

## **Serendipity w drodze do skutecznego leczenia: początki i perspektywy immunochemioterapii, czyli od nitrogranulogenu do receptorów chimerowych**

Jan Walewski

W 2014 r. minęła 50 rocznica wdrożenia pierwszego programu chemioterapii wielolekowej — MOPP do leczenia zaawansowanej choroby nowotworowej — chłoniaka Hodgkina. Nastąpiło to po 22 latach od pierwszego eksperymentu leczniczego z zastosowaniem nitrogranulogenu jako pierwszego cytostatyku podanego człowiekowi, w tym przypadku choremu na zaawansowaną postać uogólnionego chłoniaka. Program MOPP stał się modelem, w oparciu o który tworzono następnie programy chemioterapii stosowane w leczeniu chorych na inne nowotwory, w tym także tzw. guzy lite. Dalsze lata intensywnych badań klinicznych i podstawowych wykazały, że możliwości terapeutyczne cytostatyków są ograniczone, a największe sukcesy osiągnięto w przypadku nowotworów o największej kinetyce wzrostu, takich jak chłoniaki i ostre białaczki. Tymczasem od 125 lat trwają poszukiwania przeciwciał, które w praktyce mogłyby spełnić dobrze uzasadnione hipotezy o ich wybiórczej aktywności przeciwnowotworowej. Dopiero w 1997 r. wprowadzono do praktyki pierwsze przeciwciało monoklonalne skierowane przeciwko powszechnie występującemu na limfocytach B, także nowotworowych, antygenowi CD20, które zrewolucjonizowało leczenie chłoniaków. Od tego czasu immunoterapia — dotychczas domena badań laboratoryjnych — stała się dynamicznie rozwijającą się dziedziną kliniczną. Oprócz szeregu przeciwciał, które mobilizują własne mechanizmy cytotoksyczne pacjenta wobec komórek nowotworowych lub blokują przewodzenie sygnałów koniecznych do ich przeżycia, powstają przeciwciała swoiste wobec mechanizmów kontrolujących aktywację limfocytów T, odblokowujące ich reakcje cytotoksyczne, oraz zaawansowane technologie konstrukcji receptorów chimerowych, które wyposażają limfocyty T w aktywny atrybut limfocyta B, immunoglobulinę rozpoznającą odpowiedni cel na komórce nowotworowej. Równolegle do rozwoju przeciwciał terapeutycznych rozwija się nauka o małych cząsteczkach selektywnie wyłączających patologiczne szlaki sygnałowe komórki nowotworowej w coraz większej liczbie chorób. Bogactwo wiedzy i możliwości terapeutycznych zarysowuje nieodległą perspektywę onkologii precyzyjnej i spersonalizowanej, w której będzie możliwe projektowanie wieloskładnikowych programów leczenia w oparciu o mechanizmy działania chemioterapii, immunoterapii i małych cząsteczek, programów dopasowanych wybiórczo do kontekstu klinicznego.

### **Serendipity in a chase for a cure of cancer: origin and perspectives of immunochemotherapy from nitrogen mustard to chimeric antigen receptors**

In 2014, 50 years had passed since the first combination chemotherapy program — MOPP, was introduced for treatment of advanced neoplastic disease — Hodgkin lymphoma. This was 22 years after the first in-human use of nitrogen mustard as the first cytostatic agent given to the patient with advanced disseminated lymphoma. The principles used to develop the MOPP combination proved useful in designing treatment for patients with non-Hodgkin lymphomas and other tumours. Subsequent decades of clinical and laboratory research proved that the curative potential of chemotherapy was limited, and the greatest advances were possible in tumours with fast growth kinetics such as

lymphoma and acute leukemia. It has taken 125 years of extensive search to find an antibody that would become a well-established, but for most of the time there has been an elusive concept of a selective antineoplastic agent. It was not until 1997 when the first monoclonal antibody specific to the common B-cell antigen CD20, including neoplastic cells, was introduced and revolutionised the treatment of lymphoma. Since then, immunotherapy — not able to reach the level of clinical utility, has grown to fast developing and promising science of clinical research. Together with a number of monoclonal antibodies that act by mobilizing patients' own cytotoxic mechanism or by blocking survival signals to cancer cells, there are now available antibodies that function as checkpoint inhibitors and unlock T-cell responses. This is as well as advanced technology for constructing specific chimeric antigen receptors that when transfected into autologous T-cells provide them with an attribute of a B-cell by means of immunoglobulin molecule able to target the cancer cell. In parallel, there has emerged a new science of small molecules interfering with pathogenic molecular pathways within a cell with a number of agents of already established use and value. Current knowledge and therapeutic opportunities make a perspective of precision and personalised oncology reality, where multicomponent treatment programs will be designed based on mechanism of action of chemotherapy, immunotherapy, and small molecules specifically assembled to the clinical context.

