

Therapeutic importance, general and endocrine adverse effects of immune checkpoint inhibitors I: mechanism of action and therapeutic use

Imre Zoltán Kun¹, Ildikó Kun², Margit Hadnagy³, Melinda Kolcsár⁴

¹University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology "George Emil Palade" of Tirgu Mures, Doctoral School, ²Dentalin Bt., Budapest, ³2nd Pediatric Clinic, Mures County Clinical Hospital, ⁴University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology "George Emil Palade" of Tirgu Mures, Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy

Abstract • The tumor microenvironment has a fundamental role in the escape phenomenon of cancerous cells from the immune surveillance, the immunological protective mechanisms of the host. These cells produce active substances that can bind to and stimulate the inhibitory immune checkpoints (CTLA-4, PD1 etc.) expressed on the cytotoxic T-lymphocytes and other immunocompetent cells, thus inhibiting the immune defense. The immune checkpoint inhibitors (ICIs), introduced in therapeutic use in 2011, are human or humanized monoclonal antibodies (mAbs) that block the immune checkpoints, and thus release the inhibition, restoring the antitumoral immune defense. After the description of their mechanism of action, the clinical applications of anti-CTLA-4 mAbs ipilimumab and tremelimumab, anti-PD1-antibodies nivolumab and pembrolizumab, and the anti-PD-L1-antibodies are presented. The ICIs are used mainly in inoperable and advanced tumors, but this fact is not a rigorous rule, and their therapeutic indications have been and will continue to expand. The next section summarizes new research directions that are also needed, because primary and adaptive resistance to ICIs exists, the latter developing during therapy. In an unselected population, ICIs are therapeutically efficient only in about 20-30% of patients, but these will be long-term survivors. Not rarely the therapeutic effect is preceded by a transient pseudoprogression. Tumors with high mutation burden (melanoma, lung, and bladder cancers) respond much better to ICI therapy, because they produce more neoantigens; this is the case in the "hot" tumors, too, because in these tumor-infiltrating immune cells are markedly present. Their application would require reliable predictive biomarkers, but there are few of them so far, e.g., investigation of PD-L1 expression, and diagnostic tests associated to ICIs. This first part of the review ends with problems regarding therapy resistance and their possible solutions.

Keywords • immune checkpoint inhibitors, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab

DOI: 10.2478/orvtudert-2022-0010

Bulletin of Medical Sciences 2022, 95(2): 145–166

Introduction

The prognosis for cancer has improved significantly over the last 50 years, but it remains the leading cause of death worldwide. The main reasons for this are the propensity of tumors to recur and metastasize, and the microenvironment - factors that are only slightly within our control. The therapeutic resistance of a tumor may be present from the outset or may develop during treatment [1]. One reason for acquired resistance is the extreme plasticity of tumor cells, mainly due to their phenotypic variability

Corresponding author

Kun Imre Zoltán

University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology
"George Emil Palade" of Tirgu Mures, Doctoral School

Postal address

540095 Tirgu Mures

Pictor Nicolae Grigorescu Street No. 29/8

Romania

Email: kunimre@gmail.com

[2], and another is that the microenvironment surrounding tumor cells may provide a protective nest for them, preventing conventional treatments from being effective [1]. It is therefore understandable that research into these factors has been highly valued in recent years.

The *tumor microenvironment* (TME), i.e. the tumor *stroma*, includes non-cancerous components in the vicinity of tumor cells, such as fibroblasts, macrophages, lymphocytes, tumor-associated neutrophil granulocytes (TAN) [3]; myeloid-derived suppressor cells (MDSCs), the extracellular matrix (ECM), and blood vessels composed of endothelial cells and pericytes [1]. Upon stimulation, these tumor-associated stromal cells are capable of local expansion. The most numerous of these are cancer-associated *fibroblasts* (CAFs), but also important are tumor-associated *macrophages* (TAMs), which, together with other immunocompetent T-cells of the TME, regulate tumor-associated inflammation. In addition, there may be other components of the TME. For example, breast cancer cells secrete mesenchymal-like granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (*GM-CSF*), which activates TAMs and triggers their CC-chemokine ligand 18 (CCL18) to induce epithelial-mesenchymal transdifferentiation of cancer cells, promoting breast cancer metastasis. Among the non-cellular components, indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) should also be mentioned, which promotes pathological immune processes, inhibits T and NK cell function, stimulates the activation and proliferation of *regulatory T-cells* (Tregs) and MDSCs, among others [4].

The *cytotoxic T lymphocytes* infiltrating the tumor dominate the *anti-tumor* immune response, while regulatory *T-cells* and myeloid-derived suppressor cells cause tumor *immunosuppression*.

The cancer cell-derived vasculo-endothelial growth factor (*VEGFA*) causes *endothelial cells* of nearby blood vessels to invade the ECM, creating neovascularization that provides blood supply to the growing tumor tissue. Platelet-derived growth factor-beta (*PDGF-beta*) recruits *pericytes* to form tumor-supplying blood vessels, and pericytes promote endothelial cell survival to maintain stabilization of microvascularization. In addition to these, stromal cells also produce a variety of ECM proteins such as collagens, fibronectins, laminins that physically support cancer cells, and con-

centrate *growth factors* and *matrix metalloproteinases* that promote ECM remodeling. In this way, stromal cells co-develop with cancer cells, synergistically promoting their evolution [1,3].

The tumor therefore evades the immune system (*cancer immunoediting*), in the development of which, in addition to the aforementioned *immune-tolerant microenvironment*, several other mechanisms are also thought to be involved, such as the disruption of antigen presentation (e.g. loss of MHC1 expression at the tumor cell surface, disruption of antigen transport to the cell surface), *upregulation of immune checkpoints* in the tumor, proliferation-promoting oncogenic signaling pathways - all of which contribute to *immune escape*.

It can be deduced from the above that the host's immunological defense can be enhanced by *restoring the anti-tumor immune response* of the inhibited *cytotoxic T-lymphocytes* and by *reducing* active tumor *immunosuppression* (Treg, MDSCs), but there are other therapeutic options (e.g. influencing macrophages - TAM, and fibroblasts - CAF), which are not the subject of this work.

