

# Imunoonkologie

Ústav klinické imunologie a alergologie FN u svaté Anny v Brně LFMU

III. ročník

E .Hlaváčková

# Role imunitního systému v onkologii

## Protektivní vliv imunitního systému při karcinogenezi

(Ehrlich 1900)

## Cancer immunosurveillance (Burnet a Thomas 50 léta )

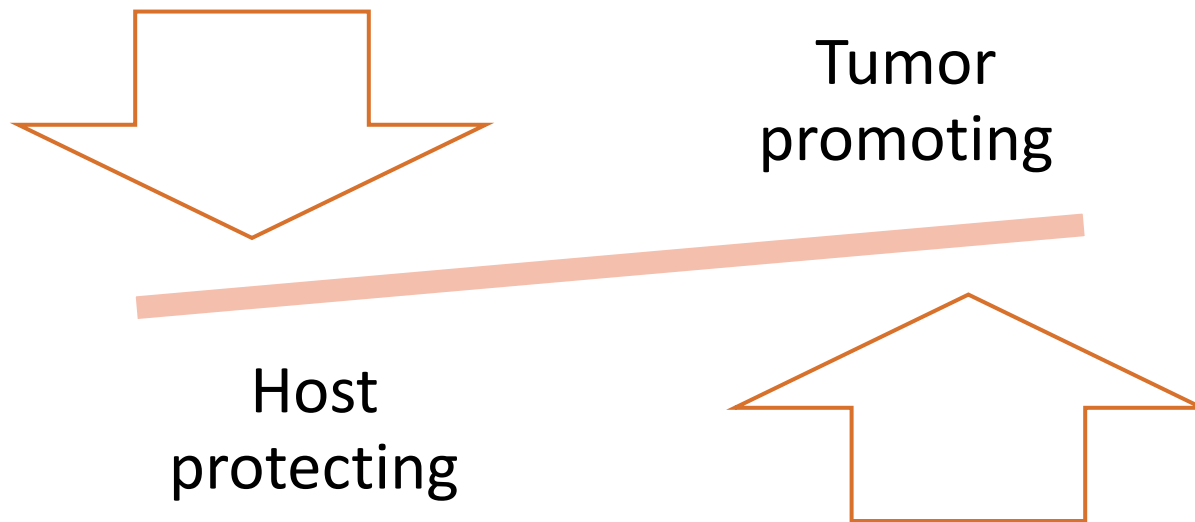
- Adaptivní imunitní systém zodpovídá za kontrolu karcinogeneze u imunitně kompetentních jedinců

## Cancer immunoeediting (2001 Shanakaran, Dunn, Schreiber)

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

# Cancer immunoediting teorie 3E

Duální funkce imunitního systému



Eliminace



Eqilibrium  
rovnováha



Escape  
únik

# Cancer immunoediting teorie 3E

kompletní **eliminace** buněk nádoru

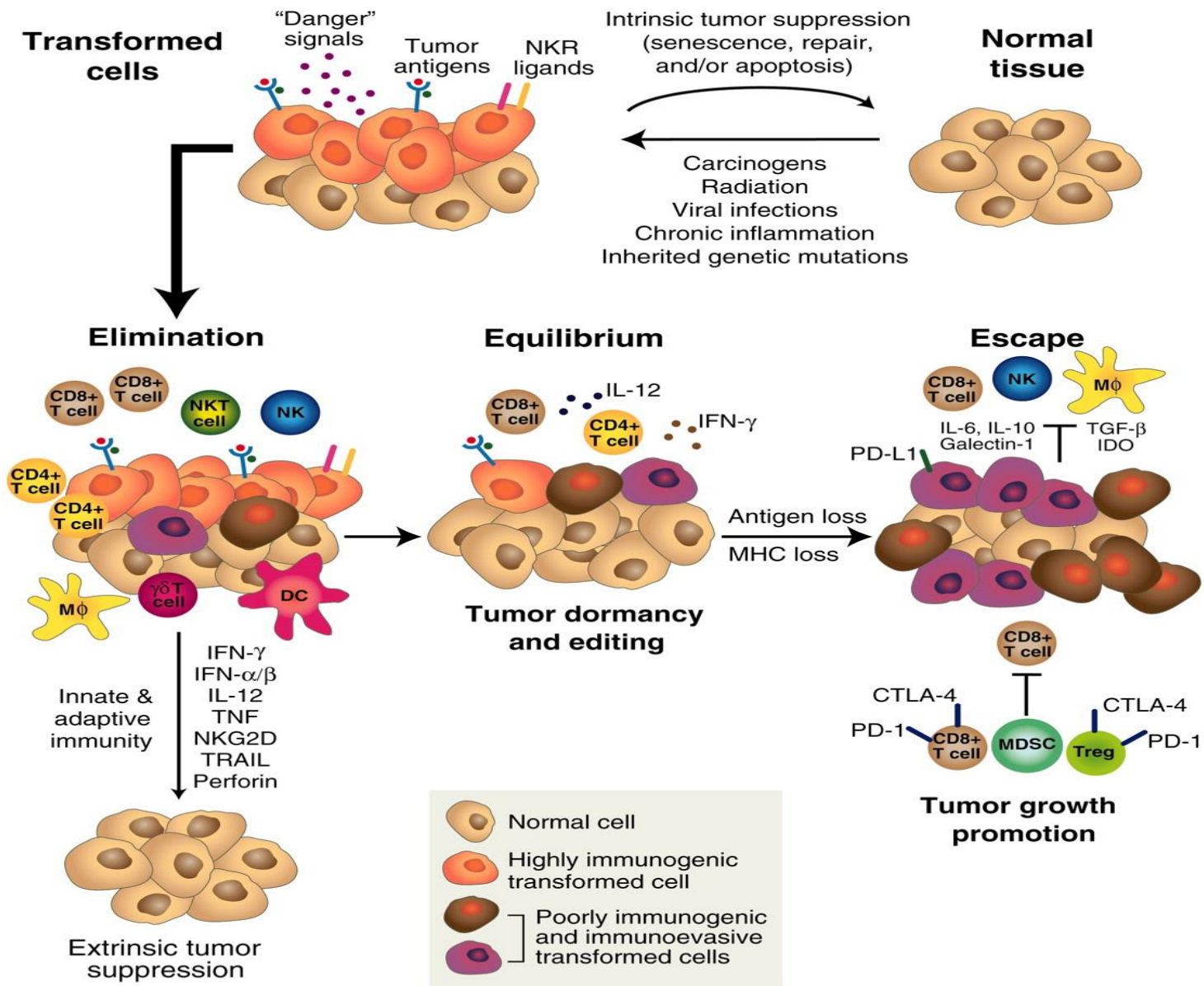
nebo

dlouhodobý stav **rovnováhy**

nebo

**únik** maligních buněk kontrole imunitního systému  
a **rozvoj nádorového onemocnění**

**podíl mechanismů specifické a nespecifické imunity**



## Cancer Immunoeediting

The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoeediting

Gavin P. Dunn Open Archive Published: August 17, 2004 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2004.07.017>

PlumX Metrics Immunity, VOLUME 21, ISSUE 2, P137-148, AUGUST 01, 2004 PDF [263 KB]

[https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613\(04\)00209-2](https://www.cell.com/immunity/fulltext/S1074-7613(04)00209-2) The Immunobiology of Cancer Immunosurveillance and Immunoeediting

# Obranné mechanismy nádorů v obraně proti imunitnímu systému

**Ztráta exprese nádorových antigenů**  
snížení antigenní variability

**Selekce nízké antigenních variant buněk tumoru**  
ignorace imunitním systémem

**Inhibice funkce dendritických buněk**  
NO, TGF beta, DAO, VEGF

**Tlumení funkce T-lymfocytů**  
TGF-b, IL-10

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

**“Enhancement” efekt**  
protinádorových protilátek, stimulace růstových receptorů nádoru

**Indukce T reg inhibice funkce tumorspecifických T lymfocytů**

**MDSC**  
indukce T reg,  
deplece sekvestrace argininu, tryptofanu a cysteinu ( T buňky)

**Absence kostimulačních molekul**

tlumení Tc a Th odpovědi

# Editace nádoru imunitním systémem

## **Intratumorální imunitní odpověď predikuje prognosu pacienta**

Pos efekt : TIL

Neg efekt: T reg MDSC

## **Imunodeficiencie**

### **je asociovaná se zvýšeným výskytem nádorů**

- Zvýšený výskyt malignit u prim. imunodeficitů (PID)
- Snížení funkce imunitního dozoru u PID
- Imunodysregulace (PID)
- HSV6 - Kap. sarcom, EBV asociované lymfomy, HPV cervikální carcinom
- Maligní lymfoproliferace PID

