

# Postępy w leczeniu chorych na czerniaka z przerzutami: nowe leki immunomodulujące

*Mario Sznol*

Semin Oncol 2012, 39: 192-203.

**Dr Sznol,**

Department of Internal Medicine  
and Melanoma Unit,  
Yale Cancer Center,  
New Haven, CT,  
Stany Zjednoczone.

**Adres do korespondencji:**

Mario Sznol, MD,  
Department of Internal Medicine,  
Yale Cancer Center,  
333 Cedar St,  
New Haven,  
CT 06520,  
USA;  
e-mail: Mario.sznol@yale.edu

**Konflikt interesów:**

Autor jest konsultantem firmy  
Bristol-Myers Squibb

Przeciwciała o działaniu ukierunkowanym na interakcję ligand-receptor, kontrolujące aktywację i czynność niektórych komórek odpornościowych, takich jak komórki dendrytyczne (dendritic cells, DC), a zwłaszcza limfocyty T, okazały się obiecujące w leczeniu chorych na czerniaka nieresekcyjnego lub z przerzutami. Najbardziej zaawansowane są prace nad przeciwciałami anty-CTLA-4, hamującymi kluczowy ujemny regulator aktywacji komórek T. W niewielkiej grupie chorych ich zastosowanie pozwoliło na uzyskanie trwałych odpowiedzi klinicznych. Jedno z tych przeciwciał, ipilimumab, przedłużyło też przeżycie całkowite uczestników dwóch badań III fazy z losowym doborem chorych, w wyniku czego Food and Drug Administration (FDA) zarejestrowała je do użytku klinicznego. Zgodnie z mechanizmem działania leków ukierunkowanych przeciw CTLA-4 głównymi zdarzeniami niepożądanymi powodowanymi przez nie są reakcje zapalne zachodzące za pośrednictwem czynników immunologicznych. Zasady stosowania tych leków, a także nowych leków immunomodulujących, uwzględniają obecnie skuteczne przeciwdziałanie zdarzeniom niepożądanym, wyjątkowe cechy i kinetykę odpowiedzi nowotworu. We wczesnych badaniach klinicznych, oceniających inne przeciwciała hamujące receptor PD-1 na uaktywnionych komórkach T, wykazano również zachęcającą aktywność wobec czerniaka z przerzutami. Skuteczność kliniczną szczepionek przeciwnowotworowych, wśród których są m.in. leki podawane do ogniska nowotworu w celu nasilenia jego immunogenności, zaczęto oceniać w prowadzonych obecnie badaniach III fazy. Na wczesnych etapach są też badania poświęcone nowym lekom, takim jak nowe cytokiny i przeciwciała pobudzające komórki T oraz DC. W praktyce klinicznej niektóre z nich już okazały się aktywne u chorych na zaawansowany nowotwór. Obecne dane sugerują, że największe znaczenie kliniczne ma opracowanie leków przeciwdziałających zahamowaniu czynności układu immunologicznego w mikrośrodowisku nowotworu lub hamujących regulatorowe punkty kontrolne aktywacji komórek T. Skojarzenie leków immunomodulujących może również zwiększyć ich aktywność kliniczną, prawdopodobnie jednak kosztem większej toksyczności. Duże znaczenie ma opracowanie biologicznych markerów przepowiadających odpowiedź oraz poznanie mechanizmów oporności na stosowane dotąd leki. Zagadnienia te powinny się stać przedmiotem kolejnych badań klinicznych.

Znaczenie modulatorów odpowiedzi immunologicznej w leczeniu chorych na czerniaka było przedmiotem badań przedklinicznych i klinicznych prowadzonych w ciągu ostatnich czterech dziesięcioleci. Początki immunoterapii czerniaka polegały na wstrzykiwaniu do ogniska nowotworu wyciągów z bakterii oraz immunizacji za pomocą szczepionek przygotowanych z autologicznych lub alogenicznych komórek nowotworowych zmieszanych z adiuwantami immunologicznymi.<sup>1-4</sup> Na początku lat 80. ubiegłego wieku wprowadzenie techniki rekombinacji DNA umożliwiło wytwarzanie bardzo wielu ludzkich cytokin wykorzystywanych w badaniach klinicznych. Wyniki badań oceniających przydatność interferonu  $\alpha$  i interleukiny 2 (IL-2) u chorych na czerniaka z przerzutami wykazały obiektywną odpowiedź u 15% z nich.<sup>5-8</sup> Uzyskanie trwałej całkowitej remisji u 5% leczonych sprawiło, że FDA zarejestrowała w latach 90. XX w. schemat leczenia dużymi dawkami IL-2. Zarejestrowała też interferon  $\alpha$  do adiuwantowego leczenia chorych obciążonych dużym ryzykiem układowego nawrotu nowotworu.<sup>9</sup>

Osiągnięcia w opracowywaniu leków immunomodulujących pozostają w tyle za wyraźnym postępem w poznaniu immunobiologii nowotworu. W badaniach klinicznych oceniano wiele różnych typów szczepionek, cytokin, metod terapii komórkowej, przeciwciał u działaniu ukierunkowanym przeciw antygenom powierzchniowym czerniaka, a także skojarzeń rozmaitych modulatorów odpowiedzi immunologicznej. Do niedawna żadne z podejmowanych wysiłków nie przyczyniły się do uzyskania wyraźnie lepszej odpowiedzi, wystarczającej do oficjalnej rejestracji leku lub pozwolenia na jego dalsze badania kliniczne. Przyczyną niedostatecznej skuteczności badanych leków może być nieumiejętność doborzenia chorych, którzy zdołaliby odpowiedzieć na leczenie.

W badaniach przedklinicznych i klinicznych stwierdzono kluczową rolę komórek T w pośredniczeniu w przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. Opracowanie nowych obiecujących leków wykorzystywanych w immunoterapii zależy przede wszystkim od wyników badań podstawowych. Wykazano w nich, że poza sygnałem aktywującym przekazywanym przez receptor komórek T, rozpoznającym swoisty peptyd związany z cząsteczką kompleksu głównego układu zgodności tkankowej (major histocompatibility complex, MHC), komórki T otrzymują dodatkowe sygnały pobudzające i hamujące dzięki interakcjom ligand-receptor.<sup>10</sup> Receptory na komórkach T, współuczestniczące w pobudzaniu i hamowaniu szlaków przemian, przekazują sygnały silnie wpływające na aktywację komórek T, ich rozplam, przeżycie i czynność. Nie dziwi zatem, że na swoistych komórkach prezentujących antygen, znanych jako komórki dendrytyczne (DC), wy-

kryto ligandy dla receptorów komórek T. Stwierdzono, że ogniska nowotworowe, w tym zarówno komórki złośliwe, jak i niektóre naciekające komórki układu immunologicznego, wykazują ekspresję ligandów dla współuczestniczących w hamowaniu receptorów komórek T, wytwarzają też cytokiny i enzymy hamujące komórki efektorowe. W badaniach przedklinicznych leków zdolnych do zatrzymywania mechanizmów hamujących komórek T, występujących w przestrzeniach między komórkami DC a komórkami T lub między komórkami nowotworu a komórkami T, wykazano ich wyraźne działanie przeciwnowotworowe. Leki te zwiększały również aktywność przeciwnowotworową niektórych szczepionek, cytokin oraz agonistów sygnałów pobudzających.

Przeprowadzone niedawno badania kliniczne dostarczają mocnych dowodów na to, że leki o działaniu ukierunkowanym na regulatorowe punkty kontrolne komórek T przyczynią się do znaczącego postępu w immunoterapii chorych na czerniaka. Ugruntowane dane kliniczne pochodzące z badań oceniających przeciwciała anti-CTLA-4 wykazały trwałe odpowiedzi kliniczne i ogólną poprawę przeżycia chorych na czerniaka z przerzutami.<sup>11</sup> Inne leki i metody wykorzystywane w immunoterapii, o działaniu ukierunkowanym na bariery rozplam i aktywności komórek T, są przedmiotem badań klinicznych. Co najmniej dwie z tych metod, immunoterapia anti-PD1 i immunoterapia adopcyjna połączona z przygotowawczą deplecją limfocytów (omawianą przez Bernatchez, Radvanii'a i Hwu), okazały się wyraźnie aktywne w praktyce klinicznej, pozwalając m.in. na uzyskanie długotrwałych remisji.<sup>12,13</sup> Trwają też działania zmierzające do opracowania wielu modulatorów odpowiedzi immunologicznej, w tym nowych szczepionek, nowych cytokin, przeciwciał i inhibitorów enzymów. Kilka z nich jest ocenianych w badaniach klinicznych III fazy. W najbliższych latach można się spodziewać określenia wpływu tych nowych leków, stosowanych wyłącznie lub w skojarzeniach, na terapię chorych na czerniaka, a także potwierdzenia przydatności markerów biologicznych badanych równoległe z tymi lekami.

#### ANTY-CTLA-4

CTLA-4 (antygen 4 cytotoksycznych limfocytów T) jest kluczowym ujemnym regulatorem aktywacji komórek T. U myszy pozbawionych genu *CTLA4* obserwuje się nasilenie rozplam limfocytów i rozwój stanu zapalnego w wielu narządach.<sup>14,15</sup> W doświadczalnych modelach mysich przeciwciała przeciw CTLA-4 sprzyjają w wywoływaniu odpowiedzi przeciwnowotworowej, w której pośredniczą komórki T, a skojarzenie szczepio-

nek z innymi przeciwciałami modulującymi odpowiedź immunologiczną oraz miejscowym napromienianiem nasila działanie przeciwnowotworowe.<sup>16-20</sup> Mechanizm powstawania odpowiedzi ze strony nowotworu jest w modelach zwierzęcych złożony i prawdopodobnie polega na zwiększeniu aktywacji efektorowych komórek T oraz hamowaniu działania regulatorowych komórek T.<sup>21</sup>

Do badań klinicznych włączono dwa podobne ludzkie przeciwciała anti-CTLA-4: ipilimumab (przeciwciało IgG1) wytwarzany przez firmę Medarex-Bristol Myers Squibb (Princeton, NJ) i tremelimumab (IgG2) wytwarzany przez firmę Pfizer (Groton, CT).<sup>22,23</sup> Początkowo oba te leki powodowały uzyskanie zaledwie niewielu trwałych odpowiedzi wśród chorych na czerniaka. Ich profile toksyczności były zbliżone i cechowały się wzbudzaniem reakcji autoimmunologicznych.

W randomizowanym badaniu II fazy porównywano skuteczność dwóch schematów leczenia tremelimumabem: w dawce 10 mg/kg podawanej dożylnie (iv) co miesiąc ze stosowaniem w dawce 15 mg/kg iv co 3 miesiące.<sup>24</sup> Schemat zawierający dawkę 15 mg/kg iv co 3 miesiące wybrano do oceny w dalszych badaniach z udziałem chorych na niesekcyjnego czerniaka w III stopniu zaawansowania lub na zaawansowanego czerniaka. Było wśród nich duże badanie z pojedynczym ramieniem, w którym uczestniczyli chorzy leczeni już wcześniej, a także randomizowane badanie III fazy, w którym porównywano tremelimumab z temozolomidem lub dakarbazyną u chorych dotychczas nieleczonych (z wyjątkiem terapii adiuwantowej), u których aktywność dehydrogenazy mleczanowej niepełna dwukrotnie przekraczała górną granicę normy. W badaniu II fazy częściową odpowiedź uzyskano u 16 spośród 251 chorych (6,5%), która u 69% z nich utrzymuje się do chwili publikowania tego doniesienia i trwa od 8,9+ do 29,8+ miesiąca.<sup>25</sup> Mediana czasu przeżycia całkowitego wynosi 10 miesięcy, a przeżycie 2-letnie 22%. W randomizowanym badaniu przeprowadzonym z udziałem 655 chorych mediana czasu przeżycia całkowitego wyniosła w grupie tremelimumabu 12,6 miesiąca, a w grupach chemioterapii 10,7 miesiąca ( $p=0,127$ ).<sup>26</sup> Przeżycie 2-letnie było w obu ramionach badania podobne, zbliżone do 25%, choć nieco większe w ramieniu tremelimumabu. Całkowite odpowiedzi obiektywne były zbliżone i wyniosły 11 vs 9,8%, podobnie jak odpowiedzi całkowite (3,4 vs 2,4%). Natomiast odpowiedź na leczenie utrzymywała się dłużej w ramieniu tremelimumabu.

