

Imunoterapie karcinomu prostaty

prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc., prof. MUDr. Radek Špišek, PhD., MUDr. Michal Podrazil

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

Karcinom prostaty patří mezi nejčastější nádorová onemocnění u mužů. Pokud dojde k relapsu onemocnění po primární radikální terapii nebo pokud je onemocnění diagnostikováno v pokročilém stadiu, jsou možnosti léčby omezené. Proto se imunoterapie jeví jako další perspektivní léčebná modalita. Vznik nádorového onemocnění je mnohastupňový proces komplexní povahy, v němž samotné nádorové buňky představují velmi heterogenní populaci zasazenou do kontextu 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 se imunitní mechanismy víceméně paralyzují a mnohdy mají naopak podpurný účinek ve prospěch proliferace nádorových buněk. Aby byla protinádorová terapie úspěšná, musí zohledňovat všechny komplexní aspekty interakce imunitního systému a nádorových buněk včetně mikroprostředí. V článku je probrána problematika nádorových vakcín založených na dendritických buňkách, které se testují u pacientů s karcinomem prostaty v různých stádiích jako imunoterapie v kombinaci s dalšími léčebnými modalitami.

Klíčová slova: karcinom prostaty, imunitní systém, imunitní dohled nad nádory, imunoterapie, dendritické buňky.

Immunotherapy for prostate cancer

Prostate cancer is among the most common types of cancer disease in men. If there is a relapse of the disease after primary radical therapy or the disease is diagnosed in an advanced stage, therapeutic options are limited. Given this, immunotherapy appears to be another promising treatment modality. The development of cancer disease is a multistage process of a complex nature wherein the tumour cells themselves represent a very heterogeneous population put into the context of a microenvironment of non-tumour cells and tissues forming a complex tumour “ecosystem”. The immune system is capable of controlling tumour cell growth in early stages of tumour development. With advanced tumour growth, immune mechanisms become more or less paralysed and, in fact, frequently have a promoting effect on tumour cell proliferation. In order to be successful, anticancer therapy must take into consideration all the complex aspects of interaction of the immune system and tumour cells, including the microenvironment. The article deals with dendritic cell-based tumour vaccines that are tested in patients with various stages of prostate cancer as immunotherapy in combination with other treatment modalities.

Key words: prostate cancer, immune system, cancer immunosurveillance, immunotherapy, dendritic cells.

Urol. praxi, 2013; 14(1): 15–18

Karcinom prostaty

Karcinom prostaty je jednou z nejčastějších malignit u mužů. V USA ročně onemocní kolem 240 000 mužů a 33 000 jich zemře na tuto diagnózu, v Evropě je ročně nových případů přes 300 000 s 87 000 úmrtí. V roce 2009 bylo v ČR hlášeno 6 154 nových případů, přičemž nemoci podlehl 1 305 pacientů (1). Asi 15 % nemocných má již v době stanovení diagnózy generalizované onemocnění. Mezi léčebné možnosti karcinomu prostaty patří chirurgická léčba (prostatektomie), radioterapie, hormonální léčba a chemoterapie (2). Kurativně lze karcinom prostaty léčit ve fázi lokálního postižení. Přes dobré dlouhodobé výsledky radikální prostatektomie nebo primární kurativní radioterapie část pacientů relabuje. Rizikovými faktory relapsu jsou zejména Gleasonovo skóre a hodnota PSA při diagnóze. Významným prognostickým faktorem po biochemické recidivě je tzv. PSA zdvojnásobovací čas (PSADT). Pacienti s krátkým PSADT (méně než 3 měsíce) mají vyšší riziko časnějšího vzniku metastáz a zvýšenou mortalitu než pacienti s dlouhým PSADT (nad 12 měsíců) (3). Proto

se PSADT jeví jako vhodný „surrogate marker“ u klinických studií, které hodnotí efekt různých léčiv aplikovaných v době biochemické recidivy, kdy jiné parametry, jako jsou čas do progresu nebo celkové přežití, nemohou být pro dlouhý časový interval k vyhodnocení studií použity.