Immune checkpoint inhibitors (ICIs), which work by restoring the immune response through unblocking tumor-induced T-cell suppression, have proven to be one of the most effective anti-cancer immunotherapies. Their importance is perhaps only matched by the therapeutic use of genetically engineered chimeric antigen receptor expressing T-cells (CAR-T). As a confirmation of the importance and relevance of ICIs, the 2018 Nobel Prize for Physiology or Medicine was awarded to James P. Allison of the US and Honzso Tazsuku of Japan for their discovery of a cancer therapy based on the suspension of inhibitory immune regulation [5]. In the early 1990s, Allison, by studying cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 (CTLA-4), recognized its immunosuppressive nature, and that blocking it unlocks the immune system's ability to attack and destroy tumor cells. At the same time as Allison, Tazsuku discovered a new protein on immune cells, programmed cell death protein-1 (PD-1), which is also inhibitory and its inhibition can also be suspended, with a similar purpose [6]. Clinical trials have shown that the use of ICIs is very promising, with efficacy in some diseases, such as melanoma and non-small cell lung cancer (NSCLC), outperforming both conventional chemotherapy and targeted therapy [7,8].

Mechanism of action of immune checkpoint inhibitors

Like all living cells, tumor cells are designed to survive. Thus, they “organize” their self-defense against the host’s defense mechanisms by producing substances such as interleukin-10 (IL-10), tumor growth factor-beta (TGF-beta), programmed cell death protein 1 and 2 ligands (PD-1,2-L) and many others [9], which paralyze the immune defense. These substances bind to immune checkpoints and inhibit the function of T lymphocytes and other immunocompetent T-cells.

Immune checkpoints are small protein molecules (receptors) located mainly on the surface of *T-lymphocytes* (and other immunocompetent T-cells), which play a fundamental role in regulating the immune response (both stimulation and inhibition) and in maintaining tolerance to self cells. Some enhance the activity of T-lymphocytes (and other immunocompetent T-cells) (e.g., CD28, ICOS, CD137, OX40, CD27), while others cause their inhibition - such as *cytotoxic T-lymphocyte antigen 4* (CTLA-4) and *programmed cell death protein 1* (PD-1) [10].

In addition to the coupling of the TCR (T-cell receptor), the antigen and the MHC (major histocompatibility complex), a second signal, a *costimulation*, is required for T-cell activation: the *binding of the B7 protein to the CD28 receptor*. B7 is delivered by antigen-presenting cells (APCs) (**Figure 1**). APCs (also known as dendritic cells) take up antigens from tumors and present them to T-cells in lymph nodes. The outcome of the APC–T-cell interaction, i.e., activation or inhibition, is determined by the ratio of stimulating CD28-B7 to inhibiting CTLA-4-B7 interactions. Upon activation (which in fortunate cases occurs at the onset of tumor formation), T-cells leave the lymph node and enter the tumor tissue via the circulation, where they recognize tumor cells and transform into tumor-specific effector and memory T-cells, and then destroy the tumor in cooperation with other immune cells and the concomitant humoral immune response [11–13].

Following T-cell activation, interleukin-2 (IL-2) production, clonal expansion are increased, and the effector function is initiated. T-cell activation initially induces CTLA-4 expression, which then competes with CD28

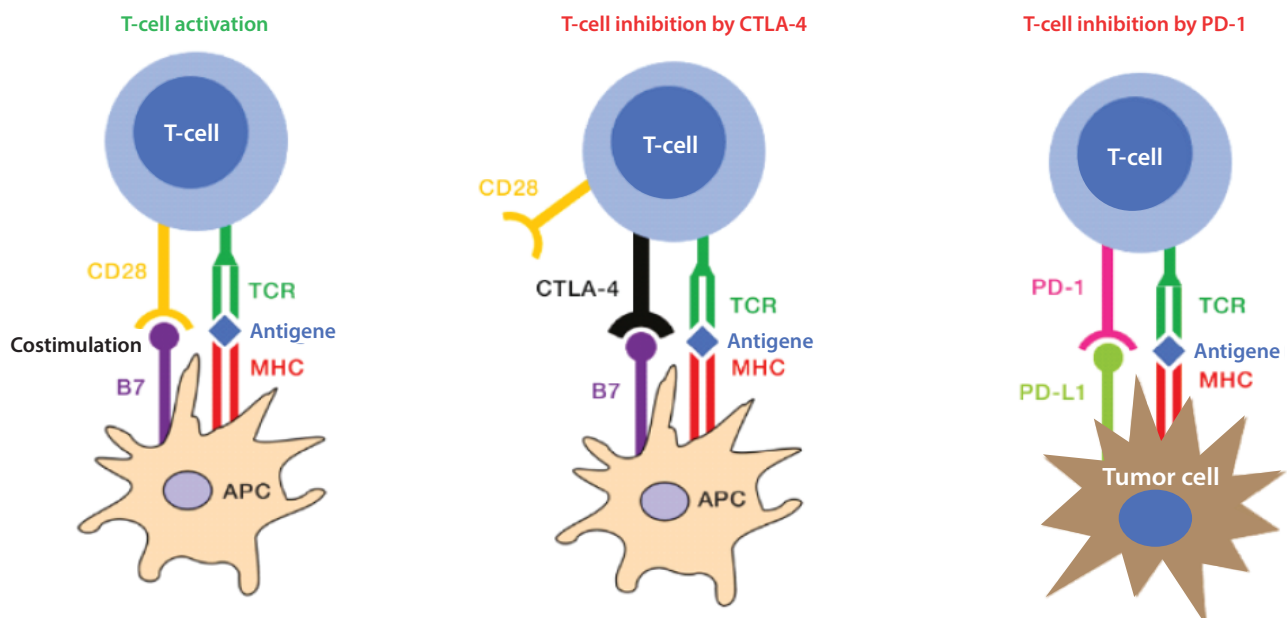


Figure 1. T-cell activation and inhibition (via CTLA-4 and PD-1, respectively) TCR: T-cell receptor; MHC: major histocompatibility complex; APC: antigen-presenting cell; CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte antigen 4; PD-1: programmed cell death protein-1; PD-L1: programmed cell death ligand-1. (Figure source: [13], with written permission of the author).

