



OPISY PRZYPADKÓW CHORYCH LECZONYCH
W MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL

Przypadek 21-2013: 68-letni mężczyzna z rozpoznaniem czerniaka złośliwego z przerzutami

*Ryan J. Sullivan, MD, Donald P. Lawrence, MD, Jennifer A. Wargo, MD,
Kevin S. Oh, MD, R. Gilberto Gonzalez, MD, Adriano Piris, MD*

N Engl J Med 2013, 369: 173-183.

OPIS PRZYPADKU

Dr Donald P. Lawrence: 68-letni chory zgłosił się do centrum onkologicznego tutejszego szpitala z powodu czerniaka złośliwego z przerzutami.

Przed 11 laty przeżył wycięcie szerzącego się powierzchownie czerniaka umiejscowionego na skórze prawego podudzia. Chory czuł się dobrze do czasu, gdy na 5 tygodni przed zgłoszeniem się do naszego szpitala pojawiły się ból i obrzęk prawej kończyny dolnej oraz okolicy pachwiny. Cztery tygodnie przed obecnym przyjęciem chory zgłosił się na oddział ratunkowy innego szpitala. Podczas badania stwierdzono guz w okolicy prawej pachwiny z towarzyszącym odczynem zapalnym. Wdrożono leczenie cefaleksyną, po którym ból i obrzęk ustąpiły, natomiast guz nie uległ regresji. W tomografii komputerowej (TK) uwidocznił nieregularny naciek o średnicy 3,1 cm w prawej pachwinie. Po tygodniu wykonano badanie TK skompilowane z pozytonową tomografią emisyjną (positron-emission tomography, PET; PET-TK), w którym stwierdzono powiększone węzły chłonne ze wzmożonym metabolizmem w okolicy naczyń biodrowych zewnętrznych, udowych i pachwinowych oraz w przyśrodkowej części prawego uda. Osiem dni przed zgłoszeniem się chorego do tutejszego ośrodka w innym szpitalu wykonano biopsję węzła chłonnego prawej pachwiny pod kontrolą ultrasonograficzną. Na podstawie badania histopatologicznego rozpoznano przerzut czerniaka. Chorego skierowano do centrum onkologicznego tutejszego szpitala.

Chory czuł się dobrze, nie zgłaszał dolegliwości bólowych, zmęczenia, nudności, utraty masy ciała, bólów głowy, kaszlu ani duszności. Współistniejące choroby to nadciśnienie tętnicze, refluks żołądkowo-przełykowy, uchyłkowatość jelita, kardiomiopatia, choroba wieńcowa (przed rokiem przeżył wszczępienie stentu) oraz upośledzenie słuchu. Chory podawał też nadmierną ekspozycję na słońce. Przyjmował kwas acetylosalicylowy, metoprolol, digoksynę, hydrochlorotiazyd, walsartan, klopidogrel oraz preparat multiwitaminowy, a w razie potrzeby paracetamol i aerozol zawierający nitroglicerynę. Nie był na nic uczulony. Mieszkał z żoną, był na emeryturze, wcześniej pracował jako ogrodnik i mechanik. Pracował w gospodarstwie, był zatem nadal aktywny fizycznie. Przez 20 lat palił 3 paczki papierosów na dobę (przed 20 laty rzucił palenie), alkohol pił nieregularnie, nie przyjmował nielegalnych używek. Siostra mężczyzny chorowała na raka macicy, a babka ze strony matki na raka piersi. U nikogo w rodzinie nie rozpoznano czerniaka.

Dr Sullivan, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital i Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, Stany Zjednoczone.

Dr Lawrence, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital i Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston, Stany Zjednoczone.

Dr Wargo, Department of Surgery, Massachusetts General Hospital i Department of Surgery, Harvard Medical School, Boston, Stany Zjednoczone.

Dr Oh, Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital i Department of Radiation Oncology, Harvard Medical School, Boston, Stany Zjednoczone.

Dr Gonzales, Department of Neuroradiology, Massachusetts General Hospital i Department of Neuroradiology, Harvard Medical School, Boston, Stany Zjednoczone.

Podczas badania przedmiotowego ciśnienie tętnicze krwi wyniosło 151/87 mm Hg. Inne parametry życiowe oraz saturacja w trakcie oddychania powietrzem otoczenia były prawidłowe. Chory miał upośledzony słuch i nosił aparat słuchowy w prawym uchu. W prawej pachwinie i przyśrodkowej części uda stwierdzono guzowate masy o maksymalnej średnicy wynoszącej odpowiednio 6 i 5 cm. Na prawym udzie był widoczny nieznaczny rumień i obrzęk, a na prawym podudziu zagojona blizna. Węzły chłonne szyjne, nadobojczykowe, podzuchwowe, potyliczne ani pachowe nie były wyczuwalne. Stężenie glukozy we krwi wyniosło 56 mg/dl (3,1 mmol/l, prawidłowy zakres 70-110 mg/dl [od 3,9 do 6,1 mmol/l]). Wyniki badań pełnej morfologii krwi, czasu protrombinowego, czynności nerek i wątroby były prawidłowe, podobnie jak stężenia elektrolitów, białka całkowitego, albumin i globuliny.

Dr R. Gilberto Gonzalez: W badaniu TK klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy uwidoczono powiększenie węzłów chłonnych przestrzeni zaotrzewnowej, okolicy ściany miednicy i pachwiny po stronie prawej. Największy węzeł o średnicy 4 cm był umiejscowiony w prawej pachwinie (ryc. 1A). Na obrazach rezonansu magnetycznego (MR) mózgu stwierdzono zmiany nieswoiste, ale nie uwidoczono ognisk przerzutowych. Z uwagi na klaustrofobię chorego badanie zakończono przed podaniem gadolinu.

Dr Lawrence: Po tygodniu przeprowadzono badania diagnostyczne i podjęto decyzje terapeutyczne.

Dr Piris, Department of Pathology,
Massachusetts General Hospital
i Department of Pathology,
Harvard Medical School,
Boston, Stany Zjednoczone

Przypadki z Massachusetts General
Hospital.
Dział stworzył Richard C. Cabot.

Redaktorzy:

Eris S. Rosenberg, MD,
Nancy Lee Harris, MD,
Jo-Anne O. Shepard, MD,
Alice M. Cort, MD,
Sally H. Ebeling,
Emily K. McDonald

OMÓWIENIE POSTĘPOWANIA

Dr Lawrence: 68-letni chory po doszczętnym wycięciu powierzchownego czerniaka skóry kończyny dolnej przed 11 laty zgłosił się z powodu przerzutu nowotworu do prawej okolicy pachwinowej. Jednym z najważniejszych osiągnięć ostatnich 30 lat w zakresie zasad postępowania terapeutycznego u chorych z przerzutami czerniaka, takich jak omawiany mężczyzna, było odkrycie, że niemal u połowy z nich występują mutacje genu *BRAF*. Gen ten jest elementem szlaku przemian kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (mitogen-activated protein kinase, MAPK) (ryc. 2), a jego mutacja powoduje powstanie nieprawidłowego białka, będącego punktem uchwytu działania wybiórczych inhibitorów drobnocząsteczkowych. Z tego powodu u omawianego chorego powtórzono biopsję zmiany w prawej pachwinie w celu uzyskania materiału do badań genetycznych.

