében. Az immunválaszt szabályozó mechanizmusok jobb megismerése új típusú immunterápiás szerek: a T-sejtek aktivációját gátló molekuláris kölcsönhatásokat (ún. immunellenőrző pontokat, immune checkpoints) célzó ellenanyagok megalkotásához vezetett [1, 2]. Az újfajta immunstimuláló ágensek első képviselője, a CTLA-4 receptort blokkoló ipilimumab 2011-ben került be az előrehaladott melanoma terápiás arzenáljába. Megnyitotta egyúttal az utat más immun szabályozó molekulákat célzó terápiák számára, melyek fő csapásirányát a PD-1-útvonal befolyásolása jelenti, a PD-1 receptort, illetve egyik ligandumát, a PD-L1-et blokkoló ellenanyagok formájában (1. táblázat). Az eddigi vizsgálatok szerint ezek az antitestek az ipilimumabnál kedvezőbb hatás/mellékhatás profilt mutatnak, egy széles – és egyre szélesedő – tumortípus-palettán (a melanoma mellett pl. tüdő-, vese-, hólyagrák, tripla-negatív emlőrák, fej-nyaki daganatok, Hodgkin-lymphoma; 1. táblázat) (ld. a jelen újságszám néhány másik cikkében). A reagáló betegek

jelentős részében tartós remisszió alakul ki; ehhez hasonló terápiás hatékonyságra e betegségekben, többszörösen előkezelt, előrehaladott stádiumú daganatban szenvedő betegekben eddig nem volt példa.

Az immunstimuláló antitestek mindazonáltal általában csak a betegek kisebb hányadában bizonyultak hatékonynak, viszont használatuk során nemritkán – bár ez a PD-1/PD-L1 gátlókra kevésbé jellemző – toxikus, jellemzően autoimmun mellékhatásokkal kell számolni. A különböző immunellenőrző pontokat gátló ágensek kombinációja tovább javítja a terápiás hatást, azonban a súlyos mellékhatások arányát is növeli, továbbá az új gyógyszerek igen magas ára sem mellékes szempont. Annak érdekében, hogy növelni lehessen a kezelésre reagálók arányát, elsődleges fontosságú olyan biomarkerek kutatása, melyek alapján meg lehetne jósolni a terápiás hatás valószínűségét. Immunterápiák esetén logikusan adódik immunológiai paraméterek tanulmányozása, mind szisztémásan, mind lokálisan, a tumor területén. E tényezők egy része – így egyes fehérvérsejt-típusok mennyisége a perifériás vérben, vagy a tumort infiltráló immunsejtek sűrűsége – az alkalmazott kezeléstől független prognosztikus markerként is ismeretes egyes daganatfélések esetén, azaz nem tisztán egy adott terápia hatékonyságát előrejelző ún. prediktív biomarkerek [3]. Számos, az immunterápiák során vizsgált biomarker esetén továbbá nem a kiindulási szint, hanem a kezelés valamely fázisában mért érték vagy a változás mértéke mutatott összefüggést a terápia hatásával, így ezek sem tekinthetők prediktív markernek, inkább farmakodinámiai markerek, melyek helyettesítő („surrogate”) végpontként alkalmazhatóak [4].

Az immunrendszer aktivitása azonban nemcsak az immunterápiák, hanem egyéb, döntően nem immunológiai hatásmechanizmusúnak tartott kezelésmódok hatásában is fontos szerepet játszik, amint azt az utóbbi évtized kutatásai feltárták [5–8]. A tumorsejtek által kifejezett molekulákat célzó ellenanyagok (pl. az anti-EGFR cetuximab és anti-HER2 trastuzumab) hatásának lényeges komponense a gazdaszervezet Fc-receptort hordozó immunsejtjei általi antitest-közvetített sejtes citotoxicitás (ADCC) mellett az adaptív immunválasz stimulálása is [8]. Továbbá, bár a konvencionális kemoterápiás ágenseket általánosságban immunsuppresszívnek tartják, némelyikük, mint pl. az antraciklinek és az oxaliplatin, az ún. immunogén sejthalál előidézésével képes stimulálni a tumorantigének dendritikus sejtek általi prezentálását, ami szükséges az immunválasz kiváltásához; hasonló hatást a sugárterápia esetében is leírtak [5–7]. Más kemoterápiás szerek vagy célzott kezelések immuneffektor mechanizmusok aktiválásával közvetlenül (pl. a ciklofoszfamid, gemcitabin, taxánok, tirozinkináz-inhibitorok), vagy immunsuppresszor sejtek, ill. mechanizmusok inaktiválása útján (pl. alacsony dózisú ciklofoszfamid, fludarabin, gemcitabin, oxaliplatin, 5-FU) befolyásolják a tumorelles immunreakciókat [5, 6]. Az immunrendszer aktivációja pedig hozzájárulhat e szerek

1. TÁBLÁZAT. A CTLA-4-, illetve a PD-1-útvonal blokkolására kifejlesztett, klinikai használatban levő fontosabb ellenanyagok és egyes tumortípusok, melyeken jó hatást mutattak