NOWOTWORY Journal of Oncology 2015; 65, 2: 96–102

**Słowa kluczowe:** chemioterapia, immunoterapia, małe cząsteczki, leczenie przeciwnowotworowe

**Key words:** chemotherapy, immunotherapy, small molecules, anti-cancer therapy

## Wprowadzenie

Do szeregu ważnych w onkologii polskiej rocznic, które miały miejsce w 2014 r., dodałbym co najmniej dwie o zasięgu światowym: 50-lecie wprowadzenia chemioterapii wielolekowej do leczenia chorych na chłoniaka Hodgkina i 125-lecie odkrycia przeciwciał. Jeżeli popatrzymy na oś czasu, to chemioterapia pojawia się mniej więcej w latach 40., kiedy to w 1949 r. zarejestrowano pierwszy cytostatyk nitrogranulogen, ale wtedy już od ćwierćwiecza rozwijała się radioterapia, początkowo w postaci rentgenoterapii, i ta okoliczność miała istotny wpływ na cały rozwój metod leczenia chłoniaka Hodgkina. Odwołuję się do pojęcia *serendipity*, ponieważ jest to zjawisko, które miało nie mniejszy wpływ na postępy onkologii niż racjonalnie zaplanowane badania kliniczne. Termin *serendipity*, wprowadzony do literatury z inspiracji baśnią perską przez XVIII-wiecznego arystokratę brytyjskiego Horacego Walpole'a, pana na Oksfordzie, oznacza zdolność dokonywania szczęśliwych odkryć przez przypadek lub w wyniku poszukiwania czegoś innego.

## 50 lat rozwoju chemioterapii wielolekowej

Początki chemioterapii chłoniaków splatają się z mrokami historii II wojny światowej. Władze USA, zaniepokojone aktywnością naukowców III Rzeszy w badaniach nad pochodnymi iperytu azotowego, zakontraktowały szereg ośrodków uniwersyteckich do badań farmakologicznych tych substancji. Dwaj farmakolodzy z Yale University, Louis Goodman i Alfred Gilman, którzy byli zaangażowani w te badania, zauważyli, że nitrogranulogen powoduje u myszy laboratoryjnych deplecję układu limfatycznego i krwiotwórczego, a w grudniu 1942 r. doprowadzili do pierwszego eksperymentu medycznego u pacjenta z rozpoznaniem

*lymphosarcoma* w schyłkowej fazie choroby, u którego nastąpiła regresja masywnych zmian węzłowych po podaniu dożylnym nitrogranulogenu. Badania te były tajne, nawet w historiach chorób nazwę substancji zastępowano znakiem „X”, a pierwsze doniesienie o wynikach leczenia 67 chorych na chłoniaki i białaczki ukazało się w piśmie *JAMA (Journal of American Medical Association)* dopiero w 1946 r.

Pierwszy program chemioterapii wielolekowej z zastosowaniem nitrogranulogenu, winkrystyny, prokarbazyny i prednisonu (MOPP) został wprowadzony do leczenia chorych na zaawansowanego chłoniaka Hodgkina (HL) w 1964 r. (Vincent T, DeVita Jr., Yale University), a pierwsze wyniki opublikowano w 1970 r. Skuteczność programu MOPP w porównaniu z monoterapią nitrogranulogenem została wkrótce potwierdzona w badaniu randomizowanym. Był to pierwszy sukces w dziedzinie chemioterapii zaawansowanej choroby nowotworowej, który otworzył drogę rozwoju nowej dziedzinie i nowej specjalizacji lekarskiej, obecnie znanej jako onkologia kliniczna. Obserwacja pierwszych 188 chorych, którzy uzyskali remisję po leczeniu programem MOPP, obecnie trwająca już 40 lat, wykazała, że ponad 60% chorych żyje bez nawrotu choroby. Od czasu wprowadzenia chemioterapii wielolekowej epidemiologiczny trend umieralności z powodu chłoniaka Hodgkina uległ trwałemu i głębokiemu spadkowi, który był najszybszy w latach 70. i 80. XX wieku. Wkrótce wykazano, że chemioterapia stosowana w skojarzeniu sekwencyjnym z radioterapią, w tamtym okresie przeżywającą dynamiczny rozwój technologiczny, umożliwia znaczącą poprawę wyników uzyskiwanych dotychczas za pomocą radioterapii chłoniaka Hodgkina w postaci ograniczonej. Ta sekwencja leczenia pozostała standardem do dzisiaj,

choć technika radioterapii uległa znacznemu udoskonaleniu pod względem precyzji i skuteczności dawki.

Obecnie głównym problemem badawczym w odniesieniu do chłoniaka Hodgkina jest takie udoskonalenie programu leczenia, aby zmniejszyć występowanie powikłań późnych, nie redukując skuteczności leczenia. Ocena odległych wyników leczenia chorych na chłoniaka Hodgkina w niskich stadiach zaawansowania wskazuje, że ryzyko nawrotu wynosi ok. 10% i występuje w zasadzie tylko w pierwszych 3 latach po zakończeniu leczenia, natomiast ryzyko zachorowania na drugi nowotwór lub choroby układu krążenia stale rośnie i znacznie przekracza ryzyko w populacji kontrolnej. Zwiększone ryzyko późnych powikłań jest przypisywane onkogennemu działaniu skojarzenia cytostatyków i napromieniania śródpiersia, jednak dotychczas przeprowadzone badania randomizowane nie przyniosły wystarczająco przekonujących wyników, aby zmienić kanon leczenia skojarzonego. Ostatnio opublikowane wyniki badania randomizowanego grupy północnoamerykańskiej wykazało, że u chorych na HL w stadium I i IIA leczenie wyłącznie z zastosowaniem chemioterapii (ABVD) daje lepsze wyniki w kategoriach całkowitego przeżycia niż napromienianie całego układu limfatycznego lub leczenie skojarzone, co jedynie potwierdza, że stosowanie tej techniki napromieniania, obecnie już historycznej, nie jest właściwe.