OPINIA PATOMORFOLOGA

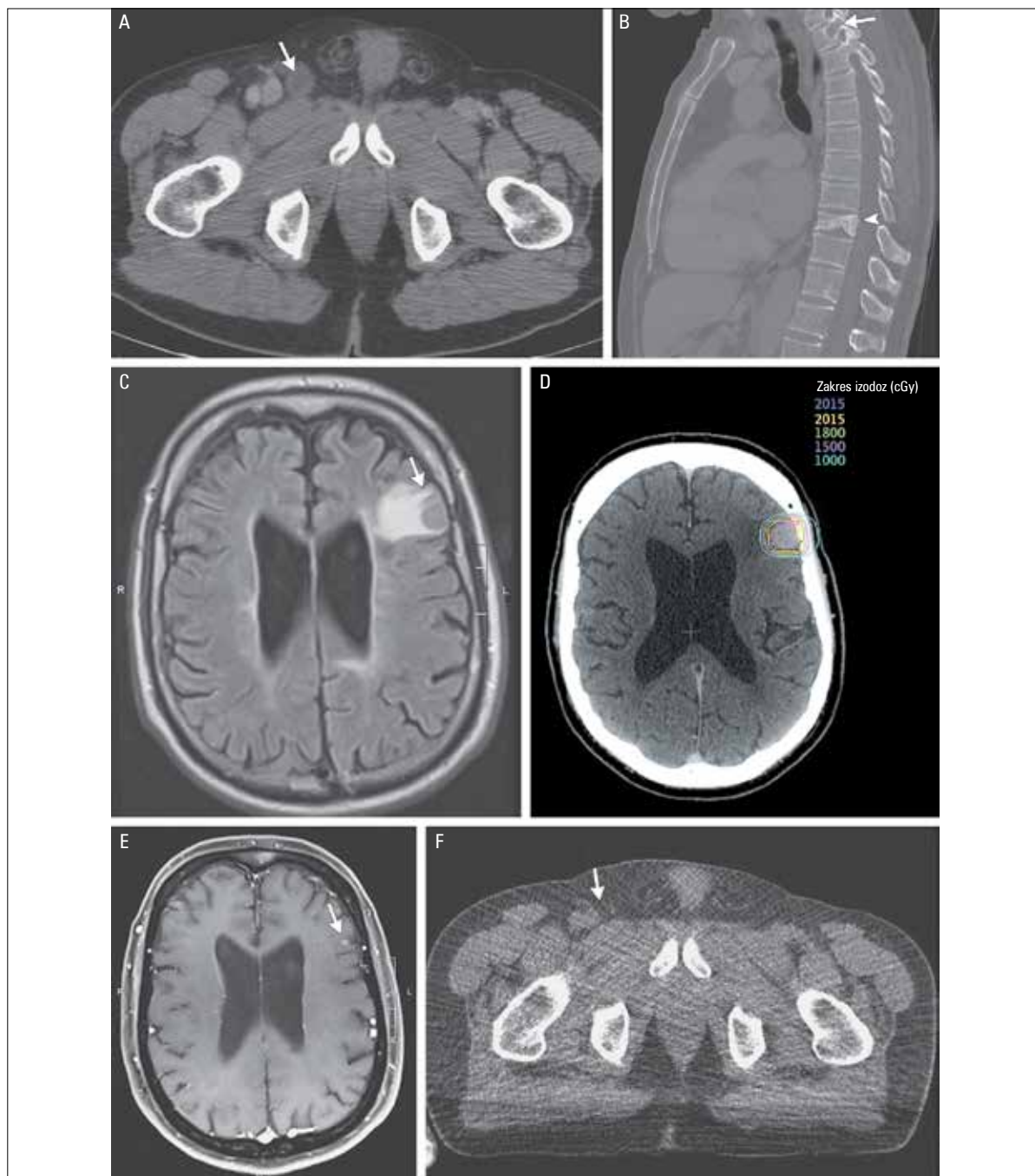
Dr Adriano Piris: W naszym szpitalu ponownie zbadano materiał pobrany podczas wycięcia ogniska pierwotnego prawego podudzia. Stwierdzono powierzchownie szerzącego się czerniaka inwazyjnego z poziomem naciekania według Clarka II lub III (spośród 5 poziomów), o grubości nacieku w skali Breslow wynoszącej 0,4 mm. W marginesach chirurgicznych nie znaleziono komórek nowotworowych. Tuż przed skierowaniem chorego do naszego centrum onkologicznego w innym szpitalu wykonano biopsję cienkoigłową aspiracyjną węzła chłonnego prawej pachwiny. Stwierdzono złośliwe komórki nabłonkowe barwiące się dodatnio w kierunku markera immunologicznego dla melanocytów Melan-A (znanego również jako MART1 [melanoma antigen recognized by T cells 1, antygen czerniaka rozpoznawany przez komórki T 1]) oraz S100. Cechy te upoważniały do rozpoznania przerzutów czerniaka złośliwego.

Badanie materiału pobranego w trakcie wykonanej w tutejszym szpitalu kolejnej biopsji zmiany w prawej pachwinie potwierdziło rozpoznanie (ryc. 3). Błoczki parafinowe tkanki pochodzącej z przerzutu w prawej pachwinie wykorzystano do ekstrakcji genomycznego DNA, służącego analizie sekwencji genu *BRAF*.

W prawidłowych komórkach ekspresja genu jest regulowana przez szlak przemian MAPK (ryc. 2). Szlak ten jest zwykle aktywowany przez przyłączenie ligandów, na ogół czynników wzrostu, do receptorów błony komórkowej. *BRAF* jest enzymem kinazowym szlaku przemian MAPK. W 40-50% przypadków czerniaka skóry zaburzenie szlaku przekazywania sygnałów MAPK zostaje zapoczątkowane przez mutację genu *BRAF*. Ponad 90% tych mutacji prowadzi do substytucji V600E.³ Mutacja ta przyczynia się do konstytutywnej aktywacji enzymu *BRAF*, a następnie pobudzenia przekazywania sygnałów szlakiem MAPK, niezależnie od interakcji między receptorem a ligandem. Opisywane zjawisko jest jednym z pierwszych działań stymulujących proliferację, zdolność przeżycia, naciekanie i angiogenezę.^{4,5}

Produkt reakcji polimerazy łańcuchowej wykorzystuje się do analizy genu *BRAF* z użyciem primerów obejmujących ekson 15 tego genu. U omawianego chorego w nukleotydzie 1799 wykryto zastąpienie tyminy adeniną. Mutacja