Mimo ogólnie niekorzystnych wyników, przeprowadzenie dodatkowych badań oceniających tremelimumab może być uzasadnione. W trakcie badań poświęconych tremelimumabowi i ipilimumabowi stwierdzono wyjątkowy rodzaj kinetyki odpowiedzi nowotworu na

ich stosowanie, niespotykany po zastosowaniu innych leków cytotoksycznych.<sup>27,28</sup> Regresja nowotworu może nastąpić późno, nawet po 12 tygodniach od rozpoczęcia leczenia, lub jest bardzo powolna. Pojawiające się w ciągu pierwszych 12 tygodni leczenia nowe ogniska nowotworu lub ogniska, w których następuje progresja, mogą następnie ulec stabilizacji lub regresji. W wybranej grupie chorych z odpowiedzią mieszaną radykalne leczenie miejscowe ograniczonej liczby progresywnych zmian może przyczynić się do długotrwałego przeżycia wolnego od progresji nowotworu. W badaniach oceniających ipilimumab stwierdzono, że chorzy z progresją nowotworu po początkowym uzyskaniu mieszanej lub obiektywnej odpowiedzi lub po okresie stabilizacji, mogą ponownie zareagować na zastosowanie kolejnego kursu indukcyjnego leczenia ipilimumabem.<sup>29</sup> W randomizowanym badaniu z użyciem tremelimumabu uczestniczyło 225 chorych, u których po 90 dniach udokumentowano progresję nowotworu. Tylko 52 z nich otrzymało dodatkowe leczenie tremelimumabem. U ośmiu z nich (15,3%) stwierdzono odpowiedź nowotworu w porównaniu z oceną wyjściową lub w pierwszym okresie obserwacji.<sup>30</sup> Różnice między wynikami uzyskanymi w ramionach chemioterapii a wynikami w ramieniu tremelimumabu mogą być mniejsze również dlatego, że niektórzy chorzy z progresją nowotworu w trakcie chemioterapii (prawdopodobnie aż 10%) otrzymali ipilimumab w programie rozszerzonego dostępu).

Ipilimumab oceniano w wielu badaniach I i II fazy.<sup>31-36</sup> W większości z nich podawano go w dawkach 1-10 mg/kg iv co 3 tygodnie, w 4 kursach. Po 2 tygodniach od podania ostatniej dawki w 12 tygodniu ponownie oceniano stopień zaawansowania nowotworu. Leczenie przerywano na stałe u chorych, u których wystąpiły reakcje autoimmunologiczne 3 lub 4 stopnia. Uczestnicy niektórych badań otrzymywali podtrzymujące dawki leku co 12 tygodni. Ogólna odpowiedź obiektywna wahała się od 6 do 17%, a odpowiedź całkowitą odnotowano rzadko. Obserwowano natomiast długotrwałe utrzymywanie się odpowiedzi u wielu chorych. W innej niewielkiej grupie chorych uzyskanie odpowiedzi stwierdzono na podstawie nowych kryteriów odpowiedzi, w których nie zważano na pojawienie się nowych ognisk nowotworu we wczesnym okresie terapii. Porównywano u nich całkowitą masę nowotworu (uwzględniając zmiany istniejące wcześniej oraz nowe ogniska) z masą wyjściową.<sup>37</sup> Długotrwałą stabilizację nowotworu, ocenianą na podstawie nowych lub dawnych kryteriów odpowiedzi i utrzymującą się  $\geq 24$  tygodnie, obserwowano również w małej podgrupie chorych, co przemawia za występującą u nich biologiczną aktywność leku, ale bez uzyskania obiektywnej odpowiedzi. Mediana czasu przeżycia wahała się od 10 do 17 miesięcy, a przeżycie

2-letnie osiągnęło 30% chorych leczonych wcześniej i było ono większe niż oczekiwano po zastosowaniu innych metod leczenia. Spostrzeżenia te stały się podstawą do rozpoczęcia randomizowanych badań klinicznych z grupą kontrolną.

W pierwszym z nich porównywano skuteczność ipilimumabu podawanego w monoterapii ze skutecznością skojarzenia go ze szczepionką peptydową gp100 (gp100:209-217-210M i gp100:280-288-288V w adiuwancie Montanide ISA-51 [Seppic, Paryż, Francja]) oraz ze skutecznością wyłącznego stosowania szczepionki. W badaniu tym uczestniczyli chorzy na zaawansowanego czerniaka, którzy otrzymali wcześniej co najmniej jeden schemat leczenia układowego.<sup>11</sup> Ipilimumab podawano w dawce 3 mg/kg iv co 3 tygodnie 4 razy. We wszystkich ramionach dopuszczano zastosowanie kursu reindukcyjnego u chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie lub wykazali długotrwałą stabilizację nowotworu po terapii indukcyjnej, po czym nastąpiła progresja nowotworu. Ogółem randomizacji poddano 676 chorych w stosunku 1:3:1 (czyli do grupy ipilimumabu ze szczepionką gp100 przydzielono losowo trzykrotnie więcej chorych niż do każdego z pozostałych ramion). Z uwagi na naturę szczepionki peptydowej wszyscy uczestnicy badania musieli cechować się ekspresją HLA-A201. Mediana czasu przeżycia całkowitego chorych z obu grup otrzymujących ipilimumab wyniosła 10 miesięcy w porównaniu z 6,4 miesiąca w grupie otrzymującej wyłącznie szczepionkę. Różnice te były bardzo znamienne statystycznie. Najlepsze ogólne odpowiedzi uzyskano odpowiednio u 10,9, 5,7 i 1,5% chorych. W późniejszej retrospektywnej analizie wyników badania II fazy częstość odpowiedzi i przeżycie były podobne u chorych z ekspresją HLA-A201 oraz u chorych bez takiej ekspresji.<sup>38</sup> Na podstawie wyników randomizowanych badań 26 marca 2011 r. FDA zarejestrowała ipilimumab w dawce 3 mg/kg do leczenia chorych na czerniaka nieresekcyjnego lub z przerzutami.

W drugim z badań uczestniczyło 502 nieleczonych wcześniej chorych na nieresekcyjnego czerniaka w III stopniu zaawansowania lub czerniaka w IV stopniu zaawansowania z przerzutami. Przydzielono ich losowo do grupy otrzymującej dakarbazynę w dawce 1000 mg/m<sup>2</sup> iv co 3 tygodnie 8 razy w połączeniu z ipilimumabem w dawce 10 mg/kg iv lub z placebo, podawanymi co 3 tygodnie 4 razy.<sup>39</sup> Po podaniu czwartej dawki indukcyjnej proponowano leczenie podtrzymujące ipilimumabem/placebo w dawce 10 mg/kg iv podawanymi co 12 tygodni. Wyniki tego badania przedstawiono podczas kongresu American Society of Clinical Oncology (ASCO) w 2011 r. W grupie chorych otrzymujących ipilimumab z dakarbazyną stwierdzono bardzo znamienne statystycznie wydłużenie mediany czasu przeżycia z 9,1 do 11,2 miesiąca. Roczne, dwu- i trzyletnie przeży-

cie wyniosło w grupie leczenia skojarzonego 47,3, 28,5 i 20,8% w porównaniu z 36,3, 17,9 i 12,2% w grupie dakarbazyny z placebo. Odsetek odpowiedzi obiektywnych był również większy a mediana czasu trwania odpowiedzi dłuższa w grupie ipilimumabu z dakarbazyną. W porównaniu z grupą kontrolną wyniosły one odpowiednio 15,2 vs 10,3% i 19,3 vs 8 miesięcy. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji nowotworu była wprawdzie podobna w obu ramionach badania, wyniosła bowiem 2,8 vs 2,6 miesiąca, ale iloraz zagrożeń progresją wyniósł w grupie ipilimumabu z dakarbazyną 0,76 i był znamienno statystycznie. W obu przedstawionych randomizowanych badaniach wykazano, że ipilimumab może wydłużyć medianę czasu przeżycia chorych na czerniaka z przerzutami. Końcowy odcinek krzywej był w każdym z tych badań stosunkowo płaski, co wskazuje, że w pewnej podgrupie chorych liczącej prawdopodobnie 10% leczenie ipilimumabem może korzystnie wpłynąć na przeżycie odległe.

Zgodnie z mechanizmem działania, zdarzeniami niepożądanymi powodowanymi przez przeciwciała anti-CTLA-4 są reakcje autoimmunologiczne. Częstość ich występowania oraz nasilenie zależą od dawki leku i częstości jego podawania. Najczęstszymi działaniami niepożądanymi są wysypka/zapalenie skóry, zapalenie okrężnicy/biegunka, endokrynopatie, w tym zapalenie przysadki mózgowej, zapalenie nadnercza i zapalenie tarczycy, a także zwiększenie aktywności aminotransferaz. Rzadziej obserwuje się małopłytkowość, niedokrwistość, zapalenie błony naczyniowej oka, zapalenie płuc, zapalenie nerek oraz neuropatie ruchowe i czuciowe. Zapalenie okrężnicy i biegunka mogą doprowadzić do perforacji ściany jelita grubego. Leczenie chorych z opisanymi działaniami niepożądanymi polega na podaniu kortykosteroidów, a w niewielkiej grupie chorych opornych na działanie kortykosteroidów stosuje się inne leki immunosupresyjne, takie jak przeciwciała przeciw czynnikowi martwicy nowotworu (tumor necrosis factor, TNF). Opracowano algorytmy mające na celu skuteczne przeciwdziałanie zdarzeniom niepożądanym. W niektórych badaniach stwierdzono związek między wystąpieniem działań niepożądanych zależnych od układu immunologicznego a aktywnością leku, choć wśród chorych, u których działania niepożądane są minimalne lub nie występują, również uzyskiwano znakomitą odpowiedź. Niełatwo wprawdzie określić wpływ zwalczania działań niepożądanych kortykosteroidami (i innymi lekami immunosupresyjnymi) na aktywność odpowiedzi i czas jej trwania, ale u chorych przyjmujących takie leki nadal może się rozwinąć trwała odpowiedź ze strony nowotworu.