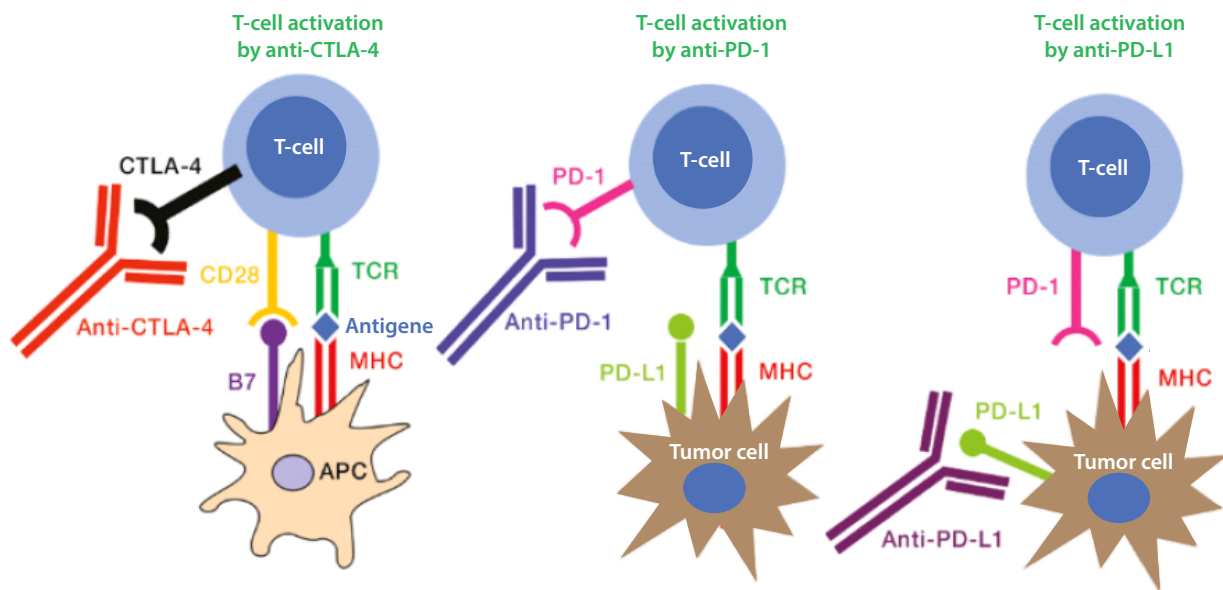


Figure 2. T-cell activation using anti-CTLA-4, anti-PD-1 and anti-PD-L1 monoclonal antibodies. TCR: T-cell receptor; MHC: major histocompatibility complex; APC: antigen-presenting cell; CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte antigen 4; PD-1: programmed cell death protein-1; PD-L1: programmed cell death ligand-1. Inhibition of T-cell signaling by antibodies results in T-cell activation (Figure source: [13], with written permission of the author).

and binds B7 protein with higher affinity. This new interaction *abolishes* T-cell activation, thus ensuring that an excessive immune response is avoided, achieving immune balance. The *inhibitory effect of CTLA-4* appears to depend on the presence and availability of its ligands, CD80 (B7-1) and CD86 (B7-2) [10].

CTLA-4 is located on effector T-cells as well as on Treg cells. By *blocking it*, the initial ‘priming’ phase of the immune system is stimulated in lymphoid tissues, so that the activation and proliferation rate of effector T-cells is increased regardless of TCR specificity, while the inhibitory effect of Treg cells on the T-cell response is reduced. Thus, the number of peripheral T-cells and the diversity of the T-cell pool increases [14].

PD-1 receptors are expressed on the surface of activated T- and B-lymphocytes and monocytes; they belong to the superfamily of immunoglobulins. The *ligands of PD-1* (PD-L1 and PD-L2) are present on the surface of antigen-presenting cells, but also on the surface of some non-lymphoid cells, such as Langerhans beta cells, thyrocytes, endothelial cells, cardiomyocytes, and cancer cells [10]. Thus, PD-L1/PD-L2 is responsible for the inhibition of excessive T-cell activation in peripheral tissues and

tumor tissues, and thus for the development and maintenance of immune tolerance [3] (Figure 1) The binding of PD-L1 on tumor cells to PD-1 on T-lymphocytes blocks the function and proliferation of these lymphocytes, stopping the antitumor immune defense, while the binding of PD-L2 to PD-1 reduces the production of pro-inflammatory cytokines (IL-2, interferon gamma) [10].

In summary, the products of cancer cells, by binding to these inhibitory receptors (CTLA-4, PD-1), are able to enhance their expression or effects, thus suspending the immune response that inhibits cancer cells, promoting tolerance to tumor cells.

By generating *monoclonal antibodies* (mAbs), such as *anti-CTLA-4*, *anti-PD1*, *anti-PD-L-1*, against inhibitory receptors we can switch off cancer cell-induced immunosuppression, restoring natural immunity to destroy tumor cells (Figure 2). Thus, for example, the *anti-CTLA-4* mAb ipilimumab, by binding to CTLA-4, inhibits the binding of B7 to it, resulting in upregulation of T-cell activity. The *anti-PD-1* (pembrolizumab, nivolumab) and *anti-PD-L1* (atezolizumab, avelumab, durvalumab) antibodies block the binding of PD-1 to PD-L1 and PD-L2, respectively, allowing immunocompetent T-cells to escape inhibition

and destroy tumor cells [10]. Anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibodies act in the later, so-called “effector” phase of the immune response [3]. Therapy can be refined by using an antibody that specifically blocks PD-L1, thus preserving the link between PD-1 and PD-L2, which maintains tolerance to self structures. An additional advantage of the PD-L1 blockade is that, since PD-L1 can also bind to CD80, blocking it also reduces T-cell inhibition mediated by the PD-L1-CD80 link [15].

Blockade of the two immune checkpoints described in detail results in different, non-overlapping changes in gene expression and function, primarily on T-cells [34]. The CTLA-4 blockade predominantly stimulates proliferation of transient memory T-cells, whereas the PD-1 blockade affects genes regulating T-cell-mediated cytotoxicity and NK cell function [3].

It has been repeatedly emphasized that immune checkpoints also play an important role in ensuring the balance of natural immune responses, such as *maintaining peripheral tolerance* to self-cells, including the prevention of autoimmune diseases. The latter occur when immune processes are triggered against the body’s own organs and tissues due to excessive, abnormal immune function. By stimulating these processes, ICIs can induce or exacerbate *autoimmune diseases*, which is the basis of their major side effects [10]. Treg cells in the periphery constitutively express high levels of CTLA-4 [16]. In such a high concentration CTLA-4 environment, T-cell activation becomes almost impossible, leading to an anergic state of T-cells and a decrease in B7 protein on the surface of APCs [17] (Figure 1).

It has also been mentioned that CTLA-4 inhibits the immune response in the initial phase of T-cell activation in lymphoid tissues, whereas the PD-1 checkpoint is responsible for inhibiting T-cells (via the PD-1-PD-L1 and PD-1-PD-L2 axes) in the later, “effector” phase of the immune response in lymphocyte-infiltrated peripheral tissues.

Immune checkpoint inhibitors belong to different IgG subclasses. Those belonging to the *IgG1 class* (ipilimumab, durvalumab, atezolizumab, avelumab) induce antibody-dependent-T-cell-mediated cytotoxicity (ADCC) and activate the classical complement system. Members of the *IgG4 subgroup* (nivolumab, pembrolizumab) activate ADCC less and do not stimulate the complement system. Except for this, the exact mechanism of autoimmune side effects is not known [10]. One of the great advantages of ICI therapy is its ability to induce and enhance the antitu-

mor immune response not only in highly immunogenic tumors (melanoma, renal cell carcinoma) but also in many less immunogenic types (e.g., ovarian cancer) [19].