RYCINA 1

**Badania obrazowe.**

Obraz TK narządów jamy brzusznej i miednicy wykazuje wyjściowo (część A) duży guz w prawej pachwinie (strzałka). W badaniu TK powtórzonym po 39 tygodniach od rozpoczęcia leczenia wemurafenibem (część B) uwidoczniło nowe ogniska przerzutowe w kręgosłupie (strzałka) oraz złamanie kompresyjne kręgu (grot strzałki). Na obrazie MR mózgu uwidoczniło nowe wykazujące wzmocnienie obszary odpowiadające przerzutom (część C, strzałka). Podczas zabiegu radiochirurgii stereotaktycznej zmiany w okolicy czołowej po stronie lewej (część D) chory otrzymał dawkę napromieniania wynoszącą 1800 cGy podaną na obszar zakreślony linią zielonej izodozy. W badaniu MR powtórzonym po 11 miesiącach (część E) stwierdzono niemal całkowite ustąpienie zmiany w mózgu (strzałka). Po kolejnym miesiącu na obrazie skojarzonych badań PET i TK całego ciała (część F) nie stwierdzono powiększenia węzłów chłonnych pachwiny (strzałka).

ta powoduje zastąpienie kwasu glutaminowego walina w aminokwasie 600 (mutacja V600E) w kinazie serynowo-treoninowej BRAF. Ostatecznie rozpoznano czerniaka z przerzutami wykazującego mutację *BRAF* V600E.

OMÓWIENIE POSTĘPOWANIA

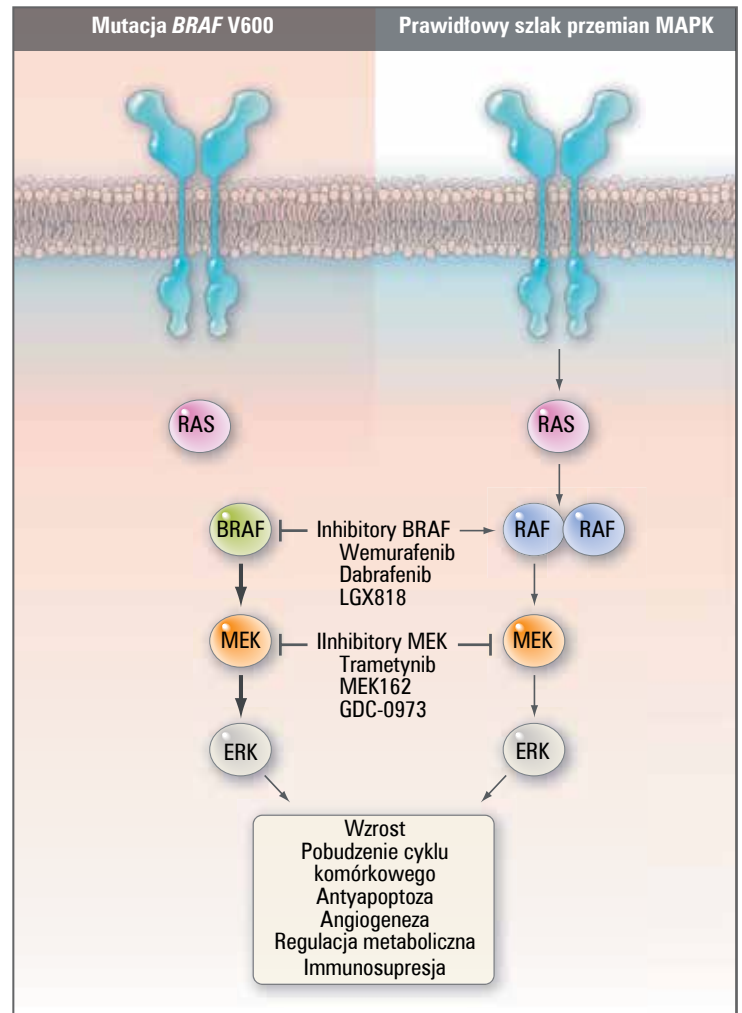
Wykorzystanie inhibitorów BRAF u chorych na czerniaka z mutacją w genie *BRAF*

Dr Lawrence: W omawianym przypadku stwierdzono aktywującą mutację w genie *BRAF* prowadzącą do powstania konstytutywnie aktywnego zmutowanego białka, którego działanie można zahamować za pomocą wybiórczych drobnocząsteczkowych inhibitorów kinazy – wemurafenibu i dabrafenibu. W badaniu I fazy⁶ stosowanie wemurafenibu skutkowało regresją przerzutów u chorych na czerniaka z mutacją genu *BRAF*. Odpowiedzi nie obserwowano natomiast u chorych na czerniaka bez takiej mutacji. W badaniu III fazy oceniano również aktywność wybiórczego inhibitora, trametynybu, o działaniu ukierunkowanym na MEK (kinazę znajdującą się za BRAF na szlaku przemian MAPK). Zastosowanie każdego z wymienionych leków poprawiało odsetki odpowiedzi, przeżycie wolne od progresji nowotworu i przeżycie całkowite w porównaniu z obserwowanymi po podaniu standardowej chemioterapii.⁷⁻⁹ Niestety, u przeważającej większości chorych po 5-7 miesiącach rozwinęła się oporność na leczenie. Rozpoczęto opracowywanie nowych strategii, mających na celu przełamanie oporności na leczenie ukierunkowane na szlak przemian MAPK.

Jedną z takich strategii jest oddziaływanie zarówno na BRAF, jak i na MEK. W randomizowanym badaniu II fazy, będącym częścią badania I i II fazy porównującego skuteczność monoterapii dabrafenibem ze skutecznością połączenia dabrafenibu z trametynybem, leczenie skojarzone pozwoliło na uzyskanie większych odsetków odpowiedzi (76 vs 54%), dłuższego przeżycia wolnego od progresji nowotworu (9,4 vs 5,8 miesiąca) oraz poprawy odsetka przeżycia wolnego od progresji nowotworu po 12 miesiącach (41 vs 9%).⁸ Autorzy dwóch prowadzonych obecnie badań III fazy porównują skuteczność skojarzonego leczenia inhibitorami BRAF i MEK ze skutecznością wyłącznego podawania inhibitora BRAF (ClinicalTrials.gov numery NCT01689519 i NCT01682083). Można przypuszczać, że skojarzone leczenie inhibitorami BRAF i MEK stanie się nową standardową metodą postępowania oraz podstawą do zaprojektowania kolejnych badań z udziałem chorych na czerniaka z przerzutami, cechujących się mutacją genu *BRAF*.

