

Adoptivní imunoterapie: Pohled onkologie solidních nádorů

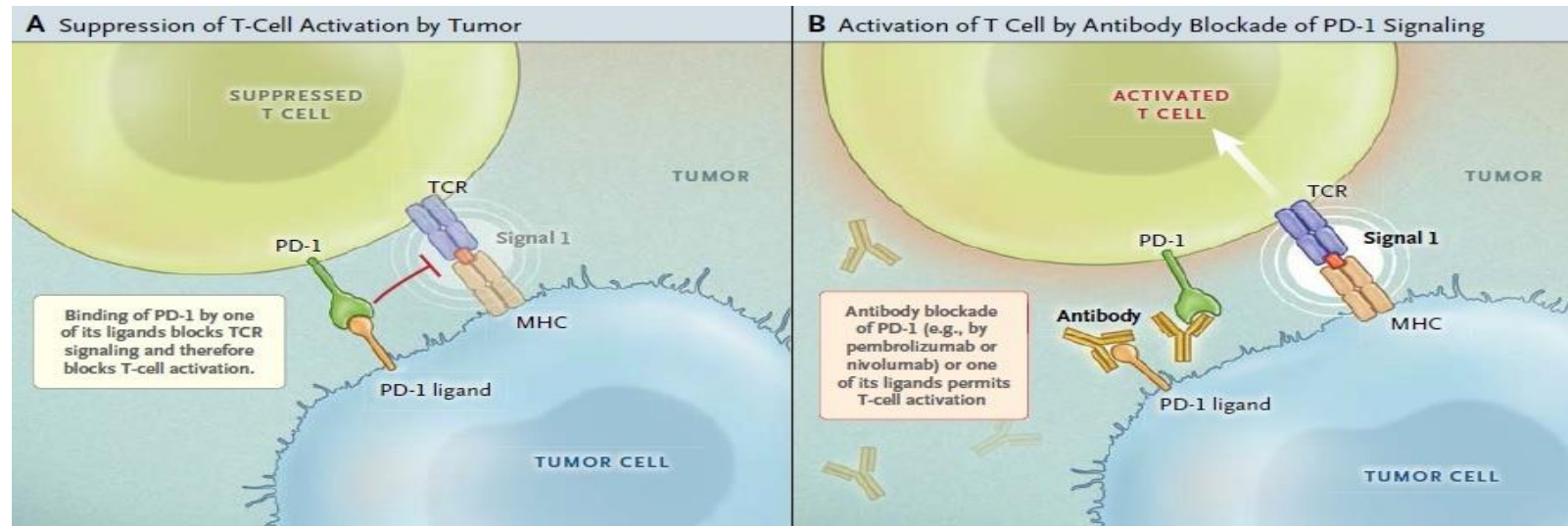
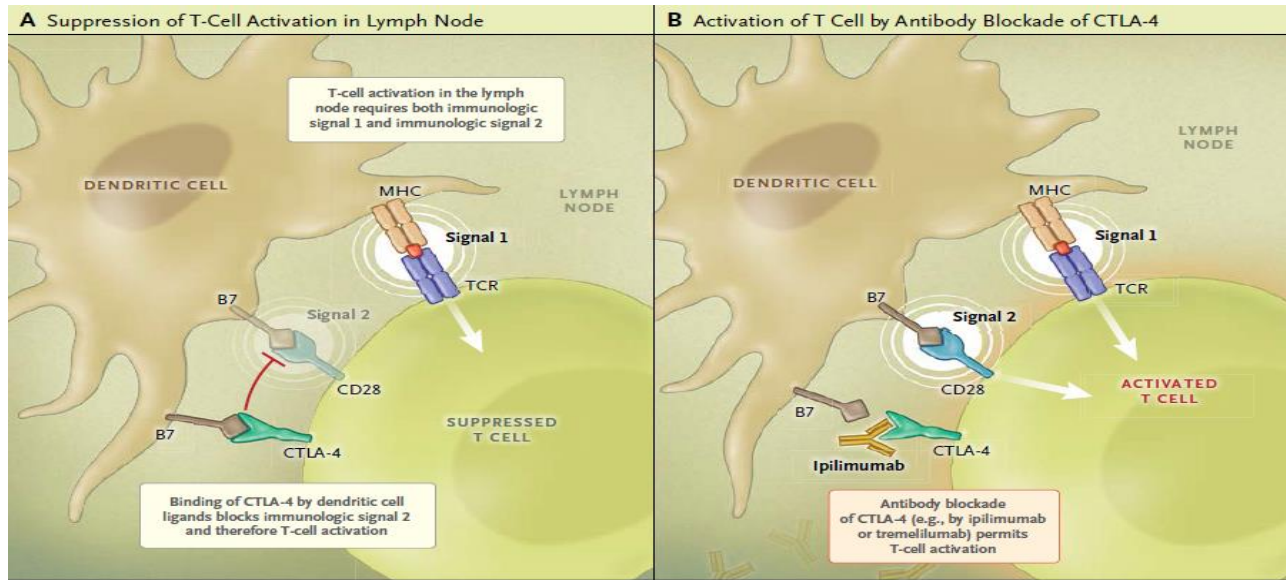
Bohuslav Melichar

Onkologická klinika, Lékařská fakulta UP a FN Olomouc

Immune checkpoints



Cíle současné imunoterapie



Protilátky proti kontrolním bodům imunitní odpovědi

PD-1/PD-L1

- Nivolumab
- Pembrolizumab
- Atezolizumab
- Avelumab
- Durvalumab
- Cemiplimab

CTLA-4

- ipilimumab

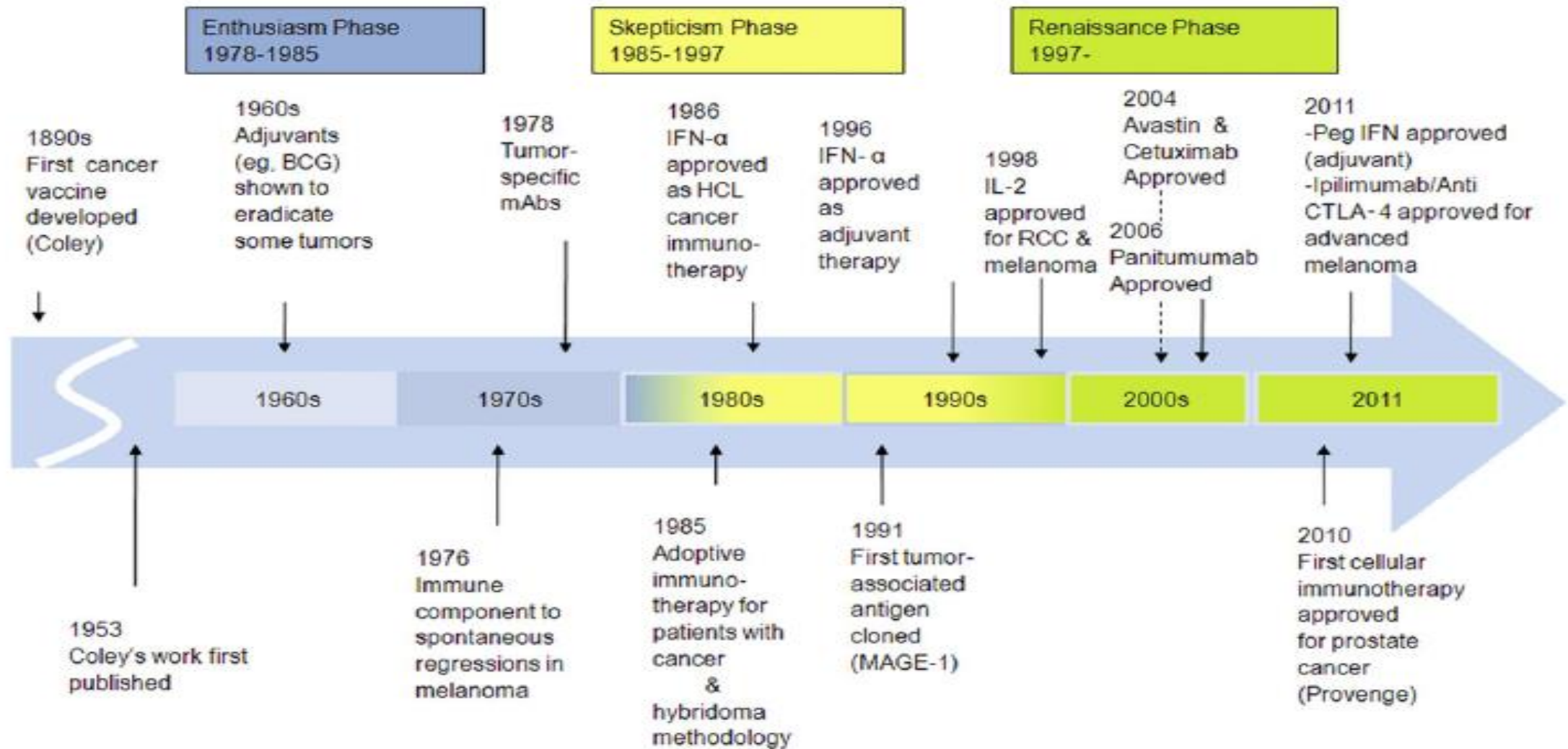
LAG-3

- relatlimab

Imunoterapie

- monoklonální protilátky zaměřené na regulační mechanismy imunitní odpovědi
- aktivní specifická – vakcíny
- aktivní nespecifická – cytokiny (IL-2, IFN- α , IFN- γ , IL-12, GM-CSF)
- pasivní – monoklonální protilátky
- **adoptivní imunoterapie**

