

Az immunonkológia újdonságai a szolid tumorok és a hematológiai daganatok kezelésében – az immunellenőrzőpont-gátlók*

FÉSÜS VIKTÓRIA

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, V. évfolyam, Budapest

Konzulens: DR. BÖDÖR CSABA

MTA-SE Lendület Molekuláris Onkohematológia Kutatócsoport, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, Budapest

Anyagi támogatás: A közlemény az MTA Lendület program támogatásával készült.

*Krompecher-díjat nyert pályamunka rövidített változata

Levelezési cím:

Fésüs Viktória, Semmelweis Egyetem, I. Sz. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet, 1085 Budapest, Üllői út 26.
Tel.: 0036-1-215-7300/54462,
e-mail: fesus.viktoria@med.semmelweis-univ.hu

Közlésre érkezett:

2017. április 28.

Elfogadva:

2017. május 8.

Az onkológia az immunterápiák korszakába érkezett, ugyanis a betegek saját immunrendszerének terápiás átprogramozásával, a tumorellenes immunválasz támogatásával nagyszűrű eredmények érhetőek el számos rendkívül rossz prognózisú daganatban. A különböző hatásmechanizmusú immunterápiák közül az immunrendszer ellenőrzési pontjain ható immunellenőrzőpont-gátlók (immune checkpoint inhibitors, ICI) bizonyulnak a leghatékonyabbnak, elsősorban szolid tumorokban (melanóma, nem kissejtes tüdőrák), valamint klasszikus Hodgkin-limfómában. A terápia hatékonyságának magyarázata, hogy e daganatok többségében egy immunszuppresszív mikrokörnyezet van jelen, mely a hatékony effektor T-sejt-választ különféle direkt és indirekt mechanizmusokkal gátolja, melynek terápiás visszafordítása már lehetséges. A citotoxikus T-limfocita antigén 4 (CTLA-4) és a programozott sejthalál fehérje 1 (PD-1) ellenőrzési pontok gátlószerei közül mára Európában három, az USA-ban hat gyógyszer rendelkezik engedéllyel, de klinikai vizsgálatok keretein belül növekvő számban érhetőek el egyéb immunellenőrzési pontok gátlószerei is. A növekvő számú ICI-k megfelelő alkalmazásához egyre nagyobb igény van megbízható prediktív biomarkerek azonosítására, valamint a terápia kapcsán fellépő rezisztencia mechanizmusainak feltérképezésére; mindez a következő évek fő kihívása lesz. *Magy Onkol* 61:116–125, 2017

Cancer immunotherapy is coming of age, as outstanding results can be achieved in the therapy of cancer with poor prognosis by altering the patients' immune system and by promoting the immune response against tumours. Amongst immunotherapies, the immune checkpoint inhibitors (ICI) proved to be the most effective, primarily in the treatment of solid tumours, including melanoma, non-small cell lung carcinoma, and classical Hodgkin's lymphoma. The reason for this efficacy is the immunosuppressive microenvironment typical for many cancer types, directly and indirectly inhibiting effector T-cell responses. To date, three cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) or programmed cell death protein 1 (PD-1) checkpoint inhibitors have been approved in Europe, and six in the USA. Furthermore, an increasing number of these drugs is available in the setting of clinical trials. For the optimal use of the numerous different ICIs there is an ever increasing need to identify reliable predictive biomarkers and to explore therapy-associated resistance mechanisms, which will represent the main challenge of the next years.

Fésüs V. Recent advances of immuno-oncology in the treatment of solid tumours and haematological malignancies: the immune checkpoint inhibitors. Magy Onkol 61:116–125, 2017

Kulcsszavak: immunterápia, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab

Keywords: immunotherapy, immune checkpoint blockade, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab

BEVEZETÉS

A XXI. század elején az onkológia új fejezete kezdődött, melyben a kutatások és egyre inkább a kezelési stratégiák fókuszában is az immunológiai mechanizmusok befolyásolása áll. A tumorimmunológia ma az egyik legintenzívebben fejlődő tudományterület, melynek eredményei körülbelül egy évszázad alatt gyökeresen változtatták meg a daganatokról való elképzeléseinket; mindez új kapukat nyitott meg a daganatos betegek kezelésében.

Ma már ismert tény, hogy a daganatok túléléséhez rendszerint szükséges egy immunosuppresszív mikrokörnyezet létrehozása [1]. Az ott lévő immunsejtek fenotípusát, illetve működését a tumorsejtek és a tumor strómájának sejtjei gyakran módosítják. A tumor mikrokörnyezetének egyes immunsejtalkotói – elsősorban a regulátor T-sejtek (Treg) és a tumorasszociált makrofágok (TAM) – a daganat növekedését, túlélését, illetve progresszióját támogatják [2]. A daganat és az immunrendszer között tehát egy szoros kapcsolat áll fenn, mely gyakran feltétele a progresszióknak, e kapcsolatok megismerésével pedig lehetőség nyílt a patológias folyamatok terápiás befolyásolására. A XIX. század végén alkalmazott első immunterápia óta az immunonkológia óriási fejlődésen ment keresztül, melynek eredményeképp ma mintegy félszáz immunterápiás lehetőség (sejt-, antitest-, ill. citokinalapú terápiák) áll rendelkezésre; a többség egyelőre limitáltan, klinikai vizsgálatok keretein belül érhető el [3, 4]. A daganatok kezelésében az immunterápiás gyógyszerek száma rohamosan nő, ami e terápiás modalitás potenciáljára utal [5, 6]. A legeredményesebb immunterápiák ma az ún. immunellenőrzőpont-gátlók (PD-1/PD-L1 és CTLA-4 elleni antitestek), illetve a génmódosítással előállított kiméra antigénreceptort expresszáló T-sejtek (CAR-T). E terápiák ma a szolid tumorok közül melanóma és nem kissejtes tüdőrák (NSCLC) esetén, míg a hematológiai daganatok közül Hodgkin-limfómában a legsikeresebbek [4].

TUMORELLENES IMMUNVÁLASZ

Immunrendszerünk három fő funkciója a saját struktúrák védelme, a saját és idegen elkülönítése, illetve a tumorok növekedésének gátlása [7]. Az idegen struktúrák felismeréséhez és eliminálásához két ún. frontvonal van a szervezetünkben, a természetes (granulociták, makrofágok) és az adaptív immunitás (T-, B-sejtek), azonban ma már ismerünk a két rendszer határterületén működő sejteket (γδ T-sejtek és natural killer T-sejtek) is [7]. Míg a természetes immunrendszer egy gyors, nem specifikus immunválasszal reagál az idegen struktúrák közül elsősorban az infekciókra, addig az adaptív immunrendszer egy jóval elnyújtottabb, specifikus válaszáért felel, melynek kiemelt jelentősége van többek között a tumorok elleni védekezésben [7]. Az egyes immunterápiás beavatkozási lehetőségek megértéséhez kiemelten fontos ismerni, hogy immunrendszerünk milyen endogén válaszokkal rendelkezik a daganatosan transzformált sejtek eltávolítására. Hasonlóan fontos a T-sejtek működésének,