# 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 gp I 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 v tumor supresor genes**

- Geny kontroly buněčného cyklu

# 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**
- **ektopická** nebo **zvýšená exprese u malignit**
- pomocné diagnostické markery

**onkofetální antigeny** antigeny specifické pro tkáň

- **AFP** – hepatomy
- **CEA** - carcinoembryonální proteiny

○ **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**

○ **diferenční antigeny malignit lymfatického systému**

- **CALLA** common acute lymphoblastoid leukemia antigen CD 10 – pre B buňky
- fyziologicky přítomny na normálních buňkách vývojových

# Onkomarkery vs Biomarkery

## Onkomarkery

Vybrané TAA nebo TSA

Sledování průběhu onemocnění (aktivita nemoci)

a jeho odpovědi na léčbu

Neslouží k dignose

Mohou být elevovány i při jiném než onkologickém onemocnění (AFP)

Onkofetální markry – přirozený význam v období fetálního vývoje

Stanovení serologické

## Biomarkry

Na povrchu nebo uvnitř nádorových buněk

Exprese, overexprese nebo mutace má prognostický nebo prediktivní význam

Prognostický: prognosa onemocnění (agresivita procesu, vliv na strategii léčby)

Prediktivní: predikce účinku konkrétní medikace

Stanovení histologické

## ONKOMARKERY příklady

- **AFP (alfa-fetoprotein):** [hepatocelulární karcinom](#) (nádor jater), některé nádory [vaječníků](#) nebo [varlat](#). AFP může být zvýšen rovněž při nenádorovém onemocnění jater (cirhóza, hepatitida)
- **B2M (B2MG - beta2-mikroglobulin):** [mnohočetný myelom](#), [chronická lymfatická leukémie](#), [lymfomy](#), porucha funkce ledvin
- **CA 15-3:** [karcinom prsu](#), některé nádory [zažívacího traktu](#)
- **CA 19-9:** karcinom [slinivky břišní](#), [žaludku](#), [střeva](#), [prsu](#)
- **CA 72-4:** karcinom [žaludku](#), [jícnu](#), [plic](#), [vaječníků](#)
- **CA-125:** [karcinom vaječníků](#)
- **CEA (karcino-embryonální antigen):** karcinomy [zažívacího traktu](#), [plic](#), [prsu](#), [vaječníků](#), může být zvýšen i u nenádorových onemocnění.
- **HCG (lidský choriový gonadotropin):** [choriokarcinom](#), [germinální nádory varlat](#) nebo [vaječníků](#), v těhotenství.
- **LD (laktátdehydrogenáza):** [nádory varlat](#), [ledviny](#), [leukémie](#), [Hodgkinův lymfom](#)
- **PSA/fPSA/tPSA (Prostatický specifický antigen / volný / celkový):** [karcinom prostaty](#). vyšetření pro včasné vyhledávání karcinomu prostaty ve "zdravé" populaci.

## BIOMARKERY příklady

- **HER2** humánní epidermální receptor 2, karcinomy prsu a u některých karcinomech žaludku  
anti HER2 terapie
- **EGFR** receptor epidermálního růstového faktoru, léčba anti EGFR
- **RAS (KRAS, NRAS)** signální dráha EGFR, aktivační mutace, olorektální ca , predikuje rezistenci k inhibitorům (EGFR),
- **BRAF** součást signální dráhy RAS/RAF/MAPK  
mutace **BRAF** je považována za jednu z „driver mutací“ maligního melanomu,  
predikce anti BRAF terapie
- **ALK** bodová mutace tyrozinkinázové (TK) domény genu **ALK** (neuroblastomy) ,  
fúze **ALK** s jinými geny (NSCLC, anaplastický velkobuněčný lymfom) způsobují abnormální expresi a aktivaci, predikce anti ALK terapii
- **PDL-1** predikce odpovědi na anti PDL léčbu
- **Ki67** marker proliferace maligních buněk
- **c-kit** TKI receptor
- **PDGFRa** platelet derived growth factor receptor alfa, overexprese GIST, glioblastom, predikce terapie imatinib

# 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**

**Analýza mikroprostředí nádoru**

**Expres check point molekul** ve vzorku maligní tkáně

NGS – **WES**

**Traskriptom**

# Imunoonkologická terapie

Indukce protinádorové imunity

Posílení přirozených imunitních mechanismů

nebo

Využití imunitních mechanismů

k cílenému nasměrování léčiva k místu nádoru

# Imunoonkologické terapie

## **Biologika**

mAb (anti CD20, anti EGFR, anti VGFR...)

## **Malé molekuly**

TKI ( anti PI3K, anti BTK, BRAF inh...)

## **Check point inhibitory (ICB)**

anti CTLA4 antiPD antiPDL1 ...

## **Adaptivní celulární terapie**

DCvac CAR TIL ...

## **Imunomodulační léčba**

BCG I12 GvL...

# Imunomodulační a imunostimulační cytokiny

## IL 2

### ⑩ Růstový faktor T lymfocytů

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

## BCG bacillus Calmette-Guerin

### ⑩ Atenuované mycobacterium bovis

- Léčba karcinomu močového měchýře intravesikální aplikací
- Elevace INF $\gamma$ , indukce exprese MHC II na buňkách tumoru
- Infiltrace močového měchýře makrofágy a CD4+T buňkami



# Immunomodulační a imunostimulační cytokiny

## **INF alfa**

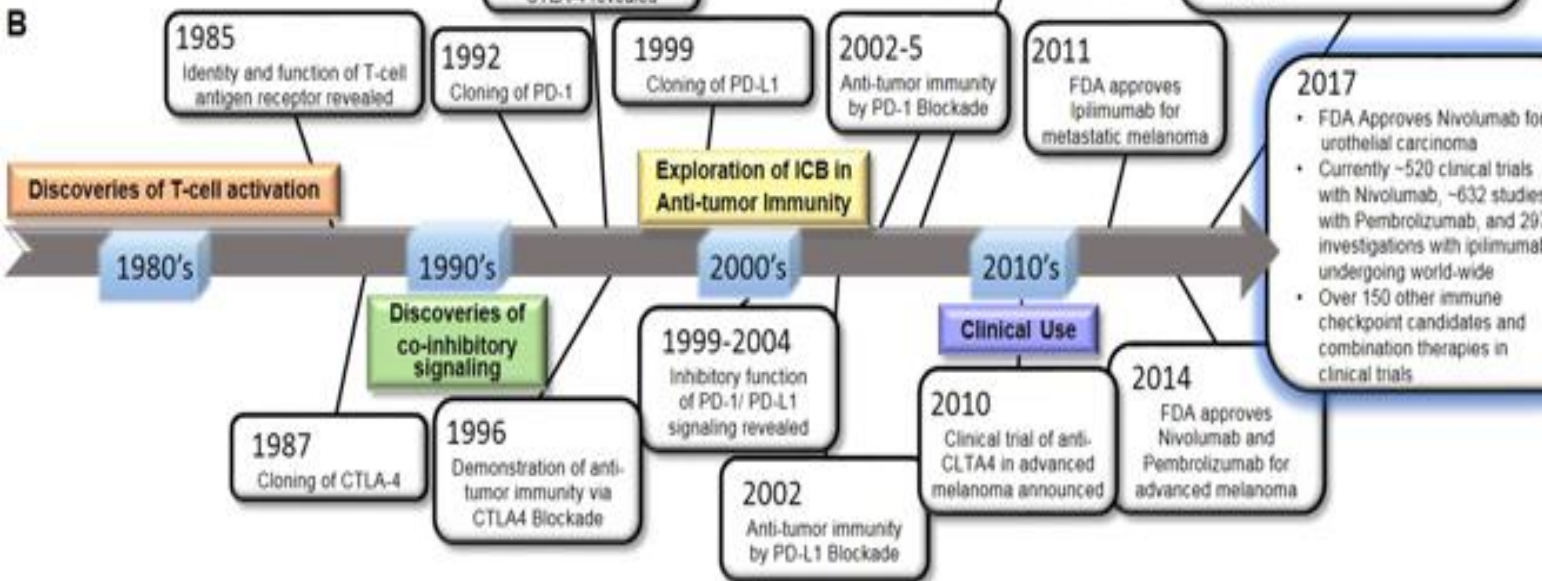
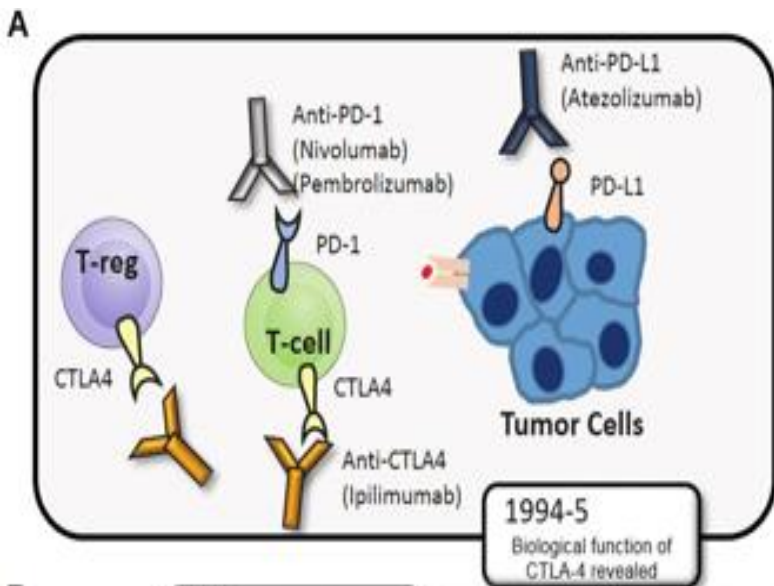
- Stimulace Th1 prostřednictvím STAT1 a STAT 3 drah k sekreci IL 12