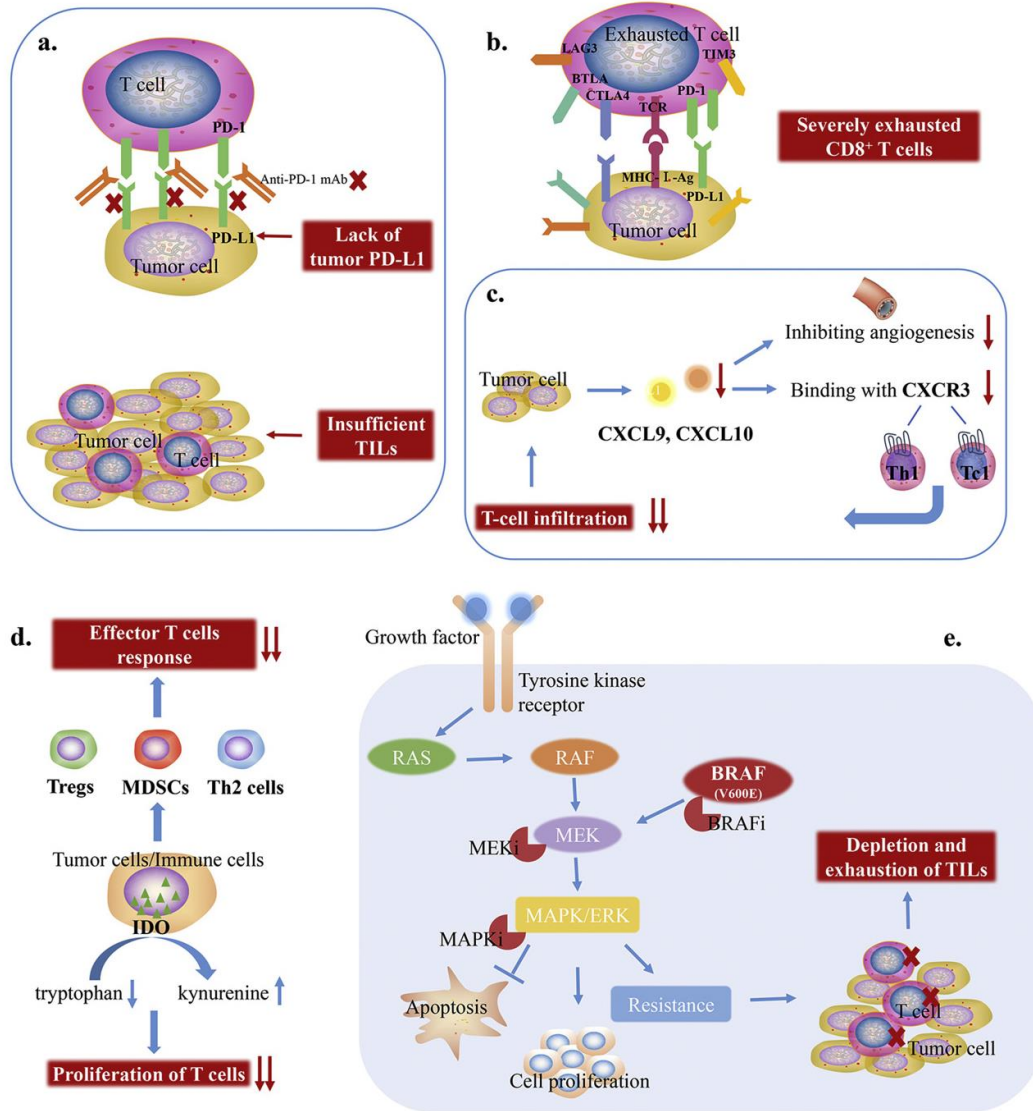
Vývoj imunoterapie



Adoptivní imunoterapie v éře inhibitorů kontrolních bodů imunitní odpovědi

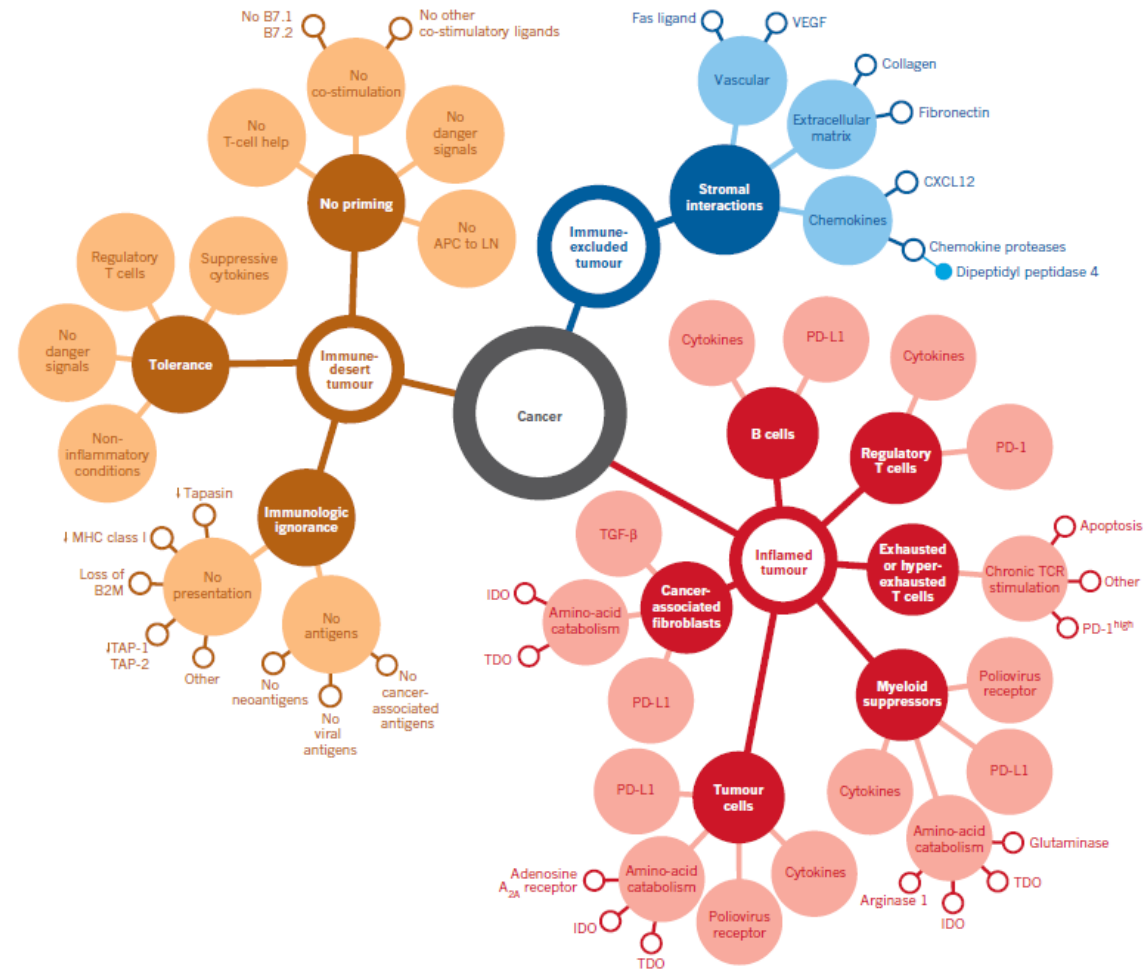
- ICI jsou ve většině případů nádorových onemocnění neúčinné
- Podání ex vivo expandovaných efektorů může kompenzovat inherentní deficit
- Příchod CAR-T buněk do léčby hematologických malignit
- Dochází k renesanci technologií používaných s přestávkami několik desítek let

Mechanisms primary resistance in tumor microenvironment



- Absence TIL nebo exprese PD-L1
- Vyčerpání CD8 T-lymfocytů
- Epigenetické umlčení CXCL9 a CXCL10
- Regulační T-lymfocyty
- Myeloid derived supressor cells
- Indoleamin 2,3-dioxygenáza
- Imunitní změny spojené s rezistencí na inhibitory MAPK
- Innate anti-PD-1 resistance signatures