Trzy randomizowane badania III fazy oceniające przeciwciała anti-CTLA-4 cechowały pewne zasadnicze różnice, dotyczące np. wcześniejszego leczenia wybranej

populacji chorych, dawki, schematu podawania leku, stosowania przeciwciała anti-CTLA-4 w monoterapii lub w skojarzeniu z dakarbazyną oraz podtrzymującego leczenia przeciwciałem podawanym co 12 tygodni lub stosowaniem ponownego indukcyjnego kursu leczenia (co 3 tygodnie do 4 razy), jeśli nastąpiła progresja nowotworu. W badaniach tych nie rozstrzygnięto tak ważnych zagadnień, jak optymalna dawka i schemat podawania przeciwciała anti-CTLA-4 oraz znaczenie jednoczesnego stosowania chemioterapii. W przeprowadzonych wcześniej niedużych randomizowanych badaniach oceniających wpływ ipilimumabu podawanego w dawce 1, 3, lub 10 mg/kg co 3 tygodnie 4 razy sugerowano zależność od dawki zarówno aktywności biologicznej leku (wpływ na bezwzględną liczbę limfocytów), jak i odsetka odpowiedzi. Natomiast przeżycie 2-letnie wydawało się zbliżone w grupach otrzymujących lek w dawce 3 lub 10 mg/kg.<sup>31</sup> W większych randomizowanych badaniach przeciwciała anti-CTLA-4 stosowano w rozmaitych dawkach (3, 10 i 15 mg/kg), ale porównania wpływu dawkowania na wynik leczenia były niemożliwe z uwagi na inne znaczące różnice w projektach badań. Kolejnym ważnym zagadnieniem podnoszonym w randomizowanych badaniach był optymalny sposób podawania ipilimumabu po zastosowaniu czterech dawek indukcyjnych co 3 tygodnie. Projekty badań nie zakładały określenia wpływu podtrzymującego leczenia ipilimumabem dawkowanym co 12 tygodni na całkowitą skuteczność, dlatego dotychczas nie rozstrzygnięto tego zagadnienia. Natomiast w wybranej grupie chorych, u których po uzyskaniu obiektywnej odpowiedzi stwierdzono progresję nowotworu lub jego stabilizację trwającą co najmniej 24 tygodnie, po ponownym zastosowaniu indukcyjnego kursu leczenia obserwowano jego znaczną aktywność kliniczną, w tym odpowiedzi obiektywne i kolejny okres stabilizacji nowotworu.<sup>29</sup> Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań mających na celu wyjaśnienie, czy w osiągnięciu długotrwałej odpowiedzi odgrywa rolę leczenie podtrzymujące co 12 tygodni, czy ponowne podanie kursu indukcyjnego po przerwie w leczeniu. Udowodniona aktywność ponownego kursu indukcyjnego wzbudziła zainteresowanie kontynuacją leczenia podawanego co 3 tygodnie po zastosowaniu czterech dawek indukcyjnych, mogłoby to bowiem poprawić wyniki leczenia wybranej grupy chorych. Nie zaprojektowano dotychczas randomizowanego badania porównującego skojarzenie ipilimumabu z dakarbazyną ze skojarzeniem dakarbazyny z placebo i oceniającego wpływ dakarbazyny na aktywność ipilimumabu jako korzystny lub szkodliwy. Dane pochodzące z badań sugerują, że dakarbazyna zmienia profil toksyczności ipilimumabu. Na przykład po leczeniu skojarzonym częściej obserwowano zwiększoną aktywność aminotransferaz, rzadziej natomiast związane

z układem immunologicznym działania niepożądane ze strony przewodu pokarmowego w porównaniu z odsetkami takich powikłań spodziewanymi monoterapii ipilimumabem we wcześniejszych badaniach. W związku z wykazaną w innym randomizowanym badaniu skutecznością wyłącznego leczenia ipilimumabem i spodziewaną większą skutecznością skojarzenia go z innymi lekami, wydaje się mało prawdopodobne, by połączenie ipilimumabu z dakarbazyną stosowano nadal i by stało się ono standardową metodą leczenia.

Chorzy z czynnymi i nieleczonymi przerzutami do mózgu są zwykle wykluczani z większości badań klinicznych. Na podstawie kilku doniesień o pojedynczych przypadkach regresji takich przerzutów u chorych otrzymujących ipilimumab oficjalnie rozpoczęto badanie II fazy.<sup>40</sup> Wymagano, by uczestniczyli w nim chorzy ze współistniejącymi przerzutami w innych narządach lub bez takich przerzutów, u których występowało co najmniej jedno nieleczone ognisko przerzutowe w mózgu wielkości  $>0,5$  cm lub dwa ogniska wielkości  $>0,3$  cm, przerzut nie mógł być jednak większy niż 3 cm. W grupie 51 chorych niewymagających podawania kortykosteroidów obserwowano 8 częściowych odpowiedzi ze strony przerzutów w mózgu, a 5 chorych spełniało kryteria częściowej odpowiedzi ze strony wszystkich ognisk nowotworu (w tym innych przerzutów odległych). Uzyskane wyniki sugerują, że chorzy z drobnymi nieleczonymi zmianami w mózgu, niewymagający podawania kortykosteroidów, mogą otrzymać ipilimumab. Konieczne jest jednak staranne monitorowanie przerzutów w mózgu za pomocą rezonansu magnetycznego z podaniem środka cieniującego, wykonywanego co najmniej co 6 tygodni. U chorych z progresją przerzutów w mózgu należy zastosować napromienianie stereotaktyczne lub nożem gamma. Zgodnie z doświadczeniem zgromadzonym w ośrodku, w którym pracuje autor, pojawienie się nowych lub progresja dotychczasowych przerzutów w mózgu chorych w trakcie leczenia ipilimumabem nie wyklucza wyraźnej odpowiedzi układowej w późniejszym czasie. Nie obserwowano wczesnych interakcji między napromienianiem stereotaktycznym a trwającym leczeniem układowym ipilimumabem, ale dotychczasowe dane nie pozwalają na wykluczenie możliwości nasilania przez ten lek powstawania popromiennej martwicy lub obrzęku zmian podlegających stereotaktycznej radiochirurgii jednocześnie lub przed włączeniem ipilimumabu.

Dołożono wielu starań w celu określenia biologicznych markerów przepowiadających oraz skorelowania immunologicznych następstw obserwowanych po leczeniu z odpowiedzią na nie. W randomizowanym badaniu porównującym tremelimumab w dawce 15 mg/kg z chemioterapią<sup>41</sup> mediana czasu przeżycia chorych z małymi wyjściowymi stężeniami białka C-reaktywnego (C-reac-

tive protein, CRP) ( $n=326$ ), za które uznano stężenie  $\leq 1,5$  razy od dolnej granicy normy dla danego ośrodka, wyniosła 19,1 miesiąca w ramieniu tremelimumabu w porównaniu z 12,7 miesiąca w ramieniu chemioterapii. Wśród chorych z dużymi stężeniami CRP ( $n=199$ ) mediana czasu przeżycia wyniosła w obu ramionach badania około pół roku. Odpowiedź obiektywną na leczenie tremelimumabem obserwowano u 4 spośród 95 (4,2%) chorych z dużym stężeniem CRP w porównaniu z 26 spośród 164 (15,9%) chorych z małym stężeniem CRP. Odsetki obiektywnych odpowiedzi na leczenie dakarbazyną były podobne w grupach cechujących się dużym lub małym stężeniem CRP. W tym samym badaniu wszystkie, poza jedną, kliniczne odpowiedzi na podanie tremelimumabu wystąpiły u chorych, u których mierzona w 1 dniu bezwzględna liczba limfocytów (absolute lymphocyte count, ALC) była  $\geq 0,9$  razy od wartości dolnej granicy normy. Nie osiągnięto wprawdzie znamienności statystycznej, ale u chorych z takim zwiększeniem ALC leczenie tremelimumabem wydawało się poprawiać przeżycie całkowite w porównaniu z obserwowanym po chemioterapii. W grupie chorych z ALC  $< 0,9$  razy najmniejszej wartości prawidłowej przeżycie całkowite wydawało się dłuższe wśród otrzymujących chemioterapię.

Z aktywnością ipilimumabu i wynikami leczenia uzyskanymi w badaniach II fazy korelowała również liczba limfocytów. Korelacja ta jednak silniej wiązała się ze zmianą liczby limfocytów po rozpoczęciu leczenia, co ogranicza jej przydatność jako biologicznego markera przepowiadającego.<sup>42,43</sup> W niewielkim badaniu 51 chorych leczono ipilimumabem podawanym w dawce 10 mg/kg co 3 tygodnie 4 razy. W grupie chorych z ALC  $\geq 1000/\mu\text{l}$  w 7 tygodniu stwierdzono znaczną poprawę przeżycia całkowitego po 6 i 12 miesiącach w porównaniu z przeżyciem całkowitym chorych z ALC  $< 1000/\mu\text{l}$  (odpowiednio, 75 i 47 vs 0%). Ci sami autorzy wykazali, że korzystny wynik kliniczny (za który uznali odpowiedź całkowitą lub częściową albo stabilizację nowotworu utrzymującą się przez co najmniej 24 tygodnie) uzyskany w grupie 35 chorych leczonych ipilimumabem korelował również z bezwzględnym zwiększeniem liczby komórek T CD8<sup>+</sup>, lecz nie CD4<sup>+</sup>, w 7 tygodniu leczenia. Wyniki analizy większych populacji sugerują, że stopień wzrostu ALC po rozpoczęciu leczenia ipilimumabem zależy od dawki leku, a poziom zwiększenia ALC koreluje z aktywnością kliniczną leku.<sup>44</sup>

Rozpuszczalne formy ligandów NKG2D, MICA, MICB i ULBP2, mogą hamować układ immunologiczny.<sup>45,46</sup> W surowicy chorych na czerniaka z przerzutami ich stężenia były większe niż u osób zdrowych z grupy kontrolnej.<sup>47</sup> Bahjat i wsp. przeprowadzili badanie z udziałem 89 chorych leczonych ipilimumabem podawanym w dawce 10 mg/kg co 3 tygodnie 4 razy.

Jeśli przed leczeniem stężenie rozpuszczalnych MICA wynosiło  $> 80$  pg/ml, czyli przekraczało progową wartość wykrywalności, uzyskiwano mniej obiektywnych odpowiedzi na leczenie, a przeżycie po 1,5 roku było rzadsze w porównaniu z przeżyciem chorych, u których stężenie MICA było nieoznaczalne (odpowiednio, 35,4 vs 64,8%).<sup>48</sup> Trwają badania potwierdzające wiarygodność tych wyników w innych grupach chorych oraz zależność wyników leczenia od innych ligandów NKG2D.

Hamid i wsp. badali wycinki czerniaka pobrane od 57 chorych leczonych ipilimumabem w dawce 3 lub 10 mg/kg podawanej co 3 tygodnie 4 razy. Oceniali skuteczność leczenia, za którą uznali uzyskanie obiektywnej odpowiedzi lub stabilizację nowotworu w 24 tygodniu terapii.<sup>49</sup> Badania immunohistochemiczne w kierunku granzymu, perforyny, komórek CD4 lub CD8, limfocytów pamięci oraz okołonowotworowych nacieków komórek układu immunologicznego nie wykazały korelacji z korzystnym wynikiem leczenia. Większą skuteczność obserwowano u chorych, u których nowotwór cechował się silną ekspresją 2,3-dioxygenazy indoleaminy (indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO) ( $n=35$ ) i czynnika transkrypcyjnego FoxP3 ( $n=33$ ). Dla słabej i silnej ekspresji wskaźniki skuteczności dla IDO oraz FoxP3 wyniosły odpowiednio 40 vs 11% i 50 vs 10%.

Mało prawdopodobne, by jakkolwiek parametr oceniany wyjściowo pozwolił dokładnie wskazać chorych, którym leczenie przeciwciałem anti-CLTA-4 mogłoby przynieść korzyść. Zgromadzone dotychczas dane sugerują, że występująca wcześniej odpowiedź immunologiczna na pojawienie się nowotworu wpływa na zdolność chorego do odpowiedzi na leczenie ipilimumabem, podczas gdy zaburzenia układu odpornościowego, wyrażone niewielką liczbą limfocytów, występowaniem czynników immunosupresyjnych w krążeniu lub uogólnionym stanem zapalnym, o którym świadczą zwiększone stężenia CRP, mogą osłabiać kliniczną aktywność leku. Zdarzenia obserwowane po rozpoczęciu leczenia i mogące korelować z jego wynikiem nie ułatwiają doboru chorych, dostarczają jednak nowych informacji o mechanizmach działania leku. Na przykład w niewielkiej grupie chorych otrzymujących tremelimumab uzyskaniu odpowiedzi towarzyszyło pojawiające się po leczeniu naciekanie ognisk nowotworu przez limfocyt CD8<sup>+</sup>.<sup>50</sup> W grupie chorych badanych w Memorial Sloan-Kettering Cancer Center stwierdzono korelację między kliniczną odpowiedzią na leczenie ipilimumabem a obserwowaną przed i po leczeniu serologiczną odpowiedzią komórek T na NY-ESO-1, antygen nowotworowo-jądrowy, którego ekspresja występuje w tkance czerniaka u części chorych, nie stwierdza się jej natomiast w tkankach prawidłowych.<sup>51</sup> Wykazano też korelację między podwojeniem liczby i utrzymywa-

niem się komórek CD4<sup>+</sup> oraz ICOS<sup>+</sup> (Inducible T-cell COStimulator, należąca do superrodziny CD28 cząsteczka stymulująca ekspresjonowana na aktywowanych komórkach T – przyp. red.) w 12 tygodniu leczenia.<sup>52</sup>

Ponieważ zgromadzone dane przemawiają za wpływem leczenia ipilimumabem na przeżycie chorych na zaawansowany nowotwór, wskazane jest przeprowadzenie badań oceniających wyniki zastosowania tego leku w terapii adiuwantowej. Zakończono nabór chorych na czerniaka w III stopniu zaawansowania do randomizowanego badania z grupą kontrolną przyjmującą placebo, podczas którego po operacji otrzymują oni ipilimumab w dawce 10 mg/kg co 3 tygodnie 4 razy, a następnie podtrzymujące dawki leku podawane co 12 tygodni. W innym badaniu prowadzonym przez Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) autorzy porównują skuteczność adiuwantowego leczenia ipilimumabem podawanym w dawce 3 lub 10 mg/kg co 3 tygodnie ze skutecznością schematu zawierającego dużą dawkę interferonu. Zaproponowano również zaprojektowanie badań z udziałem chorych po doszczętnym wycięciu czerniaka w IV stopniu zaawansowania.