Obecnie uzasadnione nadzieje na dalszy postęp w leczeniu systemowym HL wiąże się, podobnie jak i w przypadku wielu innych nowotworów, z rozwojem immunoterapii — zastosowaniem przeciwciała anty-CD30 sprzężonego z toksyną komórkową oraz przeciwciał blokujących fizjologiczne mechanizmy ograniczające reaktywność limfocytów cytotoksycznych (anty-PD1).

Bogata w niespodziewane odkrycia jest historia opracowania skutecznego leczenia chłoniaka Burkitta. Odkrywcą tej skrajnie agresywnej choroby nowotworowej dr Denis Burkitt, angielski chirurg zatrudniony w latach 50. XX w. w szpitalu w Kampali w Ugandzie, był bezradny jako chirurg wobec choroby, która zazwyczaj występowała u dzieci i często rozpoczynała się w postaci szybko rosnącego guza okolicy żuchwy, w krótkim czasie prowadząc do rozsiewu nowotworu i śmierci. Z pomocą chirurgowi przyszła chemioterapia, Denis Burkitt wykorzystał informacje pozyskane od Josepha Burchenala z National Cancer Institute (Bethesda, USA) na temat intensywnie badanych tam nowych leków alkilujących i rozpoczął stosowanie cyklofosfamidu w wysokich dawkach podawanych w krótkim czasie. Taki rytm leczenia był wymuszony przez okoliczności, ponieważ tzw. „przelotowość” łóżek szpitalnych w Kampali musiała być bardzo duża. Ta metoda leczenia okazała się zaskakująco skuteczna, ponieważ jedno lub dwa podania cyklofosfamidu w dawce ok. 40 mg/kg powodowały częściowe, a nawet całkowite remisje u 80% dzieci, a niektóre z nich były trwale wyleczone. Dalsze lata, w których chemioterapia, uznana

za standardową dla chłoniaków agresywnych, u dorosłych chorych na chłoniaka Burkitta w stadiach zaawansowanych okazała się niedostatecznie skuteczna, przyniosły znaczący postęp dopiero w połowie lat 90., kiedy to wykazano, że zastosowanie u dorosłych pacjentów, stosowanych wcześniej u dzieci, intensywnych programów chemioterapii zawierających wysokie dawki antymetabolitów (metotreksat, cytarabina) i leków alkilujących prowadzi do wzrostu skuteczności leczenia o ponad 50%, tak że większość chorych może być wyleczona. Dalsza poprawa wyników leczenia chłoniaka Burkitta nastąpiła wraz z nastaniem ery immunochemioterapii chłoniaków i wdrożenia do powszechnego stosowania przeciwciała anty-CD20 wraz z chemioterapią — obecnie szansę wyleczenia ma 80–90% pacjentów, w szczególności w wieku poniżej 60 roku życia.

Równoległe z postępami w leczeniu następował postęp wiedzy w dziedzinie patogenetyki molekularnej chłoniaków, także chłoniaka Burkitta. Wykazano, że oprócz głównego mechanizmu patogenetycznego, którym jest deregulacja onkogenu *MYC* w wyniku translokacji między chromosomem 8 a 14 (q24;q32), występuje również szereg powtarzalnych mutacji o znaczeniu „napędowym” w obszarach kodujących i regulacyjnych genomu (np. szlak czynnika transkrypcyjnego 3 — TCF3 czy cykliny D3), z których część może podlegać interwencji farmakologicznej z zastosowaniem nowych leków z grupy inhibitorów kinaz.

Sukcesy chemioterapii nowotworów wysoce agresywnych, w szczególności chłoniaka Burkitta, w którym frakcja proliferacyjna populacji komórek nowotworowych wynosi blisko 100%, są potwierdzeniem klasycznych już teorii farmakokinetyki i mechanizmów działania cytostatyków, teorii Goldiego i Coldmana oraz hipotezy Nortona i Simona. Działanie cytostatyków opiera się na zasadzie kinetyki eliminacji pierwszego rzędu, polegającej na tym, że eliminacji ulega pewna frakcja komórek, która nigdy nie wynosi 100%. Pozostaje więc zawsze populacja komórek, choćby minimalna, która może być początkiem klonów komórkowych opornych i nawrotu choroby. Prawdopodobieństwo mutacji prowadzących do oporności jest wg hipotezy Nortona-Simona proporcjonalne do masy nowotworu i szybkości proliferacji komórek, natomiast wielkość frakcji proliferacyjnej nowotworu determinuje jego podatność na leki blokujące proliferację, do których należą cytostatyki i antymetabolity. Te okoliczności biologiczne i farmakologiczne tłumaczą skuteczność intensywniej chemioterapii chłoniaka Burkitta, w którym całkowitą remisję osiąga się zazwyczaj po pierwszym cyklu leczenia, natomiast nawroty choroby, chociaż obecnie występują rzadko, wiążą się z prawie całkowitą opornością na chemioterapię.