## **Vysokodávkovaný INF Interferon alfa-2b**

- Lymfatické malignity
- Adjuvantní léčba high risk melanomu před zavedením ipilimumabu

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

# Check point inhibitory



James P Allison  
Tasuku Honjo  
were awarded  
the **2018 Nobel Prize**  
in  
**Physiology or Medicine**  
for the  
**immune checkpoint blockade**

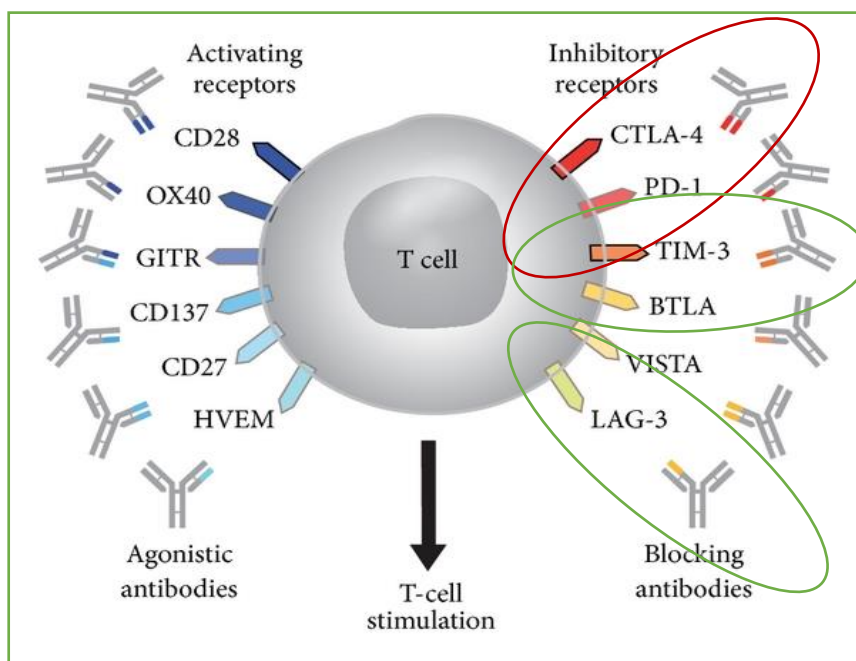
Future prospects of immune checkpoint blockade in cancer: from response prediction to overcoming resistance.

Park YJ<sup>1,2</sup>, Kuen DS<sup>3,4</sup>, Chung Y<sup>5,6</sup>. *Exp Mol Med*. 2018 Aug 22;50(8):109. doi: 10.1038/s12276-018-0130-1

# Aktivační/inhibiční receptory T buněk

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

cíl terapie: T buněčné inhibiční a stimulační receptory a jejich ligandy  
Pacienti: responders x nonresponders  
CAVE irAE (immune related adverse events)



# CTLA4

**CTLA 4** cytotoxic T lymphocyte associated Ag  
**inhibiční molekula T lymfocytů ( CD4+, CD8+)**

exprese T CD4 a CD8 a T reg

interakce s CD80/86 na APC

kompetice s CD28 T buněk

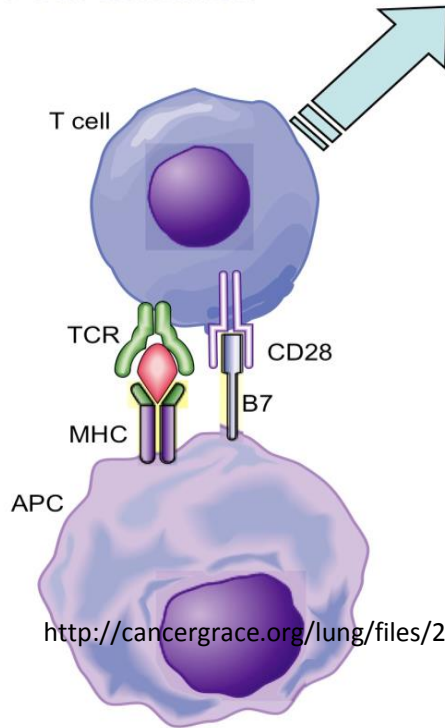
inhibice T lymfocytární proliferace a aktivace

**anti CTLA 4 (ipilimumab)**

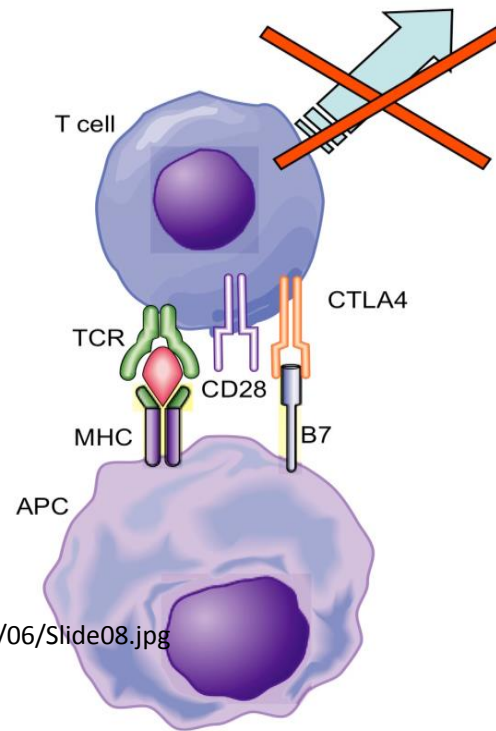
- rekombinantní humánní monoklonální protilátka
- stimulace T lymfocytární odpovědi
- první FDA schválený check point 2011
- nepřímý antitumorosní efekt posílení T mediované odpovědi

# Ipilimumab Blocks Negative Signaling From CTLA-4

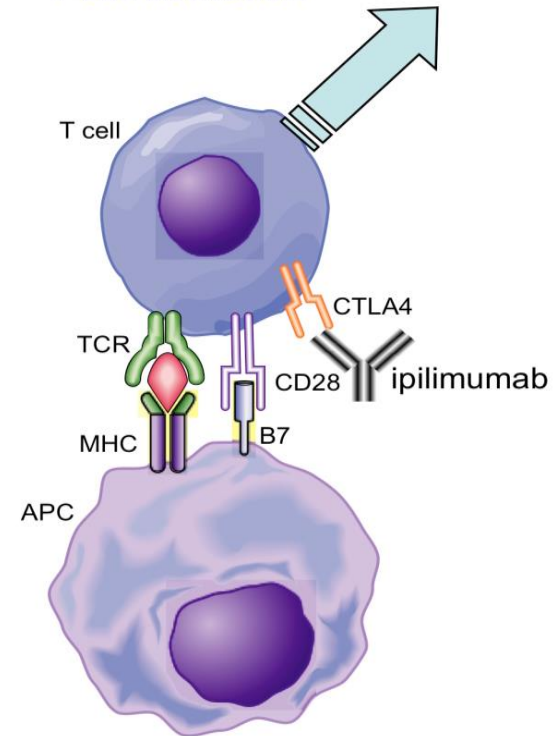
Co-stimulation via CD28:  
T-cell activation



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.