Clinical use

Immune checkpoint inhibitors are recombinant human or humanized monoclonal antibodies that enhance T-cell-mediated immune responses by blocking T-cell inhibitory signals (Figure 2). Their therapeutic use started in 2011.

The **CTLA-4 inhibitor ipilimumab** was the first ICI to be registered by the FDA (US Food and Drug Administration) in metastatic melanoma and approved by the EMA (European Medicines Agency) [3,13] (Table 1). Currently available in Europe for adults with advanced melanoma, its efficacy on overall survival (OS) has been demonstrated in a phase III trial (MDX010-20). In the study, which included 676 patients, ipilimumab monotherapy provided a significant survival benefit over control gp100 monotherapy, with 1-year OS of 45.6% on the ipilimumab arm compared to 25.3% on the gp100 arm, and 23.5% at 2 years vs. 16.7%, and 24.5% vs. 10.0% at 3 years [20]. Its use has recently increased (Table 1), and is often associated with nivolumab [21].

The other anti-CTLA-4 mAb, **tremelimumab**, is an orphan drug that was approved by the FDA a few years ago for malignant mesothelioma. More recently, it has been shown to be effective in combination with durvalumab in inoperable and advanced liver cancer, gaining FDA approval for this purpose in 2020 [22-24] (Table 1).

The indications for the **PD-1 blocker nivolumab** and **pembrolizumab** have exploded in a few years [25], as shown in Table 1.

Nivolumab was also initially used to treat *melanoma*. It was first approved by the FDA in late 2014 for inoperable or metastatic melanoma that has progressed after treatment with ipilimumab or a BRAF inhibitor (BRAFV600 mutation). It is now approved for a number of other cancers, including *squamous cell carcinoma of the head and neck, small cell and non-small cell lung cancer, pleural mesothelioma, and classical Hodgkin’s lymphoma, renal cell and urothelial cell cancers, gastrointestinal cancers (esophageal, gastric, hepatic and colorectal cancers), microsatellite unstable or DNA repair protein deficient (MSI-H/dMMR) solid tumors* [13,21,26].

Table 1. Immune checkpoint inhibitors authorized in Europe and the USA (*based on data from 3, 10, 26, modified*)

Medicine	Mechanism of action	FDA approval	FDA indication	EMA approval	EMA indication
Ipilimumab	anti-CTLA-4	2011- 2020	melanoma, NSCLC, RCC, MSI-H/dMMR colorectal cancer, PM	2011- 2020	melanoma, NSCLC, RCC, MSI-H/dMMR colorectal cancer, PM
Tremelimumab	anti-CTLA-4	2015- 2020	(orphan drug), PM, liver cancer	2020	liver cancer
Nivolumab	anti-PD-1	2014-2020	melanoma, NSCLC, RCC, cHL, HNSCC, UCC, especially TMB-H tumors, PM, SCLC, esophageal, gastric, liver, MSI-H/dMMR colorectal cancer	2015- 2020	melanoma, NSCLC, RCC, cHL, HNSCC, UCC, PM, esophageal, gastric cancer, MSI-H/dMMR colorectal cancer
Pembrolizumab	anti-PD-1	2014	melanoma, NSCLC, HNSCC, cHL	2015	melanoma, NSCLC
		2017-2020	MSI-H/dMMR colorectal cancer and other solid tumors, esophageal, gastric, liver cancer, UCC, RCC, PMBCL, cervical and endometrial cancer, triple negative breast cancer, TMB-H tumors, CSCC, MCC	2017- 2021	MSI-H/dMMR colorectal cancer, cHL RCC, HNSCC, UCC, endometrial cancer, esophageal cancer, triple negative breast cancer
Atezolizumab	anti-PD-L1	2016	UCC, NSCLC	2017- 2021	UCC, NSCLC
		2016-2021	SCLC, melanoma, liver cancer, triple negative breast cancer		SCLC, liver cancer, triple negative breast cancer
Avelumab	anti-PD-L1	2017	MCC, UCC	2017- 2020	MCC, UCC
		2019	RCC	2020	RCC
Durvalumab	anti-PD-L1	2017	UCC	2018	NSCLC
		2018	NSCLC		
		2020	ES-SCLC, liver cancer	2020	ES-SCLC

PD-1: programmed cell death protein 1; PD-L1: programmed cell death ligand 1; CTLA-4: cytotoxic T-lymphocyte antigen 4; FDA: Food and Drug Administration; EMA: European Medicines Agency; RCC: renal cell carcinoma; HNSCC: Squamous cell carcinoma of the head and neck; SCLC: small cell lung cancer; ES-SCLC: extensive-stage small cell lung cancer; NSCLC: non-small cell lung cancer; cHL: classical Hodgkin's lymphoma; UCC: urothelial cell carcinoma; MCC: Merkel-cell carcinoma; CSCC: squamous cell skin cancer; MSI-H/dMMR: microsatellite instability-high (MSI-H) or mismatch repair-deficient (dMMR) solid tumors; TMB-H: tumor mutation burden-high tumors; PMBCL: primary mediastinal large B-cell lymphoma; PM: pleural mesothelioma.

Pembrolizumab was already approved by the FDA in 2014 for the treatment of *inoperable or metastatic melanoma, non-small cell lung cancer, squamous cell carcinoma of the head and neck and classical Hodgkin's lymphoma*. In May 2017, it was fast-tracked for inoperable or metastatic *microsatellite unstable or DNA repair protein-deficient solid tumors*, including *colorectal cancers*, in both children and adults, in the event of ineffectiveness of prior therapy. This was the first approval independent of the histological type and site of origin of the tumor [27]. In contrast to previous approvals based on tissue

subtype, *this* is the first approval based on molecular profile [27,28]. Pembrolizumab can be used in *esophageal, gastric, and liver cancers, urothelial* (including the BCG non-responders) and *renal cell carcinomas, cervical and endometrial cancers, squamous cell skin cancer and Merkel-cell carcinoma (MCC)*, a rare but very aggressive skin cancer [29]. It is also indicated in *primary mediastinal large B-cell lymphoma* and more recently has been used to treat *triple negative breast cancer*. It is conditionally approved by the FDA for the treatment of advanced, unresectable *tumors* with high mutation burden (*TMB-*

H: tumor mutation burden-high), if they do not respond to other therapies. Approval is conditional on clinical utility in these cases [26,30,31].

The newer PD-1 inhibitor, **cemiplimab**, was registered in autumn 2018 for the treatment of metastatic or locally advanced squamous cell carcinoma for which curative surgery or radiotherapy is not an option [26,32].