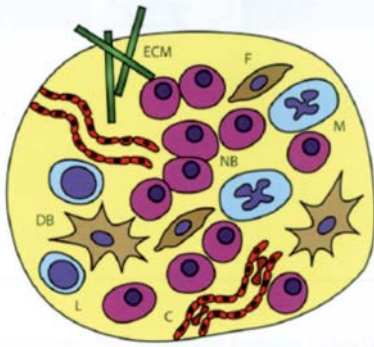
Pacienti s lokálně pokročilým karcinomem prostaty mají horší prognózu. Metodou volby je také operace nebo radioterapie, obvykle v kombinaci s hormonální terapií. Pacienti s metastazujícím karcinomem jsou kandidáti pro hormonální terapii. Cílem hormonální léčby je navození androgenní deprivace, která vede k apoptóze buněk primárního tumoru i případných metastáz. Průměrný čas přežití bez progresu u pacientů léčených androgenní deprivací se pohybuje mezi 18–24 měsíci a celkové přežití je 24–36 měsíců (2). Při hormonální léčbě totiž dochází k progresi choroby, a to v důsledku nekontrolovaného růstu hormonindependentních buněk nádoru. Metastatický kastročně-rezistentní karcinom prostaty (CRCP, castrate-resistant prostate cancer) je definován přítomností kostních nebo jiných vzdálených

metastáz a kontinuálním nárůstem PSA, ke kterému dochází i přes androgenní deprivaci. Medián přežití u těchto pacientů je bez další léčby přibližně 15–20 měsíců. Poslední léčebnou možností, kterou lze pacientům v tomto stadiu onemocnění nabídnout kromě paliativní podpurné terapie, je dle standardů urologické společnosti chemoterapie (2). Na základě velkých randomizovaných studií je doporučeným léčebným postupem podávání docetaxelu v 3týdenních 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).

Terapeutické zásahy, které by vedly k oddálení biochemické recidivy po primární terapii, k prodloužení PSADT u pacientů v biochemické recidivě, k prodloužení doby do vzniku hormonální rezistence a potenciaci účinku chemoterapie by ve svém důsledku měly prodloužit a zkvalitnit život pacientů.

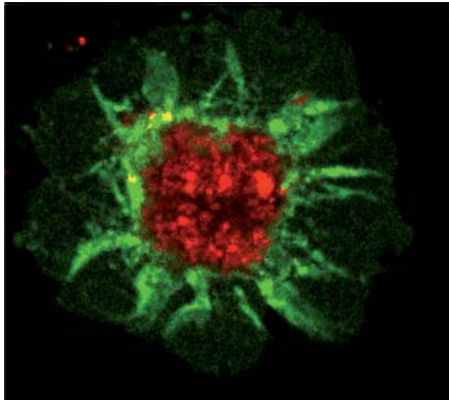
Z palety různých terapeutických strategií se imunoterapie jeví jako jedna z nejperspektivnějších. Léčba dosud jediným imunoterapeutickým

Obrázek 1. Nádorový ekosystém (podle Klenner P. Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii, Grada, Praha, 2010)



NB – nádorová buňka; ECM – extracelulární matrice; F – fibroblast; M – makrofágy; DB – dendritická buňka; L – lymfocyty; C – céva

Obrázek 2. Dendritická buňka s pohlcenými kousky nádorové buňky (fotografie z konfokálního mikroskopu Olympus, z publikace pracovníků Ústavu imunologie UK 2. LF a FN v Clinical Immunology, 2007)



kým preparátem schváleným FDA (Sipuleucel-T, Provenge) u pacientů s minimálně symptomatickým metastatickým CRPC prodloužila medián přežití z 21,7 na 25,8 měsíců (5), tedy o 1,2 měsíce více než docetaxel. Tento preparát vyráběný z leukaferetického produktu obsahuje aktivované monocyty, které jsou pulzované fúzním proteinem GM-CSF s prostatickou kyselou fosfatázou (PAP). Pacient podstupuje leukaferézu celkem 3x v odstupu 2 týdnů a preparát je aplikován zpět pacientovi intravenózně. V současné době stojí léčebná kúra Provenge kolem 90 000 USD.