Na podstawie danych pochodzących z badań przedklinicznych oraz przypuszczalnego mechanizmu działania zaczęto kojarzyć tremelimumab i ipilimumab z innymi modulatorami odpowiedzi immunologicznej w celu zastosowania ich w leczeniu chorych na zaawansowanego czerniaka. Po podawaniu tremelimumabu w dawce 15 mg/kg co 12 tygodni w połączeniu z dużą dawką interferonu  $\alpha$  w grupie 33 nadających się do oceny chorych na czerniaka z przerzutami odpowiedź całkowitą uzyskano u 3, a odpowiedź częściową u 7 (30,3% odpowiedzi obiektywnych). Mediana czasu przeżycia całkowitego wyniosła 15,9 miesiąca.<sup>53</sup> W innym badaniu I fazy oceniano skuteczność leczenia ipilimumabem podawanym w dniach 1, 21 i 42 w skojarzeniu z dużą dawką IL-2 podawaną w dniach 22 i 43.<sup>54,55</sup> Trzej chorzy otrzymali ipilimumab w dawce 0,1, 0,3 lub 2 mg/kg, a 24 chorych w dawce 3,0 mg/kg. Wśród 36 chorych włączonych do udziału w badaniu u 25% uzyskano odpowiedź obiektywną, a u 17% długotrwałą odpowiedź całkowitą trwającą od 69+ do 77+ miesięcy. Nieco później Hodi i wsp. przedstawili wyniki badania I fazy, w którym skojarzono bewacyzumab (w dawce 7,5 lub 15 mg/kg podawanej co 3 tygodnie) z ipilimumabem (w dawce 10 mg/kg podawanej co 3 tygodnie 4 razy).<sup>56</sup> W ocenianej przez nich populacji 22 chorych na czerniaka z przerzutami odpowiedzi obiektywnej obserwowano u 32%, a stabilizację nowotworu przez ponad pół roku u kolejnych 32%. Bewacyzumab prawdopodobnie zmieniał profil toksyczności ipilimumabu, odnotowano bowiem zapalenie błony naczyniowej oka u 2 chorych i zapalenie przysadki mózgowej u 5, z zatem częściej niż się spodziewano,

natomiast zapalenie okrężnicy było rzadsze od spodziewanego. Aktywność ipilimumabu i bewacyzumabu była w tym badaniu większa od spodziewanej w badaniach, w których są one stosowane w monoterapii, zagadnienie to wymaga jednak oceny w dalszych badaniach. Rozpoczęto badanie I fazy, w którym tremelimumab skojarzono z przeciwciałem anti-CD40. Trwają też lub są planowane badania kojarzące przeciwciała anti-CTLA-4 z innymi modulatorami odpowiedzi immunologicznej u chorych na zaawansowany nowotwór. ECOG zapoczątkowała ostatnio duże randomizowane badanie II fazy, w którym chorzy na czerniaka z przerzutami otrzymują ipilimumab skojarzony z sargramostymem (czynnikiem stymulującym kolonie granulocytów-makrofagów). Wkrótce rozpocznie się też badanie oceniające skuteczność połączenia ipilimumabu z drobnocząsteczkowym inhibitorem zmutowanego BRAF.

#### ANTY-PD1

Receptor 1 programowanej śmierci komórki (programmed death receptor 1, PD1) ulega ekspresji na aktywowanych komórkach T pamięci i regulatorowych. Hamuje on czynność komórek T związanych z jego ligandami, PD-L1 (B7-H1) i PD-L2 (B7-DC).<sup>57,58</sup> W warunkach *in vitro* zahamowanie PD1 zwiększa rozplętkowanie komórek T i wytwarzanie cytokin w odpowiedzi na pobudzenie przez swoiste antygeny lub komórki alogeniczne w mieszanych reakcjach limfocytowych.<sup>59,60</sup> W modelach przedklinicznych zahamowanie PD1 lub PD-L1 nasilało odpowiedź przeciwnowotworową, w której pośredniczył układ immunologiczny, a w warunkach *in vivo* obserwowano nasilenie działania przeciwnowotworowego innych modulatorów odpowiedzi immunologicznej, np. anti-CD137 lub anti-CTLA-4.<sup>20,61-63</sup> Podczas wstępnych badań immunohistochemicznych 22 wycinków ludzkiego czerniaka we wszystkich wycinkach wykazano ekspresję B7-H1, a w 17 ekspresja ta występowała w >40% komórek nowotworu.<sup>64</sup> W badaniach przedklinicznych stwierdzono możliwość nasilenia ekspresji B7-H1 w komórkach nowotworowych, DC i komórek śródbłonka pod wpływem działania interferonów.<sup>59,65,66</sup> Wyniki tych badań przemawiająca tym, że interakcje między B7-H1 a PD1 mogą odpowiadać za zahamowanie czynności komórek T w mikrośrodowisku nowotworu.

W badaniu I fazy, w którym oceniano przeciwciała hamujące PD1 (MDX 1106, BMS 936558, ONO4538), pojedyncze dawki leku wynoszące 0,3-10 mg/kg były dobrze tolerowane.<sup>67</sup> W projekcie tego badania dopuszczono zastosowanie ponownego leczenia w ograniczonej formie. Polegało ono na podaniu dwóch dawek

leku w odstępie 4 tygodni po 3-miesięcznej przerwie w leczeniu. Wśród 10 włączonych do badania chorych na czerniaka z przerzutami obserwowano jedną odpowiedź częściową i jedną odpowiedź mieszaną. Obaj chorzy otrzymywali lek w dawce 10 mg/kg. Nastąpiła regresja ognisk nowotworu w wątrobie i węzłach chłonnych, a odpowiedź utrzymuje się 23+ miesiące od czasu rozpoczęcia leczenia. W kolejnym badaniu I fazy lek w dawce 1, 3 lub 10 mg/kg podawano co 2 tygodnie. Nie osiągnięto maksymalnej dawki tolerowanej, ale – podobnie jak w badaniu poprzednim – przeciwciała anti-PD1 było dobrze tolerowane niezależnie od dawki, a działania niepożądane 3 lub 4 stopnia występowały rzadko.<sup>12</sup> Projekt badania zakładał, że u wszystkich jego uczestników udowodniono progresję nowotworu w trakcie pierwotnego leczenia lub po jego zakończeniu i nie byli oni leczeni przeciwciałem immunomodulującym, takim jak anti-CTLA-4. Po przeprowadzeniu oceny skuteczności leczenia dawką 10 mg/kg do badania włączono kolejnych chorych na czerniaka, co umożliwiło ocenę odpowiedzi na leczenie każdą z dawek przeciwciała ogółem u 16 chorych. Podczas ostatniej analizy danych w 2010 r. odpowiedź częściową obserwowano u 5 spośród 16 chorych przyjmujących lek w dawce 1 mg/kg, u 5 spośród 14 chorych otrzymujących dawkę 3 mg i u 5 spośród 16 chorych otrzymujących dawkę 10 mg/kg. Ogółem odpowiedź uzyskano u 15 spośród 46 chorych (32,6%), co świadczy o znacznej aktywności klinicznej przeciwciała u chorych leczonych wcześniej. U wszystkich chorych na czerniaka odpowiedź utrzymywała się w chwili analizowania danych i trwała od 5+ do 18+ miesięcy (mediana 8+ miesięcy). Długotrwałą odpowiedź obserwowano u chorych na nowotwór o dużej masie, z przerzutami do narządów trzewnych. Podobnie jak po leczeniu ipilimumabem, chorzy przyjmujący przeciwciała anti-PD1 mogą wykazywać odpowiedź mieszaną zanim osiągną obiektywną odpowiedź częściową. Całkowita aktywność przeciwciała anti-PD1 mogła być zanizowana przez wskaźnik odpowiedzi obiektywnych, ponieważ kilku chorych niespełniających kryteriów odpowiedzi częściowej (np. chorzy ze stabilizacją nowotworu lub odpowiedzią mieszaną) odniosło jednak korzyść z leczenia.

Wstępne dane dotyczące kilku nowotworów złośliwych odpowiadających na leczenie sugerują, że odpowiedź na anti-PD1 może być związana z ekspresją B7-H1 w komórkach nowotworu.<sup>67</sup> Nie określono wpływu wcześniejszego leczenia na tę odpowiedź. Wśród chorych, którzy odpowiedzieli na leczenie różnymi dawkami anti-PD1, były osoby z progresją nowotworu po leczeniu dużymi dawkami IL-2. W kolejnych badaniach należałoby określić aktywność przeciwciała u chorych, którzy nie odpowiedzieli na leczenie anti-CTLA-4 lub po takim leczeniu nastąpiła progresja

nowotworu. Trwają badania oceniające skuteczność anti-PD1 w skojarzeniu z peptydowymi szczepionkami przeciw czerniakowi, a także z ipilimumabem. Rozpoczęto też badania I fazy z użyciem przeciwciała hamującego anti-PD-L1.

#### SZCZEPIONKI PRZECIWNOWOTWOROWE W KOŃCOWYM ETAPIE BADAŃ

Białka nowotworowo-jądrowe są znakomitą punktem uchwytu działania leków immunomodulujących, ponieważ ich ekspresja z reguły ogranicza się do komórek nowotworu i komórek tkanek zarodkowych. Ekspresja jednego z tych białek, MAGE-A3, występuje w ognisku nowotworowym około 65% chorych na czerniaka.<sup>68</sup> Rekombinowaną formę MAGE-A3 skojarzoną z jednym z dwóch markowych adiuwantów immunologicznych, AS02B i AS15, podano 72 chorym na czerniaka w stopniu III zaawansowania, nieresekcyjnego lub z przerzutami *in-transit* (w odległości >2 cm od zmiany pierwotnej – przyp. red.) albo w stopniu zaawansowania IV M1a (jedynie odległe przerzuty na skórze lub w węzłach chłonnych).<sup>69</sup> Stwierdzono dwie odpowiedzi częściowe i trzy odpowiedzi całkowite (wskaźnik odpowiedzi 7%). Wśród odpowiedzi częściowych dwie utrzymują się 24+ i 32+ miesiące. Cztery spośród pięciu odpowiedzi wystąpiły u chorych, którym podano szczepionkę z adiuwantem AS15. W celu wyodrębnienia markerów biologicznych pozwalających przewidzieć przeciwnowotworową aktywność szczepionki porównano ekspresję genu w tkankach czerniaka przed leczeniem, pobranych od dwóch chorych z odpowiedzią obiektywną i siedmiu chorych, którzy nie odpowiedzieli na leczenie.<sup>69,70</sup> Chorzy odpowiadający na leczenie różnili się od nieodpowiadających sygnaturą genową złożoną głównie z genów związanymi z układem immunologicznym. Na podstawie takiej sygnatury genowej można było następnie wskazać wszystkich chorych, u których uzyskiwano odpowiedź obiektywną lub mieszaną albo stabilizację nowotworu trwającą co najmniej pół roku. Mediana czasu do uznania leczenia za nieskuteczne oraz mediana czasu przeżycia całkowitego wyniosła odpowiednio 10,3 i 28 miesięcy w grupie chorych z przepowiadającą sygnaturą genową oraz odpowiednio 2,3 i 16,2 miesiąca wśród pozostałych chorych.<sup>71</sup> Nie ustalono wprawdzie, czy na podstawie analizy sygnatury genowej można przewidzieć rokowanie lub odpowiedź na leczenie, zagadnienie to jest jednak oceniane w trwającym prospektywnym randomizowanym badaniu, którego autorzy porównują działanie MAGE-A3/AS15 z wpływem placebo w adiuwantowym leczeniu chorych na czerniaka w III stopniu zaawansowania obciążonych dużym ryzykiem.