Zasada kinetyki pierwszego rzędu oznacza w praktyce, że trwałego wyleczenia z choroby nowotworowej nie można osiągnąć dzięki działaniu samej chemioterapii. Konieczny jest mechanizm eliminacji komórek klonogennych, nie-

uchronnie przetrwały po chemioterapii. Mechanizmów tych może dostarczyć układ odpornościowy, który działa wybiórczo i definitywnie dzięki systemowi receptorów, efektów cytotoksycznych i cytokin. Jest to złożony system biologiczny, zdolny do eliminacji „ostatniej komórki” nowotworowej. Dynamiczny rozwój badań podstawowych i klinicznych w dziedzinie immunologii dostarcza coraz większej liczby dowodów krytycznej roli układu odpornościowego w leczeniu systemowym nowotworów.

### **Początek ery terapeutycznych przeciwciał monoklonalnych**

W 1997 r. wprowadzono pierwsze w onkologii przeciwciało monoklonalne jako lek przeciwnowotworowy — przeciwciało anti-CD20, rytuksymab. Było to ukoronowanie długiej drogi badań nad przeciwciałami: minęło wówczas 107 lat od sformułowania przez Paula Ehrlicha postulatu *magic bullet* — cząsteczki, która wybiórczo eliminowałaby komórkę nowotworową i którą uczony wyobraził sobie po odkryciu przeciwciał (antytoksyna tężcowa) przez Emila von Behringa i Kitasato Shibasaburō w 1890 r. Jednak kolejne dziesięciolecia badań nad przeciwciałami w odniesieniu do leczenia nowotworów przynosiły głównie niepowodzenia. Zwrot nastąpił po opracowaniu metody masowej produkcji przeciwciał monoklonalnych z zastosowaniem hybryd komórkowych w 1975 r., a następnie dzięki technologii hybrydyzacji molekularnej, pozwalającej uzyskiwać konstrukty białkowe o zaprojektowanej strukturze. Rytuksymab jest cząsteczką chimerową, w 75% składu o budowie białka ludzkiego i w 25% — mysiego. Część mysia zawiera region determinujący komplementarność (część swoista przeciwciała, wiążąca antygen CD20), a część ludzka — fragment stały immunoglobuliny, odpowiedzialny za zaangażowanie komórek efektorowych (monocytów, granulocytów), które ulegają aktywacji po połączeniu ich receptora z fragmentem Fc rytuksymabu i wywierają efekt cytotoksyczny wobec komórki docelowej CD20-dodatniej. Wybór antygenu CD20 jako punktu uchwytu przeciwciała i struktura chimerowa immunoglobuliny okazały się krytycznymi uwarunkowaniami sukcesu. Komórki przeważającej większości chłoniaków są limfocytami B posiadającymi mocno zakotwiczoną w błonie komórkowej cząsteczkę CD20, a struktura ludzka fragmentu Fc rytuksymabu umożliwia skuteczną interakcję z komórkami efektorowymi pacjenta. Badania kliniczne wykazały, że rytuksymab dodany do standardowej chemioterapii istotnie zwiększa wszystkie parametry skuteczności leczenia, a jednocześnie nie zwiększa w znaczący sposób jego toksyczności. Rytuksymab znalazł zastosowanie w leczeniu wszystkich nowotworów wywodzących się z limfocytów B (CD20+). Nastąpił przełom w dziedzinie immunoterapii z zastosowaniem przeciwciał, i od tego czasu opracowano przeciwciała wobec antygenów obecnych na komórkach innych nowotworów (anty-HER2, anty-EGFR, anty-VEGF),

wykazujące podobny do rytuksymabu mechanizm działania, oraz nowe generacje przeciwciał o nowych możliwościach.

Dzięki udoskonalaniu metod inżynierii molekularnej istnieją obecnie możliwości projektowania cząsteczek o ulepszonej aktywności w porównaniu z cząsteczkami uprzednio poznаныmi w praktyce i badaniach klinicznych. Do takich cząsteczek należy obinutuzumab, przeciwciało anti-CD20 typu II, zarejestrowane w 2013 r. we wskazaniu w przewlekłej białaczce limfocytowej. Przeciwciało to ma strukturę w pełni ludzką, wykazuje swoistość wobec alternatywnego epitopu CD20 w porównaniu z rytuksymabem i ma zmodyfikowaną strukturę części glikozylowej. W wyniku tych modyfikacji strukturalnych uzyskano przeciwciało, które w porównaniu z pierwotnym odpowiednikiem wykazuje większą aktywność cytotoksyczną zależną od lizosomu oraz większą zdolność aktywacji mechanizmu cytotoksyczności zależnej od przeciwciała (za pośrednictwem receptora Fc). Trwają obecnie dalsze badania kliniczne nad jego zastosowaniem w innych chłoniakach z komórek B.

