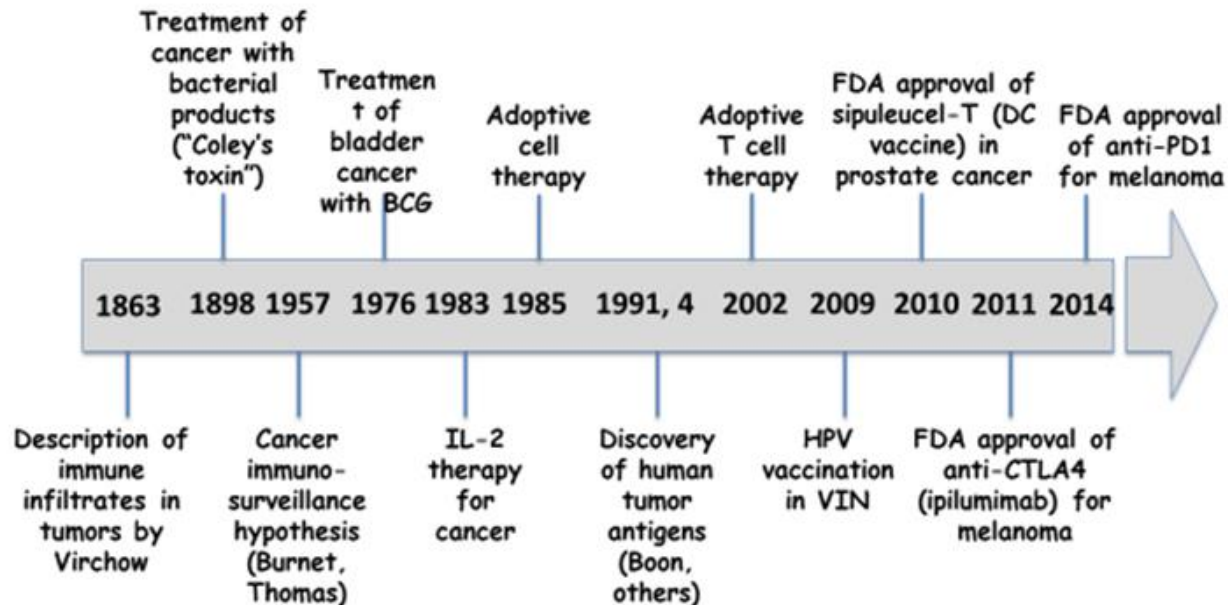


# Podstawy immunologii i immunoterapii nowotworów

Tadeusz Pieńkowski  
Radomskie Centrum Onkologii  
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego  
Warszawa 2018

# Historia immunoterapii nowotworów

The history of cancer immunotherapy: from empirical approaches to rational, science-based therapies



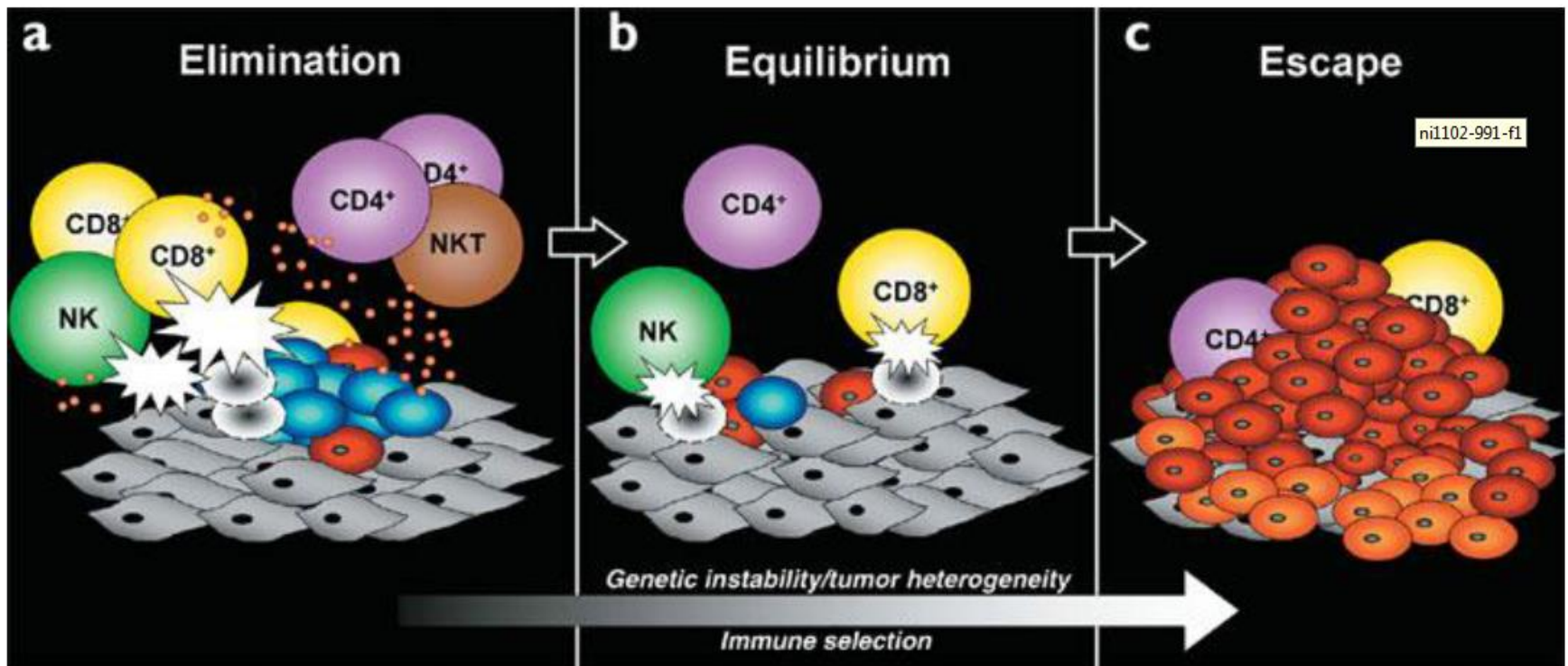
# Teoria nadzoru immunologicznego Burneta i Thomasa (1967)

- komórki zmienione nowotworowo pojawiają się w organizmie znacznie częściej niż nowotwory ujawnione klinicznie;
- są stale kontrolowane przez odpowiednie mechanizmy odpornościowe, które polegają na szybkiej detekcji i ich zniszczeniu;
- upośledzenie tej sprawności prowadzi do niekontrolowanego namnożenia się komórek nowotworowych i rozwoju choroby;

# Teoria nadzoru immunologicznego

- Eliminacja; odporność swoista i nieswoista
- Równowaga: niestabilność genetyczna
- Wymkniecie się spod nadzoru immunologicznego

# The Immune Editing Hypothesis (3E's)



# Jak komórka nowotworowa broni się przed układem immunologicznym?

## Unikanie rozpoznania

- zmniejszenie lub brak ekspresji białek APM (ang. antigen-processing machinery components) (np. białka TAP – związanego z transportem międzybłonowym, białka LMP2 i LMP7 związanych z obróbką antygeny);
- brak ekspresji cząsteczek MHC klasy I oraz cząsteczek kostymulujących na powierzchni komórek nowotworowych ;
- zmniejszenie ekspresji („złuszczenie”) antygenów nowotworowych lub utrata epitopów antygenowych.
- hamowanie czynności układu immunologicznego

# Jak komórka nowotworowa broni się przed układem immunologicznym?

## Unikanie rozpoznania

- Uzbrajanie się: zwiększona oporność komórek nowotworowych na apoptozę (białka Bcl2, Stat3 – powoduje ekspresję receptora FasL)
- Atak daleki i w okolicy – „don't get too close”: produkcja czynników immunosupresyjnych: cytokiny rodziny TNF; prostaglandyny, histamina, epinefryna; enzymy – IDO, arginaza; cytokiny – TGF-BETA, IL-10;
- Atak bezpośredni (receptorowy) – „it's too late”: indukcja apoptozy (nabywają FasL) lub zahamowanie aktywności limfocytów T (dysregulacja punktów kontrolnych); ekspresja receptorów typu „don't eat me” – CD47 Wzrost aktywności limfocytów T regulatorowych
- Pobudzenie immunosupresyjnych komórek pochodzenia szpikowego
- Regulacja ekspresji receptorów hamujących funkcję układu immunologicznego
- Wzrost aktywności limfocytów T regulatorowych Pobudzenie immunosupresyjnych komórek pochodzenia szpikowego Regulacja ekspresji receptorów hamujących funkcję układu immunologicznego