Omawiany chory zgłosił się w 2010 r., a zatem przed zarejestrowaniem wemurafenibu przez Food and Drug

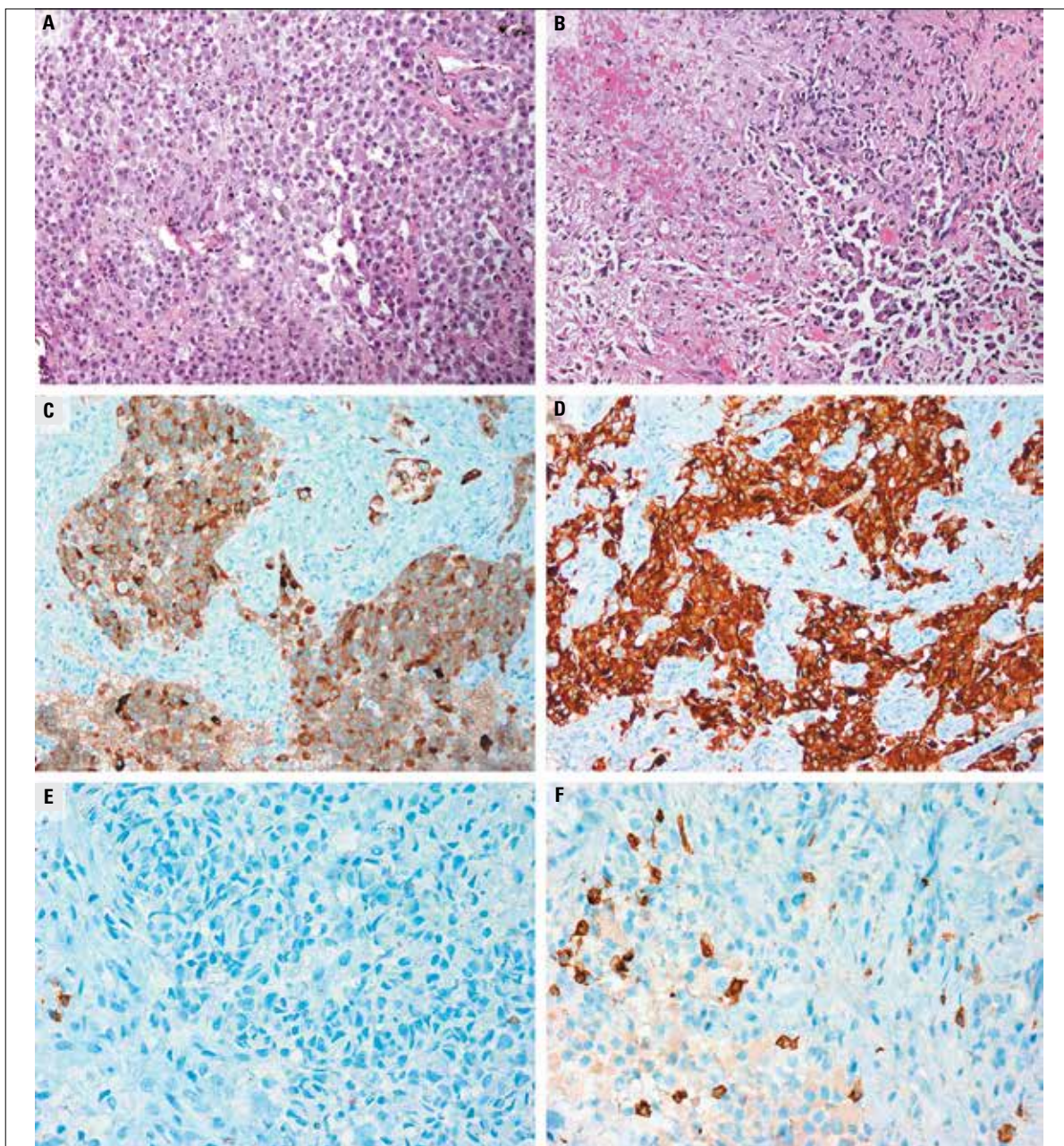
RYCINA 2



Szlak przemian kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAPK).

Prawidłowy szlak przekazywania sygnałów MAPK zostaje zapoczątkowany przez aktywację receptora powierzchni komórkowej RAS, która powoduje homo- lub heterodimeryzację izoform RAS (A, B i C). Następnie dochodzi do aktywacji MEK, która uaktywnia ERK i powoduje serię zdarzeń sprzyjających wzrostowi, przeżyciu oraz immunosupresji. W czerniaku około 40-50% mutacji genu *BRAF* występuje w pozycji 600. Monomeryczne przekazywanie sygnału z mutacji V600 w genie *BRAF* powoduje gwałtowne pobudzenie i wprowadzenie w szlak przekazywania sygnałów MAPK. Zahamowanie tego szlaku przez inhibitory BRAF, inhibitory MEK lub ich skojarzone działanie wykazuje znaczną aktywność w aspekcie klinicznym. Działanie tych inhibitorów na typowy szlak przekazywania sygnałów jest różne. Inhibitory MEK hamują pobudzenie MEK przez monomery i dimery, natomiast inhibitory BRAF paradoksalnie uaktywniają szlak przemian MAPK przez działanie na konformację dimerów RAF.^{1,2}

RYCINA 3

**Rycina 3. Analiza histopatologiczna wycinków.**

Preparat pochodzący z wycinka z przerzutu w prawej pachwinie przed rozpoczęciem leczenia (część A, barwienie hematoksylina i eozyną). Widoczne złośliwe komórki nabłonkowe z hiperchromatycznymi jądrami. W wielu komórkach stwierdza się brunatne zabarwienie cytoplazmy odpowiadające czerniakowi złośliwemu. Preparat z wycinka pobranego po 10 dniach leczenia inhibitorem BRAF (część B, barwienie hematoksylina i eozyną). Widoczna rozlana martwica guza i jedynie ogniska żywych komórek. Duże powiększenie preparatu z wycinka pobranego przed leczeniem (część C) barwionego w kierunku Melan-A (antygen melanocytów znany również jako MART1 [antygen melanocytów rozpoznawany przez komórki T 1]). Widoczne rozlane barwienie cytoplazmy złośliwych komórek nabłonkowych. Dla porównania, w preparacie wycinka pobranego w trakcie leczenia (część D, Melan-A) widać wyraźnie silniejszą ekspresję Melan-A. Duże powiększenie preparatu z wycinka pobranego przed leczeniem barwionego w kierunku CD8 (część E) w celu wykrywania cytotoksycznych komórek T. Widoczne wyraźne zwiększenie liczby komórek barwiących się dodatnio w kierunku CD8. Po lewej stronie ryciny przedstawiono obrazy wycinków pobranych przed leczeniem, po prawej wycinków pobranych w trakcie leczenia.

Administration (FDA) i zanim stały się dostępne inne leki. Spełniał warunki uczestnictwa w randomizowanym badaniu III fazy, w którym porównywano leczenie inhibitorem BRAF wemurafenibem z chemioterapią opartą na dakarbazynie u chorych na zaawansowanego czerniaka cechującego się mutacją genu *BRAF* (NCT01006980). Chory wyraził zgodę na udział w tym badaniu.

Sekwencyjne schematy leczenia systemowego chorych na czerniaka z mutacją genu *BRAF*

Dr Ryan J. Sullivan: Gdy omawiany chory zgłosił się w 2010 r., możliwości postępowania terapeutycznego były dość ograniczone. Do leczenia chorych na czerniaka w IV stopniu zaawansowania FDA zarejestrowała jedynie chemioterapię dakarbazyną oraz terapię cytokinami z użyciem interleukiny 2 podawanej w dużej dawce. W 2013 r. opcji leczenia chorych na czerniaka z mutacją genu *BRAF* jest więcej, a pojawiają się też kolejne dane, pozwalające na dokładniejsze informowanie chorych i ich rodzin o najlepszej sekwencji postępowania systemowego.