Cancer-immune phenotypes



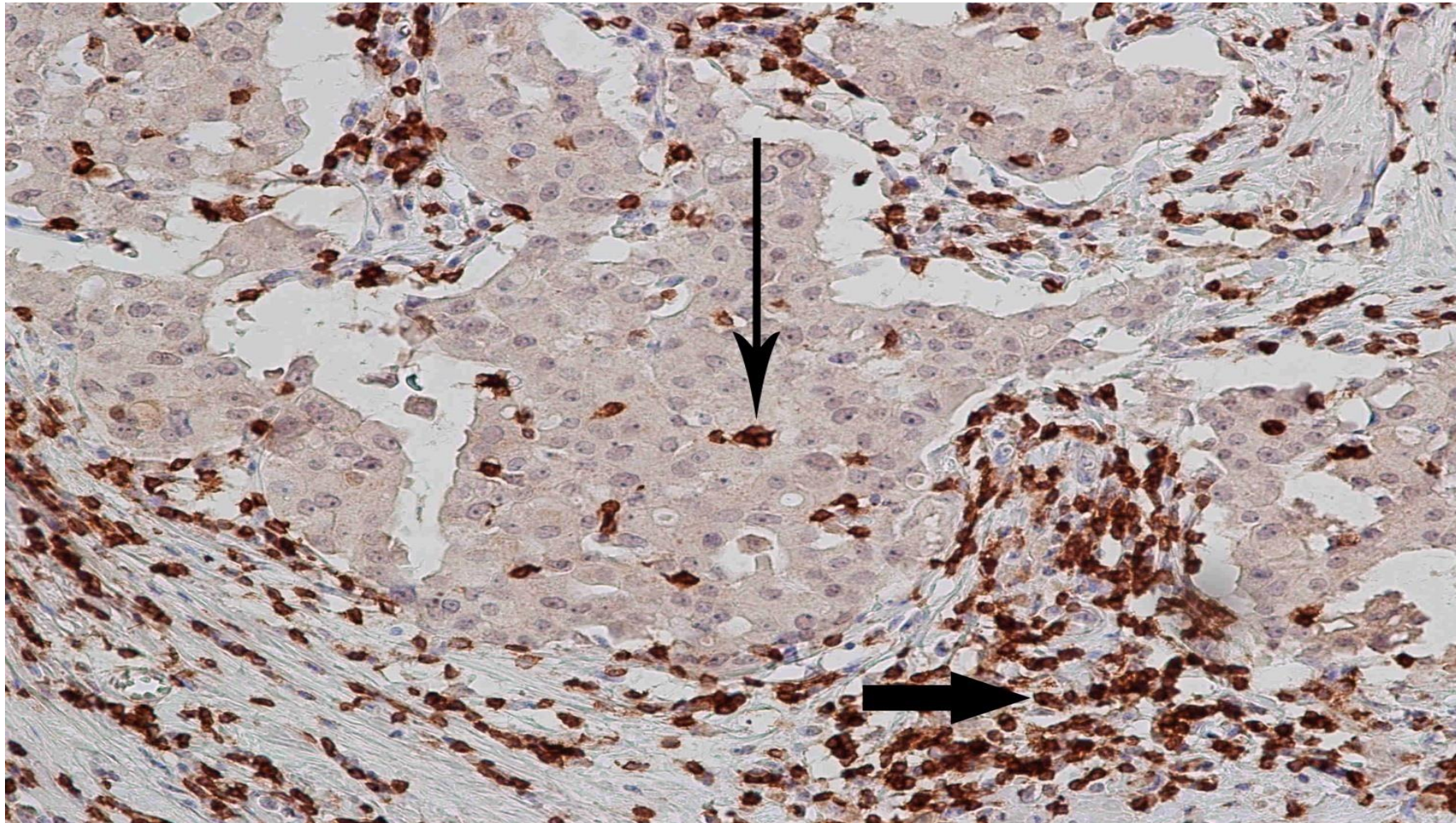
Přístupy adoptivní imunoterapie

- Tumor infiltruující lymfocyty (TIL)
- Lymphokine-activated killer (LAK) buňky
- Alogenní transplantace kmenových buněk krvetvorby
- Nemyeloablativní transplantace
- Autologní transplantace kmenových buněk krvetvorby
- CAR-T buňky
- T-buňky s geneticky upraveným receptorem
- Vakcíny z dendritických buněk
- Aktivované makrofágy
- Možnost regionální aplikace jako doplňku nebo alternativy systémového podání

Tumor infiltrující lymfocyty (TIL)

- V různé míře přítomny napříč spektrem nádorových onemocnění
- Převážně T-lymfocyty
- Rozlišujeme stromální a intraepiteliální TIL
- Různá exprese PD-1 i PD-L1
- Možnost izolace a kultivace in vitro
- Možnost podání expandovaných TIL

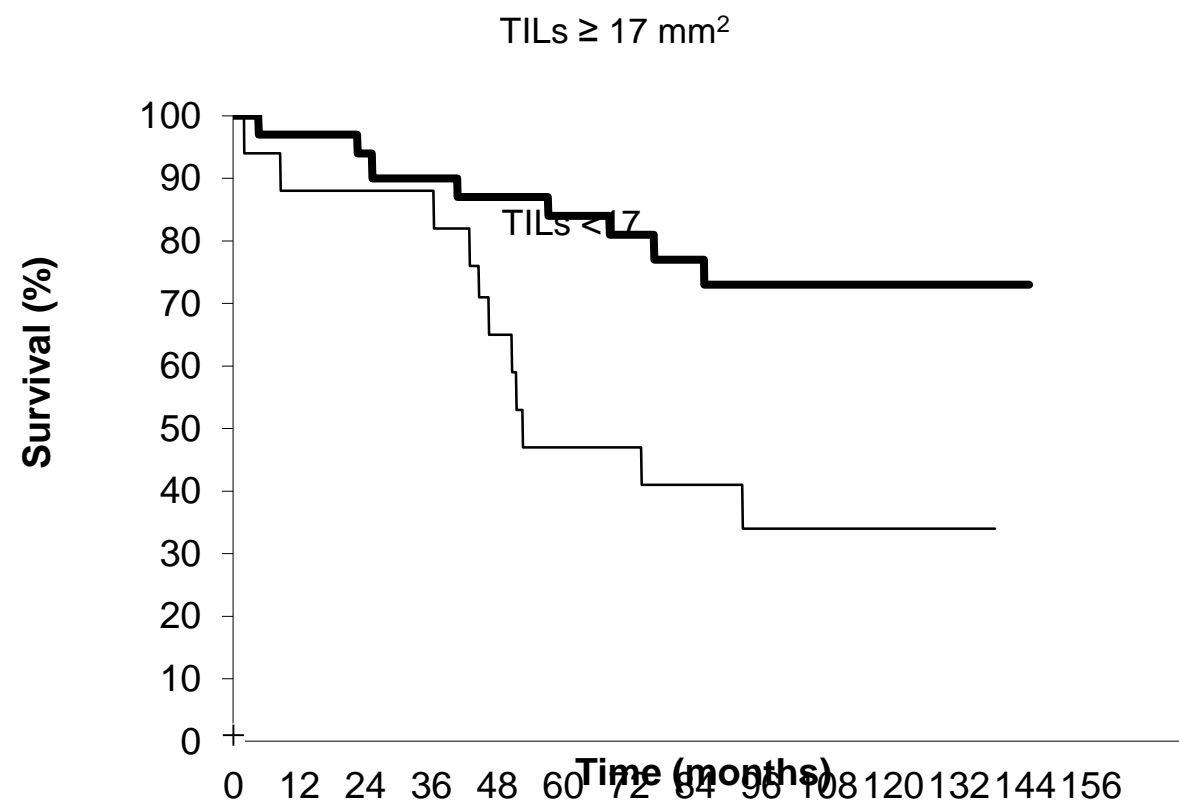
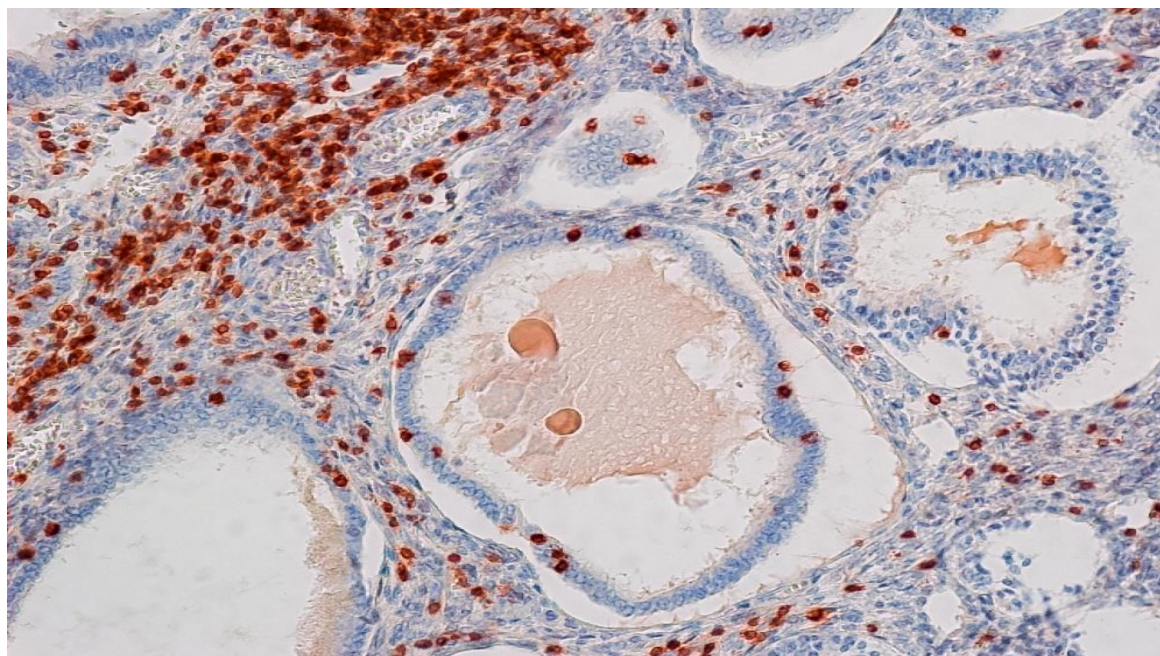
Intraepiteliální a stromální tumor infiltrující lymfocyty u karcinomu prsu