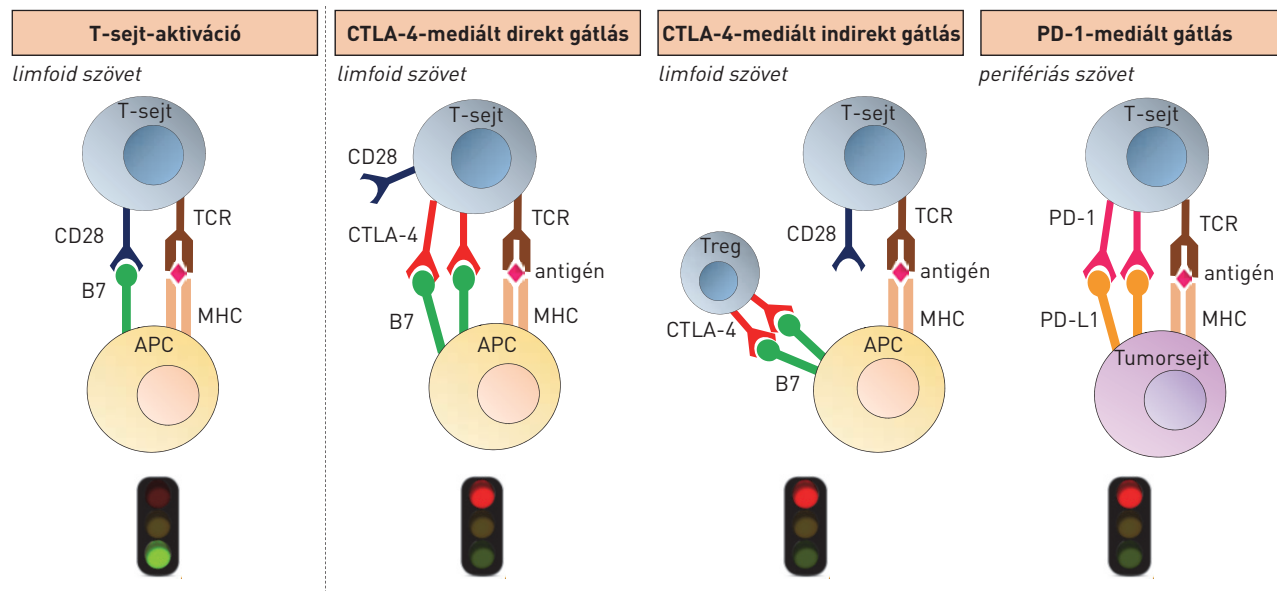
aktivációjának ismerete is, e sejtek ugyanis a tumorelles immunválasz koordinátorai, ezáltal legfontosabb résztvevői.

Az effektív daganatellenes immunválaszhoz számos lépésre van szükség, melyek összességét tumorimmunitási ciklusnak nevezzük [8]. A tumorantigéneket a perifériás szövetekben cirkuláló antigénprezentáló sejtek (APC), jellemzően dendritikus sejtek (DC) veszik fel, majd szállítják a nyirokcsomókba, ahol MHC-molekuláikhoz kapcsoltnak, kostimulációs mechanizmusok kíséretében bemutatják az ott várakozó T-sejteknek, melyek aktiválódnak [7, 8]. Aktiválódás esetén a T-sejtek elhagyják a nyirokcsomót, és a keringéssel a tumorszövetbe jutnak, ahol felismerik a tumorsejteket és tumorspecifikus effektor és memória T-sejtekké alakulnak, majd egyéb immunsejtekkel, valamint a párhuzamosan létrejövő humorális immunválasszal közreműködve elpusztítják a daganatot [7, 8]. Ez a folyamat különösen az immunogén, azaz tumorspecifikus antigént, MHC-t expresszáló, így az immunrendszer számára látható daganatok evolúciójának kezdetén hatékony, egy már kialakult daganat esetén sajnos ritkán eredményes.

IMMUNELLENŐRZÉSI PONTOK

A nyirokcsomókban, perifériás szövetekben megjelenő perifériás tolerancia a timuszban végbemenő centrális tolerancia mechanizmusát kiegészítve az esetleges keresztreaktivitás vagy túlzott aktiválódás eredményeképp kialakuló autoimmunitás megakadályozását szolgálja [7]. A daganatok az immunrendszer elnyomásához a gátló citokinek (IL-10, TGF-β) termelése, és a gátló immunsejtek (Treg) odavonzása mellett előszeretettel használják a perifériás tolerancia mechanizmusait, ezzel gátolva az őket egyébként felismerő T-sejtek működését, így a hatékony immunválasz kialakulását [7]. Alkotóelemei közül kiemelt jelentőségű az immunellenőrzési pontok ismerete, terápiás gátlásuk ugyanis óriási áttörést hozott több rendkívül agresszív daganat, köztük a melanóma, vesesejtes rák (RCC), NSCLC és a klasszikus Hodgkin-limfóma (cHL) kezelésében is [9]. Az immunellenőrzési pontok közül a legfontosabbak a citotoxikus T-limfocita-asszociált antigén 4 (CTLA-4) és a programozott sejtthalál 1 (PD-1) útvonalak, számos kevésbé ismert ellenőrzési pont (pl. TIM-3, LAG-3) mellett [9].

A CTLA-4 egy vezető ellenőrzési pont, már a naiv T-sejt aktivációjának kezdeti „priming” fázisában, a nyirokcsomóban blokkolja a potenciálisan autoreaktív T-sejteket. A CTLA-4 a B7/CD28 család tagja, egy CD28-homológ, mely jóval magasabb affinitással kötődik a B7-hez, azonban nem vezet aktiváló szignálokhoz, tehát egy kompetitív molekula. Ennek megfelelően a CD28:B7 és CTLA-4:B7 kapcsolatok aránya fogja eldönteni, hogy a T-sejtek aktiválódnak vagy anergiába kerülnek [1. ábra] [10]. Sőt, néhány tanulmány azt feltételezi, hogy a CTLA-4 B7-hez kötődve gátló szignálokat eredményez, melyek közömbösítik/ellensúlyozzák a CD28:B7 és TCR:antigén:MHC kapcsolatokból származó serkentő szignálokat [11]. Az aktiválódott effektor T-sejtek CTLA-4-tartalmú ve-



1. ÁBRA. A T-sejt-aktiváció, valamint annak CTLA-4-, illetve PD-1-mediált gátlása. A T-sejtek aktivációjához a TCR:antigén:MHC kapcsolat mellett kostimuláció is szükséges, amit például a CD28:B7 kapcsolat közvetít. Az APC-T-sejt kapcsolat kimenetelét, azaz az aktiválódást vagy anergiát a stimuláló CD28:B7 és a gátló CTLA-4:B7 interakciók aránya határozza meg. A T-sejtek aktivációját gátolva, a CTLA-4 az immunválaszt korábbi fázisban (priming) és centrálisabb lokalizációban (limfoid szövetek) gátolja. A PD-L1/PD-L2 ezzel szemben a perifériás szövetekben, tumorszövetekben felel a T-sejtek túlzott aktivációjának gátlásáért, így az immuntolerancia kialakulásáért, fenntartásáért. TCR: T-sejt-receptor; APC: antigénprezentáló sejt; MHC: fő hisztokompatibilitási komplex; PD-1: programozott sejthalál fehérje 1; PD-L1: programozott sejthalál ligandum 1; CTLA-4: citotoxikus T-limfocita antigén 4

zikulák exocitózisaival növelik meg felszínükön a CTLA-4 expresszióját, ami egy negatív visszacsatoláshoz vezet, elkerülve ezzel a T-sejtek maximális aktiválódását, a krónikus gyulladás kialakulását. Az effektor T-sejtekkel ellentétben a Treg-sejtek konstitutívan, nagy mennyiségben expresszálják a CTLA-4-et, és részben ennek segítségével töltik be gátló funkciójukat a perifériás tolerancia fenntartásában (12). Ilyen magas CTLA-4-koncentrációjú környezetben szinte lehetetlenné válik a T-sejt-aktiváció. A Treg által létrehozott fokozott CTLA-4-expresszió hatására a T-sejtek anergiába kerülnek, az APC-k felszínén pedig csökken a B7 mennyisége (1. ábra) (13).

