Imunitní systém a nádory – komplikovaný vztah

The immune system vs. tumors – a complicated relationship

Prof. RNDr. Václav Hořejší, CSc.
Ústav molekulární genetiky Akademie věd ČR

SOUHRN
Ačkoli v obraně proti nádorům je imunitní systém většinou mnohem méně úspěšný než v obraně proti infekcím, v poslední době byly objasněny příčiny této skutečnosti a byly nalezeny způsoby, jak protinádorovou účinnost imunitního systému výrazně zlepšit. Byla identifikována řada více či méně specifických nádorových antigenů, byly objasněny mnohé buněčné a molekulární mechanismy, kterými se nádory brání proti imunitním zbraním. Velký význam mělo formulování a potvrzení platnosti hypotézy imunitní editace nádorů vysvětlující komplikované vztahy mezi nádory a imunitním systémem. Pro teoretické poznání tohoto vztahu bylo důležité objasnění několika úrovní tlumivých mechanismů, jimiž imunitní systém může paradoxně nádory chránit. Poznatky základního výzkumu vedly konečně k vývoji účinných imunoterapeutických postupů, které jsou nadále zdokonalovány a mohou se stát v blízké budoucnosti hlavními metodami protinádorové terapie.

KLÍČOVÁ SLOVA
imunoterapie nádorů, imunitní dozor, imunitní editace, nádorové antigeny

SUMMARY
Although the immune system is usually much less efficient in defense against tumors as compared to defense against infections, recent discoveries elucidated the causes of this phenomenon and made it possible to improve the efficiency of anti-tumor immune mechanisms. A number of more or less specific tumor antigens have been identified and several mechanisms involved in resistance of tumors to the immune weapons have been discovered. The formulation of tumor immune editing hypothesis and its validation was essential for current understanding of the complex relationship between the tumor and the immune system. The identification of several levels of immunosuppressive mechanisms has been crucial for understanding of the paradoxical phenomenon of immune protection of tumors. Decades of basic research culminated in development of efficient immunotherapeutic approaches which, after further improvements, have the potential to became major tools of anti-tumor therapies.

KEY WORDS
tumor immunotherapy, tumor surveillance, immune editing, tumor antigens

ÚVOD

Imunitní systém se umí celkem dobře vypořádat s většinou infekčních onemocnění. Ve vyspělých zemích ale většina lidí umírá na choroby, na které obranné mechanismy nestačí, a to na kardiovaskulární a nádorová onemocnění. Z evolučního hlediska to asi dává smysl – jedná se o typické choroby pozdního, postreprodukčního věku, takže evoluční tlak na vývoj obrany proti nim byl malý. Ukazuje se ale, že tento evoluční nedostatek není až tak fatální a že imunitní systém přece jen má proti nádorovým onemocněním účinné zbraně, které mohou být vhodnými zásahy ještě posíleny.

NÁDOROVÉ ANTIGENY

To, že imunitní systém je v principu schopen odpovídat na nádorové bujení,

bylo poprvé prokázáno již na počátku 20. století, když si americký chirurg William Coley[1] všiml, že u některých onkologických pacientů, kteří prodělali těžké bakteriální infekce, došlo k regresi jejich nádorů. Zdálo se tedy, že aktivovaný imunitní systém může být v principu schopen vypořádat se i s nádory. O půl století později se ukázalo, že laboratorní myši mohou být experimentálně imunizovány proti nádorům indukovaným chemickými karcinogeny.

Základní podmínkou pro to, aby se mohly uplatnit protinádorové imunitní mechanismy, je samozřejmě existence *nádorových antigenů*[2] – tedy více či méně specifických „abnormálních" struktur na povrchu nádorových buněk, kterými se liší od buněk normálních. Těmi jsou nejčastěji fragmenty produktů mutovaných genů, resp. produkty abnormálního štěpení normálních proteinů v nádorové buňce navázané na MHC proteiny (lidské HLA molekuly), které mohou být rozpoznány T lymfocyty. Mohou to ale také být např. abnormální formy povrchových glykoproteinů, protože glykosylace (tj. připojování oligosacharidových řetězců) povrchových proteinů mnohých nádorových buněk je odlišná od buněk normálních. Ty mohou být rozeznávány protilátkami produkovanými B lymfocyty, resp. plazmocyty.