CÉLPONT	ANTITEST NEVE (ALTER-NATÍV NEVEK)	TÍPUS	TUMORTÍPUSOK
CTLA-4	ipilimumab (MDX-010, BMS-734016)	humán IgG1	melanoma, tüdő-, veserák
	tremelimumab (ticilimumab)	humán IgG2	melanoma
PD-1	nivolumab (MDX-1106, BMS-936558)	humán IgG4	melanoma, tüdő-, vese-, máj-, petefészekrák, HL
	pembrolizumab (lambrolizumab, MK-3475)	humanizált IgG4	melanoma, tüdő-, fej-nyaki, hólyag-, gyomorrák, TNBC, HL
	pidilizumab (CT-011)	humanizált IgG1	hematológiai daganatok
PD-L1	durvalumab (MEDI4736)	humán IgG1	tüdőrák, fej-nyaki daganatok
	atezolizumab (MPDL3280A)	humán IgG1	melanoma, tüdő-, hólyag-, veserák
	avelumab (MS-B0010718C)	humán IgG1	tüdő-, petefészek-, hólyagrák, mesothelioma
	BMS-936559 (MDX-1105)	humán IgG4	melanoma, tüdő-, veserák

TNBC: tripla-negatív emlőrák, HL: Hodgkin-lymphoma

terápiás hatásához, felvetve annak a lehetőségét, hogy az immunaktivitással kapcsolatos paraméterek a klinikai hatás megjósolásában is alkalmazhatóak lehetnek (6, 8).

IMMUNELLENŐRZŐPONT-GÁTLÓK HATÁSÁT ELŐREJELZŐ BIOMARKEREK

A perifériás vérben meghatározható szisztémás tényezők
A CTLA-4-et blokkoló ipilimumab, az immunellenőrzőpont-ágensek „zászlóshajója” megjelenése a teljes túlélést meghosszabbító, tartós remissziót eredményező hatásával áttörést hozott a metasztatikus melanoma kezelésében (1, 2, 9). Ugyanakkor a klinikai válasz arányát meghaladó gyakorisággal fordultak elő súlyos, immunasszociált mellékhatások. Minthogy emiatt égető szükség mutatkozott a hatékonyságát megjósolni képes paraméterek azonosítására, rövid időn belül jelentős mennyiségű adat gyűlt össze, nagyrészt a perifériás vér immunsejtjeire vagy szérumfaktorokra vonatkozóan (9–11). A legkonzisztensebb megfigyelés a kezelés előtti abszolút limfocitaszám (ALC) vagy a kezelés során történő emelkedésének kapcsolata a terápiás válasszal és a túléléssel (9–12). Legtöbbször az ipilimumabterápia hatására bekövetkező ALC-emelkedéssel találtak korrelációt, így ez a paraméter feltehetően inkább helyettesítő végpontként is alkalmazható farmakodinámiás, mint prediktív markernek tekinthető. Néhány vizsgálatban leírták az alacsony neutrofil/limfocita arány, a keringő mieloid eredetű gátlósejtek alacsony száma vagy a kezelés indukálta csökkenése, illetve a regulátor T-sejtek számának emelkedése korrelációját a betegek túlélésével vagy az ipilimumabra adott válasszal (9, 11). Az említett vizsgálatok többségében a túléléssel, nem pedig a klinikai válasszal találtak asszociációt, és a perifériás vér egyes sejt típusainak mennyisége ipilimumabmal vagy más immunterápiával nem kezelt betegeknél is korrelációt mutatott a betegség kimenetelével számos daganattípus esetén (10, 12, 13), azaz e paraméterek inkább prognosztikus, mint prediktív faktoroknak tekinthetők.

Megfigyelték egyes specifikus, proliferációval vagy aktivációval kapcsolatos markereket (pl. Ki67, ICOS) expresszáló T-sejtek száma, illetve a NY-ESO-1 antigénre specifikus CD8⁺ T-limfociták és antitestek jelenléte összefüggését is a betegek túlélésével és a klinikai válasszal (9, 11). A szérumfaktorok közül az LDH emelkedett szintje – mely melanomában prognosztikai tényezőként is ismert – számos vizsgálatban az ipilimumabkezelés hatástalanságával járt együtt (9, 10, 12). További szérumfaktorokra, melyek emelkedett szintje több vizsgálatban rosszabb kimenetellel társult ipilimumabmal kezelt betegeknél, példa a VEGF (vaszkuláris endoteliális növekedési faktor) és a CRP (C-reaktív protein) gyulladási marker (9, 10); ezek szintén prognosztikus tényezők is egyben.

A daganatok területén meghatározható lokális tényezők

Az inkább szisztémás hatásúnak gondolt CTLA-4-inhibitorok esetében a tumorok területén meghatározható immunaktivitás prediktív szerepe viszonylag kevesebb figyel-

met kapott. Melanomás betegeknél az ipilimumab fokozta számos, immunválasszal kapcsolatos gén kifejeződését az áttétekből származó tumormintákban, és ezek magas kiindulási expressziós szintje jellemezte a kezelésre reagáló csoportját (14). Ugyanabban a betegcsoportban a FOXP3⁺ regulátor T-sejtek magas kiindulási száma és az IDO (indolamin-2,3-dioxigenáz, immun-suppresszív hatású enzim) expressziója is összefüggést mutatott a klinikai válasszal, más immunsejt-populációk esetében azonban nem találtak kapcsolatot (15).