# PD1

## PD1 program cell death receptor

transmembránový protein T, B, NK, DC monocytů  
exprese na lymfocytech v mikroprostředí nádoru

inhibice T buněčné proliferace

Inhibice T buněčné produkce cytokinů

přeměna T efektorových na Treg

interakce s PD-L1 a PD-L2

**anti PD 1 (pembrolizumab/nivolumab /cemiplimab)**

NSCLC , RCC, melanom , NHL.....

# PD-L1/PD-L2

## PD-L1 program cell death receptor ligand

- exprese hematopoetické buňky (T, B, NK, DC, monocyty) , epitelie, buňky tumoru
- interakce PD-1/PD-L1 vs CD80-CD86
- inhibice T lymfocytární odpovědi
- indukce Treg

## PD-L2

- fyziologicky nízká exprese
- APC buňky
- variabilní indukce v důsledku mikroprostředí včetně tumoru

## anti PDL1 (atezolizumab/arveluma/ durvalumab))

- anti PDL 1 mAb
- 2016 FDA uroteliální carcinom , NSCLC...

# Monoklonální protilátky v onkologii mAbs

- Přímý protitumorosní efekt
- **Inhibice nebo aktivace ligandu mAb**
- **Ablace buněk stromatu a buněk cévního zásobení mikroprostředí tumoru**
- **Široká škála terapeutik**

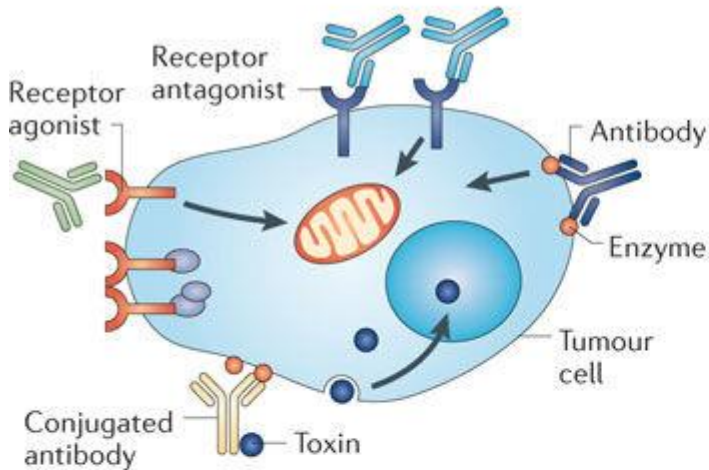
## Mechanismus účinku:

- **Imunologicky mediované usmrcení buněk tumoru**
- ACCD, fagocytosa, aktivace komplementu, cross prezentace DC, CTLA4 blokace

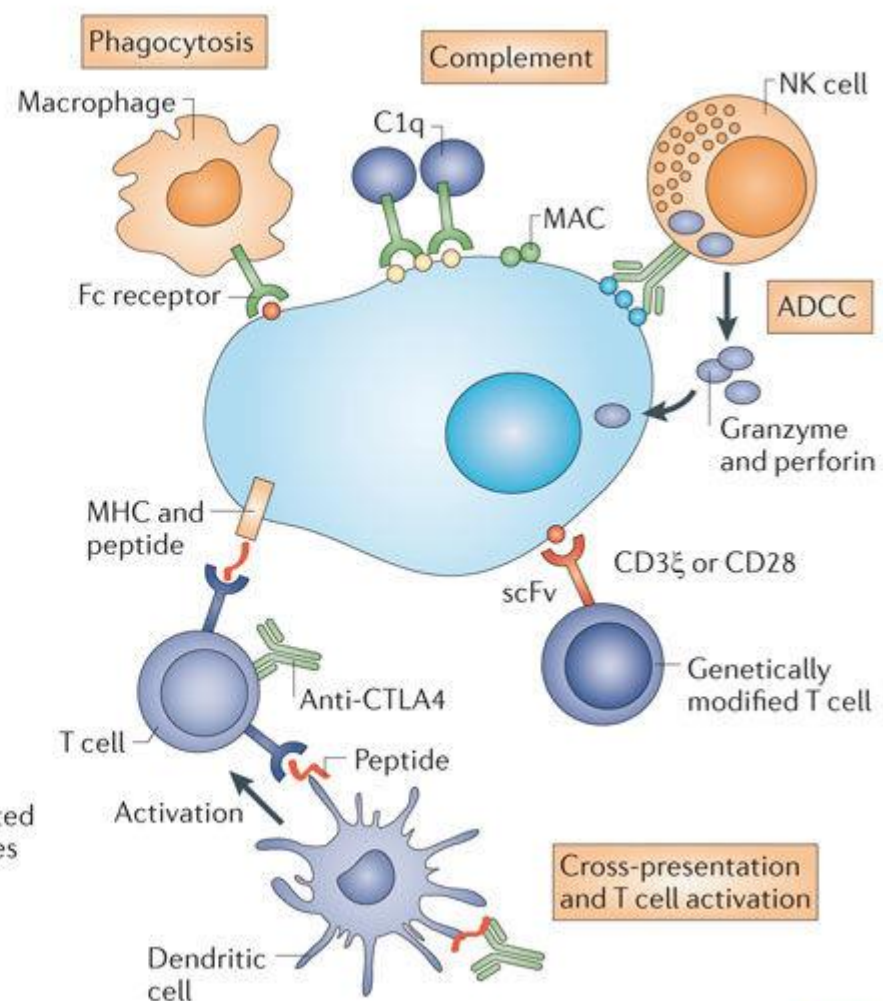


# Monoklonální protilátky v onkologii

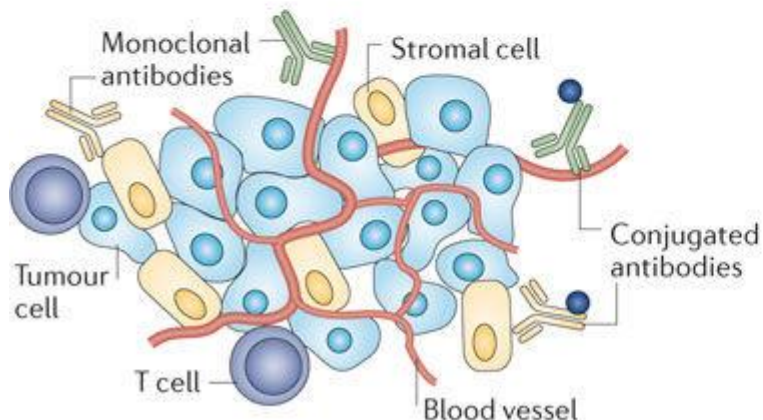
## a Direct tumour cell killing



## b Immune-mediated tumour cell killing



## c Vascular and stromal cell ablation



# Monoklonální protilátky v onkologii

## Růstové faktory a receptory růstových faktorů

- ⑩ **anti CEA** epidermal growth factor receptor (EGFR, ErbB1)
- **anti ErbB2 (HER2)** epidermal growth factor receptor (EGFR) family  
her´trastuzumab( Herceptin )- ca mammy

## Antigeny zodpovídající za angiogenesi mikroprostředí tumoru

- ⑩ **anti VEGF** vascular endothelial growth factor **bevacizumab (Avastim)**
- **anti VEGFR** VGF receptor

## Antigeny extracelulární matrix a stromatu tumoru

- ⑩ **Anti FAP** fibroblast activation protein
- **tenascin** - glykoprotein extracelulární matrix

## Povrchové CD znaky

# Monoklonální protilátky v onkologii

## **Trastuzumab :**

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

## **Cetuximab**

**anti-EGFR**, anti epidermal grow factor  
receptor  
kolorektální ca

## **Bevacizumab :**

### **anti VEGF**

inhibitor angiogenese  
kolorektální ca

## **Rituximab**

### **antiCD20**

- IgG1chimerická mAb,

CD 20 povrchový marker vývojových řad B  
lymfocytů

absentuje na plasmatických buňkách  
NHL a CLL, folikulární NHL

## **Alemtuzumab**

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

CD 52 povrchový antigen maturovaných  
lymfocytů

# Kinásové inhibitory v imunoonkologii

- Léčba cílí na malignity s definovanou onkogenetickou aktivací kinás
- Proteinová fosforylace je postranlační reversibilní modifikací proteinů
- Fosorylace proteinů je kontrolována kinásami a fosfatasami

## Anti BTK

### BTK cytoplasmatická kinasa Ibrutinib

- Transdukce signálu BCR receptoru
- Regulace proliferace, diferenciace, aktivace , přežití
- Zvýšená aktivita u určitých B malignit
- CLL, mantel cell lymphoma ...