# Immunoterapia czynna

- Działnie na nowotwór
- Antygenowo zależna
- Antygenowo niezależna



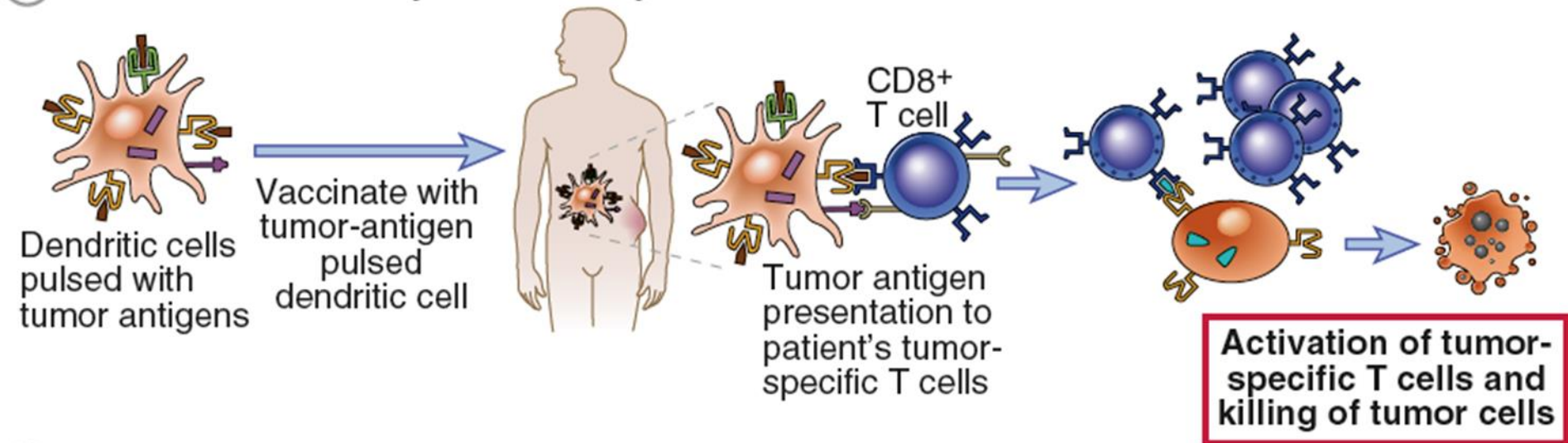
# Immunoterapia czynna

## Antygenowo zależna

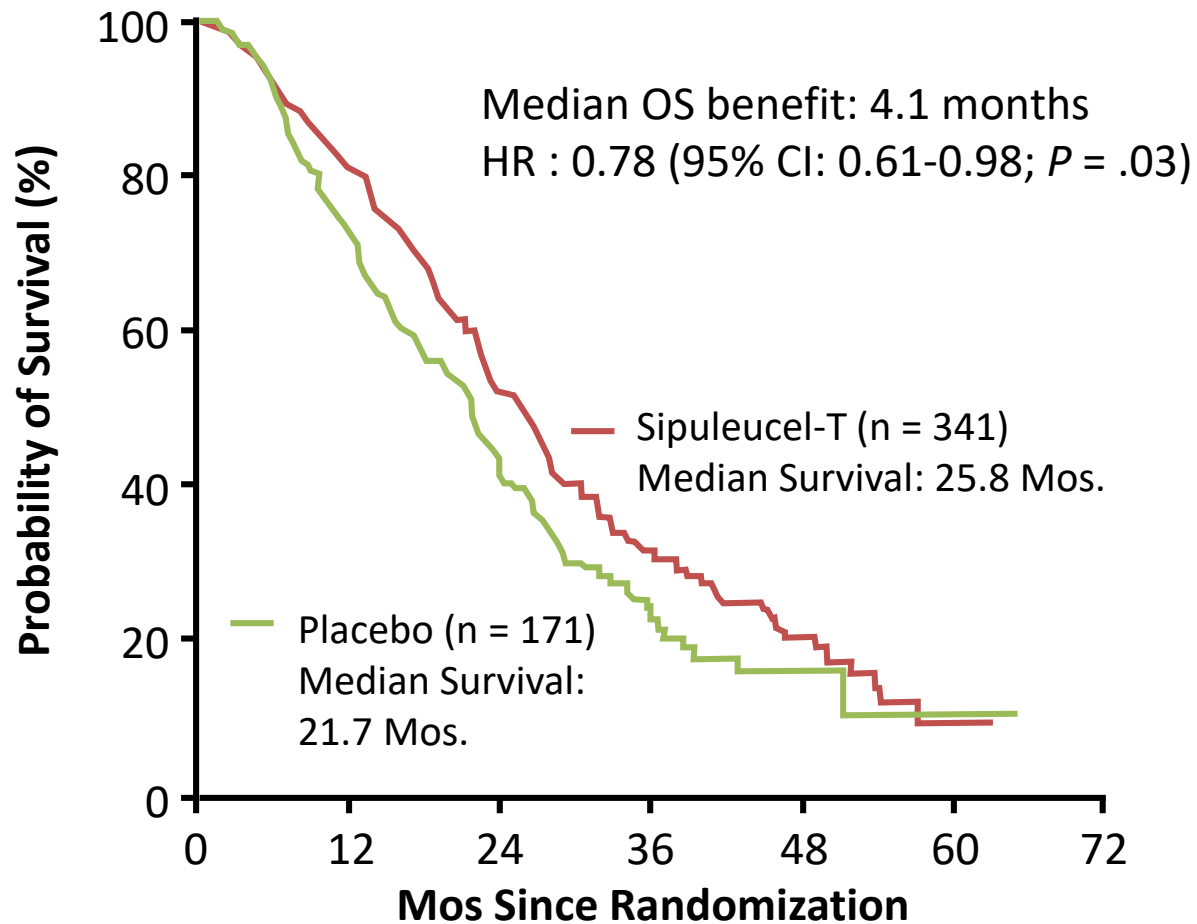
- Szczepionki terapeutyczne
- MAG-Tn3 Peptydy HER2

# Szczepionki z komórek dendrytycznych

## (B) Active T cell immunity enhanced by dendritic cell vaccines



# Badanie III fazy Sipuleucel-T w Przerzutowym raku prostaty

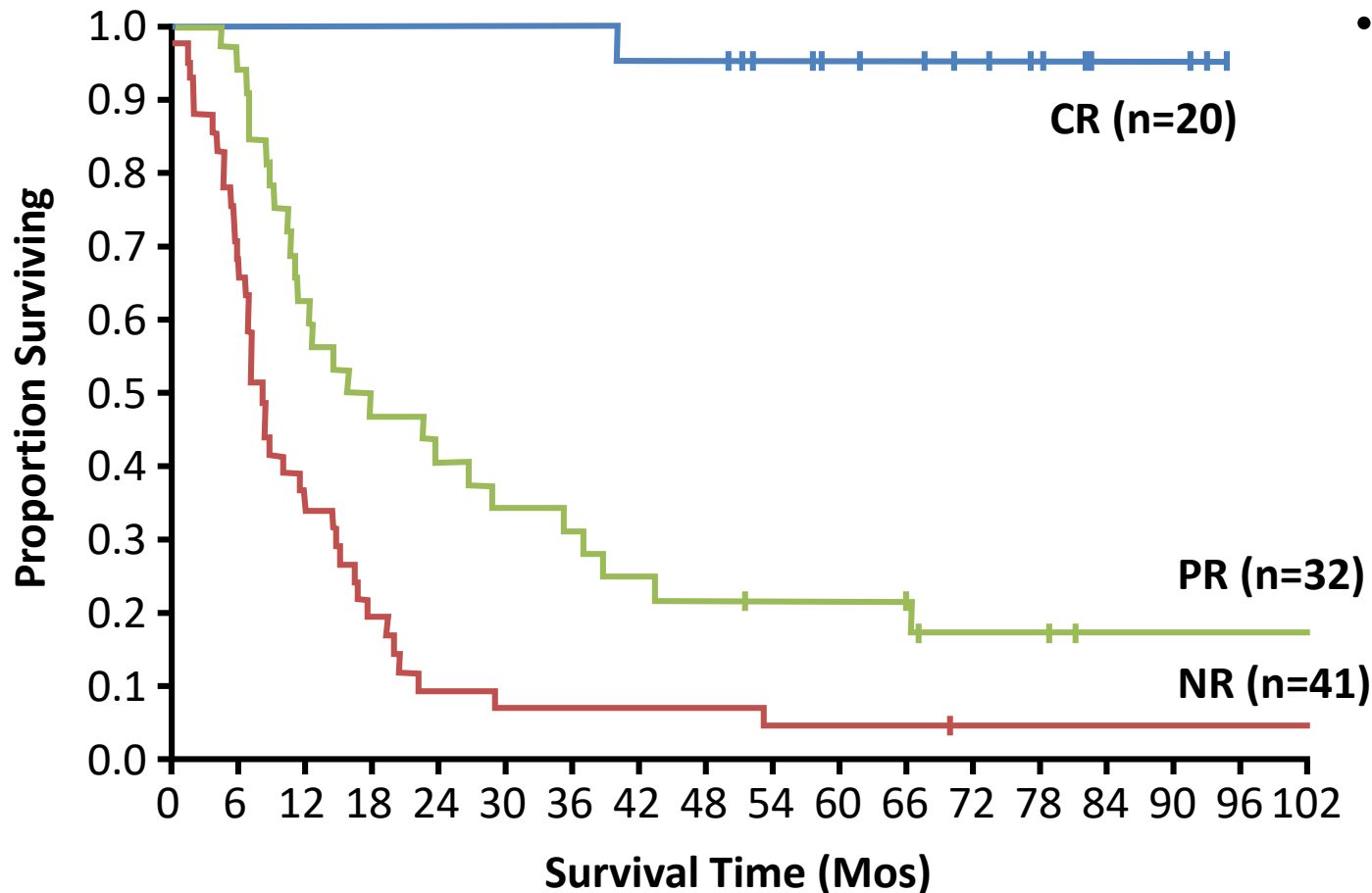


# Immunoterapia czynna

## Antygenowo niezależna

- Wzmacnianie funkcji komórek immunologicznych.
- Cytokiny (IL-2)

# Tumor-Infiltrating Lymphocytes + IL-2 in Metastatic Melanoma: OS



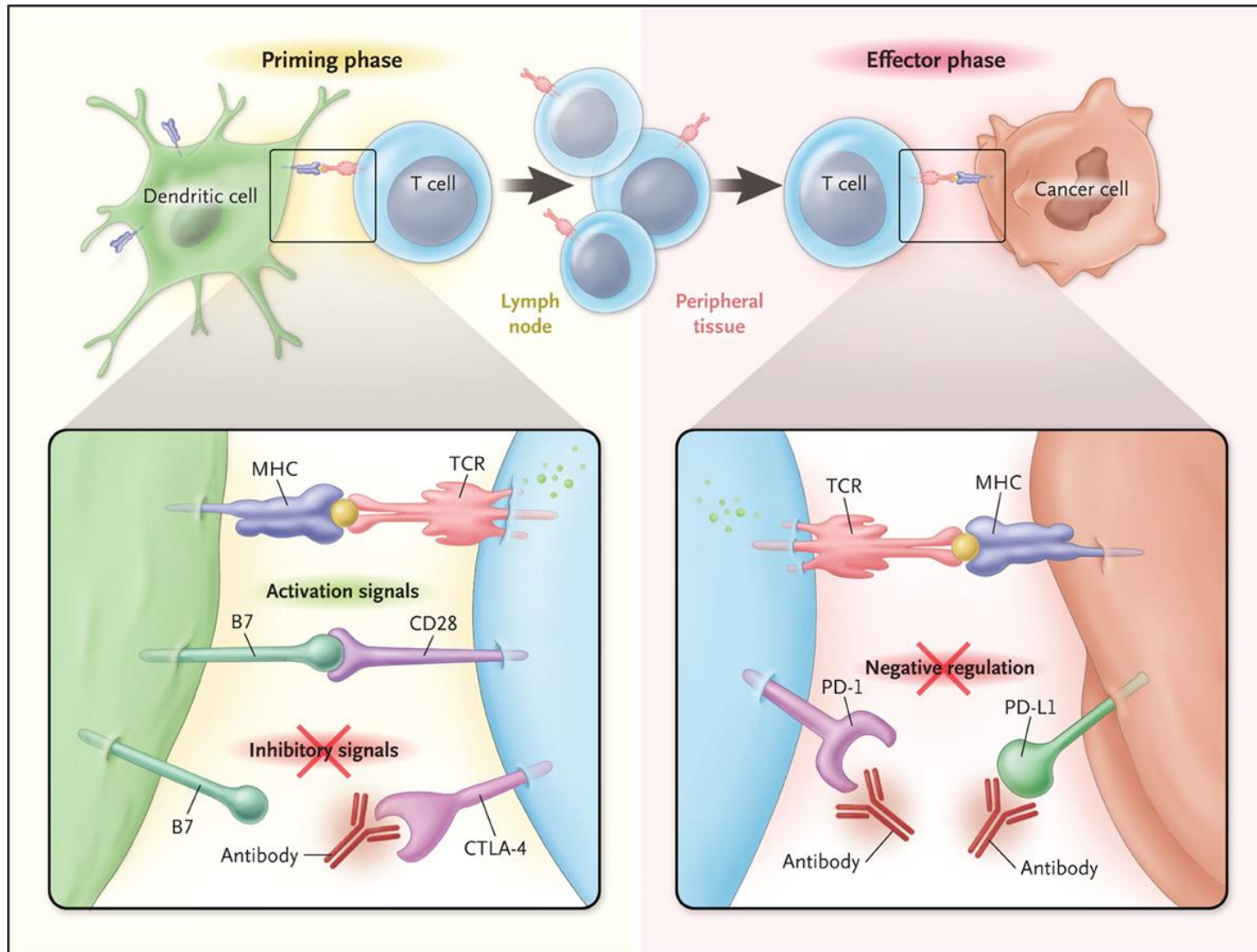
- Strong data suggest that mutation-reactive T cells contribute to these responses

# Immunoterapia czynna

## Antygenowo niezależna

- Modułacja funkcji limfocytów T i innych komórek immunologicznych
- Hamowanie czynników hamujących układ immunologiczny:
  - PD-1
  - PD-L1
  - LAG-3
  - CTLA-4
  - B7-H3