A CTLA-4-gyel szemben a PD-1-út vonal gátlásának a feltételezés szerint döntően az immunválasz effektor fázisában, a T-limfociták és tumorsejtek kölcsönhatásában van szerepe. A PD-1 receptort vagy ligandumát, a PD-L1-et blokkoló antitesteknél alkalmazható prediktív markerek kutatása ezért a lokális tényezőkre összpontosított, ezen belül a PD-L1 expressziójára a daganatsejteken (az utóbbi időben emellett a tumort infiltráló immunsejteken is), valamint az immunsejtek, főként a legfontosabb immun-effektornak tartott CD8⁺ T-limfociták infiltrációjára. E két tényező egymástól nem független; a T-sejtek által termelt interferon- γ (IFN- γ) stimulálja a PD-L1-expressziót, és több daganattípusban megfigyelték a PD-L1⁺ tumorsejtek és különböző immunsejttípusok kolokalizációját és mennyiségi korrelációját (16–18). Taube és mtsai nivolumabmal kezelt melanomás betegeknél végzett vizsgálatában a tumorsejtek PD-L1-expressziója korrelált az immunsejtes infiltrációval, az immunsejteken a PD-1 receptor kifejeződésével, továbbá a CD20⁺ B-sejtek és limfoid aggregátumok megjelenésével, a PD-L1-expresszióval ellentétben azonban az utóbbi paraméterek egyike sem bizonyult szignifikáns prediktív markernek (17). E tanulmányban a biopsziák időpontja és a kezelés közti időtartam igen széles tartományban oszlott meg (1 naptól 12 évig), ami befolyásolhatja, mennyire tükrözi a mintákban az immunsejtes infiltrátum a lokális immunaktivitást a terápia időpontjában. Tüme vizsgálatában ugyanakkor a pembrolizumabra reagáló metasztatikus melanomás betegek kezelés előtti biopsziás mintáiban a CD8⁺ T-limfociták denzitása magasabb volt, mint a progressziót mutató betegeknél, és a kezelés hatására tovább emelkedett (18). Egy – többféle daganattípuson végzett – tanulmány szerint az anti-PD-L1 ellenanyag atezolizumab (MPDL3280A) hatásosságát nem jelezte előre a CD8⁺ T-sejtek jelenléte a kiindulási biopsziában (19). A reagáló melanomás betegek mintáiban ugyanakkor az IFN- γ és egyes IFN- γ -indukált gének fokozott expressziót mutattak, míg tüdő- és vesedaganatos betegek esetében az összefüggés gyengébb volt.

A PD-L1 ligandum expressziója a tumorsejteken az első vizsgálatokban igen ígéretes prediktív markernek bizonyult, a későbbi megfigyelések azonban némiképp árnyalták a képet (3, 20–23). Az anti-PD-1 ágensekkel végzett vizsgálatok túlnyomó többségében a PD-L1-expresszió jobb terápiás válasszal járt együtt. Ugyanakkor azonban

a PD-L1-negatív esetek jelentős, átlagosan 15–20%-nyi részében is megfigyelhető terápiás hatás [22, 23], tehát a ligandum expressziója önmagában nem megfelelő betegszelekciós marker a PD-1-útvonalon ható ágensekkel való kezeléshez, bár néhány klinikai vizsgálatban beválasztási kritériumként alkalmazzák. Ráadásul kombinációs terápiák esetén, pl. ipilimumab-nivolumab kombinációnál nem is tűnik használható biomarkernek [3, 20]. Számos tényező megnehezíti a PD-L1-expresszió értékelését, illetve az ezt elemző tanulmányok összehasonlítását [3, 20, 21]. Ezek egy része technikai jellegű: a vizsgálatokban több különböző antitestet alkalmaznak, különböző küszöbértéknél meghatározva a pozitivitás határát. Abban is lehet különbség, hogy a tumor- vagy az infiltráló immunsejteken határozzák-e meg a PD-L1-expressziót; egyes tanulmányokban, pl. atezolizumabbal kezelt többféle daganattípus esetén az utóbbi bizonyult szignifikáns prediktív tényezőnek [19]. Problémát jelent az is, hogy az expresszió nem stabil, pl. IFN- γ által indukálható (ld. fentebb), így az aktuális tumor-mikro környezetnek megfelelően dinamikusan változik. Ezen felül a primer tumorban és áttétekben különbözhet, az egyes áttétek között is lehet eltérés, sőt egy adott tumoron belül is heterogenitást mutathat az expresszió, ami mintavételi hibát okozhat kis biopsziák esetén [20, 21, 24]. Bizonyos daganattípusokban ugyanakkor a PD-L1-expresszió konstitutív, pl. a Hodgkin-lymphoma Reed–Sternberg-sejtjeiben a PD-1-ligandumokat kódoló 9p24.1 kromoszóma amplifikációja következtében; ez a tumortípus kivételesen magas arányban reagált a PD-1-gátlókra [25].

Szomatikus mutációk

Az immunellenőrzőpont-ágensek prediktív biomarkereinek kutatásában új és érdekes terület a tumorokban detekálható szomatikus mutációk gyakoriságának elemzése. E vizsgálatok kiinduló megfigyelése az volt, hogy az újfajta immunterápiákra jól reagáló daganattípusokat, mint a melanoma és a tüdőrák, magas mutációs frekvencia jellemzi, valószínűleg a környezeti mutagénexpozícióval összefüggésben [26, 27]. Ezzel összhangban állnak azok az eredmények is, melyek szerint egyes tumortípusokon belül is a magasabb mutációs gyakoriságú formák mutatnak jobb terápiás választ, mint pl. a mikroszatellita-instabil (MSI) vastagbélrákok az ilyen daganatok többségét reprezentáló stabil mikroszatellita-státusú (MSS) variánshoz képest [28], illetve az aktuálisan vagy korábban dohányzó tüdőrákos betegek a soha nem dohányzókhöz képest [27]. A mutációk mennyisége összefüggést mutatott a terápiás válasszal CTLA-4-gátlókkal (ipilimumab, tremelimumab) kezelt melanomás [29] és pembrolizumabbal kezelt tüdőrákos betegekben [30]. A feltételezett hatásmechanizmus, hogy a mutációk következtében új tumorantigének (neoantigének) jönnek létre, immunválaszt kiváltva, mely lehetővé teszi, hogy az immunellenőrzőpont-gátlók kifejtsék hatásukat.