W 2011 r. do leczenia chorych na zaawansowanego czerniaka zarejestrowano zarówno wemurafenib, jak i ipilimumab, przeciwciała hamujące antygen 4 związany z cytotoksycznymi limfocytami T (cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4).^{7,10,11} W 2013 r. zarejestrowano dabrafenib i trametynib do monoterapii chorych na czerniaka z przerzutami. Jak wspomniał dr Lawrence, skojarzenie inhibitorów BRAF i MEK może się stać w niedalekiej przyszłości nową standardową metodą postępowania.^{8,9,12} Na podstawie wcześniejszych wyników badań można się też spodziewać, że w ciągu kolejnego roku lub dwóch lat aplikowane będą również inne metody immunoterapii, a mianowicie przeciwciała monoklonalne przeciw receptorowi zaprogramowanej śmierci 1 (programmed death 1, PD-1) i jego ligandom (PD-1 ligands, PD-L1).¹³ Gdyby omawiany chory zgłosił się do leczenia w 2013 r., zakres możliwości leczenia byłby zatem szerszy.

Podczas opracowywania zaleceń dotyczących wstępnego leczenia chorych, takich jak omawiany mężczyzna, trzeba uwzględnić kilka kluczowych danych związanych z sekwencjonowaniem leczenia. Po pierwsze, u części chorych na czerniaka z przerzutami immunoterapia zarówno dużymi dawkami interleukiny 2, jak i przeciwciałami przeciw PD-1 oraz PD-L1 pozwala na uzyskanie długotrwałej remisji.^{10,11,13,14} Po drugie, od rozpoczęcia immunoterapii upływa czasem kilka miesięcy zanim możliwe będzie obiektywne odnotowanie odpowiedzi.^{13,15} Po trzecie okazało się, że opracowane niedawno metody immunoterapii są równie skuteczne u chorych leczonych wcześniej interleukiną 2, jak i u chorych nieleczonych cytokinami.

Metody terapeutyczne o ukierunkowanym działaniu są równie skuteczne w obu grupach chorych.^{10,13,16} Po czwarte, zastosowanie inhibitorów BRAF przed immunoterapią wydaje się równie skuteczne jak podanie ich w odwrotnej kolejności, choć pojawia się coraz więcej danych sugerujących mniejszą skuteczność stosowania immunoterapii po leczeniu inhibitorami BRAF.¹⁶⁻¹⁸

Gdyby omawiany chory zgłosił się dzisiaj, musielibyśmy zdecydować, czy rozpocząć leczenie od immunoterapii, czy od podania leków o działaniu ukierunkowanym na BRAF. Powinniśmy przy tym uwzględnić wiele czynników, takich jak zasięg nowotworu, wskaźnik jego progresji oraz objawy czerniaka. U chorego z dynamiczną progresją i nasilonymi objawami klinicznymi zaleca się stosowanie leku o działaniu ukierunkowanym na BRAF podawanego wyłącznie lub w skojarzeniu z inhibitorem MEK. Wybór opiera się na dużym odsetku odpowiedzi po leczeniu ukierunkowanym oraz jej szybkim wystąpieniu. Odpowiedź na takie leczenie jest jednak na ogół krótkotrwała. Mediana czasu przeżycia wolnego od progresji nowotworu wynosi po monoterapii wemurafenibem lub dabrafenibem 5-7 miesięcy. (Natomiast po leczeniu skojarzonym inhibitorami BRAF i inhibitorami MEK odpowiedź może się utrzymywać dłużej.)

Jeśli zasięg choroby jest niewielki lub nie wywołuje ona objawów albo są one minimalne, należy rozważyć przede wszystkim immunoterapię interleukiną 2 lub ipilimumabem. Każdy z tych leków pozwala na uzyskanie mniejszego odsetka obiektywnych odpowiedzi niż wemurafenib, ale u części chorych czas trwania odpowiedzi jest dłuższy. Poza tym leczenie sekwencyjne polegające na podaniu interleukiny 2, a następnie ipilimumabu (jeśli interleukina 2 okaże się skuteczna), jak i na podaniu ipilimumabu, a następnie interleukiny 2, może być opcją poprzedzającą terapię o działaniu ukierunkowanym na BRAF, ponieważ grupy chorych odnoszących korzyść z zastosowania jednej lub drugiej metody leczenia niecałkowicie nakładają się na siebie.¹⁹ Leczenie sekwencyjne, w którym ipilimumab poprzedza interleukinę 2, częściej powoduje perforację ściany jelita,²⁰ dlatego na ogół stosowana jest odwrotna sekwencja postępowania. Choremu można też zaproponować uczestnictwo w badaniu klinicznym oceniającym skojarzenie leków o działaniu ukierunkowanym na BRAF z immunoterapią lub inną terapią celowaną, jeśli w badaniach klinicznych lub przedklinicznych udowodniono możliwość wydłużenia czasu przeżycia chorych dzięki zastosowaniu danej metody.

Gdyby omawiany chory zgłosił się dziś z powodu objawowego, nieresekcyjnego przerzutu czerniaka w prawej pachwinie, a przy tym nie wykazywał cech znacznego upośledzenia czynnościowego, zaproponowałbym mu uczestnictwo w badaniu klinicznym oceniającym skuteczność skojarzenia immunoterapii z leczeniem o działaniu ukierunkowanym na BRAF. Nu-

mery ClinicalTrials.gov takich badań to NCT01656642, NCT01659151, NCT01683188, NCT01754376 i NCT01767454. Gdyby chory nie zgodził się na udział w badaniu lub nie spełniał warunków uczestnictwa, zalecałbym standardową immunoterapię (interleukiną 2 lub ipilimumabem), albo zastosowanie najpierw immunoterapii, a potem skojarzenia inhibitorów BRAF i MEK.

Leczenie omawianego chorego

Dr Lawrence: Po włączeniu do badania klinicznego chorego przydzielono losowo do grupy wemurafenibu. Otrzymywał lek w dawce 960 mg dwa razy na dobę. Leczenie to spowodowało wystąpienie u niego kilku działań niepożądanych, w tym nudności, jadłowstrętu, zmęczenia oraz bólów stawowych. W TK uwidocznił regresję przerzutów w obrębie miednicy. Po 39 tygodniach leczenia powtórzono badania obrazowe.

Dr Gonzales: Obrazy TK uzyskane po 39 tygodniach leczenia ujawniły progresję w postaci przerzutów do kości, w tym pojawienie się rozległej zmiany osteolitycznej w górnych kręgach piersiowych oraz patologiczne złamanie kompresyjne w trzonu jednego z środkowych kręgów piersiowych (ryc. 1B). W obrębie jamy brzusznej i miednicy stwierdzono regresję węzłów chłonnych miednicy, ale powiększenie się węzłów pachwinowych (nie zamieszczono tego zdjęcia). Na obrazach MR mózgu uzyskanych po podaniu środka kontrastowego w sekwencji T2 uwidocznił nowe obszary wykazujące wzmocnienie umiejscowione w okolicach czołowych po stronie lewej i prawej oraz w okolicy skroniowej lewej otoczone hiperintensywnym sygnałem, odpowiadające przerzutom (ryc. 1C).