A PD-1 ellenőrzési pont az immunválasz későbbi, „effektor” fázisában, a perifériás szövetekben felel a T-sejtek gátlásáért (1. ábra). A PD-1 szintén a B7/CD28 család tagja, mely a T-sejteken kívül B- és NK-sejteken is expresszálódik. Amennyiben a PD-1 a ligandumához (PD-L1 vagy PD-L2) köt, a PD-1-út vonal a TCR-út vonallal együtt aktiválódva felfüggeszti a TCR-jelátvitelt, így gátolja a T-sejtek proliferációját, citokintermelését (IFN- γ , TNF- α és IL-2) és csökkenti a T-sejtek túlélését (14). A PD-1-expresszió a T-sejtek kimerülésének jelzője, mivel rendszerint a rengeteg stimulációt meg tapasztalt T-sejteken fordul elő, s a T-sejtek funkciójának

csökkentésével a fertőzések és daganatok szuboptimális kontrolljához vezet (15). A tumorszövetben a PD-1-tengelynek kiemelt jelentősége van, többek között gátolja a tumorsejtek apoptózisát és elősegíti a Treg-sejtek kialakulását (16). A PD-L1-pozitivitás számos tumortípusban megfigyelhető, és a tumorinfiltráló limfociták (TIL) megnövekedett számához, valamint rossz prognózishoz köthető. A PD-1 másik liganduma, a PD-L2 nagyobb affinitással kötődik a PD-1-hez, és DC-k, monociták mellett szintén számos immun- és egyéb sejten expresszálódik. Összességében a PD-1:PD-L1 és PD-1:PD-L2 tengelyek a limfocitákkal infiltrált perifériás szövetekben felelnek a toleranciáért. A Treg-sejtek is expresszálják PD-1-et, melynek szerepe még nem tisztázott; *in vitro* kísérletek alapján a PD-1-blokád a Treg-mediált gátlás visszafordításához vezet (17).

Összehasonlítva a két ellenőrzési pontot, míg a T-sejtek proliferációját, citokintermelését, túlélését egyaránt csökkentik, addig többek között a gátlás időzítésében és anatómiai lokalizációjában különböznek (1. táblázat). A CTLA-4 a T-sejt-aktiváció kezdeti fázisában, a limfoid szövetekben gátolja az immunválaszt, míg a PD-1 a későbbi, effektor fázisban, jellemzően a perifériás szövetekben. A két immunellenőrzési pont eltér ligandumaik eloszlásában is, a B7

1. TÁBLÁZAT. A CTLA-4 és a PD-1 ellenőrző pontok fő sajátosságai

Szempont	CTLA-4	PD-1
Expresszió	aktivált T-sejtek felszínén	aktivált T-sejtek és egyéb immunsejtek
Ligandum	B7.1 (CD80), B7.2 (CD86)	PD-L1 (B7-H1/CD274), PD-L2 (B7-DC/CD273)
Ligandum expressziója	professzionális APC	APC, egyéb immun és nem immun sejt, tumorsejt
Fő funkció	túlzott kezdeti T-sejt-aktiváció megelőzése	túlzott effektor T-sejt-aktivitás, illetve autoimmunitás megelőzése a perifériás szövetekben
Gátlás ideje	immunválasz kezdeti „priming” fázisa	immunválasz későbbi „effektor” fázisa
Gátlás lokalizációja	elsősorban limfoid szövetek	perifériás szövetek

PD-1: programozott sejthalál fehérje 1; PD-L1/2: programozott sejthalál ligandum 1/2; CTLA-4: citotoxikus T-limfocita antigén 4; APC: antigénprezentáló sejt

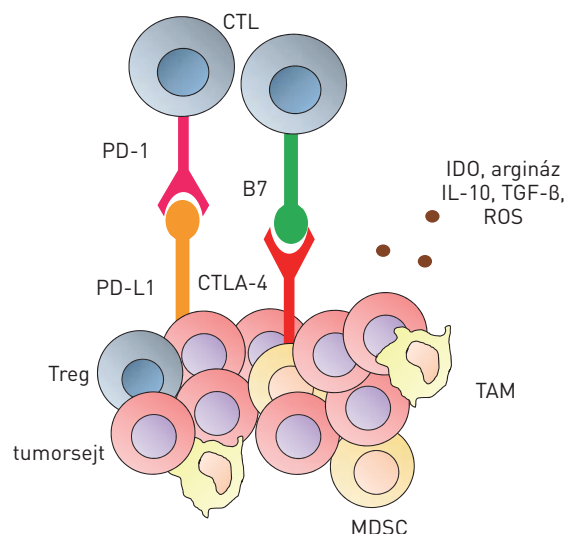
a professzionális antigénprezentáló sejteken expresszálódik, míg a PD-L1 immunsejteken, nem hematopoetikus sejteken, sőt gyulladásos citokinek vagy daganatos jelátvitel (IFN- γ) hatására parenhimasejteken is kifejeződik [1].

IMMUNRENDSZERÜNK A DAGANAT „SZOLGÁLATÁBAN”

A kialakuló tumor és az immunrendszer kapcsolatát kezdetben mindent vagy semmit alapon képzelték el, miszerint a daganat vagy képes legyőzni a gazdaszervezet immunrendszerét és túlél, vagy nem képes, és elpusztul. Mára jóval komplexebb lett a kép, ugyanis ismert, hogy a daganat és az immunrendszer párhuzamos evolúción megy keresztül, melynek végeredménye egy módosított, működésében gátolt, tumort támogató immunrendszerben virágzó daganat [2]. A jelenséget először 2001-ben bizonyították be Shankaran és mtsai; megfigyeléseik alapján az immundeficiens donor egerekből származó tumorok a naiv akceptor egerek közül csak az immundeficiens egerekben növekedtek, az intakt immunrendszerűekben a tumorgraft kilökődött. E jelenség magyarázatára ma egy népszerű hipotézis, az ún. „immunoeediting” áll rendelkezésünkre [18]. A daganatok progressziója során az immunoeediting a daganatos transzformációt követően, a progresszió egyik legkorábbi lépéseként jelenik meg, és három fázisát (elimináció, egyensúly és elszabadulás) követően a tumorsejtek biológiája az immunrendszer nyomására, elsősorban epigenetikai modulációk következtében megváltozik, immunogenitásuk csökken, rejtőzködő és angiogén képességeket vesznek fel [2. ábra] [2]. A lecsökkent immunogenitású tumorsejtek láthatatlanok a citotoxikus T-sejtek számára, emellett gátlás alá kerül az antigénprocesszálas, illetve az APC-k antigénprezentáció-

ja is [2]. A hatékony effektor funkció helyett többek között Treg-sejtek és mieloid eredetű szuppresszor sejtek (MDSC) gyűlnek a tumorszövetbe, melyek az effektor funkciót gátló miliót hoznak létre [2]. Ez a megbomlott egyensúly vezet az immunrendszer kijátszásához, amit makroszkopikus daganat kialakulása követ [2. ábra]. A túlélő tumor nem immunogén (a tumorspecifikus antigének, MHC-molekulák expressziója csökken), klonálisan heterogén, genetikailag instabil, az immunválaszt pedig különböző szuppresszor sejtek (Treg, MDSC, TAM) gátolják [2. ábra] [2].

Összefoglalásul, az immunoeediting során tehát az eredetileg gazdaszervezetet védelmező immunrendszer egy tumor kialakulásának kedvező, azt progressziójában támogató immunrendszerre alakul. Ezzel kapcsolatban meg kell említeni a tumornövekedés és (klinikai) detektálás összefüggését ábrázoló, mindenki által jól ismert exponenciális görbét, mely klasszikusan a diagnóziskori magas [10⁹] tumorsejtszámot



2. ÁBRA. A tumor mikrokörnyezetének immunológiája. A tumorsejtek számára az egyik fő túlélési mechanizmus a T-sejtek aktivitását, túlélését, migrációját gátló mikrokörnyezet (TME) létrehozása. A TME immunosuppresszív miliójában a CD8⁺ citotoxikus T-sejtek effektor funkciójának gátlását a TME sejtalkotói az immunellenőrzési pontokon ható gátló ligandumok expressziójával (CTLA-4, PD-L1), IDO, argináz-1, reaktív oxigéngyökök és nitrogénszármazékok termelésével, valamint immunosuppresszív citokinek termelésével (IL-10, TGF- β) hozzák létre. TAM: tumorasszociált makrofág; MDSC: mieloid eredetű szuppresszor sejt; PD-1: programozott sejthalál fehérje 1; PD-L1: programozott sejthalál ligandum 1; CTLA-4: citotoxikus T-limfocita antigén 4; CTL: citotoxikus T-limfocita; Treg: regulátor T-sejt; IDO: indolamin 2,3-dioxigenáz; IL: interleukin; TGF- β : transzformáló növekedési faktor- β ; ROS: reaktív oxigéngyök

jelöli meg a rövid túlélés (10^{12} sejtnél a beteg halála) fő okának (19). Az itt leírtak alapján világos, hogy amennyiben a daganatot az evolúciójának későbbi szakaszában ismerjük fel, nem csak nagyobb számú tumorsejttel, de az immunrendszert kijátszani képes tumorral állunk szemben, amivel szemben az immunrendszer már elvesztette a csatát.