# Blokada punktów kontrolnych w



Ipilimumab

Ipilimumab; pembrolizumab

# Immunoterapia bierna

- Działanie na sam nowotwór
- Przeciwnowotworowe mAb
- Adoptywna



# Immunoterapia bierna

## Przeciwnowotworowe mAb

- Przeciwciała anty HER2
- Przeciwciała przeciwko innym białkom

# Immunoterapia bierna

## Adoptywna

- Adoptywny transfer komórek (TIL, LAK) CAR (z NY-ESO-1, MAGE-A4, PRAME

# Bierna immunoterapia

## A) Passive immunity by transfer of tumor-specific T cells or antibodies

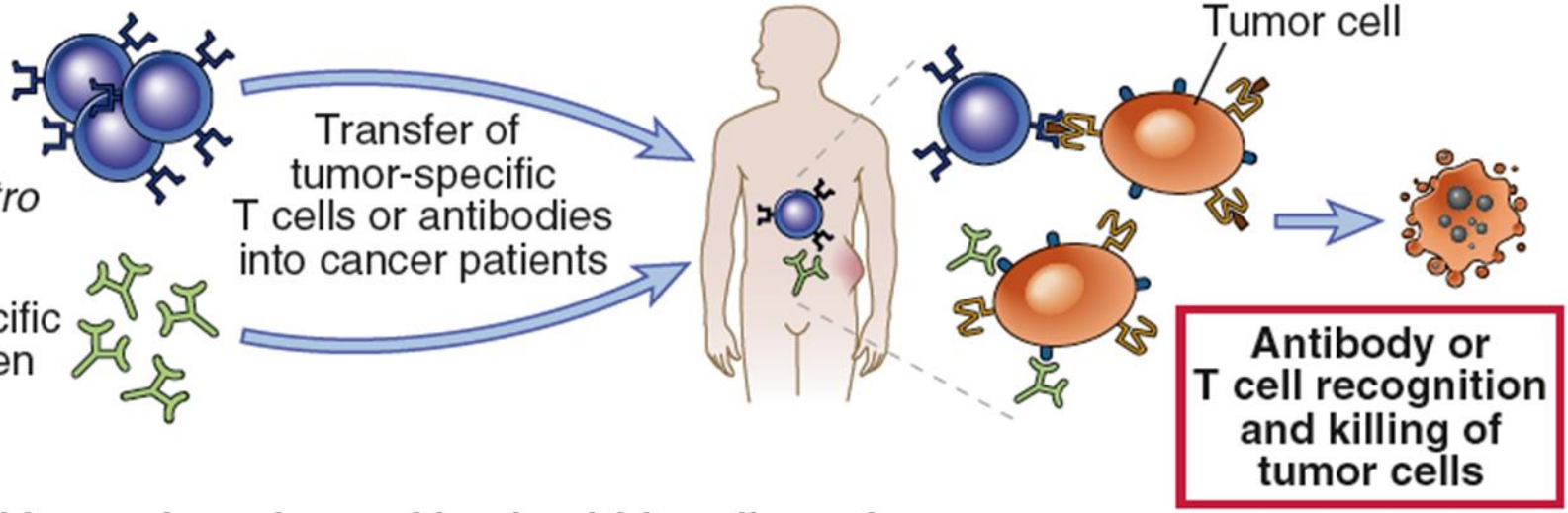
Tumor-antigen specific T cells removed from patient and expanded *in vitro*

Monoclonal antibodies specific for tumor antigen

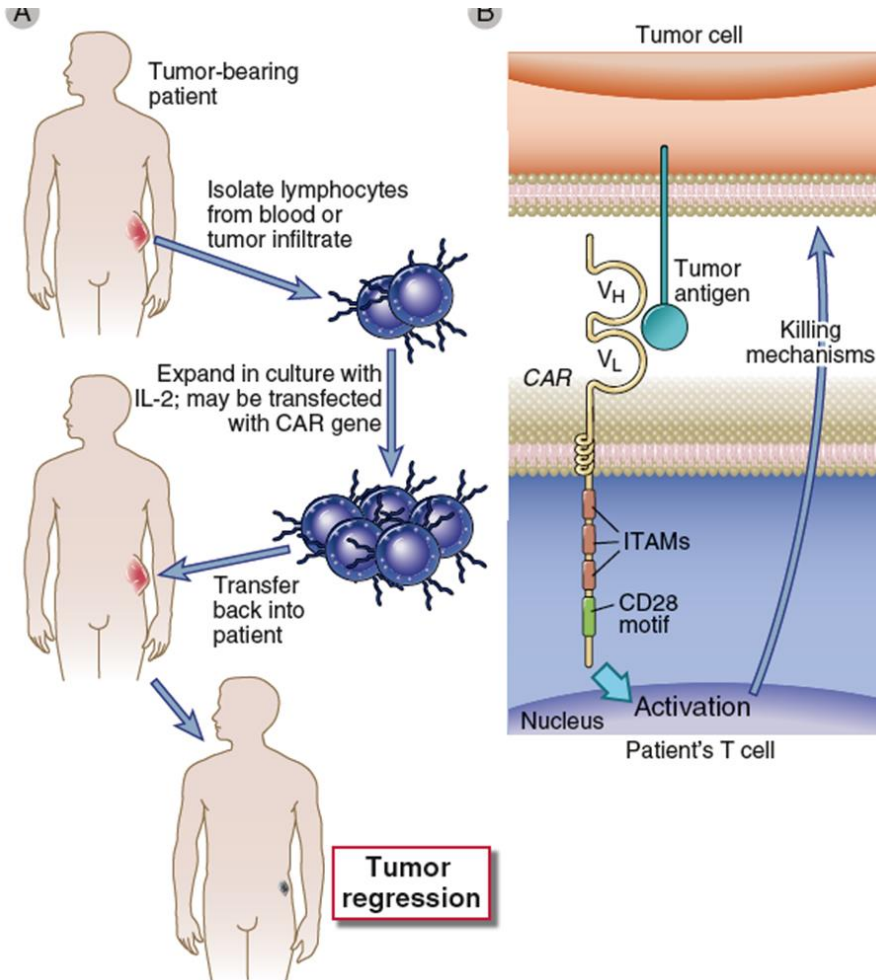
Transfer of tumor-specific T cells or antibodies into cancer patients

Tumor cell

Antibody or T cell recognition and killing of tumor cells

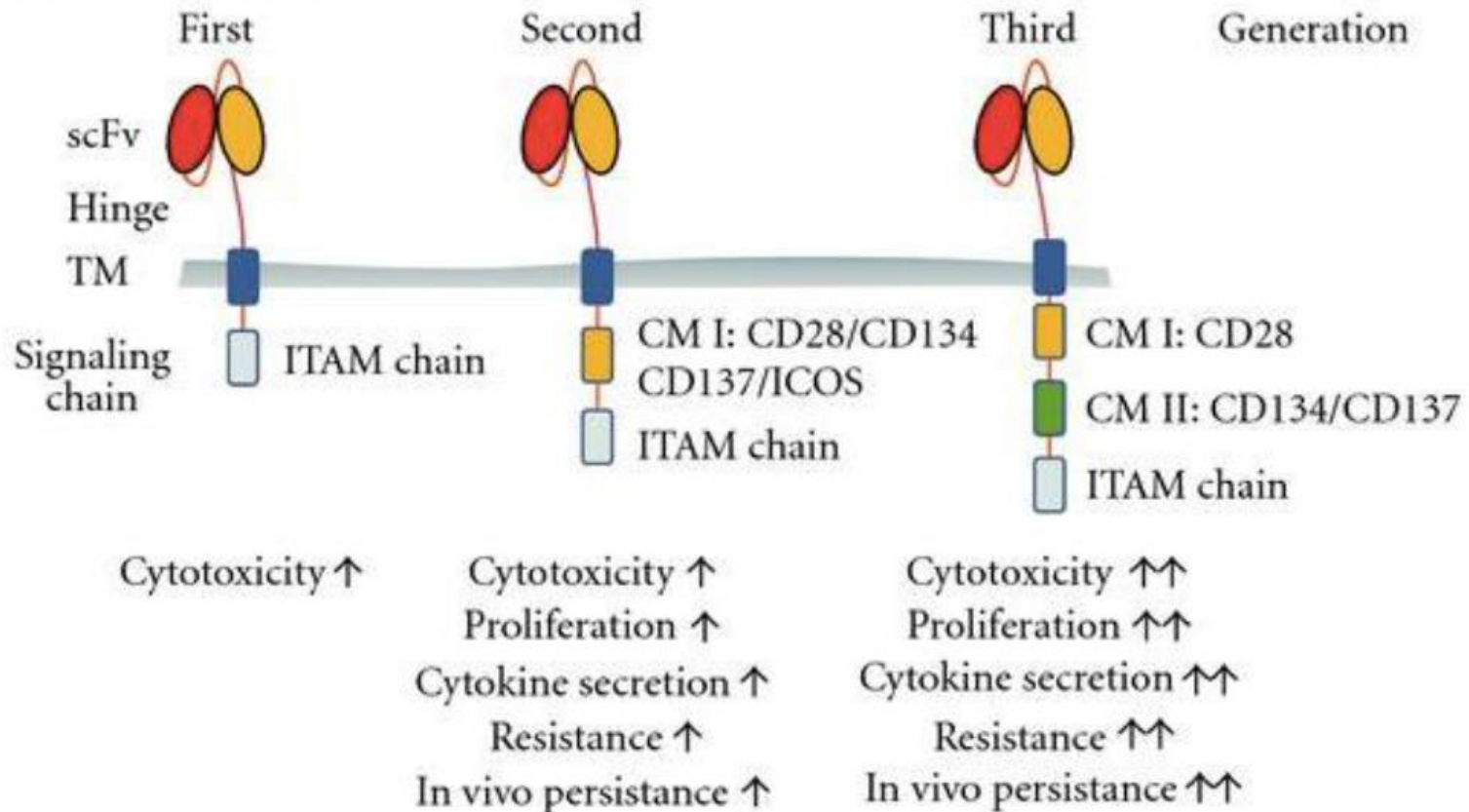


# Limfocyty CAR



U chorych na ostrą białaczkę limfoblastyczną z komórek B (anty CD19) do 90% całkowitych remisji

# CAR's



# Komórki CAR problemy i wyzwania

- Burza cytokinowa- odpowiedź komórek T na antygen
- Konieczne leczenie przeciw-zapalne ( przeciw –IL-6R)
- Ryzyko przewlekłych uszkodzeń narządowych ( OUN)
- Nieznane oddziaływanie na nowotwory lite
- Problemy z dostaczeniem CAR do wnętrza guza
- Utrata antygenów przez nowotwór- wystąpienie oporności?
- Techniczne i prawne problemy z wytwarzaniem genetycznie modyfikowanych limfocytów T dla każdego pacjenta
- Możliwość wytworzeni „uniwersalnych” CAR-T limfocytów?

