

IMUNOTERAPIE A KARCINOM PROSTATY

IMMUNOTHERAPY OF PROSTATE CANCER

Jiřina Bartůňková¹, Radek Špišek¹,
Michal Podrazil¹, Ladislav Jarolím²

¹Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol,
Praha

²Urologická klinika 2. LF UK a FN Motol,
Praha

Došlo: 11. 6. 2014.

Přijato: 20. 8. 2014.

Kontaktní adresa

prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.
Ústav imunologie 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
e-mail: jirina.bartunkova@lfmotol.cuni.cz

Projekt imunoterapie ca prostaty je na Ústavu imunologie podporován prostředky IGA NT 11559-5, účelovými dary a institucionálními prostředky FN Motol a 2. LF UK.

Střet zájmů: žádný.

Souhrn

Bartůňková J, Špišek R, Podrazil M, Jarolím L. Imunoterapie a karcinom prostaty

Imunoterapie patří mezi léčebné modalit, které se postupně etabloují v klinické praxi jako součást protinádorové terapie. Nádorové onemocnění vzniká v průběhu mnohastupňového procesu, v němž samotné nádorové buňky představují heterogenní populaci množící se v mikroprostředí nenádorových buněk a tkání tvořících složitý nádorový „ekosystém“. Imunitní systém je schopen kontrolovat růst nádorových buněk v raných stádiích vzniku nádoru. S pokročilým růstem nádoru jsou imunitní mechanismy víceméně paralyzovány a mohou paradoxně růst nádoru podporovat. Aby byla

protinádorová terapie úspěšná, musí zohledňovat všechny komplexní aspekty interakce imunitního systému a nádorových buněk včetně mikroprostředí. V článku jsou probrány současné možnosti imunoterapie karcinomu prostaty preparáty, které postoupily do III. fáze klinických studií.

Klíčová slova:

imunoterapie, karcinom prostaty, klinické studie.

Summary

Bartůňková J, Špišek R, Podrazil M, Jarolím L. Immunotherapy of prostate cancer

Immunotherapy has become an increasingly appealing therapeutic strategy for cancer patients. Tumorigenesis very much represents a complex, multistage process. Tumour cells are a heterogeneous population which is developing in the context of a microenvironment of non-tumour cells and tissues, thus forming a complex „ecosystem“. In the early stages of tumour development, the immune system is capable of controlling the cell growth. With advanced tumour growth, immune mechanisms become more or less paralysed and frequently even exert a promoting effect on tumour cell proliferation. In order to be successful, anti-cancer therapy must take into consideration all the comprehensive aspects of interaction of the immune system and tumour cells, including the microenvironment. This communication discusses current options in immunotherapy of prostate cancer with agents that have advanced into phase III clinical trials.

Key words:

immunotherapy, prostate cancer, clinical trials.

KARCINOM PROSTATY A JEHO LÉČBA

Karcinom prostaty (KP) je jednou z nejčastějších malignit u mužů. V USA ročně onemocní kolem 233 000 mužů a 30 000 jich na tuto diagnózu zemře, v Evropě je ročně nových případů přes 400 000 a 92 000 úmrtí (1). V roce 2011 bylo v České republice hlášeno 6965 nových případů, přičemž nemoci podlehl 1568 pacientů. Odhad nových případů pro rok 2014 přesahuje 9000 (2). Asi 15 % nemocných má již v době stanovení diagnózy generalizované onemocnění. V časném stadiu (patologické T2), kdy je karcinom omezen pouze na prostatu, je kurativní metodou radikální prostatektomie nebo primární radikální radioterapie. Větší část pacientů je zcela vyléčena, část však může dříve či později relabovat (3).