AZ IMMUNSEJTES INFILTRÁTUM PROGNOSZTIKUS SZEREPE

1863-ban Rudolf Virchow írta le először limfociták jelenlétét neoplasztikus szövetekben, és vetette fel a kapcsolatot a gyulladás és a daganatok között (20). Egy adott beteg daganatos szövetéből izolált limfocitákat ma tumort infiltráló limfocitáknak (TIL) nevezzük (21). A döntően T-sejtekből álló TIL sejtei (T-, B- és NK-sejtek) a tumorsejtek között és a strómában is jelen lehetnek (22). A jelen lévő TIL nemcsak az immunrendszer daganatos folyamatra adott válaszát határozza meg, hanem szerepet játszik a kemoterápiára adott válasz közvetítésében is (22).

Az immunterápia korszakában ma már az immunsejtes infiltrátum mennyisége alapján „hot” és „cold” tumorokról beszélünk (23). A immunsejtes infiltrátumban gazdag „hot” tumorok jellemzően karcinogénexpozícióra alakulnak ki, mint a dohányzás tüdőrákban, vagy az UV-sugárzás melanómában, és számos mutációt, valamint aberráns fehérjét tartalmaznak, mely utóbbiak egy részét az immunrendszer idegenként ismeri fel (23). Egyes kutatók szerint a „hot” tumorokban a sebészi eltávolítás után kisebb az esélye a relapszusnak, mivel a szervezet tumorspecifikus memória T-sejtekkel megakadályozza azt. Az immunoediting folyamatát ismerve nem meglepő, hogy az immunsejtes infiltrátum mennyisége nem minden daganatnál korrelál a túléléssel. Mivel egyre több tanulmányban számolnak be az immunsejtes infiltrátum túlélésre (OS) gyakorolt, TNM-klasszifikációtól független hatásáról, bevezetésre került egy pontrendszer – az immunoscore („I”) –, ami a „grade” és a „stage” mellé egy rendkívül fontos, prediktív és prognosztikus információt szolgáltat a klinikusok számára (24). Az immunoscore-t a tumor centrális részében, illetve az invazív tumorszélekben található citotoxikus ($CD8^+$) és memória ($CD45RO^+$) T-sejtek számából kapjuk meg. A kapott érték 0 és 4 közötti tartományban mozog, 10 esetén mindkét sejttípus mindkét régióban kis sűrűséggel van jelen, míg 14 tumornál mindkét sejttípusból sok van mindkét területen. A korai eredmények alapján kolorektális karcinómában az immunoscore egy TNM-osztályozást kiegészítő, megbízható prognosztikus faktornak bizonyult (24).

A TUMOR MIKROKÖRNYEZETÉNEK IMMUNOLÓGIÁJA

A tumorsejtek számára az egyik fő túlélési mechanizmus a T-sejtek aktivitását, túlélését, migrációját gátló mikro környezet létrehozása, mely így elrejtíti őket az immunrendszer elől. A megváltoztatott funkciójú, de genetikailag ép strómát a tumor mikro környezetének hívjuk (TME), mely eredetileg

ott lévő és odairányított sejtekből áll, és a tumorsejt-TME interakciókon keresztül a daganat tulajdonságaiért és a progresszióért felel (1).

A tumorszövetben az adaptív és a természetes immunrendszer sejtei egyaránt jelen vannak, amit kezdetben jótékony jelenségnek tulajdonítottak, ma már azonban tudjuk, hogy ezek az immunsejtek nem csak a daganat progresszióját és metasztázisok kialakulását, de a daganat kialakulását is elősegíthetik (25). A természetes immunrendszer sejtei közül a TME fontos elemei a tumorasszociált makrofágok (TAM), a mieloid eredetű szuppresszor sejtek (MDSC) és a tumorasszociált neutrofil granulociták (TAN); mindhárom sejttípus részt vesz a T-sejtek effektorfunkciójának gátlásában (2. ábra). Az APC-k rendszerint hiányoznak vagy kis mennyiségben vannak jelen a mikrokörnyezetben, és amennyiben jelen vannak, tolerogén fenotípus (kostimulációs molekulák alacsony expressziója) jellemzi őket. A nem sejt komponensek közül meg kell említeni az indolamin 2,3-dioxigenázt (IDO), ami a patológias immunfolyamatok támogatásáért felel, gátolja többek között a T- és NK-sejtek funkcióját, serkenti a Treg-ek és az MDSC-k aktivációját, proliferációját (26).

Az immunuszuppresszív milió legfőbb sejt koordinátorai a Treg-sejtek, melyek a TME $CD4^+$ T-limfocitáinak többségét alkotják. A Treg-túlsúly két fő mechanizmussal alakul ki: természetes Treg-ek (nTreg) keringésből való kilépésével CCR4 receptoruk és a mikrokörnyezetben levő CCL22/7 interakciója hatására, valamint naív T-sejtek konverziójával indukált Treg-sejtek (iTreg) létrejöttével. A konverzió folyamatát a mikrokörnyezet, illetve maguk a tumorsejtek TGF- β és IL-10 szekréciójával szabályozzák (27). A Treg-sejtek CCL22, PGE₂ és TNF- α hatására lépnek ki a keringésből a tumorszövetbe, ahol a fiziológias esetben perifériás tolerancia fenntartásához felhasznált mechanizmusokkal immunuszuppressziót hoznak létre a $CD8^+$ T-sejtek, DC-k és NK-sejtek működésének gátlásával.

A tumorelles immunválasz kiemelt tagjai, a $CD8^+$ T-sejtek a keringésből ICAM- és VCAM-expresszió hatására lépnek ki, funkciójuk azonban a TME által fenntartott immunuszuppresszív milióban rendkívül hatékonyan gátlódik, végül a tumorsejtek és a TME PD-L1-expressziója hozzájárul az effektor T-sejtek kimerüléséhez, továbbá közvetlenül gátolja a tumorsejtek apoptózisát, tehát gyakorlatilag egy statikus állapotot hoz létre (16).