Kromě těchto nádorově specifických antigenů (TSA) jsou velmi významné také tzv. antigeny asociované s nádory (TAA). Ty nejsou výlučně specifické pro nádorové buňky, ale nacházejí se i na některých normálních buňkách. Na nádorových buňkách jich ale bývá mnohem více. Často jsou to také molekuly, které se normálně vyskytují na buňkách nepříbuzných těm nádorovým. Mezi nejznámější patří tzv. onkofetální antigeny přítomné na normálních embryonálních buňkách. V postnatálním období mizí a objevují se anomálně na některých nádorových buňkách. Do této skupiny patří α-fetoprotein (AFP) produkovaný buňkami hepatomů a karcinoembryonální antigen (carcinoembryonic antigen, CEA) karcinomu tlustého střeva. Některé melanomové antigeny (MAGE-1, Melan-A) jsou přítomny v poměrně malém množství na normálních melanocytech, ale mnohem víc jich je na melanomových buňkách. Podobně antigen HER2/neu, receptor růstového faktoru epiteliálních buněk, je v malém množství přítomen na normálních epiteliálních buňkách, zatímco na buňkách některých karcinomů mléčné žlázy je exprimován velmi silně; adhezivní molekula zdravých epiteliálních buněk EPCAM se ve velkých množstvích nachází na metastázách karcinomů.

Mezi antigeny asociované s nádory se řadí i některé tzv. diferenciační antigeny leukemických buněk, které jsou přítomny na určitých typech normálních leukocytů, ale daleko více je jich na leukemických buňkách z nich odvozených. Nejznámější z nich je povrchový antigen akutních lymfoblastických leukemií CALLA (common acute lymphoblastoid leukaemia antigen; CD10) nebo povrchové proteiny normálních i maligních B lymfocytů CD19 a CD20. U této kategorie nádorových antigenů je ovšem potíž v tom, že jakožto komponenty normálních buněk jsou pro imunitní systém „neviditelné" – jsou však potenciálně zajímavé jako diagnostické markery a hlavně jako potenciální cíle moderních imunoterapií.

VZTAH NÁDORŮ A IMUNITNÍHO SYSTÉMU

Experimentální poznatky i klinická pozorování vedly koncem 50. let 20. století k formulaci hypotézy o protinádorovém imunitním dohledu.[3] Ta předpokládala, že imunitní systém deteguje a odstraňuje nádorové a jiné abnormální buňky vznikající průběžně v organismu. Teprve když tento systém dozoru z nějakého důvodu selže, nádorová buňka mu unikne a vznikající nádor začne organismus ohrožovat. V souladu s touto hypotézou bylo pozorováno, že u pacientů s některými imunodeficiencemi bývá velmi výrazně zvýšeno hlavně riziko nádorů vyvolaných viry. Nicméně o všeobecné platnosti této hypotézy se až donedávna pochybovalo – ačkoli pro ni svědčila řada experimentálních výsledků, dlouho neexistovaly přesvědčivé důkazy, že imunitní systém opravdu kontroluje i lidské spontánní nádory, jejichž vznik nijak nesouvisí s onkogenními viry.

