

Potenciální checkpoint inhibitory využitelné v léčbě nádorů

Jindřich Kopecký

Klinika onkologie a radioterapie, LF a FN Hradec Králové

Za poslední dekádu se imunoterapie etablovala do léčebného algoritmu napříč mnohých solidních tumorů. A i přes to, že etablování checkpoint inhibitorů vůči PD-1 a CTLA-4 receptorům a PD-1 ligandu přináší léčebný benefit, existuje stále velká skupina pacientů, u kterých tato terapie není účinná. V současné době probíhá další výzkum, který se snaží najít další možné způsoby, jak dosáhnout dalšího zlepšení. V následujícím článku jsou prezentovány méně známé checkpoint inhibitory, které mají v blízké budoucnosti terapeutický potenciál.

Klíčová slova: checkpoint inhibitory, imunoterapie, LAG-3, TIM-3, TIGIT, VISTA.

New potential checkpoint inhibitors in cancer therapy

Over the last decade, immunotherapy has been established as part of various treatment algorithms across solid tumors. And although the use of checkpoint inhibitors like anti-PD-1 and anti-CTLA-4 receptors and anti-PD-1 ligand provides a therapeutic benefit, there is still a large group of patients in whom this therapy is not effective. Further research is currently underway to find other possible ways to make improvements. In the following article, we present less known checkpoint inhibitors which have therapeutic potential in the near future.

Key words: checkpoint inhibitors, immunotherapy, LAG-3, TIM-3, TIGIT, VISTA.

Úvod

V posledních deseti letech se imunoterapie stala neodmyslitelnou součástí mnoha terapeutických přístupů v onkologii. Mezi nejpoužívanější imunoterapeutické strategie současnosti patří použití inhibitorů imunitního kontrolního bodu (checkpoint inhibitory), kde jsou hlavními zástupci monoklonální protilátky cílené proti PD-1 receptoru, PD-1 ligandu a CTLA4 receptoru.

I přes terapeutické úspěchy spojené s těmito monoklonálními protilátkami nejsou tyto výsledky zdaleka uspokojivé. Většina pacientů má buď primární nebo získanou rezistenci k těmto checkpoint inhibitorům (1). Selháním imunitního dohledu nad nádorovým procesem je dán výsledkem působením T regulačních lymfocytů, vytvoření chronického záně-

livého prostředí a vyčerpáním T lymfocytů charakterizované zvýšenou expresí molekul jako PD-L1 nebo CTLA-4, které vyvolávají stav anergie mezi imunitními buňkami lokalizovaným v nádorovém mikroprostředí (2). Kromě inhibičních receptorů PD-1 a CTLA-4 jsou v současné době již popsány další inhibiční imunitní kontrolní body a probíhá intenzivní výzkum zaměřený na nalezení nových léků cílených na tyto checkpoint inhibitory. Cílem tohoto přehledového článku je podat základní přehled nových checkpoint inhibitorů (s výjimkou PD-1, PD-L1 a CTLA-4) a jejich potenciální využití v onkologii.

LAG-3

Lymfocytární aktivační gen-3 (LAG-3 (CD223)) byl objeven v roce 1990, zahrnuje

8 exonů a odpovídající cDNA může kódovat 498-aminokyselinový membránový protein typu I (2). Jde o molekulu, která interaguje s hlavním histokompatibilním komplexem (MHC) třídy II a je exprimována aktivovanými T lymfocyty, přirozenými zabíječi (NK), B lymfocyty a dendritickými buňkami (DC) (3).

Signalizace LAG-3 hraje negativní regulační roli v aktivaci, proliferaci a sekreci cytokinů pomocných T lymfocytů 1 (Th1) (4) a může tak hrát důležitou roli v úniku nádorových buněk z imunitního dohledu.

Od svého objevu potvrdilo mnoho preklinických studií, že blokáda LAG-3 může hrát roli v imunitní aktivaci proti maligním buňkám (5) a vést k výraznému zpoždění růstu nádoru (6, 7, 8, 9). Ukazuje se však, že blokáda LAG-3 je účinnější, pokud je kombinována s jinými

léčebnými modalitami (5, 7, 8, 10). Navíc se ukazuje, že kromě terapeutického významu může mít míra exprese LAG-3 prognostickou a snad i prediktivní roli (11, 12).

V současné době se zkoumá minimálně šest molekul spojených s LAG-3 receptorem: pět monoklonálních protilátek (LAG525, REGN3767, BI 754111, tebotelimab a FS118) a jeden fuzní protein LAG-3-Ig (IMP321). Většina těchto klinických studií kombinuje blokádu LAG-3 se sloučeninami blokujícími PD-1 nebo PD-L1 (Tab. 1).