Důkazy pro roli imunitního systému v kontrole nádorového růstu

Vznik nádorového onemocnění obecně je mnohastupňový proces komplexní povahy, v němž samotné nádorové buňky představují velmi heterogenní populaci navíc zasazenou do kontextu mikroprostředí nenádorových buněk a tkání (cévy, stromální buňky, mezibuněčná hmota, infiltrující buňky imunitního systému aj.) tvořící složitý nádorový „ekosystém“ (obrázek 1). To platí i pro karcinom prostaty, který se obvykle vyvíjí na terénu chronické prostatitidy (tzv. PIA – proliferative

inflammatory atrophy). PIA představuje spektrum lézí charakterizovaných epiteliální atrofií, nízkým indexem apoptózy, zvýšeným proliferativním indexem a zánětlivými infiltráty. PIA souvisí s tzv. PIN – prostatickou intraepiteliální neoplazií, která pak může být předstupněm adenokarcinomu. Existují důkazy pro to, že imunitní systém je schopen kontrolovat růst nádorových buněk v raných stádiích karcinogeneze i ve stadiu tzv. preneoplazie. S pokročilým růstem nádoru se imunitní mechanismy víceméně paralyzují a mnohdy mají naopak podpůrný účinek ve prospěch proliferace nádorových buněk, za což jsou zodpovědné různé únikové mechanismy nádorových buněk.

V boji proti nádorovým buňkám používá imunitní systém obě hlavní složky – systém přirozené (nespecifické) imunity (makrofágy, NK buňky, granulocyty, komplement) i systém imunity adaptivní (specifické T a B lymfocyty). Spojkou mezi oběma systémy jsou buňky dendritické (DC), které reagují na signál „nebezpečí“ a imunitní reakci směřují podle druhu podnětu buď do humorálního typu (tvorba protilátek) nebo buněčného typu (aktivace buněčných složek imunity). Imunitní reakce na nádorovou buňku se v principu neliší od reakce na např. buňky infikované virem, při níž se aktivují převážně buněčné mechanismy imunity. Hlavním problémem je však rozpoznání nádorové buňky jako cizorodého elementu a vydání adekvátního signálu „nebezpečí“, který by spustil celou kaskádu imunitních reakcí. Nádorová buňka vychází totiž z vlastních buněk organismu, ke kterým je ustanovena tolerance. Principem imunoterapie je právě vybudit různými způsoby složky imunity tak, aby nádor „netoleroval“, ale naopak vyvinuly proti němu účinnou imunitní reakci a překonaly různé únikové mechanismy nádorových buněk před imunitním systémem.

Editace nádoru imunitním systémem

Hypotéza nazývaná jako „Cancer immune editing“, tj. editace nádoru imunitním systémem, popisuje vztah nádoru a imunitního systému: ten vyvíjí na nádorové buňky neustálý tlak, který vede k selekci takových variant transformovaných buněk, které dokáží uniknout efektorovým mechanismům imunitního systému. V procesu boje imunitního systému proti nádorovým buňkám existují tři úrovně – **eliminace** transformované buňky, **ustanovení rovnováhy** mezi transformovanou buňkou a organismem (equilibrium) a **únik** transformované buňky před kontrolou imunitního systému (escape) (6).

Ve většině případů je nádorová buňka rozpoznána v časných stádiích transformace a zničena. Celý proces zde může skončit nebo přejít

do dalších fází. Ve fázi ustanovení rovnováhy hostitelský imunitní systém a přežívající nádorové buňky vcházejí do stadia dynamické rovnováhy. Nekonečná přizpůsobivost nádorových buněk vyplývající z rostoucí genetické nestability nakonec dá vzniknout novým genotypům, které zmenší imunogenicitu a může dojít k fázi úniku této buňky před vlivem imunitního systému.