AZ IMMUNELLENŐRZŐPONT-GÁTLÓK (ICI)

Az onkológiában az első immunterápiát William B. Coley hajtotta végre 1891-ben, amikor is egy terminális állapotú, inoperábilis szarkómás páciensénél egy baktériumokból készített vakcinával súlyos *Streptococcus pyogenes*-fertőzést hozott létre, amely hatására a beteg komplett remisszióba került (3). Ez a „Coley-toxin” nevezett készítmény volt az immunterápia egyik első példája. Azóta exponenciálisan növekszik a tudásunk az immunológiai folyamatok szerepéről

2. TÁBLÁZAT. Európában és az USA-ban engedélyezett immunellenőrzőpont-gátlók

Gyógyszer	Hatásmechanizmus	FDA-engedély	FDA-indikáció	EMA-engedély	EMA-indikáció
Ipilimumab	anti-CTLA-4	2011	melanóma	2011	melanóma
Nivolumab	anti-PD-1	2014	melanóma, NSCLC, RCC, cHL, HNSCC, UCC	2015	melanóma, NSCLC, RCC, cHL, HNSCC
Pembrolizumab	anti-PD-1	2014	melanóma, NSCLC, HNSCC, cHL	2015	melanóma, NSCLC
Atezolizumab	anti-PD-L1	2016	UCC, NSCLC	-	-
Avelumab	anti-PD-L1	2017	MCC	-	-
Durvalumab	anti-PD-L1	2017	UCC	-	-

PD-1: programozott sejthalál fehérje 1; PD-L1: programozott sejthalál ligandum 1; CTLA-4: citotoxikus T-limfocita antigén 4; FDA: Food and Drug Administration; EMA: European Medicines Agency; RCC: vesesejtes rák; HNSCC: fej-nyaki laphámsejtes rák; NSCLC: nem kisesejtes tüdőrák; cHL: klasszikus Hodgkin-limfóma; UCC: urotelisejtes rák; MCC: Merkel-sejtes karcinóma

a daganatok progressziójában, ami új terápiás lehetőségek megjelenésében is megnyilvánul. A daganatok kezelésében egy szemléletváltásnak lehetünk tanúi: az összes tumor-sejt agresszív kemoterápiával történő elpusztítása helyett ma már inkább a különböző terápiás modalitások helyesen megválasztott kombinációit alkalmazzuk, amit egyre inkább a tumorelles immunválasz támogatásával egészítünk ki. Mindez nemcsak csökkenti a kezelés toxicitását, de növeli hatékonyságát is.

Annak felismerése óta, hogy a daganatok előszeretettel használják az immunrendszer ellenőrző pontjain ható koinhibitor molekulákat (PD-L1) a tumorelles immunválasz elnyomására, ennek terápiás megakadályozására intenzív kutatások folynak, ez a beavatkozás ugyanis megszünteti a tumorok által létrehozott mesterséges toleranciát és újraindítja a tumorelles immunválaszt. Ezen összefoglaló közlemény egyik célja az immunellenőrzőpont-gátlók (ICI) ismertetése, azok ugyanis az első ICI – az anti-CTLA-4 monoklonális antitest, ipilimumab – megjelenése óta egyre növekvő számban jelennek meg a terápiás protokollokban. Jelenleg Európában három, az USA-ban hat ilyen gyógyszer van forgalomban, de egyre többet tesztelnek fázis II-III-as vizsgálatokban is [2. táblázat] [4, 5, 28]. A klinikai vizsgálatok alapján az ICI-k alkalmazása rendkívül ígéretes, sőt, néhány kórképben – például melanómában és NSCLC-ben – hatékonyságuk felülmúlja mind a hagyományos kemoterápia, mind a célzott terápia eredményeit [5, 6].

Hatásmechanizmus

A CTLA-4 az effektor T-sejteken, valamint a Treg-sejteken helyezkedik el. Blokkolásával az immunrendszer kezdeti, ún. „priming” fázisát serkentjük, hatására az effektor T-sejtek aktivációs és proliferációs rátája TCR-specifitástól függetlenül megnő, továbbá csökken a Treg-sejtek T-sejt-válaszra kifejtett gátló hatása [3. ábra]. Mindez a perifériás T-sejtek számának, valamint a T-sejt-pool diverzitásának növekedését eredményezi [29].

A PD-1 a T-sejteken, valamint egyéb immunsejteken helyezkedik el. A PD-1 vagy a PD-L1 blokkolásával az immunrendszer későbbi, ún. „effektor” fázisát serkentjük, a tartósan erős antigénexpozíció miatt kimerült T-limfociták visszakapcsolásával [3. ábra] [15]. A PD-L1-expresszió tumortípustól függően különböző mértékben figyelhető meg, az azonban még kérdéses, hogy a PD-1-blokkád eredményessége a tumorsejtek, a TIL vagy egyéb immunsejtek PD-L1-expressziójával függ-e össze [30–32]. A terápia finomítható, ha specifikusan a PD-L1-et blokkoló antitestet alkalmazunk, így ugyanis megmarad a PD-1:PD-L2 kapcsolat, ami megőrzi a saját struktúrák iránti toleranciát. További előny a PD-L1 blokkolásánál, hogy mivel a PD-L1 a CD80-hoz is tud kötődni, blokkolásával a PD-L1:CD80 kapcsolat által közvetített T-sejt-gátlás is csökken [33].

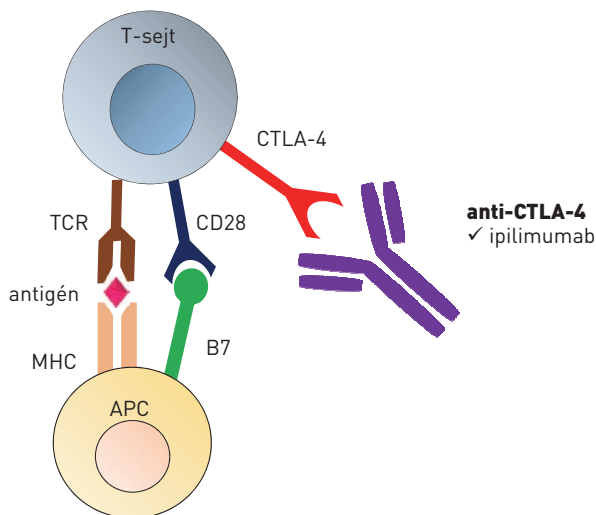
A két részletezett immunellenőrzési pont blokkolása különböző, egymással nem átfedő génexpresszió- és funkcióbeli változásokat eredményez, elsősorban T-sejteken [34]. A CTLA-4-blokkád dominánsan az átmeneti memória T-sejtek proliferációját serkenti, míg a PD-1-blokkád a T-sejt-közvetített citolízist és az NK-sejtek funkcióját szabályozó géneket érinti. Az ICI-terápia egyik nagy előnye, hogy nemcsak az erősen immunogén daganatokban (melanóma, RCC) képes az antitumor immunválasz kiváltására és fokozására, hanem számos kevésbé immunogén típusnál is (pl. tüdő-, petefészekrák) [35].

Forgalomban lévő ICI-k Európában

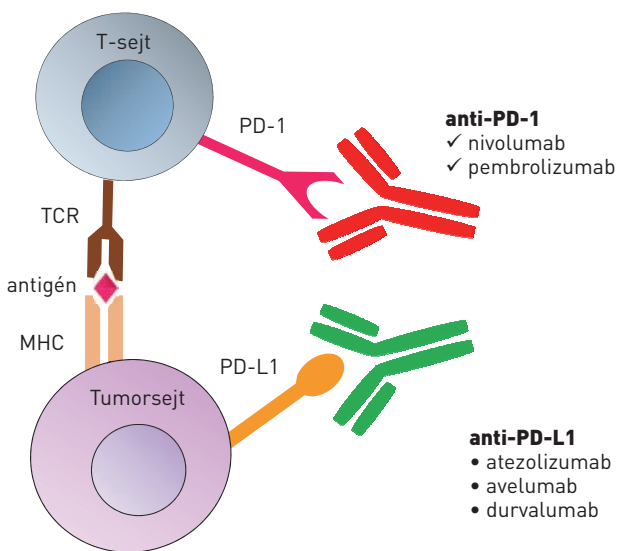
CTLA-4-inhibitor

A CTLA-4-gátló ipilimumab Európában jelenleg előrehaladott melanómában adható felnőttekben, teljes túlélésre (OS) gyakorolt hatékonyságát egy fázis III-as vizsgálat (MDX010-20) óta ismerjük. A 676 beteget bevonó vizsgálatban az ipilimumab-monoterápia szignifikáns túlélésbeli előnyt jelentett a kontroll gp100-monoterápiával szemben, az egyéves OS az ipilimumabkaron 45,6%, míg a gp100-karon 25,3%, 2 év múlva 23,5% vs. 16,7%, 3 év múlva 24,5% vs. 10,0% volt [36, 37].

