

Imunoterapie karcinomu prostaty

Michal Podrazil^{1,2}, Radek Špíšek^{1,2}, Jiřina Bartůňková^{1,2}

¹Ústav imunologie UK 2. LF a FN v Motole, Praha

²SOTIO a.s., Praha

Karcinom prostaty patří mezi nejčastější nádorová onemocnění u mužů. Současné vědecké poznatky zejména v oblasti molekulární imunologie vedou k lepšímu porozumění interakce mezi imunitním systémem a nádory, a tím umožňují identifikaci strategických imunoterapeutických cílů uplatňujících se ve vývoji nových protinádorových léků. Právě imunoterapie se kromě klasické hormonální terapie, radioterapie a chemoterapie jeví jako další perspektivní léčebná modalita u karcinomu prostaty. V článku je podán přehled současných imunoterapeutických přístupů, které jsou v klinickém hodnocení u karcinomu prostaty.

Klíčová slova: karcinom prostaty, imunitní systém, imunoterapie.

Immunotherapy for prostate cancer

Prostate cancer is one of the most common cancers in men. Advances in the field of molecular immunology are leading to a deeper understanding of the interactions between the immune system and cancer, allowing identification of new targets in the immune system and resulting in the development of new anticancer agents. Immunotherapy is emerging as another promising treatment modality in prostate cancer in addition to classic hormonal therapy, radiotherapy and chemotherapy. The aim of this review is to present an overview of current immunotherapeutic approaches, which are being clinically tested in the management of prostate cancer.

Key words: prostate cancer, immune system, immunotherapy.

Karcinom prostaty

Karcinom prostaty je jednou z nejčastějších malignit u mužů. Podle statistických údajů je nejčastějším nádorovým onemocněním mužů v rozvinutých zemích, kdy v těchto zemích v roce 2012 tvořil 28 % všech nově diagnostikovaných nádorů a po karcinomu plic je druhou nejčastější příčinou úmrtí z onkologických příčin. V USA ročně onemocní kolem 240 000 mužů a 33 000 jich na tuto diagnózu zemře, v Evropě je ročně nových případů přes 400 000 s 92 000 úmrtí. Dle údajů Národního onkologického registru z roku 2013 činil počet nově zachycených karcinomů prostaty v ČR 134,5 případů na 100 000 mužů a úmrtnost 29 případů na 100 000 mužů. V absolutních číslech to znamená, že v roce 2013 bylo odhaleno 6 846 mužů s tímto nádorem a 1 472 mužů na tuto diagnózu zemřelo. Asi 15 %

nemocných má již v době stanovení diagnózy generalizované onemocnění. Dochází k trvalému zvyšování výskytu zhoubného nádoru prostaty: zatímco prevalence v roce 2013 v České republice byla 47 890 případů, pro rok 2016 se předpokládá výskyt až 63 424 pacientů s touto diagnózou – to představuje nárůst o 32 %. Mezi léčebné možnosti karcinomu prostaty patří chirurgická léčba (radikální prostatektomie), radioterapie, hormonální léčba a chemoterapie. Kurativně lze karcinom prostaty léčit ve fázi lokálního postižení. Přes dobré dlouhodobé výsledky radikální prostatektomie nebo primární radioterapie část pacientů recidivuje. Rizikovými faktory relapsu jsou zejména Gleasonovo skóre, stadium a hodnota PSA v době diagnózy. Významným prognostickým faktorem po biochemické recidivě je tzv. čas do zdvojení PSA (PSADT, PSA

doubling time). Pacienti s krátkým PSADT (méně než 3 měsíce) mají vyšší riziko časnějšího vzniku metastáz a zvýšenou mortalitu než pacienti s dlouhým PSADT (nad 12 měsíců) (1). U pacientů s lokálně pokročilým karcinomem prostaty je metodou volby také operace nebo radioterapie, obvykle v kombinaci s hormonální terapií. Pacienti s metastazujícím karcinomem jsou kandidáty pro androgenní deprivaci, ať již chirurgickou nebo farmakologickou. Androgenní deprivace vede k apoptóze buněk primárního tumoru i případných metastáz. Průměrný čas přežití bez progresu u pacientů léčených androgenní deprivací se pohybuje mezi 18–24 měsíci a medián celkového přežití je 24–36 měsíců (2). Při hormonální léčbě totiž dochází k progresi choroby, a to v důsledku nekontrolovaného růstu hormon-independentních buněk nádoru.



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Michal Podrazil, Ph.D., Michal.Podrazil@fnmotol.cz

Ústav imunologie UK 2. LF a FN v Motole, Praha, V Úvalu 84, 150 05 Praha

Převzato z: Urol. praxi 2016; 17(4): 159–166

Metastatický kastračně rezistentní karcinom prostaty (mCRPC) je definován přítomností kostních nebo jiných vzdálených metastáz a kontinuálním nárůstem PSA, ke kterému dochází i přes androgenní deprivaci (3). Medián přežití u těchto pacientů je bez další léčby přibližně 15–25 měsíců. Další léčebnou možností je chemoterapie. Na základě velkých randomizovaných studií je doporučeným léčebným postupem podávání docetaxelu v třítydenních intervalech, u kterého byl prokázán statisticky významný vliv na celkové přežití (prodloužení mediánu přežití o 2,9 měsíce – z 16,3 na 19,2 měsíce) (4).

