

Imunoonkologie

Ústav klinické imunologie a alergologie LFMU

III. ročník

E .Hlaváčková

Role imunitního systému v onkologii

Imunitní systém má protektivní vliv proti karcinogenezi
(Ehrlich 1900)

Cancer immunosurveillance (Burnet a Thomas 50 léta)

Adaptivní imunitní systém zodpovídá za kontrolu
karcinogeneze u imunitně kompetentních jedinců

Cancer immunoediting (2001 Shanakaran, Dunn, Schreiber)

- Imunitní systém chrání svého nositele proti tumorogenezi, ale zároveň ovlivňuje imunogenicitu nádoru

Cancer immunoediting teorie 3E

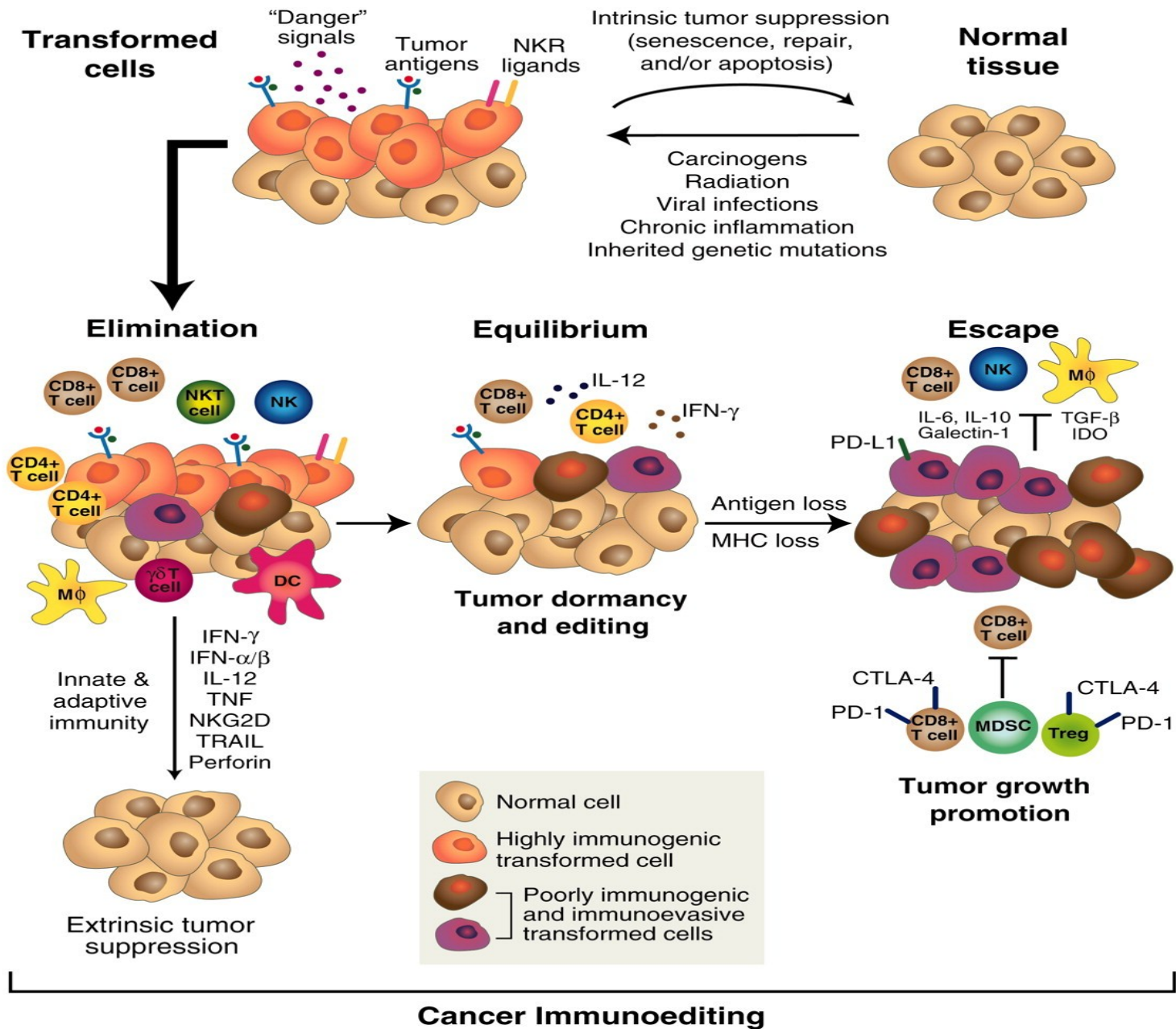
Duální funkce imunitního systému

host-protecting x tumor-promoting

Eliminace

Equilibrium

Escape



Editace nádoru imunitním systémem

Eliminace

Kooperace nespecifických a specifických složek imunitního systému vede k rozpoznání tumorogeneze a její eliminaci před vlastní klinickou manifestací

- Nedetekovatelné stadium (in vivo)
- Dominují mechanismy nespecifické a specifické složky imunity

danger signals“ – typ I INF ➡ DC ➡ specifická im. odpověď

DAMPs – zdroj tumor (HMGB1) nebo poškozená tkáň při invazivním růstu tumoru (hyaluronové fragmenty)

stress ligands MICA/B – povrch tumoru ➡ stimulace buněk nespec. im. systému proinflamatorní a imunomodulační cytokiny ➡ mikroprostředí tumoru ➡ tumor specifickou odpověď adaptivní imunity

proces je ukončen
kompletní eliminací nádorových buněk
nebo
přechází do stavu rovnováhy

Editace nádoru imunitním systémem

Equilibrium

Dominují mechanismy **specifické imunity** vedoucí k **prevenci progresu tumorogeneze**, ale zároveň se vyvíjí **imunogenicita nádoru**

- **dynamická rovnováha**
- **obtížně diagnostikovatelné stadium (výjimka MGUS)**

kompletní eliminace buněk nádoru

nebo

dlouhodobý stav rovnováhy

nebo

únik kontrole imunitního systému a rozvoj nádorového onemocnění

Editace nádoru imunitním systémem

Escape

Rozvoj imunosupresivního mikroprostředí tumoru a selekce nízké imunogenních rychle proliferujících buněk tumoru, které se stávají „neviditelnými“ pro imunitní systém

- Stadium progresivně rostoucího viditelného tumoru
- Diagnosticky průkazné stadiu

únik buněk tumoru mechanismům editace imunitního systému

Obranné mechanismy nádorů proti imunitnímu systému

Ztráta exprese nádorových antigenů – snížení antigenní variability nádorů, mutantní formy ztrácejí nádorový antigen

Selekce nízké antigenních variant buněk tumoru

ignorace imunitním systémem

ovlivnění exprese MHC I proteinů, zpracování a vazba antigenu na MHC I

Inhibice funkce dendritických buněk

NO – apoptosa DC, IL1, TGF beta - inhibice zrání DC, VEGF - inhibice prekursorů DC ve dřeni

Tlumení funkce T-lymfocytů (TGF-b, IL-10)

T reg – inhibice funkce tumorspecifických T lymfocytů (TGFbeta, Il-10, PD, PDL1, CTLA-4)

MDSC – (Myeloid Derived Suppressor Cells)

Indukce apoptózy - exprese FasL, aktivace STAT3 dráhy, exprese BCL-2

“Enhancement” efekt protinádorových protilátek- stimulace růstových receptorů nádoru

Absence kostimulačních molekul - utlumení Tc a Th

Editace nádoru imunitním systémem

Intratumorální imunitní odpověď predikuje prognosu pacienta

- Tumor infiltrující lymfocyty (TIL) pos efekt – Th1 CD4+ INF gamma, CD8+ T INFgamma TNF alpha

Imunodeficiencie je asociovaná se zvýšeným výskytem nádorů

- HSV6 Kap. sarcom, EBV asociované lymfomy, HPV cervikální carcinom
- Deficit imunitního dozoru
- Zvýšený výskyt malignit u prim. imunodeficitů

Buňky imunitního systému v obraně proti nádorům

Obranná funkce specifické a nespecifické imunity

- NK buňky
- Tc lymfocyty

- Aktivované makrofágy
- Dendritické buňky (DC)