V poslední době je všeobecně přijímaná rozšířená modifikace této hypotézy označovaná jako *imunitní editace* nádorů.[4] Podle ní má vývoj nádoru tři fáze – *eliminace, rovnováha* a *únik* (anglicky „3 E – elimination, equilibrium, escape"). V první fázi imunitní systém rozpozná a ničí nádorové buňky. Důležitou podmínkou pro aktivaci eliminačních imunitních protinádorových mechanismů je, aby nádorové buňky hynuly tzv. imununogenní buněčnou smrtí. K tomu dochází, pokud se např. nacházejí v hypoxickém prostředí, nebo pokud jsou stresovány nahromaděním nesprávně syntetizovaných bílkovin. Na povrchu takové umírající buňky se pak objevují molekuly, které imunitní systém (hlavně dendritické buňky) vnímá jako signály nebezpečí a reaguje na ně aktivací. Souhrnně se označují jako DAMPs (danger associated molecular patterns) a patří mezi ně například tzv. proteiny teplotního šoku (HSP70 a HSP90), nebo protein kalretikulin, normálně přítomný v endoplazmatickém retikulu. Z těchto umírajících buněk jsou ale uvolňovány i rozpustné aktivační DAMPs, jako ATP nebo kyselina močová.

Důsledkem genetické nestability nádorových buněk je vznik mnoha mutačních variant včetně těch, kterým chybí příslušný nádorový antigen. Ty pak imunitní systém nedokáže dostatečně rychle eliminovat a nastává druhá fáze procesu imunitní editace – *rovnováha***.** V této fázi imunitní systém sice ještě dokáže kontrolovat růst nádoru, ale nedokáže jej zcela eliminovat. Tato fáze někdy odpovídá tomu, co se klinicky označuje jako preneoplastické onemocnění, které ve velké většině případů zůstává neodhalené a může trvat i mnoho let. V některých případech ale dojde k dalším genetickým změnám v některých nádorových buňkách, které jim přinesou růstovou výhodu nebo zvýší odolnost vůči imunitní kontrole, nebo je imunitní systém oslaben (např. vlivem stárnutí nebo některých nemocí). Potom mohou nádorové buňky imunitní kontrole zcela uniknout a začít se nekontrolovaně množit, unikat z primárního nádoru a vytvářet metastázy (třetí fáze – *únik*).

IMUNITNÍ PROTINÁDOROVÉ MECHANISMY

Výsledkem úspěšného rozpoznání kombinace nádorového antigenu a stimulačních molekul DAMP může být aktivace řady standardních imunitních mechanismů – zvláště cytotoxických a prozánětlivých T lymfocytů (Tc resp. Th1) ale někdy také produkce protilátek rozeznávajících abnormální nádorové antigeny. Tc atakují rozpoznané nádorové buňky jednak přes apoptotický receptor Fas (jeho ligand FasL je přítomen na povrchu aktivovaných Tc), jednak uvolněním perforinu a granzymu B z cytoplazmatických granulí. Molekuly perforinu permeabilizují membránu

napadené buňky a umožní tak vstup granzymu B, který proteolyticky aktivuje sebevražednou apoptotickou kaskádu. Buňky Th1 produkují prozánětlivé cytokiny (hlavně IFN-γ) a stimulují makrofágy typu M1, které mohou fagocytovat nádorové buňky a napadat je oxidačními látkami. Protilátky opsonizují nádorové buňky, které následně mohou být likvidovány fagocyty a komplementovým systémem. Důležitou roli hrají NK buňky („přirození zabíječi"), které vyhledávají buňky, které mají na svém povrchu abnormálně málo MHC proteinů (typické pro mnohé nádorové a viry infikované buňky), a zabíjejí je pomocí podobných mechanismů jako Tc. Pokud tyto procesy správně fungují, imunitní systém průběžně eliminuje abnormální nádorové buňky.