V posledních letech se terapeutické možnosti značně rozšířily a lze použít řadu nově schválených léků, které prokázaly příznivý vliv na celkové přežití: léky zasahující do procesu androgenní deprivace – abirateron (Zytiga®, inhibitor enzymu CYP17A1 důležitého v procesu syntézy testosteronu v různých tkáních), enzalutamid (Xtandi®, antagonist androgenních receptorů), ev. lokální radioterapeutika – (Xofigo®, lokální radiofarmakum obsahující alfa zářič radium-223) pro nemocné se symptomatickými kostními metastázami, případně chemoterapeutikum II. linie – preparát kabazitaxel (Jevtana®, taxanové chemoterapeutikum) pro léčbu nemocných předléčených docetaxelem. Recentní výsledky studie FIRSTANA prezentované na ASCO 2016 neprokázaly, že by kabazitaxel byl účinnější ve srovnání s docetaxelem v první linii chemoterapie (5). Naopak abirateron a enzalutamid byly nedávno schváleny v použití i ve stadiu před chemoterapií. Výsledky studie PREVAIL s enzalutamidem prokázaly, že jeho podávání u chemo-naivních mCRPC pacientů snižuje riziko úmrtí ve srovnání s placebem, signifikantně oddaluje radiologickou progresi onemocnění (rPFS), oddaluje nutnost podání chemoterapie a zlepšuje kvalitu života nemocných (6). Abirateron byl hodnocen ve studii fáze III s názvem COU-AA-302 u podobné skupiny 1 088 chemo-naivních mCRPC pacientů, kdy primárním cílem bylo celkové přežití (OS) a doba do radiologické progresi. Ve výsledcích vyšel medián OS při podání abirateronu s prednisonem 34,7 měsíce v komparaci s prednisonem 30,3 měsíce. Doba do rPFS v kombinaci abirateron/prednison byla 16,5 měsíce, při podání samotného prednisonu pouze 8,2 měsíce. Doba do zahájení chemoterapie byla u abirateronu 25,2 měsíce, u monoterapie prednisonu 16,8 měsíce. Abirateron

redukoval riziko úmrtí o 21 % a riziko progresi o 48 % (7). Také autologní imunoterapeutický přípravek sipuleucel-T (Provenge®) je schválen k použití u pacientů chemo-naivních.

Právě imunoterapie se kromě hormonální terapie, radioterapie a chemoterapie jeví jako další perspektivní léčebná modalita u této diagnózy. Základní podmínkou pro interakci imunitního systému s nádorovými buňkami je existence nádorově specifických povrchových antigenů, které umožňují identifikaci nádorových buněk. Karcinom prostaty exprimuje významné nádorově asociované antigeny (PSA-prostatický specifický antigen, PSMA-prostatický specifický membránový antigen, PAP-prostatická kyselá fosfatáza), které lze v malé míře nalézt i na zdravých buňkách prostatické tkáně.

V další části článku je popsán princip imunoterapie a následně podán přehled o současných moderních imunoterapeutických preparátech, které postoupily do II. a III. fáze klinického hodnocení u karcinomu prostaty.

Principy imunoterapie

Existuje celá řada postupů, jak stimulovat imunitní systém v boji proti nádorům. Obecně se tyto postupy dají rozdělit na nespecifické a antigenně specifické. Do první skupiny patří použití např. cytokinů (IL-2 v léčbě renálního karcinomu, interferon alfa u některých hematologických malignit), nespecifická stimulace zánětu (použití BCG vakcíny lokálně u karcinomu močového měchýře), aplikace různých imunostimulačních látek, nejčastěji mikrobiálního původu (bakteriální lyzáty, glukany apod.). Vzhledem k složitosti mechanismů protinádorové imunity je však při použití těchto postupů nebezpečí aktivace např. tlumivých složek imunity, a tím naopak podpora růstu nádorů.

Antigenně specifické mechanismy, které jsou již v klinické praxi aplikovány, jsou využívány např. v podobě monoklonálních protilátek cílených proti některým nádorovým antigenům (např. Herceptin, anti-Her2 Neu monoklonální protilátka). Tyto postupy eliminují populace buněk, nesoucí příslušný antigen. Další postupy zahrnují např. expanzi *ex vivo* tumorově specifických lymfocytů, obvykle získaných přímo z nádoru jako tzv. TIL (tumor infiltrující lymfocyty) nebo T lymfocyty s modifikovaným T buněčným receptorem (tzv. CAR-T buňky). Imunizace samotnou nádorovou buňkou nebo nádorovým

antigenem je obvykle neúčinná, a vyžaduje účinné adjuvans. Nejsou však využitelná běžná adjuvans používaná v antiinfekčních vakcínách, neboť ta indukují zejména protilátkovou odpověď proti příslušnému antigenu. Vzhledem k nutnosti stimulace především buněčných složek imunity se naděje upínají na využití dendritických buněk v imunoterapii nádorů, které, zjednodušeně řečeno, fungují jako určité „adjuvans“ zajišťující rozpoznání nádorové buňky, její zpracování a prezentaci T lymfocytům.

K pokroku v oblasti imunoterapie došlo především díky porozumění molekulárním interakcím nádorových buněk s imunitním systémem. V současné době pohlížíme na vznik nádorového onemocnění jako na mnohastupňový proces, v němž samotné nádorové buňky představují velmi heterogenní populaci zasazenou do kontextu mikroprostředí nenádorových buněk a tkání a tvořící složitý nádorový „ekosystém“. Existují důkazy pro to, že imunitní systém je schopen kontrolovat růst nádorových buněk v raných stádiích karcinogeneze i ve stadiu tzv. preneoplazie (8). S pokročilým růstem nádoru se imunitní mechanismy víceméně paralyzují a mnohdy mají naopak podpůrný účinek ve prospěch proliferace nádorových buněk, za což jsou zodpovědné různé únikové mechanismy nádorových i okolních buněk. V souladu s teoretickými předpoklady i experimentálními daty má protinádorová imunoterapie větší šanci na úspěch v případech, že bude aplikována pacientům v časnějších fázích onemocnění, jak bylo prokázáno v případě preparátu Provenge (9). U karcinomu prostaty se odhaduje, že hodnotě PSA 0,03 ng/ml odpovídá přítomnost již cca 10^6 až 10^7 nádorových buněk (10). Proto se jeví jako ideální zahájit aplikaci terapeutické vakcíny již při známkách vzestupu PSA ultrasenzitivním testem – tedy v období minimální reziduální nemoci. Dokázat však klinickou relevanci těchto postupů znamená dlouhodobé sledování pacientů, což je v praxi v rámci kontrolovaných klinických studií velmi obtížně proveditelné.