IMMUNOLÓGIAI BIOMARKEREK EGYÉB IMMUNTERÁPIÁK HATÉKONYSÁGÁNAK MEGJÓSLÁSÁBAN

Az immunellenőrzőpont-gátlók korszakát megelőzően is történtek immunológiai biomarkerek azonosítását célzó vizsgálatok. A vakcináción alapuló aktív immunterápia esetén az immunválasz monitorozását és ennek potenciális prediktív szerepét célzó vizsgálatok többsége a szisztémás immunválasz értékelésére korlátozódott. A perifériás vérben mérhető immunválasz azonban nem reprezentálja megfelelően a lokális immunaktivitást, s ez lehet az egyik magyarázata a tumorspecifikus T-sejt-válasz és a terápiás hatás, ill. a túlélés közti korreláció gyakran megfigyelhető hiányának [31]. Interleukin-2-vel (IL-2) kezelt, áttétes melanomás és veserákos betegekben a szérumfaktorok közül a VEGF és a fibronectin szintje fordított korrelációt mutatott a tumorválasszal és a túléléssel [32]. IL-2-alapú terápiában részesülő melanomás betegekben a magas kezelés előtti neutrofil- vagy monocitaszám esetén is rövidebb túlélést tapasztaltak egy nagy esetszámú tanulmányban [33].

A terápiás választ megjósoló lokális immunológiai paraméterek kutatása a 80-as és 90-es években inkább szórványos jelleggel történt. Áttétes melanomás betegek IL-2-alapú kezelésre adott terápiás válasza például összefüggést mutatott a kezelés előtt vett biopsziákban a T-limfociták és makrofágok erős infiltrációjával [34]. Hasonló összefüggést találtak a CD4⁺ T-sejtek mennyisége és az interferon- α -kezelés eredményessége között (a CD8⁺ és a CD11c⁺ sejtek esetén azonban nem) [35]. Egy újabb vizsgálat nagyobb számú CD4⁺ és CD8⁺, valamint granzim-B⁺ limfocitát talált melanomavakcinával kezelt, progressziót nem mutató betegek áttéteiben a progresszióhoz viszonyítva [36]. Többféle daganattípuson végzett különféle immunterápiák, mint IL-2-kezelés vagy tumorantigén-vakcina esetében is kimutatták egyes immunasszociált gének (pl. IFN- γ -stimulált gének, kemokinek és immuneffektor molekulák génjei) koordinált expresszióját a terápiás válasszal összefüggésben [37, 38]. Áttétes veserákos betegekben pedig a nagy dózisú IL-2-kezelésre adott objektív válasz korrelált a tumorsejtek PD-L1-expressziójával [39].

A betegek áttéteiből izolált és felszaporított tumorinfiltráló limfocitáknak (TIL) a szervezetbe való visszajuttatásán alapuló adoptív sejterápiás stratégiát elsősorban metasztatikus melanoma kezelésére alkalmazzák, előzetes limfodepleciós kondicionálás után [40, 41]. Kedvező válaszarány érhető el ezzel a módszerrel, és a reagáló betegek nagy többségénél tartós remisszió alakul ki, de komplex laboratóriumi háttérrel igénylő kezelésmód, és nem minden beteg esetében kivitelezhető. A terápiás választ előrejelző biomarkerek kutatása elsősorban a TIL-preparátum karakterizálására fókuszált; az eredmények szerint a beadott TIL-készítményben a CD8⁺ T-limfociták mennyisége és differenciált effektor fenotípusa prediktívnek bizonyult [42]. Robbins és mtsai egy új módszerrel, a teljesexom-szekvenálási adatokban mutáns antigénepitópok keresésével azonosítottak olyan, a tumorban expresszálódó antigéneket, melyeknek a tumor-

infiltráló limfociták általi felismerése korrelált az adoptív TIL-terápia eredményeként kialakuló regresszióval [43]. Egy másik vizsgálatban génextpressziós analízis alapján a TIL-ben a T-sejtek tumorba jutásában kulcsfontosságú CXCR3 és CCR5 kemokinreceptoroknak, míg a kiindulási tumorban ezek ligandumainak magas szintű expressziója összefüggést mutatott a klinikai válasz valószínűségével és mértékével [44].

IMMUNOLÓGIAI PARAMÉTEREK A KEMO-, SUGÁR- ÉS CÉLZOTT TERÁPIA HATÉKONYSÁGÁNAK MEGJÓSLÁSÁBAN

A hagyományos rákellenes terápiák, mint a kemo- és sugárterápia egyedüli hatásmechanizmusának korábban a daganatsejtek közvetlen elpusztítását tartották, mellékhatásként az immunrendszer károsításával. Újabb vizsgálatok azonban feltárták, hogy e kezelésmódok némelyike serkenti a daganatellenes immunválaszt, s ez hozzájárulhat a kezelés sikerességéhez a terápiát túlélő ráksejtek elpusztítása vagy tartósan „alvó” állapotban tartása révén [5–7]. E vizsgálatok eredményére alapozva megkezdődött az olyan immunológiai paraméterek tanulmányozása, melyek egyes tumortípusok és kezelésmódok esetén összefüggést mutattak a kezelésre adott válasszal. Emlőrákok neoadjuváns kemoterápiája hatásával korrelált például a TIL, ezen belül a T- és B-sejtek kezelés előtti denzitása és immunasszociált gének expressziója [45–47]; a T-sejtekre vonatkozóan hasonló eredményt kaptak adjuváns kemoterápiás kezelés esetén [48]. Végbélrákok neoadjuváns kemoradioterápiája esetén is napvilágot láttak a T-sejtek denzitásának prediktív szerepére utaló eredmények [49], definitív kemoradioterápiával kezelt fej-nyaki daganatokban pedig a magas T-limfocita-szám korrelált a túléléssel [50]. Emlőrákok esetén a tumor PD-L1-expressziója – mely korrelált a TIL mennyiségével – szintén prediktív faktornak bizonyult a neoadjuváns kezelés eredményére vonatkozóan [51].