Ačkoliv mnoho preklinických studií prokázalo terapeutickou synergii při kombinaci blokády LAG-3 a PD-1, dostupných údajů o klinické účinnosti je méně. Například LAG525, který byl zkoumán v rámci klinických studií v kombinaci se spartalizumabem a to jak pro pacienty s pokročilými nádorovými onemocněními (13), tak i pro pacienty s relabujícími a/nebo refrakterními pokročilými malignitami (14) dokládá nadějně výsledky, kde trvalé odpovědi bylo dosaženo u 9,9% pacientů s různými typy solidních nádorů (13, 14). Další monoklonální protilátka cílená proti LAG-3, REGN3767, u které v současné době probíhá stále ještě aktivní nábor do studie hodnotící účinnost samotného REGN3767 nebo v kombinaci s cemiplimabem ukazuje na základě dostupných výsledků, že kombinovaná léčba s REGN3767 je účinnější než monoterapie (15).

Prozatím nejrozsáhlejší data o účinnosti anti-LAG-3 máme pro použití relatlimumabu

u maligního melanomu. Původní výsledky ukazovaly na slibnou účinnost s ORR 16 % a mírou kontroly onemocnění (DCR) 45 % u pacientů, kteří progredovali navzdory předchozí léčbě anti-PD-1/PD-L1 (12). Recentně byla publikována klinická studie fáze II/III (RELATIVITY-047) srovnávající kombinaci relatlimumabu s nivolumabem oproti samotnému nivolumabu u nepředléčených pacientů s generalizovaným melanomem. Použití dvoj-kombinace vedlo ke statisticky významnému zlepšení doby do progresu (10,1 vs. 4,6 měsíců a 1leté procentuální přežití 48 vs. 36 %) (16).

Další výzkum s LAG-3 je zaměřen i na jeho použití v rámci bispecifických protilátek. Jde například tebotelimab, monoklonální protilátku, která obsahuje fragmenty vázající antigen (Fab) zacílené na PD-1 i LAG-3 (17). Kromě použití protilátek byla pro léčbu rakoviny hodnocena další činidla zaměřující se na LAG-3 jako například molekula IMP321, fuzní protein sestávající z extracelulárních oblastí LAG-3 spojených s Fc oblastí IgG (18). Avšak na to, jakou roli bude mít LAG-3 terapie v klinické praxi, musíme ještě vyčkat.

TIM-3

T buněčný imunoglobulin-3 (TIM-3) je dalším z kontrolních bodů, který podporuje imunitní toleranci. Poprvé byl identifikován jako protein selektivně exprimovaný na CD4⁺ Th1 a CD8⁺ T cytotoxických 1 (Tc1) buňkách již v roce 2002 (19). Ačkoliv se jedná o inhibiční receptor, nemá cytoplazmatický konec TIM-3

klasický inhibiční signální motiv, jako je inhibiční motiv imunitního receptoru na tyrosinu (ITIM) nebo přepínací motiv na bázi tyrosinu imunitního receptoru (ITSM), ale obsahuje pět konzervovaných tyrosinových zbytků, z nichž dva (Y265 a 272) mohou být fosforylovány Src kinázami nebo interleukinem indukovatelnou T buněčnou kinázou a jsou klíčové pro downstream signalizaci (20). Expres TIM-3 není omezena pouze na T lymfocyty, ale nachází se i na B lymfocytech, makrofázích, NK buňkách, dendritických buňkách, či na nádorových buňkách (21).

Mezi hlavní ligandy tohoto receptoru patří galektin-9, fosfatidyl serin a buněčná adhezní molekula související s karcinoembryonálním antigenem (CEACAM)-1 (22). Interakcí ligandu a receptoru nedochází pouze k ovlivnění imunitního systému na úrovni získané buněčné imunity, ale vede současně přímo k ovlivnění přirozené složky imunitního systému (23). Stimulace TIM-3 jeho ligandy podporuje vyčerpání T lymfocytů a podporuje expanzi myeloidních supresorových buněk (MDSC) v nádorovém mikroprostředí. Naopak blokování receptoru TIM-3 je provázáno snížením MDSC a zvýšenou proliferací a produkcí cytokinů T lymfocytů (24).