Dr Lawrence: U chorego nie występowały żadne objawy neurologiczne. Z uwagi na progresję czerniaka przerwano leczenie wemurafenibem, co spowodowało szybkie ustąpienie działań niepożądanych. Chorego skierowano na radioterapię.

Stereotaktyczna radiochirurgia przerzutów do mózgu

Dr Kevin S. Oh: Po około 11 miesiącach od zgłoszenia się z powodu przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych u omawianego chorego pojawiły się przerzuty do mózgu. Przerzuty do mózgu występują u około 40-50% chorych na czerniaka z przerzutami, a u 20% chorych z przerzutami czerniaka zmiany w mózgu są stwierdzane już wyjściowo.²¹ Możliwości leczenia z powodu przerzutów do mózgu u omawianego chorego obejmowały zastosowanie stereotaktycznej radiochirurgii, resekcji chirurgicznej, napromieniania całego mózgu oraz podanie nowych leków o działaniu systemowym.

Radiochirurgia stereotaktyczna polega na podaniu pojedynczej frakcji napromieniania w dużej dawce na

wewnątrzczaszkową zmianę. Metoda ta znajduje powszechne zastosowanie we wstępnym leczeniu chorych z nie więcej niż kilkoma przerzutami. Jest traktowana jako dodatkowa dawka promieniowania podawana na pojedyncze ognisko przerzutowe po radioterapii całego mózgu, może być wykorzystywana w przypadku nawrotowych przerzutów po napromienianiu całego mózgu lub jako uzupełnienie chirurgicznego wycięcia zmiany. Istnieje kilka technologii radiochirurgii stereotaktycznej opierających się na wiązkach wysokoenergetycznych. Wszystkie systemy opierają się na uzyskaniu wysokiego gradientu zmniejszenia dawki poza ogniskiem będącym celem leczenia oraz umożliwiają bardzo dokładne i powtarzalne unieruchomienie głowy chorego. Radiation Therapy Oncology Group przeprowadziła badanie z eskalacją dawki (protokół 90-05), w którym ustalono, że na napromieniane wcześniej ogniska nowotworowe wielkości 2, 2,1-3 oraz 3,1-4 cm stosunkowo bezpiecznie można zastosować dawkę wynoszącą odpowiednio 24, 18 i 15 Gy.²² W wielu ośrodkach, również w tutejszym, podawane są mniejsze dawki w celu zapewnienia bezpieczeństwa leczenia. Dawki mieszczące się w tym zakresie podane w pojedynczej frakcji działają ablastycznie, skutkują bowiem upośledzeniem zdolności komórek nowotworu do naprawy uszkodzeń subletalnych. Zjawisko to jest szczególnie ważne w leczeniu chorych na nowotwory uznawane dawniej za odporne na działania radioterapii frakcjonowanej, takie jak czerniak.

Chirurgiczne wycięcie ogniska nowotworu jest zwykle zarezerwowane dla chorych wymagających badania materiału operacyjnego lub paliatywnego łagodzenia objawów. Omawiany chory nie wymagał resekcji. Wiadomo, że brakuje danych pochodzących z randomizowanych badań porównujących skuteczność resekcji chirurgicznej i radiochirurgii w aspekcie miejscowego opanowania nowotworu. European Organization for Research and Treatment przedstawiła jednak dane z przeprowadzonego niedawno badania, podczas którego chorych z 1-3 przerzutami do mózgu przedzielano losowo do grupy napromieniania całego mózgu lub do grupy obserwowanej po doszczętnej makroskopowo resekcji lub radiochirurgii stereotaktycznej.²³ Po 2-letniej obserwacji odsetek miejscowych nawrotów po operacji był niemal dwukrotnie większy niż po wyłącznej radiochirurgii stereotaktycznej (59 vs 31%), choć nabór do grupy leczonej chirurgicznie mógł być stronniczy z uwagi na większe rozmiary przerzutów i powodowane przez nie objawy.

W leczeniu chorych z licznymi przerzutami do mózgu powszechnie wykorzystuje się frakcjonowane napromienianie całego mózgu trwające przez 1-3 tygodnie w celu maksymalnego zwiększenia możliwości opanowania zmian wewnątrzczaszkowych. Napromienianie całego mózgu powoduje jednak działania niepożądane

w postaci zmęczenia, łysienia oraz ubytków neuropoznawczych. W wielu randomizowanych badaniach wykazano, że napromienianie całego mózgu po operacji lub radioterapii stereotaktycznej poprawia wyleczalność zmian wewnątrzczaszkowych u chorych z 1-3 przerzutami do mózgu, ale nie wpływa na wydłużenie przeżycia całkowitego.²³⁻²⁵ W rzeczywistości metodę tę często stosuje się jako leczenie ratujące u chorych, u których liczba przerzutów nowotworu uniemożliwia przeprowadzenie operacji lub radioterapii stereotaktycznej. U omawianego chorego z trzema zmianami w mózgu nie zdecydowaliśmy się na napromienianie całego mózgu.

Leczenie systemowe nie daje możliwości opanowania przerzutów wewnątrzczaszkowych, ponieważ znakomita większość leków nie przenika przez barierę krew-mózg. Pojawia się jednak coraz więcej dowodów wskazujących, że u chorych z przerzutami czerniaka do mózgu leczenie ipilimumabem może zapewnić trwałą stabilizację nowotworu, a zastosowanie inhibitorów BRAF skutkuje odpowiedzią terapeutyczną u większości chorych na nowotwory z mutacją genu *BRAF*.²⁶⁻²⁸ Wstępne wyniki są bardzo zachęcające, ale w grupie chorych z przerzutami do mózgu przydatność tych leków jest nadal badana i nie są one wykorzystywane standardowo. W omawianym przypadku w leczeniu przerzutów do mózgu zastosowano jedynie radioterapię stereotaktyczną (ryc. 1D).

Dr Gonzales: Obraz badania MR mózgu przeprowadzonego po 11 miesiącach od radioterapii stereotaktycznej ujawnił niemal całkowitą regresję zmian w mózgu (ryc. 1E). Po kolejnym miesiącu wykonano badanie PET-TK całego ciała, w którym nie uwidoczono powiększenia węzłów chłonnych miednicy (ryc. 1F) ani wychwytywania znacznika przez kręgosłup, nie stwierdzono też innych ognisk przerzutowych.