Nádorové antigeny TSA x TAA

TSA tumor specifické antigeny

- nevyskytují na nemaligních buňkách

TAA tumor asociované antigeny

- nejsou výlučně specifické pro nádorové buňky

TSA tumor specifické antigeny

Nelze prokázat na nemaligních buňkách Neo-antigeny

- **Komplex MHC gpI s abnormálními fragmenty buněčných proteinů**
- **MHC gpI s fragmenty oncovirů** - HPV, EBV
- **Produkty abnormální glykosylace proteinů** - glykosylace, syalizace
- **Idiotypy myelomu a lymfomů** - klonotypické BCR a TCR - NHL, HL, MM)
- **Produkty mutovaných genů** - chromosomální translokace
(filadelfský chromosom translokace 9 a 22 AML a ALL), fusní geny, fusní proteiny
(chimerický bcr-abl)
- **Mutace genů tumor supresor genes** - geny kontroly buněčného cyklu
P53

TAA tumor-associated antigens

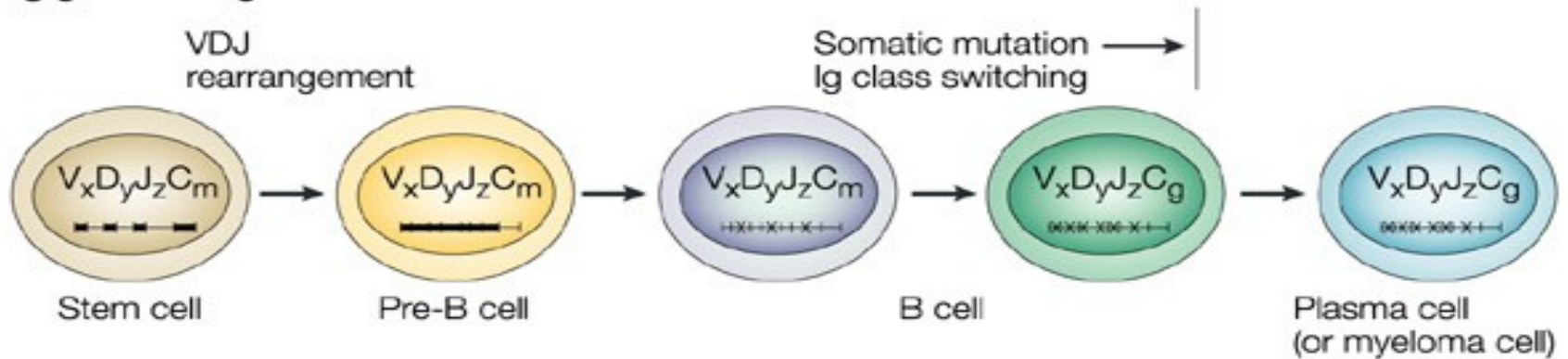
- **nejsou** výlučně **specifické pro nádorové buňky**
 - exprese je fyziologická v určitém **ontogenetickém období**
 - za určitých okolností je lze nalézt i **na normálních buňkách**
 - **u malignit - ektopická exprese x zvýšená exprese**
 - pomocné diagnostické markery
-
- **onkofetální antigeny** antigeny specifické pro tkáň nebo orgán z nichž vycházejí
 - AFP – hepatomy
 - CEA - carcinoembryonální proteiny buňky
 - **antigeny specifické pro tkáň nebo orgán z nichž vycházejí**
 - MAGE-1 melanomový antigen
 - PSA prostatický Ag
 - **proteiny řídce přítomné ve vlastní tkáni a hojně přítomné neoplastické tkáni**
 - receptor HER2/neu
 - **diferenciační antigeny malignit lymfatického systému**
 - CALLA common acute lymphoblastoid leukemia antigen CD 10 – pre B buňky
 - fyziologicky přítomny na normálních buňkách vývojových řad leukocytů

Imunologická diagnostika nádorů

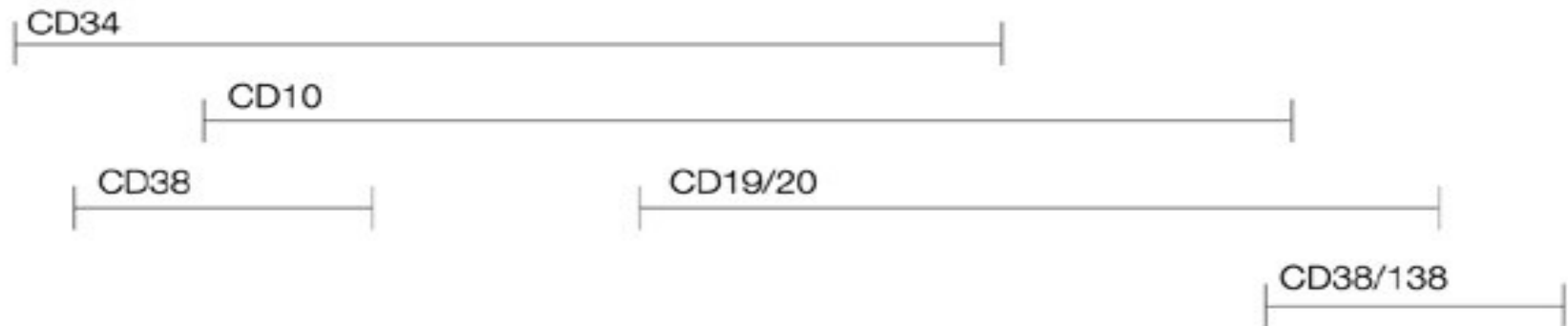
- Onkomarkery“
 - Alfa-feto protein (Ca jater)
 - CEA (Ca colon)
 - PSA (Ca prostaty)
- Paraprotein
- Diferenciační antigeny na buňkách malignit lymfatického systému (CD znaky)
- Průkaz klonality
- Exprese check point molekul ve vzorku maligní tkáně
- NGS

Vývoj B-lymfocytů

Ig gene changes



Cell-surface markers



Imunoonkologická terapie

Indukce protinádorové imunity

nebo

Využití imunitních mechanismů k cílenému
nasměrování léčiva k místu nádoru

Imunoonkologická léčba

- **Monoklonální protilátky** (anti-CD20, anti-HER2).
- **Check point inhibitor blockers** (anti PD, anti PDL1, anti CTLA4)
- **Adoptivní buněčné terapie** (TIL, DC vac,CAR)
- **Imunomodulační preparáty**
 - Auto a alo HSCT (mechanismus GVLR)
 - Imunostimulační a imunomodulační cytokiny (IFN-a, IL-2)
 - Indukce zánětu se stimulací Th1 buněk (BCG vakcína)

Imunomodulační a imunostimulační cytokiny

IL 2

- Růstový faktor T lymfocytů
- Na dávce závislý imunomodulační a antitumorosní efekt
- Rekombinantní preparát, multiorgánová toxicita, nahrazen check point inhibitory.
- Maligní melanom, renální carcinom (vysokodávkový IL2)

BCG bacillus Calmette–Guerin

- Astenuované mycobacterium bovis
- Léčba karcinomu močového měchýře intravesikální aplikací
- Elevace INF γ , indukce exprese MHC II na buňkách tumoru
- Infiltrace močového měchýře makrofágy a CD4⁺T buňkami

Immunomodulační a imunodtimulační cytokiny

INFa

Stimulace Th1 prostřednictvím STAt1 a STAT 3 drah k sekreci IL 12

Vysokodávkovaný INF Interferon alfa-2b

Lymfatické malignity

Adjuvantní léčba high risk melanomu před zavedením ipilimumabu

Monohočetné AE (hepatotoxicita, myelotoxicita, thyreotoxicita...)

