

ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ REVIEW

Ο ρόλος της ανοσοθεραπείας στην αντιμετώπιση του καρκίνου

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου έχει ως στόχο την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και των στοιχείων του για να αποκριθούν έναντι του όγκου. Χωρίζεται σε δύο τύπους πρωτοκόλλων: την παθητική και την ενεργό ανοσοθεραπεία. Χαρακτηριστικά παραδείγματα παθητικής ανοσοθεραπείας είναι η χορήγηση μονοκλωνικών αντισωμάτων και κυτταροκινών, καθώς και η μεταφορά στον ασθενή *ex vivo* ενεργοποιημένων κυττάρων του ανοσοποιητικού του συστήματος. Η ενεργός ανοσοθεραπεία αφορά κυρίως στα αντικαρκινικά εμβόλια (πεπτιδικά εμβόλια, εμβόλια με τη χρήση δενδριτικών κυττάρων και εμβόλια από αλλογενή καρκινικά κύτταρα), στους αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος και στους ογκολυτικούς ιούς. Στην παρούσα ανασκόπηση θα παρουσιαστούν τα πλέον δημοφιλή πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου και αποτελέσματα από τις αντίστοιχες κλινικές δοκιμές. Η μέχρι σήμερα κλινική εμπειρία και η αποτελεσματικότητα αυτών των πρωτοκόλλων υποδεικνύουν ότι ο συνδυασμός περισσότερων της μίας ανοσοθεραπευτικών προσεγγίσεων, σε συνδυασμό με τις κλασικές αντικαρκινικές θεραπείες, όπως η χημειοθεραπεία, η ακτινοθεραπεία και η στοχευμένη ή η επιγενετική θεραπεία, βελτιώνουν αισθητά τα κλινικά αποτελέσματα και την ποιότητα ζωής των ασθενών με καρκίνο, παρατείνοντας σημαντικά την επιβίωσή τους.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου αξιοποιεί τους μηχανισμούς του ανοσοποιητικού συστήματος για την αναγνώριση, τη στόχευση και την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων. Η ιδέα της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος στην αντιμετώπιση του καρκίνου βασίζεται, μεταξύ άλλων, στα σημαντικά χαρακτηριστικά των κυττάρων του, τα οποία (α) μπορούν να παρέχουν συνεχή και ευρεία επιτήρηση, καθώς κινούνται διαρκώς σε όλο το σώμα, (β) διεγείρονται εκλεκτικά από τους όγκους, που είναι αντιγονικοί και συχνά και ανοσογονικοί, και (γ) προστατεύουν από υποτροπές, γιατί διαθέτουν την ικανότητα επαγωγής ειδικής και μακροχρόνιας μνήμης. Ωστόσο, οι όγκοι διαφεύγουν από την ανοσοεπιτήρηση μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται ανοσοδιαμόρφωση του καρκίνου (cancer immunoediting) και περιλαμβάνει τρεις διαδοχικές φάσεις: Τη φάση εξάλειψης των καρκινικών κυττάρων από

τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος (elimination), τη φάση ισορροπίας (equilibrium) όπου το ανοσοποιητικό σύστημα ελέγχει και επιτρέπει τα καρκινικά κύτταρα διατηρώντας αυτά σε ανενεργό κατάσταση (tumor dormancy) και, τελικά, τη φάση της ανοσοδιαφυγής (escape), η οποία καταλήγει στην ανάπτυξη κακοήθων όγκων.¹

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου καθιερώθηκε ως αντικαρκινική θεραπευτική επιλογή κυρίως μετά το 2000. Όμως, τα αποτελέσματα των πρώτων κλινικών δοκιμών μάλλον απογοήτευσαν τους περισσότερους ογκολόγους και ανοσο-ογκολόγους. Εν τούτοις, πλέον πρόσφατα δεδομένα υποδεικνύουν σαφώς ότι υπάρχει κλινικά μετρήσιμη βελτίωση στην πορεία της νόσου των ασθενών με καρκίνο και, σε αρκετές περιπτώσεις, επαγωγή αποτελεσματικών και μακροχρόνιων αποκρίσεων.² Στη συνέχεια, θα γίνει αναφορά στα πλέον δημοφιλή αντικαρκινικά ανοσοθεραπευτικά πρωτόκολλα και θα προταθούν πιθανοί τρόποι

ΑΡΧΕΙΑ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ 2018, 35(3):337-350
ARCHIVES OF HELLENIC MEDICINE 2018, 35(3):337-350

Α. Αργυρίου,
Π. Ρουσάκης,
Ν. Παπαϊωάννου,
Ο. Μπενιάτα,
Π. Βίτσος,
Ι. Κωστόπουλος,
Ο. Τσιτσιλώνη,
Π. Σαμαρά

Τομέας Φυσιολογίας Ζώων και
Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Σχολή
Θετικών Επιστημών, Εθνικό και
Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών,
Αθήνα

The role of immunotherapy
in cancer treatment

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Ανοσοθεραπεία του καρκίνου
Αναστολείς σημείων ελέγχου
Δενδριτικά κύτταρα (DCs)
Μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs)
Πεπτιδικά εμβόλια

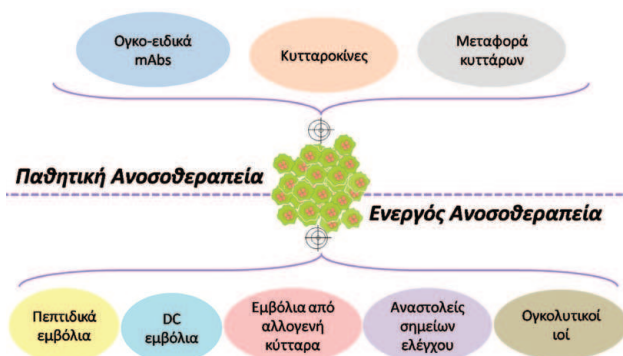
Υποβλήθηκε 28.4.2017

Εγκρίθηκε 20.6.2017

«εκμετάλλευσης» του συνδυαστικού/συνεργιστικού τους δυναμικού προς όφελος των ασθενών με καρκίνο.

2. ΟΙ ΚΥΡΙΕΣ ΣΤΡΑΤΗΓΙΚΕΣ ΑΝΟΣΟΘΕΡΑΠΕΙΑΣ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Η ανοσοθεραπεία του καρκίνου περιλαμβάνει δύο κύριους τύπους πρωτοκόλλων: την παθητική και την ενεργό ανοσοθεραπεία (εικ. 1). Η κατάταξη βασίζεται στον μηχανισμό δράσης του χρησιμοποιούμενου θεραπευτικού παράγοντα και στην κατάσταση του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς. Γενικά, παθητική ανοσοθεραπεία χρησιμοποιείται σε καρκινοπαθείς με αδύναμο, μη αποκρινόμενο ή χαμηλής απόκρισης ανοσοποιητικό σύστημα. Τα πρωτόκολλα παθητικής ανοσοθεραπείας περιλαμβάνουν *ex vivo* ενεργοποιημένα κύτταρα ή μόρια, τα οποία χορηγούνται εξωγενώς στον ασθενή, ώστε να αναπληρώσουν ανεπάρκειες του ανοσοποιητικού του συστήματος. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται η χορήγηση ογκοειδικών αντισωμάτων ή και ανασυνδυασμένων κυτταροκινών, και η παθητική μεταφορά προ-ενεργοποιημένων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, ικανών να λύουν τα κύτταρα των όγκων *in vivo*. Αντίθετα, οι στρατηγικές ενεργού ανοσοθεραπείας στοχεύουν στη διέγερση ανοσοδραστικών λειτουργιών *in vivo*. Προϋπόθεση για την ενεργό ανοσοθεραπεία είναι το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς να μπορεί να απαντά σε ερεθίσματα, να διεγείρεται και να ρυθμίζει τις δραστηριότητες του λειτουργίες. Τα σημαντικότερα πρωτόκολλα ενεργού ανοσοθεραπείας περιλαμβάνουν στρατηγικές εμβολιασμού με πεπτιδία που προέρχονται από καρκινικά αντιγόνα ή με αλλογενή κύτταρα, τη χρήση αυτόλογων δενδριτικών κυττάρων (DCs) ως φορέων των καρκινικών αντιγόνων, και τη χορήγηση αντισωμάτων τα οποία στοχεύουν καίρια σημεία



Εικόνα 1. Τα πρωτόκολλα ανοσοθεραπείας του καρκίνου διακρίνονται σε παθητικά και ενεργά. Η παθητική ανοσοθεραπεία περιλαμβάνει τη χρήση ογκοειδικών μονοκλωνικών αντισωμάτων (mAbs), κυτταροκινών και τη μεταφορά κυττάρων, ενώ η ενεργό ανοσοθεραπεία αφορά στα πεπτιδικά εμβόλια και στα εμβόλια με τη χρήση δενδριτικών κυττάρων (DCs), στα εμβόλια από αλλογενή κύτταρα, στους αναστολείς των σημείων ελέγχου και στους ογκολυτικούς ιούς.

ελέγχου της ενεργοποίησης των T-κυττάρων. Τέλος, παρά το γεγονός ότι αρχικά εθεωρείτο παθητική παρέμβαση, η χρησιμοποίηση ογκολυτικών ιών συγκαταλέγεται στα πρωτόκολλα ενεργού ανοσοθεραπείας, λόγω της επαγωγής συστημικών ανοσιακών αποκρίσεων.

2.1. Παθητική ανοσοθεραπεία του καρκίνου

2.1.1. Τα μονοκλωνικά αντισώματα στοχεύουν ογκο-ειδικά ή ογκο-σχετιζόμενα αντιγόνα και προκαλούν λύση των καρκινικών κυττάρων με ποικίλους μηχανισμούς. Τα μονοκλωνικά αντισώματα (mAbs) που χρησιμοποιούνται είναι χιμαιρικά, ανθρωποποιημένα, ή πλήρως ανθρώπινα και είναι της τάξης IgG λόγω του μεγαλύτερου χρόνου ημιζωής τους και της σταθερότητάς τους στον ορό. Η δραστηριότητα των γυμνών αντικαρκινικών mAbs βασίζεται στην επαγωγή προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου μετά τη σύνδεσή τους στα καρκινικά κύτταρα-στόχους είτε άμεσα, είτε μέσω της εξαρτώμενης από αντισώματα κυτταρικής κυτταροτοξικότητας (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC), της εξαρτώμενης από το συμπλήρωμα κυτταροτοξικότητας (complement-dependent cytotoxicity, CDC), ή της εξαρτώμενης από αντισώματα κυτταρικής φαγοκυττάρωσης (antibody-dependent cellular phagocytosis, ADCP).