Pacienti s lokálně pokročilým karcinomem prostaty (patologické T3 a T4) mají horší prognózu. Metodou volby je také operace nebo radioterapie, obvykle jako součást multimodálního postupu. 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. I přes hormonální léčbu nakonec ale dojde k progresi choroby, a to v důsledku nekontrolovaného růstu hormon-independních buněk nádoru. Metastatický kastracně-rezistentní karcinom prostaty (metastatic castrate-resistant prostate cancer – mCRCP) je definován přítomností kostních nebo jiných vzdálených metastáz a kontinuálním nárůstem PSA, ke kterému dochází i přes kastracní hodnoty testosteronu v séru. V tomto stadiu onemocnění lze pacientům nabídnout kromě paliativní podpůrné terapie také chemoterapii. 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). Po selhání docetaxelu lze použít nově schválené léky, 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), eventuálně lokální radioterapeutika – (Xofigo,

lokální radiofarmakum obsahující alfa zářič radium-223), případně druholiniová chemoterapeutika – preparát kabazitaxel (Jevtana, taxanové chemoterapeutikum) (2).

Najít místo imunoterapie v léčbě různých stadií karcinomu prostaty je předmětem celé řady klinických studií. Uvádíme zde principy imunoterapie a přehled imunopreparátů, které postoupily do III. fáze klinického testování.

PRINCIPY IMUNOTERAPIE

Aktivní i pasivní imunoterapie využívají mechanismů specifické i nespecifické imunity k boji proti nádorovým buňkám. Pasivní imunoterapie se zakládá na aplikaci předem připravených protilátek, buněk imunitního systému či dalších faktorů příjemci, čímž se liší od aktivní imunoterapie, kde se do léčebného procesu aktivně zapojuje i imunitní systém příjemce. Imunitní systém je schopen kontrolovat růst nádorových buněk zejména v raných stádiích vzniku nádoru. S pokročilým růstem nádoru jsou imunitní mechanismy víceméně paralyzovány a mnohdy spíše růst nádoru podporují. Proto by imunoterapie měla zohledňovat různé aspekty tohoto složitého procesu včetně dopadů předchozí terapie na imunitní systém pacienta (5).

V souladu s teoretickými předpoklady i experimentálními daty má protinádorová imunoterapie největší šanci na úspěch v případech, že bude aplikována pacientům v časných fázích onemocnění, případně pacientům po radikálním chirurgickém výkonu. Například u karcinomu prostaty se odhaduje, že hodnotě PSA 0,03 ng/ml v séru odpovídá přítomnost již cca 10^6 až 10^7 nádorových buněk (6). Proto se jeví jako ideální zahájit aplikaci terapeutické vakcíny již při známkách vzestupu PSA 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 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 (např. metronomickým podáváním malých dávek cyklofosfa-

midu), eventuálně zohledněním individuální imunitní reaktivity pacienta a kombinováním léčby s jinými přístupy, např. chemoterapií nebo radioterapií, ve smyslu moderní koncepce personalizované medicíny.

PŘÍPRAVKY AKTIVNÍ IMUNOTERAPIE

Provenge

Dosud jediný imunoterapeutický preparát schválený FDA (Sipuleucel-T – Provenge, firmy Dendreon) pro pacienty s minimálně symptomatickým metastatickým CRPC prodloužil v klinických studiích fáze III medián přežití z 21,7 na 25,8 měsíců (7), tedy o 1,2 měsíce více než docetaxel. Tento preparát vyráběn z autologních buněk pacienta získaných leukaferézou obsahuje aktivované monocyty, které jsou pulzované fúzním proteinem GM-CSF s prostatickou kyselou fosfatázou (PAP). Kromě aktivovaných monocytů obsahuje preparát i další imunitní buňky periferní krve pacienta. Pacient podstupuje leukaferézu celkem 3krát v odstupu 2 týdnů a preparát je aplikován zpět pacientovi intravenózně čerstvý, nezamražený.

G-VAX

Tento preparát (firma Cell Genesys, CA, USA) je celobuněčnou vakcínou složenou z buněk prostatické nádorové linie LNCaP a PC3, které jsou ozářeny, aby neproliferovaly, a zároveň geneticky modifikovány, aby secernovaly GM-CSF. Lokální sekrece tohoto cytokinu po aplikaci vakcíny pacientovi aktivuje dendritické buňky *in vivo*, které pak mají prezentovat nádorové antigeny obsažené v liniích nádorových buněk. Srovnání léčby G-VAXem oproti docetaxelu s prednisonem ve studii fáze III (VITAL-1) u pacientů s asymptomatickým CRPC nevyšlo pro tento preparát příznivě, i když v určitých podskupinách pacientů s méně agresivním KP byl trend k lepším výsledkům (8). Také druhá studie fáze III (VITAL-2) srovnávající G-VAX podávaný zároveň s chemoterapií docetaxelem vs. docetaxel + prednison byla předčasně ukončena pro vyšší frekvenci úmrtí v léčebném rameni (9). Důvodů selhání této studie je celá řada. Jedním z nejdůležitějších se jeví fakt, že byla ukončena předčasně.