PD-L1 blockers are a new subgroup of immune checkpoint inhibitors; they include *atezolizumab*, *avelumab* and *durvalumab*. **Atezolizumab** can be used in advanced or resistant to cisplatin treatment *bladder cancer*, metastatic *non-small cell lung cancer* [3], more recently in *small cell lung cancer*, *melanoma*, *liver cancer* and, as of March 2019, *triple negative breast cancer* [13,26,33–35].

Avelumab can be used in advanced platinum-resistant *urothelial carcinoma*, *renal cell carcinoma* and *metastatic MCC*, and **durvalumab** in platinum-resistant advanced *urothelial cancer*, *non-small cell lung cancer* and *advanced small cell lung cancer* [24,26,29,36–42].

ICIs of the anti-CTLA-4 group are often **combined** with anti-PD-1 or anti-PD-L1 antibodies. The combination of *ipilimumab plus nivolumab* is used in unresectable or metastatic melanoma, renal cell carcinoma and MSI-H/dMMR metastatic colorectal cancer that has progressed on previous treatment [43–45]. As mentioned above, *tremelimumab plus durvalumab* in advanced and unresectable liver cancer has been newly approved in USA, significantly increasing survival in this difficult-to-treat and poor prognosis disease [22,23,46].

In the near future, an expansion of the indications for existing drugs is also expected [3,13]. The indications for ICIs and the FDA and EMA approvals are summarized in **Table 1**.

New applications - in certain endocrine tumors

Based on their frequent endocrine side effects - mainly due to autoimmune destructive mechanisms, which will be discussed in a forthcoming review - it was logical to assume that they could be used for therapeutic purposes in some endocrine tumors. This finding is currently in an intensive research phase.

In some forms of *anaplastic* and *poorly differentiated thyroid cancer* (high PD-L1 expression and high mutation burden), *pembrolizumab* is considered. A recent phase II

study has shown that pembrolizumab in combination with lenvatinib, a tyrosine kinase inhibitor (TKI), may be an effective and safe treatment for metastatic anaplastic and poorly differentiated thyroid cancer; modest but significant improvement in this disease with a very poor prognosis has been observed [70–72].

Clinical trials for the treatment of *neuroendocrine tumors* are ongoing since 2020. So far, the objective response rates (ORR) have been below 10%, i.e., low, or very modest. There are positive individual case reports, e.g., for certain invasive pituitary tumors refractory to other treatments, with anti-PD-1, and ipilimumab+nivolumab therapies. There are attempts to associate them with VEGF inhibitors, TKIs, platinum-based chemotherapeutic agents, stereotactic irradiation,¹⁷⁷ Lu-DOTATATE [73].

New research directions

ICIs acting at other immune checkpoints (*TIM-3*, *LAG-3*, *TIGIT*) are also under testing.

TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing-3) is an inhibitory receptor expressed on IFN- γ -producing *CD4+* and *CD8+* T-cells, FoxP3+ Treg cells, innate immune cells (macrophages and dendritic cells), inhibiting their response during their interactions with their ligands. Considering that PD-1 blockade can lead to upregulation of TIM-3 and thus to *adaptive resistance* to PD-1 inhibitors or other ICIs, the *inhibition of TIM-3* could be a source of *combination* therapies in the future to overcome this [47].

LAG-3 (lymphocyte-activation gene-3) is another immune checkpoint that inhibits the activation of its host cell and generally enhances the suppressive immune response. For example, at the level of T-cells, LAG-3 reduces the production of cytokines and granzymes (apoptosis-inducing serine proteases released from cytotoxic T-cells and NK cells) and the proliferation of these cells, while promoting the differentiation of T-cells into Treg cells [48]. Preliminary results with blockade of LAG-3 in melanoma and other tumors, especially in *combination with* other ICIs (PD-1 inhibitors) and/or in *ICI-resistant* cases, are very encouraging [49,50]. *Relatlimab*, an anti-LAG3 antibody, in combination with nivolumab increased the response rate of the latter to 43.1% from 32.6% (and even to 50% in PD-L1- and LAG-3-positive

tumors) in patients with therapy-naïve melanoma (RELATIVITY 047 trial). First-line use of the new combination product in metastatic melanoma was approved by the FDA in March 2022 [73].

TIGIT (T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains), also an intensively researched immune checkpoint currently, is found exclusively on lymphocytes, including CD8⁺ T-cells, memory and regulatory CD4⁺ T-cells, follicular CD4⁺ T-cells and NK cells. The ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) domain is located in the intracellular part of the receptor. TIGIT can bind with high affinity to CD155 on macrophages, dendritic cells, and other cells and with lower affinity to CD112. CD155 is also highly expressed in many tumor tissues and stimulates tumor growth and progression. However, its loss not only inhibits tumor growth but also increases their sensitivity to PD-L1 inhibitors in mouse tumor models. However, the high CD155 expression observed in patients with metastatic melanoma is associated with resistance to anti-PD-1 treatment. These findings suggest that the *combined* blockade of TIGIT and PD-L1 shows promise in the treatment of solid tumors [51].

It is also interesting to note that ICIs are being investigated for *other purposes*, including a possible *anti-aging* effect, in animal studies for the time being. It has been found that senescent T-cells expressing PD-L1 are able to evade immune surveillance and proliferate to cause inflammation, which promotes ageing. Anti-PD-1 treatment has been shown to favorably affect these processes and improve the pathology of non-alcoholic steatohepatitis (NASH) in mouse experiments [74].

Therapeutic response

Immunotherapy is one of the biggest breakthroughs in cancer treatment in recent years. It can have a more beneficial, long-lasting effect than conventional treatments, but only in some patients. In an unselected patient population, this is around 20% [13]. The development and time course of the response is different from chemotherapy or targeted therapy. The onset of response is slower than with chemotherapy and is often preceded by a transient progression (*pseudoprogression* in size, number). Instead of an objective response, a long-term, clinically significant stabilization of the disease may develop [52].

In general, the effect of immunotherapy is influ-

enced by immune activity, the number of immune cells circulating and infiltrating the tumor, and the extent of mutations that can be detected in the tumor. Compared to conventional treatments, the survival curve of immunotherapy is characterized by the fact that the line indicating the number of patients alive stops descending after a while and becomes horizontal. Patients for whom immunotherapy is effective become *long-term survivors*. The combination of ICI treatments with each other and with other modalities can further improve outcomes, so the future lies in combination treatments [53].