Egyes célzott terápiás ágensekről is bebizonyosodott, hogy a tumorsejtekre gyakorolt közvetlen hatásuk mellett immunmechanizmusokat stimulálnak. Az imatinib például aktiválja az NK-sejteket [52], míg a sunitinib a mieloid eredetű gátlósejtek számát csökkenti [53], bár az utóbbi nem mutatott összefüggést a terápiás válasszal. A BRAF-inhibitor terápia metasztatikus melanómában fokozta a T-sejtek infiltrációját és az antigénexpressziót [54].

A tumorantigéneket célzó ellenanyagok terápiás aktivitásában az antitest-közvetített sejtcsitotoxicitás (ADCC) mellett az adaptív celluláris immunválasz szerepe is igazolódott; utóbbi háttérben az NK-sejtekre és az antigénprezentáló dendritikus sejtekre gyakorolt hatásuk állhat [8, 55]. Cetuximabot is tartalmazó kemoterápiás regimennel kezelt metasztatikus vastag-, ill. végbélrákos betegekben a cetuximab ADCC-közvetített hatásában a CD56⁺ sejtek (főként NK-sejtek) szerepét találták elsődlegesnek [56]. A primer tumorban e sejttípus infiltrációja korrelált a terápia hatásával és a túléléssel (az azonos kemoterápiát cetuximab nélkül kapó kontrollcsoportban nem), míg egyéb markereket (CD4,

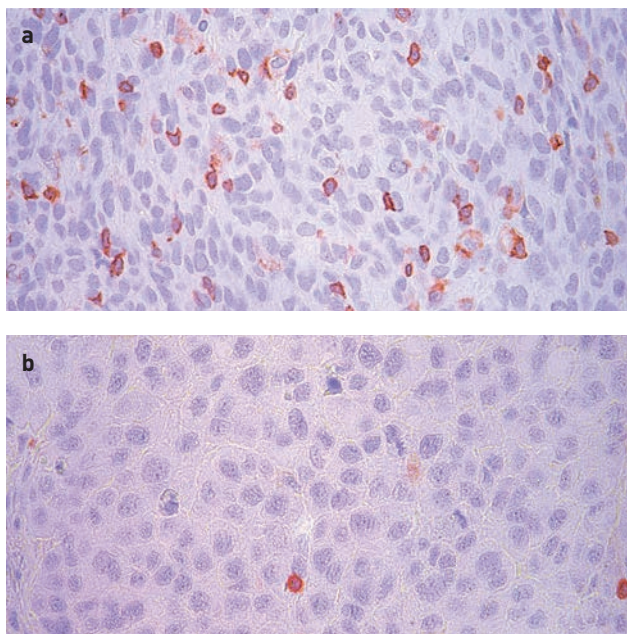
CD8, CD68, FOXP3) hordozó sejtek denzitásával nem találtak összefüggést. Adjuváns trastuzumabkezelésben részesülő tripla-negatív emlőrákos betegekben a tumorinfiltráló limfociták mennyisége korrelált a terápia hatásosságával [57].

MEGBESZÉLÉS

Nem túlzás kijelenteni, hogy az immunstimuláló antitestek alkalmazásán alapuló új immunterápiák első képviselőjének, a CTLA-4-gátló ipilimumabnak a megjelenése forradalmasította a metasztatikus melanoma kezelését, a PD-1/PD-L1-gátlók pedig tovább javították az eredményeket, egyúttal kiterjesztve a terápiás célcsoportot számos egyéb daganattípusra. Azonban a leghatékonyabb új immunterápiákra is a betegeknek csak egy kisebb hányada reagál, míg mások nem részesülnek a kezelés hasznából, viszont a mellékhatások kockázatának ők is ki vannak téve. Ugyanakkor e daganatok, mint pl. a melanoma és a tüdőrák kezelési arzenálja egyéb hatékony, pl. célzott terápiás szerekekkel is bővült, ami még fontosabbá teszi olyan klinikailag is hasznosítható prediktív biomarkerek azonosítását, melyek segíthetnek az egyes betegeknek a legjobb eredménnyel bíztató kezelési stratégia meghatározásában.