Je totiž zřejmě zapotřebí delšího sledování vzhledem k opožděnému účinku imunoterapie. Malá studie kombinující ipilimumab (protilátka proti molekule CTLA-4, která odstraňuje inhibiční vliv regulačních T-lymfocytů) s GVAX ukazuje pravděpodobný aditivní efekt této kombinované imunoterapie (10).

ProstVac-VF

Tento preparát firmy Bavarian Nordic vyvinutý ve spolupráci s NIH v USA je terapeutickou vakcínou, založenou na rekombinantních atenuovaných virech neštovic (vakcinie) a ptačích neštovic (fowlpox). Tyto viry slouží jako vektory, které exprimují zároveň gen pro PSA a tři kostimulační molekuly – B7.1, ICAM-1 a LFA-3. Mechanismus účinku by měl spočívat v tom, že buňky pacienta jsou po i.m. 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 indukují cytotoxické T-lymfocyty, které posléze budou lýzovat buňky exprimující PSA, tedy nádorové buňky u pacientů s karcinomem 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 10 letech rozsáhlými studiemi fáze II v různých stadiích karcinomu prostaty i v různých kombinacích. Randomizovaná fáze II na 125 pacientech s minimálně symptomatickým mCRPC nedokázala rozdíly mezi PFS, ale medián OS byl o 8,5 měsíce lepší než v kontrolní skupině (11). Na základě těchto výsledků byla v roce 2011 zahájena studie fáze III, která plánuje zařazení 1200 pacientů s minimálně symptomatickým CRPC. Také kombinace Prostvacu s ipilimumabem se u malé studie fáze I jeví jako nadějnou.

Vakcíny na bázi dendritických buněk

Poznání klíčové role dendritických buněk (DC) v procesu zahájení imunitní reakce a možnost jejich přípravy ve velkém množství

in vitro vedly k úvahám o jejich využití v imunoterapii nádorových onemocnění (12). Podstata metody spočívá v *ex vivo* kultivaci monocytů, ze kterých se stanou dendritické buňky. Monocyty periferní krve pacientů vybraných pro imunoterapii 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 pohlčení nádorových antigenů jsou následně dendritické buňky aktivovány, maturovány (vyzrávají) 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.

Brzy po objasnění role dendritických buněk v indukcii imunitní reakce a publikaci protokolů pro jejich přípravu z monocytů bylo provedeno v posledních 10 letech několik desítek klinických studií u karcinomu prostaty. U většiny těchto studií došlo k laboratorně detekovatelné indukcii protinádorové imunitní odpovědi, ale i přes několik popsanych regresí nádorových lézí nebyl klinický efekt většinou dlouhodobý (13).

Zásadním problémem provedených studií je, že do nich byli výlučně zahrnuti pacienti ve velmi pokročilých fázích onemocnění, u nichž již byly vyčerpány všechny ostatní terapeutické možnosti. Imunitní systém byl tedy výrazně poškozen jak chemoterapií, tak imunosupresivními mechanismy nádorové tkáně. Za takových podmínek je naděje na trvalý efekt imunoterapie malá. I přesto došlo u většiny pacientů k indukcii detekovatelné imunitní odpovědi a ojedinělým výrazným klinickým efektům.