S velikostí nádoru je třeba pak brát v úvahu komplexitu nádorového mikroprostředí, která může ovlivnit celkový výsledek vakcinace. Proto se studie nyní zaměřují i na manipulaci imunitního systému příjemce za účelem omezení inhibičních mechanismů imunity, např. cílením na T regulační buňky, ev. zohledněním individuální imunitní reaktivity pacienta a kombinováním

Tab. 1. Přehled vybraných běžících klinických studií s imunoterapií u karcinomu prostaty

Režim	Preparát	Stadium onemocnění	Fáze	Identifikace studie
Imunoterapie	Ipilimumab	chemonaivní mCRPC	III	NCT01057810
	Ipilimumab	chemonaivní mCRPC	II	NCT02279862
	PROSTVAC	lokalizovaný PC (aktivní sledování)	II	NCT02326805
	PROSTVAC	lokalizovaný PC (neoadjuvantně)	II	NCT02153918
	PROSTVAC	mCRPC	III	NCT01322490
	Nivolumab	PC	I	NCT02009449
	Trevelimumab	PC	I	NCT02616185
Imunoterapie + hormonální léčba	Enzalutamid ± PROSTVAC	mCRPC	II	NCT01867333
	Ipilimumab + degarelix	mCRPC	II	NCT02020070
	Ipilimumab + ADT	mCRPC	II	NCT01377389
Imunoterapie + radioterapie	Sipuleucel-T ± radioterapie	mCRPC	II	NCT01807065
	Sipuleucel-T ± radioterapie	mCRPC	II	NCT02232230
	Sipuleucel-T ± radium-223	mCRPC	II	NCT02463799
Imunoterapie + chemoterapie	DCVAC/PCa + docetaxel	mCRPC	III	NCT02111577
	PROSTVAC + docetaxel	mCRPC	II	NCT02649855
Kombinace imunoterapií	Sipuleucel-T, pidilizumab, CFA	mCRPC	II	NCT01420965
	Sipuleucel-T + ipilimumab	chemonaivní mCRPC	II	NCT01804465
	PROSTVAC ± ipilimumab	lokalizovaný PC (neoadjuvantně)	II	NCT02506114
	Nivolumab + ipilimumab	mCRPC	II	NCT02601014

mCRPC – metastatický kastrocačně rezistentní karcinom prostaty; mCSPC – metastatický hormonálně senzitivní karcinom prostaty; PC – karcinom prostaty; ADT – androgen deprivace; CFA – cyklofosfamid

léčby s jinými přístupy, jako např. chemo-imunoterapie, ve smyslu moderní koncepce personalizované medicíny.

Přehled imunoterapeutických přípravků klinicky testovaných u karcinomu prostaty

Sipuleucel-T

Autologní imunoterapeutický přípravek Sipuleucel-T (Provenge®) je zatím jedinou imunoterapeutickou vakcínou registrovanou pro léčbu pacientů s mCRPC. Je založen na použití vlastních antigen prezentujících buněk pacienta, které jsou *ex vivo* aktivovány pomocí rekombinantního fúzního proteinu PA2024. Protein PA2024 je tvořen fúzí lidského PAP antigenu s GM-CSF. Příprava produktu probíhá na základě izolace monocytů z leukafetického produktu odebraného z periferní krve. Monocyty jsou posléze *ex vivo* inkubovány s imunogenem PA2024.

Imunoterapeutický přípravek je vyráběn individuálně pro každého pacienta a je určen k léčbě pacientů s asymptomatickým či minimálně symptomatickým CRPC. Léčebný cyklus se skládá ze tří intravenózních infuzí podaných ve dvoutýdenních intervalech. Infuzní dávka Sipuleucel-T obsahuje autologní mononukleární buňky periferní krve aktivované fúzním proteinem PAP-GM-CSF o obsahu minimálně 50×10^6 autologních buněk CD54+. Buněčné složení a počet buněk v jedné dávce příprav-

ku Provenge závisí na pacientově leukaferéze a kromě aktivovaných monocytů tak preparát obsahuje i další imunitní buňky periferní krve pacienta (T-lymfocyty, B-lymfocyty, NK buňky a další buňky). Po aplikaci *ex vivo* ošetřených aktivovaných autologních monocytů do těla pacienta se očekává jejich aktivace na zralé buňky prezentující antigen (APC), jejichž hlavním úkolem je aktivace PAP specifických CD4 a CD8 T lymfocytů. Tyto aktivované T lymfocyty se dostávají krví do nádorového ložiska, kde zahájí protinádorovou odpověď.

V registrační studii fáze III s názvem IMPACT (Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment) bylo v letech 2003–2007 léčeno 512 pacientů s metastatickým CRPC oproti 147 pacientům ve skupině placebo (11). Vstupním kritériem byl výborný celkový stav dle ECOG (0–1), absence viscerálních metastáz a během posledních 28 dnů nesměli nemocní dostávat žádnou jinou protinádorovou terapii. Primárním cílem provedené studie bylo celkové přežití. Během střední doby sledování 34,1 měsíce zemřelo 61,6 % vakcinovaných pacientů a 70,8 % ve skupině s placebem. Pacienti, kteří dostávali přípravek Sipuleucel-T, měli o 22 % nižší riziko úmrtí, bez ohledu na celkové nebo nádorově specifické přežití. Tato studie splnila svůj primární cíl, prokázala prodloužení celkového přežití (overall survival – OS) o 4,1 měsíce bez ovlivnění doby do progresu (progression-free survival – PFS).