Για παράδειγμα, η ριτουξιμάμπη (rituximab) προσδένεται στο μόριο CD20 στα κακοήθη B λεμφοκύτταρα, διευκολύνοντας την αναγνώρισή τους από δραστικά κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, την επαγωγή απόπτωσης από NK κύτταρα μέσω απελευθέρωσης περφορίνης/θρυμματίνης και αλληλεπιδράσεων των μορίων Fas/FasL (ADCC), ή και τη φαγοκυττάρωσή τους από μακροφάγα.³ Στη CDC, η ενεργοποίηση παραγόντων του συμπληρώματος (C) οδηγεί στον σχηματισμό συμπλεγμάτων μεμβρανικής επίθεσης (membrane attack complex, MAC), αλλά και σε στρατολόγηση των ανοσοκυττάρων.⁴ Για παράδειγμα, η αλεμτουζουμάμπη (alemtuzumab) ασκεί την αντικαρκινική της δραστηριότητα σε ασθενείς με χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ) αποκλειστικά μέσω της CDC.⁵ Η ADCP διευκολύνει τη διασταυρούμενη παρουσίαση καρκινικών αντιγονικών πεπτιδίων –που προέρχονται από φαγοκυτταρωμένα αποπτωτικά καρκινικά κύτταρα– μέσω των μορίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex, MHC) και την ανάπτυξη ογκοδραστικών CD8⁺ και CD4⁺ T-κυττάρων που, μεταξύ άλλων, ενεργοποιούν την παραγωγή αντικαρκινικών αντισωμάτων από τα B κύτταρα του ασθενούς.⁶

Στην Fc περιοχή των αντισωμάτων ή τμημάτων των αντισωμάτων μπορούν να συζευχθούν ραδιοϊσότοπα, κυτταροκίνες και τοξίνες (π.χ. η γεμτουζουμάμπη [gemtuzumab]

οζογαμισίνη).⁷ Στην κατευθυνόμενη από αντίσωμα ενζυμική προφάρμακευτική θεραπεία (antibody-directed enzyme prodrug therapy, ADEPT), ένα ένζυμο συζευγμένο στην Fc περιοχή ενός mAb μετατρέπει ένα μη τοξικό προφάρμακο, που χορηγείται συστηματικά, σε έναν ισχυρό κυτταροτοξικό παράγοντα (π.χ. η α-λακταμάση που μετατρέπει τη C-Mel σε μελφαλάνη).⁸ Οι προσεγγίσεις αυτές περιορίζουν τη δράση του κυτταροτοξικού παράγοντα στην περιοχή του όγκου, ελαχιστοποιώντας τις ανεπιθύμητες ενέργειες.

Πολλά mAbs που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου στοχεύουν συγκεκριμένο αντιγόνο στην επιφάνεια του καρκινικού κυττάρου, παρεμποδίζοντας συγκεκριμένα καταρροϊκά σηματοδοτικά μονοπάτια και περιορίζοντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (πίν. 1). Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι η σετουξιμάμπη (cetuximab) και η πανιτουμουμάμπη (panitumumab) που στοχεύουν τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor, EGFR). Χρησιμοποιούνται ως θεραπείες δεύτερης και τρίτης γραμμής στον μεταστατικό καρκίνο του παχέος εντέρου (colorectal cancer, CRC). Η τραστουζουμάμπη (trastuzumab) και η περτουζουμάμπη (pertuzumab) στοχεύουν στις αποκομμένες μορφές της HER2.⁹ Άλλα mAbs στοχεύουν το ανοσοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον του όγκου, όπως η μπεβασιζουμάμπη

(bevasizumab) που αποτρέπει την πρόσδεση του αυξητικού παράγοντα του αγγειακού ενδοθηλίου (vascular endothelial growth factor, VEGF) στους υποδοχείς του και παρεμποδίζει την αγγειογένεση. Η χρήση της έχει εγκριθεί για τον CRC σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία.¹⁰ Η δακλιζουμάμπη (daclizumab) εξουδετερώνει επιτυχώς τα CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ ρυθμιστικά Τ-λεμφοκύτταρα (regulatory T cells, Tregs) και έχει εγκριθεί για τη θεραπεία ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού.¹¹ Μια νέα τάξη mAbs, οι τεχνητά παραγόμενοι δι-ειδικοί δεσμευτές των Τ-κυττάρων (bi-specific T cell engagers, BiTEs), επάγουν την Τ-μεσολαβούμενη εξάλειψη του όγκου χωρίς να απαιτείται αλληλεπίδραση μεταξύ ΜHC μορίων και του υποδοχέα των Τ-κυττάρων (T cell receptor, TCR). Η μπλινατουμομάμπη (blinatumomab) είναι προς το παρόν το μόνο εγκεκριμένο BiTE από τον Οργανισμό Ελέγχου Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής (ΗΠΑ) (Food and Drug Administration, FDA) για τη θεραπεία της ανθεκτικής ή της υποτροπιάζουσας οξείας Β λεμφοκυτταρικής λευχαιμίας, αρνητικής για το χρωμόσωμα Philadelphia.¹²

2.1.2. Η χορήγηση κυτταροκινών επιδεικνύει δραστηριότητα, κυρίως σε συνδυαστικές αντικαρκινικές θεραπείες. Αν και αποτέλεσε μια από τις πρώτες θεραπευτικές παρεμβάσεις στον καρκίνο, η χρήση των κυτταροκινών ως

Πίνακας 1. Ενδεικτικά μονοκλωνικά αντισώματα και συζεύγματα μονοκλωνικών αντισωμάτων, που έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία του καρκίνου στον άνθρωπο (Απρίλιος 2017).

Αντίσωμα	Εμπορική ονομασία (εταιρεία)	Στόχος	Τύπος αντισώματος	Τύπος καρκίνου
Alemtuzumab	Campath (Genzyme)	CD52	Ανθρωποποιημένο	ΧΛΛ
Bevacizumab	Avastin (Roche)	VEGFA	Ανθρωποποιημένο	CRC, NSCLC, RCC, γλοιοβλάστωμα
Cetuximab	Erbix (Bristol-Myers Squibb/Lilly)	EGFR	Χιμαιρικό	CRC, μαστού, πνεύμονα
Daratumumab	Darzalex (Janssen)	CD38	Ανθρώπινο	ΠΜ
Denosumab	Xgeva/Prolia (Amgen)	Προσδέτης του RANK	Ανθρώπινο	Οστικές μεταστάσεις συμπαγών όγκων
Gemtuzumab ozogamicin	Mylotarg (Pfizer/Wyeth)	CD33	Ανθρωποποιημένο	ΟΜΛ
Nimotuzumab	Theraloc/Thera CIM (YM Biosciences)	EGFR	Ανθρωποποιημένο	Κεφαλής και τραχήλου
Obinutuzumab	Gazyva (Genentech/Roche)	CD20	Ανθρωποποιημένο	ΧΛΛ, θυλακικό λέμφωμα
Ofatumumab	Azerra (GlaxoSmithKline)	CD20	Ανθρώπινο	ΧΛΛ
Olaratumab	Lartruvo (Lilly)	PDGFRα	Ανθρώπινο	Σάρκωμα μαλακών μορίων
Panitumumab	Vectibix (Amgen)	EGFR	Ανθρώπινο	CRC
Pertuzumab	Perjeta (Roche)	HER2	Ανθρωποποιημένο	Μαστού
Rituximab	Rituxan/MabThera (Biogen, Roche)	CD20	Χιμαιρικό	Λέμφωμα μη Hodgkin
Tositumomab, ¹³¹ I-tositumomab	Bexxar (GlaxoSmithKline)	CD20	Από ποντικό	Λέμφωμα
Trastuzumab	Herceptin (Roche)	HER2	Ανθρωποποιημένο	Μαστού

ΧΛΛ: Χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία, CRC: Καρκίνος παχέος εντέρου, NSCLC: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, RCC: Καρκίνος του νεφρού, ΠΜ: Πολλαπλό μυέλωμα, ΟΜΛ: Οξεία μυελογενής λευχαιμία

μονοθεραπεία δεν είναι πλέον δημοφιλής. Οι περισσότεροι χρησιμοποιούμενες κυτταροκίνες είναι η ιντερφερόνη-α (IFN-α), η ιντερλευκίνη (IL)-2 και η IL-12. Η υψηλή δόση IL-2 και IFN-α εγκρίθηκαν από τον FDA για χρήση στο μεταστατικό μελάνωμα (το 1992 και 2011, αντίστοιχα) και στον καρκίνο του νεφρού (renal cell cancer, RCC, το 1998 και 2009, αντίστοιχα), καθώς και οι δύο δρουν πλειοτροπικά και ασκούν ανοσορρυθμιστική δράση στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος.^{13,14} Επί πλέον, η IFN-α προκάλεσε αισθητή καταστολή του υποπληθυσμού των Tregs στο μικροπεριβάλλον του όγκου.

Η IL-2 χρησιμοποιείται κυρίως σε συνδυασμό με κλασικές θεραπείες, αλλά και με άλλες κυτταροκίνες, πεπτιδικά εμβόλια και mAbs. Για παράδειγμα, η συνδυαστική χορήγηση IL-2 και IFN-α σε ασθενείς με μεταστατικό RCC έδειξε σημαντικό όφελος στην επιβίωση.¹⁵ Σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα, η χορήγηση πεπτιδικού εμβολίου από την gp100 μαζί με IL-2 οδήγησε σε υψηλότερα ποσοστά κλινικής ανταπόκρισης, αυξημένη επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου, αλλά και αυξημένη ολική επιβίωση συγκριτικά με τη μονοθεραπεία με υψηλή δόση IL-2.¹⁶

Μια ευρέως χρησιμοποιούμενη κυτταροκίνη είναι και η IL-12, η οποία φυσιολογικά εκκρίνεται από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (antigen-presenting cells, APCs). Αν και η πρώτη δοκιμή φάσης II απέτυχε λόγω αυξημένης τοξικότητας,¹⁷ η θεραπεία του δερματικού T λεμφώματος,¹⁸ του μη Hodgkin B-λεμφώματος¹⁹ και του σχετιζόμενου με το AIDS σαρκώματος Kaposi²⁰ με IL-12 έδειξαν ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

2.1.3. Οι στρατηγικές μεταφοράς κυττάρων (adoptive cell transfer, ACT) βελτιώνουν την πορεία των ασθενών με συμπαγείς όγκους και αιματολογικές κακοήθειες. Στα πρωτόκολλα μεταφοράς κυττάρων (ACT), χορηγούνται στους ασθενείς αυτόλογα κύτταρα που έχουν ενεργοποιηθεί και πολλαπλασιαστεί *ex vivo*, όπως λεμφοκύτταρα τα οποία διηθούν τον όγκο (tumor-infiltrating lymphocytes, TILs). Τα TILs απομονώνονται μετά από ενζυμική πέψη τμημάτων του όγκου και πολλαπλασιάζονται *in vitro* παρουσία υψηλής δόσης IL-2. Υποσχόμενα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με μεταστατικό μελάνωμα, όπου η ανοσοθεραπεία με TILs οδήγησε σε αποκρίσεις μακράς διάρκειας, ανεξάρτητα από τις προηγούμενες θεραπείες που είχαν λάβει οι ασθενείς.²¹

Τα T-λεμφοκύτταρα αποτελούν μια επί πλέον επιλογή στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου, καθώς μπορούν να τροποποιηθούν γενετικά ώστε να εκφράζουν TCRs με υψηλή συγγένεια για συγκεκριμένα καρκινικά αντιγόνα. Γονίδια του TCR κλωνοποιούνται σε ιικούς φορείς και χρησιμοποιούνται για τη γενετική τροποποίηση των αυτόλογων T-κυττάρων

ασθενών. Οι πρώτες κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με μελάνωμα ήταν ενθαρρυντικές.²²

Οι χιμαιρικοί αντιγονικοί υποδοχείς (chimeric antigen receptors, CARs) είναι μεμβρανικές πρωτεΐνες, οι οποίες συνδυάζουν τη μονή αλυσίδα της μεταβλητής περιοχής (single-chain Fv, scFv) ενός μορίου αντισώματος που αναγνωρίζει ένα καρκινικό αντιγόνο με τις ενδοκυτταρικές σηματοδοτικές περιοχές του TCR. Στα CAR-T κύτταρα πρώτης γενιάς, οι χιμαιρικοί υποδοχείς αποτελούνταν από μια scFv συζευγμένη με την αλυσίδα CD3ζ.²³ Στα CAR-T κύτταρα δεύτερης και τρίτης γενιάς οι υποδοχείς περιλαμβάνουν επί πλέον ενδοκυτταρικές συνδιεγερτικές περιοχές, όπως τα μόρια CD28 και CD137, οι οποίες ενισχύουν την παραγωγή κυτταροκινών και τον χρόνο παραμονής των CAR-T κυττάρων στον οργανισμό του ασθενούς, αντίστοιχα. Τα τέταρτης γενιάς CAR-T κύτταρα (TRUCKs) επιμολύνονται και με το γονίδιο της IL-12, την οποία εκκρίνουν μετά από διέγερσή τους με το καρκινικό αντιγόνο.²⁴ Η IL-12 ενεργοποιεί τα APCs στο μικροπεριβάλλον του όγκου και επάγει τοπική φλεγμονώδη αντίδραση, η οποία βοηθά στην καλύτερη στόχευση και καταστροφή του όγκου.²⁵ Για να παρακαμφθεί η γενετική τροποποίηση των T-κυττάρων προς αναγνώριση μόνο ενός συγκεκριμένου καρκινικού αντιγόνου, έχουν σχεδιαστεί και γενικευμένοι (universal) CARs με απεριόριστη ικανότητα προσαρμογής σε αντιγόνα.