Efekt pozamiejskowy

Dr Ob: U omawianego chorego obserwowano częściową odpowiedź na leczenie inhibitorami BRAF, ale po zastosowaniu radioterapii stereotaktycznej wobec przerzutów do mózgu uzyskano głębszą i trwalszą odpowiedź systemową. Termin efektu pozamiejskowego (inaczej abskopalny od łacińskich słów *ab*, czyli poza oraz *scopus*, czyli cel) wprowadzono w 1953 r. w celu opisanie regresji ognisk nowotworu w miejscach odległych od zmian napromienianych. Piśmiennictwo omawiające ten efekt jest ograniczone do opisów przypadków chorych na różne nowotwory, takie jak białaczka, chłoniak, rak nerkowokomórkowy oraz czerniak. W dwóch opisach chorych na czerniaka odnotowano odpowiedź ognisk nowotworu umiejscowionych poza obszarem wyłącznego napromieniania pojedynczego przerzutu³⁰ lub napromieniania skojarzonego z podaniem ipilimumabu.³¹

Wpływ inhibitorów BRAF na układ odpornościowy i patofizjologia efektu pozamiejskowego

Dr Jennifer A. Wargo: Nie wyjaśniono całkowicie patofizjologii efektu pozamiejskowego, który wystąpił u omawianego chorego. Autorzy opublikowanych doniesień sugerują, że może w nim pośredniczyć nasilenie prezentacji antygenów i niszczenia komórek nowotworu przez limfocyty T.^{31,32} W czasie, gdy omawianego chorego włączano do udziału w badaniu oceniającym wemurafenib, niewiele wiedziano o wpływie inhibitorów BRAF na przeciwnowotworową aktywność układu odpornościowego i mikrośrodowiska guza. W tym samym roku, w którym chory był leczony, opisano, że zahamowanie BRAF może nasilać immunogenność komórek czerniaka. Wykazano też, że linie komórkowe czerniaka cechującego się mutacją genu *BRAF* pod wpływem działania inhibitorów BRAF wykazują zwiększoną ekspresję antygenów czerniaka (np. Melan-A) oraz zwiększoną reaktywność swoistych dla antygenów limfocytów T o działaniu ukierunkowanym na te antygeny czerniaka.³³

Od czasu, jaki upłynął od leczenia omawianego chorego, pojawiło się więcej dowodów świadczących o wpływie hamowania BRAF na układ odpornościowy. W kilku doniesieniach, z których jedno pochodzi z tutejszego ośrodka, opisano zwiększone naciekanie przez komórki T nowotworów u chorych na czerniaka z przerzutami, których leczono inhibitorami BRAF.^{34,35} Autorzy tych badań wykazali, że stosowanie inhibitorów BRAF zmniejsza liczbę cytokin immunosupresyjnych, takich jak interleukina 6, interleukina 8 i interleukina 1,³⁶ a także czynnika wzrostu śródbłonnka naczyń³⁷ w ogniskach nowotworowych chorych na czerniaka z przerzutami. Leczenie inhibitorami BRAF powoduje u nich również zwiększenie stężeń markerów cytotoxyczności komórek T.³⁴ U omawianego chorego po 10 dniach od rozpoczęcia leczenia wemurafenibem powtórzono biopsję guza pachwiny w celu oceny odpowiedzi.

Dr Piris: Badanie wycinka pobranego w trakcie leczenia wykazało nasiloną martwicę tkanki guza oraz nacieki limfocytarne (ryc. 3B). Wyniki analizy immunohistochemicznej w kierunku obecności markera Melan-A (ryc. 3D) oraz markera limfocytów T CD8 (ryc. 3F) w tych wycinkach ujawniły zwiększoną ekspresję Melan-A i liczbę limfocytów CD8+ w porównaniu z obserwowaną w wycinkach pochodzących z biopsji sprzed leczenia (ryc. 3A, 3C i 3E).

Dr Wargo: Sądzymy, że włączenie u tego chorego leczenia inhibitorami BRAF mogło stworzyć korzystniejsze uwarunkowania mikrośrodowiska nowotworu z nasiloną prezentacją antygenów na jego komórkach, co przyczyniło się do systemowej odpowiedzi na radio-

RYCINA 4



Zdjęcia chorego po radiochirurgii stereotaktycznej.
W części A widać utratę barwnika skóry owłosionej głowy oraz brwi. W części B widoczne bielactwo skóry owłosionej głowy.

chirurgię stereotaktyczną. Dłuższe utrzymywanie się odpowiedzi na zahamowanie BRAF jest przedmiotem intensywnych badań, a lepsze poznanie odpowiedzi immunologicznej na leczenie inhibitorami BRAF stosowane wyłącznie lub w skojarzeniu z innymi metodami (np. radioterapią) będzie kluczowe dla opracowania racjonalnych strategii leczenia. Odpowiedź obserwowana u omawianego chorego pozwala uwidocznnić, jak miejscowe strategie ablacyjne mogą nasilać odpowiedź systemową na leczenie o ukierunkowanym działaniu. Na podstawie wyników uzyskanych w omawianym przypadku, jak i u innych chorych, potwierdzonych w kilku modelach *in vitro*, w których wykazano zwiększenie skuteczności immunoterapii dzięki skojarzeniu jej z podaniem inhibitorów BRAF,^{37,38} rozpoczęto badania kliniczne oceniające łączne stosowanie inhibitorów BRAF i immunoterapii (NCT01754376, NCT01683188, NCT01585415, NCT01659151 i NCT01400451).

Dr Lawrence: Mediana czasu przeżycia chorych na czerniaka z przerzutami do ośrodkowego układu nerwowego jest krótsza niż 4 miesiące. Po zastosowaniu radiochirurgii stereotaktycznej omawiany chory nie wyraził zgody na dalsze leczenie. Po zakończeniu leczenia i stwierdzeniu ustąpienia przerzutów włosy na głowie i brwi chorego zmieniły barwę z siwej na całkiem białą, rozwinęło się też bielactwo (ryc. 4). Sugeruje to odpowiedź immunologiczną ukierunkowaną przeciw melanocytom zarówno prawidłowym, jak i zmienionym nowotworowo. W ostatnim badaniu PET-TK, przeprowadzonym po około 13 miesiącach od przerwania leczenia wemurafenibem, w miednicy po stronie prawej uwidocznił hipermetaboliczny węzeł chłonny wielkości 1 cm. Innych cech nowotworu nie uwidocznił. W trakcie ostatniej wizyty, po 18 miesiącach od całkowitego zakończenia leczenia, chory czuł się dobrze i powrócił do pracy w gospodarstwie. W badaniu przedmiotowym nie stwierdzono cech nawrotu nowotworu. Chory nie wyraził zgody na wykonywanie dalszych badań obrazowych.

Dr Nancy L. Harris (patomorfolog): Czy są pytania do wykładawców?

Dr A. John Iafrate (patomorfolog): Czy chorzy na czerniaki, w których nie występują mutacje genu *BRAF*, lepiej odpowiadają na immunoterapię niż chorzy na nowotwory cechujące się taką mutacją?

Dr Sullivan: W dotychczasowych badaniach nie stwierdzono różnic pomiędzy tymi grupami chorych w zakresie odpowiedzi na leczenie interleukiną 2 i ipilimumabem.^{19,39} Natomiast w retrospektywnym badaniu oceniającym chorych leczonych dużą dawką interleukiny 2 odpowiedź uzyskana wśród chorych z mutacją genu *NRAS* była częstsza niż obserwowana wśród chorych z mutacją genu *BRAF* oraz wśród chorych, u których nie wykryto żadnej z tych mutacji.¹⁹

ROZPOZNANIE ANATOMICZNE

Czerniak z przerzutami i mutacją V600E genu *BRAF*, wykazujący pozamiejscową odpowiedź

Przypadek chorego przedstawiono podczas Cancer Center Grand Rounds w Massachusetts General Hospital Cancer Center.