Odrębny kierunek badań nad przeciwciałami terapeutycznymi stanowią przeciwciała sprzężone z toksyną lub radioaktywnym izotopem. Do największych sukcesów ostatnich lat należy przeciwciało anti-CD30, sprzężone z toksyną tubulinową (monometyloaurystatyną E, MMAE) — brentuksymab vedotin. Cząsteczka CD30 występuje w zasadzie na wszystkich komórkach nowotworowych chłoniaka Hodgkina oraz chłoniaka anaplastycznego z dużych komórek. Przeciwciało anti-CD30 niezwiązane nie wykazuje uchwytnej aktywności klinicznej u chorych na te nowotwory. Natomiast cząsteczka sprzężona z MMAE po związaniu się z CD30 ulega internalizacji (endocytozie), wewnątrz cytoplazmy trafia do lizosomu, gdzie następuje rozbiecie wiązania toksyny z przeciwciałem, a wolna MMAE powoduje degradację mikrotubuli, co prowadzi do blokady podziałów komórkowych oraz śmierci komórki. Mechanizm działania przeciwnowotworowego jest taki sam jak znanych leków z grupy alkaloidów *Vinca*, ale selektywny transport do wnętrza komórki nowotworowej czyni to przeciwciało lekiem szczególnie aktywnym. Badania kliniczne fazy II, które były podstawą rejestracji leku we wskazaniu nawrotowego i opornego na leczenie chłoniaka Hodgkina po autotransplantacji komórek krwiotwórczych i nawrotowego chłoniaka anaplastycznego, wykazały wyjątkowo wysoką aktywność w zakresie częstości odpowiedzi i czasu jej trwania. Przeciwciała te są obecnie przedmiotem badań klinicznych zmierzających do ustalenia optymalnego ich wykorzystania w algorytmie leczenia nowotworów CD30-dodatnich.

### **Zwrot w kierunku onkologii precyzyjnej**

Wkrótce po wprowadzeniu do praktyki pierwszego przeciwciała monoklonalnego w 2001 r. wprowadzono (rejestracja FDA) imatynib, pierwszą cząsteczkę blokującą kinazę zależną od onkogenu fuzyjnego o zasadniczym znaczeniu

w patogenezie przewlekłej białaczki szpikowej — *BCR-ABL*. Częsteczka ta zrewolucjonizowała leczenie tej choroby, ponieważ większość chorych uzyskuje dzięki niej remisję molekularną choroby, a przeżycia 10-letnie przekraczają 80% — uprzednio porównywalne wyniki osiągnano jedynie u chorych poddanych allotransplantacji szpiku za cenę znacznej śmiertelności zależnej od procedury. Sukces ten był impulsem do szeregu badań nad zastosowaniami inhibitorów kinaz istotnych w patogenezie innych chorób nowotworowych. Ten kierunek badań napotyka znacznie większe trudności, ponieważ patogenetyczne szlaki molekularne zależne od zaburzeń genetycznych wykazują w większości nowotworów, zwłaszcza litych, nieporównanie większy poziom złożoności niż pojedyncza translokacja w przewlekłej białaczce szpikowej. Jednak postępy w tej dziedzinie badań są wyraźne i dotyczą zarówno nowych, bardziej skutecznych inhibitorów kinazy zależnej od *BCR-ABL*, jak i nowych inhibitorów ukierunkowanych na kinazy o wiodącym znaczeniu w patogenezie niektórych chłoniaków, a także nowotworów litych (czerniak, rak płuca niedrobnokomórkowy). W odniesieniu do nowotworów układu limfoidalnego wysoką aktywność przeciwnowotworową i zadowalającą tolerancję wykazały dwie cząsteczki: inhibitor kinazy Brutona (ibrutynib), który blokuje szlak sygnałowy zależny od receptora komórki B oraz inhibitor szlaku mTOR, zależny od kinazy fosfatydyloinozitolowej 3 — idelalisyb. Ibrutynib został zarejestrowany (USA) we wskazaniu do leczenia chorych na nawrotowego chłoniaka z komórek płaszczka i na nawrotową przewlekłą białaczką limfocytową oraz białaczkę limfocytową z delecją 17p, a idelalisyb — we wskazaniu do leczenia chorych na nawrotową przewlekłą białaczkę limfocytową oraz chłoniaka grudkowego i chłoniaka z małych limfocytów. W działaniu klinicznym tych cząsteczek szczególnie istotne jest spostrzeżenie, że długotrwałe odpowiedzi uzyskuje się niezależnie od znanych czynników wysokiego ryzyka, takich, jak delecja 17p, 11q, oporność na chemioterapię czy inhibitor proteasomu — bortezomib (w przypadku chłoniaka z komórek płaszczka). Są to cząsteczki o nowym mechanizmie działania i innym, w porównaniu z chemioterapią, profilu toksyczności, obejmującym układ odpornościowy, przewód pokarmowy, zaburzenia metaboliczne, wymagającym nowego poziomu czujności ze strony lekarza.

Szybkie postępy w dziedzinie małych cząsteczek ukierunkowanych wybiórczo na patogenetyczne szlaki sygnałowe w poszczególnych nowotworach zarysowują nową perspektywę leczenia systemowego z ograniczonym udziałem lub nawet bez udziału klasycznych leków cytotoksycznych. Taka perspektywa jest już bliska w przypadku niektórych chłoniaków i wiąże się z możliwością skojarzenia przeciwciał z lekami o działaniu biologicznym, jak wspomniane wyżej inhibitory kinaz, a także leki immunomodulujące, od lat badane w leczeniu szpiczaka plazmocytozy (talidomid, lenalidomid, pomalidomid).