Badanie komórek T pochodzących z ogniska czerniaka i rozpoznawanie swoistych nowotworów auto- i alogenicznych zgodnych pod względem HLA przyczyniło się do odkrycia gp100, białka swoistego dla melanocytów, występującego w podgrupie tych komórek.<sup>72,73</sup> Następnie zidentyfikowano fragmenty peptydowe gp100 związane z HLA-A201, po czym zastąpiono pojedyncze aminokwasy, by zwiększyć powinowactwo gp100 do HLA-A201 i dzięki temu nasilić jego immunogenność.<sup>74,75</sup> Stwierdzono, że peptyd gp100<sub>209-2M</sub> dodany do adiuwantu Montanide ISA-51 może wzbudzać odpowiedź komórek T u chorych na zaawansowanego czerniaka. Odpowiedź ze strony nowotworu była jednak rzadka.<sup>76</sup> W wielu badaniach oceniano później szczepionkę peptydowo-adiuwantową, również w skojarzeniach z różnymi cytokinami i przeciwciałami immunostymulującymi.<sup>77</sup> Wyniki stosowania tego leczenia skojarzonego były niejednoznaczne lub niekorzystne. Retrospektywna analiza przeprowadzona przez autorów z National Cancer Institute Surgery Branch ujawniła, że immunizacja za pomocą peptydu (stosowanego wyłącznie, wraz z innymi peptydami lub wirusem ospy ptasiej jako wektorem) w połączeniu z podaniem iv dużej dawki IL-2 pozwoliła na uzyskanie odpowiedzi u 22,3% spośród 150 chorych na czerniaka z przerzutami.<sup>78</sup> Odpowiedzi były zatem częstsze niż po podaniu w tym samym czasie wyłącznie dużej dawki IL-2, na którą zareagowało 12,8% chorych. Wyniki te skłoniły do podjęcia wielośrodowego randomizowanego badania, w którym porównywano skuteczność monoterapii dużymi dawkami IL-2 ( $n=93$ ) ze skutecznością skojarzonego leczenia peptydem i adiuwantem ( $n=86$ ) u chorych na czerniaka z przerzutami cechującego się HLA-A201+.<sup>79</sup> Mediana czasu przeżycia w ramieniu leczenia skojarzonego wyniosła 17,6 miesiąca w porównaniu z 12,8 miesiąca w ramieniu wyłącznej IL-2, różnica ta nie osiągnęła jednak znamiennej statystycznej. Oceniane przez badaczy odpowiedzi całkowite i częściowe były znamienne statystycznie częstsze w ramieniu leczenia skojarzonego (14 i 22,1% vs 2,2 i 9,7%). Konieczne jest przeprowadzenie dalszych badań, których rozpoczęcie opóźnia się jednak z uwagi na zmiany wprowadzone w składzie Montanide ISA-51, które mogą wpłynąć na immunologiczne działanie tej substancji adiuwantowej na peptyd.<sup>80</sup>

Poza wyodrębnianiem i wytwarzaniem antygenów swoistych dla nowotworu w celu wywołania immunizacji można modyfikować mikrośrodowisko nowotworu. Ułatwia to wychwytywanie antygenów nowotworu przez wyspecjalizowane komórki prezentujące antygen, a następnie wywołuje silną odpowiedź komórek T zarówno na pojedyncze unikalne, jak i wspólne antygeny nowotworu. W jednym z badań zmodyfikowany onkolityczny wirus opryszczki z ekspresją GM-CSF

(talimogene laherparepvec, wcześniejsza nazwa Oncovex [Amgen, Thousand Oaks, CA]) wstrzyknięto do ogniska nowotworu 50 chorym na czerniaka.<sup>81</sup> Wstrzyknięcia do wielu ognisk można powtarzać w odstępach 2-tygodniowych. Wśród 50 uczestników tego badania u 26 czerniak był w stopniu zaawansowania IIIC nieresekcyjny lub z przerzutami *in-transit*, albo w stopniu zaawansowania IV M1a. Uzyskano 8 odpowiedzi całkowitych i 5 odpowiedzi częściowych, ogólny wskaźnik odpowiedzi wyniósł zatem 26%. Odpowiedź trwała ponad pół roku u 12 chorych (7-31 miesięcy), a u niektórych spośród nich utrzymuje się nadal. Obserwowano również regresję nieostrzykiwanych ognisk nowotworu, w tym u co najmniej 5 chorych z przerzutami odległymi, co sugeruje możliwość układowego rozsiewu wirusa lub wzbudzenia przeciwnowotworowej odpowiedzi immunologicznej. W przeprowadzonym następnie badaniu III fazy porównywano wpływ talimogene laherparepvec z działaniem podawanego podskórnie GM-CSF u chorych na czerniaka zaawansowanego miejscowo lub z przerzutami. Z udziału w tym badaniu wykluczono chorych z ponad trzema przerzutami w narządach trzewnych lub co najmniej jednym przerzutem trzewnym wielkości >3 cm.

Allovectin-7 jest plazmidem kodującym HLA-B7 i mikroglobulinę  $\beta_2$  na kationowym podłożu lipidowym.<sup>82</sup> Zaprojektowano go w celu uwalniania sygnałów do mikrośrodowiska nowotworu i wzmocnienia w nim ekspresji obcego antygeny zgodności tkankowej. Dzięki temu komórki nowotworu są łatwiej rozpoznawane przez układ immunologiczny i rozwija się odpowiedź immunologiczna ukierunkowana przeciw swoistym antygenom czerniaka. Podczas dużego badania II fazy 127 chorych leczono preparatem Allovectin-7 (Vical, San Diego, CA) wstrzykiwanym w dawce 2 mg do ogniska nowotworu. Wśród nich 101 otrzymało całą dawkę leku podaną do pojedynczego ogniska, a u 26 dawkę 2 mg podzielono i wstrzyknięto do 5 ognisk.<sup>83</sup> Zastosowano 6 wstrzyknięć podawanych raz w tygodniu, po czym następowała 3-tygodniowa przerwa. U 67% chorych nowotwór był ograniczony do skóry i tkanki podskórnej oraz węzłów chłonnych, a u 33% występowały przerzuty w płucach. Na leczenie odpowiedziało 17 ostrzykniętych ognisk nowotworu. Biorąc pod uwagę całkowitą masę nowotworu, obserwowano 4 odpowiedzi całkowite i 11 odpowiedzi częściowych (wskaźnik odpowiedzi obiektywnych 11,8%), których mediana czasu trwania wyniosła 13,8 miesiąca. Osiem odpowiedzi wystąpiło jedynie w ostrzykniętym ognisku mierzalnego nowotworu. U trzech chorych z odpowiedzią obiektywną nastąpiła regresja nieostrzykniętych przerzutów. Ogółem udowodniono regresję nieostrzykniętych ognisk nowotworu u 19 chorych. U 9 z nich były to układowe przerzuty w narządach odległych.

TABELA

Nowe preparaty immunomodulujące w leczeniu chorych na czerniaka		
Lek	Proponowany mechanizm działania	Aktywność
Przeciwciała anti-CTLA-4 (ipilimumab, tremelimumab)	Hamowanie ujemnego sygnału regulatorowego po aktywacji komórek T, możliwy wpływ hamujący na regulatorowe komórki T	Ipilimumab wydłuża medianę czasu przeżycia chorych leczonych wcześniej, trwałe odpowiedzi obiektywne uzyskuje się u 5-10% leczonych
Anty-PD1	Hamowanie ujemnego sygnału komórek T pamięci i efektorowych w ognisku nowotworu	ORR 33% u 46 uczestników badania I fazy, wśród nich u wszystkich przeżycie wolne od progresji 5+ miesięcy
Adoptywna immunoterapia komórkami T wraz z limfoablacją	Limfoablacja zwiększa stężenie krążących cytokin i ułatwia utrzymywanie się przeniesionych komórek T swoistych dla nowotworu	ORR 56% u 93 leczonych, trwała odpowiedź całkowita u co najmniej 10%
Adoptywna immunoterapia komórkami T modyfikowana TCR wraz z limfoablacją	Przekształcenie limfocytów krwi obwodowej w komórki T swoiste dla nowotworu na drodze transfekcji nowego antygenu nowotworowego rozpoznającego TCR	ORR 25-45% we wczesnych niewielkich badaniach
Szczepionka MAGE-A3/AS-15	Indukcja odpowiedzi immunologicznej na MAGE-A3, którego ekspresja występuje u 65% chorych na czerniaka	ORR u 7% chorych na czerniaka w stopniu zaawansowania IIIC lub IV M1A, u odpowiadających na leczenie sygnatura genowa może być bogata
Szczepionka IL-2+gp100: 209-217:210M/Montanie ISA-51	Indukowana przez szczepionkę odpowiedź komórek T w połączeniu z aktywnością IL-2 (IL-2 powiela odpowiedź komórek T?)	Znaczne zwiększenie CR (14%) i ORR (22,1%) po podaniu szczepionki +IL-2 vs po wyłącznym podaniu IL-2
Talimogene laherparepvec (Oncovex)	Onkolityczny wirus opryszczki cechujący się ekspresją GM-CSF, wstrzykiwany w ognisko nowotworu	ORR 26% u 50 chorych, regresja nieostrzykiwanej zmiany miejscowej i niewielkich ognisk rozlanego nowotworu
Allovectin-7	Plazmid kodujący HLA-B7 i mikroglobulinę $\beta_2$ wstrzykiwany w ognisko nowotworu w celu wywołania ekspresji obcego antygeny oraz miejscowej odpowiedzi zapalnej	ORR 11,8% u 127 chorych, odpowiedź miejscowa u 17%, obserwowano regresję nieostrzykiwanej zmiany miejscowej i niewielkich ognisk rozlanego nowotworu
Anty-CD40 (CP-870,893)	Sygnał agonistyczny dla CD40 powoduje dojrzewanie komórek dendrytycznych, modulację działania komórek B, może też bezpośrednio wpływać na nowotwór	ORR u 27% spośród 15 chorych leczonych pojedynczą dawką, 0/11 odpowiedzi na dawkowanie raz w tygodniu
Anty-CD137	Współdziałal w pobudzaniu komórek T, indukcja rozplemu komórek pamięci T CD8 <sup>+</sup>	ORR u 6% spośród 54 chorych <sup>91</sup>
Anty-GITR	Sygnał agonistyczny może nasilać działanie efektorowe komórek T i osłabiać komórki Treg	Początek oceny w badaniach klinicznych
Anty-OX40	Współdziałal w pobudzaniu, zwiększenie aktywności komórek T pamięci i efektorowych	Ocena przeciwciała mysiego w badaniu I fazy
IL-21	Aktywacja komórek NK i komórek T CD8 <sup>+</sup> , może hamować rozwój Treg	ORR 8,3-24% w badaniach II fazy, w jednym z badań mediana czasu PFS 5,19 miesiąca
IL-15	Zwiększenie puli limfocytów pamięci bez wpływu na Treg	Początek oceny w badaniach klinicznych
InhibitoryIDO	Hamowanie enzymów degradacji tryptofanu, usprawnienie czynności komórek T	Początek oceny w badaniach klinicznych

CR – odpowiedź całkowita, ORR – wskaźnik odpowiedzi obiektywnej, TCR – receptor komórek T, GM-CSF – czynnik stymulujący kolonie granulocytów-makrofagów, PFS – przeżycie wolne od progresji nowotworu, IL – interleukina, IDO – 2,3-dioksygenaza indoloaminy, NK – komórki NK (naturalni zabójcy), Treg – regulatorowe komórki T.