4. wędrowka aktywowanych limfocytów T (CTLs) do tkanki nowotworowej

3. stymulacja i aktywacja limfocytów T

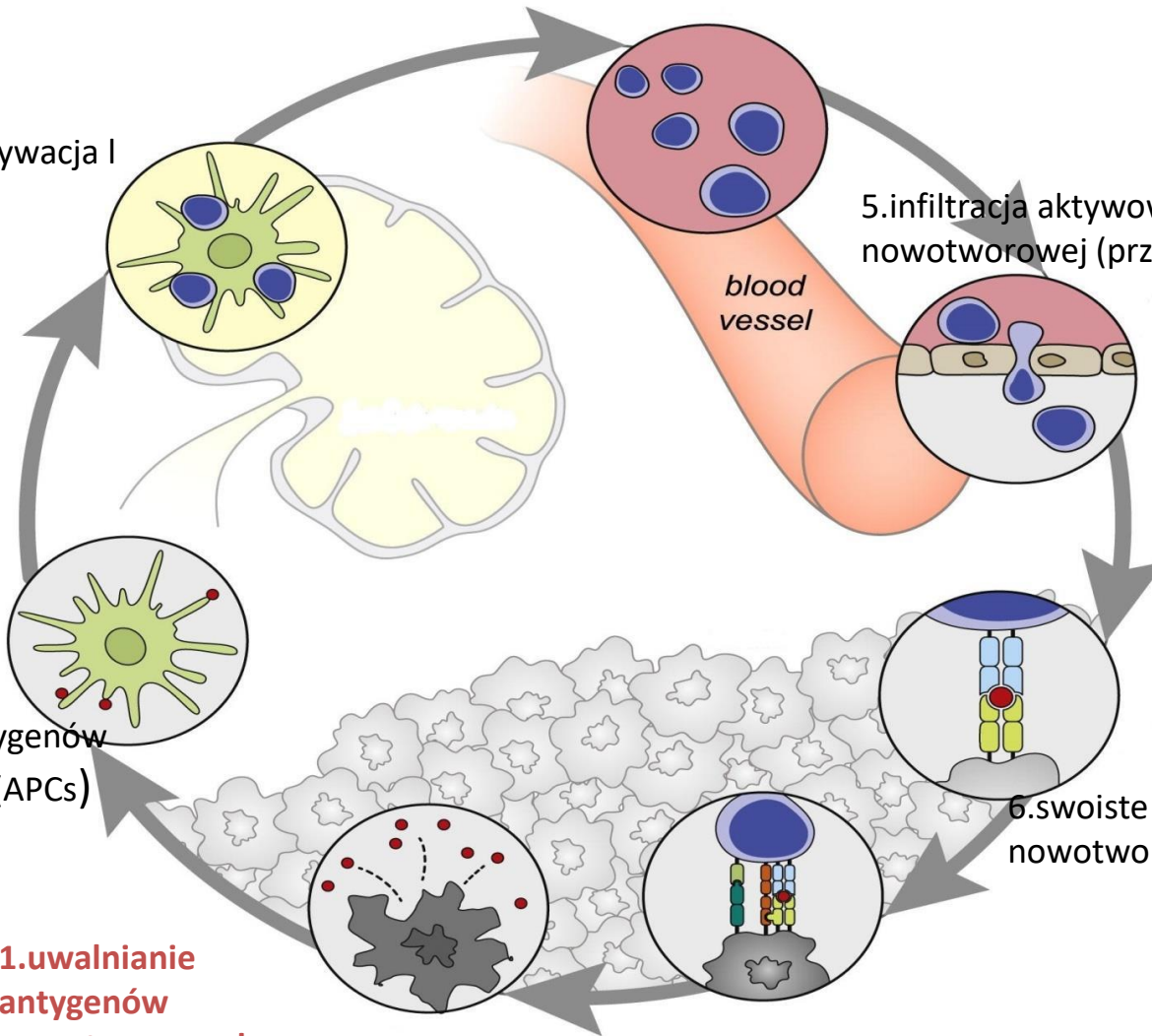
2. prezentacja antygenów nowotworowych (APCs)

1. uwalnianie antygenów nowotworowych

5. infiltracja aktywowanych CTLs do tkanki nowotworowej (przekraczanie endotelium)

6. swoiste rozpoznanie antygenów nowotworowych przez CTLs

7. zabicie komórki nowotworowej



# 1. Uwalnianie antygenów nowotworowych

- Klasyczna chemioterapia
- Uwolnienie dużej ilości antygenów z komórek nowotworowych
- Immunoterapia
- Jaka?
- Kiedy?



4. wędrówka aktywowanych limfocytów T (CTLs) do tkanki nowotworowej

3. stymulacja i aktywacja limfocytów T

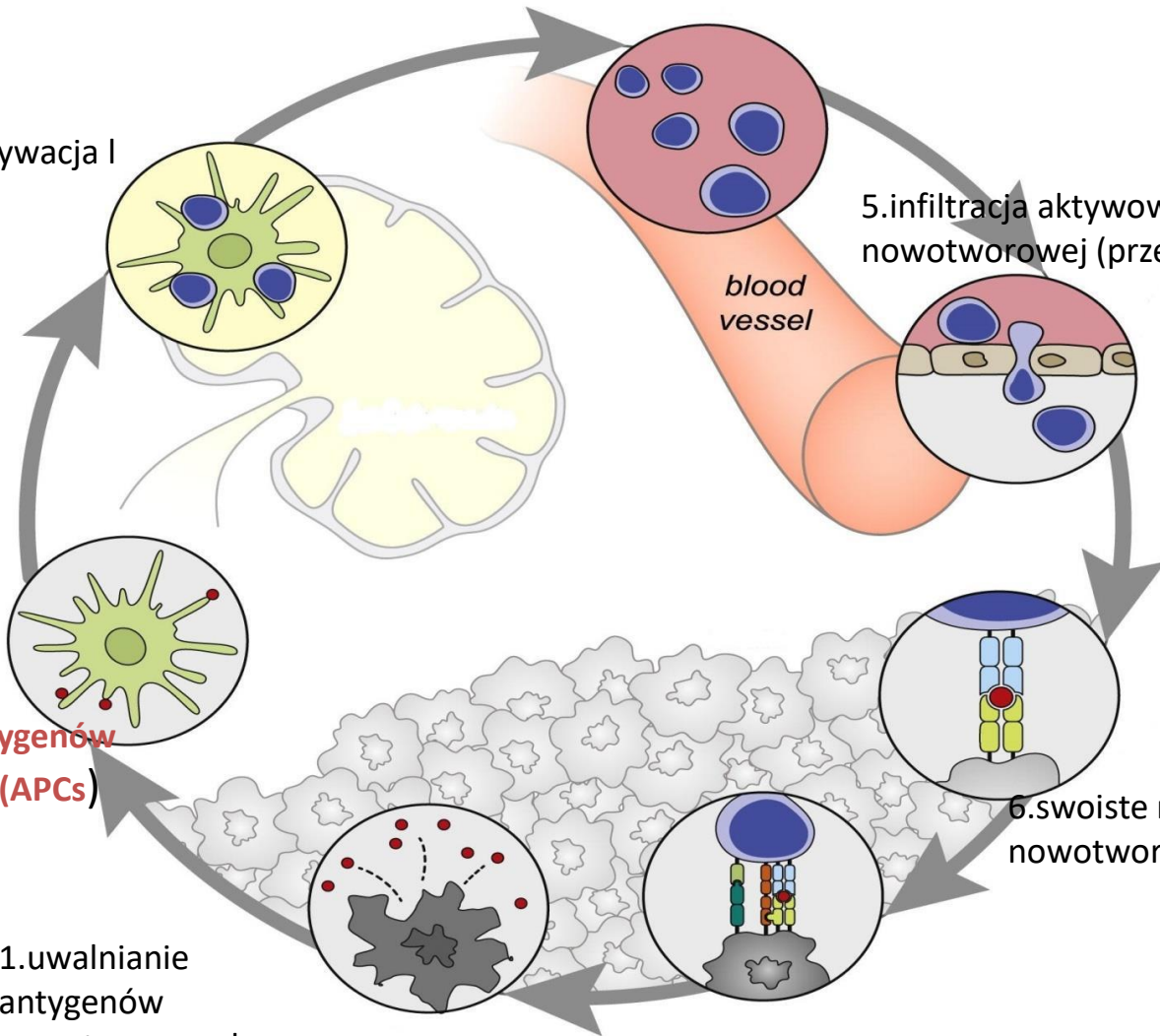
2. prezentacja antygenów nowotworowych (APCs)

1. uwalnianie antygenów nowotworowych

5. infiltracja aktywowanych CTLs do tkanki nowotworowej (przekraczanie endotelium)

6. swoiste rozpoznanie antygenów nowotworowych przez CTLs

7. zabicie komórki nowotworowej



## 2.prezentacja antygenów nowotworowych (APCs)

- Klasyczna chemioterapia
- Cytokiny – wywołanie reakcji zapalnej
- Szczepionki
- Wirusy onkolityczne

4. wędrówka aktywowanych limfocytów T (CTLs) do tkanki nowotworowej

3. stymulacja i aktywacja limfocytów T

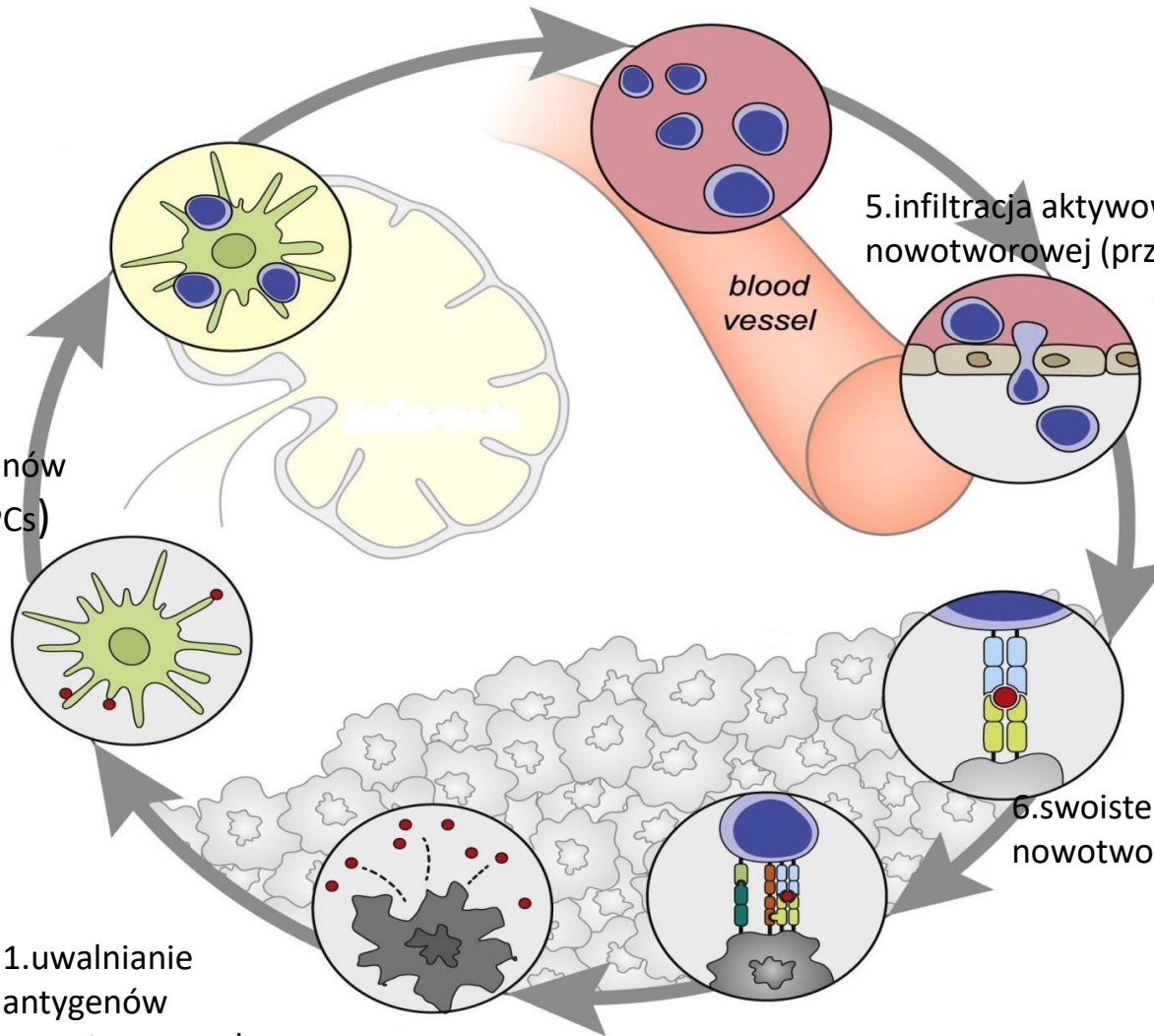
2. prezentacja antygenów nowotworowych (APCs)