Check points

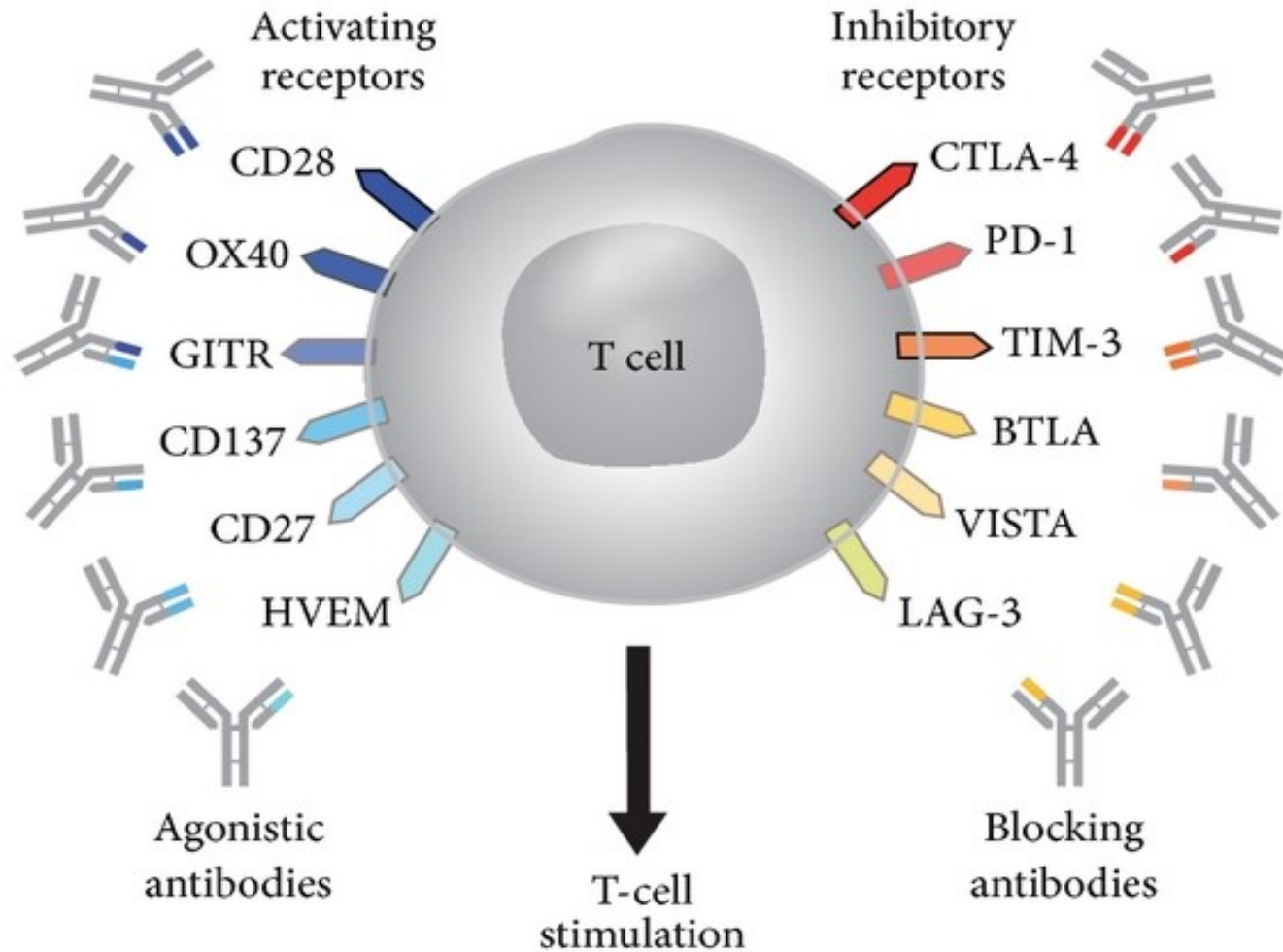
spouštěče kostimulačních a inhibičních drah T
lymfocytární odpovědi vedoucí k modulaci délky
amplitudy imunitní odpovědi a tím k udržení integrity
organismu (self tolerance)

T buněčné inhibiční a stimulační receptory a jejich ligandy

Anti PD(CD279), Anti PD -L1(CD274), anti PD-L2(CD273),
anti CTLA4(CD152)

CAVE: časté vedlejší reakce (irAE)

Check point blockers



Check point blockers

CTLA 4

cytotoxic T lymphocyte associated antigen

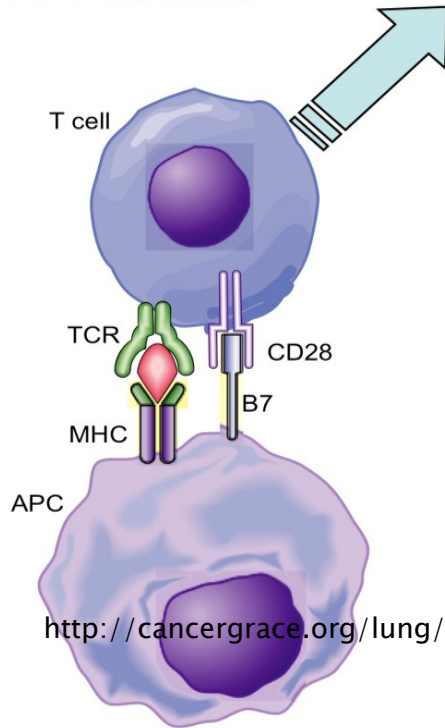
- inhibiční molekula T lymfocytů (CD4+, CD8+)
- interakce s CD80/86 na APC
- kompetice s CD28 T buněk (CD28 stimulace vs CTLA4 inhibicie)
- inhibice T lymfocytární proliferace a aktivace

Ipilimumab anti CTLA 4

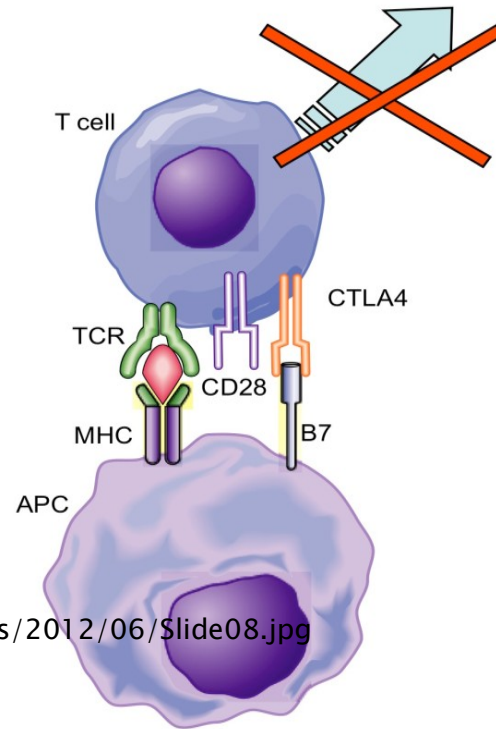
- rekombinantní humánní monoklonální protilátka
- stimulace imunitní odpovědi
- první FDA schválený check point od r. 2011 (metastatický melanom)
- nepřímý antitumorosní efekt posílení T mediované odpovědi

Ipilimumab Blocks Negative Signaling From CTLA-4

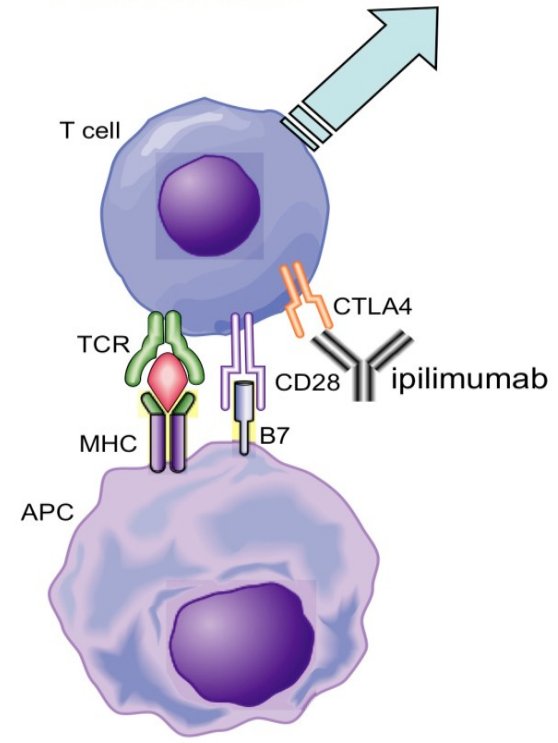
Co-stimulation via CD28:
T-cell activation



CTLA-4 blocks co-stimulation:
No T-cell activation



Ipilimumab blocks CTLA-4:
T-cell activation



<http://cancergrace.org/lung/files/2012/06/Slide08.jpg>

Adapted from Lebbé et al. ESMO 2008

APC, antigen-presenting cell; CTLA-4, cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; MHC, major histocompatibility complex; TCR, T-cell receptor.