Οι πρώτες κλινικές δοκιμές όπου χρησιμοποιήθηκαν CAR-T κύτταρα πρώτης γενιάς δεν έδειξαν κλινικά μετρήσιμες αποκρίσεις. Ωστόσο, οι κλινικές δοκιμές σε αιματολογικές κακοήθειες με CAR-T κύτταρα δεύτερης και τρίτης γενιάς έδωσαν εντυπωσιακές αποκρίσεις και πλήρη εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων.²⁶ Η χρήση των CAR-T-meso σε ασθενείς με όγκους οι οποίοι εκφράζουν μεσοθηλίνη και των CAR-T κυττάρων που εκκρίνουν IL-12 στον υποτροπιάζοντα καρκίνο των ωσθηκών αποτελούν τα πλέον υποσχόμενα πρωτόκολλα.²⁷ Η καταστροφή των λεμφοκυττάρων του ασθενούς (lymphodepletion) πριν από την έγχυση των CAR-T κυττάρων, η συγχορήγηση κυτταροκινών, ο συνδυασμός πολλαπλών ενδοκυτταρικών συνδιεγερτικών περιοχών συγχρόνως στο ίδιο CAR-T κύτταρο,²⁸ καθώς και η έκκριση χημειοκινών και των υποδοχέων τους,²⁹ ενίσχυσαν την παραμονή των CAR-T κυττάρων στον οργανισμό των ασθενών και την εντόπισή τους στο σημείο του όγκου,³⁰ και συσχετίστηκαν με παράταση της επιβίωσης.

Παρ' όλα αυτά, η θεραπεία με CAR-T κύτταρα συνοδεύεται από ανεπιθύμητες ενέργειες (π.χ. B-κυτταρική απλασία, σύνδρομο απελευθέρωσης κυτταροκινών, σύνδρομο ενεργοποίησης των μακροφάγων), επιβάλλοντας την ανάγκη ελέγχου της ενεργοποίησής τους. Για τον λόγο αυτόν, αναπτύχθηκαν προσεγγίσεις ρύθμισης της δραστη-

κότητας των CAR-T κυττάρων (π.χ. ενσωμάτωση γονιδίων «αυτοκτονίας»),³¹ η κλινική αποδοτικότητα των οποίων αναμένεται να αξιολογηθεί σύντομα.

2.2. Ενεργός ανοσοθεραπεία του καρκίνου

2.2.1. Τα πεπτιδικά εμβόλια διεγείρουν αποτελεσματικές αντικαρκινικές αποκρίσεις από τα T-κύτταρα. Η πλέον δημοφιλής κατηγορία περιλαμβάνει εμβόλια βασισμένα σε πεπτίδια/ανοσογονικούς επιτόπους ογκο-ειδικών ή ογκο-σχετιζόμενων αντιγόνων (tumor-specific antigens, TSAs ή tumor-associated antigens, TAAs, αντίστοιχα). Οι πρώτες κλινικές δοκιμές με χρήση πεπτιδικών εμβολίων ως μονοθεραπεία έδειξαν περιορισμένη αποτελεσματικότητα, λόγω του στενού φάσματος των επαγόμενων ανοσιακών αποκρίσεων *in vivo* και του MHC περιορισμού.³² Στις πρώτες κλινικές δοκιμές, οι ασθενείς με τα κατάλληλα MHC αλληλόμορφα εμβολιάστηκαν με μεμονωμένα ή πολλαπλά πεπτίδια, και στη συνέχεια με επιτόπους και κυτταροτοξικών (CTL) και βοηθητικών (Th) T-λεμφοκυττάρων, χωρίς όμως βελτίωση της αποτελεσματικότητάς τους. Τα αντικαρκινικά πεπτιδικά εμβόλια νέας γενιάς αποτελούνται από μίγμα πολλαπλών πεπτιδίων, από μεγάλα συνθετικά ή υβριδικά πεπτίδια, με επιτόπους CTL και Th κυττάρων. Χορηγούνται σε συνδυασμό με άλλες θεραπείες και χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία ποικίλων τύπων καρκίνου. Σήμερα, ο εξατομικευμένος πεπτιδικός εμβολιασμός (personalized peptide vaccine, PPV) είναι ιδιαίτερα δημοφιλής και βασίζεται στην ιδέα της ενίσχυσης της προϋπάρχουσας (pre-existing) ανοσίας του ξενιστή.

2.2.2. Τα DCs είναι ιδανικοί φορείς για την *in vivo* μεταφορά των αντικαρκινικών εμβολίων. Τα DCs έχουν χαρακτηριστεί ως «φυσικά ανοσοενισχυτικά», εξ αιτίας της μεγάλης τους δραστηριότητας στην εκκίνηση και στη διατήρηση των ανοσιακών αποκρίσεων τόσο της επίκτητης, όσο και της έμφυτης ανοσίας.³³ Τα DCs έχουν χρησιμοποιηθεί τα τελευταία έτη ως φορείς των αντικαρκινικών εμβολίων. Παραδοσιακά, δύο μέθοδοι εμβολιασμού βασισμένες στα DCs έχουν δοκιμαστεί ευρέως: Η απ' ευθείας στόχευση των καρκινικών αντιγόνων σε υποδοχείς των DCs *in vivo* και η *ex vivo* παραγωγή DCs «φορτωμένων» με καρκινικά αντιγόνα.

Η ασφάλεια καθώς και η ικανότητα των εμβολίων που βασίζονται σε DCs να ενεργοποιούν ογκοειδικά CD4+ και CD8+ T-κύτταρα *in vivo* έχουν εξεταστεί διεξοδικά σε κλινικές δοκιμές. Το μοναδικό, μέχρι σήμερα, βασισμένο σε DC αντικαρκινικό εμβόλιο που εγκρίθηκε από τον FDA είναι το Sipuleucel-T (Provenge, Dendreon Corporation) για τη θεραπεία του ασυμπτωματικού μεταστατικού ορμονο-άντοχου καρκίνου του προστάτη. Στο εν λόγω εμβόλιο, τα αυτόλογα μονοκύτταρα του ασθενούς τροποποιούνται *ex*

vivo μετά από επιμόλυνση με μια υβριδική πρωτεΐνη από την προστατική όξινη φωσφατάση και τον GM-CSF, και στη συνέχεια επανεγχέονται στον ασθενή.³⁴ Κλινικές δοκιμές φάσης II/III που χρησιμοποιούν παρόμοιες προσεγγίσεις σε ασθενείς με μελάνωμα, γλοίωμα, γλοιοβλάστωμα, καρκίνο των ωοθηκών, RCC και πολλαπλούν μυέλωμα (ΠΜ), έδειξαν επαγωγή ισχυρών αποκρίσεων και βελτιωμένη κλινική έκβαση.³⁵

Μια σχετικά νέα και υποσχόμενη προσέγγιση αφορά στην υβριδοποίηση των DCs του ασθενούς με αυτόλογα καρκινικά κύτταρα, βασισμένη στο σκεπτικό ότι τα υβρίδια DC/καρκινικών κυττάρων μπορούν να επεξεργαστούν και να παρουσιάσουν όλο το φάσμα των ειδικών για τον ασθενή TAAs, περιλαμβανομένων και αυτών που δεν έχουν ακόμη ταυτοποιηθεί. Σε προκλινικά μοντέλα, ο εμβολιασμός με υβρίδια DC/καρκινικών κυττάρων οδήγησε στην εξάλειψη προϋπαρχόντων όγκων. Σε κλινικές δοκιμές, τα υβρίδια DC/καρκινικών κυττάρων ήταν καλά ανεκτά. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν περιορισμένες έκτασης αποκρίσεις από ασθενείς σε προχωρημένα στάδια καρκίνου.³⁶

2.2.3. Από τα αυτόλογα εμβόλια στα αλλογενή εμβόλια από ολόκληρα κύτταρα. Τα αλλογενή καρκινικά κύτταρα αντιπροσωπεύουν μια καλή πηγή TAAs, καθώς οι *in vitro* καλλιεργούμενες κυτταρικές σειρές (α) παρέχουν μια απεριόριστη πηγή TAAs, (β) επιτρέπουν την παραγωγή αλλογενών εμβολίων σε μεγάλες ποσότητες, και (γ) παρέχουν σαφώς επαναλήψιμες παρτίδες εμβολίου για χρήση σε ευρείες ομάδες ασθενών, περιορίζοντας πιθανές διαφορές ως προς τη σύνθεση του εμβολίου, διευκολύνοντας τη σύγκριση της κλινικής έκβασης, ενώ επί πλέον χαρακτηρίζονται από χαμηλό κόστος. Τα αλλογενή εμβόλια από ολόκληρα κύτταρα προέρχονται από ακτινοβολημένα καρκινικά κύτταρα, τα οποία πριν από την ακτινοβολήση επιμολύνονται ώστε να παράγουν κυτταροκίνες ή να εκφράζουν συνδιεγερτικά μόρια, και συνεπώς να έχουν αυξημένη ανοσογονικότητα. Μετά τη χορήγηση, τα απενεργοποιημένα καρκινικά κύτταρα δεν πολλαπλασιάζονται, αλλά εκφράζουν και παρουσιάζουν βέλτιστα ένα ευρύ φάσμα TAAs στα T-κύτταρα, ενορχηστρώνοντας ιδανικά μια δραστική αντικαρκινική ανοσιακή απόκριση.³⁷

Μια υποσχόμενη κατηγορία αντικαρκινικών εμβολίων από ολόκληρα κύτταρα είναι τα γενετικά τροποποιημένα με το γονίδιο του GM-CSF καρκινικά κύτταρα, τα οποία αναφέρονται ως GVAX. Τα εμβόλια GVAX έχουν ήδη επιδείξει δραστηριότητα έναντι πολλών καρκίνων (π.χ. προστάτη),³⁸ καθώς ο GM-CSF επιστρατεύει και ενεργοποιεί τα APCs και προάγει την πρόσληψη και τη διασταυρούμενη παρουσίαση των απελευθερούμενων καρκινικών αντιγόνων από τα ακτινοβολημένα κύτταρα.