1. uwalnianie antygenów nowotworowych

5. infiltracja aktywowanych CTLs do tkanki nowotworowej (przekraczanie endotelium)

6. swoiste rozpoznanie antygenów nowotworowych przez CTLs

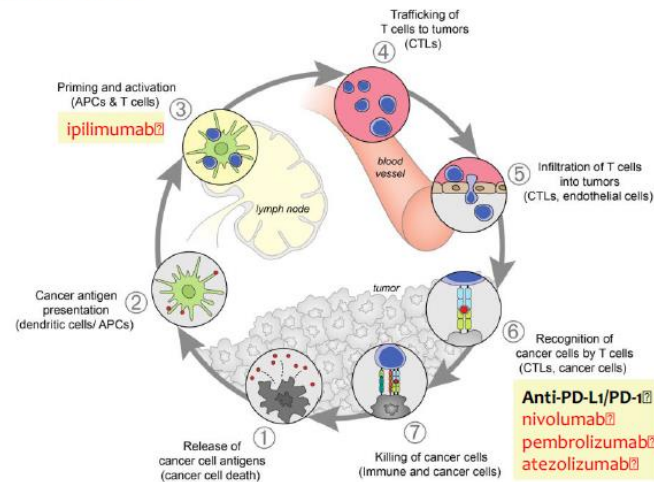
7. zabicie komórki nowotworowej



# 3. stymulacja i aktywacja i limfocytów T

## Agonists to costimulators

$\alpha$ OX40  
 $\alpha$ CD27  
 $\alpha$ CD137  
 $\alpha$ CD40  
 $\alpha$ GITR



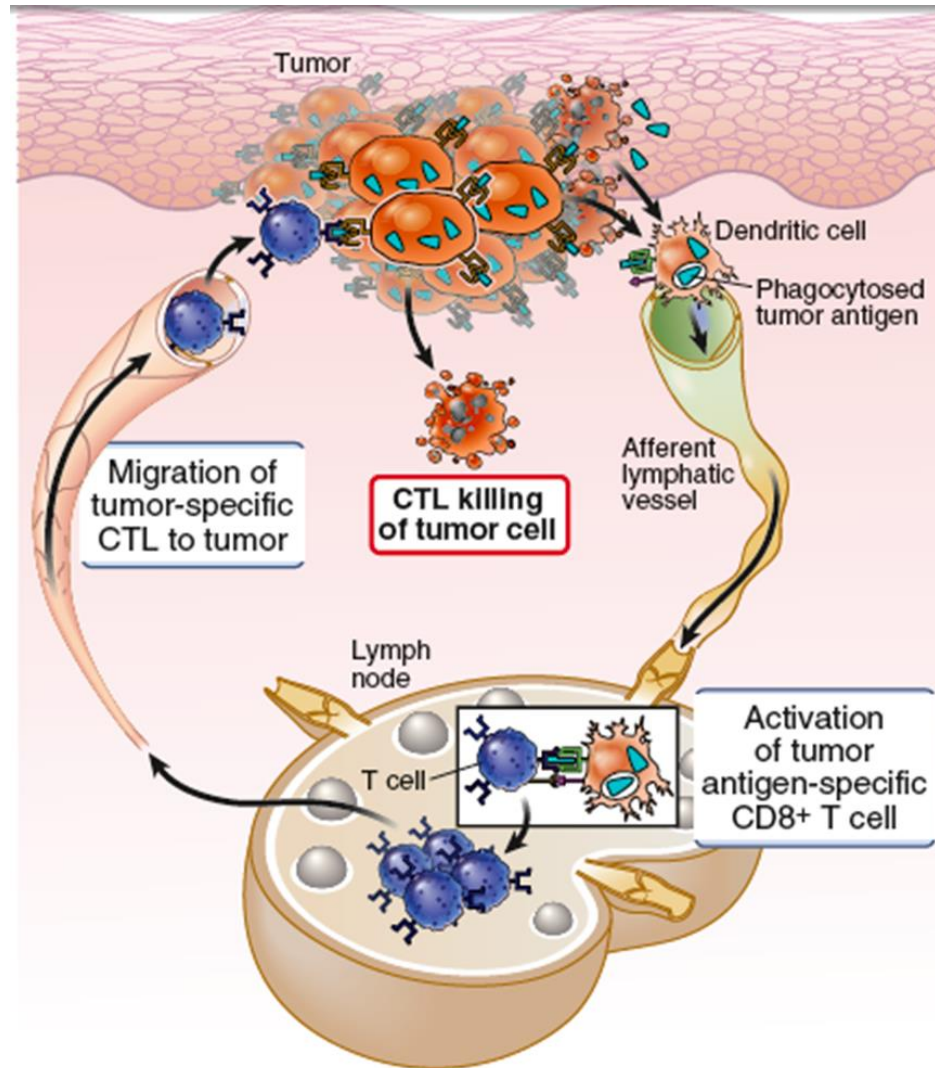
## Antagonists of negative regulators, Treg depletors

$\alpha$ Lag-1 (MHCII blocker)  
 $\alpha$ KIR (NK cell activator)  
 $\alpha$ Tim-3 (PS? Galectin? CEACAM?)  
 $\alpha$ TIGIT (PVR blocker, CD226 activator)  
 NKG2a,  
 IDO<sub>i</sub>

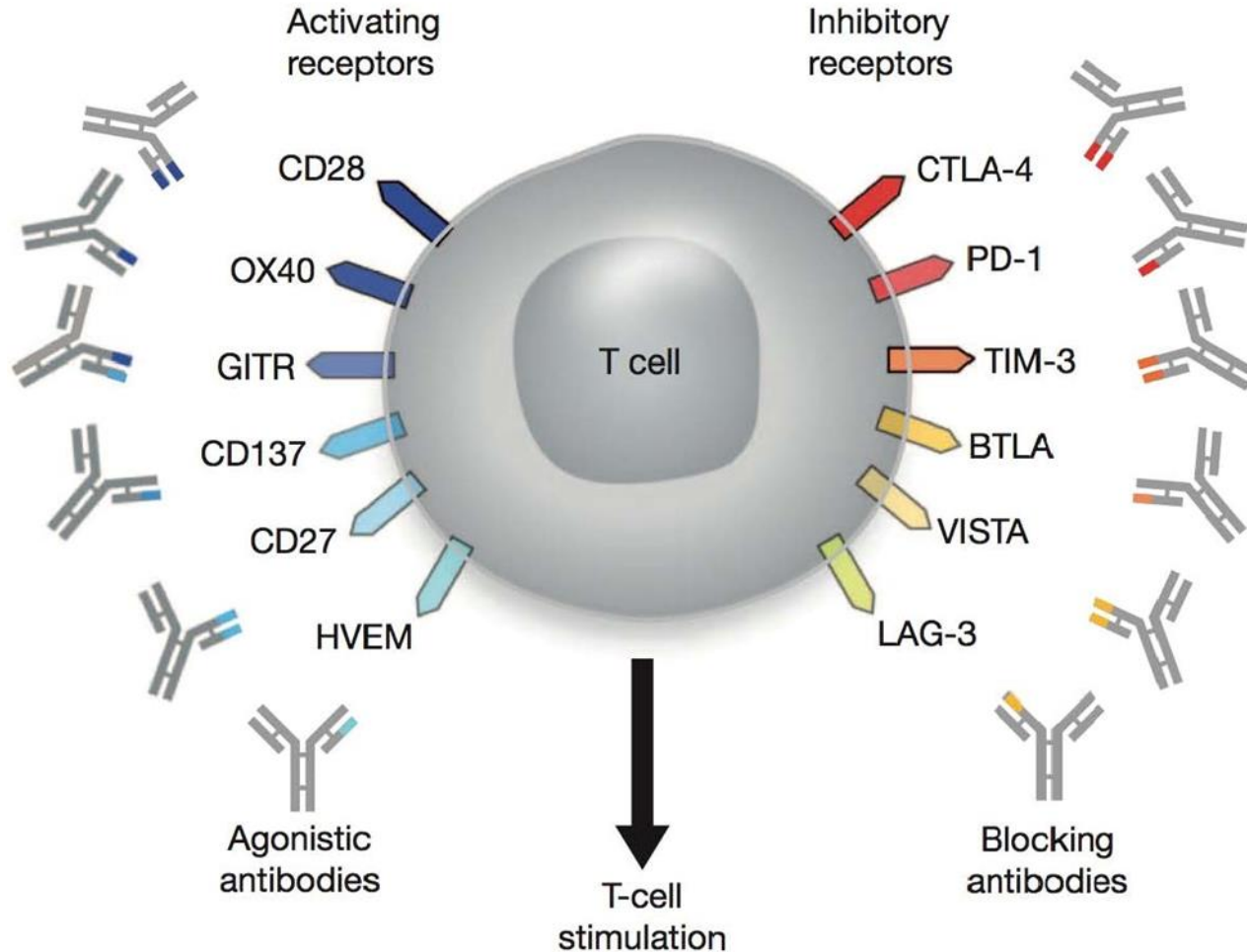
## Wzmocnienie prezentacji antygeny - wykorzystanie komórek dendrytycznych (DCs)

- Unikalna populacja komórek układu białokrwinkowego należąca do grupy komórek
- prezentujących antygen (ang. APC – antigen presenting cells).
- Wśród APC posiadają największą zdolność do prezentacji antygenów (w kontekście
- cząsteczek MHC klasy I i II) oraz pobudzenia dziewiczych limfocytów T
- pomocniczych i cytotoksycznych.

