

T lymfocyty. Tyto poznatky byly ověřeny v vyšším modelu s paralelně použitým anti-PD-1 inhibítorem, kde kompletní odpovědi dosáhlo 40 % léčených myší. Navíc bylo prokázáno, že tato očkovací látka byla schopna navodit dlouhodobou imunitní odpověď. Při pokusech u očkovaných myší indukovat opětovně metastatický nádorový růst, došlo jen k částečné progresi oproti neočkovaným myším (16).

mRNA vakcíny v klinických studiích

V terapii melanomu se tyto vakcíny začínají objevovat překvapivě již od roku 2006. mRNA vakcíny byly podávány pacientům s pokročilým melanomem v kontextu několika klinických studií fáze I/II. Již v roce 2006 byla intranodálně nebo intradermálně injikována 22 pacientům s maligním melanomem vakcína sestávající z autologních dendritických buněk derivovaných z monocytů, *ex vivo* stimulovaných autologní nádorovou mRNA. Imunitní reakce specifická pro vakcínu, charakterizovaná expanzí T lymfocytů s produkcí interferonu- γ , byla pozorována u devíti z 19 pacientů. Intradermální nebo intranodální podání vyvolalo imunitní odpověď u 70 % (7/10) a u 25 % (3/12) léčených pacientů. Později byly u devíti respondentů hlášeny imunospécifické CD4⁺ a CD8⁺ T buněčné reakce proti neoantigenům kódovaným vakcinační mRNA (17).

V roce 2009 byla publikována studie s použitím přímého intradermálního podání protaminem stabilizované mRNA kódující melanomové antigeny (Melan-A, tyrosináza, gp100, MAGE-A1, MAGE-A3, Survivin) u 21 pacientů s metastazujícím melanomem. Jednalo se o první studii, kde byly použity specifické melanocytární či melanomové antigeny. Vakcinace byla dobře tolerována a nevyvolávala žádné nežádoucí účinky stupně 3–4. U očkovaných pacientů byla výrazně omezena cirkulace regulačních a myeloidních supresorových buněk. Specifická imunitní reakce T lymfocytů proti antigenům vakcíny byla zaznamenána u dvou ze čtyř hodnotitelných pacientů a úplná odpověď byla pozorována u jednoho ze sedmi pacientů (18).

V další pilotní studii byly použity dendritické buňky elektroporované TriMix mRNA vakcínou kódující ligand CD40 (protein buněčného povrchu CD+ T lymfocytů, zprostředku-

jící antigen-specifickou reakci), konstitutivně aktivní toll-like receptor 4 (hematopoetický a nehematopoetický povrchový antigen zprostředkující rozpoznání exogenních a endogenních antigenů) a CD70 (nádorový kontrolní imunitní antigen). Tyto stimulované dendritické buňky byly transfekovány mRNA kódující antigeny asociovanými s melanomem (MAGE-A3, MAGE-C2, tyrosináza nebo gp100). Takto připravené dendritické buňky byly podávány 35 pacientům s inoperabilním melanomem stadia III/IV. I když samotná vakcinace nepřinesla žádné objektivní odpovědi, bylo prokázáno, že po stimulaci interferonem alfa-2b byly jak v periferní krvi, tak v biopsiích z metastáz prokázány stimulované T-lymfocyty. Mezi 14 hodnotitelnými pacienty byly zaznamenány dvě úplné a jedna částečná objektivní odpověď a u čtyř pacientů bylo dosaženo stability onemocnění (19). Tato pilotní studie sice nepřinesla zásadnější zlom v počtu terapeutických odpovědí, ale poukázala na techniky zvládnutí specifické stimulace imunitního systému externě podanými nádorovými neoantigeny a *in vitro* stimulovanými dendritickými buňkami.

Ve snaze rozšířit spektrum neoantigenů spojených s melanomem, které by bylo možné aplikovat na mRNA vakcíny, bylo porovnáno 471 vzorků melanomů s 812 vzorky normální kůže. Bylo identifikováno celkem pět potenciálně možných nádorových antigenů (PTPRC, SIGLEC10, CARD11, LILRB1, ADAMDEC1). Vyšší exprese těchto pěti antigenů v melanomu byla spojena s robustnější nádorovou imunitní infiltrací a zlepšeným OS pacienta, zatímco nižší hladiny exprese a kratší doba přežití byly spojeny s imunogenně „chladnými“ melanomy (s malým závažným infiltrátem). Takové studie přispívají k rozpoznání vysoce imunogenních antigenů, které by mohly sloužit jako základ pro konstrukci nových mRNA vakcín (20).

Zatím asi největší studie s použitím mRNA vakcíny je KEYNOTE-942 (NCT03897881). Tato adjuvantní studie probíhá ve fázi IIb a první údaje ukazují na povzbudivé výsledky. V této studii byla pacientům (157 pacientů) s kompletně chirurgicky odstraněným melanomem stadia III/IV podávána kombinace personalizované mRNA vakcíny kódující 20 různých mutovaných neoantigenů

a anti-PD-1 protilátky pembrolizumabu ve srovnání s léčbou pembrolizumabem v monoterapii. Kombinovaná léčba byla podána pacientům v poměru 2:1 oproti monoterapii pembrolizumabem. Vakcína mRNA-4157 byla podávána intramuskulárně (maximálně devět dávek) a pembrolizumab intravenózně (maximálně 18 dávek) ve 3týdenních cyklech. Podle nedávno publikovaných dat se zdá, že pacienti, kteří dostávají adjuvantní léčbu pembrolizumabem v kombinaci s vakcínou mRNA-4157/V940, mají o 44 % nižší riziko relapsu onemocnění nebo úmrtí ve srovnání s pacienty léčenými jen monoterapií pembrolizumabem (míra rizika (HR) = 0,56, 95%; interval spolehlivosti (CI), 0,31–1,08; p = 0,0266). Po 18 měsících sledování byl RFS 79 % (95% CI 69,0–85,6) na kombinaci vakcíny a pembrolizumabu, oproti 62 % (95% CI 46,9–74,3) na monoterapii pembrolizumabem. Ještě lepší výsledky byly dosaženy při hodnocení přežití do vzniku vzdálených metastáz (DMFS). V intervalu 18 měsíců dosáhlo DMFS 92 % pacientů na kombinaci vakcíny a pembrolizumabu (95% CI 84,2–95,8) oproti 77 % na monoterapii pembrolizumabem (95% CI 61,0–86,8). Závažné nežádoucí účinky související s léčbou byly hlášeny u 14,4 % pacientů na kombinaci a u 10 % pacientů na monoterapii. Poměrně zásadní je i výsledek sledování PFS u pacientů s vysokým mutačním zatížením nádoru (TMB) a bez něj. U pacientů s vysokým TMB je obecně imunoterapie daleko efektivnější. V této studii byla pozorována obdobná míra rizika (HR) u pacientů s vysokým mutačním zatížením 0,652 (95%; CI 0,284–1,494) a 0,586 (95%; CI 0,243–1,415). Z dalších biomarkerů možného selhání imunoterapie je exprese PD-L1. Při porovnání efektu kombinované terapie a monoterapie pembrolizumabem nebyl pozorován výraznější rozdíl v efektu léčby u pacientů s expresí PD-L1 a bez exprese (21). Tyto dílčí poznatky tak dokumentují poměrně slušnou aktivaci protinádorové imunitní odpovědi navzdory nepříznivým prognostickým faktorům.

Závěr

Dosavadní výsledky studie KEYNOTE-942 se podle mnohých odborníků dají přirovnat k „objevení penicilinu“ v terapii melanomu. V roce 2024 se připravuje fáze III této studie.