# Adoptivní celulární terapie

- Nádorová vakcinace

- CAR

- Chimerické antigenní receptory T buněk

- TIL

- Tumor infiltrující lymfocyty

# Protinádorové vakcíny

## Preventivní

- vakcinace zdravých pacientů
- vznik specifických protilátek a paměťových buněk
- **Proti HPV**

## Terapeutické

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

## Terapeutické

**Ex vivo generované** autologní vakcíny z dendritických buněk

x

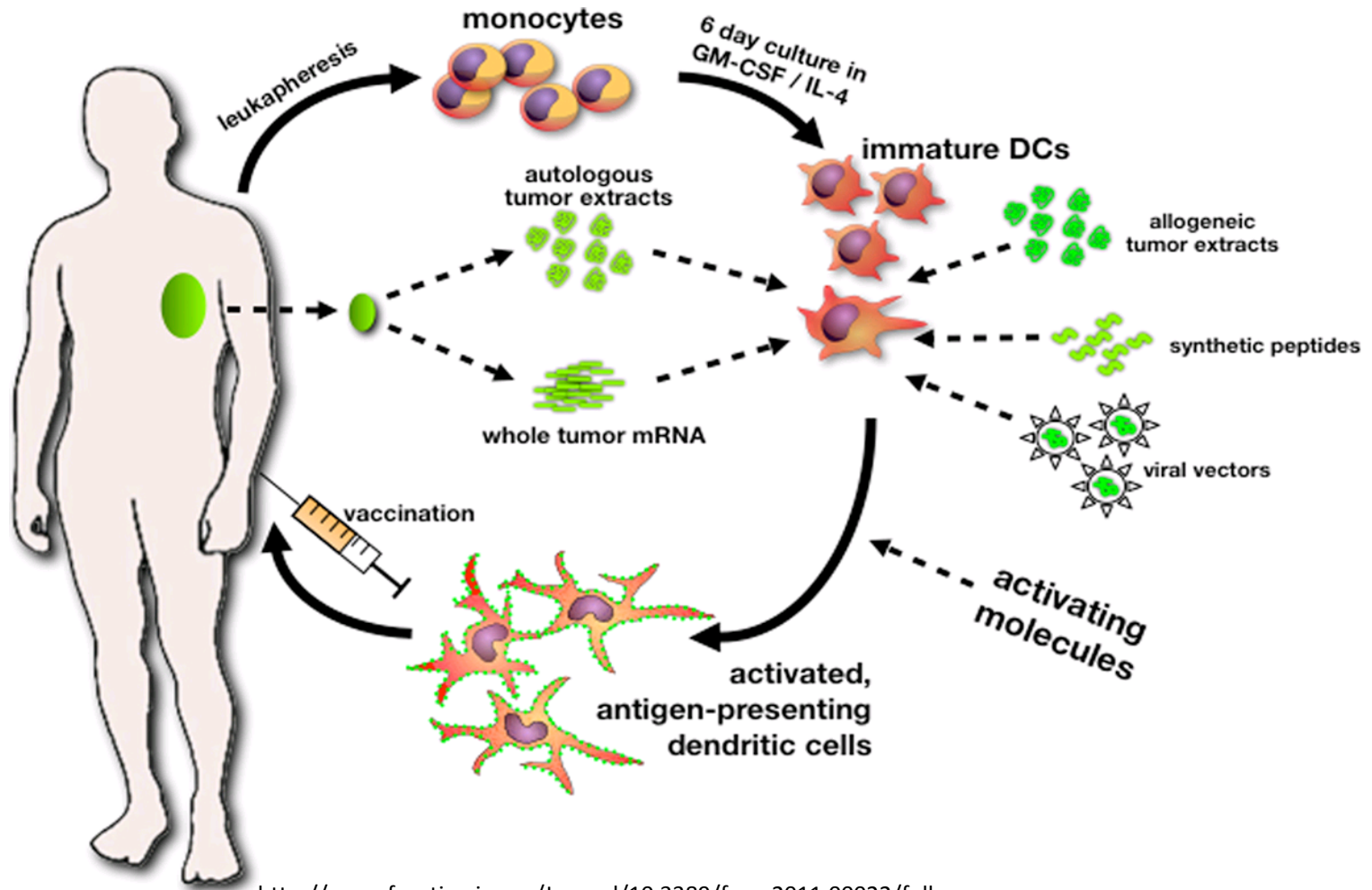
**Proteinové/peptidové** vakcíny (cíl TAA – gp100, PSA...)

x

## Genetické vakcíny

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

# Protinádorové vakcíny



# CAR

## chimerické antigenní receptory T buněk

- 1-4 generace
- metody genetického inženýrství
- obchází HLA 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

