

# O(d)porność na immunoterapię

DR PAULA DOBOSZ<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Hematologii, Onkologii i Chorób Wewnętrznych, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Science Team, MNM Diagnostics, Poznań

## ■ Wstęp

**P**omimo spektakularnych sukcesów immunoterapii, generalnie większość pacjentów nie odpowiada na tę formę leczenia lub odpowiedź jest krótkotrwała, a szybko pojawiająca się oporność uniemożliwia kontynuację terapii. Zarówno pierwotna, jak i wtórna oporność na immunoterapię pozostają w dużej mierze niejasne i wymagają szczegółowych badań. Nie ulega wątpliwości, że odpowiedź znajduje się gdzieś na poziomie molekularnym: mechanizmy powstawania oporności wydają się być skomplikowane i wieloczynnikowe, angażując takie elementy, jak: ekspresja istotnych genów, metabolizm, obecność stanu zapalnego czy procesy związane z angiogenezą i neowaskularyzacją guza [1]. Choć w obrębie pojęcia „immunoterapia” mieści się wiele różnych form terapii i omówienie wszystkich wykracza poza możliwości tego artykułu, to oporność na różne formy immunoterapii wydaje się mieć wiele wspólnych czynników. Zostaną one opisane głównie na przykładzie oporności na inhibitory immunologicznych punktów kontroli (ang. *checkpoint inhibitors*) z uwagi na największy globalny udział tego rodzaju terapeutyków na tle innych form immunoterapii nowotworów. Nie oznacza to jednak, iż inne metody leczenia są w jakikolwiek sposób gorsze czy mniej skuteczne, nawet jeśli rekomendacji FDA (Food and Drug Administration) jest dla nich nieco mniej aniżeli dla

wspomnianych już inhibitorów immunologicznych punktów kontroli. Dodatkowo znanych jest już bardzo wiele czynników wpływających na powstawanie oporności i większość z nich będzie się powtarzała w wielu rodzajach immunoterapii – czy to CAR-T (ang. *chimeric antigen receptor T cells*), czy też w inhibitorach immunologicznych punktów kontroli, a z całą pewnością nie jest to lista zamknięta.

## ■ Pierwotna i wtórna oporność na immunoterapię

Zanim przejdziemy do omawiania konkretnych czynników, zatrzymajmy się na chwilę przy dwóch rodzajach oporności. Pierwotna oporność na immunoterapię, czasem nazywana pierwotną niewrażliwością na immunoterapię, to sytuacja kliniczna, w której nowotwór<sup>1</sup> nie odpowiada na zastosowaną po raz pierwszy formę immunoterapii; układ immunologiczny nie jest zdolny do podjęcia odpowiednich działań pomimo stymulacji np. terapeutykami z grupy inhibitorów immunologicznych punktów kontroli [2, 3]. Wtórna oporność na immunoterapię to z kolei sytuacja, w której nowotwór początkowo odpowiadał na zastosowane leczenie, jednak po pewnym czasie (zwykle przyjmuje się minimum 6 miesięcy) nastąpiła wznowa choroby i jej dalsza progresja [1–3]. Dla przykładu, wśród pacjentów z czerniakiem, u których zastosowano inhibitory

<sup>1</sup>Zarówno w przypadku immunoterapii, jak i nowoczesnych terapii celowanych spotykamy się w literaturze ze sformułowaniami „pacjent odpowiada/nie odpowiada na terapię” lub „nowotwór odpowiada/nie odpowiada na terapię”. Jakkolwiek stosowane we wcześniejszych dekadach metody leczenia, takie jak chemioterapia czy radioterapia, działały bardziej systemowo i przyjęło się częściej używać formy „pacjent odpowiada/nie odpowiada”, tak w przypadku immunoterapii i terapii celowanych coraz częściej używa się określenia opisującego odpowiedź wyłącznie guza, a nie całego pacjenta.

immunologicznych punktów kontroli, średnio 1/3–1/4 początkowo dobrze odpowiadających guzów nabywa oporności w toku leczenia i przestaje reagować na tę formę immunoterapii [4, 5].

Nie będzie zaskoczeniem sytuacja, w której te same czynniki będą przyczyną występowania pierwotnej bądź wtórnej oporności na immunoterapię. Wydaje się jednak, że w początkowych fazach rozwoju guza czynników działających w ten sposób jest znacznie mniej, podczas gdy nowotwory zaawansowane mogą rozwijać oporność wywołaną wieloma różnymi czynnikami, na wielu płaszczyznach, co znacznie utrudnia proces terapeutyczny i zmniejsza szanse powodzenia. Zarówno czynniki dotychczas dobrze opisane w literaturze, jak i te dopiero sugerowane i badane często występują w wielu aspektach funkcjonowania nowotworu i bardzo ciężko jest je jednoznacznie zakwalifikować jako np. należące do mikrośrodowiska nowotworu bądź związane wyłącznie z samymi komórkami układu odpornościowego. Dla przejrzystości, czynniki wpływające na oporność w prezentowanym artykule zostały podzielone na kilka głównych grup, choć należy pamiętać, że jest to podział arbitralny i większość z omawianych czynników mogłaby zostać przypisana do wielu tych kategorii jednocześnie.