V Ústavu imunologie 2. LF a FN Motol v Praze byla v posledních 10 letech vyvíjena terapeutická vakcína na bázi dendritických buněk proti karcinomu prostaty a ovaria (DCVAC/PCa a DCVAC/OvCa). Terapeutická vakcína je vyráběna z jediné leukaferézy, vyrobené alikvoty jsou uchovávány zamražené v tekutém dusíku a jednotlivé dávky jsou posléze subkutánně aplikovány v 4–6týdenních intervalech po dobu přibližně 1 roku. Od roku 2010 probíhají ve spolupráci s urology a onkology dvě klinické studie fáze I/II, které hodnotí imunoterapii přípravkem DCVAC/PCa u pacientů s karcinomem prostaty ve stadiu biochemického relapsu a u pacientů s kastro-

ně-rezistentním metastatickým karcinomem. Tyto studie mají prokázat bezpečnost přípravku a schopnost indukce imunitní reakce na nádorové struktury. Dosavadní průběžné analýzy indikují příznivý bezpečnostní profil přípravku. U pacientů je v průběhu imunoterapie detekovatelná odpověď T lymfocytů na antigeny PSA (14,15).

Další vývoj DCVAC/PCa zajišťuje česká biotechnologická firma SOTIO a.s., která je sponzorem pěti klinických studií fáze II a zahájila mezinárodní klinickou studii fáze III. Studie fáze II jsou randomizované a hodnotí imunoterapii v různých stadiích karcinomu prostaty. Fáze III navazuje na fázi I a II u pacientů po selhání hormonální léčby indikovaným k chemoterapii. Terapeutická vakcína je podávána v kombinaci s docetaxelem využívající principu tzv. chemo-imunoterapie (viz dále).

PASIVNÍ IMUNOTERAPIE ZAMĚŘENÁ NA BLOKÁDU INHIBIČNÍCH MOLEKUL

Ipilimumab

Při studiu základních mechanismů imunitní reakce se staly terčem pozornosti molekuly, které se objevují na cytotoxických lymfocytech po aktivaci a které slouží k regulaci imunitní reakce, aby se předešlo autoimunitnímu poškození. Hlavními zástupci těchto molekul jsou antigenní struktury zvané CTLA-4 a PD1 (programmed cell death). V nádorovém mikroprostředí dochází často k akumulaci tzv. regulačních T-lymfocytů, které obvykle exprimují tyto molekuly. Regulační T-lymfocyty tlumí protinádorovou imunitní odpověď a předpokládá se tedy, že jejich zablokování monoklonálními protilátkami povede k prodloužené aktivaci cytotoxických lymfocytů, které se tak mohou déle uplatňovat v protinádorové imunitní reakci.

V průběhu posledních 10 let se v indikaci protinádorové imunoterapie testovala protilátka anti-CTLA-4 (ipilimumab – Yervoy, Bristol-Myers Squibb), která byla registrována FDA ke klinickému použití, neboť ve studii fáze III prokázala významné prodloužení OS u pacientů s metastatickým melanomem (16). V recentně ukončené klinické studii

fáze III nebyl efekt ipilimumabu (17) na celkové přežití pacientů s CRPC po selhání docetaxelu prokázán a nyní probíhá studie s tímto preparátem u pacientů před aplikací docetaxelu. Nebyl prokázán ani potencující efekt ipilimumabu kombinovaný s lokální radioterapií metastáz u pokročilého onemocnění. 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 proti PD-1 (nivolumab), eventuálně proti jeho ligandu PD-L1, který je silně exprimován některými nádory. Obdobně jako CTLA-4, také molekula PD-1 je regulační molekulou indukující apoptózu aktivovaných lymfocytů. Zatím byla testována u karcinomu prostaty pouze ve fázi I–II.

CHEMO-IMUNOTERAPIE

Nové poznatky o účinku chemoterapeutik také vedly ke konceptu kombinované chemo-imunoterapie. Některá chemoterapeutika totiž indukují tzv. imunogenní smrt buněk (18), která tak lépe indukuje protinádorovou imunitní reakci. 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. Předpokládá se, že vhodné načasování chemoterapie a imunoterapie může mít potencující efekt a zajistit úspěch imunoterapie i u pacientů v pokročilejších stádiích onemocnění. Obdobně potencující efekt se předpokládá u kombinace imunoterapie s hormonální léčbou, eventuálně radioterapií. Účinnost těchto postupů však vyžaduje klinické ověření.

