

Immunoterapia nowotworów

Cancer immunotherapy

Grażyna Sygitowicz, Dariusz Sitkiewicz

Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Streszczenie

Dwaj tegoroczni Nobliści: James P. Allison i Tasaku Honjo dokonali przełomowego odkrycia dotyczącego mechanizmów wyhamowania odpowiedzi immunologicznej. Zidentyfikowali i scharakteryzowali dwa różne białka: CTLA-4 i PD-1. Znajdują się one na powierzchni limfocytów T i są immunologicznymi punktami kontrolnymi. James P. Allison wykazał, że do pełnej aktywacji immunologicznej, poza rozpoznaniem antygeny przez receptor komórki T niezbędna jest również interakcja z białkami B7-1 (CD80) i B7-2 (CD86), pełniącymi funkcję akceleratora/kostymulatora. Białko CTLA-4 kontroluje ten proces hamując kompetytywnie przyłączenie tych białek do receptora CD28 komórek T co blokuje ich pełną aktywację. Inny mechanizm aktywacji został odkryty przez T. Honjo, który zidentyfikował immunoreceptor PD-1 obecny na komórkach T oraz jego ligandy PD-L1 i PD-L2. Ich ekspresja występuje na powierzchni wielu komórek, a co wydaje się najistotniejsze, także na komórkach nowotworowych. Interakcja receptora PD-1 z jego ligandami prowadzi do zahamowania reakcji immunologicznej.

Zasługą tegorocznych Noblistów jest również wykazanie, iż zablokowanie punktów kontrolnych CTLA-4 i PD-1 przez swoiste przeciwciała umożliwia uzyskanie pożądanej aktywności limfocytów T, co skutkuje zniszczeniem nowotworu. Badania JP. Allisona i T. Honjo zaowocowały konstrukcją nowych leków – inhibitorów immunologicznych punktów kontrolnych: CTLA-4 i PD-1 oraz inhibitorów ligandów PD-L1/L2. Leki te (przeciwciała monoklonalne) doprowadziły w wielu przypadkach do spektakularnego cofnięcia się zmiany nowotworowej (znacznej regresji guza). Wyniki jak do tej pory są tak imponujące, że FDA zatwierdziła ich stosowanie w leczeniu różnych zaawansowanych nowotworów, takich jak: czerniak – postaci przerzutowej, rak płuc, rak nerki, rak pęcherza, rak głowy i szyi oraz innych guzach nowotworowych.

Abstract

Both of this year's Nobel Prize Winners: James P. Allison and Tasaku Honjo made a disruptive discovery concerning the mechanisms of repressing the immunological response. They identified and characterised two different proteins: CTLA-4 and PD-1. They can be found on the surface of T lymphocytes and they are immunological checkpoints. James P. Allison stated that for the complete immunological activation, apart from the recognition of antigen by T-cell receptor, the interaction with proteins B7-1 (CD80) and B7-2 (CD86) acting as an accelerator/costimulator is also crucial. The protein CTLA-4 controls this process competitively repressing the joining of these proteins to T-cell receptor CD28, which blocks their full activation. Another activation mechanism was discovered by T. Honjo, who identified immunoreceptor PD-1, appearing on T-cells, and its ligands PD-L1 and PD-L2. Their expressed occurs on the surface of various cells, and what seems to be the most important, also on cancer cells. The interaction of PD-1 receptor with its ligands leads to the inhibition of the immunological reaction.

The merit of this year's Nobel Prize Winners is also presenting that blocking of CTLA-4 and PD-1 checkpoints by specific antibodies allows to gain the desirable T lymphocytes activity, which results in cancer destruction. James P. Allison's and Tasaku Honjo's research created the structure of new drugs – immunological inhibitors of control points: CTLA-4 and PD-1 checkpoints immunological and PD-L1/L2 ligands inhibitors. These drugs (monoclonal antibodies) in many cases resulted in a spectacular regression of cancer disease (major tumor regression). The results so far have been so impressive that FDA approved their application in therapy of various advanced cancers, such as: metastatic stage, lung cancer, kidney cancer, bladder cancer, head and neck cancer and other cancers.