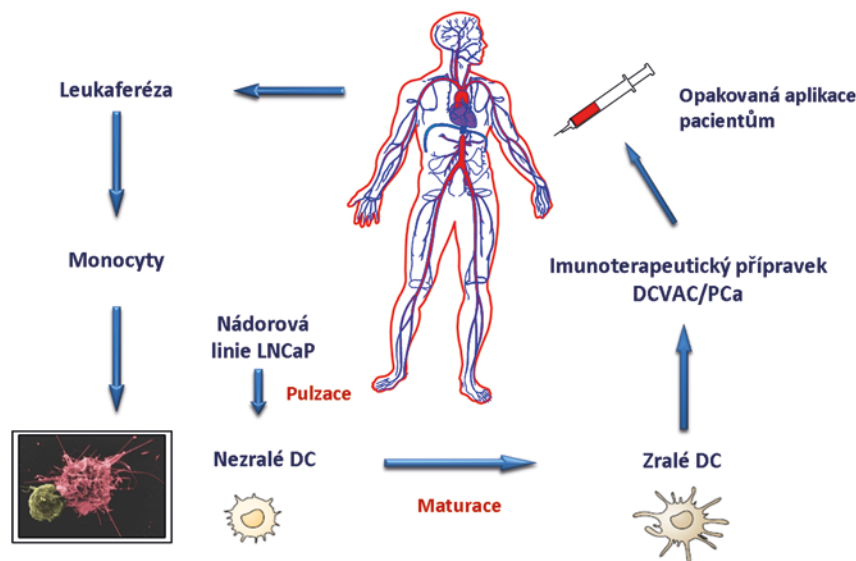
Preparát byl dobře tolerován, nejčastějšími nežádoucími účinky byly třesavka, teplota, bolesti hlavy a myalgie. Léčba sipuleucelem-T byla nejúčinnější u nemocných se vstupními nízkými hladinami PSA, tedy u nemocných, kde lze předpokládat méně pokročilé onemocnění. Na základě výsledků této studie byl v dubnu 2010 Sipuleucel-T schválen FDA jako první autologní imunoterapeutický přípravek pro pacienty s asymptomatickým či minimálně symptomatickým metastatickým kastrocačně rezistentním karcinomem prostaty.

Sipuleucel-T je v současné době hodnocen v dalších klinických studiích (viz tabulka 1).

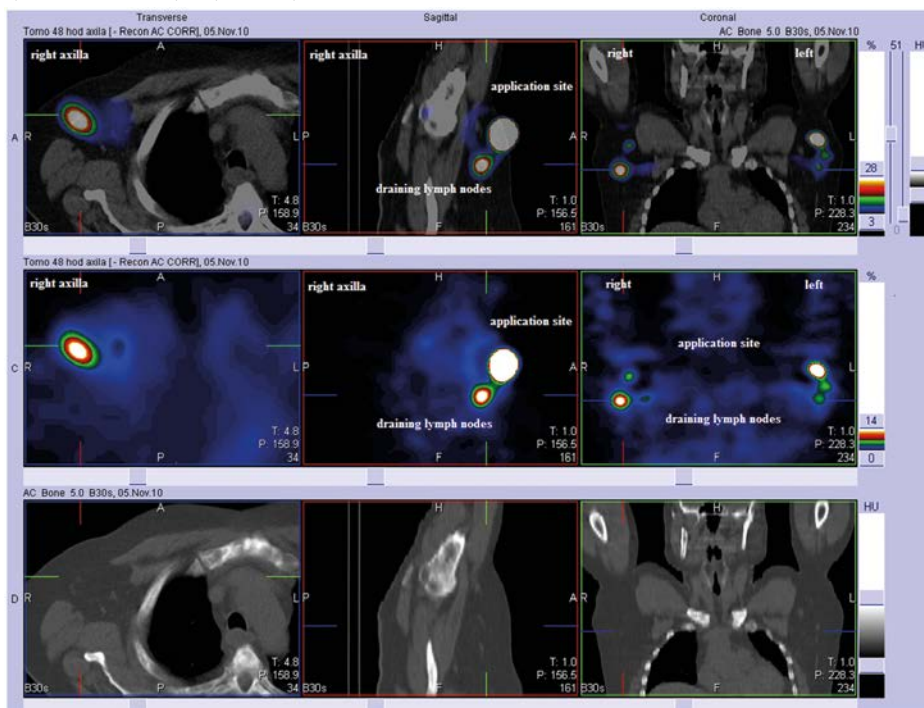
PROSTVAC

PROSTVAC® je forma protinádorové imunoterapie založená na rekombinantních atenuovaných virech neštovic (vakcinie) a ptačích neštovic (fowlpox) (12). Tyto viry slouží jako vektory, které exprimují zároveň gen pro PSA a tři kostimulační molekuly–B7.1, ICAM-1 a LFA-3 (komerční označení TRICOM™). Mechanismus účinku spočívá v tom, že buňky pacienta jsou po aplikaci infikovány tímto modifikovaným virem a stanou se dobrými antigen prezentujícími buňkami, které budou exprimovat jak kostimulační molekuly, tak zároveň nádorový antigen PSA. Vzhledem k tomu, že proti buňkám infikovaným viry se vyvíjí cytotoxická T buněčná reakce, je zde předpoklad, že se naindukují cytotoxické T lymfocyty, které posléze budou lyzovat buňky exprimující

Obr. 1. Obecné schéma protinádorové imunoterapie pomocí přípravku DCVAC/PCa založeného na bázi dendritických buněk



Obr. 2. Farmakokinetická studie; fúzané SPECT/low-dose CT snímky prokázaly *in vivo* migraci označených DC do spádových lymfatických uzlin v obou axilách za 48 hodin po subkutánní aplikaci DCVAC/PCa



PSA, tedy nádorové buňky karcinomu prostaty. Použití dvou antigenně odlišných vektorů pro první a následné imunizace by mělo snížit riziko, že dojde ke snížené účinnosti vakcíny v důsledku tvorby neutralizačních protilátek navozených imunizací virem vakcinie. Tomuto postupu se říká heterologní prime/boost strategie. PROSTVAC® prošel v posledních deseti letech rozsáhlými studiemi fáze I/II v různých stadiích ca prostaty a je testován i v různých kombinacích (tabulka 1).

Příznivé výsledky randomizované studie fáze II na 125 pacientech s minimálně symp-

tomatickým mCRPC neprokázaly rozdíly mezi přežitím bez známek progresu onemocnění (PFS), ale medián celkového přežití (OS) byl o 8,5 měsíce lepší než v kontrolní skupině a bylo u nich dosaženo 43 % redukce rizika úmrtí v následných třech letech (13). Čeká se na výsledky fáze III, která byla na základě těchto výsledků zahájena v listopadu 2011 u 1 300 pacientů s asymptomatickým či minimálně symptomatickým mCRPC, kteří jsou randomizováni do 3 ramen: PROSTVAC, PROSTVAC+GM-CSF nebo placebo (PROSPECT, NCT01322490).