ZÁVĚR

Imunoterapie je dnes již uznávanou léčebnou možností u řady nádorových chorob včetně karcinomu prostaty. Řada principiálních otázek však zůstává nezodpovězena. Jaké je optimální časování imunoterapie, v jakých sekvencích a kombinacích se má aplikovat androgen-deprivační terapie, chemoterapie nebo radioterapie, kteří pacienti budou vhodní k aplikaci imunoterapie, v jakém stadiu, jakým preparátem a jaké jsou prediktivní biomarkery pro úspěšnost imunoterapie. Na tyto otázky mají postupně odpovědět probíhající klinické studie. I při prokázání efektu bude hrát velkou úlohu farmakoekonomika, neboť vývoj nových preparátů je finančně náročné, což se zákonitě odráží v jejich konečné ceně. Pro jednotlivé pacienty v konkrétní klinické situaci musí ošetřující lékař na základě dostupných poznatků léčbu individualizovat.

LITERATURA

1. <http://globocan.iarc.fr>.
2. <http://www.uroweb.cz/>
3. **Mottet N, Bastian PJ, Bellmunt J, et al.** Guidelines on Prostate Cancer. European Association of Urology 2014. www.uroweb.org/gls/pdf/09%20Prostate%20Cancer_LRLV2.pdf
4. **Tannock IF, de Wit R, Berry WR, et al.** Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(15): 1502–1512.
5. **Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD.** The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 329–360.

6. **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.
7. **Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al.** Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 2010; 363(5): 411–422.
8. **Higano C, et al.** A phase III trial of GVAX immunotherapy for prostate cancer versus docetaxel plus prednisone in asymptomatic, castration-resistant prostate cancer. ASCO 2009 Genitourinary Cancer Symposium, Orlando, FL, USA, 2009; abstrakt LBA150.
9. **Small E, et al.** A Phase III trial of GVAX Immunotherapy for Prostate Cancer in Combination with Docetaxel versus Docetaxel Plus Prednisone in Symptomatic, Castration-Resistant Prostate Cancer. ASCO 2009 Genitourinary Cancer Symposium, Orlando, FL, USA, 2009; abstrakt 7.
10. **van den Eertwegh AJM, et al.** Combined immunotherapy with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-transduced allogeneic prostate cancer cells and ipilimumab in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 dose-escalation trial. *Lancet Oncol* 2012; 13: 509–517.
11. **Kantoff PW, Schuetz TJ, Blumenstein BA, 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: 1099–1105.
12. **Steinman RM.** Lasker Basic Medical Research Award. Dendritic cells: versatile controllers of the immune system. *Nat Med* 2007; 13(10): 1155–1159.
13. **Galluzi, Senovilla L, Vacchelli E, et al.** Trial watch: Dendritic cell-based interventions for cancer therapy. *Oncoimmunology* 2012; 1(7): 1111–1134.
14. **Jarolím L, Špíšek R, Podrazil M, et al.** Long-term immunotherapy by dendritic-cells based vaccine in patients with PSA recurrent prostate cancer. *European Urology, Supplements* 2014; 13(1)e872, 29th Annual EAU Congress, Stockholm, 11. 4. to 15. 4. 2014.
15. **Podrazil M, Rožková D, Fučíková J, et al.** Combined chemoimmunotherapy of castrate-resistant prostate cancer with dendritic-cell based vaccine DCVAC/Pca, CIMT 2014, Abstracts, 12th Annual Meeting, 6. 5. to 8. 5. 2014, Mainz, Germany.
16. **Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DE, et al.** Improved Survival with Ipilimumab in Patients with Metastatic Melanoma. *NEJM* 2010; 363: 711–723.
17. Tisková zpráva Bristol-Myers Squibb ze dne 12. 9. 2013. <http://news.bms.com/press-release/rd-news/bristol-myers-squibb-reports-results-phase-3-trial-yervoy-ipilimumab-previousl>.
18. **Fučíková J, Králíková P, Fialová A, et al.** Human tumor cells killed by anthracyclines induce a tumor-specific immune response. *Cancer Res* 2011; 71(14): 4821–4833.