Klinické studie věnované použití monoklonálních protilátek TIM-3 jsou v současné době omezeného počtu a spíše se jedná o klinické studie, které se věnují především bezpečnosti těchto preparátů pro různé solidní tumory i v rámci hematologické (23,

Tab. 1. Přehled možných cílů pro nové checkpoint inhibitory

Cílová molekula	Zkoumané léky	Typ léku	Možné kombinace
LAG-3 (CD223)	LAG525 (IMP701)	Humanizovaná IgG4 protilátka	Spartalizumab
	REGN3767 (R3767)	V pantu stabilizovaná IgG4 protilátka	Cemiplimab
	BI 754111	Humanizovaná IgG4 protilátka	PD-1 protilátka, VEGF/Ang2 bispecifické nanočástice
	Tebotelimab (MGD013)	LAG-3/PD-1 bispecifická IgG4 protilátka	Her2 protilátka
	Eftilagimod alpha (IMP321)	LAG-3 IgG1 Fc fúzní protein	Avelumab, Pembrolizumab
	FS118	LAG-3/PD-L1 tetravalentní bispecifická IgG1 protilátka	–
	Relatlimab (BMS-986016)	Humánní IgG4 protilátka	Nivolumab
TIM-3	MBG453	Humanizovaná IgG4 protilátka	Spartalizumab
	Sym023	Plně humánní protilátka	PD-1 inhibitor
	TSR-022	IgG4 monoklonální protilátka	PD-1 inhibitor
TIGIT	MK-7684	IgG1 monoklonální protilátka	Pembrolizumab
	BMS-986207	IgG1 monoklonální protilátka	Nivolumab
	Tiragolumab	Humanizovaná IgG1 protilátka	Atezolizumab
VISTA	JNJ-61610588	Humanizovaná IgG1 protilátka	–
B7-H3	MGC018	Humanizovaná IgG1 protilátka	–
	FPA150	Humánní IgG1 protilátka	–
BTLA	TAB004/JS004	Humanizovaná IgG4 protilátka	–

25). Dále probíhají studie nejen pro použití anti-TIM-3 v monoterapii, ale i v kombinacích například s dalšími checkpoint inhibitory (26) (Tab. 1). Výsledků, které by hodnotily účinnost tohoto přístupu, je ještě méně než probíhající klinických studií a nemůžeme tedy v současné době reálně hodnotit, zda využití této molekuly bude přínosem, či slepou cestou.

TIGIT (T cell immunoglobulin and ITIM domain)

TIGIT byl poprvé identifikován v roce 2009. Jeho funkce spočívá v kontrole imunitní reakce, kdy potlačuje aktivaci T lymfocytů (27). TIGIT je exprimován pouze na T lymfocytech (včetně T regulačních a paměťových lymfocytech) a NK buňkách (27). Ukazuje se, že exprese TIGIT je ve vyšší míře přítomna v nádorovém mikrostředí než v buňkách na periférii. Tento nepoměr nabízí teoretickou výhodu cílenější terapie s méně systémovými autoimunitními účinky. Kromě toho se zdá, že aktivita TIGIT a jeho účinky jsou zaměřeny především na CD8⁺ T lymfocyty, což opět teoreticky vysvětluje jeho komplementární účinky při použití s jinými formami checkpoint inhibitorů (28).

V současné době jsou známy dva ligandy pro TIGIT, konkrétně CD155 (PVR nebo Nec1-5) a CD112 (nektin-2, také známý jako PRR2 nebo PVRL2). Mechanismus účinku TIGIT v průběhu imunitní reakce je srovnatelný s interakcemi mezi CTLA4/B7/CD28. V případě TIGIT jde o soutěž o vazbu na receptor s CD266 (DNAM-1) nebo CD96, které se chovají jako pozitivní kostimulační signály.

Rané studie zaměřené na duální blokádu TIGIT v kombinaci s PD-1 nebo TIM-3 prokázaly synergický účinek na proliferaci imunitních buněk, uvolňování cytokinů, degranulaci a zvrácení děje vyčerpání T lymfocytů s navozením ochranné paměti odpovědi (22, 29). V rámci výzkumu pro využití TIGIT dráhy byly vyrobeny agonistické anti-TIGIT monoklonální protilátky (Tab.1.), které potvrzují přímý

inhibiční účinek na proliferaci T lymfocytů (30) a v případě použití kombinace anti-TIGIT s dalšími checkpoint inhibitory jako TIM-3 či PD-1 vyvolávají synergní účinky při regulaci protinádorových odpovědí (31).

Nicméně s ohledem na neustále mladou molekulu probíhají v současné době časně fáze klinického výzkumu, které mají za cíl stanovit bezpečnost riziko, ožřejmit farmakokinetiku léku a účinnost u lidí, si musíme na definitivní výsledky počkat (23).