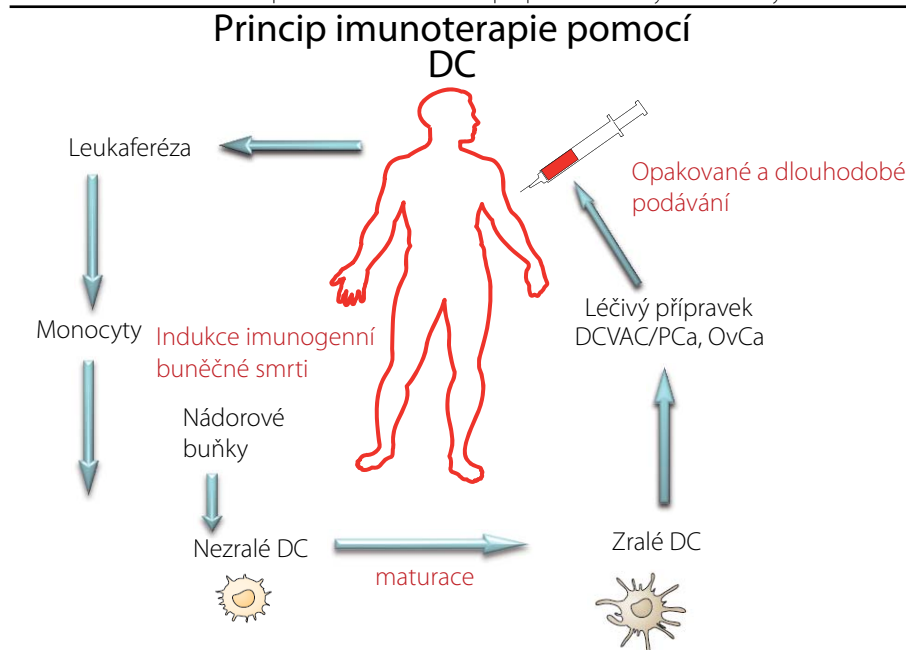
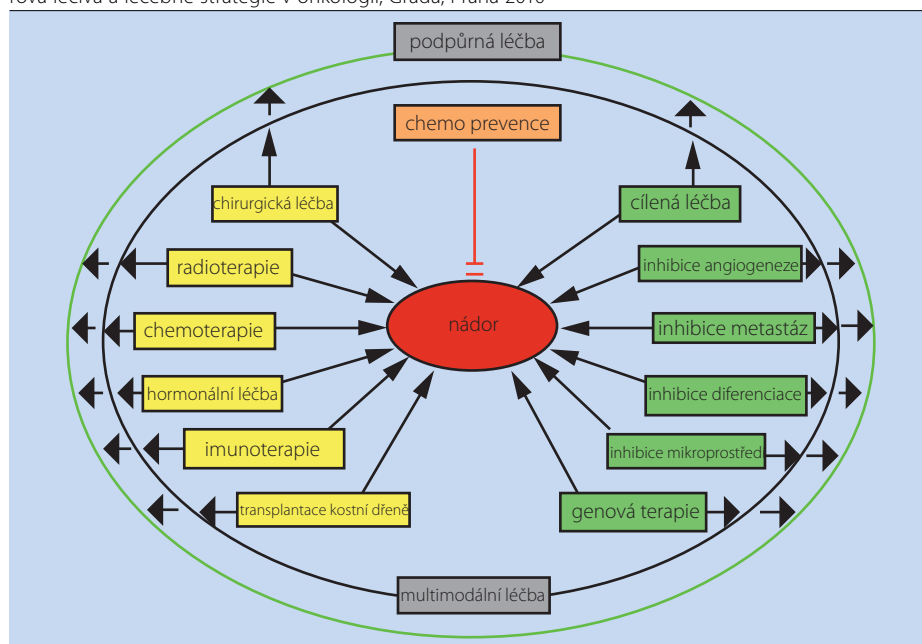
Fáze ustanovení rovnováhy je nejdelší z těchto tří procesů a klinicky se nejvíce shoduje s preneoplastickým onemocněním nebo stadiem minimální reziduální nemoci. Výsledkem stadia rovnováhy mohou být tři různé situace: 1) kompletní eliminace nádorových buněk; 2) dlouhodobé, možná stále udržení dynamické rovnováhy mezi aktivní imunitní odpovědí a vymezenou populací nádorových buněk; 3) únik před kontrolou imunitní reakce a rozvoj klinického onemocnění. Imunoterapie by měla přispět buď ke kompletní eliminaci, nebo spíše k dlouhodobému udržení rovnováhy.

Dendritické buňky jako centrální spojka mezi nespecifickou a specifickou imunitou

Pro ústřední úlohu dendritických buněk v účinné protinádorové imunitní reakci se nejvíce imunoterapeutických postupů zaměřuje právě na tyto buňky a na obnovení jejich adekvátní schopnosti rozpoznat a prezentovat nádorové antigeny (7). V posledních letech byla objasněna řada mechanismů, jež buňkám umožní rozeznat přítomnost mikroba či jiného nebezpečí včetně nádorových buněk v periferních tkáních a zajistí, že je zmíněná informace přenesena do lymfatických uzlin, kde jsou poté stimulovány specifické T-lymfocyty. Dendritické buňky byly pojmenovány podle charakteristické morfologie s množstvím výběžků, dendritů (obrázek 2). V periferní krvi cirkulují dendritické buňky ve velmi malém množství, a proto se obtížně studují. Situace je navíc složitější, protože existuje celá řada subpopulací dendritických buněk s různými fenotypy i funkcemi. Pro imunoterapii se používají DC obvykle pěstované z monocytů periferní krve diferencované a maturované in vitro různými způsoby (8).