Immunotherapy can be particularly effective for tumors with a *high mutation rate (high mutation burden)*. The abnormal proteins produced by high mutation rates can partly become neoantigens that enhance the anti-tumor immune response. Among the altered proteins, only those with antigenic properties and MHC-binding ability can become neoantigens [54]. The highest somatic mutation rates have been confirmed in *melanoma, lung, and bladder cancer*. In these tumors, mutational activity is increased mainly by exogenous factors such as UV radiation and smoking [55]. It is no coincidence that the first clinical trials were initiated in these tumors. But there are also tumors (colorectal, endometrial, ovarian, gastric) where damage to the DNA repair system or systems is the primary and predominant factor [56]. *Mutation or inactivation of DNA repair proteins* increases the mutation rate, which increases the amount of neoantigens and thus the activity of the immune system [13].

Predictive biomarkers

ICI treatment is usually given to an unselected patient population. There is a need for reliable, easy-to-use predictive biomarkers to identify those who would benefit most from this treatment [3,13,26]. For PD-1 inhibitors, one of the most reliable predictive biomarkers is currently *PD-L1 expression* in the tumor, which can be detected and measured by immunohistochemistry, and in positive cases, anti-PD-1/anti-PD-L1 treatment is much more effective, based on the results to date [3]. This is characterized by the *CPS* (combined positive score), which is ≥ 1 in the presence of this receptor, and the higher the *CPS*, the better the response. The *TPS* (tumor proportion score), which expresses the PD-L1 expression in %, can also be used. PD-1 and PD-L1 are dynamically variable markers, and their expression is highly dependent on the

local cytokine environment and other factors. Thus, the definition of a positive/negative *threshold* is controversial. But e.g., NSCLC TPS with $\geq 50\%$ PD-L1 expression responded significantly better to pembrolizumab than those with low expression. In new NSCLC this is now routine diagnostics. However, fortunately, it appears that the weaker effect seen in PD-L1-negative tumors can be overcome by the combination of anti-CTLA-4 [3]. It is also important to note that the absence of a biomarker (e.g., PD-L1 expression) should not be a contraindication to recommended immunotherapy based on a clinically sound decision.

In the case of anti-CTLA-4 treatment, we do not have similar predictive biomarkers, so we can only infer the success of therapy from the amount of tumor-specific mutations and neoantigens, absolute lymphocyte counts and LDH levels [57-60].

Other parameters that can help predict therapeutic response include *neutrophil-to-lymphocyte* ratio (NLR), the presence of tumor-infiltrating immune cells and molecules expressed in tumor tissue [57,58,60]. High immunoscore “*hot*” tumors are much more *responsive* to ICI therapy. The increased presence of *tumor-infiltrating immune cells* prior to treatment, i.e., a previous anti-tumor immune response, is a prerequisite for the success of ICI therapy; in its absence - i.e., no immune cell infiltrate - tumors are less responsive. We can now try to address such cases, e.g., by identifying a *triggering mechanism* in the immune system to initially induce an immune response, which can be followed by the administration of ICI. One such approach is the activation of *STING (stimulator of interferon genes)*, which can successfully inhibit PD1 also in “*cold*” tumors [61]. Another possibility is *prior radiotherapy*, which “creates a vaccine” of the patient’s tumor in situ, against which an immune response can be generated [62].

Assessing therapeutic responsiveness before initiating treatment and monitoring it during treatment is so important that, for example, the FDA approves ICI-containing agents for a specific drug product (e.g. Keytruda[®] for pembrolizumab, Opdivo[®] for nivolumab, and Tecentriq[®] for atezolizumab), and at the same time, usually approves ancillary agents that of the manufacturer markets to detect and monitor the effects of the drug. Constant monitoring is essential because it is known that the expression of ICIs (including PD-L1) changes in response to different anticancer treatments (chemo-, radiotherapy, targeted therapies) [63,64]. In particular, it

is important to detect whether the treatment has altered *the mutational burden of the tumor* (if it was low, it may increase it) or whether *PD-L1 expression* may change. Determining the optimal sequence of combination treatments, the doses, and the timing and duration of dosing can have a positive impact on the tumor microenvironment, and if escape occurs, we can further broaden ICI treatment [26].

Resistance to therapy

The response to ICI therapy is highly heterogeneous and resistance often occurs, the elucidation of which and reversal of its mechanisms are becoming increasingly important. In the background of ICI resistance, *intrinsic* and *extrinsic* factors are distinguished in terms of the tumor [65]. The former group includes factors present in tumor cells, such as oncogenic signaling pathways, mutation levels, HLA downregulation, PD-L1 expression, as well as some components of TME responsible for immunosuppression, such as *Tregs* and *tumor-infiltrating myeloid-derived cells*, which cause blockade of the effective T-cell response *by*, inter alia, *inhibiting cytotoxic T-cells (CD8+)* [65-68]. For example, in a preclinical mouse model, tumor-associated TAMs may underlie ICI resistance, which express a high percentage of a myeloid PI3K γ isoform [69]. *PI3K γ* plays an important role *in the switch* between immunosuppressive and immunostimulatory functions of TAMs, and its selective inhibition in TAM-rich tumors can be used to overcome ICI resistance by stimulating effector T-cell function to reduce immunosuppression and restore ICI susceptibility [69]. To confirm this hypothesis, a *PI3K inhibitor* (IPI549) in monotherapy or in combination with the PD-1 inhibitor nivolumab is already being tested in phase I/Ib trials (NCT02637531) in advanced solid tumors.

Among the *extrinsic* factors, the role of immune *senescence* has been demonstrated, but *diet*, through the activating effect of insulin on the PI3K pathway, is thought to be an influencing factor, as well as the presence of *chronic inflammation*, which inhibits the migration of T- and NK-cells into the tumor, and the role of the composition of the *gut flora* was also considered, as a proliferation of non-immunogenic *Bacteroides* sp. causes complete ipilimumab resistance, as opposed to the immunogenic *Bacteroides* sp.[65]. New data on the role of intestinal flora is accumulating.

ICI associations

They can be combined with each other and with other anticancer treatments such as *surgery*, *radiotherapy* (abscopal effect), *chemotherapy*, *other immunostimulatory treatments* (e.g., macrophage immune checkpoint inhibition, oncolytic virus therapy) and other anticancer drugs. Increasingly, ICIs are being combined with *VEGF inhibitors*, *tyrosine kinase inhibitors* (TKIs) such as lenvatinib or cabozantinib. Considering that a detailed description of these combinations would be beyond the scope of our summary and that knowledge on combinations is still emerging and often controversial, we will not go into details and will limit ourselves to the more important, mostly well-confirmed data.

ICIs are frequently combined *with each other* (e.g., anti-CTLA-4 antibodies with anti-PD-1 or anti-PD-L1 antibodies) to achieve a synergistic effect. This possibility has already been described (after the discussion of individual ICIs and in the discussion of recently identified ICIs acting on immune checkpoints).