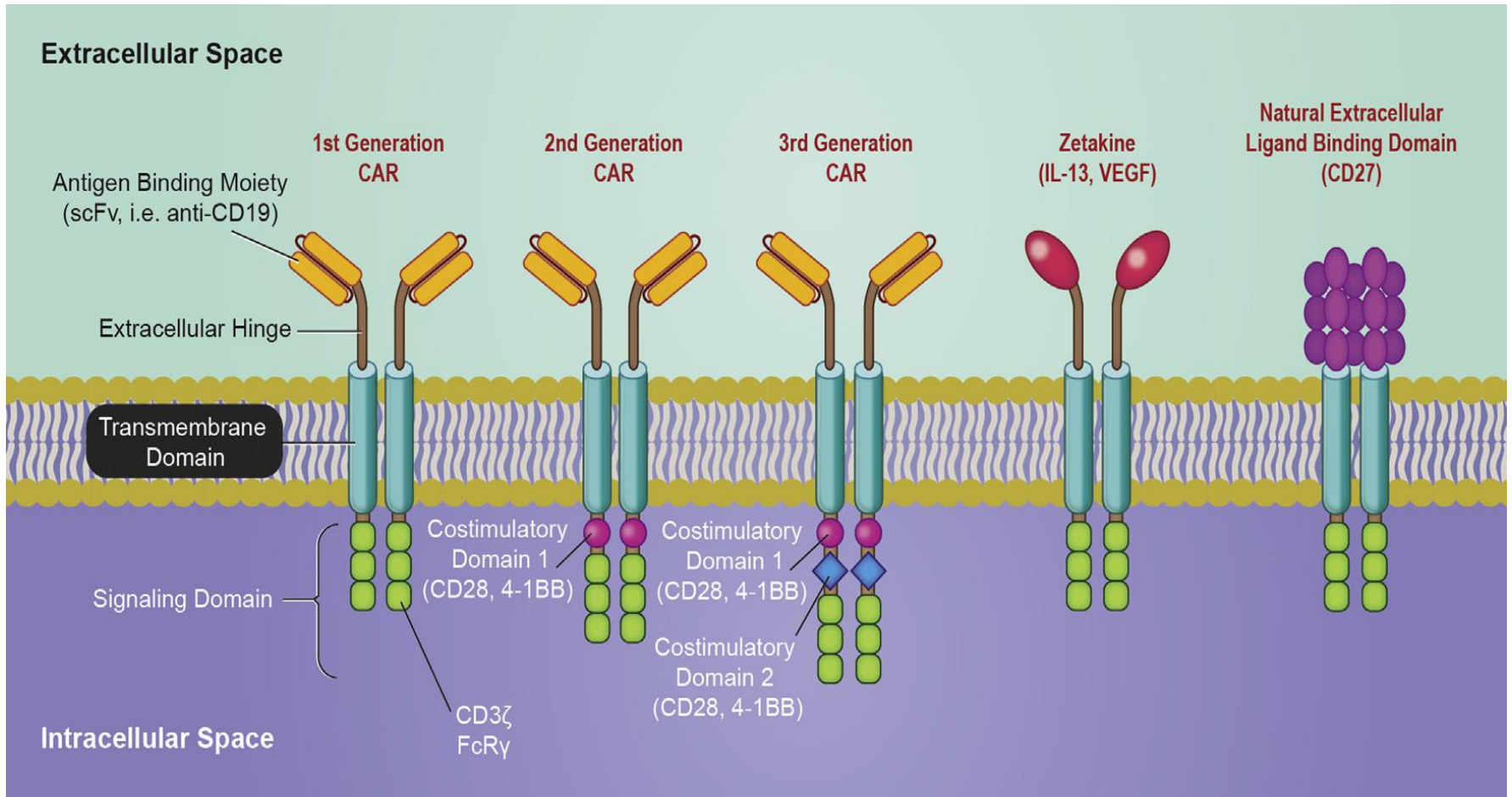
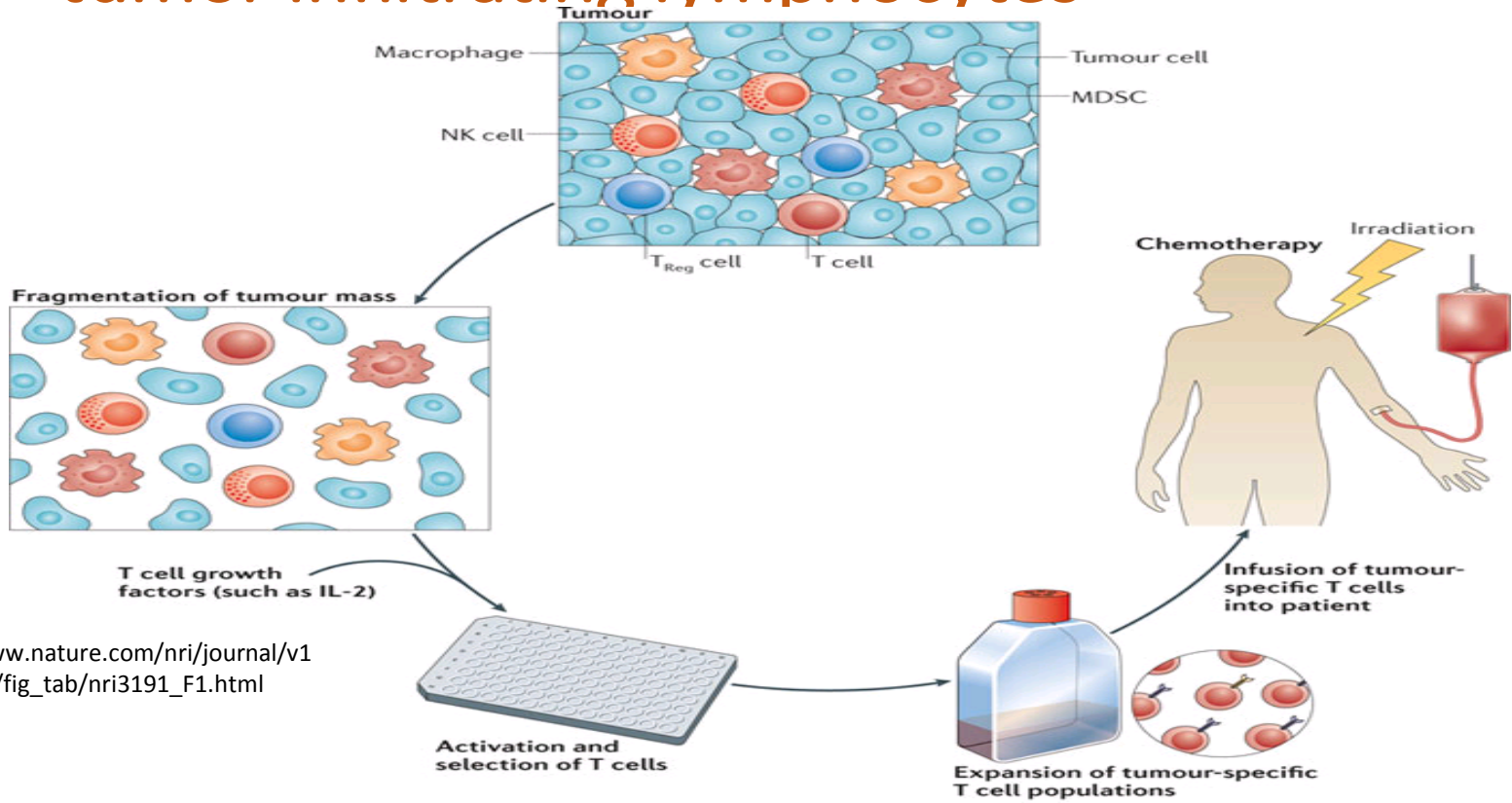
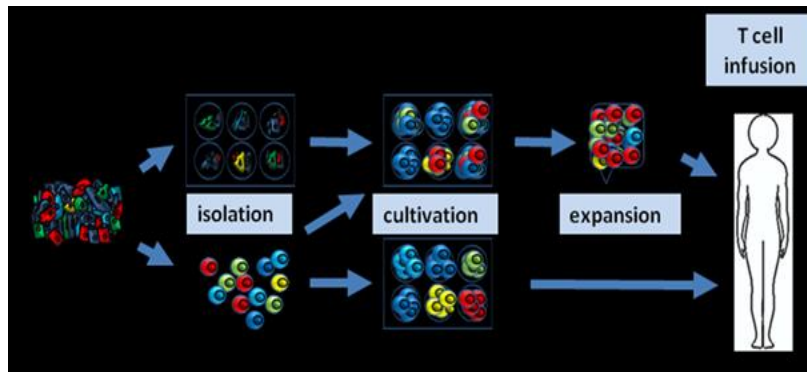


Fig 1. Schema of examples of CAR design. CAR, chimeric antigen receptor  
Translational Research 16 Chen and Yang September 201