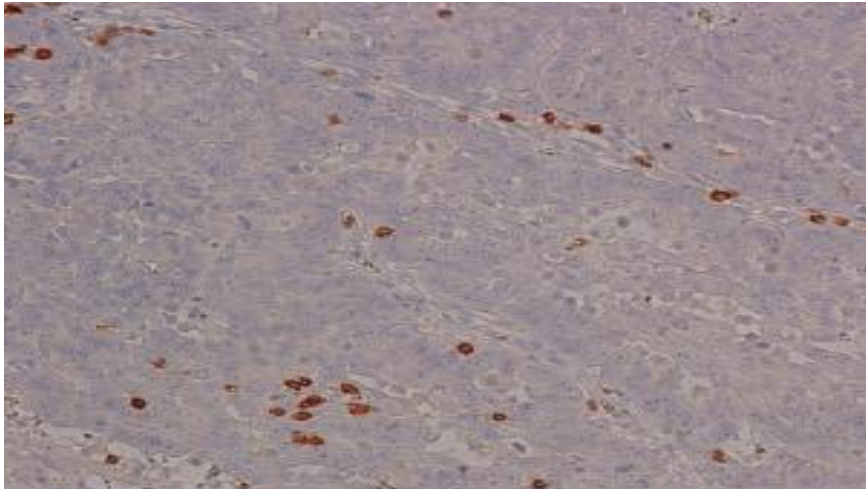
Tumor infiltrující lymfocyty jako prediktivní ukazatel patologické kompletní odpovědi u nemocných s karcinomem prsu

Parameter	pCR (n = 10)	no pCR (n = 63)	p value
Grade (score)	2.3 ± 0.7	2.4 ± 0.6	0.53
p53 (score)	1.5 ± 1.3	0.6 ± 0.9	0.01
p53 (%)	31 ± 38	13 ± 27	0.03
Estrogen receptor (IRS—range, 0–12)	5 ± 5	5 ± 5	0.80
Progesterone receptor (IRS—range, 0–12)	1 ± 3	4 ± 4	0.01
HER-2 (score—range, 0–3)	1.1 ± 1.2	1.0 ± 1.0	0.84
Ki-67 (%)	36 ± 26	26 ± 20	0.30
Tumor cellularity (%)	57 ± 25	47 ± 21	0.22
Stromal fat (%)	11 ± 10	11 ± 15	0.41
VEGF in tumor cells (score)	2.0 ± 1.2	2.1 ± 0.9	0.91
VEGF in stromal cells (score)	2.3 ± 1.3	2.8 ± 0.7	0.18
CD31 ⁺ capillaries (per HPF)	6 ± 2	5 ± 2	0.09
CD105 ⁺ capillaries (per HPF)	3 ± 3	4 ± 2	0.70
CD34 ⁺ capillaries (per HPF)	7 ± 2	7 ± 3	0.85
SMA ⁺ capillaries (per HPF)	0.3 ± 0.7	0.7 ± 1.1	0.41
Intraepithelial CD68 ⁺ histiocytes (maximum per HPF)	27 ± 53	7 ± 8	0.18
Intraepithelial CD68 ⁺ histiocytes (mean per HPF)	13 ± 23	3 ± 5	0.11
Stromal CD68 ⁺ histiocytes (maximum per HPF)	151 ± 142	127 ± 92	0.93
Stromal CD68 ⁺ histiocytes (mean per HPF)	59 ± 50	48 ± 41	0.47
Intraepithelial CD3⁺ lymphocytes (maximum per HPF)	14 ± 14	5 ± 7	0.004
Intraepithelial CD3⁺ lymphocytes (mean per HPF)	7 ± 8	2 ± 3	0.05
Stromal CD3 ⁺ lymphocytes (maximum per HPF)	263 ± 251	213 ± 162	0.76
Stromal CD3 ⁺ lymphocytes (mean per HPF)	34 ± 30	46 ± 51	0.61
Intraepithelial CD56 ⁺ cells (maximum per HPF)	0 ± 0	0 ± 0	0.69
Intraepithelial CD56 ⁺ cells (mean per HPF)	0 ± 0	0 ± 0	1.00
Stromal CD56 ⁺ cells (maximum per HPF)	1.2 ± 3.8	0.3 ± 1.1	0.90
Stromal CD56 ⁺ cells (mean per HPF)	0.1 ± 0.2	0 ± 0	0.13
Intraepithelial CD83⁺ cells (maximum per HPF)	0.8 ± 1.6	0.1 ± 0.6	0.02
Intraepithelial CD83 ⁺ cells in tumor (mean per HPF)	0.1 ± 0.2	0 ± 0.1	0.32
Stromal CD83 ⁺ cells (maximum per HPF)	3.8 ± 3.9	3.3 ± 5.7	0.25
Stromal CD83 ⁺ cells (mean per HPF)	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.9	0.60
Intraepithelial CD1a ⁺ cells (maximum per HPF)	0.6 ± 1.9	2.1 ± 5.3	0.50
Intraepithelial CD1a ⁺ cells (mean per HPF)	0.3 ± 1.1	0.5 ± 2.1	0.99
Stromal CD1a ⁺ cells (maximum per HPF)	1.3 ± 3.5	0.7 ± 2.1	0.96
Stromal CD1a ⁺ cells (mean per HPF)	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.4	0.83
Intraepithelial S100 ⁺ cells (maximum per HPF)	0 ± 0	0.2 ± 0.8	0.31
Intraepithelial S100 ⁺ cells (mean per HPF)	0 ± 0	0 ± 0.1	0.69
Stromal S100 ⁺ cells (maximum per HPF)	0.4 ± 1.0	1.7 ± 7.7	0.93
Stromal S100 ⁺ cells (mean per HPF)	0 ± 0	0.1 ± 0.4	0.48

Prognostická role tumor infiltrujících lymfocytů u karcinomu endometria



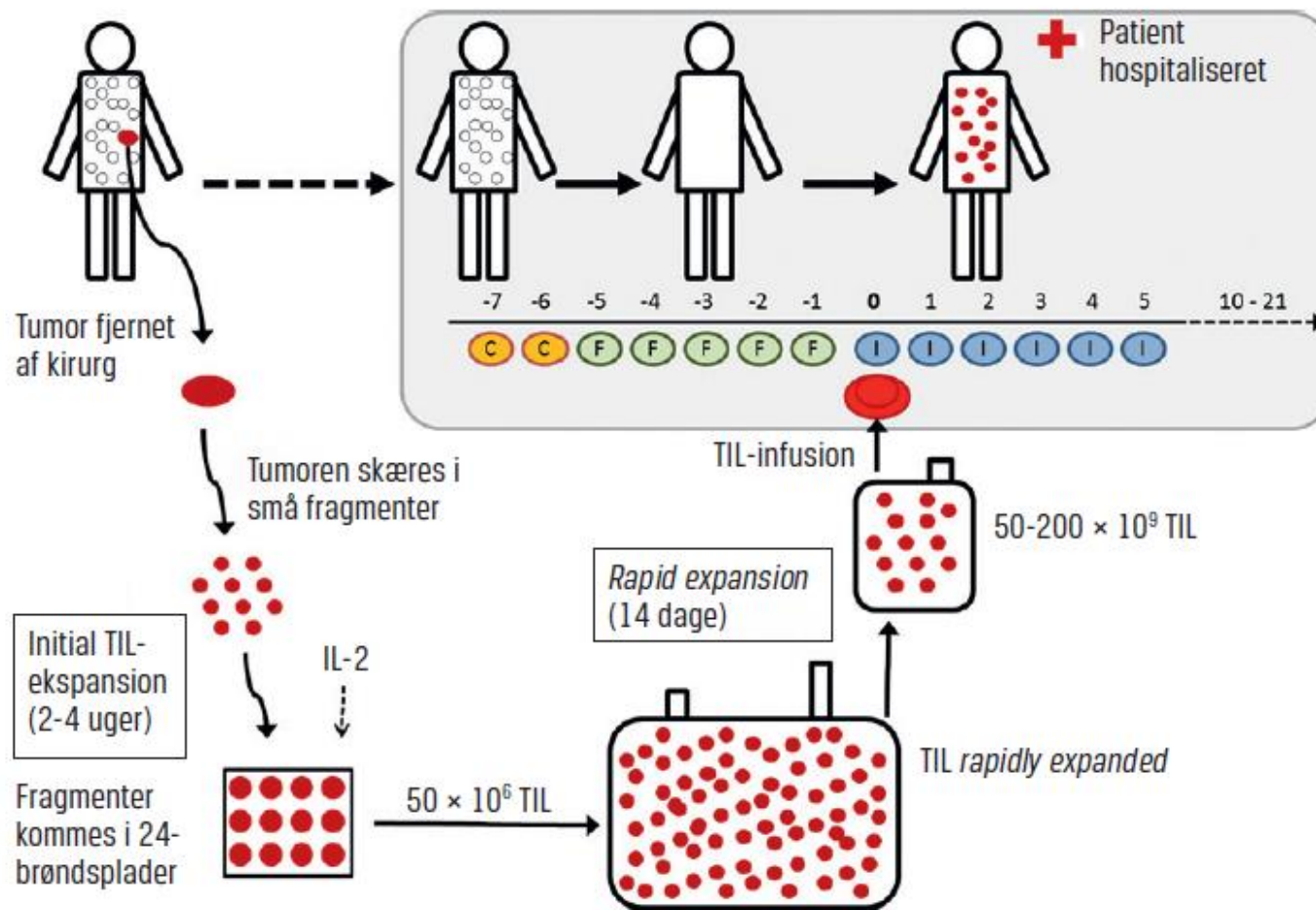
Prognostický význam tumor infiltrujících lymfocytů u karcinomu ovaria