Využití dendritických buněk v imunoterapii nádorových onemocnění

Poznání klíčové role dendritických buněk v procesu zahájení imunitní reakce a možnost jejich přípravy ve velkém množství in vitro vedly k úvahám o jejich využití v imunoterapii nádorových onemocnění. Je třeba poznamenat, že imunoterapie nádorů se neomezuje jen

Obrázek 3. Obecné schéma protinádorové imunoterapie pomocí vakcíny z dendritických buněk**Obrázek 4.** Imunoterapie jako součást komplexní protinádorové terapie; podle Klener P.: Nová protinádorová léčiva a léčebné strategie v onkologii, Grada, Praha 2010

na dendritické buňky, ale jsou studovány nejrůznější přístupy s využitím složek jak nespecifické imunity, tak specifické. Zde jsou zmíněny jen vakcíny na bázi dendritických buněk.

Obecné schéma imunoterapie dendritickými buňkami je znázorněno na obrázku 3. Monocyty periferní krve pacientů vybraných pro imunoterapii se získávají v průběhu leukaferézy. Z monocytů se pak připraví v laboratoři dendritické buňky. V dalším kroku jsou DC „pulzovány“ nádorovými antigeny. Po požití nádorových buněk jsou následně dendritické buňky aktivovány a poté se jako protinádorová vakcína (podle novější terminologie aktivní buněčná imunoterapie) aplikují

pacientovi. Různé výzkumné skupiny nebo biotechnologické firmy se liší ve výrobním postupu a obvykle své modifikace patentově chrání.

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 stovek klinických studií u řady nádorových onemocnění (např. maligní melanom, renální karcinom, non-Hodgkinský lymfom, glioblastom, karcinom prostaty a další). U většiny těchto studií došlo k laboratorně detekovatelné indukci protinádorové imunitní odpovědi, ale i přes několik popsanych regresí nádorových lézí nebyl klinický efekt většinou dlouhodobý (9).

Zásadním problémem provedených studií je, že do nich byli výlučně zahrnuti pacienti ve velmi pokročilých fázích onemocnění, u kterých se již vyčerpaly všechny ostatní terapeutické možnosti. Imunitní systém byl tedy výrazně poškozen jak předchozí chemoterapií, tak imunosupresivními mechanismy nádorové tkáně. Není překvapující, že za takových podmínek je naděje na trvalý efekt imunoterapie malá. Je spíše překvapující a povzbudivé, že většinou došlo k indukci detekovatelné imunitní odpovědi a ojedinělým výrazným klinickým efektům. Nové poznatky o účinku chemoterapeutik také vedly ke konceptu kombinované chemo-imunoterapie. Některá chemoterapeutika totiž indukují tzv. imunogenní smrt buňky (10). Předpokládá se, že vhodné načasování chemoterapie a imunoterapie může zvratit fázi úniku nádorových buněk do fáze equilibria podle výše zmíněné hypotézy a zajistit úspěch imunoterapie i u pacientů s pokročilejšími stadii onemocnění.

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. U karcinomu prostaty by se aplikace vakcíny měla teoreticky zahájit již při známkách vzestupu PSA ultrasenzitivním testem – tedy v období minimální reziduální nemoci. Odhaduje se, že hodnotě PSA 0,030 ng/ml odpovídá přítomnost cca 10^{6-7} nádorových buněk (11).

S velikostí nádoru je třeba pak 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 cyklofosfamidů), ev. zohledněním individuální imunitní reaktivity pacienta a kombinováním léčby s jinými přístupy ve smyslu moderní koncepce „personalised medicine“. Imunoterapie tak může obohatit mozaiku komplexní terapie nádorových onemocnění, která zahrnuje různé léčebné modalitě zaměřené na jednotlivé složky ekosystému nádoru (obrázek 4).

Výzkum protinádorových vakcín na Ústavu imunologie 2. LF a FN Motol

Na Ústavu imunologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a FN v Motole v Praze byla v posledních 10 letech vyvíjena terapeutická vakcína na bázi dendritických buněk proti karcinomu prostaty a ovaria (DCVAC/PCa a DCVAC/OvCa). Ve výrobním postupu jsme se snažili

zohlednit nejnovější poznatky základního výzkumu. Imunoterapie dendritickými buňkami patří do metod moderní buněčné terapie a tento postup spadá podle evropské legislativy od r. 2003 pod zákon o léčivu. Znamená to, že veškerá manipulace s buňkami při přípravě vakcíny se musí odehrávat v superčistých prostorách za podmínek správné výrobní praxe (GMP) s povolením národních regulačních autorit.