## ■ Heterogenność i czynniki genomowe

Niska częstość odpowiedzi na immunoterapię w przypadku niektórych najczęściej występujących nowotworów, m.in. nowotworu prostaty czy nowotworu piersi, skłaniają badaczy do poszukiwania nie tylko nowych rozwiązań terapeutycznych, ale przede wszystkim znajdowania wyjaśnień na poziomie molekularnym. Być może to wysoka heterogenność nowotworów, zwłaszcza guzów litych, wpływa na tak różną odpowiedź [6] – z pewnością nie tylko heterogenność w obrębie tego samego guza, gdzie obecne są różne rodzaje klonów komórek, ale również heterogenność, jaką wykazują przerzuty danego nowotworu [1, 6, 7]. Czasem obserwuje się sytuację, w której część guzów przerzutowych odpowiada na zastosowane leczenie, a pozostałe nie [1, 6]. Do takich przypadków zaliczają się przerzuty do mózgu, jakie tworzy np. niedrobnokomórkowy rak płuca (ang. *non-small-cell lung cancer* – NSCLC) – wysoka heterogenność nowych guzów sprawia, że część przerzutów (np. w obrębie klatki piersiowej)

wykazuje wysoką ekspresję PD-L1 i dobrze odpowiada na leczenie, a przerzuty umiejscowione w innych obszarach ciała (zwłaszcza w mózgu) wykazują znacznie niższą ekspresję PD-L1 i są niewrażliwe na tego typu terapię [8]. Nie są to jednak sytuacje częste, generalnie ekspresja cząsteczek immunologicznych punktów kontroli jest raczej stabilna i zbliżona w obrębie tego samego nowotworu i jego przerzutów [9].

Obciążenie mutacyjne nowotworu (ang. *tumour mutation burden* – TMB) to parametr, który początkowo był wskazywany jako potencjalny biomarker odpowiedzi na immunoterapię [1, 10]. Wykazano, że korelacja TMB i odpowiedzi na leczenie z zastosowaniem przeciwciał anty-CTLA-4 jest istotna w przypadku pacjentów z zaawansowanym czerniakiem, a korelacja TMB i odpowiedzi na leczenie z zastosowaniem przeciwciał anty-PD-1 jest istotna w przypadku pacjentów z NSCLC [11–14]. Uwzględniono zatem TMB w licznych zaleceniach i to tej pory funkcjonuje jako składowa wielu testów, jednak napływające wyniki badań skłaniają do weryfikacji TMB jako parametru decydującego o ewentualnym stosowaniu lub nie immunoterapii u danego pacjenta [10]. Nawet nowotwory wykazujące bardzo zbliżoną wartość TMB mogą odpowiadać zupełnie inaczej na zastosowaną metodę leczenia, np. przeciwciała anty-PD-1, co pokazuje, jak skomplikowanym i wieloczynnikowym procesem jest angażowanie układu immunologicznego do walki z nowotworem [10]. Podobnie niestabilność mikrosatelitarnej (ang. *microsatellite instability*) oraz niedobór mechanizmów naprawy DNA, takich jak naprawa niewłaściwie sparowanych zasad azotowych (ang. *mismatch repair deficiency*), zostały już powiązane z odpowiedzią na immunoterapię [1, 15]. Wszystkie wyżej wymienione czynniki są związane ze zwiększonym występowaniem neoantygenów i antygenów specyficznych dla danego guza, co przekłada się najczęściej na wyższą immunogenność nowotworu oraz większą infiltrację nowotworu przez limfocyty T [13, 16, 17]. Taka sytuacja nie zawsze łączy się z lepszą odpowiedzią na immunoterapię, gdyż komórki nowotworowe mogą hamować odpowiedź immunologiczną np. za sprawą wydzielanych cytokin lub za pomocą ekspresji odpowiednich białek powierzchniowych, mających zdolność do hamowania aktywnych limfocytów T [18]. Jak wykazano, takie zjawiska, jak brak odpowiedzi komórek nowotworowych na stres komórkowy oraz indukowanie autofagii, są

czynnikami sugerującymi oporność na inhibitory immunologicznych punktów kontroli [19].