Słowa kluczowe: aktywacja limfocytów T, blokada punktów kontrolnych, immunoterapia nowotworów.

Key words: T-cell activation, checkpoints blockade, tumor immunotherapy.

Nagroda Nobla z fizjologii / medycyny – 2018 r.



James P. Allison



Tasuku Honjo

Nagrodę Nobla otrzymali za odkrycie terapii przeciwnowotworowej poprzez hamowanie negatywnej reakcji immunologicznej. Immunoterapia oparta na odkryciach Laureatów została wdrożona i przyniosła spektakularne efekty w postaci wyleczenia pacjentów, u których chorobę uważano wcześniej za nieuleczalną.

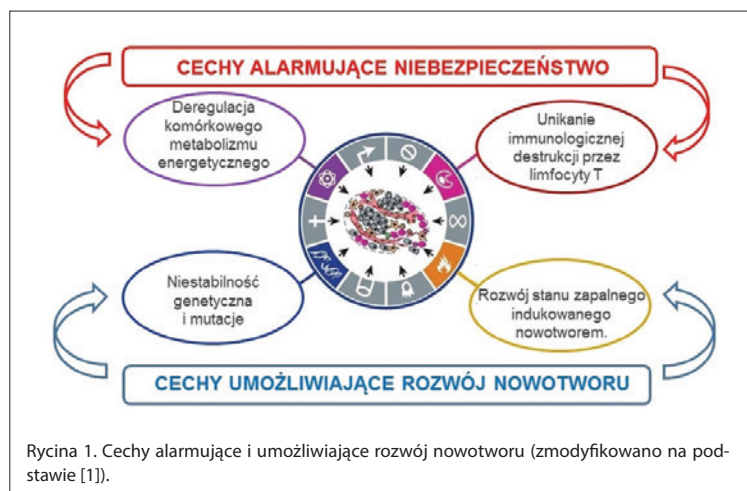
James P. Allison jest dyrektorem Oddziału Immunoterapii na MD Anderson Cancer Center przy Instytucie Nauk o Zdrowiu w Houston na University of Texas w Austin. Wcześniej pracował jako immunolog w Scripps Clinic and Research Foundation w La Jolla. Zawodowo związany był także z Memorial Sloan Kettering Cancer Center w Nowym Jorku. Jego badania prowadzone na Uniwersytecie Kalifornijskim w Berkeley przyczyniły się do późniejszego odkrycia przeciwciała Ipilimumab, które zwiększa aktywność układu odpornościowego.

Tasuku Honjo zasłynął odkryciem receptora programowanej śmierci 1. Jest to białko ulegające ekspresji w limfocytach T, limfocytach B, monocytach i makrofagach, wskutek czego hamuje aktywację układu odpornościowego. Tasuku Honjo od roku 1984 jest związany z Uniwersytetem Kioto, gdzie aktualnie jest zastępcą dyrektora tego Uniwersytetu i profesorem w Instytucie Badań Zaawansowanych. Wcześniej pracował na Uniwersytecie Osakijskim. Przez kilka lat przebywał również w USA jako profesor wizytujący w Carnegie Institution w Waszyngtonie.

Wstęp

Choroby nowotworowe zabijają każdego roku miliony osób, stanowiąc największy problem zdrowotny współczesnych czasów. Rozważając ten problem należy cofnąć się do roku 1600 p.n.e., kiedy to po raz pierwszy została zdiagnozowana choroba nowotworowa. Koncepcja udziału systemu immunologicznego w po-

wstawaniu i ewentualnej eliminacji nowotworu powstała wiele lat później. Jako pierwszy podniósł ją 120 lat temu laureat Nagrody Nobla Paul Ehrlich. W 2009 r. Robert A. Weinberg [1] opisując cechy komórek nowotworowych zwrócił uwagę na dwie z nich, określając je jako cechy alarmujące niebezpieczeństwo i zaangażowane w patogenezę niektórych, a może wszystkich nowotworów. Jedną z nich stanowi modyfikacje lub przeprogramowanie komórkowego metabolizmu energetycznego, zaś drugą jest unikanie immunologicznej destrukcji przez limfocyty T. Dwie inne cechy umożliwiające rozwój nowotworu to: niestabilność genetyczna i mutacje oraz rozwój stanu zapalnego indukowanego nowotworem (ryc. 1).