Aktivní buněčná imunoterapie na bázi dendritických buněk – (tzv. „protinádorové vakcíny“)

Dendritické buňky (DC) se vyznačují jedinečnou schopností indukovat primární imunitní odpověď prostřednictvím aktivace naivních nediferencovaných T lymfocytů. Rozvoj a optimalizace metod pro přípravu DC *in vitro* přispěly k využití DC v léčbě nádorových onemocnění. Podstata metody spočívá v *ex-vivo* kultivaci monocytů, ze kterých se stanou dendritické buňky. Monocyty periferní krve pacientů se získávají v průběhu leukaferézy. Z monocytů se pak v laboratoři připraví nezralé dendritické buňky. V dalším kroku jsou DC „pulsovány“ nádorovými antigeny (buď definovanými peptidy, mRNA, apoptotickými buňkami nebo lyzáty). Po pohlcení nádorových antigenů jsou následně dendritické buňky aktivovány, maturovány a poté jako protinádorová vakcína podány zpět pacientovi. Různé výzkumné skupiny nebo biotechnologické firmy se ve výrobním postupu liší a obvykle jsou tyto postupy patentově chráněny.

Hodnocené protinádorové DC vakcíny vykazují minimální nebo žádné vedlejší účinky.

DCVAC

DCVAC je aktivní buněčná imunoterapie na bázi dendritických buněk proti karcinomu prostaty a ovaria (DCVAC/PCa a DCVAC/OvCa) (14). DCVAC se připravuje z pacientových monocytů izolovaných z leukaferetického produktu. Z monocytů se za přítomnosti cytokinů IL-4 a GM-CSF po několika dnech stávají nezralé dendritické buňky, které jsou následně pulzovány a aktivovány celými usmrcenými buňkami nádorových linií. V případě karcinomu prostaty jde o buňky nádorové linie LNCaP, u které mezi nejvíce zastoupené nádorové antigeny patří PSA, PSMA, MAGE-A3, PAP a MAGE-A1. Po pohlcení nádorových buněk jsou následně dendritické buňky aktivovány maturačním činidlem poly:I:C (polyinosinová-polycytidylová kyselina), ligand TLR-3 receptoru. Léčivý přípravek DCVAC/PCa v dávce 10^7 DC je následně aplikován zpět pacientovi v různých intervalech (např. 3–6 týdnů) po dobu delší než jeden rok. Obecné schéma imunoterapie dendritickými buňkami je znázorněno na obrázku 1.

Od roku 2010 probíhaly 2 klinické studie fáze I/II sponzorované FN Motol, které hodnotily imunoterapii přípravkem DCVAC/PCa u pacientů

s karcinomem prostaty ve stadiu biochemického relapsu a u pacientů s kastročně rezistentním metastatickým karcinomem mCRPC. Klinická studie a výroba hodnoceného léčivého přípravku DCVAC/PCa probíhala za podmínek správné výrobní praxe (Good Manufacturing Practice –GMP) v superčistých laboratořích FN Motol s povolením národních regulačních autorit.

Ve studii EudraCT 2009–017259–24 probíhající v časovém období od r. 2010 do března 2014 bylo zařazeno 25 pacientů s karcinomem prostaty léčených preparátem DCVAC/PCa v kombinaci s chemoterapií docetaxelem. Po dobu 7 dní před zahájením aplikace imunoterapie pacienti dostali metronomicky podávaný cyklofosfamid (CFA) 50 mg denně p.o. Imunoterapie DCVAC/PCa obsahující 1×10^7 aktivovaných dendritických buněk byla poté aplikována pacientům do podpažní a tříselné oblasti do blízkosti lymfatických uzlin v časovém intervalu 14 dní mezi prvními dvěma dávkami a následně v 6týdenních intervalech do celkového počtu dávek vyrobených pro pacienta z leukaferézy. K imunoterapii byla konkomitantně podávána chemoterapie docetaxelem ve 3týdenním režimu. Byla vyhodnocena data všech 25 zařazených pacientů a v čase zahájení podávání imunoterapie DCVAC/PCa byla základní charakteristika pacientů - medián věku 73 (rozsah 48–82) let, PSA 186 ng/mL (1–749 ng/mL), laktátdehydrogenáza (LDH) 234 IU/L (129–399 IU/L), alkalická fosfatáza (ALP) 192 IU/L (37–1 843 IU/L), hemoglobin (Hgb) 11,9 g/dL (9–14,8 g/dL), C-reaktivní protein (CRP) 5,6 mg/L. 88 % pacientů mělo Gleasonovo skóre ≥ 7 a žádný z pacientů neměl vstupně známky viscerálního postižení. V průběhu studie bylo podáno kumulativně více než 350 dávek imunoterapie DCVAC/PCa s mediánem 12 dávek na jednoho pacienta. Primárním cílem studie bylo vyhodnocení bezpečnosti preparátu DCVAC/PCa. Terapie přípravkem DCVAC/PCa byla dobře tolerována a prokázala příznivý bezpečnostní profil (15). Farmakokinetická studie DC označených pomocí ^{111}In -oxinu a vyhodnocovaných pomocí fúzovaných SPECT/low-dose CT snímků prokázala migraci označených DC do spádových lymfatických uzlin za 48 hodin po subkutánní aplikaci (obrázek 2). Medián přežití sledovaného souboru pacientů byl 19 měsíců oproti předpokládanému mediánu přežití 11,8 měsíců dle Halabi nomogramu a 13 měsícům dle MSKCC nomogramu. Sekundárním cílem

klinického hodnocení byla analýza imunologických odpovědí na podávanou protinádorovou imunoterapii. Došlo k signifikantnímu nárůstu celkového počtu aktivovaných CD3+/HLA-DR+ lymfocytů a CD8+ T lymfocytů a signifikantnímu poklesu T regulačních lymfocytů a hladin imunoglobulinů IgG a IgM v průběhu cyklu chemo-imunoterapie. Došlo k signifikantnímu nárůstu PSA-specifických T lymfocytů po cyklu chemo-imunoterapie a přetrvávaly stabilní hodnoty antigen specifických T lymfocytů proti nádorovým antigenům MAGE-A1 a MAGE-A3. Tato studie prokázala, že i přes předpokládané imunosupresivní působení docetaxelu jsou pacienti schopni reagovat změnami v imunitních parametrech v průběhu chemo-imunoterapie. Neidentifikovali jsme však žádný ze sledovaných imunologických parametrů, který by statisticky signifikantně koreloval s lepším celkovým přežitím u pacientů.