Bár mind ez idáig nem sikerült az immunterápiás modalitások esetében alkalmazható, bizonyított hatékonyságú biomarker(ek)et találni, az eddig összegyűlt adatok arra utalnak, hogy a betegek immunaktivitási szintje – mind szisztémásan, mind lokálisan, a tumor területén – összefüggésbe hozható a különböző immunterápiák klinikai hatásosságával. A lokális immunaktivitásra vonatkozó, a közelmúltban előtérbe kerülő hipotézis [58] szerint a daganatokban a T-limfociták eltérő mértékű infiltrációja („T-sejt-gazdag”, ill. „T-sejt-szegény” tumorok) befolyásolja az egyes immunterápiás modalitások hatékonyságát. Erősebben infiltrált tumorok esetében valószínűsíthető, hogy lokális faktorok gátolják a T-sejteket hatásuk kifejtésében, így esetükben hatásos lehet a különböző szuppresszív mechanizmusok blokkolásán alapuló terápia, mint pl. az immunellenőrzőpont-ágensek. A T-sejtben szegény daganatok esetében viszont a tumorantigének elleni immunreakció kiváltására, illetve a T-limfociták tumorba jutásának elősegítésére alkalmas kezelési stratégiákra is szükség lehet [58]. E hipotézist alátámasztják azok a megfigyelések, melyek szerint többféle immunterápia esetén is a reagáló betegek tumorában magasabb fokú immunaktivitás jelei tapasztalhatók (pl. immunasszociált gének magasabb szintű expressziója, egyes immunsejttípusok fokozott infiltrációja) [3, 14, 18]. Ipilimumabterápiában részesülő melanomás betegek kezelés előtti műtéti tumormintáit infiltráló immunsejtek denzitásának elemzésével nyert előzetes eredményeinkből is hasonló következtetés vonható le [1. ábra] [59]. Kapcsolatba hozható az immunológiai tumor-mikrokörnyezettel a daganatokban detektálható szomatikus mutációk, illetve az ennek folyamán kialakuló új antigénepitópok gyakorisága is. Ezek tanulmányozása új lehetőséget nyújt az immunterápiák hatékonyságát megjósló biomarkerek azonosítására.

Az immunterápiára reagáló betegekben a tumor mikrokörnyezetében az immunaktivációra utaló jelek mellett immunszupp-



1. ÁBRA. CD45RO-pozitív T-sejtek immunhisztokémiai kimutatása (AEC, piros) ipilimumabterápiában részesülő melanomás betegek kezelés előtt operált nyirokcsomóáttétében. A jelölt sejtek denzitása magasabb volt a 2 évnél tovább túlélő betegek esetében (a) a rövidebb túlélésű csoporthoz viszonyítva (b)

resszív faktorok is azonosíthatók és összefüggésbe hozhatók a terápiás válasszal, valószínűleg az immunrendszer természetes – az autoimmun reakciók kialakulásának elkerülésére kifejlesztett – negatív visszacsatolási mechanizmusát tükrözve. Példa erre ipilimumabra reagáló melanomás betegek daganatában a regulátor T-sejtek magas száma és az IDO emelkedett szintje (15). A T-limfociták aktiválódása következtében fokozódik a felszínükön a negatív szabályozó molekulák expressziója is (pl. a PD-1-é vagy a CTLA-4-é), melyek egyben az aktiváció markerei is. Másrészt az általuk termelt faktorokon keresztül indukálhatják a környezetükben lévő egyéb immunsejteken vagy a tumorsejteken az inhibitor receptorok ligandumának (pl. a PD-L1-nek) a kifejeződését, melyek jelenléte így szintén aktív immunfolyamatok kialakulását jelzi (16). A PD-L1 komplex szerepét tükrözik a prognosztikai hatásával kapcsolatos, egymásnak ellentmondó adatok is (1, 3). A PD-1/PD-L1-gátlók hatását előrejelző szerepe sem egyértelmű, aminek okai között szerepelnek többek között technikai jellegű problémák, valamint az expresszió heterogenitása és változékonysága. A PD-L1-expresszió prediktív markerként való tesztelésére

vonatkozó adatok összegzése azt mutatja, hogy a pozitivitás magasabb válaszarányjal járt együtt, azonban PD-L1-negatív esetekben is, nem elhanyagolható arányban tapasztalható klinikai válasz. Pusztán a PD-L1-expresszió alapján tehát nem lehet a beteget a kezelésből kizárni. Hasznos lehet e marker azonban randomizált klinikai vizsgálatokban stratifikációs faktorként, valamint annak eldöntésében, hogy a beteg önmagában vagy kombinációs kezelésként kapja-e pl. a PD-1-gátló terápiát (3, 20).

Bár PD-L1-pozitivitás esetén a PD-1-útvonalat célzó terápiákra adott válasz gyakorisága nagyobb, ezen esetek többsége nem reagál a kezelésre, aminek az egyik oka más immuninhibitor tényezők jelenléte lehet. Ez felveti egyrészt a PD-1/PD-L1-ágensek más immunellenőrző pontok (pl. LAG-3, TIM-3) vagy egyéb immunosuppresszív faktorok (pl. IDO, TGF- β) blokkolásán, illetve pozitív szabályozó receptor-ligandum kölcsönhatások (pl. OX40/OX40L, CD137/CD137L) stimulálásán alapuló kezelésmódokkal való kombinálásának létjogosultságát (1, 9, 60). Másrészt valószínűsíti, hogy egy-egy – szisztémás vagy lokális – faktor önmagában való alkalmazásánál hatékonyabb prediktív tényező lehet egy többkomponensű biomarkerpanel, mely információt ad a PD-L1-expresszió és a tumorinfiltráló immunsejtek denzitása mellett egyéb immunosabályozó receptorok és ligandumok kifejeződéséről.

Az immunterápiák mellett a (feltételezetten) döntően nem immunológiai hatásmechanizmusú kezelésmódok, mint a kemo-, sugár- és célzott tumorterápia hatásának is fontos komponense lehet az immunrendszer tevékenysége (5–7), ami további kombinációs stratégiák lehetőségét hordozza magában. E kezelésmódok – amellett, hogy csökkentik a tumortömeget, ami valószínűleg lényeges szempont az immunterápiák hatékonyságának növelésében – a daganat elleni immunválasz kialakulását is segíthetik az elpusztuló tumorsejtekből felszabaduló antigének, illetve közvetlenül az immunsejtekre gyakorolt hatás révén (60). Új, az eddigieknél hatékonyabb kombinációk, ezeken belül a kezelőszerek optimális sorrendjének meghatározása, és nem utolsósorban a terápia hatásának előrejelzésére alkalmas biomarker(rendszer)ek kifejlesztése a jövőben reményt ad az immunrendszerben rejlő lehetőségek kiaknázásával a daganatos betegségek széles spektruma esetében tartós klinikai hatás elérésére.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönettel tartozom Dr. Liskay Gabriellának és Dr. Oláh Juditnak a beteganyaggal kapcsolatos információk rendelkezésre bocsátásáért, Parragné Derecskei Katalinnak az immunhisztokémiai reakciók kivitelezéséért, valamint Kónya Miklósnak a fotódokumentációban nyújtott segítségért.