Check point blockers

PD1 program cell death receptor

- transmembránový protein T, B, NK, DC monocytů
- exprese je zvýšena na lymfocytech v mikroprostředí nádoru
- inhibice apoptosy maligních buněk přeměna T efektorových na Treg, vyčerpání T efektorových buněk
- interakce s PD-L1 a PD-L2

anti PD 1 (nivolumab)

plně humanizovaná IgG4 anti PD 1 protilátka

- blokace PD1-PDL cesty
- povolen FDA
- kombinace s ipilimumabem nebo monoterapie

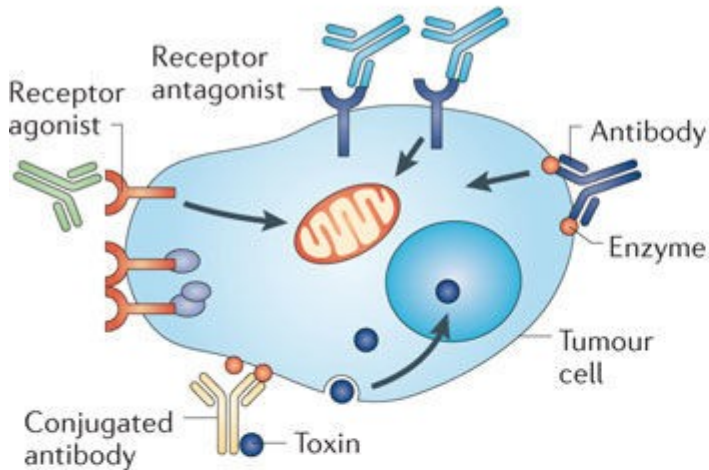
Monoklonální protilátky v onkologii

mAbs

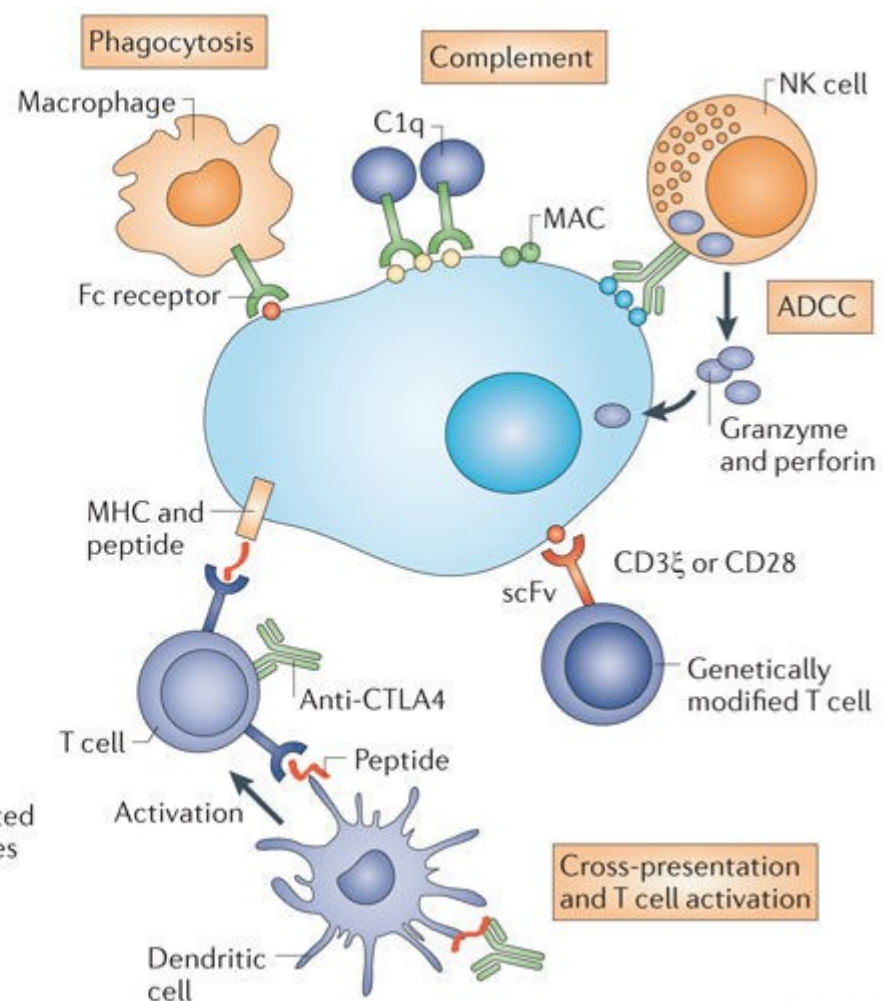
- **Přímý protitumorosní efekt prostřednictvím inhibice nebo aktivace receptoru mAb**
- **Imunologicky mediované usmrcení buněk tumoru ACCD, fagocytosa, aktivace komplementu, crossprezentace DC, CTLA4 blokace**
- **Ablace buněk stromatu a buněk cévního zásobení mikroprostředí tumoru**

Monoklonální protilátky v onkologii

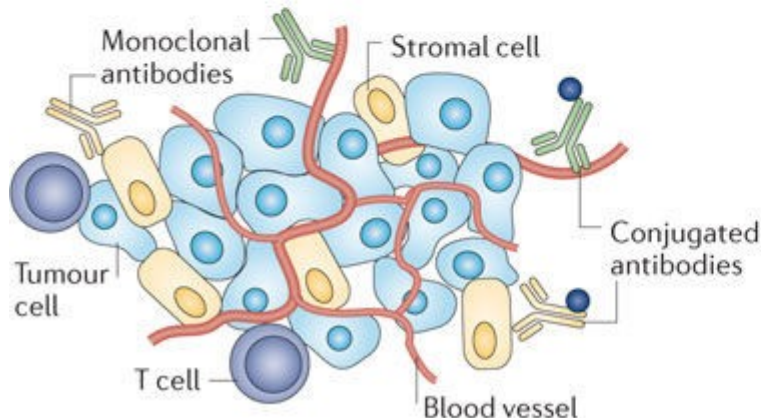
a Direct tumour cell killing



b Immune-mediated tumour cell killing



c Vascular and stromal cell ablation



[Antibody therapy of cancer](#)

Andrew M. Scott, Jedd D. Wolchok & Lloyd J. Old
Nature Reviews Cancer 12, 278–287 (April 2012)

Monoklonální protilátky v onkologii

Růstové faktory a receptory růstových faktorů

- **CEA** epidermal growth factor receptor (EGFR, ErbB1)
- **ErbB2 (HER2)** epidermal growth factor receptor (EGFR) family
her´ trastuzumab(Herceptin)– ca mammy

Antigeny zodpovídající za angiogenesi mikroprostředí tumoru

- **VEGF** vascular endothelial growth factor **bevacizumab**
(Avastim)
- **VEGFR** VGF receptor

Antigeny extracelulární matrix a stromatu tumoru

- **FAP** fibroblast activation protein
- **tenascin** – glykoprotein extracelulární matrix

Monoklonální protilátky v onkologii

Trastuzumab (Herceptin) :
anti ERBB2, (HER 2 receptor)
metastasující mamární karcinom.