Ve druhé klinické studii fáze I/II EudraCT 2009–017259–91 s léčivým přípravkem DCVAC/PCa probíhající v časovém období let 2010 až 2014 bylo zařazeno 27 pacientů s časnou biochemickou recidivou karcinomu prostaty po primární terapii (po radikální prostatektomii – RP nebo salvage radioterapii – SRT, u kterých po dosažení nadiru docházelo k postupnému narůstání hodnot PSA měřených ultrasenzitivním testem). Imunoterapie DCVAC/PCa byla pacientům aplikována do podpažní a tříselné oblasti do blízkosti lymfatických uzlin v časovém intervalu 14 dní mezi prvními dvěma dávkami a následně v 4–6týdenních intervalech do celkového počtu dávek vyrobených pro pacienta z leukaferézy. Primárním cílem bylo vyhodnocení bezpečnosti a toxicity studovaného preparátu DCVAC/PCa a sekundárním cílem bylo sledování kinetiky PSA a změn imunitních parametrů v průběhu podávané imunoterapie. Byla vyhodnocena data 27 zařazených pacientů a v čase zahájení podávání imunoterapie DCVAC/PCa byla následující základní charakteristika sledovaného souboru – medián věku 63 (rozsah 49–77) let, PSA 0,153 ng/mL (0,028–0,812 ng/mL), laktátdehydrogenáza (LDH) 188,4 IU/L (141–340 IU/L), alkalická fosfatáza (ALP) 66 IU/L (41–107 IU/L), hemoglobin (Hgb) 15,5 g/dL (13,8–17,4 g/dL). V průběhu studie bylo podáno kumulativně 510 dávek imunoterapie, žádný pacient nezemřel a u žádného pacienta se nerozvinulo detektabilní metastatické onemocnění. Terapie léčivým přípravkem DCVAC/

PCa ve shodě s předchozí popsanou studií potvrdila dobrý bezpečnostní profil a ani nebyl zaznamenán zvýšený výskyt autoimunitních onemocnění. V rámci vyhodnocení klinické účinnosti podávané imunoterapie DCVAC/PCa jsme sledovali kinetiku hodnot PSA vyjádřenou jako tzv. PSA zdvojnásobovací čas- PSADT. Parametr PSADT byl vypočítán u 25 pacientů, u kterých bylo aplikováno minimálně 5 dávek DCVAC/PCa a kteří neměli v průběhu studie jinou léčbu. Medián PSADT se prodloužil z 5,67 měsíce před zahájením studie na 18,85 měsíce po dokončení 1. cyklu imunoterapie. Identifikovali jsme 17 silných respondérů (PSADT byl na imunoterapii delší než 15 měsíců), 5 respondérů (u kterých se PSADT na imunoterapii prodloužil oproti stavu před zahájením studie, ale na dobu kratší 15 měsíců) a 3 nonrespondéry (PSADT na imunoterapii se nelišil oproti stavu před zahájením studie). 12 z 25 pacientů, kteří měli stabilní hodnoty PSA v průběhu prvního cyklu imunoterapie (medián PSADT 39,79 měsíce po dokončení 1. cyklu), souhlasili s dalším cyklem imunoterapie (v rámci dodatku k protokolu studie) a jejich PSADT zůstal stabilní i v průběhu druhého cyklu imunoterapie (medián PSADT 58,03 měsíce po dokončení 2. cyklu). 3 pacienti absolvovali třetí cyklus imunoterapie s mediánem PSADT 32,13 měsíce po kompletní 3. cyklu. V rámci sledování imunologických parametrů nebyl identifikován žádný z imunologických parametrů, který by u pacientů koreloval s prodloužením PSADT.

Další vývoj léčivého přípravku moderní terapie DCVAC zajišťuje česká biotechnologická společnost SOTIO a.s., která je sponzorem pěti klinických studií fáze II a mezinárodní klinické studie fáze III v indikaci karcinomu prostaty. Studie fáze II jsou randomizované a hodnotí imunoterapii v různých stádiích karcinomu prostaty: jako monoterapii u pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty (T2) v biochemickém relapsu po radikální primární terapii a její prodloužení o další cyklus, dále v kombinaci s hormonální léčbou u pacientů s nově diagnostikovaným metastatickým karcinomem prostaty, potom u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem prostaty (T3-T4) a konečně v kombinaci s radioterapií a androgen deprivací léčbou. Pacientům po selhání hormonální léčby indikovaným k chemoterapii je terapeutická vakcína podávána v kombinaci s docetaxelem. Obdobný design má i globální multicentrická studie fáze III-VIABLE

zahájená v květnu 2014, do které bude zapojena více než tisícovka pacientů v Evropě i USA.

Jejím cílem je vyhodnotit bezpečnost a účinnost přípravku DCVAC/PCa u pacientů s metastazujícím kastrofálně rezistentním karcinomem prostaty v kombinaci s docetaxelem, využívající principu tzv. chemo-imunoterapie (viz dále).

Pasivní imunizace zaměřená na blokádu inhibičních molekul, tzv. „checkpoint“ inhibitory

Při studiu základních mechanismů imunitní reakce se nově staly terčem pozornosti molekuly, které se objevují na cytotoxických T lymfocytech po aktivaci a které slouží k regulaci imunitní reakce, aby se předešlo autoimunitnímu poškození. Jde zejména o blokaci inhibičních molekul tzv. **CTLA-4** (cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4) monoklonálními protilátkami ipilimumabem, tremelimumabem, **PD-1** (membránový protein programované buněčné smrti, programmed cell death-1) protilátkami nivolumabem, pembrolizumabem, pidilizumabem a **PD-L1,2** (programmed cell death ligand 1,2) protilátkami MDX-1105 (BMS-936559) a atezolizumabem (MPDL3280A). Checkpoint inhibitory jsou v současné době extenzivně zkoušeny v klinických studiích jak v hematologii, tak napříč solidními nádory včetně právě karcinomu prostaty (16).