Dr Lawrence zgłasza otrzymanie funduszy na badania doświadczalne od F. Hoffmann-La Roche/Genentech, a dr Wargo otrzymanie wynagrodzenia za wykłady od DAVA

Oncology. Nie zgłoszono żadnych innych potencjalnych konfliktów interesów związanych z tym artykułem.

Formularze dotyczące konfliktów interesów dostarczone przez autorów są dostępne wraz z pełnym tekstem niniejszego artykułu na stronie NEJM.org.

Autorzy dziękują dr. Drorowi Michelsonowi i dr. Sridharowi Ramaswamy za pomoc w organizacji posiedzenia naukowego.

From The New England Journal of Medicine 2013;369:173-183. Translated and reprinted in its entirety with permission of the Massachusetts Medical Society. Copyright © 2013 Massachusetts Medical Society. All rights reserved.

PIŚMIENNICTWO

- Hatzivassiliou G, Song K, Yen I, et al. RAF inhibitors prime wild-type RAF to activate the MARK pathway and enhance growth. *Nature* 2010;464:431-5.
- Poulidakos PI, Zhang C, Bollag G, Shokat KM, Rosen N. RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signaling in cells with wild-type BRAF. *Nature* 2010;464:427-30.
- Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature* 2002;417:949-54.
- Flaherty K. Advances in drug development: BRAF validation in melanoma. *Clin Adv Hematol Oncol* 2010;8:31-4.
- Vultur A, Villanueva J, Herlyn M. Targeting BRAF in advanced melanoma: a first step toward manageable disease. *Clin Cancer Res* 2011;17:1658-63.
- Flaherty KT, Puzanov I, Kim KB, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363:809-19.
- Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med* 2011;364:2507-16.
- Flaherty KT, Infante JR, Daud A, et al. Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. *N Engl J Med* 2012;367:1694-703.
- Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: a multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet* 2012;380:358-65.
- 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. [Erratum, *N Engl J Med* 2010;363:1290.]
- Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011;364:2517-26.
- Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med* 2012;367:107-14.
- Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012;366:2443-54.
- 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.
- Weber JS, Kähler KC, Hauschild A. Management of immune-related adverse events and kinetics of response with ipilimumab. *J Clin Oncol* 2012;30:2691-7.
- Sosman JA, Kim KB, Schuchter L, et al. Survival in BRAF V600-mutant advanced melanoma treated with vemurafenib. *N Engl J Med* 2012;366:707-14.
- Ackerman A, McDermott DF, Lawrence DP, et al. Outcomes of patients with malignant melanoma treated with immunotherapy prior to or after vemurafenib. *J Clin Oncol* 2012;30:Suppl:8569. abstract.
- Ascierto PA, Simeone E, Giannarelli D, Grimaldi AM, Romano A, Mozzillo N. Sequencing of BRAF inhibitors and ipilimumab in patients with metastatic melanoma: a possible algorithm for clinical use. *J Transl Med* 2012;10:107.
- Joseph RW, Eckel-Passow JE, Sharma R, et al. Characterizing the clinical benefit of ipilimumab in patients who progressed on high-dose IL-2. *J Immunother* 2012;35:711-5.
- Smith FO, Goff SL, Klapper JA, et al. Risk of bowel perforation in patients receiving interleukin-2 after therapy with anti-CTLA 4 monoclonal antibody. *J Immunother* 2007;30:130.
- Davies MA, Liu P, McIntyre S, et al. Prognostic factors for survival in melanoma patients with brain metastases. *Cancer* 2011;117:1687-96.
- Shaw E, Scott C, Souhami L, et al. Single dose radiosurgical treatment of recurrent previously irradiated primary brain tumors and brain metastases: final report of RTOG protocol 90-05. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;47:291-8.
- Kocher M, Soffietti R, Abacioglu U, et al. Adjuvant whole-brain radiotherapy versus observation after radiosurgery or surgical resection of one to three cerebral metastases: results of the EORTC 22952-26001 study. *J Clin Oncol* 2011;29:134-41.
- Aoyama H, Shirato H, Tago M, et al. Stereotactic radiosurgery plus whole-brain radiation therapy vs stereotactic radiosurgery alone for treatment of brain metastases: a randomized controlled trial. *JAMA* 2006;295:2483-91.
- Patchell RA, Tibbs PA, Regine WF, et al. Postoperative radiotherapy in the treatment of single metastases to the brain: a randomized trial. *JAMA* 1998;280:1485-9.
- Falchook GS, Long GV, Kurzrock R, et al. Dabrafenib in patients with melanoma, untreated brain metastases, and other solid tumours: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet* 2012;379:1893-901.
- Long GV, Trefzer U, Davies MA, et al. Dabrafenib in patients with Val600Glu or Val600Lys BRAF-mutant melanoma metastatic to the brain (BREAK-MB): a multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:1087-95.
- Margolin K, Ernstoff MS, Hamid O, et al. Ipilimumab in patients with melanoma and brain metastases: an open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2012;13:459-65.
- Mole RH. Whole body irradiation: radiobiology or medicine? *Br J Radiol* 1953;26:234-41.
- Kingsley DP. An interesting case of possible abscopal effect in malignant melanoma. *Br J Radiol* 1975;48:863-6.
- Postow MA, Callahan MK, Barker CA, et al. Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *N Engl J Med* 2012;366:925-31.
- Zhang B, Bowerman NA, Salama JK, et al. Induced sensitization of tumor stroma leads to eradication of established cancer by T cells. *J Exp Med* 2007;204:49-55.
- Boni A, Cogdill AP, Dang P, et al. Selective BRAFV600E inhibition enhances T-cell recognition of melanoma without affecting lymphocyte function. *Cancer Res* 2010;70:5213-9.
- Frederick DT, Piris A, Cogdill AP, et al. BRAF inhibition is associated with enhanced melanoma antigen expression and a more favorable tumor microenvironment in patients with metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2013;19:1225-31.
- Wilmott JS, Long GV, Howle JR, et al. Selective BRAF inhibitors induce marked T-cell infiltration into human metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* 2012;18:1386-94.
- Khalili JS, Liu S, Rodríguez-Cruz TG, et al. Oncogenic BRAF(V600E) promotes stromal cell-mediated immunosuppression via induction of interleukin-1 in melanoma. *Clin Cancer Res* 2012;18:5329-40.
- Liu C, Peng W, Xu C, et al. BRAF inhibition increases tumor infiltration by T cells and enhances the antitumor activity of adoptive immunotherapy in mice. *Clin Cancer Res* 2013;19:393-403.
- Koya RC, Mok S, Otte N, et al. BRAF inhibitor vemurafenib improves the antitumor activity of adoptive cell immunotherapy. *Cancer Res* 2012;72:3928-37.
- Shahabi V, Whitney G, Hamid O, et al. Assessment of association between BRAFV600E mutation status in melanomas and clinical response to ipilimumab. *Cancer Immunol Immunother* 2012;61:733-7.