MECHANISMY OBRANY NÁDOROVÝCH BUNĚK PROTI IMUNITNÍMU SYSTÉMU

Nádorové buňky jsou až příliš podobné normálním buňkám, takže imunitní systém je jako vadné a potenciálně nebezpečné často jen obtížně rozpozná. Další účinnou obranou proti imunitnímu systému je výše zmíněný únik pomocí mutačních variant, kterým chybí nádorové antigeny, proti kterým již úspěšně započala imunitní odpověď. Nádorové buňky se ale brání i aktivně – produkují látky tlumící aktivitu klíčových buněk imunitního systému, T lymfocytů. Jsou to jednak cytokiny IL-10 a TGF-β, ale také povrchové molekuly, jako inhibiční protein PD-L1. Tyto molekuly se váží na příslušné receptory na povrchu T lymfocytů, které na povrchu nádorových buněk rozeznaly nádorový antigen, a potlačují jejich aktivaci. Nádor je často dokonce i v konečné fázi úniku sice silně infiltrován různými buňkami imunitního systému (hlavně T lymfocyty a makrofágy), ale tyto buňky jsou funkčně umlčeny, či dokonce růst nádoru aktivně podporují. V tomto směru se nepříznivě uplatňují především regulační T lymfocyty (Treg)[5], které chrání nádory podobně jako normální tkáně před (auto) imunitními mechanismy především tak, že tlumí aktivaci ostatních T lymfocytů. Podobnou inhibiční funkci mají také tzv. myeloidní supresorové buňky[6] a mezenchymové stromální buňky[7].

Nádory chrání a podporují paradoxně i tzv. M2 makrofágy.[8] Ty jsou fyziologicky důležité pro hojení ran a zotavování tkání poškozených zánětem. Podporují také tvorbu nových cév (angiogenezi), což je ovšem pro rostoucí nádor životně důležité. Nádor je tedy mylně považován některými komponentami imunitního systému za jakousi hojící se ránu, která zasluhuje pomoc.

MOŽNOSTI IMUNOTERAPIE NÁDORŮ[9]

Prozatím jako nejúspěšnější se jeví použití monoklonálních protilátek. Ty mohou buď přímo vyvolávat apoptózu, nebo opsonizovat nádorové buňky a indukovat tak jejich ničení fagocyty, NK-buňkami či komplementem.

Jiné protilátky (často nazývané „checkpoint inhibitors") mohou blokovat interakce mezi tlumivými receptory na povrchu T lymfocytů (doposud v klinické praxi hlavně PD-1 a CTLA-4) a jejich ligandy na nádorových nebo antigen prezentujících buňkách.[10] T lymfocyty se tak „odblokují" a mohou plně uplatnit svůj protinádorový potenciál. Nepřekvapuje, že potlačení těchto tlumivých imunitních mechanismů vede u některých pacientů k nepříznivým nežádoucím autoimunitním účinkům (autoimunitní reakce, šokové stavy způsobené náhlým uvolněním velkého množství prozánětlivých cytokinů). Probíhá množství klinických studií zaměřených na celou řadu dalších tlumivých receptorů T lymfocytů (LAG-3, BTLA, VISTA, TIM-3, CD160, TIGIT).[11]

Další možností je použití agonistických monoklonálních protilátek vážících se na aktivační receptory T lymfocytů (např. CD28, CD134, CD137, CD152), které stimulují T lymfocyty k intenzivnějším odpovědím, množení a prodlužují jejich životnost.[12] Lákavou možností je vhodně kombinovat tyto agonistické protilátky s „checkpoint inhibitors".

Monoklonální protilátky mohou být také konjugovány s toxiny, radioizotopy a cytostatiky. Tyto preparáty (imunotoxiny, radioimunotoxiny) dopraví cytotoxické látky cíleně do nádoru, takže je možno používat i látky, které jsou při systémovém necíleném podání nepřijatelně toxické.[13]