Rycina 1. Cechy alarmujące i umożliwiające rozwój nowotworu (zmodyfikowano na podstawie [1]).

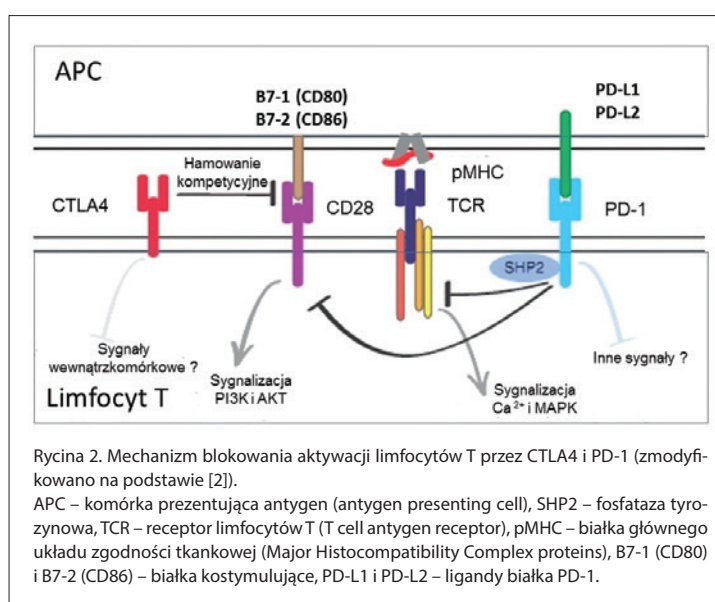
Aktywacja limfocytów T

Aktywacja limfocytów T jest procesem dwuetapowym. Wymaga pierwszego sygnału generowanego *via* interakcja receptora limfocytu T (TCR; *T cell antigen receptor*) z domeną komórki rozpoznawanej jako obca. Niezbędne jest również białko działające jako kostymulator (akcelerator) komórek T. Białkami tymi są: B7-1 (CD80) i B7-2 (CD86), obecnymi na komórkach prezentujących anty-

gen (APC). Interakcja tych białek z CD28 na limfocytach T prowadzi do generacji drugiego sygnału niezbędnego do ich aktywacji (ryc. 2).

James P. Allison badał znane białko CTLA-4 (*Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*) i stwierdził, że stanowi ono istotny element regulacji odpowiedzi immunologicznej. Zarówno CD28, jak i CTLA-4 są kostymulowanymi receptorami, które determinują aktywację limfocytów T. Badania *in vitro* a także *in vivo* potwierdzają hipotezę, że CTLA-4 jest ważnym punktem kontrolnym odpowiedzi immunologicznej. Jego rola polega na kompetycyjnym hamowaniu wiązania ligandów B7-1 (CD80) i B7-2 (CD86) z CD28 [3,4]. Obecnie hipoteza ta jest powszechnie akceptowana, jednak szczegółowy mechanizm współdziałania CD28 i CTLA-4 nie jest do końca poznany stale budzi kontrowersje [5]. W laboratorium Tasuku Honjo zidentyfikowano immunoreceptor PD-1 (*programmed cell death-1*) należący do rodziny białek regulujących sygnały za pośrednictwem receptora TCR. PD-1 jest transbłonową glikoproteiną o masie cząsteczkowej 50–56 kDa. Jej zewnątrzkomórkowa domena wykazuje 21–33% homologię sekwencji aminokwasowej z CD28 i CTLA-4 [6]. Ekspresja białka PD-1 następuje na komórkach T $\alpha\beta$ i $\gamma\delta$ w grasicy i jest indukowana w peryferyjnych komórkach limfocytów T i B po ich aktywacji. Białko PD-1 hamuje niekorzystną, zaś zabezpiecza korzystną odpowiedź immunologiczną. Okazuje się jednak, że typowe prozapalne cytokiny takie jak IL-1 α , IL-1 β czy czynnik martwicy nowotworów α (TNF α) nie hamują indukcji białka PD-1, podczas gdy te uważane za niegroźne np. IL-4 biorą udział w hamowaniu indukcji tego białka [7, 8].