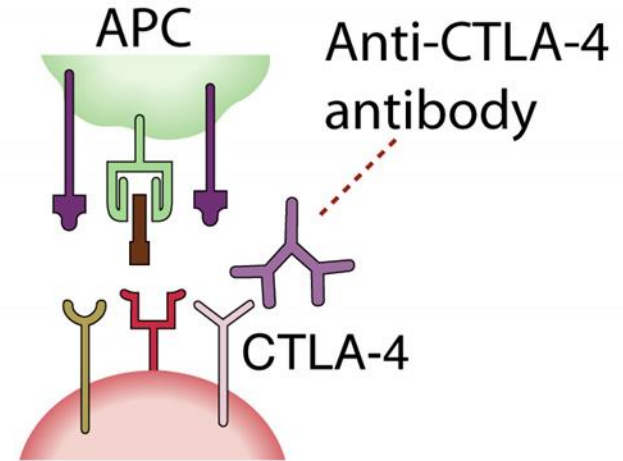
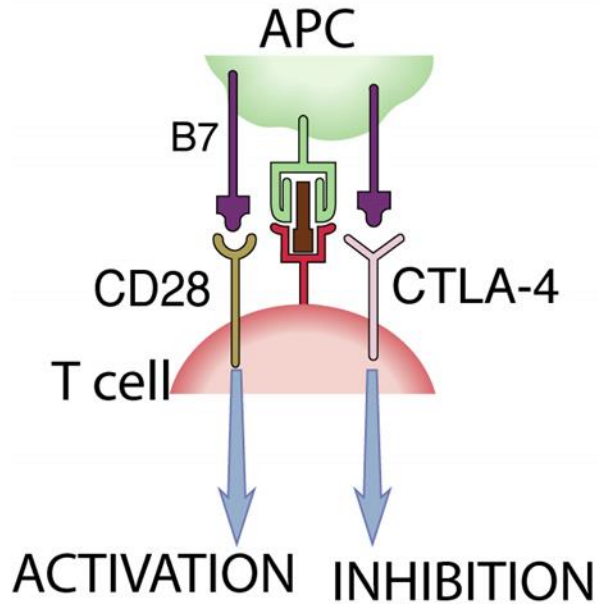
# Mechanizm przeciwnowotworowego działania limfocytów T



# Przegląd receptorów Aktywujących i hamujących limfocyty T



# Blokada punktów kontrolnych: usunięcie czynników blokujących układ immunologiczny



Anti-CTLA-4 antibody blocks CTLA-4 and prevents inhibitory signals

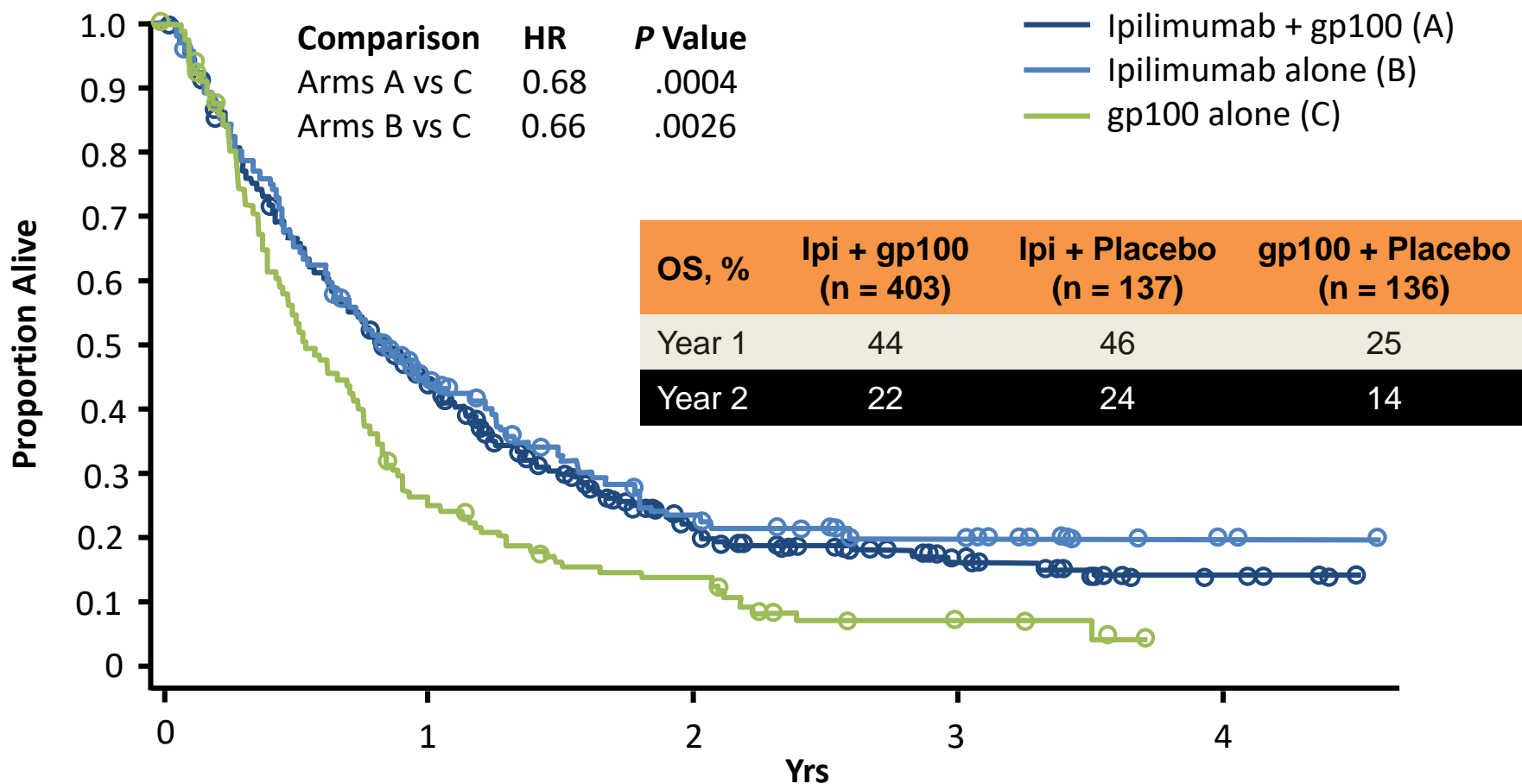
Przeciąła anty –CTLA-4 odblokowują anty nowotworowa odpowiedź układu immunologicznego

Dopuszczone do obrotu

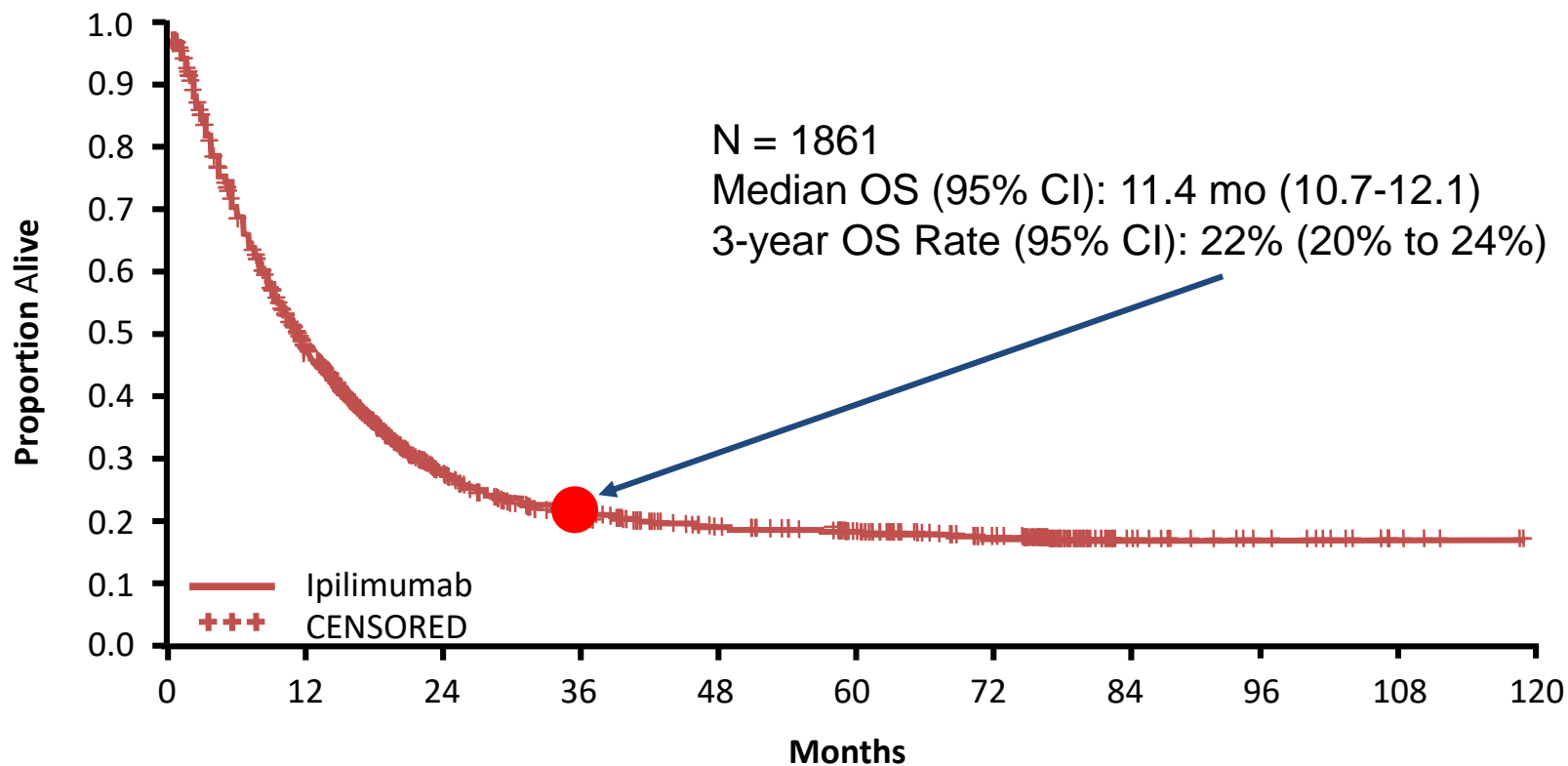
Wyniki porównywalne do wyników leczenia przeciwciałami anty PD-1



# Ipilimumab, gp100, or Both in Advanced Melanoma (MDX010-20): Survival



# Ipilimumab: zbiorcza analiza badań II/III fazy u chorych na zaawansowanego czerniaka

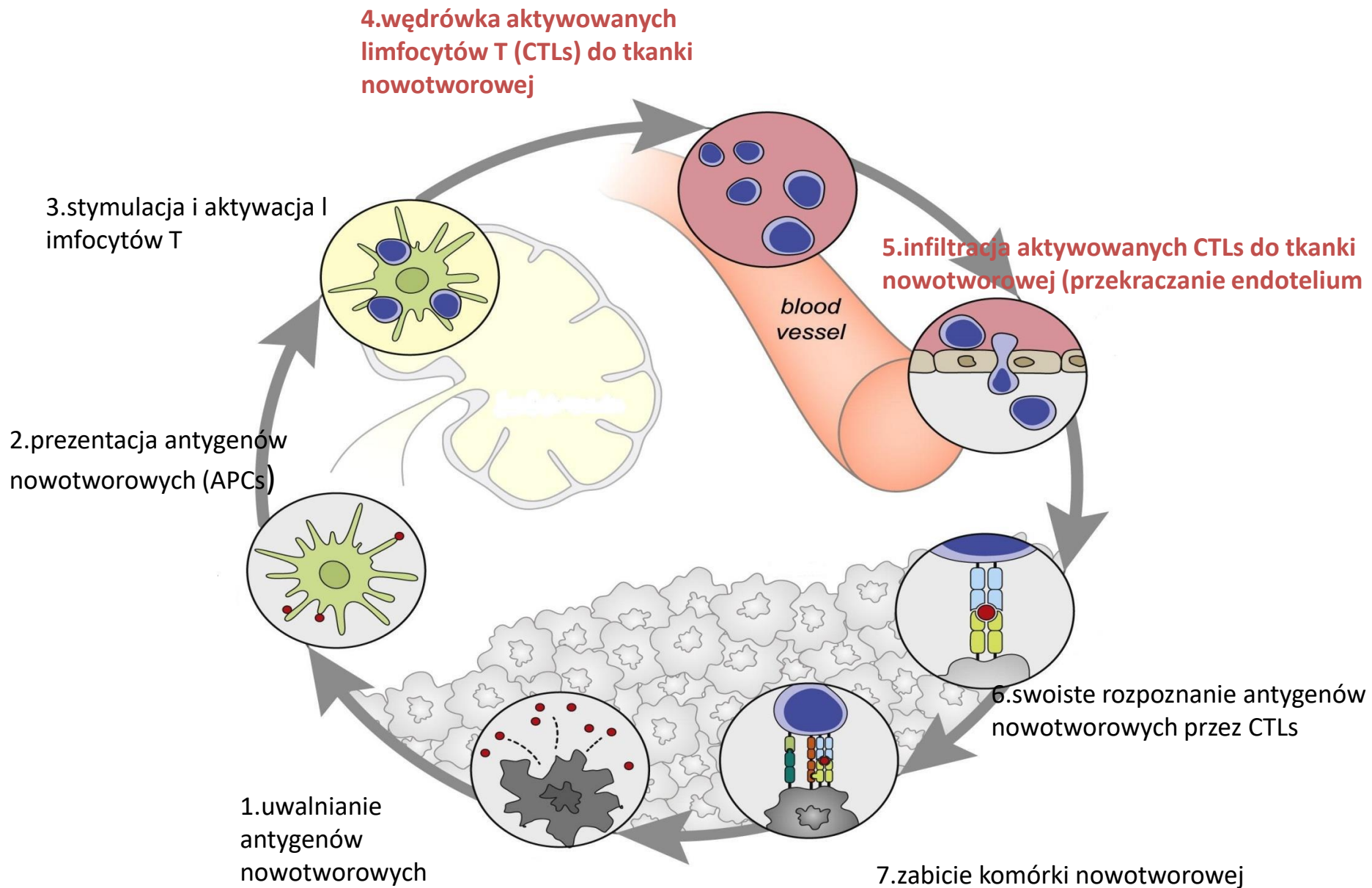


## Patients at Risk

Ipilimumab	1861	839	370	254	192	170	120	26	15	5	0
------------	------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	----	----	---	---