Cetuximab (Erbitux):
anti-EGFR, anti epidermal grow factor receptor
kolorektální ca

Bevacizumab (Avastin):
anti VEGF
inhibitor angiogenese
kolorektální ca

Monoklonální protilátky cílené proti CD znakům v onkologii

Rituximab (Mabhtera)

- **antiCD20** IgG1 chimerická mAb,
CD20pos NHL a CLL, folikulární NHL
- ADCC, přímá indukce apoptosy and CD

CD 20 povrchový marker vývojových řad B lymfocytů
absentuje na plasmatických buňkách

Alemtuzumab (Campath)

- IgG1 humanisovaná **anti CD 52**
- CLL, NHL
- Přímá indukce apoptosy a CDC

CD 52 povrchový antigen maturovaných lymfocytů

Monoklonální protilátky cílené proti CD znakům v onkologii

Brentuximab vedotin (Adcetris)

- chimerická IgG1 anti CD30
- chimerická monoklonální protilátka namířená proti CD 30 spojená valin citrulínovým můstkem s monomethyl aristatinem C inhibující polymerizaci mikrotubulů
- relabované a refrakterní Hodgkin's lymphoma a systemový anaplastický lymphom
- mAb z navázaným toxinem(auristatin toxin)

CD 30 exprimován na Hodgkinových and Reed–Sternberg buňkách HL

Kinásové inhibitory v imunoonkologii

- Fosorylace proteinů je kontrolována kinásami a fosfatasami
- Proteinová fosforylace je postranslační reversibilní modifikací proteinů
- Více jak 25 kinásových inhibitorů je povoleno pro onkologickou léčbu
- Stávající léčba cílí na malignity s definovanou onkogenetickou aktivací kinás
- Výhledově imunoonkologická léčba – kinasy TCR signalizace (LCK)

Kinásové inhibitory v imunoonkologii

Inhibice Btk kinázy

BTK cytoplasmatická kinasa

- Transdukce signálu BCR receptoru
- Regulace proliferace, diferenciace, aktivace , přežití

- Zvýšená aktivita u určitých B malignit

- Ibrutinib
- CLL, mantel cell lymphoma ...

Adoptivní celulární terapie

- Nádorová vakcinace
DC ...
- CAR
Chimerické antigenní receptory T buněk
- TIL
Tumor infiltrující lymfocyty

Nádorové vakcíny

Preventivní

- vakcinace zdravých pacientů
- vznik specifických protilátek a paměťových buněk
- **proti papilomavirům, hepatitidě B**

Terapeutické

- vakcinace onkologicky nemocných pacientů
- indukce cílené protinádorové imunitní odpovědi
antigen spec CTL a antigen spec. CD4+ Th

Nádorové vakcíny

Terapeutické

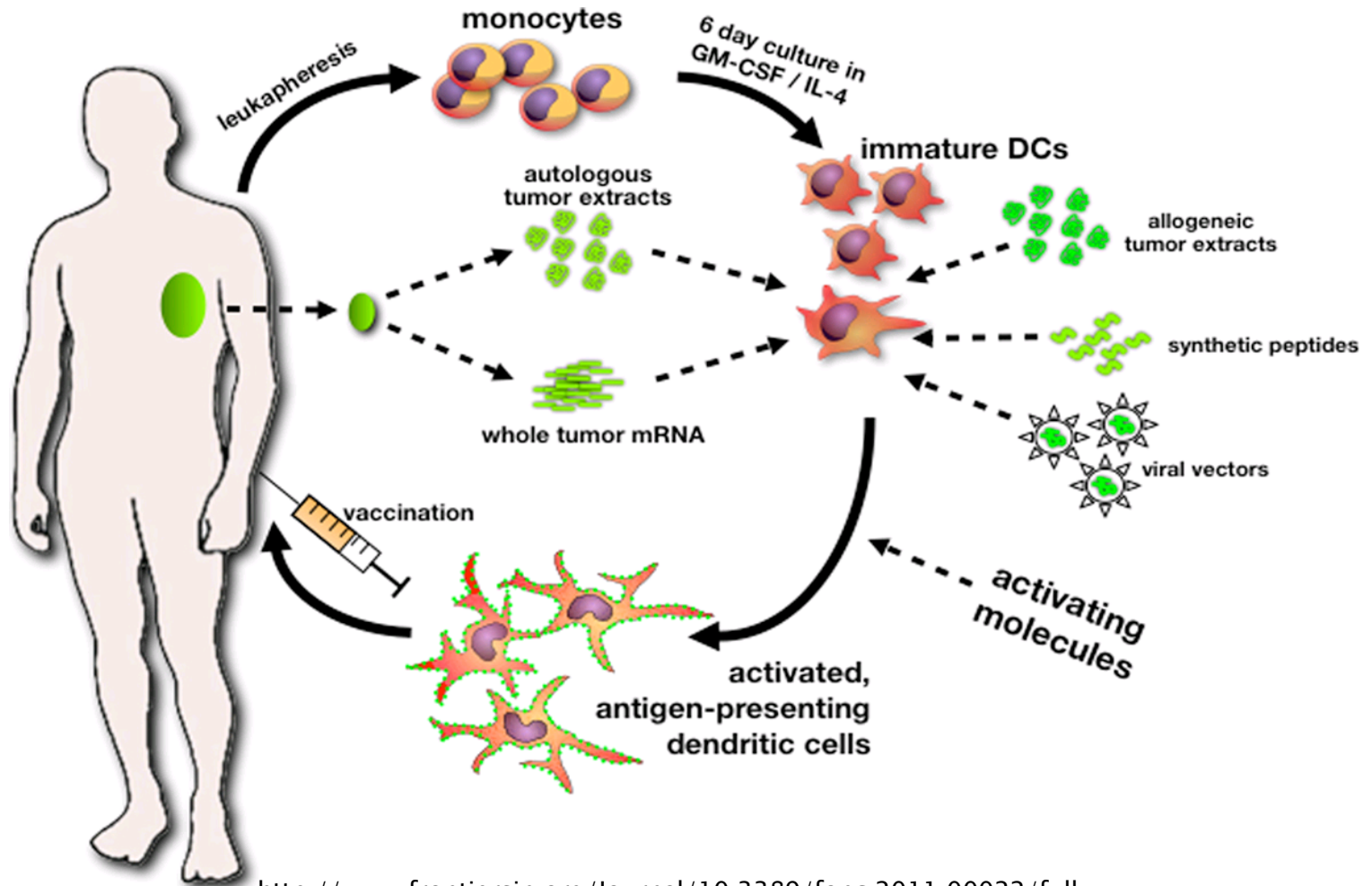
Ex vivo generované autologní vakcíny z dendritických buněk

Proteinové/peptidové vakcíny (cíl TAA – gp100, PSA...)

Genetické vakcíny

- DNA vakcíny (bakteriální plasmidy – tumor antigen)
- RNA vakcíny (mRNA autologní tumorosní tkáně)
- Na virech založené vakcíny (virové vektory)

Proteinádorové vakcíny



CAR

chimerické antigenní receptory T buněk

- 1–3 generace
- metody genetického inženýrství
- obchází HLA gp prezentaci

- antigen vážící doména scVF (single chain variable fragment), hinge oblast, transmembránová doména ,intracelulární signalizační domény aktivovné po navázání antigenu)

- **kombinace antigenní specifity s cytotoxicitou T lymfocytů**
- **geneticky modifikované T buňky mířící na TAA antigen**
- CD 19 CAR T