Badania prowadzone w laboratorium T. Honjo dotyczyły również poszukiwania swoistego liganda/ligandów PD-1. Udało się zidentyfikować dwa typy ligandów: PD-L1 i PD-L2. Są one transbłonowymi glikoproteinami wykazującymi ~20% podobieństwo sekwencji aminokwasów z B7-1 i B7-2, będącymi ligandami CD28 i CTLA-4 [9, 10]. Obydwa ligandy zawierają krótki ogon cytoplazmatyczny o nieznannej funkcji. Sugeruje to, że obydwie te ligandy nie przekazują żadnych sygnałów po interakcji z PD-1. Wysoką ekspresję transkryptów PD-L1 i PD-L2 wykazano w łożysku, sercu, płucach i wątrobie, podczas gdy znacznie niższą w śledzionie, węzłach chłonnych i grasicy. Ekspresji obydwu ligandów nie stwierdzono zaś w mózgu [9, 11]. Związanie białka PD-1 z jego ligandami PD-L1 i PD-L2 generuje negatywny sygnał poprzez fosfatazę tyrozynową 2 (SHP2), która defosforyluje proksymalny element sygnalizujący [12]. W odróżnieniu od CTLA-4, PD-1 bezpośrednio reguluje sygnał pochodzący zarówno z receptora TCR, jak CD28 [13, 14]. Zaburzoną ekspresję PD-1 i liganda PD-L1 stwierdzono w wielu stanach patologicznych, które zostały przedstawione w tabeli I (wg [15]). Ekspresję PD-L1 i PD-L2 stwierdzono w komórkach nowotworów: płuc, jaj-



ników, skóry, nerek, żołądka czy piersi. Iwai et al. [16] i Hirano et al. [17] stosując linię P815 komórek mastocytoza ze zwiększoną ekspresją PD-L1 wykazali, że ligand ten obecny na komórkach nowotworowych prowadzi do zahamowania cytolitycznej aktywności komórek CD8 limfocytów T.

Od odkryć do immunoterapii nowotworów

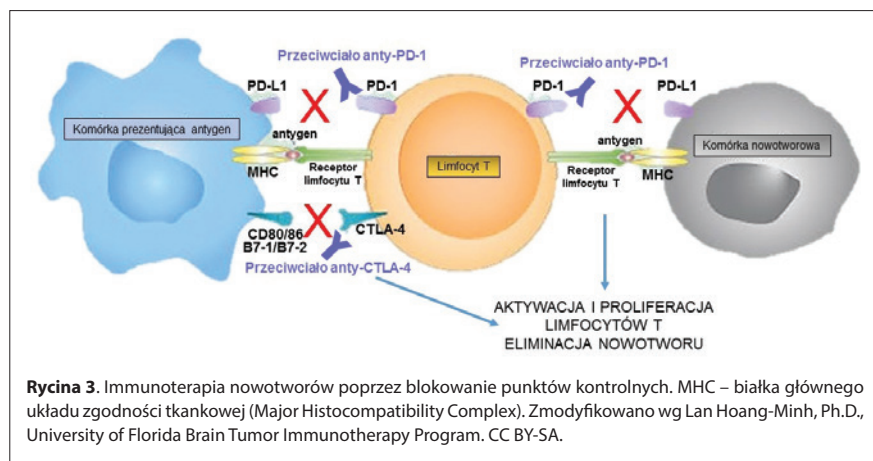
Obydwa badane przez tegorocznych Laureatów białka: CTLA-4 i PD-1 stanowią punkty kontrolne odpowiedzi immunologicznej i decydują o powstrzymaniu naszego układu odpornościowego przed atakiem na własny organizm. Kluczowe jest rozróżnianie między tym co "swoje" i "obce". Kłopot w tym, że komórki nowotworowe są w pewnym sensie "swoje". Nie są bowiem niczym, co przychodzi z zewnątrz, a stanowią tylko zmienione komórki własnego ciała. Dlatego też układ odpornościowy zostaje "wyhamowany", zamiast je atakować, ponieważ traktuje te komórki jako coś „swojego” i bezpiecznego.