Multivariate analysis of overall survival

Variable	Hazard ratio	95% confidence intervals	<i>P</i>
Progesterone receptors (expressed vs. not expressed)	0.40	0.22–0.70	0.002
Stage (III/IV vs. I/II)	5.25	2.01–13.69	0.001
Optimal cytoreduction (more than 2 cm vs. less)	3.04	1.72–5.36	0.0001
Intraepithelial TIL (higher than 125 lymphocytes/mm ² vs. lower)	0.27	0.15–0.50	0.00001

Schéma přípravy TIL



Výsledky kombinace adoptivní imunoterapie (LAK buňky) a IL-2 (NCI)

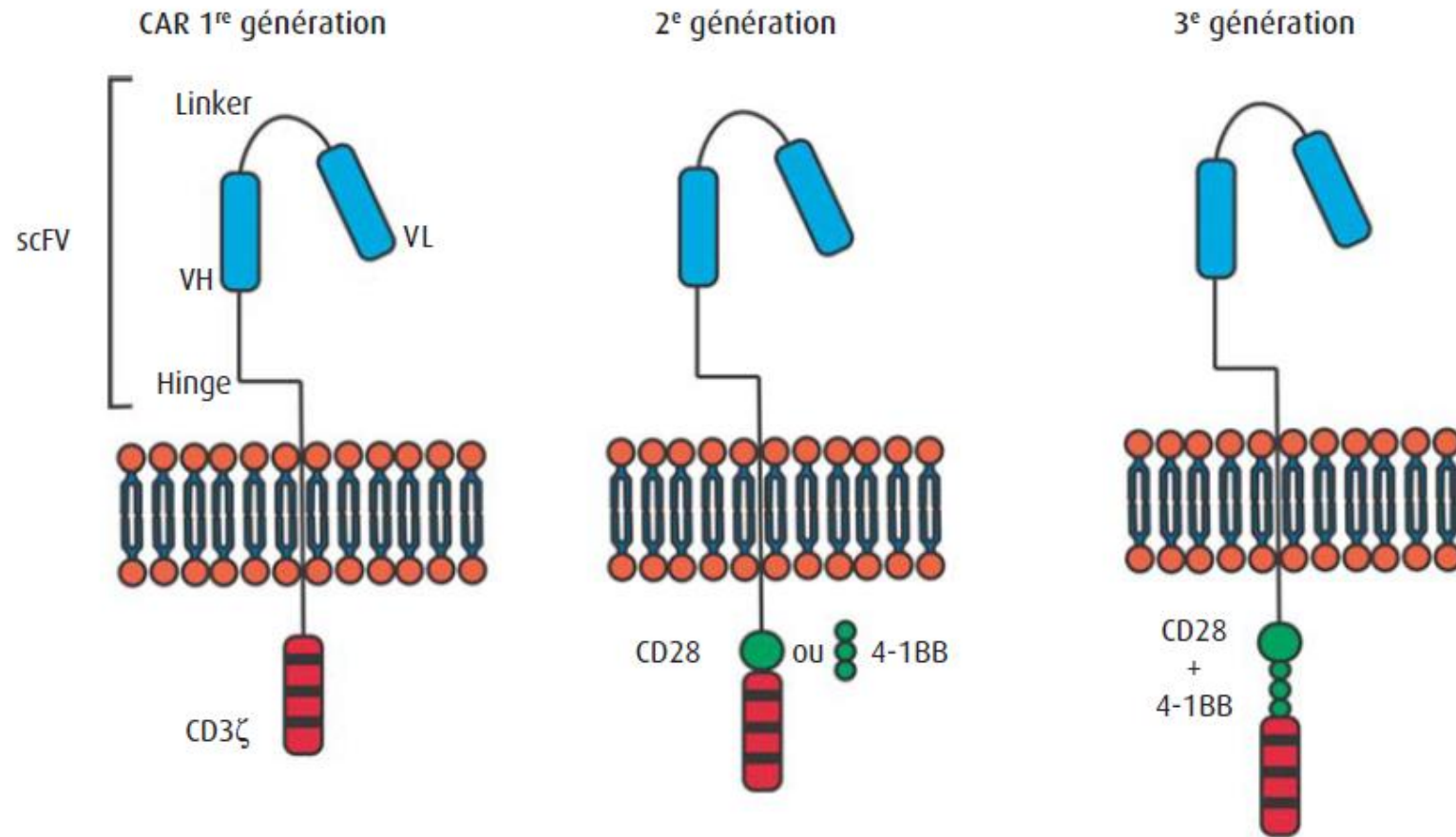
diagnosa	n	CR	PR	% CR + PR
renální karcinom	72	8	17	35
melanom	48	4	6	21
kolorektální karcinom	30	1	4	17
NHL	7	1	3	57
sarkomy	6	0	0	0
karcinom plic	5	0	0	0
jiné	9	0	0	0

Rosenberg et al. Ann Surg 1989, 210, 474-485

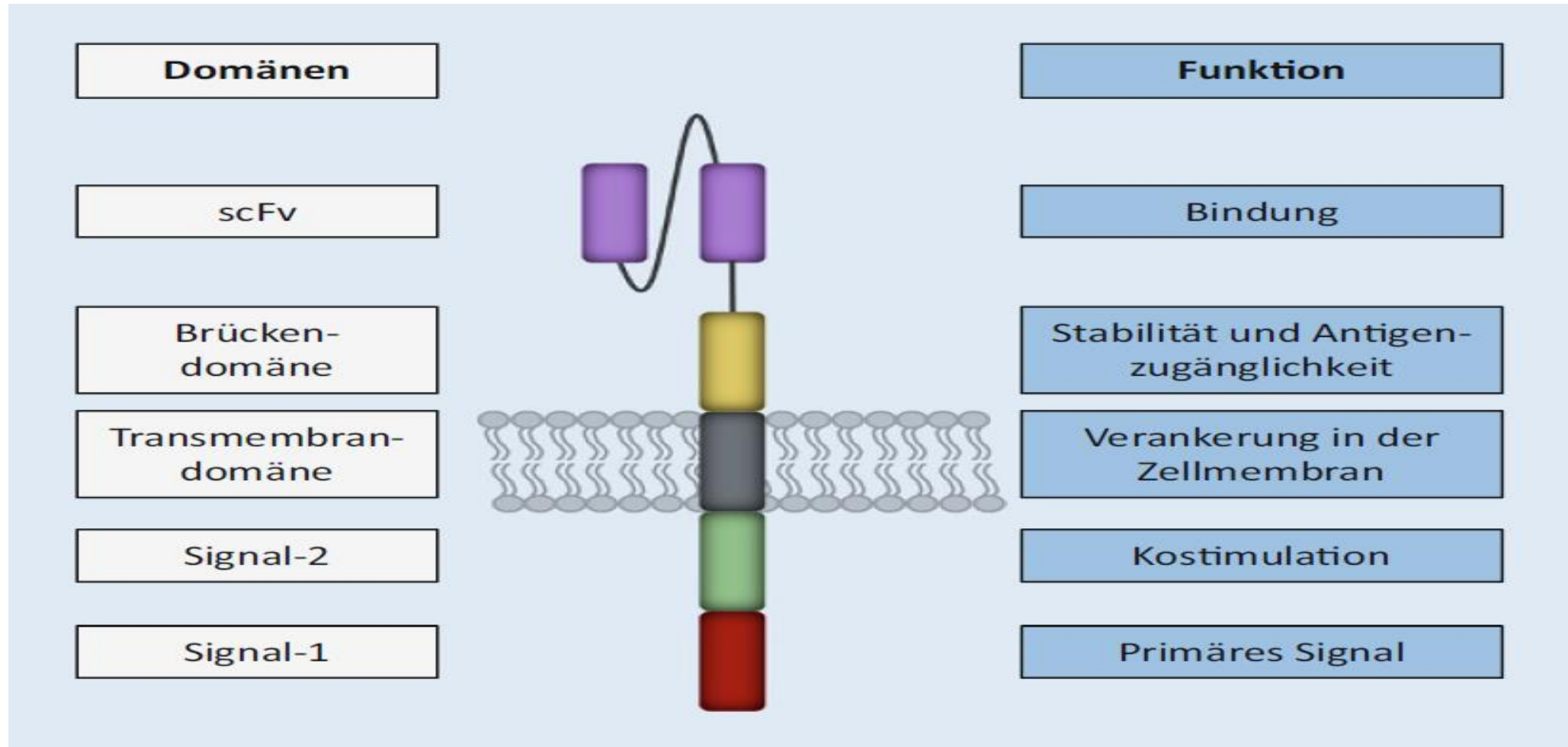
Nemyeloablativní alogenní transplantace periferních kmenových buněk