2.2.4. Οι αναστολείς των σημείων ελέγχου απελευθερώνουν τα «φρένα» του ανοσοποιητικού συστήματος. Τα Τ-κύτταρα αναγνωρίζουν και αποκρίνονται σε καρκινικά αντιγόνα που εκτίθενται στην επιφάνεια των APCs. Ωστόσο, η βέλτιστη ενεργοποίησή τους έναντι του αντιγόνου-στόχου αρχίζει με την αλληλεπίδραση του συμπλέγματος MHC μόριο-καρκινικό πεπτιδίο με τον TCR (σήμα 1) και συμπληρώνεται με την αλληλεπίδραση των συνδιεγερτικών μορίων των Τ-κυττάρων (CD28) και των APCs (B7-1/CD80 και B7-2/CD86) (σήμα 2). Τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα εκφράζουν επί πλέον το μόριο CTLA-4, έναν αρνητικό ρυθμιστή της ενεργοποίησης των Τ-κυττάρων, το οποίο ανταγωνίζεται για την πρόσδεση στο B7, αναιρώντας τα θετικά σήματα που μεσολαβούνται από το CD28.³⁹

Ένα άλλο γνωστό συν-ανασταλτικό μονοπάτι των Τ-κυττάρων περιλαμβάνει την πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1 (programmed cell death protein 1, PD-1) και τους προσδέτες της PD-L1/L2, η αλληλεπίδραση των οποίων οδηγεί σε μειωμένο πολλαπλασιασμό και κυτταροτοξικότητα των Τ-κυττάρων, και αυξημένη ευαισθησία των Τ-κυττάρων σε απόπτωση.⁴⁰ Υπό φυσιολογικές συνθήκες, το μονοπάτι PD-1/PD-L1/2 περιορίζει την υπερδιέγερση των Τ-κυττάρων, ρυθμίζει την ιστική βλάβη κατά τη φλεγμονή και αποτρέπει την ανάπτυξη αυτοανοσίας, επάγοντας ανοχή στα εαυτά αντιγόνα.⁴¹ Στον καρκίνο, η δέσμευση οποιουδήποτε από τα δύο μόρια οδηγεί σε εξάντληση των Τ-κυττάρων και αρνητική ρύθμιση της αντικαρκινικής απόκρισης.⁴² Δηλαδή, τα καρκινικά κύτταρα εκμεταλλεύονται την αλληλεπίδραση PD-1/PD-L ως έναν μηχανισμό διαφυγής, «σβήνοντας» την αντικαρκινική ανοσιακή απόκριση.

Η επαγόμενη από τον όγκο αρνητική ρύθμιση της λειτουργίας των Τ-κυττάρων μπορεί να ανατραπεί, χρησιμοποιώντας μόρια/αναστολείς των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος που παρεμποδίζουν τα CTLA-4

ή και PD-1/PD-L1 μεσολαβούμενα σηματοδοτικά μονοπάτια, προστατεύοντας και διατηρώντας την ενεργοποίηση των Τ-κυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου.⁴³ Σημαντικό είναι ότι η ταυτόχρονη παρεμπόδιση και των δύο μονοπατιών πολλαπλασιάζει την αντικαρκινική δραστηριότητα των Τ-κυττάρων.⁴⁴ Παρ' όλο που εκτός από τα CTLA-4 και PD-1/PD-L1 έχουν ταυτοποιηθεί και νέα σημεία ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος, μέχρι σήμερα 6 αναστολείς έχουν εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία του καρκίνου: Ο CTLA-4 αναστολέας ιπιλιμουμάμπη (ipilimumab) (το 2011), οι PD-1 αναστολείς νιβολουμάμπη (nivolumab) και πεμπρολιζουμάμπη (pembrolizumab) (το 2014), και οι PD-L1 αναστολείς ατεζολιζουμάμπη (atezolizumab) (το 2016) και αβελουμάμπη (avelumab) και δουρβαλουμάμπη (durvalumab) (το 2017) (εικ. 2, πίν. 2).

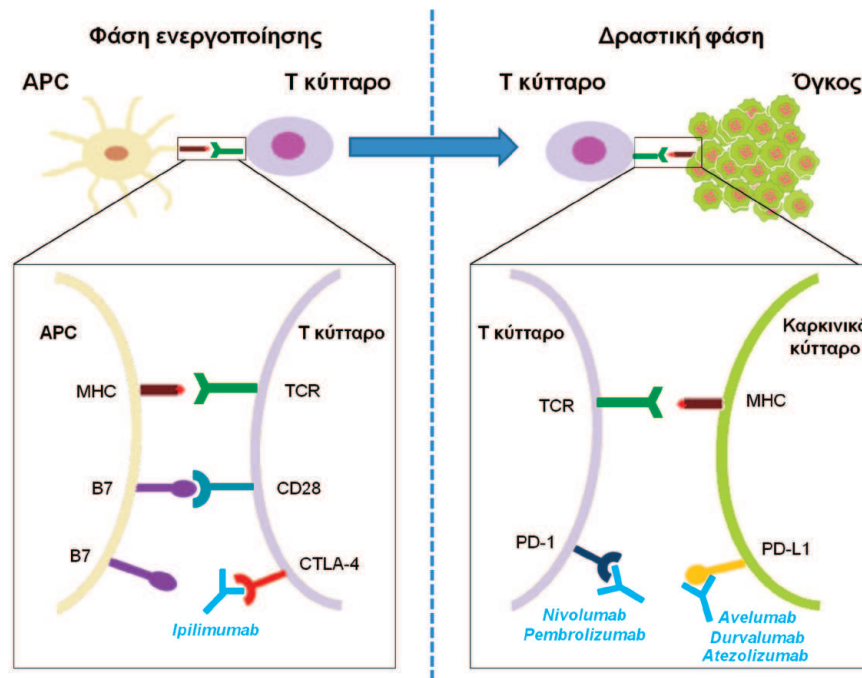
Η ιπιλιμουμάμπη (Yervoy, Bristol Myers Squibb) είναι ανθρώπινο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο παρεμποδίζει την αλληλεπίδραση μεταξύ CTLA-4 και B7-1/2. Έχει εγκριθεί για τη θεραπεία του ανεγχείρητου ή μεταστατικού μελανώματος⁴⁵ (Απρίλιος 2017). Επί του παρόντος, 173 ανοικτές κλινικές μελέτες στρατολογούν ή πρόκειται να στρατολογήσουν ασθενείς με διάφορους τύπους καρκίνου, που θα λάβουν ιπιλιμουμάμπη ως μονοθεραπεία ή ως συνδυαστική θεραπεία.

Η πεμπρολιζουμάμπη (Keytruda, Merck) είναι ανθρωποποιημένο IgG4 μονοκλωνικό αντίσωμα το οποίο στοχεύει το PD-1, εμποδίζοντας έτσι την ανασταλτική του αλληλεπίδραση με τα PD-L1/L2. Έως τον Απρίλιο του 2017, η πεμπρολιζουμάμπη έχει λάβει έγκριση για τη θεραπεία (α) του προχωρημένου σταδίου μελανώματος το οποίο υποτροπίασε υπό θεραπεία με ιπιλιμουμάμπη και του μελανώματος με μεταλλαγμένο BRAF που υποτροπίασε υπό θεραπεία με BRAF αναστολείς (π.χ. δαμπραφενίμπη [dabrafenib], βεμουραφενίμπη [vemurafenib]),⁴⁶ (β) του PD-L1⁺ μη μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (NSCLC),

Πίνακας 2. Οι αναστολείς των σημείων ελέγχου της ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος που έχουν εγκριθεί από τον FDA (Απρίλιος 2017).

Αντίσωμα	Εμπορική ονομασία (εταιρεία)	Στόχος	Τύπος αντισώματος	Τύπος καρκίνου
Ipilimumab	Yervoy (Bristol Myers Squibb)	CTLA-4	Ανθρώπινο	Μελάνωμα
Pembrolizumab	Keytruda (Merck)	PD-1	Ανθρωποποιημένο	Μελάνωμα, NSCLC, πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, λέμφωμα Hodgkin
Nivolumab	Opdivo (Bristol Myers Squibb)	PD-1	Ανθρώπινο	Μελάνωμα, NSCLC, πλακώδες καρκίνωμα κεφαλής και τραχήλου, RCC, λέμφωμα Hodgkin, ουροθηλιακό καρκίνωμα
Atezolizumab	Tecentriq (Genentech/Roche)	PD-L1	Ανθρωποποιημένο	Ουροθηλιακό καρκίνωμα, NSCLC
Avelumab	Bavencio (EMD Serono)	PD-L1	Ανθρώπινο	Καρκίνωμα κυττάρων Merkel
Durvalumab	Imfinzi (AstraZeneca)	PD-L1	Ανθρώπινο	Ουροθηλιακό καρκίνωμα

NSCLC: Μη μικροκυτταρικός καρκίνος πνεύμονα, RCC: Καρκίνος του νεφρού



Εικόνα 2. Σχηματική αναπαράσταση σημαντικών σημείων που μεσολαβούν τις αλληλεπιδράσεις Τ-κυττάρων, αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (APCs) και καρκινικών κυττάρων. Κατά τη φάση ενεργοποίησης (αριστερά), τα Τ-κύτταρα αλληλεπιδρούν με τα APCs και λαμβάνουν το σήμα 1 (MHC/καρκινικό αντιγόνο-TCR) και το σήμα 2 (B7-CD28). Τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα εκφράζουν το κατασταλτικό μόριο CTLA-4, το οποίο αναστέλλεται από την ιπιλιμουμάμπη (ipilimumab), διατηρώντας την ενεργοποίησή τους. Κατά τη δραστική φάση (δεξιά), τα ενεργοποιημένα Τ-κύτταρα μεταναστεύουν στον όγκο, όπου ο TCR τους αναγνωρίζει καρκινικά αντιγόνα σε συνδυασμό με MHC μόρια. Η πεμπρολιζουμάμπη (pembrolizumab) και η νιβολουμάμπη (nivolumab) αναστέλλουν το σημείο ελέγχου PD-1 και την αλληλεπίδρασή του με τον κατασταλτικό ρυθμιστή PD-L1, που εκφράζεται από τα καρκινικά κύτταρα. Η αβελουμάμπη (avelumab), η ατεζολιζουμάμπη (atezolizumab) και η δουρβαλουμάμπη (durvalumab) δεσμεύουν τον προσδέτη PD-L1 και αναστέλλουν την πρόσδεσή του στο PD-1. Ως αποτέλεσμα, τα Τ-κύτταρα αποφεύγουν την επαγόμενη από τον όγκο καταστολή. MHC: Μείζον σύμπλεγμα ιστοσυμβατότητας, TCR: Υποδοχέας Τ-κυττάρου, CTLA-4: Σχετιζόμενο με τα κυτταροτοξικά Τ-λεμφοκύτταρα αντιγόνο-4, PD-1: Πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 1, PD-L: Προσδέτης του PD-1.