a



b



3. ÁBRA. Az immunellenőrzőpont-gátlók hatóhelye. A CTLA-4-gátlók (a) az immunválasz centrálisabb, kezdeti fázisában, míg a PD-1-, ill. PD-L1-gátlók (b) az immunválasz későbbi, effektor fázisában szabadítják fel az effektor T-sejteket a gátlás alól. Az ipilimumab a CTLA-4 gátlásával serkenti a T-sejtek működését. A PD-1- és a PD-L1-gátlók a perifériás szövetekben, például a tumorszövetben szabadítja fel a gátlás alól az effektor T-sejteket. Az ábrán körrel az FDA-engedéllyel rendelkező, pipával az FDA- és EMA-engedéllyel egyaránt rendelkező immunellenőrzőpont-gátlók láthatóak. TCR: T-sejt-receptor; APC: antigénprezentáló sejt; MHC: fő hisztokompatibilitási komplex; PD-1: programozott sejthalál fehérje 1; PD-L1: programozott sejthalál ligandum 1

PD-1-inhibitorok

A PD-1-gátló nivolumabnak jelenleg 5 felnőttkori kórképben van Európai Gyógyszerügynökség (EMA) indikációja. Egyik legfontosabb indikációja előrehaladott (irreszekábilis vagy metasztatikus) melanómában van, ahol monoterápiában vagy ipilimumabbal kombinálva adandó. A CheckMate 067 tanulmányban előrehaladott, nem kezelt melanómában a nivolumab-monoterápia, vagy a nivolumab-ipilimumab kombináció az ipilimumab-monoterápiával összehasonlítva szignifikánsan hosszabb PFS-hez (6,9, ill. 11,5 hónap vs. 2,9 hónap) vezetett, továbbá a PD-L1-negatív tumorral rendelkező betegek esetében a kombinációs terápia mindkét monoterápiánál eredményesebbnek bizonyult [38]. Míg a nivolumab-monoterápia kevesebb grade 3-as és 4-es kedvezőtlen eseménnyel (AE) járt az ipilimumab-monoterápiához viszonyítva (16,3% vs. 27,3%), addig a kombinációnál már ugyanez nem volt elmondható, ott ugyanis a grade 3-4-es AE-k gyakorisága 55%-ra nőtt [38].

A nivolumab további indikációja lokálisan előrehaladott vagy metasztatikus nem kissejtes tüdőrákban (NSCLC) és előrehaladott vesesejtes rákban (RCC) van, mindkét kórképben megelőző terápiát követően. A CheckMate 017 tanulmányban kezelt, előrehaladott, laphámsejtes NSCLC-ben szenvedő betegekben a nivolumab-monoterápia eredményesebbnek bizonyult a docetaxelterápiánál mind medián OS [9,2 vs. 6,0 hónap], mind válaszarány (RR) [20% vs. 9%], medián progressziómentes túlélés (PFS) [3,5 vs. 2,8 hónap] és AE-k tekintetében [39]. A CheckMate 025 vizsgálatban előrehaladott, kezelt RCC-s betegekben a nivolumab felülmúlta az everolimusterápiát medián OS [25,0 vs. 19,6 hónap] tekintetében, emellett kevesebb grade 3-as és 4-es AE-vel járt [40]. A nivolumab indikált továbbá relabáló, refrakter klasszikus Hodgkin-limfómában (cHL) autológ őssejt-transzplantációt (ASCT) és brentuximab-vedotin (BV) terápiát követően, a CheckMate 205 tanulmányban ugyanis alkalmasnak bizonyult terápiás válasz kiváltására, viszonylag tolerálható mellékhatásprofilal [41]. A szer legújabb indikációja fej-nyaki laphámsejtes tumorokban (HNSCC) platinabázisú terápia közben vagy után megjelenő progresszió esetén van, mivel a CheckMate 141 vizsgálatban a nivolumab-monoterápia standard terápiával (metotrexát, docetaxel vagy cetuximab) összehasonlítva hosszabb OS-hez vezetett (1 éves OS 36,0% vs. 16,6%), kedvező mellékhatásprofilal [42].

A második PD-1-inhibitor a pembrolizumab volt, jelenleg 3 felnőtt kórképben van EMA-indikációja monoterápiaként. A pembrolizumab előrehaladott (irreszekábilis, metasztatikus) melanómában indikált, ipilimumabbal összehasonlítva megnyúlt 6 hónapos PFS-t (47,3% vs. 26,5%) és OS-t (74,1 vs. 58,2 hónap) okozó hatását a KEYNOTE 006 vizsgálatban bizonyította [43]. További indikációja metasztatikus NSCLC-ben van, elsővonalbeli kezelésként a PD-L1-et a tumors sejtek több mint 50%-ában expresszáló, és EGFR-, ALK-mutációra negatív esetekben, továbbá lokálisan előrehaladott vagy metasztatikus NSCLC-ben, amennyiben a tumors sejtek

PD-L1-expressziója $\geq 1\%$, és már legalább egy előzetes kezelés történt. NSCLC-ben a pembrolizumab először a KEYNOTE 001 vizsgálatban bizonyult hatékonynak, később a docetaxellel és platinabázisú terápiával szembeni eredményességét a KEYNOTE 010 és KEYNOTE 024 vizsgálatokban igazolták [44–46]. Az EGFR- vagy ALK-mutáns betegekben továbbra is a célzott terápia az elsővonalbeli kezelés, ezért a pembrolizumab ezekben az esetekben másodvonalbeli szer [28]. A pembrolizumab legújabb indikációja relabáló, refrakter cHL-ben van ASCT és BV-terápia után, vagy azokban a betegekben, akiknél az ASCT kontraindikált és a BV-terápia kudarcot vallott, a kezdeti KEYNOTE 013 vizsgálatban ugyanis a BV-terápia kudarca vagy ASCT-t követő relapszus esetén a szer ígéretesnek bizonyult, 65%-os RR-rel és 46%-os 52 hetes túléléssel [65%] [47].

További ICI-k

Európában a soron következő ICI-k várhatóan a PD-L1-et szelektíven gátló atezolizumab, avelumab és durvalumab lesznek, mindhárom antitest már FDA-engedéllyel rendelkezik, az atezolizumab urotelsejtes karcinómában (UCC) és metasztatikus NSCLC-ben, az avelumab Merkel-sejtes karcinómában, a durvalumab UCC-ben [48–50]. Klinikai vizsgálatok keretein belül a CTLA-4- és a PD-1:PD-L1 tengelyeknek elérhetőek egyéb gátlószerei (pl. anti-CTLA-4 tremelimumab) is, továbbá már új immunellenőrzési pontokon (TIM-3, LAG-3) ható ICI-k is tesztelés alatt állnak. Az új ellenőrzési pontok gátlószerei mellett a már kipróbált gyógyszerek indikációs területének kiterjesztése szintén várható a közeljövőben, a pembrolizumab például rendkívül hatékonynak bizonyul a Richter-transzformációban szenvedő krónikus limfocitás leukémiás betegcsoportban, ami a hematológiai daganatok második képviselője lehet az ICI-terápia sikerei között [51].

Terápiarezisztencia

Az ICI-terápia töretlen sikeressége ellenére a kezelésre adott válasz rendkívül heterogén, illetve gyakran jelentkezik rezisztencia, így a rezisztencia hátterének feltérképezése és a mechanizmusok terápiás visszafordítása egyre inkább jelentőséget kap.