- cyklofosfamid (60 mg/kg) den -7 a -6, fludarabin (25 mg/m²) den -5, -4, -3, -2 a -1
- Následuje podání perif.kmen.buněk od HLA identických dárců
- 19 pacientů, mortalita na zákrok 2, 8 zemřelo na progresi, regrese onemocnění u 10 pacientů (3 kompletní odpověď)
- regrese metastáz opožděná (median 129 dní po transplantaci)

Chimeric antigen receptor T-cells (CAR-T)



Chimerický antigenní receptor 2. generace

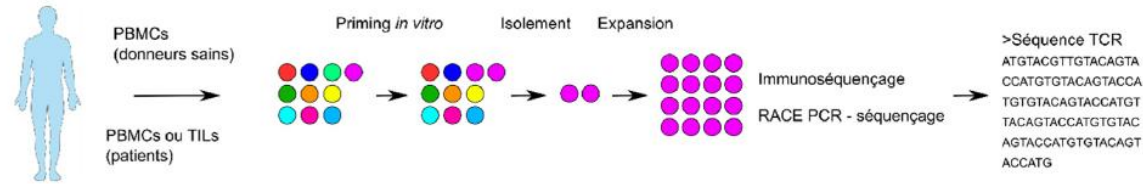


Problémy CAR-T buněk u solidních nádorů

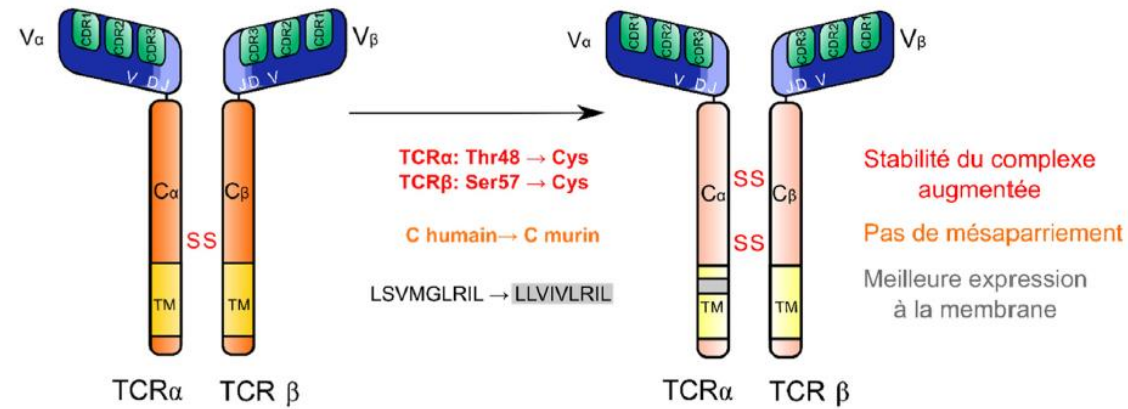
- Omezené na povrchové antigeny
- Nutná relativně vysoká hustota antigenu (1000 na buňku)
- Heterogenita nádorových antigenů
- Průnik CAR-T buněk do nádoru
- Imunosupresivní mikroprostředí nádoru

T-buňky s geneticky upraveným receptorem

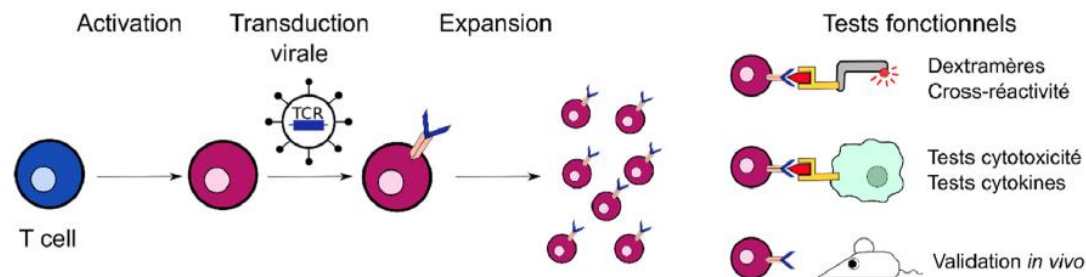
A



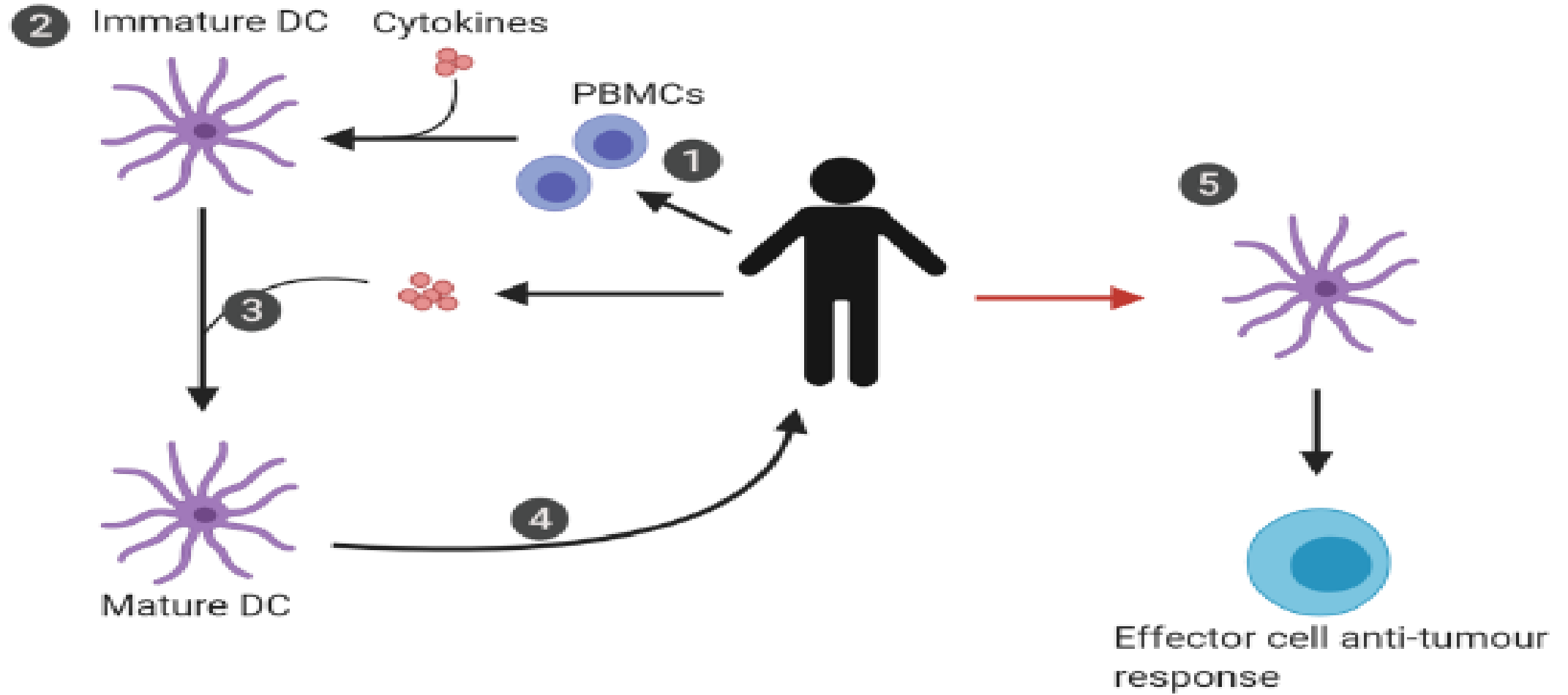
B






C

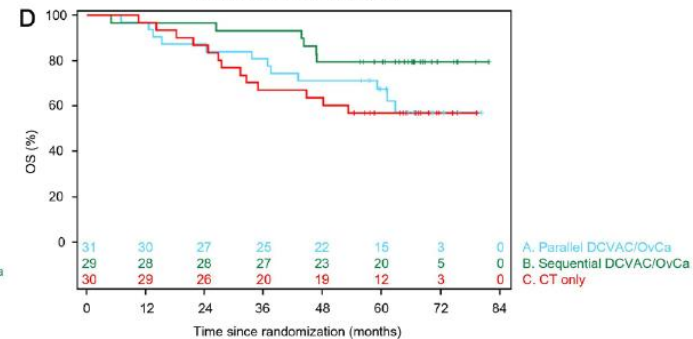
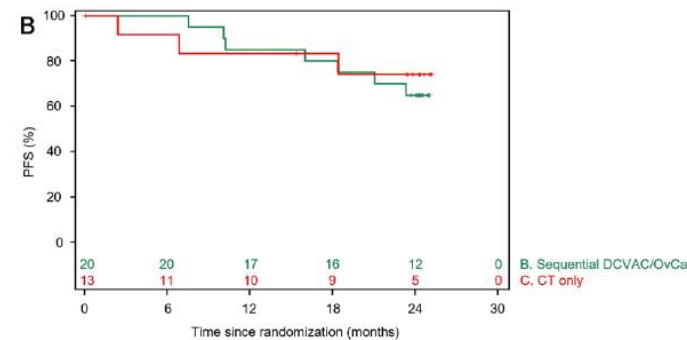
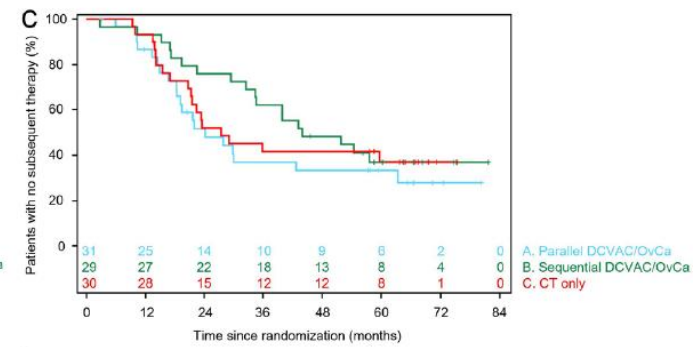
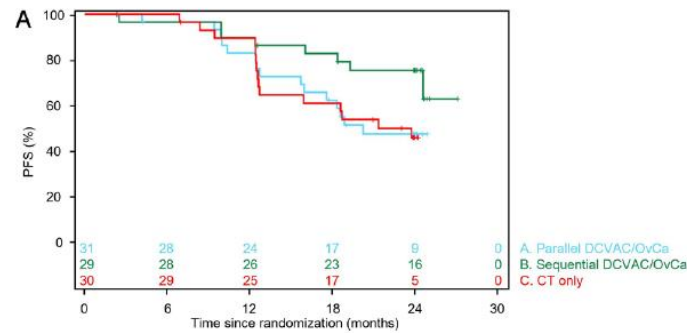