μετά από υποτροπή υπό χημειοθεραπεία με πλατινούχα παράγωγα ή και στοχευμένη θεραπεία με αναστολείς του EGFR/ALK μονοπατιού (π.χ. με ερλοτινίμη [erlotinib], γεφιτινίμη [gefitinib] ή σεριτινίμη [ceritinib]) για όγκους με μεταλλάξεις των EGFR ή ALK. Σε ασθενείς των οποίων οι όγκοι χαρακτηρίζονται από υψηλή PD-L1 έκφραση και δεν φέρουν EGFR/ALK μεταλλάξεις χρησιμοποιείται ως θεραπεία πρώτης γραμμής,⁴⁷ (γ) του υποτροπιάζοντος υπό ή μετά από χημειοθεραπεία με πλατινούχα παράγωγα ή του μεταστατικού πλακώδους καρκινώματος της κεφαλής και του τραχήλου,⁴⁸ και (δ) ενηλίκων και παιδιατρικών ασθενών με ανθεκτικό λέμφωμα Hodgkin ή ασθενών που έχουν υποτροπιάσει μετά από τρεις ή περισσότερες προηγούμενες γραμμές θεραπείας.⁴⁹

Η νιβολουμάμπη (Opdivo, Bristol Myers Squibb) είναι ανθρώπινο IgG4 αντι-PD-1 mAb με τον ίδιο τρόπο δράσης με την πεμπρολιζουμάμπη, αλλά με 10 φορές μικρότερη συγγένεια για το PD-1 σε σχέση με την πεμπρολιζουμάμπη. Έως τον Απρίλιο του 2017 εγκρίθηκε για τη θεραπεία: (α) του μεταστατικού μελανώματος το οποίο υποτροπιάσει υπό ιπιλιμουμάμπη και του μελανώματος με μεταλλαγμένο BRAF

που υποτροπιάσει υπό θεραπεία με BRAF αναστολέα (π.χ. βεμουραφενίμη),⁵⁰ (β) ασθενών με μεταστατικό πλακώδες NSCLC⁵¹ και με πλακώδες καρκίνωμα της κεφαλής και του τραχήλου⁵² σε υποτροπή υπό ή μετά τη λήψη χημειοθεραπείας βασισμένης στην πλατίνη, (γ) ασθενών με RCC,⁵³ (δ) του υποτροπιάζοντος λεμφώματος Hodgkin μετά από αυτόλογη μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων και μετα-μεταμοσχευτική χορήγηση μπρεντουξιμάβης βεδοτίνης (brentuximab vedotin),⁵⁴ και (ε) ασθενών με τοπικά προχωρημένο ή μεταστατικό ουροθηλιακό καρκίνωμα, οι οποίοι υποτροπίασαν υπό ή μετά από χημειοθεραπεία με πλατίνη ή υποτροπίασαν μέσα σε διάστημα 12 μηνών μετά από νεοεπικουρική (neoadjuvant) ή επικουρική (adjuvant) αγωγή με χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνη.⁵⁵ Γενικά, η χορήγηση της νιβολουμάμπης προκαλεί λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες και εμφάνισε χαμηλότερη τοξικότητα συγκριτικά με την ιπιλιμουμάμπη.

Η ατεζολιζουμάμπη (Tecentriq, Genentech/Roche) είναι πλήρως ανθρωποποιημένο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα εναντίον της πρωτεΐνης PD-L1. Έχει εγκριθεί (Απρίλιος 2017) για τη θεραπεία: (α) του τοπικά προχωρημένου ή μεταστα-

τικού καρκίνου του ουροθηλίου που υποτροπίασε υπό ή μετά από χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνα, καθώς και ως πρώτης γραμμής θεραπεία για όσους ασθενείς δεν μπορούν να λάβουν χημειοθεραπεία με σισπλατίνη,⁵⁶ και (β) ασθενών με μεταστατικό NSCLC, οι οποίοι υποτροπίασαν κατά τη διάρκεια ή μετά από χημειοθεραπεία με πλατίνα και ασθενών που φέρουν EGFR ή ALK μεταλλάξεις ως θεραπεία δεύτερης γραμμής μετά από πρόοδο της νόσου.⁵⁷ Επί του παρόντος υπάρχουν 103 ανοικτές κλινικές μελέτες για την ατεζολιζουμάμπη.

Η αβελουμάμπη (Bavencio, EMD Serono) είναι ανθρώπινο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα που προσδένεται στο PD-L1. Τον Μάρτιο του 2017 εγκρίθηκε για τη θεραπεία ενηλίκων και παιδιατρικών ασθενών (12 ετών και άνω) με μεταστατικό καρκίνωμα κυττάρων Merkel, περιλαμβανομένων εκείνων που δεν έχουν λάβει προηγουμένως χημειοθεραπεία.⁵⁸ Επί του παρόντος υπάρχουν 37 ανοικτές κλινικές μελέτες με την αβελουμάμπη.

Η δουρβαλουμάμπη (Imfinzi, AstraZeneca) είναι ανθρώπινο IgG1 μονοκλωνικό αντίσωμα, το οποίο προσδένεται στο PD-L1. Εγκρίθηκε από τον FDA τον Μάιο του 2017 για τη θεραπεία: (α) του τοπικά προχωρημένου ή μεταστατικού καρκίνου του ουροθηλίου που υποτροπίασε υπό ή μετά από χημειοθεραπεία βασισμένη στην πλατίνα, και (β) ασθενών των οποίων η νόσος υποτροπίασε εντός 12 μηνών από τη λήψη χημειοθεραπείας βασισμένης στην πλατίνα πριν ή μετά από το χειρουργείο.⁵⁹ Επί του παρόντος υπάρχουν 123 ανοικτές κλινικές μελέτες με τη δουρβαλουμάμπη.

Εξ αιτίας της υψηλής αποτελεσματικότητας των αναστολέων των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού συστήματος στην κλινική πράξη, αξιολογήθηκε σε κλινικές δομικές και η συνδυαστική/συνεργιστική δράση τους, υποδεικνύοντας ότι η διαδοχική χορήγησή τους μπορεί να αποκαταστήσει την αντικαρκινική ανοσία σε ασθενείς που υποτροπίασαν υπό θεραπεία με μικρομοριακούς αναστολείς κινάσων.⁶⁰

2.2.5. Οι ογκολυτικοί ιοί προκαλούν άμεση λύση των όγκων και διεγείρουν συστηματικές αντικαρκινικές ανοσιακές αποκρίσεις. Οι ογκολυτικοί ιοί είναι αβλαβή ιικά στελέχη, τα οποία στοχεύουν επιλεκτικά και θανατώνουν καρκινικά κύτταρα, ενώ παράλληλα διεγείρουν την ογκοειδική κυτταρομεσολαβητική ανοσία. Συγκεκριμένα, ο πολλαπλασιασμός του ιού στα καρκινικά κύτταρα και η επακόλουθη λύση των κυττάρων οδηγεί στην απελευθέρωση περισσότερων ιών, καθώς και καρκινικών αντιγόνων.⁶¹ Στη συνέχεια, τα APCs προσλαμβάνουν και παρουσιάζουν τα αντιγόνα, προάγοντας έμμεσα τη συστηματική T-κυτταρική ανοσιακή απόκριση.⁶² Η γενετική τροποποίηση των ογκολυτικών ιών ενισχύει περαιτέρω τις ογκολυτικές τους ιδιότητες και τους κατευθύνει αποκλειστικά στην περιοχή του όγκου.⁶³

Η πλέον δημοφιλής θεραπεία με ογκολυτικό ιό είναι με το φάρμακο talimogene laherparepvec (T-VEC). Πρόκειται για μια τροποποιημένη μορφή του ιού του απλού έρπητα-1 διαμολυσμένη με το γονίδιο του GM-CSF, που μολύνει και λύει επιλεκτικά μόνο τα καρκινικά κύτταρα, με ταυτόχρονη παραγωγή GM-CSF. Μετά από την πολυκεντρική τυχαιοποιημένη δοκιμή φάσης III σε ασθενείς με μελάνωμα (OPTiM), όπου καταγράφηκαν μακροχρόνιες αποκρίσεις, ο εν λόγω ογκολυτικός ιός είναι ο πρώτος που έλαβε έγκριση από τον FDA για χρήση σε ασθενείς με μελάνωμα με μη εξαιρέσιμες εστίες.⁶⁴ Οι ογκολυτικοί ιοί έχουν επίσης επιδείξει θεραπευτικό όφελος σε προκλινικά μοντέλα, σε συνδυασμό με άλλα ανοσοθεραπευτικά πρωτόκολλα, όπως η ACT⁶⁵ ή οι αναστολείς των σημείων ελέγχου.⁶⁶ Πρέπει ωστόσο να επιλυθούν πρακτικά ζητήματα, ιδιαίτερα στην περίπτωση της ενδοφλέβιας χορήγησης των ογκολυτικών ιών. Τα ζητήματα αυτά σχετίζονται με την αυξημένη τοξικότητα λόγω της συσσώρευσης των ιικών σωματιδίων σε διάφορα όργανα, τη χαμηλή μολυσματικότητα του ιού λόγω καταστροφής του από τα μακροφάγα ή εξουδετέρωσή του από προϋπάρχοντα αντισώματα και το συμπλήρωμα, και την περιορισμένη διεισδυτικότητά του στο μικροπεριβάλλον του όγκου, εξ αιτίας περιορισμένης εξαγγείωσης και τοπικής παρουσίας φραγμών από συνδετικό ιστό και εξωκυττάρια ουσία.⁶⁷

3. ΝΕΕΣ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΠΟΥ ΜΠΟΡΕΙ ΝΑ ΕΝΙΣΧΥΣΟΥΝ ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΤΙΣ ΑΝΤΙΚΑΡΚΙΝΙΚΕΣ ΑΝΟΣΙΑΚΕΣ ΑΠΟΚΡΙΣΕΙΣ

3.1. Νέες μέθοδοι οι οποίες διευκολύνουν την *in vivo* μεταφορά θεραπευτικών μορίων

Τα τελευταία έτη έχει αξιολογηθεί ποικιλία συστημάτων νανο-φορέων, καθώς αποτελούν έναν ελκυστικό φορέα για την ενίσχυση της στοχευμένης θεραπείας. Τα νανο-υλικά μπορεί να επιτύχουν εκλεκτική, εντοπισμένη και ταυτόχρονη μεταφορά πολλαπλών ανοσοτροποποιητών, TAAs και φαρμάκων σε στοχευμένες εστίες του όγκου ή στους λεμφικούς ιστούς.⁶⁸ Μεταξύ των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων νανο-σωματιδίων είναι οι πολυμερείς νανο-φορείς, οι λιπιδικοί νανο-φορείς, οι υδρογέλες που διασπώνται από οξέα, οι νανο-φορείς οι οποίοι βασίζονται στη ζελατίνη και οι πλέον καινοτόμοι μεταλλικοί νανο-φορείς. Γενικά, οι νανο-φορείς παρακάμπτουν το ζήτημα της τυχαίας πρόσληψης του αντιγόνου και αποτελούν μια μελλοντικά υποσχόμενη αντικαρκινική επιλογή.

3.2. Η αξιοποίηση του ανοσογονικού κυτταρικού θανάτου στην αντικαρκινική ανοσία

Ο ανοσογονικός κυτταρικός θάνατος (immunogenic

cell death, ICD) περιγράφηκε για πρώτη φορά το 2013 και επάγεται στα καρκινικά κύτταρα μετά από συγκεκριμένες θεραπευτικές παρεμβάσεις, όπως η ακτινοθεραπεία και η χημειοθεραπεία με χρήση ειδικών φαρμακευτικών ουσιών (π.χ. ανθρακυκλίνες, οξαλιπλατίνα). Χαρακτηρίζεται από: (α) εκτεταμένη και παρατεταμένη λύση και απελευθέρωση συστατικών των καρκινικών κυττάρων, περιλαμβανομένων ενδοκυτταρικών σημάτων κινδύνου/αλαρμινών, (β) αυξημένη ενεργοποίηση των DCs, (γ) αυξημένη πρόσληψη και παρουσίαση καρκινικών αντιγόνων από τα DCs, (δ) διασταυρούμενη ενεργοποίηση και πολλαπλασιασμό των ογκοειδικών CTLs, και (ε) παραγωγή ογκοειδικών mAbs. Η χημειο-ακτινοθεραπεία μπορεί επίσης να τροποποιήσει τα ποσοστά και τις λειτουργίες των ρυθμιστικών κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, περιλαμβανομένων των Tregs, των κατασταλτικών κυττάρων μυελοειδούς προέλευσης (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) και των σχετιζόμενων με τον όγκο μακροφάγων. Σημαντικοί μεσολαβητές που δρουν ως σήματα κινδύνου και, στην πράξη ως *in situ* εμβόλια, και απελευθερώνονται κατά τον ICD, περιλαμβάνουν την πρωτεΐνη της ομάδας υψηλής κινητικότητας box 1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1), την καλρετικουλίνη, το ATP και θραύσματα πολυνουκλεοτιδίων.⁶⁹