# Ipilimumab: działania niepożądane

System	Symptoms	Management
GI tract	Diarrhea Abdominal pain Dark, bloody stools	Moderate enterocolitis: hold ipilimumab, administer antidiarrheal. Persistent diarrhea (> 1 wk): systemic corticosteroids. 7+ stools/day: start methylprednisone, permanently discontinue ipilimumab. Consider infliximab for corticosteroid-refractory patients
Skin	Rash (± itching) Blistering/peeling Oral sores	Moderate/nonlocalized rash: hold ipilimumab, start topical or systemic corticosteroids. Severe dermatitis: permanently discontinue ipilimumab, start corticosteroids
Liver	Jaundice Nausea/vomiting	Assess ALT/AST, bilirubin, and thyroid function before each dose and as necessary. Hold ipilimumab if ALT/AST > 2.5 x but ≤ 5 x ULN; permanently discontinue if AST/ALT > 5 x ULN or bilirubin > 3 x ULN. The immunosuppressant mycophenolate can be used for hepatotoxicity in corticosteroid-refractory patients
CNS	Weakness in extremities Numbness/tingling Sensory changes	Moderate neuropathy: hold ipilimumab. New or worsening neuropathy: permanently discontinue ipilimumab. Consider corticosteroids
Endocrine	Headaches Fatigue Behavior/mood changes Menstruation changes Dizziness/light-headedness	Moderate endocrinopathy: hold ipilimumab, start corticosteroids. Endocrine abnormalities can be difficult to detect, due to nonspecific symptoms. Consider having an endocrinologist follow the patient
Eyes	Vision problems Irritation	Monitor for redness suggesting uveitis, treat with topical steroidal eye drops



## 5.infiltracja aktywowanych CTLs do tkanki nowotworowej (przekraczanie endotelium )

- Problemy unaczynienie a guza nowotworowego
- Chemokiny
- Wpływ na matrix wewnątrz guza nowotworowego.

4. wędrówka aktywowanych limfocytów T (CTLs) do tkanki nowotworowej

3. stymulacja i aktywacja limfocytów T

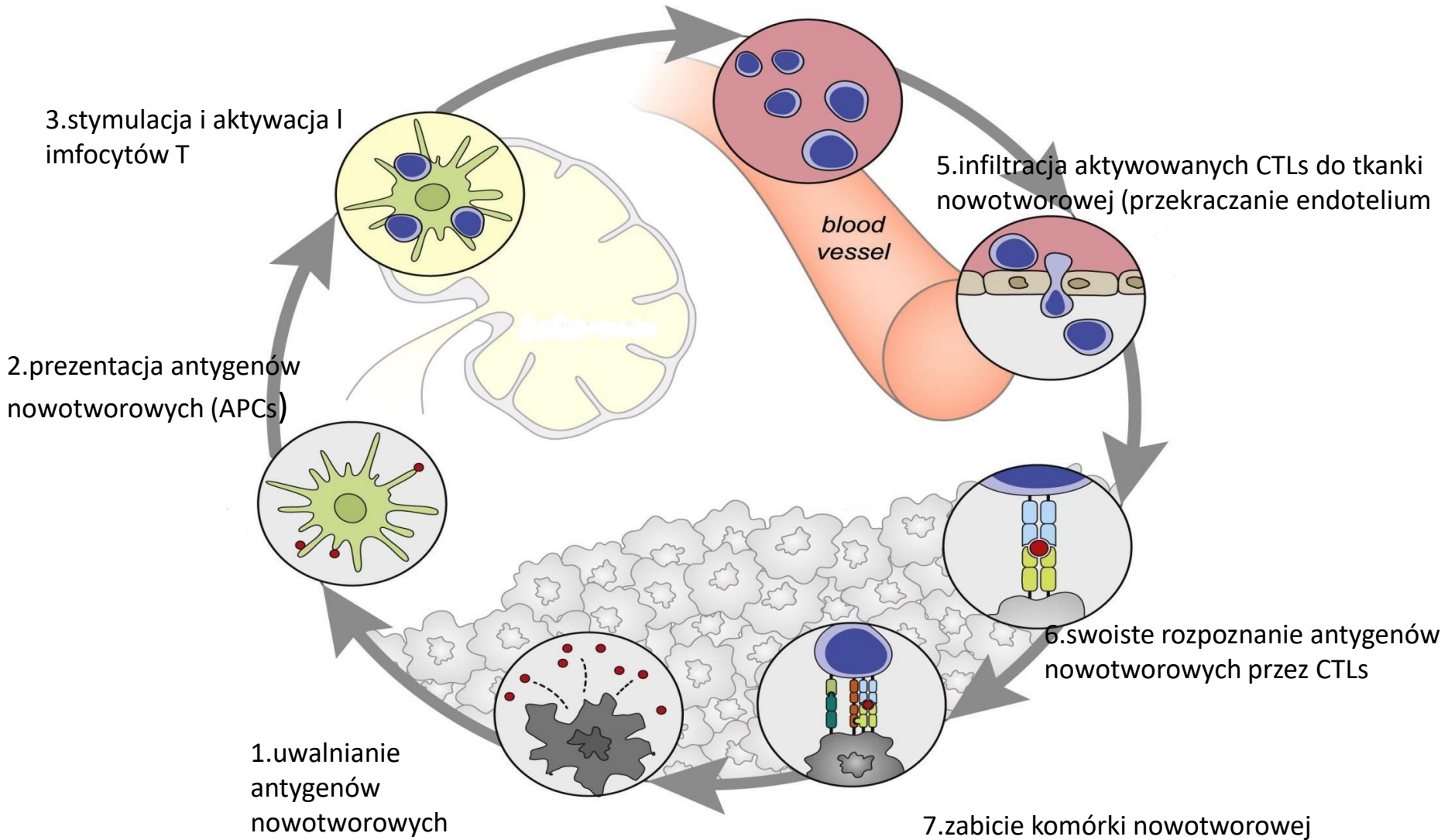
2. prezentacja antygenów nowotworowych (APCs)

1. uwalnianie antygenów nowotworowych

5. infiltracja aktywowanych CTLs do tkanki nowotworowej (przekraczanie endotelium)

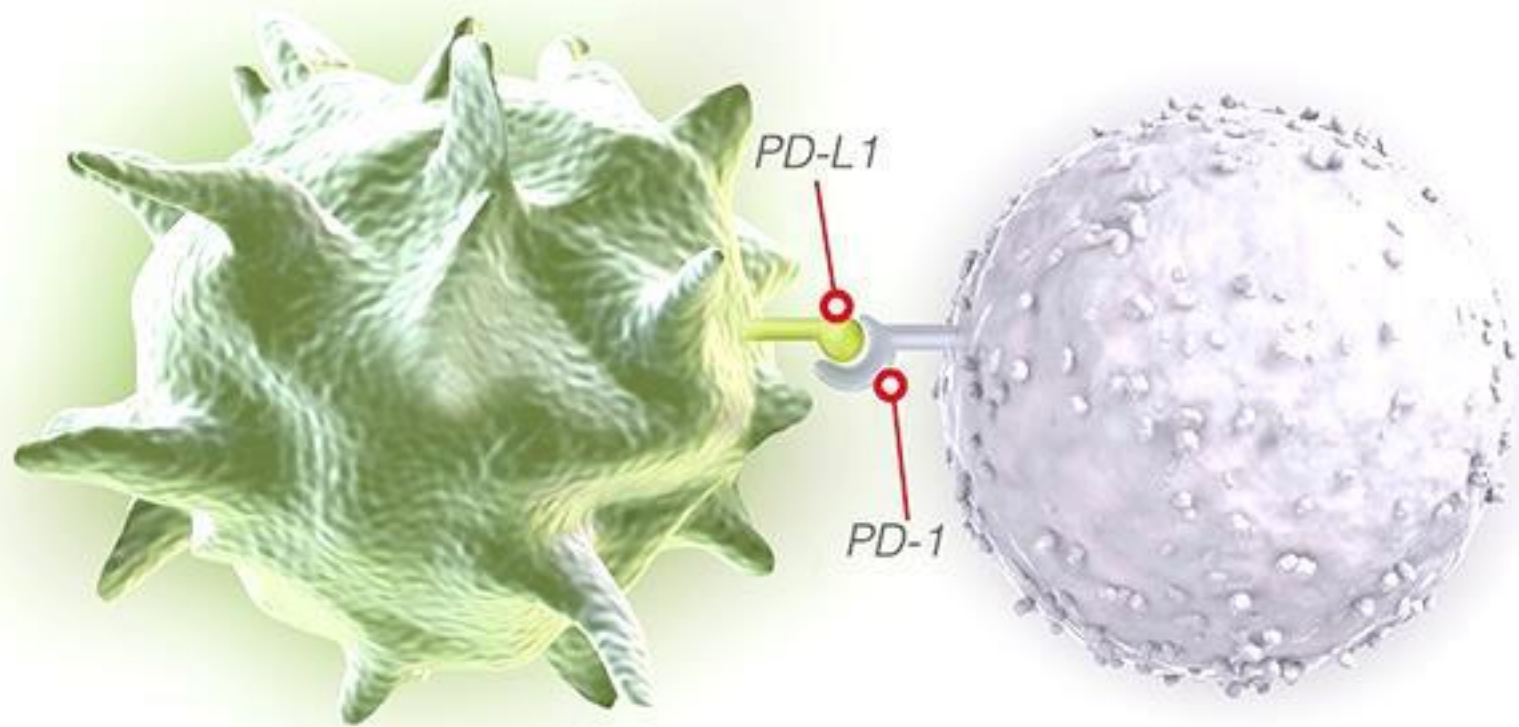
6. swoiste rozpoznanie antygenów nowotworowych przez CTLs

7. zabicie komórki nowotworowej



# Cząsteczki PD-1

- Występowanie: limfocyty T i nieaktywowane limfocyty B aktywowane makrofagi, monocyty i komórki dendrytyczne
- Funkcja: wygaszanie odpowiedzi immunologicznej