James P. Allison opracował przeciwciało, które może związać się z białkiem "hamulcowym" CTLA-4 i zablokować jego działanie [2, 5, 18-19]. Wyłączony hamulec powoduje, że limfocyt T może skutecznie działać, a więc zaalarmować i uruchomić układ immunologiczny. Swoich odkryć J.P. Allison dokonał w 1997 roku, a już w 2010 roku uzyskano obiecujące kliniczne wyniki w leczeniu

Tabela I. Zmiany ekspresji PD-1 i liganda PD-L1 w chorobach infekcyjnych i autoimmunologicznych (wg [15]).

Zaburzenie	Białko	Populacja komórek
Choroby infekcyjne		
HIV	PD-1, PD-L1	Limfocyty T CD8
HCV	PD-1	Limfocyty T CD8
HBV	PD-L1	Monocyty
Helicobacter pylori	PD-L1	Komórki nabłonka żołądka
Choroby autoimmunologiczne		
SS	PD-1, PD-L1	Limfocyty T
RA	PD-1	Maziowe komórki T CD4
AIH, PBC	PD-1	Limfocyty

HCV – hepatitis C virus, SS – Zespół Sjogrena, AIH – autoimmunologiczne zapalenie wątroby, PBC – pierwotna marskość żółciowa.



przynosi znacznie większe korzyści niż zastosowanie tylko samej monoterapii.

Poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za kontrolę reakcji immunologicznej otwiera możliwości leczenia nie tylko chorób nowotworowych. Szczególna rola przypada układowi PD-1/PD-L, bowiem jak wykazano zarówno w przypadku chorób infekcyjnych, jaki autoimmunologicznych dochodzi do zaburzeń ekspresji obydwu tych białek (patrz tabela I) [15]. Agoniści PD-1 powodujący supresję niepożądaną odpowiedzi immunologicznej

mogą być zastosowani w leczeniu chorób autoimmunologicznych oraz alergicznych a także w zapobieganiu odrzutu przeszczepów. W odróżnieniu, antagoniści PD-1 nasilający reakcję immunologiczną mogą być skutecznymi

Tabela II. Leki inhibitory punktów kontrolnych zatwierdzone przez FDA (wg [2]).

Lek	Wskazania
Ipilimumab	Melanoma
Nivolumab	Melanoma, Non-small cell lung cancer, Hodgkin lymphoma, Hepatocellular carcinoma
Pembrolizumab	Melanoma
Atezolizumab	Urothelial carcinoma
Avelumab	Urothelial carcinoma, Merkel cell carcinoma
Durvalumab	Urothelial carcinoma

raka gruczołu krokowego i czerniaka u ludzi dzięki wykorzystaniu metody z przeciwciałem. Również w przypadku białka PD-1 udało się zablokować działanie tego hamulca co pozwoliło układowi odpornościowemu na skuteczniejsze zwalczanie nowotworów [15, 20, 21] (ryc. 3). Terapia oparta na odkryciach T. Honjo została wdrożona w 2012 roku i przyniosła spektakularne efekty w postaci wyleczenia pacjentów, w których chorobę wcześniej uważano za nieuleczalną.

Obecnie dysponujemy lekami zaaprobowanymi przez amerykańską Agencję Żywności i Leków (FDA), które zostały przedstawione w tabeli II (wg [2]).

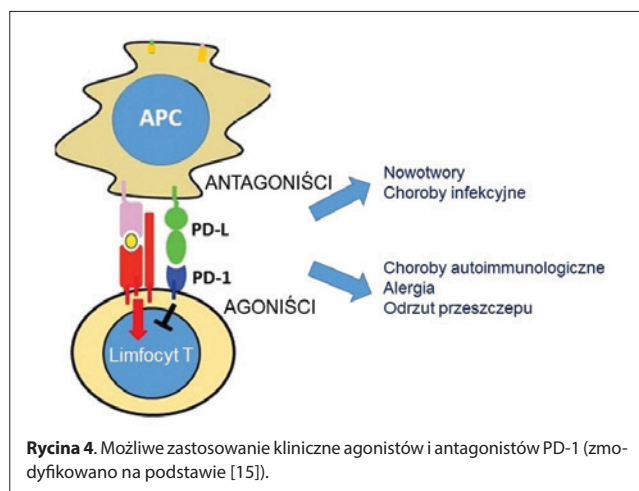
Ipilimumab jest przeciwciałem anti-CTLA-4, Nivolumab i Pembrolizumab są przeciwciałami anti-PD-1, Atezolizumab i Avelumab są przeciwciałami anti-PD-L1.