CAR

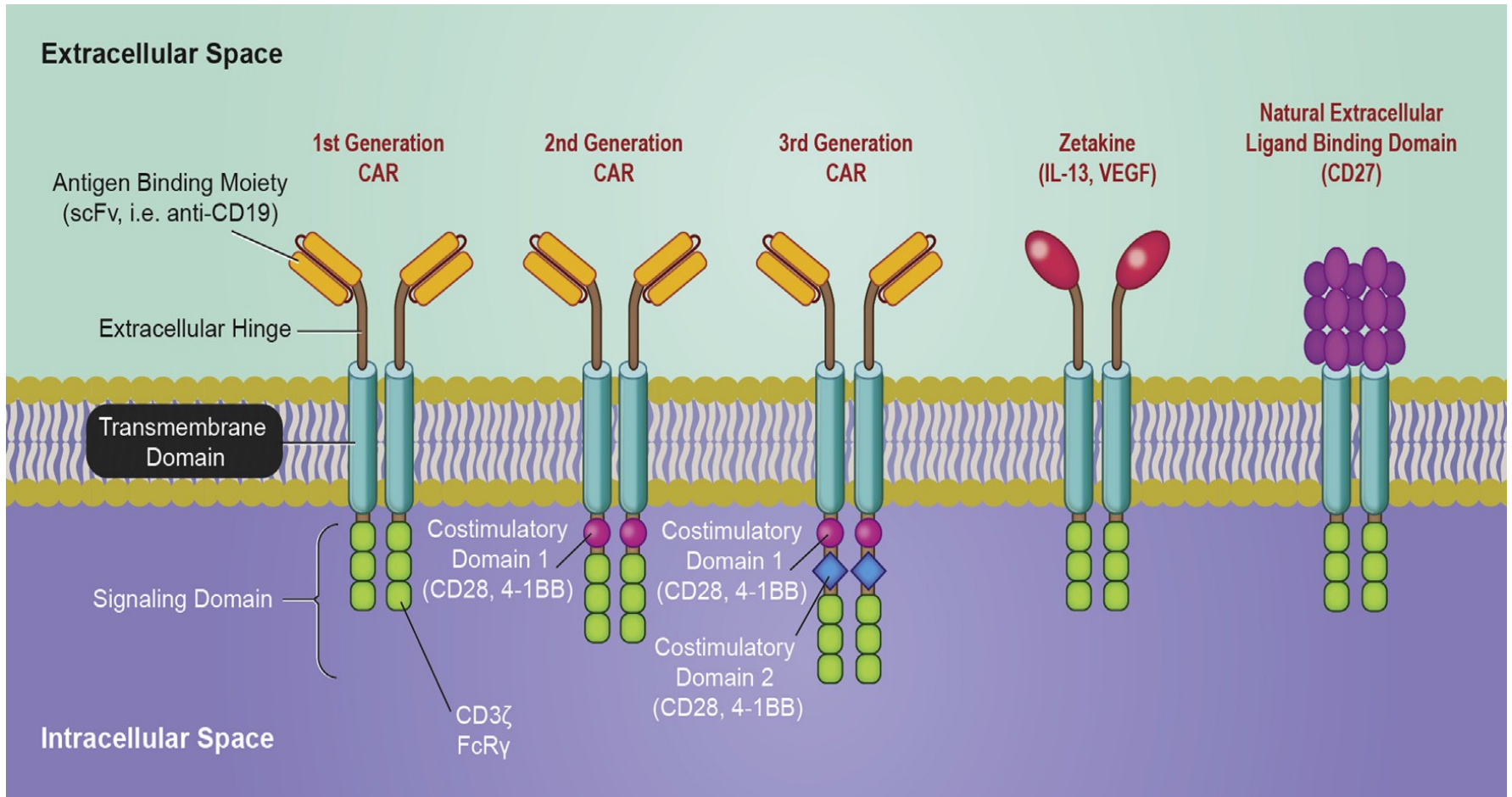
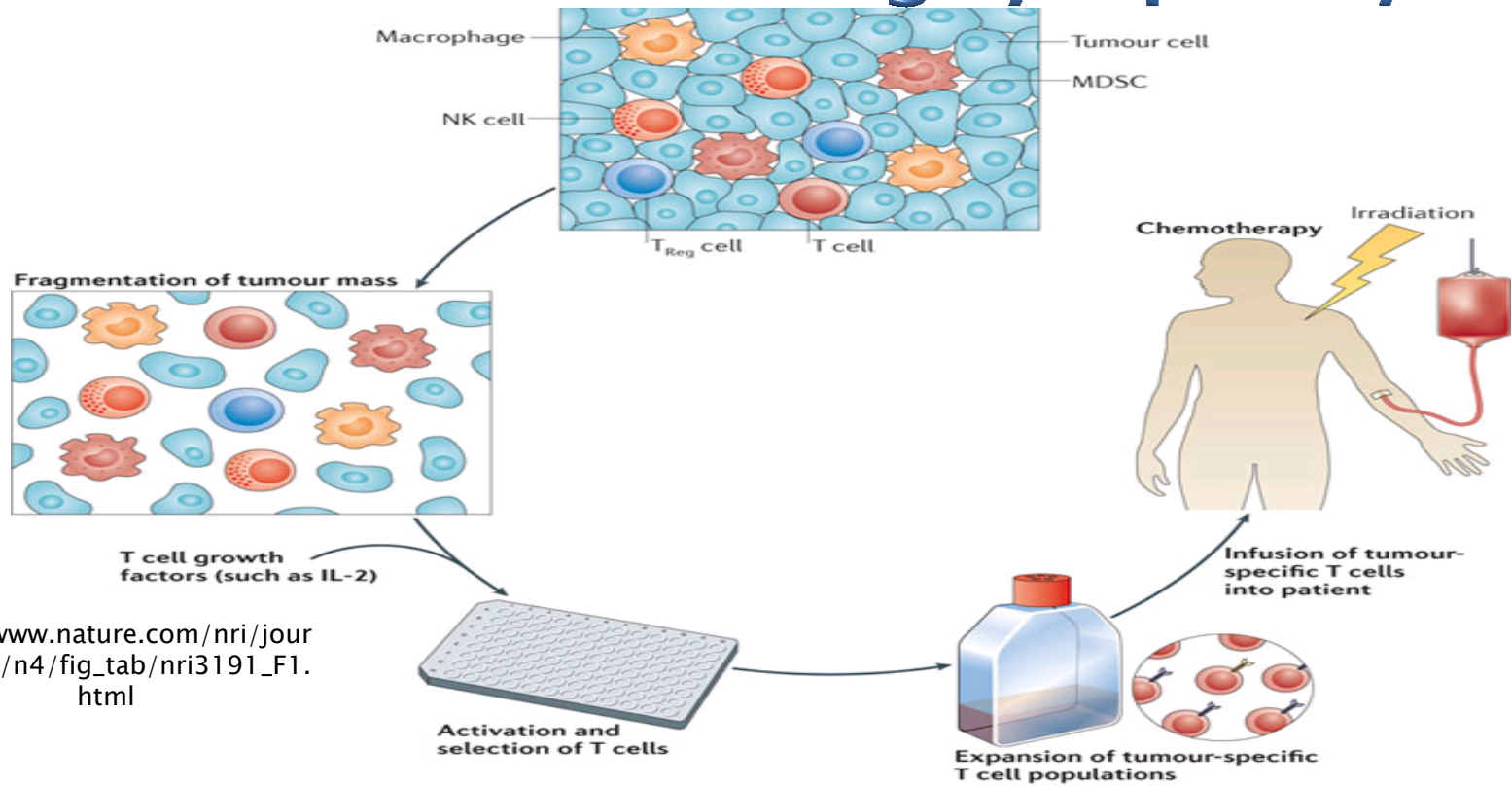
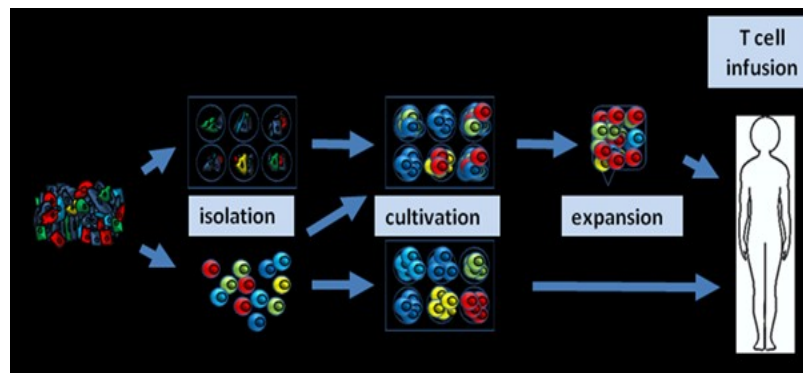


Fig 1. Schema of examples of CAR design. CAR, chimeric antigen receptor
Translational Research 16 Chen and Yang September 201