Nazwa tej grupy leków wiąże się z ich wielokierunkowym działaniem biologicznym, wyrażającym się w szczególności odwróceniem niektórych defektów immunologicznych występujących u chorych na nowotwory układu limfoidalnego (przywrócenie działania synapsy immunologicznej, wzrost poziomu immunoglobulin, wzrost efektów cytotoksycznych), działaniem antyangiogennym oraz bezpośrednim działaniem przeciwnowotworowym. Charakterystyczne jest działanie teratogenne tych leków, które było powodem wycofania pierwszego ich przedstawiciela, talidomidu. Działanie to jest zależne od wiązania białka cereblon (CRBN), występującego w okresie płodowym i niezbędnego w procesach organogenezy. Wykazano, że także działanie przeciwnowotworowe immunomodulatorów wymaga wiązania z CRBN, którego nieprawidłowa ekspresja występuje w przypadku szpiczaka i wielu chłoniaków. Opublikowane w 2014 r. badania molekularne niezależnych zespołów wskazują na jednolity mechanizm działania tych leków, które po związaniu CRBN powodują degradację dwóch czynników transkrypcyjnych istotnych w aktywacji genu *MYC* i zablokowaniu dojrzewania limfocytów: IKZF1 (*Ikaros*) i IKZF3 (*Aiolos*). Eliminacja tych czynników powoduje spadek produkcji czynnika 4 regulującego interferon (IRF4) i białka *MYC* oraz równoległy wzrost IL2 (interleukina 2) i spadek TNF (czynnik martwicy nowotworów). Obserwowane efekty kliniczne leków immunomodulujących są uzależnione od spadku IRF4 i wzrostu IL2.

Niezależnie od ustalonej pozycji lenalidomidu w leczeniu szpiczaka szereg badań klinicznych fazy drugiej wykazało znaczącą aktywność tego leku w przypadkach nawrotowych i opornych chłoniaków z komórek płaszczka (MCL), chłoniaków indolentnych oraz chłoniaka rozlanego z dużych komórek B (DLBCL). Aktualnie są prowadzone badania fazy 3 zmierzające do ustalenia roli lenalidomidu w leczeniu chłoniaków. Na obecnym etapie badań można wnioskować, że lenalidomid w skojarzeniu ze standardową immunochemioterapią R-CHOP wykazuje wybiórczą skuteczność w gorzej rokującej odmianie DLBCL, wywodzącej się z komórki typu B spoza ośrodków rozmnażania (*non-GCB, non-germinal center B-cell like*), oraz że lenalidomid w skojarzeniu z rytuksymabem wykazuje wysoką aktywność w pierwszej linii leczenia chorych na chłoniaka grudkowego. W najbliższym czasie jest oczekiwana rejestracja wskazania lenalidomidu w nawrotowym MCL.

### **Projektowane immunoglobuliny jako receptory aktywujące odpowiedź immunologiczną**

Najnowsze osiągnięcia w dziedzinie immunoterapii nowotworów wiążą się z rozwinięciem technologii tworzenia zaawansowanych konstruktów aktywujących.

Pod koniec 2014 r. został zarejestrowany (FDA) pierwszy taki konstrukt — blinatumomab we wskazaniu nawrotowej ostrej białaczki limfoblastycznej. Częsteczka ta należy do klasy dwuswoistych przeciwciał monoklonalnych angażu-



jących limfocyty T (BiTEs, *bi-specific T-cell engagers*). Jest to przeciwciało hybrydowe, posiadające dwa miejsca wiązania antygeny: CD3, występującego na limfocytach T, oraz CD19, występującego na komórkach nowotworowych. Związanie komórek docelowych przez przeciwciało powoduje aktywację limfocytów T i efekt cytotoksyczny wobec związanej jednocześnie komórki B (w tym przypadku białaczkowej). Przyspieszona rejestracja preparatu wynikała z jego wyjątkowej aktywności — częstość całkowitych remisji 69% u chorych, dla których nie jest znane skuteczne leczenie standardowe. Nastąpiła ona z zastrzeżeniem koniecznej czujności (*Boxed Warning*) w związku z możliwością znacznej toksyczności wynikającej z zespołu uwalniania cytokin (aktywacja układu odpornościowego) oraz toksyczności neurologicznej (antygen CD3 występuje także w ośrodkowym układzie nerwowym).