IRODALOM

1. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 12:252–264, 2012
2. Ladányi A, Balatoni T. Az immunválasz "akadálymentesítése": újabb lehetőségek a melanoma immunterápiájában. *Magy Onkol* 57:100–107, 2013

3. Mahoney KM, Atkins MB. Prognostic and predictive markers for the new immunotherapies. *Oncology (Williston Park)* 28(Suppl 3):39–48, 2014
4. Németh Gy, Jelinek I. A személyre szabott medicina, a biomarker-kutatás és a gyógyszerfejlesztés új irányai. *Magy Onkol* 57:5–10, 2013
5. Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, et al. The anticancer immune response: indispensable for therapeutic success? *J Clin Invest* 118:1991–2001, 2008

6. Zitvogel L, Kepp O, Kroemer G. Immune parameters affecting the efficacy of chemotherapeutic regimens. *Nat Rev Clin Oncol* 8:151–160, 2011
7. Formenti SC, Demaria S. Systemic effects of local radiotherapy. *Lancet Oncol* 10:718–726, 2009
8. Denkert C, Darb-Esfahani S, Loibl S, et al. Anti-cancer immune response mechanisms in neoadjuvant and targeted therapy. *Semin Immunopathol* 33:341–351, 2011
9. Ascierto PA, Kalos M, Schaefer DA, et al. Biomarkers for immunostimulatory monoclonal antibodies in combination strategies for melanoma and other tumor types. *Clin Cancer Res* 19:1009–1020, 2013
10. Blank CU, Enk A. Therapeutic use of anti-CTLA-4 antibodies. *Int Immunol* 27:3–10, 2014
11. Weide B, Di Giacomo AM, Fonsatti E, Zitvogel L. Immunologic correlates in the course of treatment with immunomodulating antibodies. *Semin Oncol* 42:448–458, 2015
12. Koguchi Y, Hoen HM, Bambina SA, et al. Serum immunoregulatory proteins as predictors of overall survival of metastatic melanoma patients treated with ipilimumab. *Cancer Res* 75:5084–5092, 2015
13. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 106:dju124, 2014
14. Ji RR, Chasalow SD, Wang L, et al. An immune-active tumor microenvironment favors clinical response to ipilimumab. *Cancer Immunol Immunother* 61:1019–1031, 2012
15. Hamid O, Schmidt H, Nissan A, et al. A prospective phase II trial exploring the association between tumor microenvironment biomarkers and clinical activity of ipilimumab in advanced melanoma. *J Transl Med* 9:204, 2011
16. Taube JM, Anders RA, Young GD, 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* 4:127ra37, 2012
17. Taube JM, Klein A, Brahmer JB, et al. 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* 20:5064–5074, 2014
18. Tumeh PC, Harview CL, Yearley JH, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature* 515:568–571, 2014
19. Herbst RS, Soria JC, Kowanzet M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515:563–567, 2014
20. Mahoney KM, Freeman GJ, McDermott DF. The next immune-checkpoint inhibitors: PD-1/PD-L1 blockade in melanoma. *Clin Ther* 37:764–782, 2015
21. Meng X, Huang Z, Teng F, et al. Predictive biomarkers in PD-1/PD-L1 checkpoint blockade immunotherapy. *Cancer Treat Rev* 41:868–876, 2015
22. Sunshine J, Taube JM. PD-1/PD-L1 inhibitors. *Curr Opin Pharmacol* 23:32–38, 2015
23. Carbognin L, Pilotto S, Milella M, et al. Differential activity of nivolumab, pembrolizumab and MPDL3280A according to the tumor expression of programmed death-ligand-1 (PD-L1): sensitivity analysis of trials in melanoma, lung and genitourinary cancers. *PLoS One* 10:e0130142, 2015
24. Madore J, Vilain RE, Menzies AM, et al. PD-L1 expression in melanoma shows marked heterogeneity within and between patients: implications for anti-PD-1/PD-L1 clinical trials. *Pigment Cell Melanoma Res* 28:245–253, 2015
25. Ansell SM, Lesokhin AM, Borrello I, et al. PD-1 blockade with nivolumab in relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 372:311–319, 2015
26. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, et al. Cancer genome landscapes. *Science* 339:1546–1558, 2012
27. Champiat S, Féré C, Lebel-Binay S, et al. Exomics and immunogenics. Bridging mutational load and immune checkpoints efficacy. *Oncol Immunology* 3:e27817, 2014
28. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 372:2509–2520, 2015
29. Snyder A, Makarov V, Merghoub T, et al. Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med* 371:2189–2199, 2014
30. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 348:124–128, 2015
31. Malyguine AM, Strobl SL, Shurin MR. Immunological monitoring of the tumor microenvironment for clinical trials. *Cancer Immunol Immunother* 61:239–247, 2012
32. Sabatino M, Kim-Schulze S, Panelli M, et al. Serum vascular endothelial factor and fibronectin predict clinical response to high-dose interleukin-2 therapy. *J Clin Oncol* 27:2645–2652, 2009
33. Schmidt H, Bastholt L, Geertsen P, et al. Elevated neutrophil and monocyte counts in peripheral blood are associated with poor survival in patients with metastatic melanoma: a prognostic model. *Br J Cancer* 93:273–278, 2005
34. Rubin JT, Etwood LJ, Rosenberg SA, Lotze MT. Immunohistochemical correlates of response to recombinant interleukin-2-based immunotherapy in humans. *Cancer Res* 49:7086–7092, 1989