Rozpoczęto randomizowane badanie III fazy z udziałem chorych na czerniaka z przerzutami, którego celem jest porównanie wstrzyknięć Allovectin-7 z chemioterapią dakarbazyną lub temozolomidem.

#### INNE METODY IMMUNOTERAPII

W tabeli wymieniono inne wybrane metody immunoterapii czerniaka oceniane we wczesnej fazie badań klinicznych. Wśród nich warto wyróżnić CP-870,893 w pełni ludzkie przeciwciało klasy IgG anti-CD40. Aktywacja CD40 pobudza dojrzewanie DC i usprawnia prezentację antygenów komórkom T.<sup>84</sup> Ekspresja CD40 występuje też na komórkach czerniaka, ale nie poznano znaczenia bezpośredniego wiązania się przeciwciała z komórkami nowotworu w celu wywołania działania przeciwnowotworowego.<sup>85-87</sup> Przeciwciało może też modulować komórki B cechujące się ekspresją CD40.<sup>88</sup> W badaniu I fazy, podczas którego zastosowano wzrastające pojedyncze dawki CO-870,893, odpowiedź częściową uzyskano u 4 spośród 15 chorych na czerniaka.<sup>89</sup> Chorzy ci otrzymali lek w dawce wynoszącej 0,2 lub 0,3 mg/kg. Obserwowano regresję ognisk nowotworu w wątrobie, skórze, węzłach chłonnych, mięśniach i płucu. U jednego z chorych, któremu w 2-4-miesięcznych odstępach podawano dodatkowe dawki leku, odpowiedź utrzymywała się 11+ miesięcy. Działania niepożądane było na ogół łagodne i polegały na występowaniu zespołu uwalniania cytokin, przejściowym zwiększeniu wartości parametrów ocenianych w testach czynnościowych wątroby, małopłytkowości i limfopenii. W kolejnym badaniu I fazy podawano CP-870,893 raz w tygodniu we wlewie iv.<sup>90</sup> Maksymalna tolerowana dawka leku wyniosła 0,2 mg/kg, podobnie jak w badaniu I fazy z użyciem pojedynczej dawki. Wśród 11 uczestniczących w badaniu chorych na czerniaka u żadnego nie stwierdzono odpowiedzi klinicznej. Przyczyną braku aktywności leku była prawdopodobnie nadmierna stymulacja i zanikanie komórek T w następstwie częstego dawkowania przeciwciała anti-CD40. Nie określono optymalnej częstości podawania leku w celu uzyskania aktywacji komórek T i wywołania działania przeciwnowotworowego. Trwa badanie oceniające skuteczność CP-870,893 w skojarzeniu z tremelimumabem.

#### PODSUMOWANIE

Nowe leki i metody immunoterapii, zwłaszcza anti-CTLA-4, anti-PD1 oraz immunoterapia adoptywna oparta na komórkach T skojarzona z limfoblacją, przyczyniają się do uzyskiwania znaczących odpowiedzi klinicznych w pewnych podgrupach chorych na zaawansowanego czerniaka z przerzutami. Dane dotyczące anti-PD1 są jeszcze zbyt świeże, ale wszystkie trzy metody pozwalają na osiągnięcie długotrwałej regresji nowotworu z przerzutami o dużej masie. Ponadto w randomizowanym badaniu zastosowanie przeciwciała anti-CTLA-4 (ipilimumabu) u chorych leczonych wcześniej poprawiło medianę przeżyć rocznych i dwuletnich w porównaniu z przeżyciami uzyskanymi po podaniu szczepionki peptydowej. Wydaje się, że osiąganie lepszych wyników jest skutkiem wyzwania odpowiedzi immunologicznej w następstwie negatywnej regulacji. Wiele pytań pozostaje jeszcze bez odpowiedzi. Nie ustalono np. optymalnego sekwencjonowania ani kojarzenia leków, nie opracowano przepowiadających markerów biologicznych ani najlepszych metod zwalczania działań niepożądanych. W końcowych etapach badań klinicznych stwierdzono też pewną, choć robiącą mniejsze wrażenie, aktywność kilku innych leków u chorych na zaawansowanego czerniaka z przerzutami. Mogą się one okazać przydatne w leczeniu chorych na nowotwory o mniejszej masie lub cechujące się sygnaturą genową pozwalającą przewidzieć ich skuteczność. Skojarzenie różnych leków stosowanych w immunoterapii może się przyczynić do uzyskania lepszych klinicznych wyników leczenia, niewykluczone jednak, że będzie konieczne opracowanie markerów biologicznych ułatwiających dobór chorych do leczenia określonymi metodami. Dalszej poprawy wyników można się spodziewać dzięki zastosowaniu nowych leków ocenianych obecnie w badaniach. Działanie tych leków jest ukierunkowane na sygnały uczestniczące w stymulacji lub przeciwdziałaniu mechanizmom immunosupresyjnym.

© Elsevier Inc. All rights reserved. This article from Seminars in Oncology 2012,39:192-203 Advances in the Treatment of Metastatic Melanoma: New Immunomodulatory Agents by Mario Sznol is translated and reprinted with permission of Elsevier.

## PIŚMIENNICTWO

1. Morton DL, Eilber FR, Holmes EC, et al. BCG immunotherapy of malignant melanoma: summary of a seven-year experience. *Ann Surg* 1974;180:635-43.
2. Morton DL, Eilber FR, Holmes EC, Ramming KP. Preliminary results of a randomized trial of adjuvant immunotherapy in patients with malignant melanoma who have lymph node metastases. *Aust N Z J Surg* 1978;48:49-52.
3. Berd D, Maguire HC, Jr, Mastrangelo MJ. Induction of cell-mediated immunity to autologous melanoma cells and regression of metastases after treatment with a melanoma cell vaccine preceded by cyclophosphamide. *Cancer Res* 1986;46:2572-7.
4. Mitchell MS, Harel W, Kempf RA, et al. Active-specific immunotherapy for melanoma. *J Clin Oncol* 1990;8:856-69.
5. Kirkwood JM. Studies of interferons in the therapy of melanoma. *Semin Oncol* 1991;18:83-90.
6. Kirkwood JM, Ernstoff MS, Davis CA, Reiss M, Ferraresi R, Rudnick SA. Comparison of intramuscular and intravenous recombinant alpha-2 interferon in melanoma and other cancers. *Ann Intern Med* 1985;103:32-6.
7. Rosenberg SA, Yang JC, Topalian SL, et al. Treatment of 283 consecutive patients with metastatic melanoma or renal cell cancer using high-dose bolus interleukin 2. *JAMA* 1994;271:907-13.
8. Atkins MB, Lotze MT, Dutcher JP, et al. High-dose recombinant interleukin 2 therapy for patients with metastatic melanoma: analysis of 270 patients treated between 1985 and 1993. *J Clin Oncol* 1999;17:2105-16.
9. Kirkwood JM, Manola J, Ibrahim J, Sondak V, Ernstoff MS, Rao U. A pooled analysis of Eastern Cooperative Oncology Group and intergroup trials of adjuvant high-dose interferon for melanoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:1670-7.
10. Zang X, Allison JP. The B7 family and cancer therapy: costimulation and coinhibition. *Clin Cancer Res* 2007;13:5271-9.
11. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711-23.
12. Sznol M, Powderly JD, Smith DC, et al. Safety and antitumor activity of biweekly MDX-1106 (Anti-PD-1, BMS-936558/ONO-4538) in patients with advanced refractory malignancies. *J Clin Oncol* 2010;28.
13. Dudley ME, Yang JC, Sherry R, et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J Clin Oncol* 2008;26:5233-9.
14. Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ccl4. *Science* 1995;270:985-8.
15. Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, Lynch WP, Bluestone JA, Sharpe AH. Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* 1995;3:541-7.
16. Leach DR, Krummel MF, Allison JP. Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 1996;271:1734-6.
17. Hurwitz AA, Yu TF, Leach DR, Allison JP. CTLA-4 blockade synergizes with tumor-derived granulocyte-macrophage colony-stimulating factor for treatment of an experimental mammary carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:10067-71.
18. Demaria S, Kawashima N, Yang AM, et al. Immune-mediated inhibition of metastases after treatment with local radiation and CTLA-4 blockade in a mouse model of breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005;11:728-34.
19. Kocak E, Lute K, Chang X, et al. Combination therapy with anti-CTL antigen-4 and anti-4-1BB antibodies enhances cancer immunity and reduces autoimmunity. *Cancer Res* 2006;66:7276-84.
20. Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107:4275-80.
21. Peggs KS, Quezada SA, Chambers CA, Korman AJ, Allison JP. Blockade of CTLA-4 on both effector and regulatory T cell compartments contributes to the antitumor activity of anti-CTLA-4 antibodies. *J Exp Med* 2009;206:1717-25.
22. Ribas A. Clinical development of the anti-CTLA-4 antibody tremelimumab. *Semin Oncol* 2010;37:450-4.
23. Weber J. Ipilimumab: controversies in its development, utility and autoimmune adverse events. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58:823-30.
24. Camacho LH, Antonia S, Sosman J, et al. Phase I/II trial of tremelimumab in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2009;27:1075-81.
25. Kirkwood JM, Lorigan R, Hersey P, et al. Phase II trial of tremelimumab (CP-675,206) in patients with advanced refractory or relapsed melanoma. *Clin Cancer Res* 2010;16:1042-8.
26. Ribas A, Pavlov D, Marshall MA. Final efficacy results of a3671009, a phase 3 study of tremelimumab vs chemotherapy (dacarbazine or temozolomide) in first line patients with unresectable melanoma. *J Immunother* 2010;33:LBA.
27. Weber J. Review: anti-CTLA-4 antibody ipilimumab: case studies of clinical response and immune-related adverse events. *Oncologist* 2007;12:864-72.
28. Saenger YM, Wolchok JD. The heterogeneity of the kinetics of response to ipilimumab in metastatic melanoma: patient cases. *Cancer Immunol* 2008;8:1.
29. Hodi FS, O'Day S, McDermott DF, et al. Re-induction with ipilimumab, gp100 peptide vaccine, or a combination of both from a phase III, randomized, double-blind, multicenter study of previously treated patients with unresectable stage III or IV melanoma. *J Clin Oncol* 2010;28:15s (abstr 8509).
30. Healy DI, Carlson PS, Huang B, Marshall MA. Clinical outcome of first-line melanoma patients who continue tremelimumab in spite of early disease progression. *J Clin Oncol* 2010;28 (abstr 2574).
31. Wolchok JD, Neyns B, Linette G, et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, doseranging study. *Lancet Oncol* 2010;11:155-64.
32. O'Day SJ, Maio M, Chiarion-Sileni V, et al. Efficacy and safety of ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a multicenter single-arm phase II study. *Ann Oncol* 2010;21:1712-7.
33. Hersh EM, O'Day SJ, Powderly J, et al. A phase II multicenter study of ipilimumab with or without dacarbazine in chemotherapy-naive patients with advanced melanoma. *Invest New Drugs* 2010;29:489-98.
34. Weber J, Thompson JA, Hamid O, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II study comparing the tolerability and efficacy of ipilimumab administered with or without prophylactic budesonide in patients with unresectable stage III or IV melanoma. *Clin Cancer Res* 2009;15:5591-8.
35. Weber JS, O'Day S, Urba W, et al. Phase I/II study of ipilimumab for patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2008;26:5950-6.
36. Downey SG, Klapper JA, Smith FO, et al. Prognostic factors related to clinical response in patients with metastatic melanoma treated by CTL-associated antigen-4 blockade. *Clin Cancer Res* 2007;13:6681-8.
37. Wolchok JD, Hoos A, O'Day S, et al. Guidelines for the evaluation of immune therapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res* 2009;15:7412-20.
38. Wolchok JD, Weber JS, Hamid O, et al. Ipilimumab efficacy and safety in patients with advanced melanoma: a retrospective analysis of HLA subtype from four trials. *Cancer Immunol* 2010;10:9.
39. Wolchok JD, Thomas L, Bondarenko IN, et al. Phase III randomized study of ipilimumab (IPI) plus dacarbazine (DTIC) versus DTIC alone as first-line treatment in patients with unresectable stage III or IV melanoma. *J Clin Oncol* 2011;29 (abstr LBA5).
40. Margolin K, Hamid O, McDermott D, et al. Ipilimumab monotherapy in melanoma patients with brain metastases-update of a phase II study. *J Immunother* 2010;33:903.
41. Marshall MA, Ribas A, Huang B. Evaluation of baseline serum C-reactive protein (CRP) and benefit from tremelimumab compared to chemotherapy in first-line melanoma. *J Clin Oncol* 2010;28 (abstr 2609).
42. Ku GY, Yuan J, Page DB, et al. Single-institution experience with ipilimumab in advanced melanoma patients in the compassionate use setting: lymphocyte count after 2 doses correlates with survival. *Cancer* 2010;116:1767-75.
43. Callahan MK, Wolchok JD, Allison JP. Anti-CTLA-4 antibody therapy: immune monitoring during clinical development of a novel immunotherapy. *Semin Oncol* 2010;37:473-84.
44. Berman DM, Wolchok J, Weber J, Hamid O, O'Day S, Chasalow SD. Association of peripheral blood absolute lymphocyte count (ALC) and clinical activity in patients (pts) with advanced melanoma treated with ipilimumab. *J Clin Oncol* 2009;27 (abstr 3020).
45. Jinushi M, Hodi FS, Dranoff G. Therapy-induced antibodies to MHC class I chain-related protein A antagonize immune suppression and stimulate antitumor cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;103:9190-5.
46. Raffaghello L, Prigione I, Airolidi I, et al. Downregulation and/or release of NKG2D ligands as immune evasion strategy of human neuroblastoma. *Neoplasia* 2004;6:558-68.
47. Paschen A, Sucker A, Hill B, et al. Differential clinical significance of individual NKG2D ligands in melanoma: soluble ULBP2 as an indicator of poor prognosis superior to S100B. *Clin Cancer Res* 2009;15:5208-15.
48. Bahjat KS, Korman AJ. Elevated soluble major histocompatibility complex class I chain-related protein A predicts nonresponsiveness to cytotoxic T lymphocyte antigen-4 blockade. *J Immunother* 2009;32:1002.
49. Hamid O, Chasalow SD, Tsuchihashi Z, Alaparthi S, Galbraith S, Berman D. Association of baseline and onstudy tumor biopsy markers with clinical activity in patients with advanced melanoma treated with ipilimumab. *J Clin Oncol* 2009;27 (abstr 9008).