Η σε βάθος κατανόηση των μοριακών και των κυτταρικών μηχανισμών που σχετίζονται με τον ICD θα μπορούσε να συμβάλλει στη διαχείριση των καρκινοπαθών μέσω ανάπτυξης αλγορίθμων, οι οποίοι θα βασίζονται στην επαγωγή ICD από τις χορηγούμενες θεραπείες. Έχουν ήδη αναφερθεί ενθαρρυντικά αποτελέσματα από κλινικές δοκιμές σε διάφορους τύπους καρκίνου, κατά τις οποίες αξιολογήθηκε ο συνδυασμός τοπικής ακτινοβολίας και ιπιλιμουμάμπης.⁷⁰

3.3. Η σημασία των βιοδεικτών στην ανοσοθεραπεία του καρκίνου

Για την ορθολογική χρήση της αντικαρκινικής ανοσοθεραπείας είναι απαραίτητη η σωστή επιλογή των ασθενών στους οποίους μια τέτοια θεραπεία θα ήταν ωφέλιμη με τη χρήση των κατάλληλων καρκινικών βιοδεικτών. Οι βιοδείκτες είναι βιολογικά μόρια που ανιχνεύονται στο αίμα, σε σωματικά υγρά ή ιστούς, και χρησιμοποιούνται ως ένδειξη της φυσιολογικής ή της μη φυσιολογικής λειτουργικής κατάστασης ή της παρουσίας νόσου. Στους βιοδείκτες συγκαταλέγονται, μεταξύ άλλων, πρωτεΐνες (ένζυμα ή υποδοχείς), νουκλεϊκά οξέα (microRNA ή άλλα μη κωδικά RNA), αντισώματα και πεπτιδία. Συνήθως, προσδιορίζονται στη συστηματική κυκλοφορία (αίμα, ορό ή πλάσμα) και σε απεκκρίσεις ή εκκρίσεις (κόπρανα, ούρα κ.λπ.). Το συγκεκριμένο

χαρακτηριστικό παρέχει τη δυνατότητα προσδιορισμού τους ανά τακτά χρονικά διαστήματα με μη επεμβατικές μεθόδους. Ωστόσο, ορισμένοι βιοδείκτες ταυτοποιούνται σε ιστούς και για την αξιολόγησή τους απαιτείται βιοψία ή ειδικές απεικονιστικές μέθοδοι.⁷¹

Οι βιοδείκτες διακρίνονται σε προγνωστικούς και προβλεπτικούς. Οι προγνωστικοί βιοδείκτες αφορούν στη διάγνωση της νόσου με μη επεμβατικές μεθόδους και στην αξιολόγηση της πορείας του ασθενούς. Αντίθετα, οι προβλεπτικοί βιοδείκτες εκτιμούν την ανταπόκριση του ασθενούς στη χορηγούμενη θεραπεία.⁷² Ενδεικτικοί βιοδείκτες που χρησιμοποιούνται κλινικά είναι το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) στον καρκίνο του προστάτη, οι μεταλλάξεις του *KRAS* στον CRC, η υπερέκφραση του γονιδίου *HER2* στον καρκίνο του μαστού και του στομάχου, η έκφραση των υποδοχέων οιστρογόνων και προγεστερόνης στον καρκίνο του μαστού, το CEA στον CRC και τον καρκίνο του μαστού, η AFP, η LDH και η β-HCG στον καρκίνο των γεννητικών κυττάρων, το καρκινικό αντιγόνο (CA) 15-3 στον καρκίνο του μαστού, το CA 19-9 στον καρκίνο του στομάχου και του παγκρέατος, και το CA 125 στον καρκίνο των ωοθηκών.

3.4. Ο ρόλος των κυκλοφορούντων καρκινικών κυττάρων στη θεραπεία του καρκίνου

Τα κυκλοφορούντα καρκινικά κύτταρα (circulating tumor cells, CTCs) περιγράφηκαν για πρώτη φορά το 1869. Λόγω της πρόσφατης ανάπτυξης κατάλληλων τεχνικών απομόνωσής τους που βασίζονται στις βιοχημικές ή στις βιοφυσικές ιδιότητές τους, τα CTCs έχουν μελετηθεί ως προγνωστικοί και προβλεπτικοί βιοδείκτες σε διάφορους μεταστατικούς και μη καρκίνους. Η απομόνωση των CTCs γίνεται από το περιφερικό αίμα, παρ'όλο που η συγκέντρωσή τους είναι συνήθως <1 κυττάρου/mL.⁷³

Η κλινική τους σημασία επικεντρώνεται: (α) Στη χρήση τους ως υλικό υγρής βιοψίας, η οποία είναι λιγότερο επεμβατική, χρονοβόρα και δαπανηρή σε σύγκριση με τη συμβατική βιοψία, προς επιλογή του κατάλληλου θεραπευτικού σχήματος, (β) στην καταμέτρηση της μεταβολής του αριθμού τους στη συστηματική κυκλοφορία πριν και μετά την εφαρμογή θεραπευτικής παρέμβασης, όπου ο αριθμός των CTCs σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιείται και ως προγνωστικός δείκτης, και (γ) στη θεραπευτική στόχευση παραγόντων οι οποίοι σχετίζονται με τα CTCs ή τη μετάσταση της νόσου. Ωστόσο, η μελέτη των CTCs δεν έχει εγκριθεί ακόμη για ευρεία κλινική εφαρμογή, καθώς οι κλινικές δοκιμές φάσης II και III, οι περισσότερες στον καρκίνο του μαστού, είναι σε εξέλιξη ή μόλις έχουν ολοκληρωθεί.

3.5. Η ανίχνευση της ελάχιστης υπολειμματικής νόσου σε ασθενείς με αιματολογικές κακοήθειες ως βιοδείκτης της νόσου

Ως ελάχιστη υπολειμματική νόσος (minimal residual disease, MRD) ορίζεται η παρουσία ενός (μικρού-ελάχιστου) αριθμού εναπομεινάντων καρκινικών κυττάρων που παραμένουν στον οργανισμό του ασθενούς μετά από θεραπεία, και ενώ ο ασθενής βρίσκεται σε ύφεση (έχει ανταποκριθεί στη θεραπεία και δεν έχει ενδείξεις της νόσου), με βάση τα συμβατικά κριτήρια. Η παρουσία της MRD έχει συσχετιστεί με μικρότερο διάστημα ελεύθερο νόσου και με μικρότερη ολική επιβίωση των ασθενών σε διάφορες νεοπλασίες και ιδιαίτερα σε αιματολογικές κακοήθειες, όπως η ΧΛΛ, η χρόνια μυελογενής λευχαιμία (ΧΜΛ) και το ΠΜ. Η ισχυρή συσχέτιση της MRD με το κλινικό αποτέλεσμα έχει αναδείξει την παράμετρο αυτή ως έναν ισχυρό προγνωστικό βιοδείκτη που χρησιμοποιείται όλο και περισσότερο στην καθημερινή κλινική πράξη.

Εκτός από την ανίχνευση της MRD σε ποιοτικό επίπεδο, ιδιαίτερη σημασία φαίνεται ότι έχει και ο ποσοτικός προσδιορισμός της MRD, δηλαδή ο απόλυτος αριθμός των εναπομεινάντων νεοπλασματικών κυττάρων στους MRD⁺ ασθενείς. Επομένως, η ανίχνευση της MRD απαιτεί τεχνικές υψηλής ευαισθησίας, όπως η πολυχρωματική κυτταρομετρία ροής (multicolor flow cytometry, MFC), η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης με τη χρήση ειδικών ολιγονουκλεοτιδίων για συγκεκριμένα αλληλόμορφα (allele-specific oligonucleotide polymerase-chain reaction, ASO-PCR), και η αλληλούχιση νέας γενιάς (next-generation sequencing, NGS). Από τις τεχνικές αυτές, η MFC έχει ορισμένα πλεονεκτήματα έναντι των άλλων δύο και, συγκεκριμένα, (α) είναι εφαρμόσιμη στο σύνολο των κλινικών δειγμάτων των ασθενών (έναντι 85–90% εφαρμοσιμότητας με τις μοριακές τεχνικές), (β) απαιτεί μικρό χρονικό διάστημα για την εκτέλεσή της (2–3 ώρες, έναντι 6–8 ωρών) και (γ) είναι αρκετά πιο οικονομική.⁷⁴

Στο εργαστήριό μας σε συνεργασία με την Αιματολογική/Ογκολογική Μονάδα της Θεραπευτικής Κλινικής του Νοσοκομείου «Αλεξάνδρα», αναπτύξαμε πρόσφατα ένα πρωτόκολλο ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της MRD σε

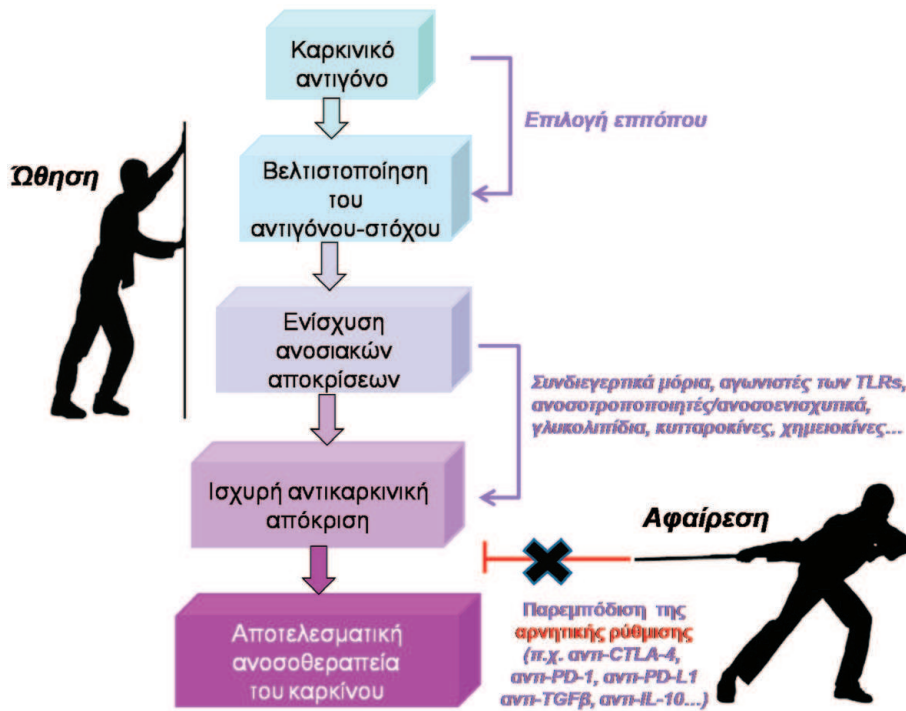
ασθενείς με ΠΜ, με βάση τις προδιαγραφές της Ευρωπαϊκής Κοινοπραξίας Euroflow.⁷⁵ Το πρωτόκολλο βασίζεται στη σήμανση ενός σημαντικού αριθμού απομονωμένων κυττάρων από τον μυελό των οστών των ασθενών με 10 mAbs τόσο για επιφανειακούς όσο και για ενδοκυττάρους δείκτες. Συγκεκριμένα, η ανάλυση των κυττάρων περιλαμβάνει δύο διακριτά πάνελ 8-χρωμίας (με 6 κοινούς μεταξύ τους δείκτες, πίν. 3) και την επεξεργασία των αποτελεσμάτων με ειδικό λογισμικό πρόγραμμα που επιτρέπει την ενοποιημένη στρατηγική ανάλυσης των επί μέρους γεγονότων των δύο πάνελ για την ανάκτηση της μέγιστης δυνατής πληροφορίας και επακόλουθα την αύξηση της ευαισθησίας της τεχνικής.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Η βαθύτερη κατανόηση των κυτταρικών και των μοριακών μονοπατιών που οδηγούν στην ανάπτυξη, στη διαφυγή και στην υποτροπή/μετάσταση του όγκου μεταφράστηκαν κλινικά σε καινοτόμες θεραπευτικές επιλογές. Ανακαλύφθηκαν νέες κατηγορίες στοχευμένων φαρμάκων, τα οποία έλαβαν γρήγορα έγκριση για χρήση στον άνθρωπο. Επαναπρογραμματίστηκαν συστατικά του ανοσοποιητικού συστήματος του ασθενούς ώστε να αναγνωρίζουν και να καταστρέφουν επιλεκτικά τα καρκινικά κύτταρα. Παρατάθηκε η επιβίωση ασθενών, οι οποίοι στο παρελθόν δεν είχαν κάποια θεραπευτική επιλογή. Βελτιώθηκε η ποιότητα ζωής των καρκινοπαθών και των ατόμων που επιβίωσαν από τη νόσο. Το πιο σημαντικό όμως είναι ότι παρατηρήθηκε πως οι ανοσοθεραπευτικές παρεμβάσεις ελέγχουν και καταστέλλουν την αύξηση και την ικανότητα υποτροπής του όγκου, ακόμη και για πολλά χρόνια μετά την ολοκλήρωση της θεραπείας. Συνεπώς, είναι αναμενόμενο το γεγονός ότι ο FDA συνεχώς εγκρίνει νέα βιολογικά φάρμακα και διευρύνει τις υπάρχουσες ενδείξεις εγκεκριμένων φαρμάκων για στοχευμένη και συνδυαστική ανοσοθεραπεία. Επί πλέον, διαπιστώθηκε ότι ο συνδυασμός διαφορετικών ανοσοθεραπειών πρέπει να εννορηστρωθεί με προσοχή, έτσι ώστε αφ' ενός να ενισχύει τις αποκρίσεις έναντι του καρκίνου («ώθηση») και αφ' ετέρου να αντισταθμίζει ή να καταστέλλει τους αρνητικούς ανοσολογικούς ρυθμιστές («αφαίρεση», εικ. 3).