Další potenciální checkpoint inhibitory

V rámci klinického výzkumu probíhají studie s dalšími potenciálními inhibitory imunitních kontrolních bodů. Mezi potenciálně využitelné molekuly, které jsou v současné době nejdále ve vývoji, patří VISTA, B7-H3, BTLA a Siglec-15 (Tab. 1.).

VISTA je také známá jako homolog PD-1 (PD-1H). Na rozdíl od PD-1 VISTA nezahrnuje klasický motiv ITIM nebo ITSM v cytoplazmatické doméně. Naopak na intracelulárním konci obsahuje dvě potenciální vazebná místa pro proteinkinázu C a motiv bohatý na prolin, což naznačuje, že VISTA může potenciálně fungovat jako receptor i jako ligand (32). VISTA je velké míře exprimována na myeloidních buňkách a v menší míře na T lymfocytech, ale ne na samotných nádorových buňkách. Toto v dosavadním výzkumu vedlo k průkazu toho, že v případě blokády VISTA došlo ke zlepšení infiltrace, proliferace a podpoření efektorové aktivity T lymfocytů v nádorovém prostředí (33). Tyto vlastnosti a preklinické výsledky jsou nadějí pro využití blokády této molekuly například u nádoru pankreatu (34).

B7-H3 (CD276) je transmembránový glykoprotein typu I, který byl objeven již v roce 2001. Původně byl tento receptor zařazen mezi pozitivní kostimulátory, protože může stimulovat odpověď T lymfocytů a produkci IFN- γ (35). Nicméně ukázalo se, že se podílí na inhibici T lymfocytů (36). Exprese B7-H3 proteinu může být detekována na aktivovaných imunitních

buňkách, jako jsou T lymfocyty, NK buňky a antigen prezentující buňky. Zároveň je exprimován v širokém spektru nádorových tkání a jeho exprese je spojena s prognózou nádorových onemocnění (37). V rámci výzkumu se pozitivně osvědčilo použití konjugátu protilátky s radioaktivním jódem-131, kde v současné době probíhají další klinické studie (38).

BTLA (CD272) je inhibiční receptor, který patří do skupiny receptorů z rodiny CD28 (39). Aktivita BTLA a jeho inhibiční aktivita je podobná principu inhibiční signalizace zprostředkované u PD-1 a CTLA-4 receptoru. BTLA je exprimována na zralých lymfocytech (jako jsou B, T a Treg lymfocyty), makrofázích a zralých dendritických buněk derivovaných z kostní dřeně (40). Využití tohoto inhibičního receptoru je teprve ve svých počátcích.

Závěr

Úspěchy v léčbě při použití blokády CTLA-4 nebo PD-1/PD-L1 vyvolaly velké nadšení a odstartovaly další výzkum nových cílů pro manipulaci imunitního systému. Poslední desetiletí je svědkem významného pokroku v identifikaci alternativních cílů a vývoji nových specifických látek v léčbě rakoviny. V současné době existuje mnoho léků, které mají in vitro či na myších modelech potenciál modulovat imunitní reakci tak, aby došlo k udržení protinádorové aktivity. Nicméně tento výzkum je nutné podpořit i dalšími výsledky z klinických studií s lidmi. V současné době je nejdále výzkum týkající se ovlivnění receptoru LAG-3 u maligního melanomu. A další otázkou a úkolem budoucího výzkumu je, navrhnout či identifikovat racionální kombinace jednotlivých monoklonálních protilátek s cílem navýšení protinádorové účinnosti, s co nejmenším rizikem nakupení nežádoucích účinků. Musíme konstatovat, že ačkoliv věda a výzkum postupuje, jsme stále v rané fázi porozumění těmto novým imunitním systémům a identifikace nových molekul.

Tento výstup vznikl v rámci programu Cooperatio, vědní oblasti ONCO.

LITERATURA

1. Yi M, Yu S, Qin S, et al. Gut microbiome modulates efficacy of immune checkpoint inhibitors. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):47.
2. Triebel F, Jitsukawa S, Baixeras E, et al. LAG-3, a novel lymphocyte activation gene closely related to CD4. *J Exp Med*. 1990;171(5):1393-405.

3. Goldberg MV, Drake CG. LAG-3 in Cancer Immunotherapy. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2011;344:269-278.
4. Maçon-Lemaître L, Triebel F. The negative regulatory function of the lymphocyte-activation gene-3 co-receptor (CD223) on human T cells. *Immunology*. 2005;115(2):170-178.

5. Andrews LP, Marciscano AE, Drake CG, Vignali DA. LAG3 (CD223) as a cancer immunotherapy target. *Immunol Rev*. 2017;276(1):80-96.

Další literatura u autora
a na www.onkologiecs.cz