Dalším velmi nadějným postupem je použití umělých bispecifických protilátkových konstruktů, u nichž jedno vazebné místo rozeznává nádorový antigen a druhé se váže na některou aktivační molekulu na povrchu T lymfocytů nebo NK buněk (např. molekuly CD3, CD2, CD16).[14] Takové konstrukty způsobí těsný kontakt mezi nádorovými buňkami a prakticky jakýmikoli T lymfocyty, bez ohledu na jejich vlastní specifitu. Takto uměle navozený těsný kontakt navodí „nespecifickou" aktivaci T lymfocytů a likvidaci nádorových buněk. Pro klinické použití byl zatím schválen bispecifický protilátkový konstrukt blinatumomab,[15] který je jedním koncem namířen proti povrchovému proteinu buněk akutních lymfoblastoidních leukemií CD19 (ale i všech normálních B lymfocytů) a druhým proti povrchové molekule T lymfocytů CD3, signalizační komponentě T receptorového komplexu.

Velmi zajímavé a překvapivé je zjištění, že některé druhy střevních komensálních bakterií výrazně zlepšují účinnost moderních imunoterapií založených na blokování inhibičních receptorů CTLA-4 a PD1.[16,17] Je tedy možné, že doposud neobjasněné rozdíly v odpovídavosti pacientů na tuto léčbu mohou být částečně způsobeny rozdíly ve střevní flóře (způsobené třeba antibiotiky).

Ve veřejnosti panuje mínění, že dosavadní hlavní protinádorové léčebné metody (chemoterapie a radioterapie) ničí imunitní systém. Ve skutečnosti některé varianty těchto metod (např. chemoterapeutika jako imatinib mesylát, cyklofosfamid, antracykliny, 5-fluorouracil)[18,19] vedou k výše zmíněné imunogenní smrti nádorových buněk a povzbuzení imunitních reakcí proti nim. Zdá se, že většina pozorovaných léčebných účinků těchto metod je dokonce možná založena právě na těchto sekundárních efektech. Kombinace těchto postupů s moderními „checkpointovými" přístupy se proto jeví jako velmi nadějné.

Do určité míry podobný je přístup založený na T lymfocytech, popř. NK buňkách geneticky modifikovaných tak, aby na svém povrchu exprimovaly „chimerické antigenní receptory" (CAR) rozeznávající vhodné nádorové antigeny.[20,21] Výsledkem je tedy velká populace buněk, které jsou specifickým rozpoznáním nádorové buňky aktivovány a zabijí ji. T lymfocyty vybavené CAR receptorem rozeznávajícím povrchový protein akutních lymfoblastoidních leukemií CD19 byly úspěšně použity k dosavadní léčbě rezistentních případů leukemického onemocnění. Nežádoucím, až fatálním účinkem těchto velmi razantních geneticky modifikovaných CAR buněk může být šoková reakce (tzv. cytokinová bouře) způsobená aktivací velkého

množství buněk provázená masivním uvolněním prozánětlivých cytokinů. Proto se nyní zdokonalují metody, jak tyto přehnaně intenzivní reakce zmírnit a přitom zachovat léčebnou účinnost.

Dalším potenciálně nadějným přístupem je využití tzv. onkolytických virů.[22] Řada virů přednostně infikuje nádorové buňky, navozuje u nich imunogenní buněčnou smrt a tím aktivuje protinádorovou imunitu. Probíhající experimentální studie se soustřeďují zvláště na geneticky modifikované kmeny některých reovirů, adenovirů, herpetických virů, viry spalniček a vakcinie.

Naděje jsou vkládány také do různých typů protinádorových vakcín.[23,24] Jedna možnost spočívá v podávání definovaných nádorových antigenů buď ve formě jejich peptidových fragmentů, nebo expresních DNA konstruktů kódujících tyto antigeny. Jinou, pravděpodobně perspektivnější možností jsou buněčné vakcíny založené na dendritických buňkách. Z krevních monocytů pacienta je možno působením směsi vhodných cytokinů připravit velká množství „zralých" dendritických buněk, ty kultivovat s lyzátem nádorových buněk a aplikovat je pacientovi. Takovéto optimalizované buňky prezentující antigen by pak měly stimulovat jeho T lymfocyty k protinádorové odpovědi. Řada klinických studií tohoto typu, hlavně u pacientů s melanomem, karcinomem prostaty, ovarií a ledvin, je v pokročilých stadiích testování.