Vakcíny dendritických buněk



Safety and efficacy of dendritic cell-based immunotherapy DCVAC/OvCa added to first-line chemotherapy (carboplatin plus paclitaxel) for epithelial ovarian cancer: a phase 2, open-label, multicenter, randomized trial

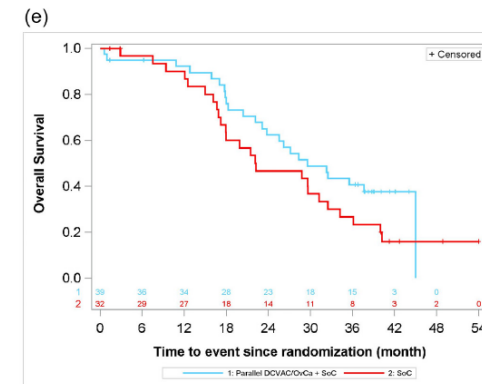
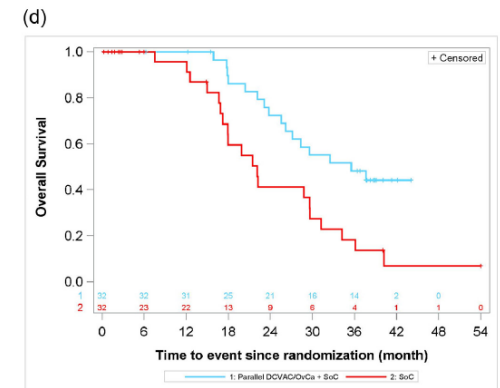
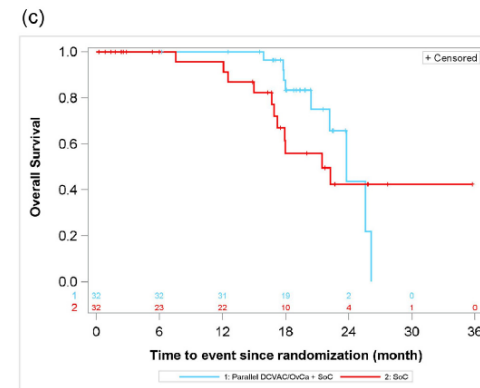
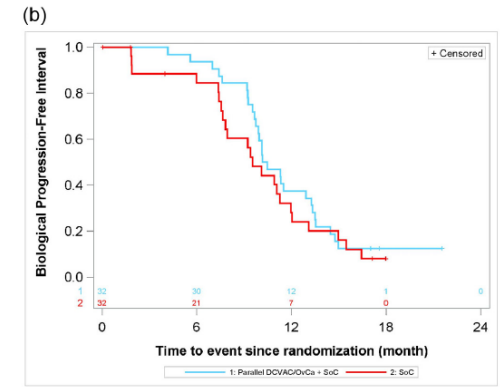
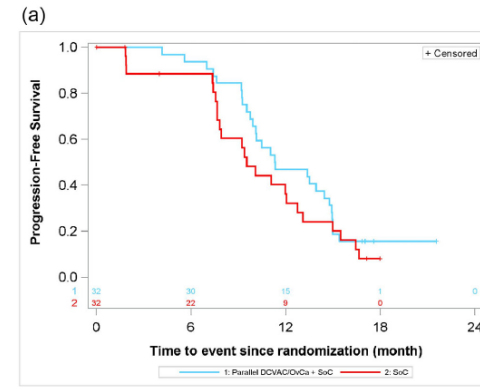
Lukas Rob,¹ David Cibula ,² Pawel Knapp,³ Peter Mallmann,⁴ Jaroslav Klat,⁵ Lubos Minar,⁶ Pavel Bartos,⁷ Josef Chovanec,⁸ Petr Valha,⁹ Marek Pluta,¹⁰ Zdenek Novotny,¹¹ Jiri Spacek,¹² Bohuslav Melichar,¹³ Dariusz Kieszko,¹⁴ Jitka Fucikova ,^{15,16} Tereza Hrnčiarova,^{2,16} Roman Pawel Korolkiewicz ,¹⁶ Marek Hraska,¹⁶ Jirina Bartunkova,¹⁶ Radek Spisek¹⁶





Dendritic cell-based immunotherapy (DCVAC/OvCa) combined with second-line chemotherapy in platinum-sensitive ovarian cancer (SOV02): A randomized, open-label, phase 2 trial

David Cibula ^{a,*}, Lukas Rob ^b, Peter Mallmann ^c, Pawel Knapp ^d, Jaroslav Klat ^e, Josef Chovanec ^f, Lubos Minar ^g, Bohuslav Melichar ^h, Alexander Hein ⁱ, Dariusz Kieszko ^j, Marek Pluta ^k, Jiri Spacek ^l, Pavel Bartos ^m, Pauline Wimberger ⁿ, Radoslaw Madry ^o, Janina Markowska ^o, Joanna Streb ^p, Petr Valha ^q, Hariz Iskandar Bin Hassan ^r, Ladislav Pecan ^{r,s}, Lorenzo Galluzzi ^{t,u,v,w,x}, Jitka Fucikova ^r, Tereza Hrnciarova ^{a,r}, Marek Hraska ^r, Jirina Bartunkova ^r, Radek Spisek ^r