Ipilimumab je plně humánní monoklonální protilátka IgG1, která se selektivně váže na antigen CTLA-4 nacházející se na povrchu T lymfocytů. CTLA-4 je klíčovým negativním regulátorem adaptivní imunitní odpovědi. Jeho zablokování vede „k odbrždění“ imunitní protinádorové odpovědi, k delší a silnější aktivaci T lymfocytů a v ideálním případě k napadení a destrukci nádorové tkáně cytotoxickými T lymfocyty. V současné době je registrován pro léčbu pokročilého (neresekovatelného nebo metastazujícího) melanomu dospělých. Ve studii fáze III nebyl prokázán efekt ipilimumabu na celkové přežití u pacientů s mCRPC po selhání docetaxelu, nicméně statistické vyhodnocení ukázalo, že existuje podskupina pacientů, kteří by z této léčby mohli mít prospěch ve smyslu prodloužení přežití – šlo o nemocné s relativně limitovaným nádorovým postižením a pomalou progresí onemocnění (17). Nebyl prokázán ani potencující efekt ipilimumabu kombinovaný

s lokální radioterapií metastáz u pokročilého onemocnění. Dále probíhá studie fáze III s tímto preparátem u pacientů před aplikací docetaxelu NCT01057810. Nevýhodou ipilimumabu jsou jeho dost závažné vedlejší účinky vyplývající z mechanismu účinku – prodloužení aktivity cytotoxických lymfocytů, nejen protinádorových, ale i jiných specifit včetně lymfocytů reagujících s autoantigeny, která se může projevit jako autoimunitní poškození (enteritidy, dermatitidy, hypofyzitidy, tyreoiditidy).

Méně toxická a stejně nebo více účinná se jeví protilátka nivolumab, namířená proti PD-1. **Nivolumab** je v Evropě schválen pro použití v monoterapii nebo v kombinaci s ipilimumabem k léčbě pokročilého melanomu, dále v monoterapii k léčbě lokálně pokročilého nebo metastatického nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) po předchozí chemoterapii a v monoterapii k léčbě pokročilého renálního karcinomu (RCC) po předchozí terapii. U karcinomu prostaty je nivolumab zatím testován pouze ve fázi I-II. Přehled vybraných studií hodnotící imunoterapeutické přípravky v monoterapii nebo v kombinaci s jinými léčebnými modalitami u karcinomu prostaty zobrazuje tabulka 1. Dostupná data z prováděných studií u nádorových onemocnění ukazují na možný komplementární efekt v případě využití kombinované imunoterapie (např. ipilimumab+nivolumab).

Koncept chemo-imunoterapie s využitím imunogenní buněčné smrti

Nové poznatky o účinku chemoterapeutik vedou ke stále většímu využití konceptu tzv. kombinované chemo-imunoterapie. Některá chemoterapeutika totiž indukují tzv. imunogenní buněčnou smrt (immunogenic cell death – ICD), která tak lépe indukuje protinádorovou imunitní reakci (18). Chemoterapeutika také často zasahují do imunitních mechanismů tlumících protinádorovou imunitu tím, že např. snižují počty regulačních T buněk, které jsou v protinádorové imunitě obvykle kontraproduktivním elementem nebo snižují počty tzv. myeloidních supresorových buněk. Právě vhodné načasování chemoterapie a imunoterapie může mít potencující efekt a zajistit úspěch imunoterapie i u pacientů v pokročilejších stádiích onkologických onemocnění. Mezi dosud popsané induktory imunogenní buněčné smrti patří např. chemoterapeutika (mitoxantron,

antracykliny, oxaliplatin a bortezomib), fyzikální modalita (fotodynamická terapie, UVC záření, radioterapie a vysoký hydrostatický tlak) a onkolytické viry.

Další imunoterapeutické studie u karcinomu prostaty

Studie fáze II u 119 mCRPC pacientů hodnotila monoklonální protilátku namířenou proti nádorovému antigenu PSMA (PSMA ADC). PSMA ADC je imunokonjugát plně humánní protilátky IgG1 namířené proti PSMA spolu s navázaným cytostatikem inhibující polymeraci mikrotubulů - monomethylauristatin E (MMAE), který se váže na PSMA pozitivní nádorové buňky a vede k cytotoxickému efektu. U pacientů došlo k poklesu hodnot PSA, ke snížení množství cirkulujících nádorových buněk (CTC) a byla pozorována radiologická odpověď dle RECIST kritérií (NCT01695044) (19). Dále probíhá studie fáze I zaměřená na adoptivní transfer autologních chimérických T lymfocytů cílených též proti nádorovému antigenu PSMA (NCT01140373). Studie fáze I/II s využitím kombinace onkolytického adenoviru ONCOS-102 a přípravku DCVAC/PCa je plánována k zahájení v r. 2016 u pacientů s mCRPC po selhání chemoterapie i v České republice.