Πίνακας 3. Συνδυασμοί μονοκλωνικών αντισωμάτων συζευγμένων με φθορίζουσες χρωστικές που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της MRD σε δείγματα μυελού των οστών ασθενών με πολλαπλούν μυέλωμα.

Φθορίζουσα χρωστική	FITC	PE	PerCP-Cy5-5	Pacific blue	AmCyan	PE-Cy7	APC	APC-Cy7
mAbs έναντι επιφανειακών δεικτών	CD38	CD56	CD45	CD138	CD27	CD19	CD117	CD81
mAbs έναντι επιφανειακών και ενδοκυτταρικών δεικτών	CD38	CD56	CD45	CD138	CD27	CD19	Kappa	Lambda



Εικόνα 3. Η προσέγγιση ώθησης-αφαίρεσης θα μπορούσε να βελτιώσει σημαντικά την αντικαρκινική ανοσία. Η επιλογή του κατάλληλου καρκινικού αντιγόνου ενεργοποιεί δραστικές αντικαρκινικές ανοσοαποκρίσεις, οι οποίες θα μπορούσαν να ενισχυθούν περαιτέρω μέσω διαφόρων προσεγγίσεων (π.χ. από συνδιεγερτικά μόρια, «ώθηση»). Οι επαγόμενες αντικαρκινικές αποκρίσεις μπορούν στη συνέχεια να ενισχυθούν και να διατηρηθούν, αναστέλλοντας τους αρνητικούς ρυθμιστές (π.χ. CTLA-4, «αφαίρεση») και οδηγώντας σε αποτελεσματικές ανοσοθεραπευτικές παρεμβάσεις.

Ως προς το μέλλον της ανοσοθεραπείας του καρκίνου, τα επόμενα έτη θα πρέπει να εστιάσουμε σε πιο εξειδικευμένα ζητήματα, όπως στην ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών, στη βελτίωση της ελεγχόμενης και κατευθυνόμενης μεταφοράς των φαρμάκων, στην εκμετάλλευση της συνέργειας διαφορετικών θεραπευτικών πρωτοκόλλων, στη διεύρυνση του ρεπερτορίου των στοχευμένων θεραπειών μέσω της ανακάλυψης νέων φαρμάκων και μορίων, τα οποία να στοχεύουν πολλαπλά μοριακά μονοπάτια. Ωστόσο, πρέπει επίσης να επενδύσουμε στην ανακάλυψη

προβλεπτικών/προγνωστικών καρκινικών βιοδεικτών, οι οποίοι να μπορούν πρώιμα και αξιόπιστα να καθοδηγήσουν τη θεραπευτική επιλογή. Με αυτόν τον τρόπο, οι ασθενείς με καρκίνο που πρόκειται να ωφεληθούν από ανοσοθεραπευτικές παρεμβάσεις θα μπορούν να επιλέγονται έγκαιρα και να λαμβάνουν την κατάλληλη θεραπεία, με στόχο την πλήρη ίασή τους.

Χρηματοδότηση: Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (ΙΚΥ), DAAD, ΙΚΥΔΑ 61/2003, ΙΚΥΔΑ 165/2010, REGPOT-CT-2011-284460 INSPiRE

ABSTRACT

The role of immunotherapy in cancer treatment

A. ARGYRIOU, P. ROUSAKIS, N. PAPAIOANNOU, O. BENIATA, P. VITSOS, I. KOSTOPOULOS, O. TSITSILONIS, P. SAMARA

Section of Animal and Human Physiology, Department of Biology, School of Science, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2018, 35(3):337–350

Cancer immunotherapy uses the immune system and its components to mount an anti-tumor response. The two main axes of cancer immunotherapeutics are passive and active forms of treatment. Examples of passive immunotherapy include administration of monoclonal antibodies and cytokines, and adoptive cell transfer of *ex vivo* “edu-

cated" immune cells. Active immunotherapy comprises mainly anti-cancer vaccines (peptide, dendritic cell-based and allogeneic whole cell vaccines), immune checkpoint inhibitors and oncolytic viruses. This is a review of the currently most popular approaches to cancer immunotherapy, with discussion of their clinical relevance, derived from data from clinical trials. To date, clinical experience and efficacy assessment in clinical trials suggest that a combination of more than one immunotherapeutic interventions, in conjunction with other established treatment options, such as chemotherapy, radiotherapy and targeted or epigenetic therapy, can significantly improve the clinical outcome and quality of life of patients with cancer, and prolong their survival considerably.

Key words: Cancer immunotherapy, Checkpoint inhibitors, Dendritic cells (DCs), Monoclonal antibodies (mAbs), Peptide vaccines

Βιβλιογραφία

- KOEBEL CM, VERMI W, SWANN JB, ZERFAFA N, RODIG SJ, OLD LJ ET AL. Adaptive immunity maintains occult cancer in an equilibrium state. *Nature* 2007, 450:903–907
- PAPAIOANNOU NE, BENIATA OV, VITSOS P, TSITSILONIS O, SAMARA P. Harnessing the immune system to improve cancer therapy. *Ann Transl Med* 2016, 4:261
- RACILA E, LINK BK, WENG WK, WITZIG TE, ANSELL S, MAURER MJ ET AL. A polymorphism in the complement component C1qA correlates with prolonged response following rituximab therapy of follicular lymphoma. *Clin Cancer Res* 2008, 14:6697–6703
- DUNKELBERGER JR, SONG WC. Complement and its role in innate and adaptive immune responses. *Cell Res* 2010, 20:34–50
- LUNDIN J, KIMBY E, BJÖRKHOLM M, BROLIDEN PA, CELSING F, HJALMAR V ET AL. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Blood* 2002, 100:768–773
- ALBERT ML, SAUTER B, BHARDWAJ N. Dendritic cells acquire antigen from apoptotic cells and induce class I-restricted CTLs. *Nature* 1998, 392:86–89
- BROSS PF, BEITZ J, CHEN G, CHEN XH, DUFFY E, KIEFFER L ET AL. Approval summary: Gemtuzumab ozogamicin in relapsed acute myeloid leukemia. *Clin Cancer Res* 2001, 7:1490–1496
- ALDERSON RF, TOKI BE, ROBERGE M, GENG W, BASLER J, CHIN R ET AL. Characterization of a CC49-based single-chain fragment-beta-lactamase fusion protein for antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). *Bioconjug Chem* 2006, 17:410–418
- MALEFANT SJ, ECKMANN KR, BARNETT CM. Pertuzumab: A new targeted therapy for HER2-positive metastatic breast cancer. *Pharmacotherapy* 2014, 34:60–71
- ELLIS LM, HICKLIN DJ. VEGF-targeted therapy: Mechanisms of anti-tumour activity. *Nat Rev Cancer* 2008, 8:579–591
- RECH AJ, VONDERHEIDE RH. Clinical use of anti-CD25 antibody daclizumab to enhance immune responses to tumor antigen vaccination by targeting regulatory T cells. *Ann N Y Acad Sci* 2009, 1174:99–106
- SURYADEVARA CM, GEDEON PC, SANCHEZ-PEREZ L, VERLA T, ALVAREZ-BRECKENRIDGE C, CHOI BD ET AL. Are BiTEs the "missing link" in cancer therapy? *Oncoimmunology* 2015, 4:e1008339
- BELARDELLI F, FERRANTINI M, PROIETTI E, KIRKWOOD JM. Interferon-alpha in tumor immunity and immunotherapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 2002, 13:119–134
- GAFFEN SL, LIU KD. Overview of interleukin-2 function, production and clinical applications. *Cytokine* 2004, 28:109–123
- AKAZA H, TSUKAMOTO T, FUJIOKA T, TOMITA Y, KITAMURA T, OZONO S ET AL. Combined immunotherapy with low-dose IL-2 plus IFN-alpha for metastatic renal cell carcinoma: Survival benefit for selected patients with lung metastasis and serum sodium level. *Jpn J Clin Oncol* 2011, 41:1023–1030
- SCHWARTZENTRUBER DJ, LAWSON DH, RICHARDS JM, CONRY RM, MILLER DM, TREISMAN J ET AL. gp100 peptide vaccine and interleukin-2 in patients with advanced melanoma. *N Engl J Med* 2011, 364:2119–2127
- LEONARD JP, SHERMAN ML, FISHER GL, BUCHANAN LJ, LARSEN G, ATKINS MB ET AL. Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12-associated toxicity and interferon-gamma production. *Blood* 1997, 90:2541–2548
- ROOK AH, WOOD GS, YOO EK, ELENITSAS R, KAO DM, SHERMAN ML ET AL. Interleukin-12 therapy of cutaneous T-cell lymphoma induces lesion regression and cytotoxic T-cell responses. *Blood* 1999, 94:902–908
- YOUNES A, PRO B, ROBERTSON MJ, FLINN IW, ROMAGUERA JE, HAGEMEISTER F ET AL. Phase II clinical trial of interleukin-12 in patients with relapsed and refractory non-Hodgkin's lymphoma and Hodgkin's disease. *Clin Cancer Res* 2004, 10:5432–5438
- LITTLE RF, PLUDA JM, WYVILL KM, RODRIGUEZ-CHAVEZ IR, TOSATO G, CATANZARO AT ET AL. Activity of subcutaneous interleukin-12 in AIDS-related Kaposi sarcoma. *Blood* 2006, 107:4650–4657
- ROSENBERG SA, YANG JC, SHERRY RM, KAMMULA US, HUGHES MS, PHAN GQ ET AL. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2011, 17:4550–4557
- JOHNSON LA, MORGAN RA, DUDLEY ME, CASSARD L, YANG JC, HUGHES MS ET AL. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood* 2009, 114:535–546
- ESHAR Z, WAKS T, GROSS G, SCHINDLER DG. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90:720–724
- PEGRAM HJ, LEE JC, HAYMAN EG, IMPERATO GH, TEDDERT F, SADELAIN M ET AL. Tumor-targeted T cells modified to secrete IL-12 eradicate systemic tumors without need for prior condition-