# TIL – tumor infiltrating lymphocytes



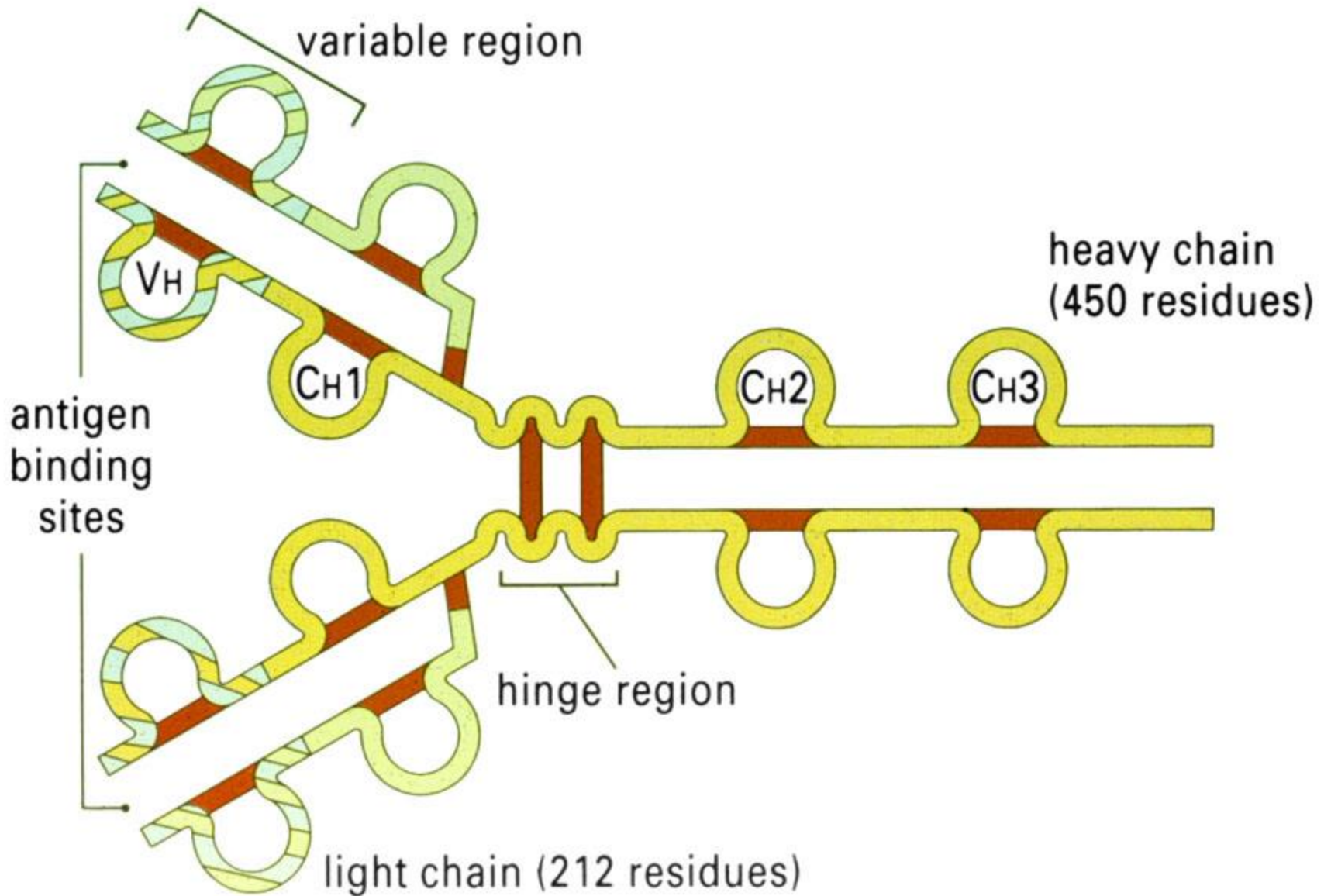
[http://www.nature.com/nri/journal/v12/n4/fig\\_tab/nri3191\\_F1.html](http://www.nature.com/nri/journal/v12/n4/fig_tab/nri3191_F1.html)



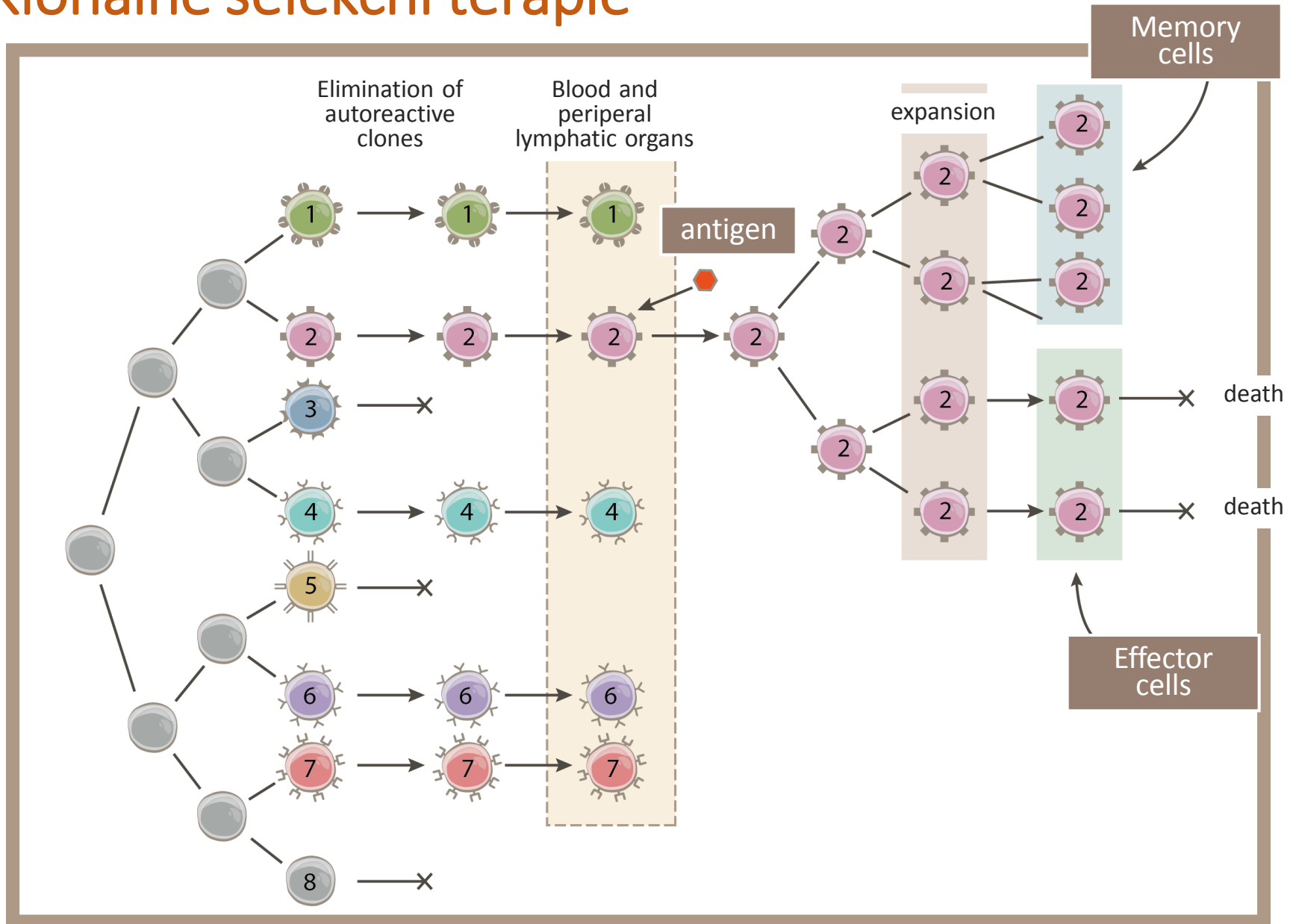
Nature Reviews | Immunology

# Monoklonální gamapatie

# The basic structure of IgG1

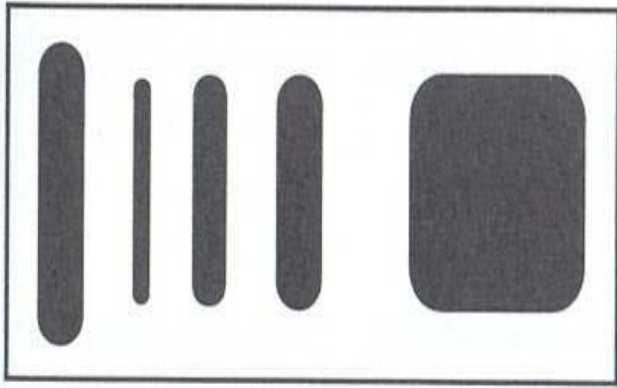


# Klonálně selekční terapie

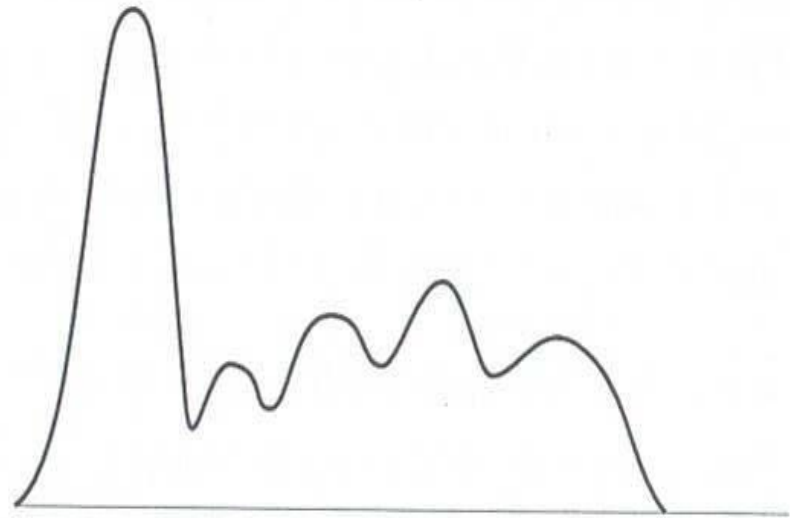


# Elektroforesa séra

sérum zdravého jedince



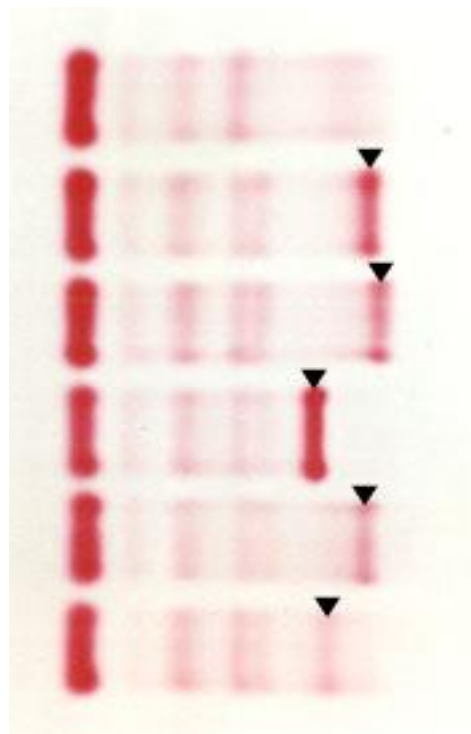
Alb.  $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta$   $\gamma$