W przypadkach zaawansowanego czerniaka możliwa jest jednoczesna terapia Ipilimumabem (anti-CTLA-4) i Nivolumabem (anti-PD-1). Jednoczesna blokada dwóch punktów kontrolnych

lekami w przypadkach chorób infekcyjnych czy nowotworowych (ryc. 4).

Piśmiennictwo

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*. 2011; 144(5): 646-674.
- Wei SC, Duffy CR, Allison JP. Fundamental mechanisms of immune checkpoints blockade therapy. *Cancer Discov*. 2018; 8(9): 1069-1086.
- Linsley PS. Coexpression and functional cooperation CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J Exp Med*. 1992; 176(6): 1595-1604.
- Krummel MF, Allison JP. CD28 and CTLA-4 have opposing effects on the response of T cells to stimulation. *J Exp Med*. 1995; 182(2): 459-465.
- Egen JG, Kuhns MS, Allison JP. CTLA-4: new insights into its biological function and use in tumor immunotherapy. *Nat Immunol*. 2002; 3(7): 611-618.
- Okazaki T, Wang J. PD-1/PD-L pathway and autoimmunity. *Autoimmunity*. 2005; 38(5): 353-357.
- Zhong X, Bai Ch, Gao W, et al. Suppression of expression and function of negative immune regulator PD-1 by certain pattern recognition and cytokine receptor signals associated with immune system danger. *Int Immunol*. 2004; 16(8): 1181-1188.
- Matzinger P. Tolerance, danger, and the extended family. *Ann Rev Immunol*. 1994; 12: 991-1045.
- Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, et al. Engagement of PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*. 2000; 192(7): 1027-1034.
- Carter L, Fouser LA, Jussif J, et al. PD-1:PD-L inhibitory pathway affects both CD4(+) and CD8(+) T cells and is overcome by IL-2. *Eur J Immunol*. 2002; 32(3): 634-643.
- Latchman Y, Wood CR, Chernova T, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*. 2001; 2(3): 261-268.
- Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, et al. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med*. 2012; 209(6): 1201-1217.



13. Parry RV, Chemnitz JM, Frauwirth KA, et al. CTLA-4 and PD-1 receptors inhibit T-cell activation by distinct mechanisms. *Mol Cell Biol.* 2005; 25(21): 9543-9553.
14. Hui E, Cheung J, Zhu J, et al. T cell costimulatory receptor CD28 is primary target for PD-1-mediated inhibition. *Science.* 2017; 355(6332): 1428-1433.
15. Okazaki T, Honjo T. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol.* 2007; 19(7): 813-824.
16. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, et al. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(19): 12293-12297.
17. 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(3): 1089-1096.
18. Kwon ED, Hurwitz AA, Foster BA, et al. Manipulation of T cell costimulatory and inhibitory signals for immunotherapy of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997; 94(15): 8099-8103.
19. Hodi FS, Mihm MC, Soiffer RJ, et al. Biological activity of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 antibody blockade in previously vaccinated metastatic melanoma and ovarian carcinoma patients. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100(8): 4712-4717.
20. Iwai Y, Terawaki S, Honjo T, et al. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells. *Int Immunol.* 2005; 17(2): 133-144.
21. Okazaki T, Chikuma C, Iwai Y, et al. A rheostat for immune responses: the unique properties of PD-1 and their advantages for clinical application. *Nat Immunol.* 2013; 14(12): 1212-1218.

Autor do korespondencji:

dr hab. Grażyna Sygitowicz
Zakład Chemii Klinicznej i Diagnostyki Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa
tel. +48 22 5720765
e-mail: gsygitowicz@poczta.onet.pl

Otrzymano: 9.01.2019

Akceptacja do druku: 20.03.2019

Nie zgłoszono sprzeczności interesów