Mutacje powodujące zaburzenia w istotnych ścieżkach sygnalizacyjnych niezmiennie stanowią podstawę rozwoju oporności na wiele form terapii przeciwnowotworowych, w tym immunoterapii. Wiadomo już, że kluczowym czynnikiem umożliwiającym oporność, a tym samym ucieczkę i rozwój nowotworu, pozostają cząsteczka PD-1 oraz jej dwa znane ligandy, PD-L1 i PD-L2 [20]. Z jednej strony interferon  $\gamma$  odgrywa bardzo istotną rolę w tym procesie, wpływając np. na wzmożenie ekspresji PD-L1 na powierzchni komórek nowotworowych [10, 20–22]. Z drugiej strony indukuje również produkcję cytokin, takich jak CXCL9 i CXCL10, wpływając na obecność licznych komórek układu odpornościowego w okolicy komórek nowotworowych, a ponadto może wywoływać efekt proapoptotyczny, bezpośrednio przyczyniając się do śmierci komórek nowotworowych [21, 23, 24]. Zaobserwowano, że znaczna część nowotworów opornych na immunoterapię wykazuje zaburzenia ścieżek sygnalizacyjnych związanych z interferonem  $\gamma$ , najczęściej ścieżki JAK/STAT, zarówno w przypadku nowotworów wykazujących pierwotną, jak i wtórną oporność na tę formę terapii antynowotworowej [24]. W zaawansowanym czerniaku z wtórną opornością na immunoterapię, zwłaszcza przeciwciała anti-PD-1 i anti-CTLA-4, wykazano częste mutacje typu LOF m.in. genów *JAK1/2*, *IRF1*, *IFNGR1/2* [1, 25]. Wstępne wyniki badań na mysich modelach czerniaka pokazują, że przywrócenie prawidłowego funkcjonowania uszkodzonego szlaku sygnalizacyjnego JAK/STAT może przywrócić wrażliwość nowotworu na immunoterapię [25, 26]. Pewne doświadczenia wskazują ponadto na udział mutacji w genie *EGFR* w nadekspresji PD-L1 na powierzchni komórek nowotworowych, co z kolei promuje tworzenie się immunosupresyjnego mikrośrodowiska nowotworu, podobnie jak ma to miejsce w przypadku zaburzeń działania ścieżki sygnalizacyjnej IL-6/JAK/STAT3 [27].

Wzmoczona aktywacja ścieżki sygnalizacyjnej MAPK, podobnie jak mutacje wyłączające PTEN, mogą zaburzać infiltrację i funkcjonowanie limfocytów T naciekających tkankę guza (ang. *tumor infiltrating lymphocytes* – TILs) poprzez ekspresję takich czynników, jak VEGF (ang. *vascular endothelial growth factor*) czy też szereg cytokin

hamujących stan zapalny, np. IL-8 [28, 29]. Liczne badania prowadzone na mysich modelach nowotworów jasno pokazują, że inhibitory MAPK mogą nie tylko przywracać prawidłowe funkcjonowanie TILs, ale również właściwą sygnalizację szlaków interferonu  $\gamma$ , a nawet ekspresję cząsteczek MHC klasy I (ang. *major histocompatibility complex*) [30–32].

Dla oporności na immunoterapię ważna jest również degradacja proteosomalna. Dla przykładu, w zdrowych komórkach białko HIP1R (ang. *huntingtin interacting protein 1-related*) znakuje PD-L1 i tym samym przeznaczają tę cząsteczkę do degradacji lizosomalnej [33]. Jednakże w wielu komórkach nowotworowych gen kodujący *HIP1R* jest zmutowany, przez co cząsteczka PD-L1 ulega ekspresji i może być obecna w nadmiarze, co prowadzi do hamowania ewentualnej cytotoxiczności limfocytów T [33].

Gen kodujący białko CD73 jest kolejnym często ulegającym nadekspresji w komórkach nowotworowych [34, 35]. CD73 jest enzymem katalizującym reakcję defosforylacji monofosforanu adenozy, w efekcie której powstaje adenozyne – związek ten wpływa na inhibicję proliferacji limfocytów T oraz ich funkcji cytotoksycznych, dodatkowo promując angiogenezę i pośrednio również metastazę w komórkach guza [34–36]. Wysoka ekspresja CD73 jest związana z niekorzystnym rokowaniem w wielu typach nowotworów, np. raku trzustki i piersi, wiąże się także z opornością na inhibitory immunologicznych punktów kontroli, szczególnie przeciwciała anti-PD-1, co sugeruje, że może być potencjalnym biomarkerem odpowiedzi na ten rodzaj leczenia [34, 37].

## ■ Czynniki związane z komórkami układu odpornościowego

Nieprawidłowości w szlakach komórkowych związanych z prezentacją antygenów mogą uniemożliwić aktywację limfocytów T i prowadzić do ucieczki komórek nowotworowych (ang. *escape*) [38]. Najczęściej występujące tutaj mechanizmy molekularne to mutacje zaburzające prawidłowe funkcjonowanie proteasomów, dysfunkcje w obszarze transportu i procesowania antygenów i wreszcie zmiany strukturalne w obrębie cząsteczek MHC klasy I [1]. Szczególnie mutacje i epimutacje<sup>2</sup>, jak również inaktywacja transkrypcji czy zaburzenia

<sup>2</sup>Nieprawidłowości epigenetyczne danego genu lub regionu, w tym przypadku kodującego cząsteczkę MHC klasy I.