Ostatnio uzyskano bardzo obiecujące wyniki u chorych na zaawansowanego nawrotowego czerniaka z zastosowaniem przeciwciał skierowanych przeciwko cząsteczkom kontrolnym efektu cytotoksycznego limfocytów T: anty-CTLA4 i anty-PD1. Cząsteczki te są fizjologicznymi elementami synapsy immunologicznej, czyli złącza między komórką prezentującą antygen a limfocytom efektorowym. Aktywacja tych cząsteczek powoduje zahamowanie funkcji limfocyta T i w konsekwencji jego apoptozę. W stanie prawidłowym funkcja cząsteczek kontrolnych polega na ograniczaniu nadmiernej reaktywności limfocytów T i ewentualnych zaburzeń autoimmunologicznych. Komórki nowotworowe wykazują często ekspresję cząsteczek będących ligandami PD1 (PDL1 i PDL2), dzięki którym wyłączają reaktywność limfocytów T, które mogłyby je wyeliminować. Przeciwciała blokujące ten efekt hamujący uwalniają aktywność cytotoksyczną limfocytów T. Badania kliniczne wykazały wysoką aktywność przeciwnowotworową przeciwciał anty-CTLA4 i anty-PD1 w zaawansowanym czerniaku oraz anty-PD1 także w innych chorobach nowotworowych, w tym w chłoniakach agresywnych i chłoniaku Hodgkina. Stosowanie tych przeciwciał wiąże się ze znacznymi działaniami niepożądanymi zależnymi od aktywacji limfocytów T (*irAE, immune-related adverse events*), takimi jak zapalenie skóry, wątroby, jelit, gruczołów wydzielania wewnętrznego, jednak efekty terapeutyczne są bardzo obiecujące. Odpowiedź na leczenie ma inny charakter niż w przypadku czynników przeciwnowotworowych o działaniu jednorazowym. Przeciwciała przeciw cząsteczkom kontrolnym powodują aktywację limfocytów, która rozwija się w czasie i ulega amplifikacji przez tworzenie komórek potomnych, zatem efekt terapeutyczny jest długotrwały i dynamiczny. Odpowiedź na leczenie może wystąpić z opóźnieniem w stosunku do podania przeciwciała, nawet po okresie rzekomej progresji choroby wywołanej miejscowym odczynem zapalnym.

Najbardziej zaawansowaną technologicznie metodą aktywnej immunoterapii z wykorzystaniem inżynierii mo-

lekularnej przeciwciał są chimerowe receptory antygenowe limfocytów T. W skrócie, metoda polega na zsynchronizowaniu materiału genetycznego kodującego cząsteczkę złożoną z fragmentu pojedynczego zmiennego łańcucha lekkiego i fragmentu łańcucha ciężkiego (*scFv, single chain variable domain*), który jest elementem rozpoznającym antygen, np. CD19, fragmentu łącznikowego, fragmentu sygnałowego (łańcuch  $\zeta$  receptora CD3 komórki T) oraz elementów kostymulujących, np. cząsteczka 4-1BB i CD28. Materiał ten może być przeniesiony do komórki T przy pomocy wektora wirusowego (transfekcja), zintegrowany z genomem komórki, która następnie wytwarza receptor z zewnątrzkomórkową częścią rozpoznającą antygen, śród-błonowa częścią sygnałową i wewnątrzkomórkową częścią stymulującą. Powstaje nowa komórka o własnościach chimerowych, tj. łączących cechy limfocyta B (receptor antygenowy) i limfocyta T (aparatus cytotoksyczny). Autologiczne limfocyty T po transfekcji są namnażane *ex vivo* i przetaczane zwrótnie choremu. W organizmie pacjenta rozpoznają one antygen komórek nowotworowych, np. CD19 w przypadku nowotworów z limfocytów B, ulegają dalszej ekspansji i rozwijają odpowiedź cytotoksyczną. Komórki CART (*Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells*) są wykrywane w okresie wielomiesięcznej obserwacji we krwi obwodowej chorych, ale również w płynie mózgowo-rdzeniowym. Przeżycia wolne od niepowodzeń chorych na nawrotową ostrą białaczkę limfoblastyczną leczonych tą metodą wyniosły po 6 miesiącach obserwacji 70%. Uzyskiwano także długotrwałe całkowite remisje u chorych na agresywne chłoniaki z komórek B odporne na chemioterapię. Przetoczenie komórek CART wiąże się z wystąpieniem zespołu uwalniania cytokin, przede wszystkim IL6 (interleukina 6) i IFN $\gamma$  (interferon gamma) oraz zespołu aktywacji makrofagów i w konsekwencji — hipotonii, zespołu nieszczelności naczyń, gorączki, powikłań narządowych i neurologicznych, których opanowanie wymaga stosowania czynników antagonizujących działanie cytokin, przede wszystkim tocilizumabu (przeciwciało przeciwko receptorowi IL6) oraz kortykosteroidów. Obecnie jest prowadzonych wiele badań klinicznych z zastosowaniem komórek CART o różnych receptorach antygenowych w leczeniu chorych na nowotwory układu limfoidalnego oraz nowotwory lite, jak rak piersi, gruczołu krokowego, płuca, jelita grubego, a także u chorych na glejaki i mięsaki kościopochodne. Komórki CART i przeciwciała przeciwko cząsteczkom kontrolnym odpowiedzi immunologicznej zostały uznane za osiągnięcia przełomowe roku 2013 przez czasopismo *Science* jako punkt zwrotny w onkologii.