50. Ribas A, Comin-Anduix B, Economou JS, et al. Intratumoral immune cell infiltrates, FoxP3, and indoleamine 2,3-dioxygenase in patients with melanoma undergoing CTLA4 blockade. *Clin Cancer Res* 2009;15:390-9.
51. Yuan J, Gnjatic S, Li H, et al. CTLA-4 blockade enhances polyfunctional NY-ESO-1 specific T cell responses in metastatic melanoma patients with clinical benefit. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:20410-5.
52. Carthon BC, Wolchok JD, Yuan J, et al. Preoperative CTLA-4 blockade: tolerability and immune monitoring in the setting of a presurgical clinical trial. *Clin Cancer Res* 2010;16:2861-71.
53. Tarhini AA, Moschos SJ, Tawbi H, et al. Phase II evaluation of tremelimumab (Treme) combined with high-dose interferon alpha-2b (HDI) for metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2010;28 (abstr 8524).
54. Maker AV, Phan GQ, Attia R, et al. Tumor regression and autoimmunity in patients treated with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and interleukin 2: a phase I/II study. *Ann Surg Oncol* 2005;12:1005-16.
55. Prieto PA, Yang JC, Sherry RM, et al. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade with ipilimumab: Long-term follow-up of 179 patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2010;28 (abstr 8544).
56. Hodi FS, Friedlander PA, Atkins MB, et al. A phase I trial of ipilimumab plus bevacizumab in patients with unresectable stage III or stage IV melanoma. *J Clin Oncol* 2011;29 (abstr 8511).
57. Fife BT, Bluestone JA. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol Rev* 2008;224:166-82.
58. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol* 2007;8:239-45.
59. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000;192:1027-34.
60. Blank C, Kuball J, Voelkl S, et al. Blockade of PD-L1 (B7-H1) augments human tumor-specific T cell responses *in vitro*. *Int J Cancer* 2006;119:317-27.
61. Okudaira K, Hokari R, Tsuzuki Y, et al. Blockade of B7-H1 or B7-DC induces an anti-tumor effect in a mouse pancreatic cancer model. *Int J Oncol* 2009;35:741-9.
62. Hirano F, Kaneko K, Tamura H, et al. Blockade of B7-H1 and PD-1 by monoclonal antibodies potentiates cancer therapeutic immunity. *Cancer Res* 2005;65:1089-96.
63. Yu P, Steel JC, Zhang M, Morris JC, Waldmann TA. Simultaneous blockade of multiple immune system inhibitory checkpoints enhances antitumor activity mediated by interleukin-15 in a murine metastatic colon carcinoma model. *Clin Cancer Res* 2010;16:6019-28.
64. Dong H, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002;8:793-800.
65. Eppihimer MJ, Gunn J, Freeman GJ, et al. Expression and regulation of the PD-L1 immunoinhibitory molecule on microvascular endothelial cells. *Microcirculation* 2002;9:133-45.
66. Blank C, Brown I, Peterson AC, et al. PD-L1/B7H-1 inhibits the effector phase of tumor rejection by T cell receptor (TCR) transgenic CD8 T cells. *Cancer Res* 2004;64:1140-5.
67. Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 2010;28:3167-75.
68. Gaugler B, Van den Eynde B, van der Bruggen P, et al. Human gene MAGE-3 codes for an antigen recognized on a melanoma by autologous cytolytic T lymphocytes. *J Exp Med* 1994;179:921-30.
69. Dreno B, Mortier L, Robertz C, et al. MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapeutic in metastatic melanoma: final results of a randomized open label phase II study of the EORTC Melanoma Group (16032-18031). *J Immunother* 2009;32.
70. Louahed J, Gruselle O, Gaulis S, et al. Expression of defined genes identified by pretreatment tumor profiling: association with clinical responses to the GSK MAGE-A3 immunotherapeutic in metastatic melanoma patients (EORTC 16032-18031). *J Clin Oncol* 2008;26 (abstr 9045).
71. Lehmann F, Ulloa-Montoya F, Gruselle O, et al. Clinical activity following the administration of the MAGE-A3 antigen-specific cancer immunotherapeutic in both the melanoma and NSCLC is associated with similar predictive biomarkers present prior treatment. *J Immunother* 2009;32:957.
72. Bakker AB, Schreurs MW, de Boer AJ, et al. Melanocyte lineage-specific antigen gp100 is recognized by melanoma-derived tumor-infiltrating lymphocytes. *J Exp Med* 1994;179:1005-9.
73. Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al. Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-infiltrating lymphocytes associated with *in vivo* tumor rejection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:6458-62.
74. Kawakami Y, Eliyahu S, Jennings C, et al. Recognition of multiple epitopes in the human melanoma antigen gp100 by tumor-infiltrating T lymphocytes associated with *in vivo* tumor regression. *J Immunol* 1995;154:3961-8.
75. Parkhurst MR, Salgaller ML, Southwood S, et al. Improved induction of melanoma-reactive CTL with peptides from the melanoma antigen gp100 modified at HLA-A\*0201-binding residues. *J Immunol* 1996;157:2539-48.
76. Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, et al. Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nat Med* 1998;4:321-7.
77. Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ, et al. Impact of cytokine administration on the generation of antitumor reactivity in patients with metastatic melanoma receiving a peptide vaccine. *J Immunol* 1999;163:1690-5.
78. Smith FO, Downey SG, Klapper JA, et al. Treatment of metastatic melanoma using interleukin-2 alone or in conjunction with vaccines. *Clin Cancer Res* 2008;14:5610-8.
79. Schwartzentruber DJ, Lawson D, Richards J, et al. A phase III multi-institutional randomized study of immunization with the gp100:209-217(210M) peptide followed by high-dose IL-2 compared with high-dose IL-2 alone in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2009;27 (abstr CRA9011).
80. Rosenberg SA, Yang JC, Kammula US, et al. Different adjuvanticity of incomplete freund's adjuvant derived from beef or vegetable components in melanoma patients immunized with a peptide vaccine. *J Immunother* 2010;33:626-9.
81. Senzer NN, Kaufman HL, Amatruda T, et al. Phase II clinical trial of a granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-encoding, second-generation oncolytic herpesvirus in patients with unresectable metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 2009;27:5763-71.
82. Stopeck AT, Jones A, Hersh EM, et al. Phase II study of direct intralesional gene transfer of allovectin-7, an HLA-B7/beta2-microglobulin DNA-liposome complex, in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:2285-91.
83. Bedikian AY, Richards J, Kharkevitch D, Atkins MB, Whitman E, Gonzalez R. A phase 2 study of high-dose Allovectin-7 in patients with advanced metastatic melanoma. *Melanoma Res* 2010;20:218-26.
84. Vonderheide RH. Prospect of targeting the CD40 pathway for cancer therapy. *Clin Cancer Res* 2007;13:1083-8.
85. Thomas WD, Smith MJ, Si Z, Hersey P. Expression of the co-stimulatory molecule CD40 on melanoma cells. *Int J Cancer* 1996;68:795-801.
86. von Leoprechting A, van der Bruggen P, Pahl HL, Aruffo A, Simon JC. Stimulation of CD40 on immunogenic human malignant melanomas augments their cytotoxic T lymphocyte-mediated lysis and induces apoptosis. *Cancer Res* 1999;59:1287-94.
87. Kalbasi A, Fonsatti E, Natali PG, et al. CD40 expression by human melanocytic lesions and melanoma cell lines and direct CD40 targeting with the therapeutic anti-CD40 antibody CP-870,893. *J Immunother* 2010;33:810-6.
88. Carpenter EL, Mick R, Ruter J, Vonderheide RH. Activation of human B cells by the agonist CD40 antibody CP-870,893 and augmentation with simultaneous tolllike receptor 9 stimulation. *J Transl Med* 2009;7:93.
89. Vonderheide RH, Flaherty KT, Khalil M, et al. Clinical activity and immune modulation in cancer patients treated with CP-870,893, a novel CD40 agonist monoclonal antibody. *J Clin Oncol* 2007;25:876-83.
90. Ruter J, Antonia SJ, Burris HA, 3rd, Huhn RD, Vonderheide RH. Immune modulation with weekly dosing of an agonist CD40 antibody in a phase I study of patients with advanced solid tumors. *Cancer Biol Ther* 2010;10.
91. Sznol M, Hodi FS, Margolin K, et al. Phase I study of BMS-663513, a fully human anti-CD137 agonist monoclonal antibody, in patients (pts) with advanced cancer (CA). *J Clin Oncol* 2008;26 (abstr 3007).