TIL - tumor infiltrating lymphocytes



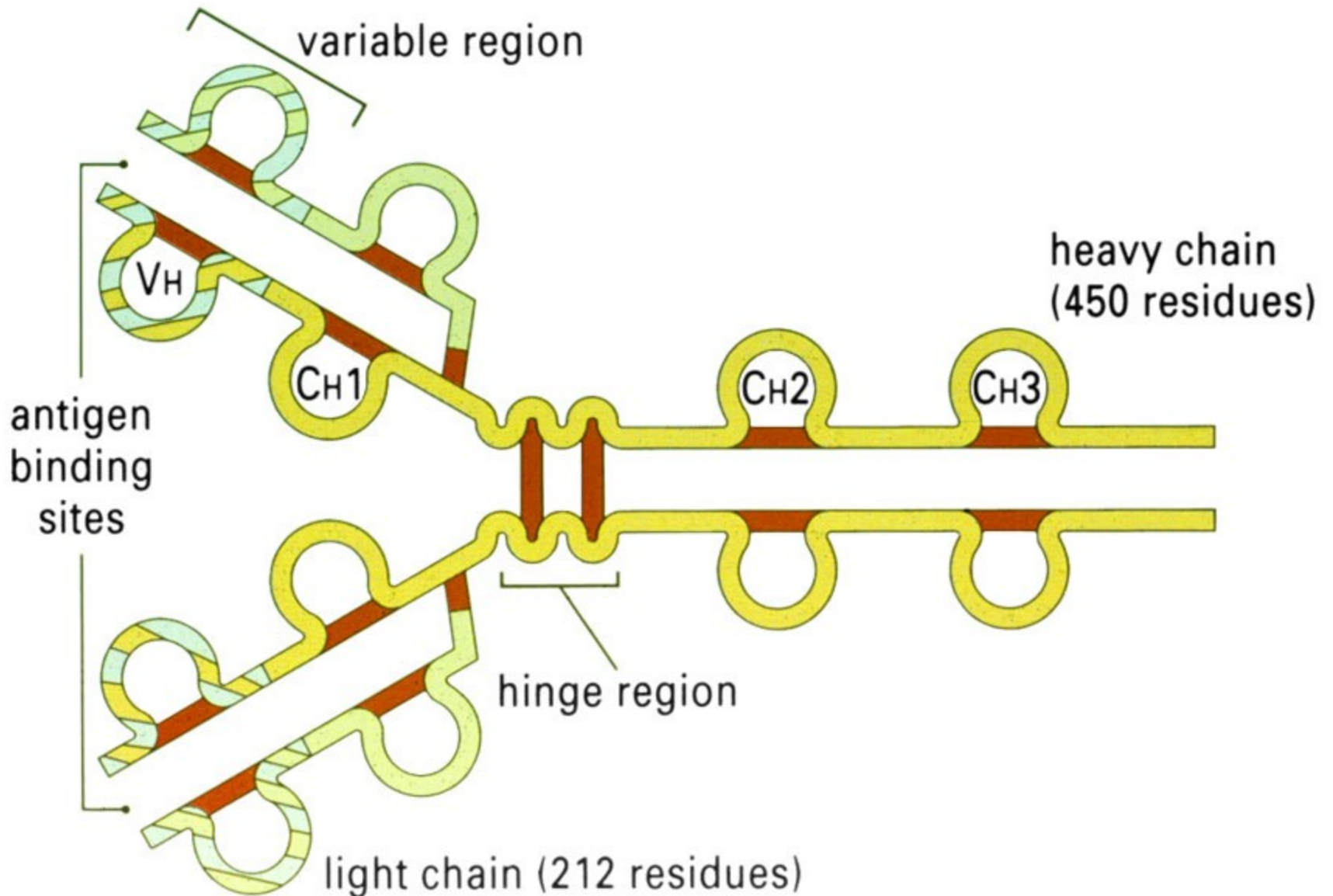
http://www.nature.com/nri/journal/v12/n4/fig_tab/nri3191_F1.html