LITERATURA

1. Coley WB. The Treatment of inoperable sarcoma by bacterial toxins (the mixed toxins of the Streptococcus erysipelas and the Bacillus prodigiosus). Proc R Soc Med 1910;3:1–48.
2. Ilyas S, Yang JC. Landscape of tumor antigens in T cell immunotherapy. J Immunol. 2015;195:5117–5122.
3. Ribatti D. The concept of immune surveillance against tumors. The first theories. Oncotarget 2017;8:7175–7180.
4. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. Annu Rev Immunol 2004;22:329–360.
5. Nishikawa H, Sakaguchi S. Regulatory T cells in cancer immunotherapy. Curr Opin Immunol. 2014;27:1–7.
6. Condamine T, Ramachandran I, Youn JI, et al. Regulation of tumor metastasis by myeloid-derived suppressor cells. Annu Rev Med 2015;66:97–110.
7. Poggi A, Musso A, Dapino I, et al. Mechanisms of tumor escape from immune system: role of mesenchymal stromal cells. Immunol Lett 2014;159:55–72.
8. Chanmee T, Ontong P, Konno K, et al. Tumor-associated macrophages as major players in the tumor microenvironment. Cancers (Basel) 2014;6:1670–1690.
9. Lizée G, Overwijk WW, Radvanyi L, et al. Harnessing the power of the immune system to target cancer. Annu Rev Med 2013;64:71–90.
10. De Sousa Linhares A, Leitner J, Grabmeier-Pfistershammer K, et al. Not all immune checkpoints are created equal. Front Immunol 2018;9.
11. Dempke WCM, Fenchel K, Uciechowski P, et al. Second- and third-generation drugs for immuno-oncology treatment-The more the better? Eur J Cancer 2017;74:55–72.
12. Vonderheide RH, Glennie MJ. Agonistic CD40 antibodies and cancer therapy. Clin Cancer Res 2013;19:1035–1043.
13. Zahaf NI, Schmidt G. Bacterial toxins for cancer therapy. Toxins (Basel) 2017;9.
14. Kontermann RE, Brinkmann U. Bispecific antibodies. Drug Discov Today 2015;20:838–847.
15. Viardot A, Bargou R. Bispecific antibodies in haematological malignancies. Cancer Treat Rev 2018;65:87–95.
16. Iida N, Dzutsev A, Stewart CA, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment. Science 2013;342:967–970.
17. Vétizou M, Pitt JM, Daillère R, et. al. Anticancer immunotherapy by CTLA-4 blockade relies on the gut microbiota. Science 2015;350:1079–1084.
18. Inoue H, Tani K. Multimodal immunogenic cancer cell death as a consequence of anticancer cytotoxic treatments. Cell Death Differ 2014;21:39–49.
19. Pol J, Vacchelli E, Aranda F, et al. Trial Watch: Immunogenic cell death inducers for anticancer chemotherapy. Oncoimmunology 2015;4:e1008866.
20. Knochelmann HM, Smith AS, Dwyer CJ, et al. CAR T cells in solid tumors: blueprints for building effective therapies. Front Immunol 2018;9:1740.
21. Maldini CR, Ellis GI, Riley JL. CAR T cells for infection, autoimmunity and allotransplantation. Nat Rev Immunol 2018;18:605–616.
22. Kaufman HL, Kohlhapp FJ, Zloza A. Oncolytic viruses: a new class of immunotherapy drugs. Nat Rev Drug Discov 2015;14:642–662.
23. Santos PM, Butterfield LH. Dendritic cell-based cancer vaccines. J Immunol. 2018;200:443–449.
24. Terbuch A, Lopez J. Next generation cancer vaccines-make it personal! Vaccines (Basel) 2018;6.