Ve FN Motol byla vybudována v r. 2006 testovací superčistá laboratoř a po splnění všech podmínek získala nemocnice Certifikát pro výrobu podle GMP v r. 2008. Od r. 2010 probíhají 2 klinické studie fáze I/II, které hodnotí imunoterapii přípravkem DCVAC/PCa u pacientů s karcinomem prostaty ve stadiu biochemického relapsu a u pacientů s hormonálně-refrakterním 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 některých pacientů v biochemickém relapsu dochází v průběhu imunoterapie k prodloužení PSADT ve srovnání s obdobím před zahájením vakcinace. Předběžné výsledky u pacientů s hormonálně-refrakterním karcinomem ukazují, že medián přežití je delší, než by odpovídalo individuálně vypočtenému mediánu podle nomogramů Halabiové. U pacientů je detekovatelná v průběhu imunoterapie odpověď T lymfocytů na antigeny PSA a u některých i na nádorové antigeny ze skupiny MAGE.

V současné době probíhají randomizované klinické studie fáze II, hodnotící účinnost imunoterapie v různých stádiích karcinomu prostaty. Studie jsou randomizované a hodnotí imunoterapii v různých stádiích karcinomu prostaty: buď jako monoterapii u pacientů s lokalizovaným karcinomem prostaty (T2) v biochemickém relapsu po radikální primární terapii, nebo v kombinaci s hormonální léčbou u pacientů s nově diagnostikovaným metastatickým karcinomem prostaty; u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem prostaty (T3-T4) potom v kombinaci s radioterapií a androgen deprivací léčbou. Pacientům po selhání hormonální léčby indikovaných k chemoterapii je terapeutická vakcína podávána v kombinaci s docetaxelem. Obdobný design má i plánovaná globální mezinárodní studie fáze III, která bude zahájena v r. 2013. Terapeutická vakcína je vyráběna z jediné leukaferýzy, vyrobené alikvoty jsou uchovávány zamražené v tekutém dusíku a jednotlivé dávky jsou posléze aplikovány v přibližně měsíčních intervalech subkutánně po dobu přibližně jednoho roku.

Teprve výsledky klinické studie fáze III, která bude realizována na více než tisícovce pacientů v Evropě i USA, mohou přinést za několik let statisticky významné důkazy o případné účinnosti, na jejímž základě by se tato terapeutická vakcína mohla zařadit do komplexní léčby nádorových onemocnění prostaty.

Literatura

1. ÚZIS. 2009.
2. Heidenreich A, et al. Guidelines on Prostate Cancer. European Association of Urology 2010

3. Antonarakis EA, et al. The natural history of metastatic progression in men with prostate-specific antigen recurrence after radical prostatectomy. *BJU International* 2011, doi: 10.1111/j.1464-410X.2011.10422.x
4. Tannock IF, et al. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med*, 2004; 351(15): 1502–1512.
5. Kantoff PW, et al. Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*. 363(5): 411–422.
6. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol*, 2004; 22: 329–360.
7. Steinman RM. Lasker Basic Medical Research Award. Dendritic cells: versatile controllers of the immune system. *Nat Med*, 2007; 13(10): 1155–1159.
8. Romani N, et al. Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J Immunol Methods*, 1996; 196(2): 137–151.
9. Galluzzi, et al. Trial watch: Dendritic cell-based interventions for cancer therapy. *Oncoimmunology*. 2012; 1(7): 1111–1134.
10. Fučíková J, et al. Human tumor cells killed by anthracyclines induce a tumor-specific immune response. *Cancer Res*. 2011; 71(14): 4821–4833.
11. 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.

Článek přijat redakcí: 18. 12. 2012

Článek přijat k publikaci: 8. 1. 2013

Autorka prohlašuje, že zpracování článku nebylo podpořeno farmaceutickou firmou.

prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.

Ústav imunologie, UK 2. LF a FN Motol
V Úvalu 84, 150 06 Praha 5
jirina.bartunkova@lfmotol.cuni.cz

Komentář k tomuto článku naleznete v příštím čísle časopisu.