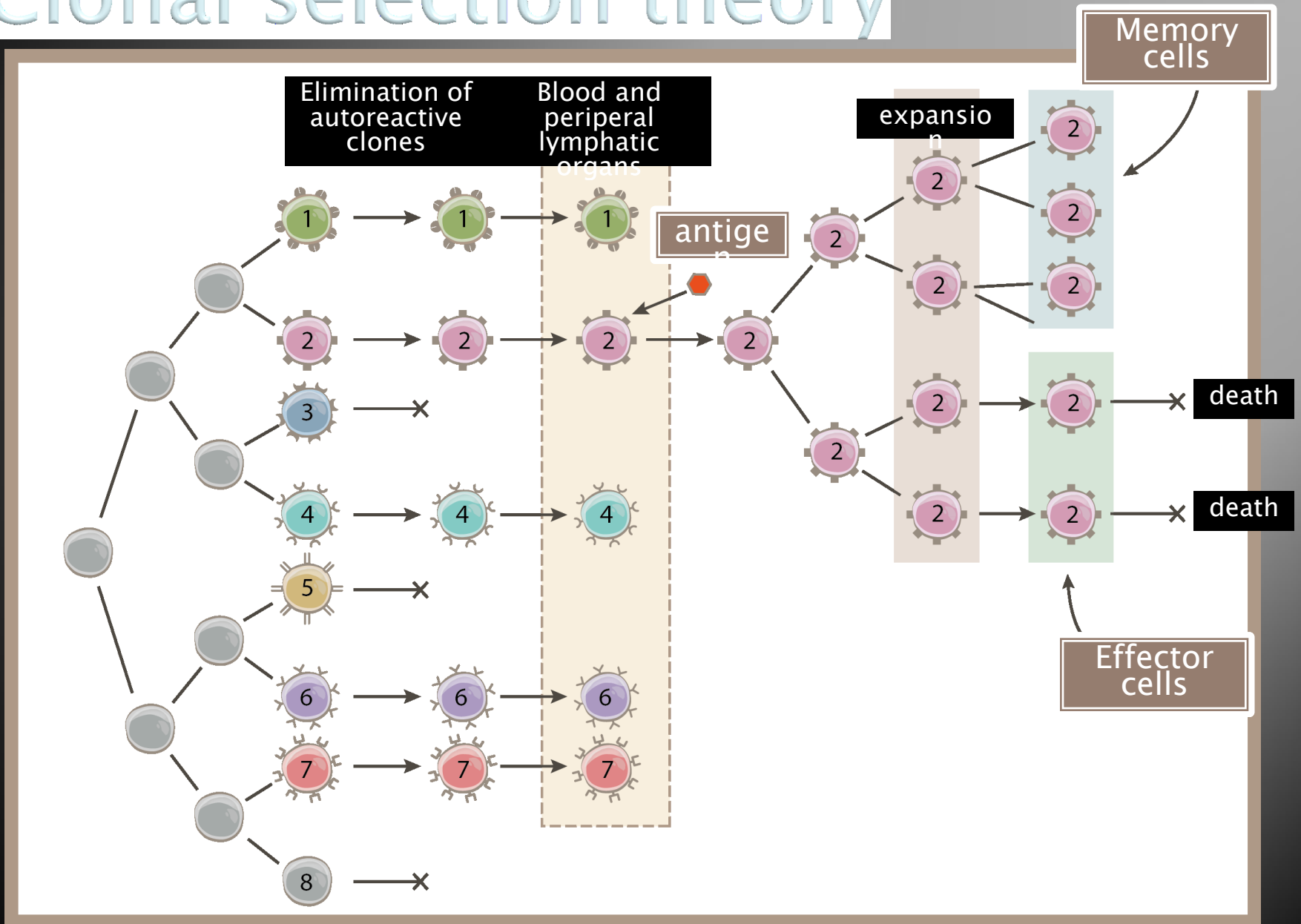
Nature Reviews | Immunology

Monoklonální gamapatie

The basic structure of IgG1

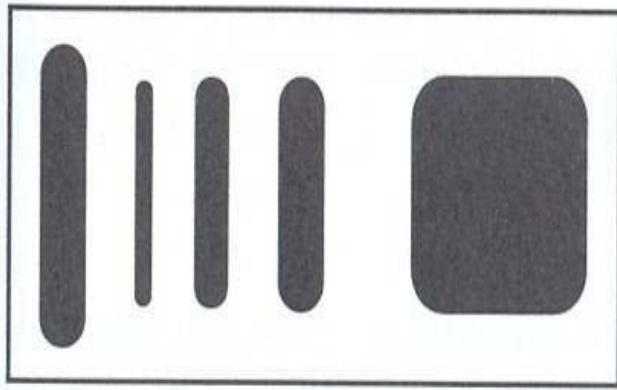


Clonal selection theory

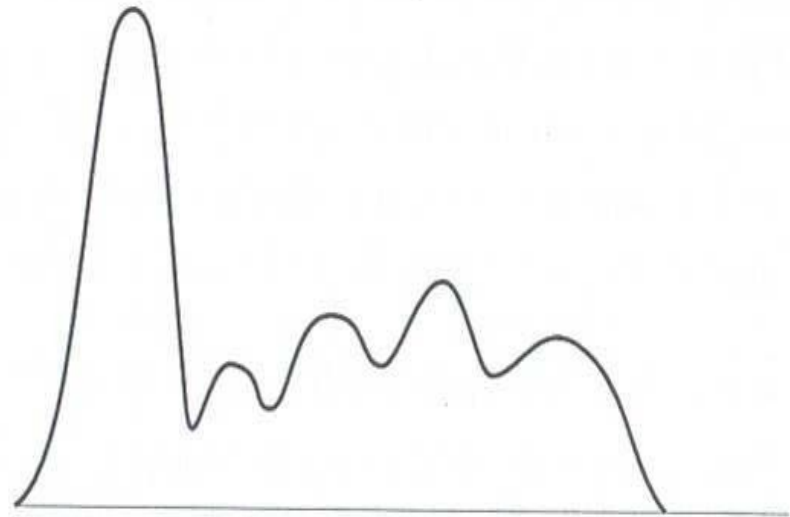


ELEKTROFORESA SÉRA

sérum zdravého jedince



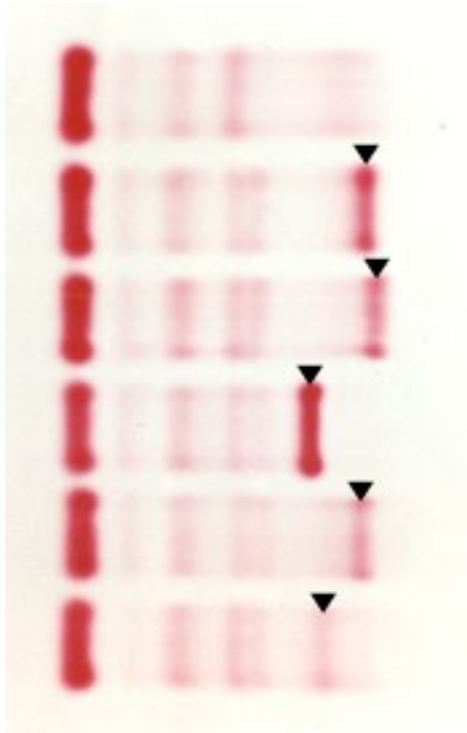
Alb. α_1 α_2 β γ



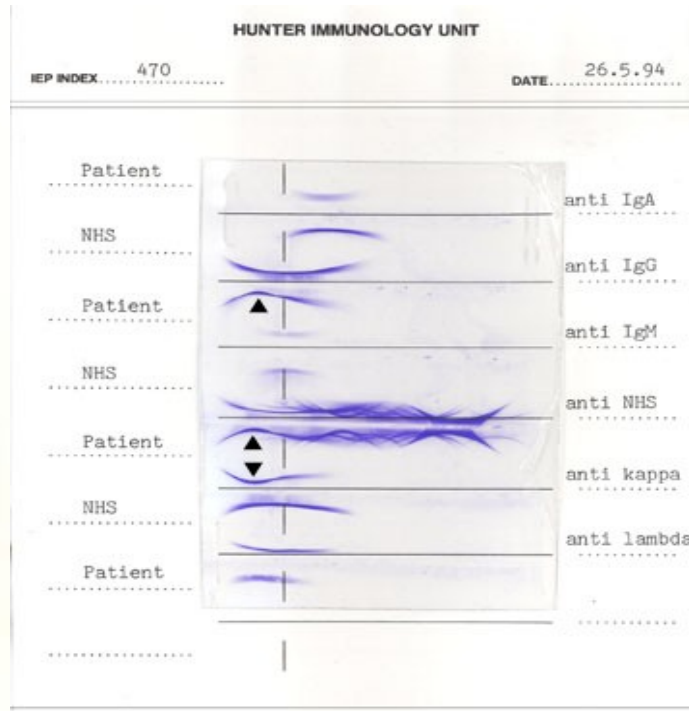
Albumin α_1 α_2 β γ

Možnosti vyšetření

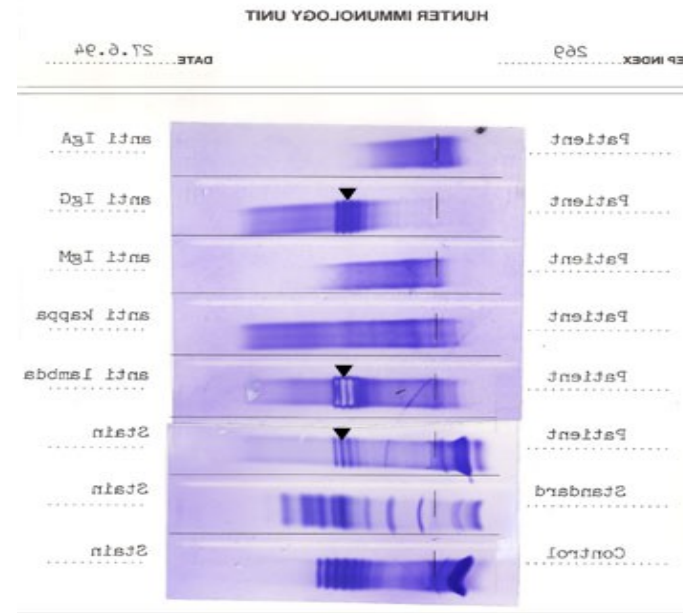
**Elektroforéza
Identifikace
monoklonálního Ig**



**Imunoelektroforéza
(antisérum IgG kappa)**



**Imunofixace
(antisérum IgG
lambda)**



Definice monoklonální gamapatie

Biochemická definice:

přítomnost monoklonálního imunoglobulinu (M-Ig protein M) v séru a v moči

Klinická definice:

Onemocnění či stav patofyziologicky související s klonální proliferací lymfoidní řady s plazmocytoidní diferenciací a častou přítomností M-Ig

Monoklonální gamapatie

- MGUS
- Mnohočetný myelom
- Waldenstromova makroglobulinemie
- AL amyloidosa

MGUS monoklonální gamapatie nejistého významu

**přítomnost monoklonálního imunoglobulinu v séru
nebo v moči pacientů bez známek MM, WM nebo
AL**

nejsou přítomny známky:

- maligní proliferace
- poškození organismu monoklonálním gamaglobulinem

MGUS Monoklonální gamapatie nejistého významu

- median diagnosy 70let
- 5% starších 70 let,
- 10-15% pacientů starších 80let má detekovatelný M protein
- benigní onemocnění s rizkem malignizace
- 19% s MCUG zprogreduje do MM v průběhu 2-19 let

MGUS

monoklonální gamapatie nejistého významu

- monoklonální expanze Ig secernujícího klonu plasmatických buněk
- příčinou je somatická mutace plasmatických buněk
(post isotyp class switch – IgG a IgA, pre switch –IgM)
- převažuje IgG a IgA , IgM 15–20%
- riziko progresu do lymfoproliferativního onemocnění

Mnohočetný myelom

druhá nejčastější hematologická malignita

- 10% hematologických malignit
- onemocnění starší generace
- medián diagnosy v Evropě 72 let
- 5 leté přežití je cca 35 % a klesá s věkem
- medián přežití je 3 roky

Mnohočetný myelom

- dysregulace onkogenů
- produkce kompletního Ig nebo jen lehkého řetězce
- převládající typ nádorových buněk jsou **vyzrálé plasmocyty**
- vyjimečně od počátku charakter plasmoblastické leukemie
- heterogenní plasmocytární populace i u jednotlivých pacientů
- vysoká četnost chromosomálních změn

Příznaky MM

- teploty, hubnutí, noční pocení
- infekce
- kostní bolesti, osteolytické léze skeletu
- anemie
- hyperkoagulační stavy,
- hemoragická diatesa
- hyperkalcemie, elevace kreatininu, hyperviskozita

Sekundární imunodeficience:

- **B a T buněčná dysfunkce**
- **omezená produkce funkčních imunoglobulinů**
- závažnější průběh bakteriálních infekcí
- opouzdřené mikroorganismy Pneumococy

Kostní změny při myelomu



Kostní změny při myelomu – pánev



Waldenströmová makroglobulinemie

- lymfoplazmocytoidní lymfom dle WHO klasifikace
- přítomnost monoklonálního imunoglobulinu typu Ig-M
- 2% hematologických malignit
- MGUS IgM je pokládán za prekursor WM