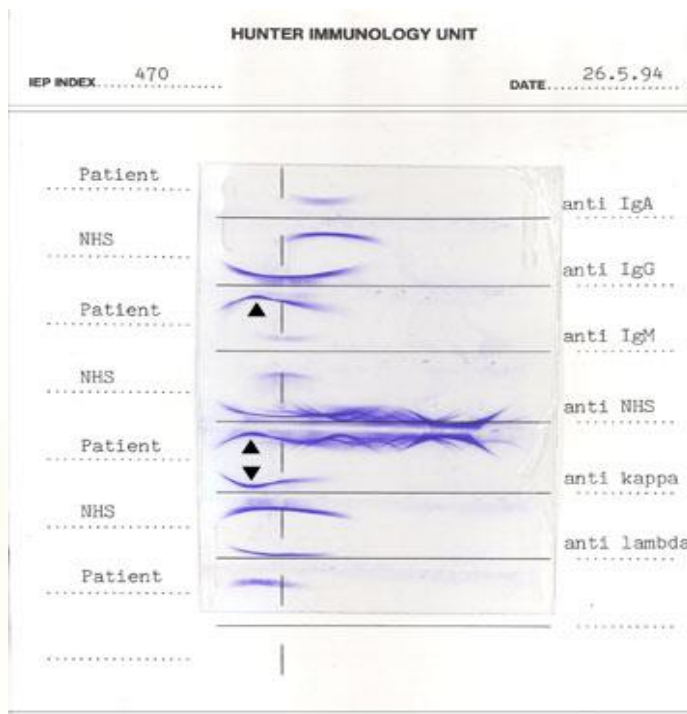
Albumin  $\alpha_1$   $\alpha_2$   $\beta$   $\gamma$

# Možnosti vyšetření

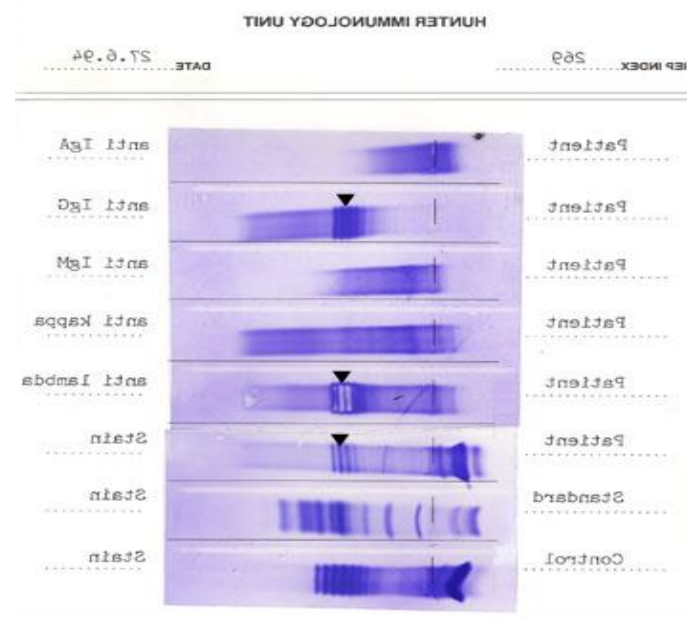
**Elektroforéza  
Identifikace  
monoklonálního Ig**



**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 plazmocytoïdní 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
- monoklonální expanze Ig secernujícího klonu plasmatických buněk
- somatická mutace plasmatických buněk ( post isotyp class switch - IgG a IgA, pre switch -IgM)
- převažuje IgG a IgA, IgM 15-20%

# Mnohočetný myelom MM

## druhá nejčastější hematologická malignita

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

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

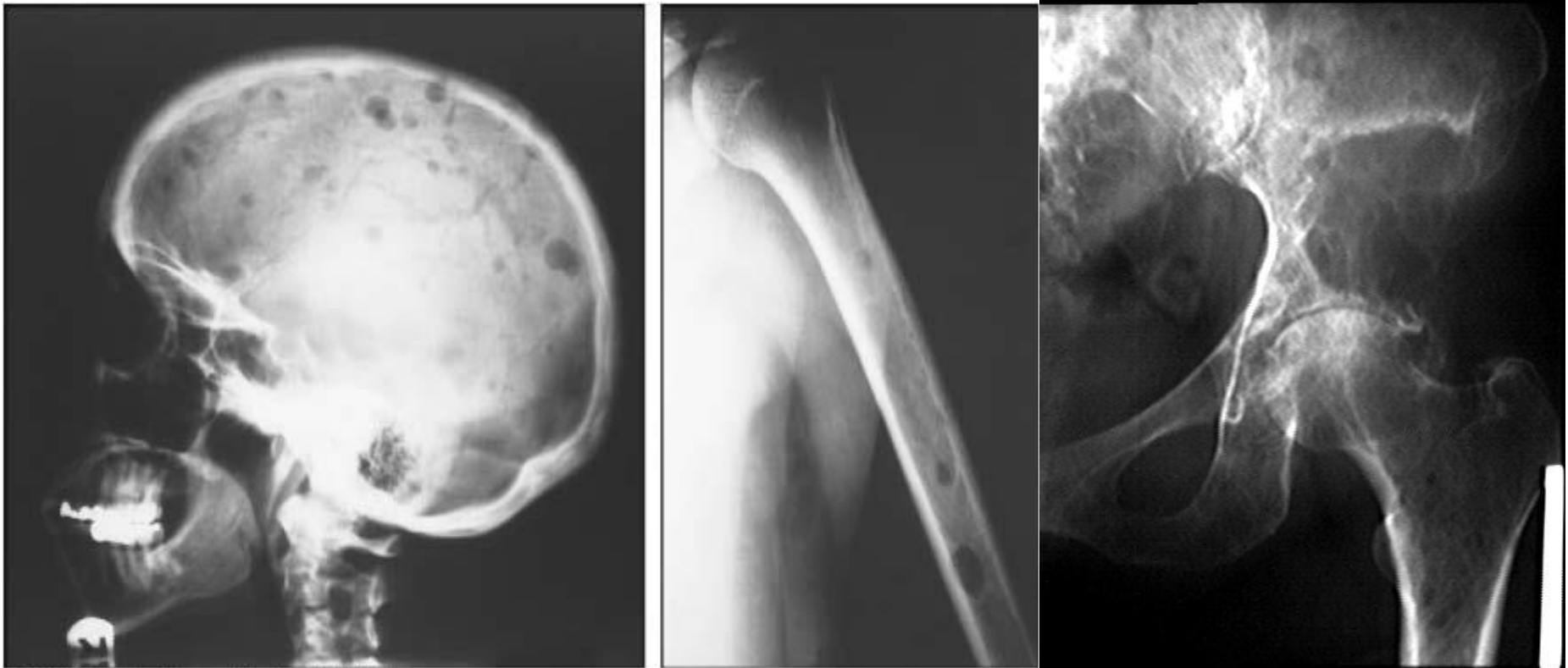
# Klinické a laboratorní nálezy MM

- 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 pneumokoky

# Kostní změny při myelomu



# Waldenströmová makroglobulinémie

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