## KOMENTARZ



Prof. dr hab. n. med.  
Piotr Rutkowski  
Klinika Nowotworów Tkanek  
Miękkich, Kości i Czerniaków,  
Centrum Onkologii – Instytut  
im. Marii Skłodowskiej-Curie,  
Warszawa

Postęp w terapii czerniaków 2012 – ile mamy różnych podtypów tego nowotworu?

Czerniaki skóry należą w Polsce do nowotworów złośliwych o największej dynamice wzrostu liczby zachorowań. Chociaż czerniak jest nowotworem, który ze względu na lokalizację na skórze można wykryć we wczesnym stadium zaawansowania (wyleczalnym metodami chirurgicznymi u ponad 90% chorych), wyjściowe zaawansowanie tego nowotworu (grubość ogniska pierwotnego według Breslowa) nadal jest około dwukrotnie większe niż w krajach Europy Zachodniej, co przekłada się na odsetek wyleczeń w naszym kraju jedynie na poziomie około 60-70%.

Wyniki leczenia chorych na czerniaki skóry w IV stopniu zaawansowania są nadal niezadowolające, ostatnie lata wydają się jednak przełomowe w terapii uogólnionych czerniaków.<sup>1</sup> Postępy w tej dziedzinie wynikają z zastosowania dwóch rodzajów terapii: immunoterapii nieswoistej za pomocą przeciwciał monoklonalnych anty-CTLA-4 hamujących ogólnoustrojowe mechanizmy immunosupresji w celu zaindukowania odpowiedzi przeciwnowotworowej oraz leczenia ukierunkowanego molekularnie inhibitorami kinaz tyrozynowych.

Ipilimumab (Yervoy) zarejestrowany w bieżącym roku w Europie do leczenia chorych na czerniaki z przerzutami, u których dotychczasowe leczenie okazało się nieskuteczne, po raz pierwszy w dwóch badaniach spowodował znamienne wydłużenie czasu przeżycia całkowitego.<sup>2,3</sup> Kinetyka i czas trwania odpowiedzi na ten lek są odmienne niż w klasycznej chemioterapii. Chorzy odnoszą korzyść z leczenia nim dopiero po 3-4 miesiącach, co ogranicza jego zastosowanie do chorych na zaawansowanego czerniaka o minimalnych objawach i powolnym przebiegu. Odsetek obiektywnych odpowiedzi na leczenie ipilimumabem jest niewielki (około 10% chorych), długotrwałe korzyści odnosi ograniczona liczba chorych (20-25%), wydłużenie czasu przeżycia jest jednak znaczące. Problem stwarzają działania niepożądane ipilimumabu wynikające zautoimmunizacji. Obecnie nie znamy czynników predykcyjnych odpowiedzi na leczenie

ipilimumabem. Odpowiedź uzyskiwano również u chorych z niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi, takimi jak zaawansowanie M1c, zwiększona aktywność LDH, przerzuty do mózgu lub wiele linii wcześniejszej terapii w wywiadzie. Wczesne dane kliniczne dotyczące przydatności kinetyki liczby limfocytów w obrazie krwi obwodowej albo stężeń rozpuszczalnych MICA wymagają potwierdzenia w dalszych obserwacjach. Bardzo obiecujące są prace nad nowymi preparatami immunomodulującymi, wśród których przeciwciała anty-PD-1 (BMS-936558) wykazały w warunkach klinicznych długotrwałą korzyść u części chorych na zaawansowane czerniaki, w tym u leczonych wcześniej ipilimumabem.<sup>4</sup>

Przebieg kliniczny czerniaków zlokalizowanych na błonach śluzowych, dłoniach, stopach, a także w miejscach narażonych na przewlekłe działanie promieni słonecznych (chronic sun damage skin, CSD) jest odmienny od tych, które powstają w częściach ciała okresowo ekspozowanych na promieniowanie ultrafioletowe (tułów, kończyny). Czerniaki w poszczególnych lokalizacjach różnią się częstością występowania zmian genetycznych.<sup>1</sup> Mutacje w szlaku kinaz MAP (MAPK) są znajdowane w około 75% przypadków czerniaka skóry. Mutacje NRAS występują w 15-20% czerniaków skóry powstających w miejscach nienarażonych na długotrwałe działanie promieni słonecznych. Mutacje KRAS i HRAS są bardzo rzadkie. Dominującym mechanizmem prowadzącym do nadaktywności szlaku RAS/RAF/MAPK w czerniaku skóry jest mutacja genu kinazy BRAF. Mutacje somatyczne BRAF obserwuje się w 50-70% czerniaków skóry powstających w miejscach nienarażonych na długotrwałe działanie promieni słonecznych. Spośród nich zaś najczęstsza jest mutacja punktowa — substytucja V600E, która stanowi 80% mutacji BRAF i prowadzi do 10-krotnego zwiększenia aktywności tej kinazy oraz konstytutywnej aktywacji dalszych kinaz na szlaku RAS/RAF/MAPK. Występuje ona również w większości łagodnych znamion barwnikowych skóry, natomiast nie pojawia się w czerniakach gałki ocznej i jest obecna jedynie w 10% czerniaków powstających na błonach śluzowych oraz w miejscach narażonych na ciągłe działanie promieni słonecznych (CSD). U chorych na czerniaka nie stwierdzono mutacji ARAF ani CRAF.<sup>1</sup> Mutacje NRAS i BRAF nie występują zazwyczaj jednocześnie. Mutacjom tym towarzyszy często utrata funkcji PTEN. Występowanie mutacji BRAF wiąże się z gorszym naturalnym rokowaniem chorych na czerniaka w IV stopniu zaawansowania. Mutacje KIT są znajdowane w 15-20% czerniaków odsiebnych części kończyn (akralno-lentiginalnych) oraz błon śluzowych, rzadko zaś występują w przypadku czerniaków rozwijających się w obrębie skóry przewlekłe uszkodzonej przez słońce. Mutacje GNAQ i GNA11 pojawiają się w czerniaku naczyń i wzajemnie się wykluczają.

Postęp w leczeniu ukierunkowanym chorych na zaawansowanego czerniaka wiąże się z zastosowaniem skutecznych inhibitorów kinaz tyrozynowych w grupie chorych na czerniaki ze stwierdzanymi odpowiednimi mutacjami (*BRAF*, *NRAS*, *KIT*).<sup>5</sup> Opublikowane w 2011 r. wyniki rejestracyjnego badania III fazy z wemurafenibem (Zelboraf) w I linii leczenia starannie dobranych chorych na czerniaka z przerzutami i mutacją *BRAF* V600 wykazały odpowiedź na leczenie 48,4% leczonych tym inhibitorem *BRAF*, jak również znaczącą poprawę przeżyć wolnych od progresji (PFS) i przeżyć całkowitych (OS).<sup>6</sup> Doprowadziło to do rejestracji tego leku do leczenia chorych na zaawansowane czerniaki z mutacją *BRAF* (oznaczanie tej mutacji jest możliwe w 4 ośrodkach w Polsce). Mimo że u większości chorych powstaje w końcu oporność na to leczenie, wyniki badania II-III fazy wykazały, że mediana czasu przeżycia chorych na czerniaka z przerzutami wyniosła 13-16 miesięcy, co znaczenie przewyższa obserwowane wcześniej przeżycia w tej grupie chorych. W bieżącym roku potwierdzono skuteczność terapeutyczną innego inhibitora *BRAF* – dabrafenibu. Jego skuteczność jest porównywalna ze skutecznością wemurafenibu, natomiast inny jest profil toksyczności, dabrafenib bowiem znacznie rzadziej przyczynia się do rozwoju raka płaskonabłonkowego. Ocenie poddano 250 chorych na zaawansowanego czerniaka wykazującego obecność mutacji *BRAF* V600E, leczonych w pierwszej linii dabrafenibem lub dakarbazyną (DTIC) z możliwością przeniesienia do grupy leczonej dabrafenibem, jeśli nastąpi progresja nowotworu. Mediana czasu PFS wyniosła 6,7 miesiąca dla dabrafenibu w porównaniu z 2,9 miesiąca dla DTIC (iloraz zagrożeń 0,35, 95% PU 0,2-0,61,  $p < 0,0001$ ), a odsetek odpowiedzi odpowiednio 53 vs 19%.<sup>7</sup> W porównaniu z DTIC dabrafenib spowodował istotną poprawę PFS i ORR, przy akceptowalnym profilu toksyczności. Również po raz pierwszy potwierdzono w badaniach II-III fazy skuteczność inhibitorów MEK w leczeniu chorych na czerniaki z przerzutami i mutacją *BRAF* lub *NRAS*.<sup>8,9</sup>

Bardzo ważne jest również podkreślenie, że omawiane nowe terapie działają także u chorych ze stabilnymi bezobjawowymi przerzutami do mózgu, które dotąd były niedostępne terapii systemowej.

Ponieważ w wyselekcjonowanej grupie chorych na zaawansowane czerniaki (z mutacją *BRAF*) inhibitory *BRAF* powodują szybką odpowiedź i pozwalają na kontrolę nowotworu u większości leczonych, a jednocześnie czas trwania

odpowiedzi jest ograniczony w związku z pojawianiem się mechanizmów oporności (mediana czasu trwania odpowiedzi wynosi 6,7 miesiąca), prawdopodobnie będą to leki z wyboru u chorych z objawami nowotworu o dużej masie przed rozpoczęciem leczenia ipilimumabem. Są one również przedmiotem intensywnych badań w terapii skojarzonej (z ipilimumabem, inhibitorami MEK, angiogenezy lub szlaku mTOR). Niezbędne jest przeprowadzenie dalszych badań nad przełamywaniem mechanizmów oporności na leczenie ukierunkowane. Obecnie wiemy już, że w przypadku pojawienia się oporności na inhibitory *BRAF* dochodzi do reaktywacji szlaku MAPK. Już teraz niezbędne jest określenie molekularnego profilu nowotworu chorego kwalifikowanego do leczenia ukierunkowanego. W najbliższej przyszłości nieodłącznym elementem doboru leczenia dla chorego na czerniaka stanie się również prawdopodobnie określenie zaburzeń molekularnych związanych z możliwą opornością na terapię w celu zastosowania optymalnego skojarzenia terapii. Niemniej oba artykuły przedstawiane w bieżącym numerze „Onkologii po Dyplomie” prezentują obecną i przyszłą przełomową rzeczywistość terapeutyczną, stwarzającą nadzieję na istotną poprawę wyników leczenia chorych na zaawansowane czerniaki.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Piotr Rutkowski (red.). Złośliwe nowotwory skóry. Via Medica Gdańsk 2011.
2. Świtaj T, Wysocki P, Wojtukiewicz M i wsp. Ipilimumab – postęp w terapii chorych na zaawansowanego czerniaka. *Onkol Prakt Klin* 2011;7:231-245.
3. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:711-723.
4. Hodi FS, Sznol M, McDermott DF, et al. Clinical activity and safety of anti-PD-1 (BMS-936558, MDX-1106) in patients with advanced melanoma (MEL). *J Clin Oncol* 2012;30 (suppl): abstr 8507.
5. Kosela H, Świtaj T, Rutkowski P. Zastosowanie inhibitorów *BRAF* i MEK w terapii zaawansowanego czerniaka. *Onkol Prakt Klin* 2011;7:246-253.
6. Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with *BRAF* V600E mutation. *N Engl J Med* 2011;364:2507-2516.
7. Hauschild A, Grob J-J, Demidov LV, Jouary T, et al. Dabrafenib in *BRAF*-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012; [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60868-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60868-X).
8. Ascierto PA, Berking C, Agarwala SS, et al. Efficacy and safety of oral MEK162 in patients with locally advanced and unresectable or metastatic cutaneous melanoma harboring *BRAF*V600 or *NRAS* mutations. *J Clin Oncol* 2012;30(suppl): abstr 8511.
9. Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al. Improved Survival with MEK Inhibition in *BRAF*-Mutated Melanoma. *N Engl J Med* 2012; doi:10.1056/NEJMoa1203421.