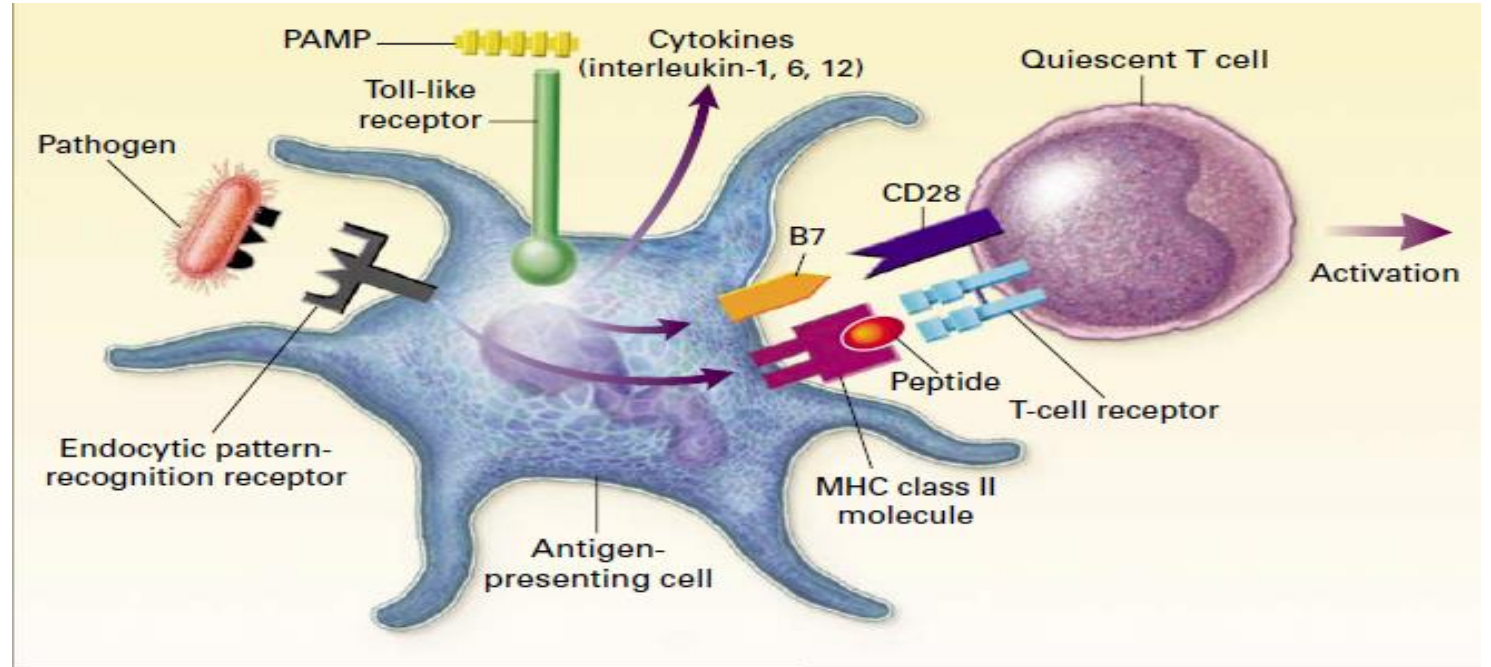
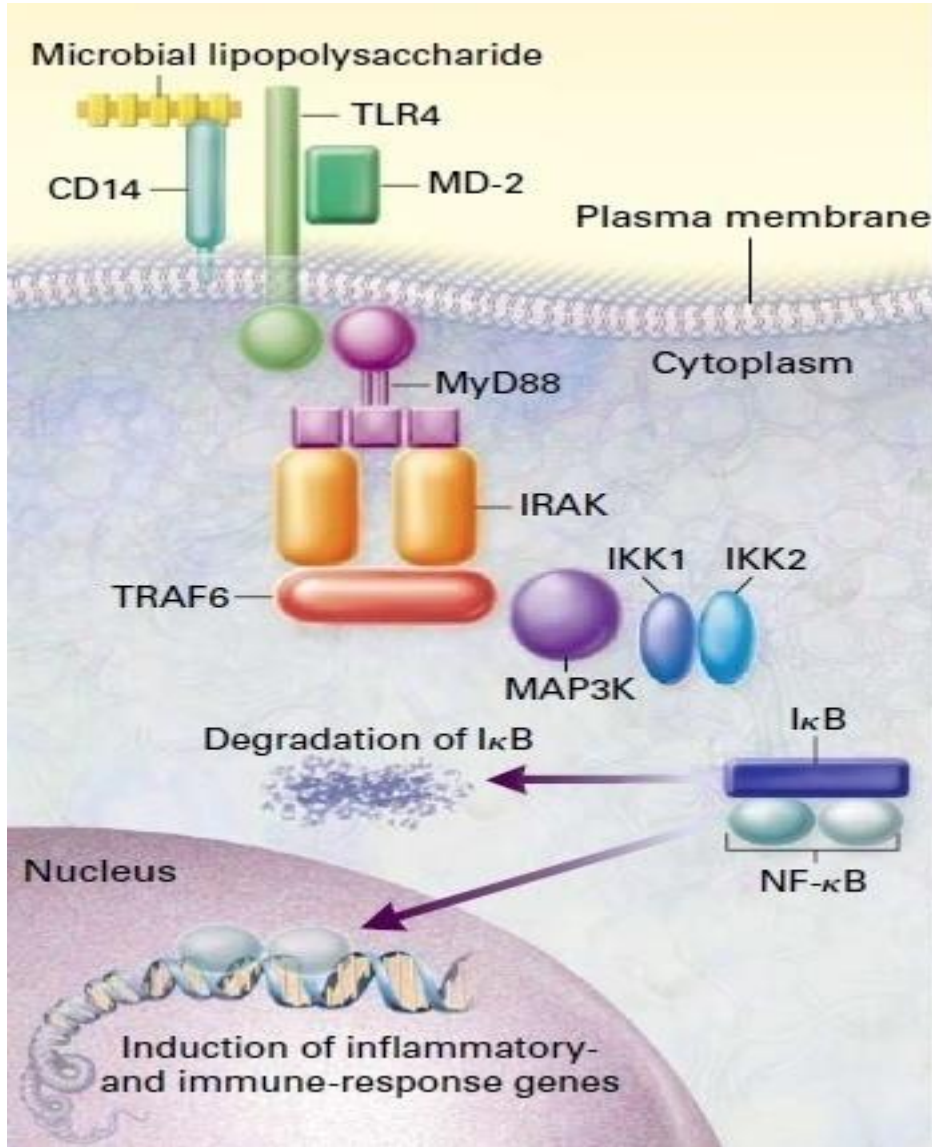


Dva pilíře imunity

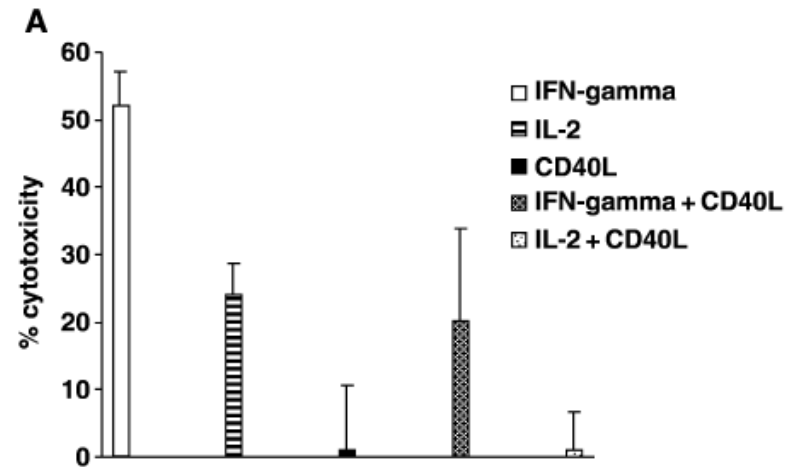


- Vrozená imunita
- Adaptivní imunita

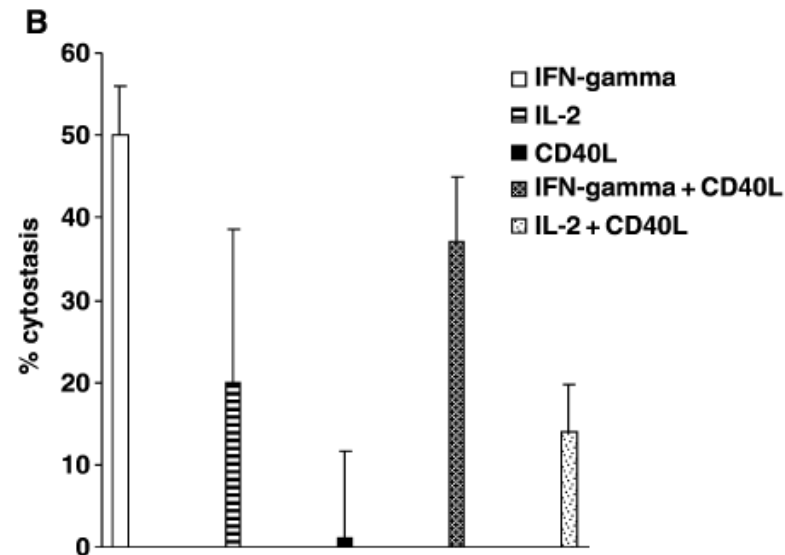
Pattern-recognition receptors



Cytotoxic and cytostatic activity of peritoneal macrophages in patients with ovarian cancer



Treatment	Cytotoxicity (mean ± SD ^b)	Cytostasis (mean ± SD ^b)
IFN- γ (500 U/ml)	53 ± 20	56 ± 12
IL-2 (600 U/ml)	44 ± 22	16 ± 36
IL-12 (1000 U/ml)	<15	<15
GM-CSF (1000 U/ml)	<15	<15
TNF- α (100 ng/ml)	<15	<15
CD40L (50 ng/ml)	<15	<15
paclitaxel (1.5 ng/ml)	<15	<15



Regionální podání adoptivní imunoterapie

- Intraperitoneální podání
- Podání cestou arteria hepatica
- Intratekální podání

Výsledky regionální adoptivní imunoterapie I.

- 9 pacientů s metastatickým postižením jater (kolorektální karcinom 4, maligní melanom 1, karcinom prsu 2, renální karcinom 1, neznámé primární ložisko 1), progresse po 2-3 liniích předchozí terapie
- 6 x podány aktivované monocyty (event. v kombinaci s i.a. melfalanem), 4 x aktivované lymfocyty
- leukaferézou získáno 23.1×10^9 buněk, zhruba stejné množství následně podáno (48 ± 12 % monocytů, viabilita kolem 90 %)
- změna fenotypu v případě monocytů (vzestup $CD14^+CD38^+$ a $CD13^+CD33^+$), nikoliv v případě lymfocytů (krátká doba aktivace)

Výsledky regionální adoptivní imunoterapie II.

- reprodukovatelná cytotoxicita naproti tomu pozorována pouze v případě aktivovaných lymfocytů (až 50 %)
- dobrá tolerance – jediným významnějším účinkem horečka II. stupně dle WHO (do 40° C)
- pokles nádorových markerů (CEA, CA15-3) o 50 % u 2 nemocných (kolorektální karcinom, karcinom prsu) léčených kombinací i.a. melfalanu a aktivovaných monocytů/lymfocytů

Závěr

- S příchodem ICI se zvýšil i zájem o další modality imunoterapie
- Adoptivní imunoterapie je přístupem s prokázanou aktivitou u solidních nádorů
- Překážkou širšího použití je velmi náročná logistika
- Data jsou převážně z malých studií, často retrospektivních
- Širšímu uplatnění nových technologií brání heterogenita solidních nádorů co se týče antigenů i vlastní tkáně
- Otázkou pro příští klinické studie zůstává kombinace s ICI

Děkuji za pozornost

bohuslav.melichar@fnol.cz