- ing. *Blood* 2012, 119:4133–4141
25. ZHANG L, KERKAR SP, YU Z, ZHENG Z, YANG S, RESTIFO NP ET AL. Improving adoptive T cell therapy by targeting and controlling IL-12 expression to the tumor environment. *Mol Ther* 2011, 19:751–759
 26. HAJI-FATAHALIHA M, HOSSEINI M, AKBARIAN A, SADREDDINI S, JADIDI-NIARAGH F, YOUSEFI M. CAR-modified T-cell therapy for cancer: An updated review. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2016, 44:1339–1349
 27. KLEBANOFF CA, ROSENBERG SA, RESTIFO NP. Prospects for gene-engineered T cell immunotherapy for solid cancers. *Nat Med* 2016, 22:26–36
 28. CARPENITO C, MILONE MC, HASSAN R, SIMONET JC, LAKHAL M, SUHOSKI MM ET AL. Control of large, established tumor xenografts with genetically retargeted human T cells containing CD28 and CD137 domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009, 106:3360–3365
 29. DI STASI A, DE ANGELIS B, ROONEY CM, ZHANG L, MAHENDRAVADA A, FOSTER AE ET AL. T lymphocytes coexpressing CCR4 and a chimeric antigen receptor targeting CD30 have improved homing and antitumor activity in a Hodgkin tumor model. *Blood* 2009, 113:6392–6402
 30. PARENTE-PEREIRA AC, BURNET J, ELLISON D, FOSTER J, DAVIES DM, VAN DER STEGEN S ET AL. Trafficking of CAR-engineered human T cells following regional or systemic adoptive transfer in SCID beige mice. *J Clin Immunol* 2011, 31:710–718
 31. JUILLERAT A, MARECHAL A, FILHOL JM, VALTON J, DUCLERT A, POIROT L ET AL. Design of chimeric antigen receptors with integrated controllable transient functions. *Sci Rep* 2016, 6:18950
 32. TIMMERMAN JM, LEVY R. Cancer vaccines: Pessimism in check. *Nat Med* 2004, 10:1279
 33. BANCHEREAU J, STEINMAN RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998, 392:245–252
 34. OBEID J, HU Y, SLINGLUFF CL Jr. Vaccines, adjuvants, and dendritic cell activators – current status and future challenges. *Semin Oncol* 2015, 42:549–561
 35. OPHIR E, BOBISSE S, COUKOS G, HARARI A, KANDALAFI LE. Personalized approaches to active immunotherapy in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2016, 1865:72–82
 36. KOIDO S, HOMMA S, OKAMOTO M, NAMIKI Y, TAKAKURA K, UCHIYAMA K ET AL. Strategies to improve the immunogenicity of anticancer vaccines based on dendritic cell/malignant cell fusions. *Oncoimmunology* 2013, 2:e25994
 37. DE GRUIJL TD, VAN DEN EERTWEGH AJ, PINEDO HM, SCHEPER RJ. Whole-cell cancer vaccination: From autologous to allogeneic tumor- and dendritic cell-based vaccines. *Cancer Immunol Immunother* 2008, 57:1569–1577
 38. LE DT, PARDOLL DM, JAFFEE EM. Cellular vaccine approaches. *Cancer J* 2010, 16:304–310
 39. BUCHBINDER E, HODI FS. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 and immune checkpoint blockade. *J Clin Invest* 2015, 125:3377–3383
 40. KEIR ME, BUTTE MJ, FREEMAN GJ, SHARPE AH. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008, 26:677–704
 41. FRANCISCO LM, SAGE PT, SHARPE AH. The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev* 2010, 236:219–242
 42. WHERRY EJ. T cell exhaustion. *Nat Immunol* 2011, 12:492–499
 43. PARDOLL DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012, 12:252–264
 44. LARKIN J, CHIARION-SILENI V, GONZALEZ R, GROB JJ, COWEY CL, LAO CD ET AL. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015, 373:23–34
 45. HODI FS, O'DAY SJ, McDERMOTT DF, WEBER RW, SOSMAN JA, HAANEN JB ET AL. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010, 363:711–723
 46. RIBAS A, PUZANOV I, DUMMER R, SCHADENDORF D, HAMID O, ROBERT C ET AL. Pembrolizumab versus investigator-choice chemotherapy for ipilimumab-refractory melanoma (KEYNOTE-002): A randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2015, 16:908–918
 47. HUI R, GARON EB, GOLDMAN JW, LEIGHL NB, HELLMANN MD, PATNAIK A ET AL. Pembrolizumab as first-line therapy for patients with PD-L1-positive advanced non-small cell lung cancer: A phase 1 trial. *Ann Oncol* 2017, 28:874–881
 48. SAËDA-BOUZID E, DEFAUCHEUX C, KARABAJAKIAN A, PALOMAR COLOMA V, SERVOIS V, PAOLETTI X ET AL. Hyperprogression during anti-PD-1/PD-L1 therapy in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Oncol* 2017, doi: 10.1093/annonc/mdx178 [Epub ahead of print]
 49. CHEN R, ZINZANI PL, FANALE MA, ARMAND P, JOHNSON NA, BRICE P ET AL. Phase II study of the efficacy and safety of pembrolizumab for relapsed/refractory classic Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol* 2017, 35:2125–2132
 50. WEBER JS, D'ANGELO SP, MINOR D, HODI FS, GUTZMER R, NEYNS B ET AL. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): A randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2015, 16:375–384
 51. BRAHMER J, RECKAMP KL, BAAS P, CRINÒ L, EBERHARDT WE, PODDUBSKAYA E ET AL. Nivolumab versus docetaxel in advanced squamous-cell non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015, 373:123–135
 52. FERRIS RL, BLUMENSCHNEIN G JR, FAYETTE J, GUIGAY J, COLEVAS AD, LICITRA L ET AL. Nivolumab for recurrent squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 2016, 375:1856–1867
 53. MOTZER RJ, RINI BI, McDERMOTT DF, REDMAN BG, KUZELTM, HARRISON MR ET AL. Nivolumab for metastatic renal cell carcinoma: Results of a randomized phase II trial. *J Clin Oncol* 2015, 33:1430–1437
 54. HERBAUX C, GAUTHIER J, BRICE P, DRUMEZ E, YSEBAERT L, DOYEN H ET AL. Efficacy and tolerability of nivolumab after allogeneic transplantation for relapsed Hodgkin's lymphoma. *Blood* 2017, 129:2471–2478
 55. SHARMA P, RETZ M, SIEFKER-RADTKE A, BARON A, NECCHI A, BEDKE J ET AL. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (CheckMate 275): A multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2017, 18:312–322
 56. NING YM, SUZMAN D, MAHER VE, ZHANG L, TANG S, RICKS T ET AL. FDA approval summary: Atezolizumab for the treatment of patients with progressive advanced urothelial carcinoma after platinum-containing chemotherapy. *Oncologist* 2017,

- 22:743–749
57. JOTTE RM, SOCINSKI MA, RECK M, PAPADIMITRAKOPOULOU V, WEST HJ, MOK T ET AL. PS01.53: First-line atezolizumab plus chemotherapy in chemotherapy-naive patients with advanced NSCLC: A phase III clinical program: Topic: Medical oncology. *J Thorac Oncol* 2016, 11(Suppl 11):S302–S303
 58. KAUFMAN HL, RUSSELL J, HAMID O, BHATIA S, TERHEYDEN P, D'ANGELO SP ET AL. Avelumab in patients with chemotherapy-refractory metastatic Merkel cell carcinoma: A multicentre, single-group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2016, 17:1374–1385
 59. MASSARD C, GORDON MS, SHARMA S, RAFII S, WAINBERG ZA, LUKE J ET AL. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. *J Clin Oncol* 2016, 34:3119–3125
 60. WOLCHOK JD, KLUGER H, CALLAHAN MK, POSTOW MA, RIZVI NA, LESOKHIN AM ET AL. Nivolumab plus ipilimumab in advanced melanoma. *N Engl J Med* 2013, 369:122–133
 61. VAN DEN POL AN, DAVIS JN. Highly attenuated recombinant vesicular stomatitis virus VSV-12'GFP displays immunogenic and oncolytic activity. *J Virol* 2013, 87:1019–1034
 62. LIU BL, ROBINSON M, HAN ZQ, BRANSTON RH, ENGLISH C, REAY P ET AL. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther* 2003, 10:292–303
 63. GIL M, KOMOROWSKI MP, SESHADRI M, ROKITA H, McGRAY AJ, OPYRCHAL M ET AL. CXCL12/CXCR4 blockade by oncolytic virotherapy inhibits ovarian cancer growth by decreasing immunosuppression and targeting cancer-initiating cells. *J Immunol* 2014, 193:5327–5337
 64. ANDTBACKA RH, KAUFMAN HL, COLLICCHIO F, AMATRUDA T, SENZER N, CHESNEY J ET AL. Talimogene laherparepvec improves durable response rate in patients with advanced melanoma. *J Clin Oncol* 2015, 33:2780–2788
 65. QIAO J, WANG H, KOTTKE T, DIAZ RM, WILLMON C, HUDACEK A ET AL. Loading of oncolytic vesicular stomatitis virus onto antigen-specific T cells enhances the efficacy of adoptive T-cell therapy of tumors. *Gene Ther* 2008, 15:604–616
 66. ROJAS JJ, SAMPATH P, HOU W, THORNE SH. Defining effective combinations of immune checkpoint blockade and oncolytic virotherapy. *Clin Cancer Res* 2015, 21:5543–5551
 67. FERGUSON MS, LEMOINE NR, WANG Y. Systemic delivery of oncolytic viruses: Hopes and hurdles. *Adv Virol* 2012, 2012:805629
 68. IRVINE DJ, HANSON MC, RAKHRA K, TOKATLIAN T. Synthetic nanoparticles for vaccines and immunotherapy. *Chem Rev* 2015, 115:11109–11146
 69. KONO K, MIMURA K, KIESSLING R. Immunogenic tumor cell death induced by chemoradiotherapy: Molecular mechanisms and a clinical translation. *Cell Death Dis* 2013, 4:e688
 70. VATNER RE, COOPER BT, VANPOUILLE-BOX C, DEMARIA S, FORMENTIS C. Combinations of immunotherapy and radiation in cancer therapy. *Front Oncol* 2014, 4:325
 71. HENRY NL, HAYES DF. Cancer biomarkers. *Mol Oncol* 2012, 6:140–146
 72. NALEJSKA E, MAĆZYŃSKA E, LEWANDOWSKA MA. Prognostic and predictive biomarkers: Tools in personalized oncology. *Mol Diagn Therapy* 2014, 18:273–284
 73. CABEL L, PROUDHON C, GORTAIS H, LOIRAT D, COUSSY F, PIERGA JY ET AL. Circulating tumor cells: Clinical validity and utility. *Int J Clin Oncol* 2017, 22:421–430
 74. RAJKUMAR SV, DIMOPOULOS MA, PALUMBO A, BLADE J, MERLINI G, MATEOS MV ET AL. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014, 15:e538–e548
 75. FLORES-MONTERO J, DE TUTE R, PAIVA B, PEREZ JJ, BÖTTCHER S, WIND H ET AL. Immunophenotype of normal vs myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma. *Cytometry B Clin Cytom* 2016, 90:61–72
- Corresponding author:*
- P. Samara, Section of Animal and Human Physiology, Department of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Panepistimioupolis, 157 84 Athens, Greece
e-mail: psamara@biol.uoa.gr