Jelenleg az ICI-rezisztencia hátterében a tumor szempontjából intrinzik és extrinzik faktorokat különböztetünk meg [52]. Előbbi csoportba a tumorsejtekben jelen lévő faktorok, mint onkogén jelátviteli útvonalak, mutációk mennyisége, HLA-downreguláció, PD-L1-expresszió tartoznak, továbbá a TME egyes immunosuppresszióért felelős alkotóelemei, például a Treg-ek és a tumort infiltráló mieloid eredetű sejtek, melyek többek között a citotoxikus T-sejtek (CD8⁺) működésének gátlásával az effektív T-sejt-válasz blokkolásáért felelnek [52–55]. Egy preklinikai egérmodellben például a tumorban felszaporodó TAM-ok állhatnak az ICI-rezisztencia hátterében, melyek egy mieloid PI3K γ -izoformát nagy százalékban expresszálnak [56]. A PI3K γ fontos szerepet játszik a TAM-ok immunosuppresszív és immunstimuláló működése közötti

átkapcsolásban, így ennek szelektív gátlásával a TAM-ban gazdag tumorokban az ICI-rezisztencia feloldható, az ugyanis az effektor T-sejtek működésének serkentésével csökkenti az immunosuppressziót, és visszaállítja az ICI-érzékenységet [56]. Ezt a hipotézist megerősítendő, egy PI3K-inhibitor (IPI-549) monoterápiában, illetve a PD-1-inhibitor nivolumabbal kombinálva már tesztelés alatt van fázis I/II vizsgálatokban (NCT02637531) előrehaladott stádiumú szolid tumorokban.

Az extrinzik faktorok közül az ICI-terápiák esetén az immunrendszer előregedésének (immunosenescence) szerepe van bizonyíték, de feltehetően befolyásoló tényező a diéta az inzulin PI3K-útvonalra kifejtett aktiváló hatásán keresztül, továbbá a fennálló krónikus gyulladás a T- és NK-sejtek tumorba történő migrációjának gátlásán keresztül, valamint felmerült még a bélflóra összetételének szerepe is, egy nem immunogén *Bacteroides* sp. felszaporodása ugyanis teljes ipilimumabrezisztenciát okoz, szemben az immunogén *Bacteroides* sp.-vel [52].

Prediktív biomarkerek

Jelenleg az ICI-terápia alkalmazása legtöbbször szelektálatlan betegpopuláción történik, azonban szükség lenne megbízható, egyszerűen vizsgálható prediktív biomarkerek azonosítására, amelyek segítségével azonosíthatnánk azt a betegpopulációt, amely a leginkább profitálna az ilyen típusú kezeléssel. A jelenleg ismert egyik legmegbízhatóbb prediktív biomarker PD-1-gátlók esetén az immunhisztokémiával kimutatható PD-L1-expresszió, a PD-L1-et expresszáló daganatok esetén ugyanis az eddigi eredmények alapján az anti-PD-1/anti-PD-L1 terápia jóval eredményesebb [30]. Szerencsére úgy tűnik, hogy a PD-L1-negatív tumoroknál tapasztalt gyengébb hatás a két gyógyszer (anti-CTLA-4 és anti-PD-1) kombinációjával kiküszöbölhető [38]. Hasonló prediktív biomarker sajnos hiányzik az anti-CTLA-4 terápia esetén, egyelőre a tumorspecifikus mutációk és neoantigének mennyiségéből, valamint az abszolút limfocitaszámból és az LDH-szintből következtethetünk a terápia sikerességére [57–60]. Egyéb, a terápiás válasz előrejelzését segítő paraméterek lehetnek a neutrofil-limfocita arány (NLR), a tumorinfiltráló immunsejtek jelenléte és a tumorszövetben expresszált molekulák [57, 58, 60].

A magas immunoscore-ú „hot” tumorok sokkal jobban reagálnak az ellenőrzőpont-gátló terápiára, hiszen az immunrendszer felismeri a tumorantigéneket, mindeközben a tumor az immunellenőrzési pontokat felhasználva gátolja az immunválaszt, amit a gátlás gyógyszeres feloldásával talpra állíthatunk. A tumorinfiltráló immunsejtek kezelés előtti fokozott jelenléte, tehát a korábbi tumorelles immunválasz előfeltétele az ICI-terápia sikerességének; amennyiben ez hiányzik – tehát nincs immunsejtes infiltrátum –, a tumorok kevésbé reagálnak az ICI-terápiára. Ma már ezekben a tumorokban is van remény, ugyanis sikerült néhány bekapcsoló mechanizmust azonosítani az immunrendszerben, melyekkel kezdeti lépésként immunválaszt generálhatunk, amit

az ellenőrzőpont-gátlók sikeres alkalmazása követhet. Az egyik ilyen lehetőség egy immunválaszt provokáló jelátvitel, például a STING (stimulator of interferon genes) aktiválása, amit követően a „cold” tumorokban is sikeres lehet a PD-1-gátlás [61]. Másik lehetőség az előzetes sugárterápia, mely a beteg tumorából *in situ* vakcinát „készít”, ami ellen kialakulhat immunválasz [62].

ÖSSZEFOGLALÁS

A daganatok kezelésében a klinikusok által sürgetett paradigmaváltás a küszöbön van, a jövőben meg kell találnunk a megfelelő egyensúlyt a daganat maradéktalan elpusztítása és annak a tumorelles immunválaszt támogató kezeléssel történő féken tartása között. Az elmúlt években tapasztalt térhódításának köszönhetően az immunterápia vezető onkológusok szerint a tumorterápia három hagyományos pillére – azaz a sebészi, sugár- és kemoterápia – mellett nemsokára a daganatok kezelésének negyedik pillérévé válik.

A különféle hatásmechanizmusú immunterápiák közül kiemelt jelentőséggel bírnak az immunrendszer ellenőrzési pontjain ható immunellenőrzőpont-gátlók (ICI), melyek indikációs területe egyre több szolid tumorra (melanóma, NSCLC, UCC, RCC, HNSCC), valamint hematológiai daganatra (cHL) terjed ki [4]. Ma Európában három (egy CTLA-4-, két PD-1-inhibitor), az USA-ban hat ICI (egy CTLA-4-, két PD-1-, három PD-L1-inhibitor) rendelkezik engedéllyel, de klinikai

vizsgálatok keretein belül növekvő számban érhetőek el egyéb immunellenőrzési pontok (pl. TIM-3, LAG-3) gátlószerei is [4, 48, 50, 63]. Az ICI-terápia töretlen sikeressége ellenére a terápiára adott válasz rendkívül heterogén, sőt, nagy százalékban rezisztencia figyelhető meg, melynek mechanizmusa nagyrészt tisztázatlan. Eddig az immunosuppresszív mikrokörnyezet egyes elemeinek szerepe merült fel [52]. A rezisztencia mechanizmusának további feltérképezése mellett szükség lenne megbízható, egyszerűen vizsgálható prediktív biomarkerek azonosítására is, amelyek segítségével azonosíthatnánk azt a betegpopulációt, amely a leginkább profitálna az ilyen mechanizmusú kezelésből. Jelenleg a PD-L1-expresszió és a tumorinfiltráló immunsejtek jelenléte alkalmas prediktív biomarkereknek tűnik, azonban rutinszerű vizsgálatuk még nem terjedt el [32, 58].

A jövőben remélhetőleg az immunterápia alkalmazása nem csak szélesebb körben történhet, de megbízható prediktív biomarkerek segítségével előszelektált betegcsoporton is, ami nemcsak az immunterápia kapcsán fellépő nem elhanyagolható mellékhatásoknak feleslegesen kitett daganatos betegek számát csökkentheti, de növelheti a terápia sikerességét is.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Köszönet illeti Dr. Ladányi Andrea olvasószerkesztőt a kézirat alapos szerkesztéséért.