# Cząsteczki PD-1 i ich Receptory

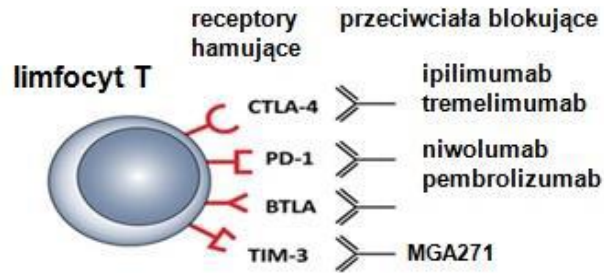
## cząsteczki PD-1/PD-L1/L2

- PD-L1 (CD274; B7-H1) Występowanie: komórki prezentujące antygen, makrofagi na komórkach w tzw. miejscach uprzywilejowanych immunologicznie (siatkówka, wyspy trzustki, łożysko) mRNA dla tej cząsteczki obecne jest w jądrach komórkowych większości tkanek ekspresja indukowana po stymulacji prozapalnymi cytokinami Komórki nowotworowe Funkcja: interakcja z cząsteczką PD-1, w celu wygaszenia odpowiedzi immunologicznej

# Co blokujemy stosując przeciwciała anty-PD-1 i anty-PD-L1?

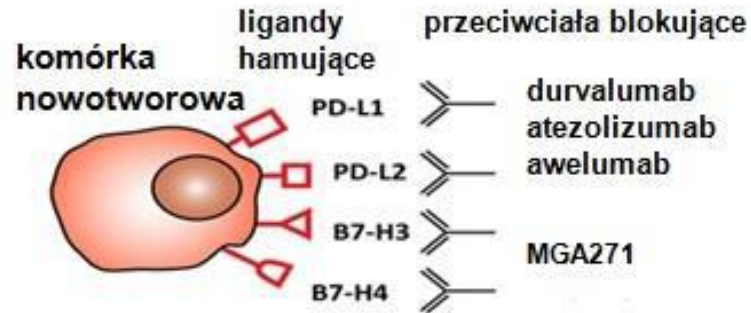
- PD-1: limfocyty T i B (na obwodzie i w tkance nowotworowej)
- re-aktywacja funkcji limfocytów T
- PD-L1: komórki dendrytyczne i makrofagi w tkankach obwodowych komórki nowotworowe
- re-aktywacja funkcji limfocytów T

# Przeciwciała monoklonalne anty-PD-1



Niwolumab (Opdivo)	Ludzkie IgG4	FDA (+)
Pembrolizumab (Keytruda)	Humanizowane IgG4	FDA (+)
Pidilizumab	Humanizowane IgG1	III faza
AMP-224	Rekombinowane z fragmentem Fc koniugowanym z cząsteczką PD-L2	I/II faza

# Przeciwciała monoklonalne anty-PD-L1

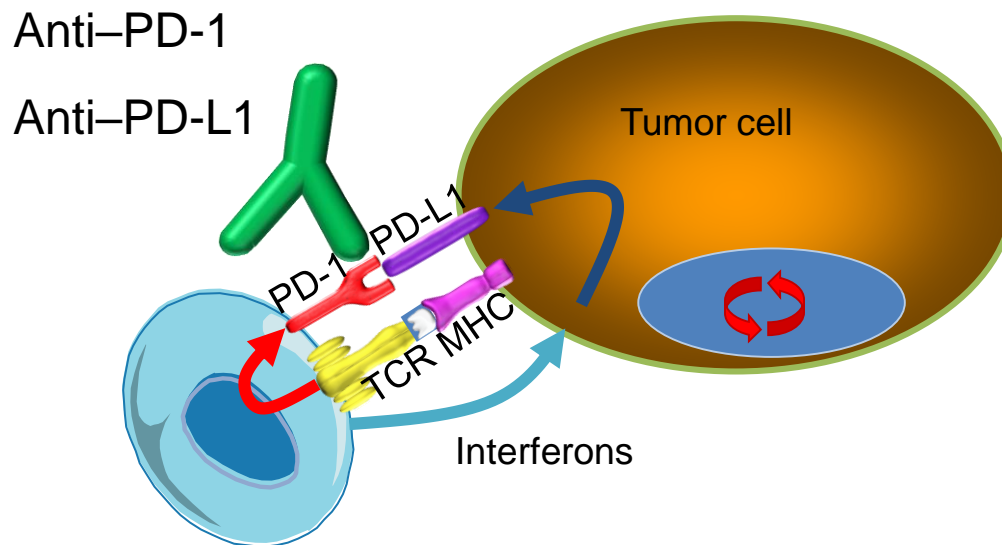


Durvalumab MEDI-4736	Ludzkie IgG1	III faza
Atezolizumab (TECENTRIQ)	Ludzkie humanizowane IgG1	III faza
Awelumab (MSB0010718C)	Ludzkie IgG1	I/III faza

## Koncepcja podwójnych blokad immunologicznych punktów kontrolnych

Przeciwciała	anty-CTLA-4	anty-PD-1	anty-PD-L1
Co blokują?	receptor CTLA-4 na powierzchni limfocytów T (w węźle chłonnym w oddziaływaniu komórki prezentującej antygen z limfocytom T, w tkankach obwodowych, ale również w guzie)	receptor PD-1 na limfocytach T i B (w węzłach chłonnych, w tkankach obwodowych oraz w mikrośrodowisku guza)	receptor PD-L1 na komórkach nowotworowych oraz na komórkach immunologicznych naciekających guz (komórki odpowiedzi nieswoistej oraz w niewielkim stopniu limfocyty T)
Skutek blokowania	<ul style="list-style-type: none"> <li>•zahamowanie aktywności limfocytów T regulatorowych</li> <li>•wzrost aktywności cytotoksycznej komórek NK</li> <li>•wzrost aktywności fagocytarnej komórek odpowiedzi nieswoistej</li> <li>•wzrost aktywacji i proliferacji limfocytów cytotoksycznych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•wzrost aktywacji limfocytów w mikrośrodowisku guza, ale i w tkankach obwodowych</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•zahamowanie aktywności supresyjnej komórek nowotworowych w stosunku do limfocytów T</li> <li>•wzrost aktywacji komórek odporności nieswoistej</li> </ul>

# PD-1 adaptacyjna oporność na immunoterapie



- PD-L1 can be expressed on tumor cells either endogenously or induced by association with T cells (adaptive immune resistance)<sup>[1,2]</sup>
  - PD-1:PD-L1 interaction results in T cell suppression (anergy, exhaustion, death)
- In RCC, melanoma, and other tumors, PD-L1 expression has been shown to be associated with adverse clinical/pathologic features, eg, more aggressive disease and shorter survival<sup>[3]</sup>

1. Topalian SL, et al. *Curr Opin Immunol*. 2012;24:207-212. 2. Taube JM, et al. *Sci Transl Med*. 2012;4:127ra37. 3. Thompson RH, et al. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101:17174-17179.

# Leki hamujące punkt kontrolny PD-1

Target	Antibody	Molecule	Development stage
PD-1	Nivolumab (BMS-936558)	Fully human IgG4	Phase III multiple tumors (melanoma, RCC, NSCLCa, HNSCC)
	Pembrolizumab (MK-3475)	Humanized IgG4	Phase I-II multiple tumors Phase III NSCLC/melanoma
	Pidilizumab (CT-011)	Humanized IgG1	Phase II multiple tumors
PD-L1	MEDI-4736	Engineered human IgG1	Phase I-II multiple tumors
	MPDL-3280A	Engineered human IgG1	Phase I-II multiple tumors Phase III NSCLC
	MSB0010718C	Fully human IgG1	Phase I solid tumors

# Nivolumab:skuteczność kliniczna

Tumor Type	Dose, mg/kg	ORR (CR/PR), n (%)	SD ≥ 24 Wks, n (%)	Median PFS, Mos	Median OS, Mos	1 yr, %	2 yr, %
MEL (n = 107)	0.1-10	32 (34)	7 (7)	3.7	17.3	68	48
NSCLC (n = 129)	1-10	22 (17)	13 (10)	2.3	9.9	42	24
RCC (n = 34)	1 or 10	10 (29)	9 (27)	7.3	> 22	70	50

- 28 responses (16 MEL, 6 RCC, and 6 NSCLC) lasted  $\geq 1$  yr among 54 patients with treatment initiation  $\geq 1$  yr before data analysis
- 13 patients (4 MEL, 6 NSCLC, 3 RCC) demonstrated nonconventional patterns of response but were not included as responders

Topalian SL, et al. N Engl J Med. 2012;366:2443-2454. Hodi FS, et al. ASCO 2014. Abstract 9002. Brahmer JR, et al. ASCO 2014. Abstract 8112.



# Podsumowanie toksyczności leków anty PD-1/PD-L1

## Occasional (5-20%)

- Fatigue
- Rash: maculopapular and pruritus
  - Topical treatments
- Diarrhea/colitis
  - Initiate steroids early, taper slowly
- Hepatitis/liver enzyme abnormalities

- Infusion reactions
- Endocrinopathies: thyroid, adrenal, hypophysitis

## Infrequent (<5%)

- **Pneumonitis**
- Grade 3/4 toxicities uncommon

# Leczenie immunologiczne.

## Ocena odpowiedzi

- Wystąpienie mierzalnej odpowiedzi na leczenie może nie być tak szybkie, jak w przypadku chemioterapii.
- Odpowiedź na leczenie może wystąpić po zdiagnozowaniu progresji choroby według kryteriów RECIST.
- Przerwanie terapii może nie być uzasadnione, mimo stwierdzenia progresji według kryteriów RECIST. Dozwolone jest rozpoznanie „klinicznie nieistotnej” progresji (np. wystąpienie nowych zmian równocześnie ze zmniejszeniem się zmian obserwowanych wcześniej).
- Utrzymująca się stabilizacja choroby świadczy o skuteczności terapii przeciwnowotworowej.
- Ocena wystąpienia nowych zmian mierzalnych jest niezbędna dla określenia kategorii odpowiedzi.

# Immunologia nowotworów

## Ogólne zasady

- Układ immunologiczny rozpoznaje raka i wykazuje działanie przeciwnowotworowe
- Przeciwnowotworowa czynność układu immunologicznego jest często zakłócana i hamowana. Unieszkodliwianie systemu immunologicznego chorego jest jedną z cech raka.
- Reakcje immunologiczne mogą prowadzić do wzrostu raka
- Odpowiedź na leczenie immunologiczne musi być oceniana wg innych kryteriów niż odpowiedź na inne leczenie systemowe

# Oporność

- Za mało uwalnianych antygenów – chemioterapia
- Stymulacja produkcji antygenów nowotworowych; szczepionki spersonalizowane
- Aktywacja komórek immunologicznych anty CTLA-4
- Mikrośrodowisko guza leki antyangiogenne + Anty PD-1/PDL-1
- Ułatwienie wnikania limfocytów T do guza; interleukiny

# Wnioski

- Immunoterapia pozwala na osiągnięcie istotnych długotrwałych odpowiedzi klinicznych u niektórych chorych na nowotwory
- Leczenie z zastosowaniem blokerów immunologicznych punktów kontrolnych różni się od leczenia konwencjonalnego
  - Konieczna inna ocena odpowiedzi na leczenie
  - Inne objawy niepożądane
- Rosnąca liczba danych klinicznych wskazuje na skuteczność inhibitorów PD-1/PD-L1 w leczeniu różnych nowotworów złośliwych
- Prowadzone obecnie badania kliniczne mają na celu ustalenie optymalnego zastosowania tych leków jako części terapii skojarzonej.