Nová kritéria hodnocení účinnosti imunoterapie – irRC

S progresivním nástupem nových imunoterapeutických přípravků do klinické praxe je nezbytné použití takových hodnotících kritérií, která dostatečným způsobem umožní vyhodnotit klinickou aktivitu těchto léčiv a jejich přínos pro pacienta. Jedna z prvních kritérií hodnocení odpovědi na protinádorovou léčbu vytvořila WHO již v roce 1979, nicméně zavádění nových zobrazovacích metod vyvolalo nutnost jejich přehodnocení, a proto v roce 2000 byla navržena kritéria RECIST 1.0 (Response Evaluation Criteria In Solid Tumors), která hodnotí úspěch léčby na základě zmenšení velikosti metastatických lézí po ukončení terapie, a následně byla v roce 2009 inovována na verzi RECIST 1.1. Pro výše uvedené typy kritérií hodnocení platí, že objev nové léze či zvětšení nádoru představuje progresi choroby a selhání léčebné strategie. Avšak léčebné odpovědi u nově zaváděných forem protinádorové imunoterapie jsou vyvolány především aktivací imunitního systému; nádorová tkáň pak může zareagovat na terapii různými způsoby, ale zejména s dnes již známou možnou časovou latencí. Na podkladě odlišných

typů léčebných odpovědí při imunoterapii byla vypracována nová doporučení pro jejich posuzování nazvaná immune related response criteria (irRC) (20). Respektují fakt, že před regresí metastáz může dojít k jejich přechodnému zvětšení či dokonce zmnožení, tzv. flare fenoménu neboli zdánlivému jevu pseudoprogrese, který je vysvětlován nastartováním účinné imunitní reakce s infiltrací nádorové tkáně buňkami imunitního systému, zejména T lymfocyty. Mikrometastázy existovaly již před zahájením imunoterapie, avšak svými rozměry byly pod hranicí detekovatelnosti klasickými konvenčními zobrazovacími metodami. Právě vzhledem k popisovanému fenoménu pseudoprogrese a pozdějšímu nástupu léčebného účinku se první hodnocení provádí ve 12. týdnu léčby. Pokud je zaznamenána v tomto období progrese

(a pacient je klinicky bez obtíží), měla by být tato progrese potvrzena v odstupu alespoň 4–6 týdnů. Použití kritérií irRC v průběhu imunoterapie bude ještě jistě posuzováno a potvrzeno prospektivními klinickými studiemi. Pokud budou výsledky lépe korelovat s celkovým přežíváním pacientů, pak tato kritéria nepochybně umožní objektivnější posouzení skutečného terapeutického přínosu různých forem imunomodulační léčby.

Závěr

Imuno-onkologie je v posledních několika letech nazývána „breakthrough“ v medicíně a řada imunoterapeutických přípravků již prokázala účinnost v klinickém hodnocení u celé řady nádorových onemocnění a zařadila se tak do spektra léčebných postupů v onkologii.

Probíhající klinické studie nejen u karcinomu prostaty postupně přinesou odpovědi na otázky optimálního načasování imunoterapie, vhodných terapeutických kombinací a biomarkerů k hodnocení účinnosti podávané formy imunoterapie. Identifikace těchto parametrů a jejich začlenění do klinické praxe výrazně pomůže v managementu a individualizaci léčby. Moderní léčba s sebou zároveň přináší specifika léčebných odpovědí a také nové typy vedlejších účinků. Zavedení imunoterapie do širší klinické praxe bude podmíněno jak výsledky klinických studií prokazující účinnost, tak hledisky farmakoekonomickými.

Grantová podpora: Tato práce byla podpořena grantem AZV 16–28135A Ministerstva zdravotnictví České republiky.

LITERATURA

1. Antonarakis ES, et al. The natural history of metastatic progression in men with prostate-specific antigen recurrence after radical prostatectomy: long-term follow-up. *BJU Int*, 2012; 109(1): 32–39.
2. Heidenreich A, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. *Eur Urol*, 2011; 59(1): 61–71.
3. Heidenreich A, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol*, 2014; 65(2): 467–479.
4. Tannock IF, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxant- rone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med*, 2004; 351(15): 1502–1512.
5. Sartor A. Cabazitaxel vs docetaxel in chemotherapy-naive (CN) patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): a three-arm phase III study (FIRSTANA). *J Clin Oncol* 34, 2016; (suppl; abstr 5006).
6. Beer TM, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med*, 2014; 371(5): 424–433.
7. Ryan CJ, et al. Abiraterone acetate plus prednisone versus placebo plus prednisone in chemotherapy-naive men with metastatic castration-resistant prostate cancer (COU-AA-302): final overall survival analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol*, 2015; 16(2): 152–160.
8. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol*, 2004; 22: 329–360.
9. Schellhammer PF, et al. Lower baseline prostate-specific antigen is associated with a greater overall survival benefit from sipuleucel-T in the Immunotherapy for Prostate Adenocarcinoma Treatment (IMPACT) trial. *Urology*, 2013; 81(6): 1297–1302.
10. Dimonte G. A cell kinetics model for prostate cancer and its application to clinical data and individual patients. *J Theor Biol*, 2010; 264(2): 420–442.
11. Kantoff PW, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*, 2010; 363(5): 411–422.
12. Arlen PM, et al. A randomized phase II study of concurrent docetaxel plus vaccine versus vaccine alone in metastatic androgen-independent prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 2006; 12(4): 1260–1269.
13. Kantoff PW, et al. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*, 2010; 28(7): 1099–1105.
14. Rozkova D, et al. FOCUS on FOCIS: combined chemotherapy-immunotherapy for the treatment of hormone-refractory metastatic prostate cancer. *Clin Immunol*, 2009; 131(1): 1–10.
15. Podrazil M, et al. Phase I/II clinical trial of dendritic-cell based immunotherapy (DCVAC/PCa) combined with chemotherapy in patients with metastatic, castration-resistant prostate cancer. *Oncotarget*, 2015; 6(20): 18192–18205.
16. Cordes LM, Gulley JL, Madan RA. The evolving role of immunotherapy in prostate cancer. *Curr Opin Oncol*, 2016; 28(3): 232–240.
17. Kwon ED, et al. Ipilimumab versus placebo after radiotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer that had progressed after docetaxel chemotherapy (CA184–043): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2014; 15(7): 700–712.
18. Fucikova J, et al. High hydrostatic pressure induces immunogenic cell death in human tumor cells. *Int J Cancer*, 2014; 135(5): 1165–1177.
19. Petrylak DP. A Phase 2 Study of Prostate Specific Membrane Antigen Antibody Drug Conjugate (PSMA ADC) in Patients with Progressive Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Following Abiraterone and/or Enzalutamide. *J Clin Oncol* 33, 2015; (suppl 7; abstr 144).
20. Wolchok JD, et al. Guidelines for the evaluation of immunotherapy activity in solid tumors: immune-related response criteria. *Clin Cancer Res*, 2009; 15(23): 7412–7420.