IRODALOM

1. Fang H, Declerck YA. Targeting the tumor microenvironment: from understanding pathways to effective clinical trials. *Cancer Res* 73:4965–4977, 2013
2. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* 3:991–998, 2002
3. Coley WB II. Contribution to the knowledge of sarcoma. *Ann Surg* 14:199–220, 1891
4. Suzuki S, Ishida T, Yoshikawa K, et al. Current status of immunotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 46:191–203, 2016
5. Franklin C, Livingstone E, Roesch A, et al. Immunotherapy in melanoma: Recent advances and future directions. *Eur J Surg Oncol* 43:604–611, 2017
6. Imbimbo M, Lo Russo G, Blackhall F. Current status of immunotherapy for non-small-cell lung cancer. *Tumori* 102:337–351, 2016
7. Medzhitov R, Shevach EM, Trinchieri G, et al. Highlights of 10 years of immunology in Nature Reviews Immunology. *Nat Rev Immunol* 11:693–702, 2011
8. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity* 39:1–10, 2013
9. Bordon Y. Tumour immunology: Checkpoint parley. *Nat Rev Immunol* 15:5, 2015
10. Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med* 182:459–465, 1995
11. Fallarino F, Fields PE, Gajewski TF. B7-1 engagement of cytotoxic T lymphocyte antigen 4 inhibits T cell activation in the absence of CD28. *J Exp Med* 188:205–210, 1998
12. Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 192:303–310, 2000
13. Qureshi OS, Zheng Y, Nakamura K, et al. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: a molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science* 332:600–603, 2011
14. Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol* 25:9543–9553, 2005
15. Wherry EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol* 12:492–499, 2011
16. Francisco LM, Salinas VH, Brown KE, et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med* 206:3015–3029, 2009
17. Wang C, Thudium KB, Han M, et al. In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. *Cancer Immunol Res* 2:846–856, 2014
18. Shankaran V, Ikeda H, Bruce AT, et al. IFN γ and lymphocytes prevent primary tumour development and shape tumour immunogenicity. *Nature* 410:1107–1111, 2001
19. Szende B. *Pathologia, Medicina Kiadó, Budapest* 1999
20. Virchow R. *Dressig Vorlesungen, gehalten waehrend des Wintersemesters 1862–1863 an der Universitaet zu Berlin: Vorlesungen ueber Pathologie: Verlag von August Hirschwald, 1863*
21. Clark WH Jr, From L, Bernardino EA, Mihm MC. The histogenesis and biologic behavior of primary human malignant melanomas of the skin. *Cancer Res* 29:705–727, 1969
22. Seo AN, Lee HJ, Kim EJ, et al. Tumour-infiltrating CD8+ lymphocytes as an independent predictive factor for pathological complete response to primary systemic therapy in breast cancer. *Br J Cancer* 109:2705–2713, 2013
23. Wargo JA, Reddy SM, Reuben A, et al. Monitoring immune responses in the tumor microenvironment. *Curr Opin Immunol* 41:23–31, 2016
24. Galon J, Mlecnik B, Bindea G, et al. Towards the introduction of the ‘Immunoscore’ in the classification of malignant tumours. *J Pathol* 232:199–209, 2014
25. de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* 6:24–37, 2006
26. Prendergast GC, Smith C, Thomas S, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase pathways of pathogenic inflammation and immune escape in cancer. *Cancer Immunol Immunother* 63:721–735, 2014

27. Zhou G, Levitsky HI. Natural regulatory T cells and de novo-induced regulatory T cells contribute independently to tumor-specific tolerance. *J Immunol* 178:2155–2162, 2007
28. Lee CK, Man J, Lord S, et al. Checkpoint inhibitors in metastatic EGFR-mutated non-small cell lung cancer – a meta-analysis. *J Thorac Oncol* 12:403–407, 2017
29. Robert L, Tsoi J, Wang X, et al. CTLA4 blockade broadens the peripheral T-cell receptor repertoire. *Clin Cancer Res* 20:2424–2432, 2014
30. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 515:563–567, 2014
31. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, 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
32. Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 expression as a predictive biomarker in cancer immunotherapy. *Mol Cancer Ther* 14:847–856, 2015
33. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, et al. Programmed death-1 ligand 1 interacts specifically with the B7-1 costimulatory molecule to inhibit T cell responses. *Immunity* 27:111–122, 2007
34. Das R, Verma R, Sznol M, et al. Combination therapy with anti-CTLA-4 and anti-PD-1 leads to distinct immunologic changes in vivo. *J Immunol* 194:950–959, 2015
35. Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, et al. Anti-PD-L1/PD-1 immune therapies in ovarian cancer: basic mechanism and future clinical application. *Int J Clin Oncol* 21:456–461, 2016
36. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 363:711–723, 2010
37. McDermott D, Haanen J, Chen TT, et al. Efficacy and safety of ipilimumab in metastatic melanoma patients surviving more than 2 years following treatment in a phase III trial (MDX010-20). *Ann Oncol* 24:2694–2698, 2013
38. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 373:23–34, 2015
39. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 373:123–135, 2015
40. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 373:1803–1813, 2015
41. Villasboas JC, Ansell SM. Nivolumab for the treatment of classical Hodgkin lymphoma after failure of autologous stem cell transplant and brentuximab. *Expert Rev Anticancer Ther* 16:5–12, 2016
42. Ferris RL, Blumenschein G Jr, Fayette J, et al. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 375:1856–1867, 2016
43. Robert C, Schachter J, Long GV, et al. Pembrolizumab versus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 372:2521–2532, 2015
44. Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet* 387:1540–1550, 2016
45. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 372:2018–2028, 2015
46. Reck M, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 375:1823–1833, 2016
47. Armand P, Shipp MA, Ribrag V, et al. Programmed death-1 blockade with pembrolizumab in patients with classical Hodgkin lymphoma after brentuximab vedotin failure. *J Clin Oncol*, 2016, pii: JCO673467
48. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 389:255–265, 2017
49. Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, et al. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 387:1909–1920, 2016
50. Kaufman HL, Russell J, Hamid O, et al. Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: a multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 17:1374–1385, 2016
51. Ding W, LaPlant BR, Call TG, et al. Pembrolizumab in patients with chronic lymphocytic leukemia with Richter's transformation and relapsed CLL. *Blood*, 2017, doi: 10.1182/blood-2017-02-765685
52. Pitt JM, Vetizou M, Daille R, et al. Resistance mechanisms to immune-checkpoint blockade in cancer: tumor-intrinsic and -extrinsic factors. *Immunity* 44:1255–1269, 2016
53. Diaz-Montero CM, Finke J, Montero AJ. Myeloid-derived suppressor cells in cancer: therapeutic, predictive, and prognostic implications. *Semin Oncol* 41:174–184, 2014
54. Gebhardt C, Sevko A, Jiang H, et al. Myeloid cells and related chronic inflammatory factors as novel predictive markers in melanoma treatment with ipilimumab. *Clin Cancer Res* 21:5453–5459, 2015
55. Kaneda MM, Messer KS, Ralainirina N, et al. PI3Kgamma is a molecular switch that controls immune suppression. *Nature* 539:437–442, 2016
56. De Henau O, Rausch M, Winkler D, et al. Overcoming resistance to checkpoint blockade therapy by targeting PI3Kgamma in myeloid cells. *Nature* 539:443–447, 2016
57. Dick J, Lang N, Slynko A, et al. Use of LDH and autoimmune side effects to predict response to ipilimumab treatment. *Immunotherapy* 8:1033–1044, 2016
58. Kirilovsky A, Marliot F, El Sissy C, et al. Rational bases for the use of the Immunoscore in routine clinical settings as a prognostic and predictive biomarker in cancer patients. *Int Immunol* 28:373–382, 2016
59. 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
60. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga 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
61. Moore EC, Clavijo PE, Davis R, et al. Established T-cell inflamed tumors rejected after adaptive resistance was reversed by combination STING activation and PD-1-pathway blockade. *Cancer Immunol Res* 4:1061–1071, 2016
62. Demaria S, Coleman CN, Formenti SC. Radiotherapy: changing the game in immunotherapy. *Trends Cancer* 2:286–294, 2016
63. Balar AV, Galsky MD, Rosenberg JE, et al. Atezolizumab as first-line treatment in cisplatin-ineligible patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet* 389:67–76, 2017