35. Håkansson A, Gustafsson B, Krysanter L, Håkansson L. Tumour-infiltrating lymphocytes in metastatic malignant melanoma and response to interferon alpha treatment. *Br J Cancer* 74:670–676, 1996
36. Tjin EPM, Kribbers G, Meijlink KJ, et al. Immune-escape markers in relation to clinical outcome of advanced melanoma patients following immunotherapy. *Cancer Immunol Res* 2:538–546, 2014
37. Weiss GR, Grosh WW, Chianese-Bullock KA, et al. Molecular insights on the peripheral and intratumoral effects of high-dose rIL-2 (aldesleukin) administration for the treatment of metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 17:7440–7450, 2011
38. Ulloa-Montoya F, Louahed J, Dizier B, et al. Predictive gene signature in MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapy. *J Clin Oncol* 31:2388–2395, 2013
39. McDermott DF, Cheng SC, Signoretti S, et al. The high-dose aldesleukin “Select” trial: a trial to prospectively validate predictive models of response to treatment in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 21:561–568, 2014
40. Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, et al. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 8:299–308, 2008
41. Sim GC, Chacon J, Haymaker C, et al. Tumor-infiltrating lymphocyte therapy for melanoma: rationale and issues for further clinical development. *BioDrugs* 28:421–437, 2014
42. Radvanyi LG, Bernatchez C, Zhang M, et al. Specific lymphocyte subsets predict response to adoptive cell therapy using expanded autologous tumor-infiltrating lymphocytes in metastatic melanoma patients. *Clin Cancer Res* 18:6758–670, 2012
43. Robbins PF, Lu YC, El-Gamil M, et al. Mining exomic sequencing data to identify mutated antigens recognized by adoptively transferred tumor-reactive T cells. *Nat Med* 19:747–752, 2013
44. Bedognetti D, Spivey TL, Zhao Y, et al. CXCR3/CCR5 pathways in metastatic melanoma patients treated with adoptive therapy and interleukin-2. *Br J Cancer* 109:2412–2423, 2013
45. Gianni L, Zambetti M, Clark K, et al. Gene expression profiles in paraffin-embedded core biopsy tissue predict response to chemotherapy in women with locally advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 23:7265–7277, 2005
46. Denkert C, Loibl S, Noske A, et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 28:105–113, 2010
47. Denkert C, von Minckwitz G, Brase JC, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes and response to neoadjuvant chemotherapy with or without carboplatin in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative primary breast cancers. *J Clin Oncol* 33:983–991, 2014
48. West NR, Milne K, Truong PT, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes predict response to anthracycline-based chemotherapy in estrogen receptor-negative breast cancer. *Breast Cancer Res* 13:R126, 2011
49. Anitei MG, Zeitoun G, Mlecnik B, et al. Prognostic and predictive values of the Immunoscore in patients with rectal cancer. *Clin Cancer Res* 20:1891–1899, 2014
50. Balermipas P, Michel Y, Wagenblast J, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes predict response to definitive chemoradiotherapy in head and neck cancer. *Br J Cancer* 110:501–509, 2014
51. Wimberly H, Brown JR, Schalper K, et al. PD-L1 expression correlates with tumor-infiltrating lymphocytes and response to chemotherapy in breast cancer. *Cancer Immunol Res* 3:326–332, 2014
52. Borg C, Terme M, Taïeb J, et al. Novel mode of action of c-kit tyrosine kinase inhibitors leading to NK cell-dependent antitumor effects. *J Clin Invest* 114:379–388, 2004
53. Ko JS, Zea AH, Rini BI, et al. Sunitinib mediates reversal of myeloid-derived suppressor cell accumulation in renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 15:2148–2157, 2009
54. Frederick DT, Piris A, Cogdill AP, et al. BRAF inhibition is associated with enhanced melanoma antigen expression and a more favorable tumor microenvironment in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 19:1225–1231, 2013
55. Ferris RL, Jaffee EM, Ferrone S. Tumor antigen-targeted, monoclonal antibody-based immunotherapy: clinical response, cellular immunity, and immunoescape. *J Clin Oncol* 28:4390–4399, 2010
56. Maréchal R, De Schutter J, Nagy N, et al. Putative contribution of CD56 positive cells in cetuximab treatment efficacy in first-line metastatic colorectal cancer patients. *BMC Cancer* 10:340, 2010
57. Loi S, Michels S, Salgado R, et al. Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Ann Oncol* 25:1544–1550, 2014
58. Gajewski TF, Woo SR, Zha Y, et al. Cancer immunotherapy strategies based on overcoming barriers within the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol* 25:268–276, 2013
59. Ladányi A, Sebestyén T, Balatoni T, et al. Tumor-infiltrating immune cells as potential biomarkers predicting response to treatment and survival in patients with metastatic melanoma receiving ipilimumab therapy. *Eur J Cancer* 51(Suppl 3):S111–112, 2015
60. Mahoney KM, Rennert PD, Freeman GJ. Combination cancer immunotherapy and new immunomodulatory targets. *Nat Rev Drug Discov* 14:561–584, 2015