## Perspektywy

Chemioterapia oparta o leki cytotoksyczne działające na zasadzie kinetyki pierwszego rzędu w ciągu swojej 70-letniej historii przeżyła dynamiczny rozkwit i osiągnęła już, jak się wydaje, maksimum skuteczności, przede wszystkim

w odniesieniu do nowotworów o wysokiej frakcji proliferacyjnej lub podatnych na toksyny komórkowe uszkadzające elementy strukturalne komórki. Od blisko 20 lat toruje sobie drogę do kliniki immunoterapia, przez uprzednie 100 lat abstrakcyjna idea, początkowo w postaci przeciwciał monoklonalnych wiążących bezpośrednio komórki nowotworowe, następnie w postaci przeciwciał odblokowujących odpowiedź immunologiczną komórkową — aż po zaawansowane konstrukty chimerowe, umożliwiające zaprogramowanie autologicznych limfocytów T do wywierania długotrwałego efektu przeciwnowotworowego. Równoległe do rozwoju przeciwciał terapeutycznych rozwija się nauka o małych cząsteczkach selektywnie wyłączających patologiczne szlaki sygnałowe komórki nowotworowej w coraz większej liczbie chorób. Perspektywy dalszych badań obejmują możliwości integracji metod nowych i starych, a także opracowanie narzędzi, które pozwoliłyby na precyzyjne dopasowanie zestawu metod do konkretnej sytuacji klinicznej.

**Prof. dr hab. n. med. Jan Walewski**

Klinika Nowotworów Układu Chłonnego  
Centrum Onkologii — Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie  
ul. Roentgena 5, 02–781 Warszawa  
e-mail: walewski@coi.waw.pl

Otrzymano i przyjęto do druku: 16 lutego 2015 r.

**Piśmiennictwo**

- DeVita Jr VT, Rosenberg SA. Two hundred years of cancer research. *N Engl J Med* 2012; 366: 2207–2214.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Serendipity>; dostęp 26.11.2014.
- Goodman LS, Wintrobe MM, Dameshek W i wsp. Nitrogen mustard therapy; use of methyl-bis(beta-chloroethyl)amine hydrochloride and tris(beta-chloroethyl)amine hydrochloride for Hodgkin's disease, lymphosarcoma, leukemia and certain allied and miscellaneous disorders. *JAMA* 1946; 132: 126–132.
- Canellos GP, Rosenberg SA, Friedberg JW i wsp. Treatment of Hodgkin lymphoma: A 50-year perspective. *J Clin Oncol* 2014; 32: 163–168.
- Meyer RM, Gospodarowicz MK, Connors JM i wsp. ABVD alone versus radiation-based therapy in limited-stage Hodgkin's lymphoma. *N Engl J Med* 2012; 366: 399–408.
- Magrath IT. Small noncleaved cell lymphomas (Burkitt's and Burkitt-like lymphomas). W: Magrath IT (red.) *The non-Hodgkin's lymphomas*. Wyd. 2. London: Arnold; 1997, s. 781–811.
- Walewski J. Chłoniak Burkitta — przełom w rokowaniu po trzydziestu latach ewolucji chemioterapii. Przegląd dotychczasowych metod leczenia i porównanie skuteczności programu CODOX-M ± IVAC i MEVA/CHOP w doświadczeniu Centrum Onkologii — Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie. *Nowotwory* 2001; 51: supl. 1.
- Campo E. New pathogenic mechanisms in Burkitt lymphoma. *Nat Genet* 2012; 44: 1288–1289.
- Mead GM, Sydes MR, Walewski J i wsp. An international evaluation of CODOX-M and CODOX-M alternating with IVAC in adult Burkitt's lymphoma: results of United Kingdom Lymphoma Group LY 06 study. *Ann Oncol* 2002; 13: 1264–1274.
- Hoelzer D, Walewski J, Döhner H i wsp. Improved outcome of adult Burkitt lymphoma/leukemia with rituximab and chemotherapy: report of a large prospective multicenter trial. *Blood* 2014; 124: 3870–3879.
- Behring EA von, Kitasato S. Über das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Tieren. *Dtsch Med Wochenschr* 1890; 16: 1113–1114.
- Alduaj W, Illidge TM. The future of anti-CD20 monoclonal antibodies: are we making progress? *Blood* 2011; 117: 2993–3001.
- Goede V, Fischer K, Busch R i wsp. Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *N Engl J Med* 2014; 370: 1101–1110.
- Younes A, Gopal AK, Smith SE i wsp. Results of a pivotal phase II study of brentuximab vedotin for patients with relapsed or refractory Hodgkin's lymphoma. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2183–2189.
- Byrd JC, Jones JJ, Woyach JA i wsp. Entering the era of targeted therapy for chronic lymphocytic leukemia: impact on the practicing clinician. *J Clin Oncol* 2014; 32: 3039–3047.
- Stewart AK. How thalidomide works against cancer. *Science* 2014; 343: 256.
- Topp MS, Gökbuget N, Zugmaier G i wsp. Phase II trial of the anti-CD19 bispecific T cell-engager blinatumomab shows hematologic and molecular remissions in patients with relapsed or refractory B-precursor acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 2014; 32: 4134–4140.
- Armand P, Nagler A, Weller EA i wsp. Disabling immune tolerance by programmed death-1 blockade with pidilizumab after autologous hematopoietic stem-cell transplantation for diffuse large B-cell lymphoma: Results of an international phase II trial. *J Clin Oncol* 2013; 31: 4199–4206.
- Maude SI, Frey N, Shaw PA i wsp. Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med* 2014; 371: 1507–1517.
- Maus MV, Grupp SA, Porter DL i wsp. Antibody-modified T cells: CARs take the front seat for hematologic malignancies. *Blood* 2014; 123: 2625–2635.