The common association with *tyrosine kinase inhibitors* (TKIs) has also been mentioned. Thus, *pembrolizumab* is frequently combined with lenvatinib, e.g., in *anaplastic* and *poorly differentiated thyroid cancer*, see above, [71,72] and in advanced endometrial cancer, in which it has been shown to significantly increase PFS (progression-free survival) and OS (overall survival) compared to chemotherapy [75].

Atezolizumab has been associated with cabozantinib (in advanced head and neck squamous cell carcinoma - HNSCC) with good results, achieving a rapid and durable effect in patients who had received prior platinum-based treatment [76,77].

They can be combined with *targeted therapies*, such as *BRAF* or *MEK inhibitors*, in the form of sequential therapies. A phase III trial in therapy naïve, advanced metastatic *melanoma* with BRAFV600 mutations compared *ipilimumab+nivolumab* with *dabrafenib* (BRAF inhibitor)+*trametinib* (MEK inhibitor), with one combination in one arm and the other in the other arm, in a chronological order [78]. It has been found that in the vast majority of patients it is preferable to start treatment with ipilimumab + nivolumab, and to continue with BRAF and MEK inhibitors if necessary [79].

A new possibility is the association of ICIs with *stimulating immune checkpoint-activating agents*. When *pembrolizumab* was combined with *sotigalimumab*, a CD40

agonist antibody, in patients with metastatic melanoma who had not previously received ICI treatment, an objective response rate (ORR) of 50% for distant lesions and a disease control rate (DCR) of 67% was observed in 30 patients tested and evaluated (phase I/II study). Treatment was well *tolerated by* patients, with increased hereditary and adaptive immune activation correlating with clinical improvement. The results are encouraging and deserve a larger randomized prospective study [80].

A particularly important consideration for associations is the issue of *side effects*. Very often, the toxic effects of individual drugs are combined, and their intensity can reach grade 3 or 4, which makes the combinations very questionable or even unacceptable. Side effects will be described in detail in a forthcoming summary paper.

References

1. Chen X, Song E. Turning foes to friends: targeting cancer-associated fibroblasts. *Nature Reviews Drug Discovery* [Internet]. Springer US; 2019;18:99–115.
2. Boumahdi S, de Sauvage FJ. The great escape: tumour cell plasticity in resistance to targeted therapy. *Nature Reviews Drug Discovery* [Internet]. Springer US; 2020;19:39–56.
3. Fésüs V. Az immunonkológia újdonságai a szolid tumorok és a hematológiai daganatok kezelésében – az immunellenőrzőpont-gátlók. *Magyar Onkológia*. 2017;61:116–25.
4. Prendergast GC, Smith C, Thomas S, Mandiknaya L, Metz R, Muller AJ. Inflammation and Immune Escape in Cancer. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2014;63:721–35.
5. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/press-release>.
6. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet has today decided to award the 2018 Nobel Prize in Physiology or Medicine jointly to James P. Allison and Tasuku Honjo. 2018;1–5. Available from: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2018/summary/>
7. Franklin C, Livingstone E, Roesch A, Schilling B, Schadendorf D. Immunotherapy in melanoma: Recent advances and future directions. *European Journal of Surgical Oncology* [Internet]. Elsevier Ltd; 2017;43:604–11.
8. Imbimbo M, Russo G Lo, Blackhall F. Current status of immunotherapy for non-small-cell lung cancer. *Tumori*. 2016; 102:337–51.
9. Zhang W, Kong X, Ai B, Wang Z, Wang X, Wang N, et al. Research Progresses in Immunological Checkpoint Inhibitors for Breast Cancer Immunotherapy. *Front. Oncol.*, 23 September 2021, Vol 11 - 2021.
10. Deligiannis NG, Sosa S, Danilowicz K, Rizzo LFL. Endocrine dysfunction induced by immune checkpoint inhibitors. *Pharmacological mechanisms of action and pathophysiology. Medicina (Buenos Aires)*. 2021;81:269–78.
11. Medzhitov R, Shevach EM, Trinchieri G, Mellor AL, Munn DH, Gordon S, et al. Highlights of 10 years of immunology in *Nature Reviews Immunology*. *Nature Reviews Immunology* [Internet]. Nature Publishing Group; 2011;11:693–702.

12. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: The cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013;39:1–10.
13. Kiss E. Immunológia újabb lehetőségei az onkológiai terápiában. *Central European Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 2019;5:68–73.
14. Robert L, Tsoi J, Wang X, Emerson R, Homet B, Chodon T, et al. CTLA4 blockade broadens the peripheral T-cell receptor repertoire. *Clinical Cancer Research*. 2014;20:2424–32.
15. Butte MJ, Keir ME, Phamduy TB, Sharpe AH, Freeman GJ, Sharpe H. PD-L1 interacts specifically with B7-1 to inhibit T cell proliferation. *Immunity* [Internet]. 2009;27:111–22.
16. Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, Uede T, Shimizu J, Sakaguchi N, et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25+CD4+ regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *Journal of Experimental Medicine*. 2000;192:303–9.
17. Qureshi OS, Zheng Y, Nakamura K, Attridge K, Manzotti C, Schmidt EM, et al. Trans-endocytosis of CD80 and CD86: A molecular basis for the cell-extrinsic function of CTLA-4. *Science*. 2011;332:600–3.
18. Wang C, Thudium KB, Han M, Wang XT, Huang H, Feingersh D, et al. In vitro characterization of the anti-PD-1 antibody nivolumab, BMS-936558, and in vivo toxicology in non-human primates. *Cancer immunology research*. 2014;2:846–56.
19. Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, Matsumura N, Baba T, Konishi I. Anti-PD-L1/PD-1 immune therapies in ovarian cancer: basic mechanism and future clinical application. *International Journal of Clinical Oncology*. Springer Japan; 2016;21:456–61.
20. McDermott D, Haanen J, Chen TT, Lorigan P, O'Day S. Efficacy and safety of ipilimumab in metastatic melanoma patients surviving more than 2 years following treatment in a phase III trial (MDX010-20). *Annals of Oncology*. 2013;24:2694–8.
21. FDA History. Yervoy FDA Approval History. Last updated by Judith Stewart, BPharm on Jan 28, 2021. [Drugs.com](https://www.drugs.com)
22. Abou-Alfa G, Chan S, Kudo M et al. Phase 3 randomized, open-label, multicenter study of tremelimumab (T) and durvalumab (D) as first-line therapy in patients (pts) with unresectable hepatocellular carcinoma (uHCC): HIMALAYA. *Journal of Clinical Oncology* 2022, 40(4_suppl):379-379.
23. Durvalumab plus tremelimumab significantly improves survival for patients with advanced liver cancer compared to sorafenib. *News release. ASCO*. January 18, 2022.
24. EMA/521637/2018. EMEA/H/C/004771. Imfinzi (durvalumab) An overview of Imfinzi and why it is authorised in the EU. [ema.europa.eu/medicines/Human/medicines/European/public/assessment/reports](https://www.ema.europa.eu/medicines/Human/medicines/European/public/assessment/reports).
25. <https://www.ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/opdivo>.
26. Twomey JD, Zhang B. Cancer Immunotherapy Update: FDA-Approved Checkpoint Inhibitors and Companion Diagnostics. *AAPS Journal*. The AAPS Journal; 2021;23.
27. www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm560040.htm.
28. <https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-keytruda-pembrolizumab> HYPERLINK "https://www.drugs.com/newdrugs/fda-approves-keytruda-pembrolizumab-first-cancer-any-solid-tumor-specific-genetic-feature-4538.htm"mab-first-cancer-any-solid-tumor-specific-genetic-feature-4538.htm.
29. <https://www.cancerresearch.org/immunotherapy/time-line-of-progress>.
30. National Cancer Institute. Home. About Cancer. Cancer Treatment A to Z. List of Cancer Drugs. Pembrolizumab. Updated: January 27, 2022.
31. EMA recommends extension of indications for pembrolizumab. New indication concerns the treatment of PD-L1 positive locally recurrent unresectable or metastatic TNBC. *ESMO. Oncology News*. Date: 14 Oct 2021.
32. <https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm622251.htm>.
33. Atezolizumab [Tecentriq]. Prescribing information. Available at https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/761034s019lbl.pdf. Accessed May 27, 2020. Google Scholar.
34. EMA/234492/2021, EMEA/H/C/004143. Tecentriq – atezolizumab. An overview of Tecentriq and why it is authorised in the EU. Last updated in 04-2021. [ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/tecentriq](https://www.ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/tecentriq).
35. Tecentriq FDA Approval History. [Drugs.com](https://www.drugs.com). Last updated by Judith Stewart, BPharm on Nov 8, 2021.
36. <https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm557162.htm>.
37. <https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm555930.htm>.
38. EMA/423228/2020, EMEA/H/C/004338. Bavencio (avelumab). An overview of Bavencio and why it is authorised in the EU. Last updated in 08-2020. [ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/bavencio](https://www.ema.europa.eu/medicines/human/EPAR/bavencio).
39. Bavencio FDA Approval History. [Drugs.com](https://www.drugs.com). Last updated by Judith Stewart, BPharm on Jan 28, 2021.
40. Mathieu L, Shah S, Pai-Scherf L, Larkins E, Vallejo J, Li X, et al. FDA Approval Summary: Atezolizumab and Durvalumab in Combination with Platinum-Based Chemotherapy in Extensive Stage Small Cell Lung Cancer. *Oncologist*. 2021. p. 433–8.
41. Durvalumab [IMFINZI]. Prescribing information. Available at https://www.accessdata.fda.gov/drug_satfda_docs/label/2020/761069s018lbl.pdf. Accessed May 27, 2020. Google Scholar.
42. EMA recommends extension of indications for durvalumab. New indication concerns first-line treatment of adults with extensive-stage small cell lung cancer. *ESMO. Oncology News*. Date: 27 Jul 2020.
43. <https://www.drugs.com/history/yervoy.htm>.
44. Lenz HJJ, Van Cutsem E, Limon ML, et al. Durable clinical benefit with nivolumab (NIVO) plus low-dose ipilimumab (IPI) as first line therapy in microsatellite instability-high/mismatch repair deficient (MSI-H/ dMMR) metastatic colorectal cancer (mCRC). *Annals of oncology* 29, viii714.
45. Overman MJ, Lonardi S, et al. Durable clinical benefit with nivolumab plus ipilimumab in DNA mismatch repair deficient/microsatellite instability-high metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2018; 36: 773–779.
46. Imfinzi and tremelimumab granted orphan drug designation in the US for liver cancer. *News release. AstraZeneca*. Published January 21, 2020. Accessed January 18, 2022.
47. Das M, Zhu C, Kuchroo VK. Tim-3 and its role in regulating anti-tumor immunity. *Immunological Reviews*. 2017. p. 97–111.
48. Durham NM, Nirschl CJ, Jackson CM, Elias J, Kochel CM, Anders RA, et al. Lymphocyte Activation Gene 3 (LAG-3) modulates the ability of CD4 T-cells to be suppressed in vivo. *PLoS One* (2014) 9(11):e109080.

49. Ascierto PA, Melero I, Bhatia S, Bono P, Sanborn RE, Lipson EJ. Initial efficacy of anti-lymphocyte activation gene-3 (anti-LAG-3; BMS-986016) in combination with nivolumab (nivo) in pts with melanoma (MEL) previously treated with anti-PD-1/PD-L1 therapy. *J Clin Oncol* 35, 2017 (suppl; abstr 9520).
50. Graydon CG, Mohideen S, Fowke KR. LAG3's Enigmatic Mechanism of Action. *Frontiers in Immunology*. 2021;11:1–7.
51. Ge Z, Peppelenbosch MP, Sprengers D, Kwekkeboom J. TIGIT, the Next Step Towards Successful Combination Immune Checkpoint Therapy in Cancer. *Front. Immunol.*, 22 July 2021. Volume 12 - 2021
52. Seymour L, Bogaerts J, Perrone A, Ford R, Schwartz LH, Mandrekas S, et al. iRECIST: guidelines for response criteria for use in trials testing immunotherapeutics. *The Lancet Oncology*. Elsevier Ltd; 2017;18:e143–52.
53. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell* 2015; 161: 205–214.
54. Tímár J, Ladányi A. A daganatok immunterápiájának prediktív markerei, a PD-L1 meghatározás gyakorlati kérdései. *Magyar Onkológia* 2017; 61: 158–166.
55. Lawrence MS, et al. Mutational heterogeneity in cancer and the research for new cancer genes. *Nature* 2013 jul 11; 4997457: 214–218.
56. Nabouh A, Roman CA, Shapira I. Immune checkpoint inhibitors in malignancies with mismatch repair deficiency: a review of the state of the current knowledge. *J Investing Med* 2017; 65: 754–758.
57. Dick J, Lang N, Slynko A, et al. Use of LDH and autoimmune side effects to predict response to ipilimumab treatment. *Immunotherapy* 8:1033–1044, 2016.
58. Kirilovsky A, Marliot F, El Sissy C, et al. Rational bases for the use of the Immunoscore in routine clinical settings as a prognostic and predictive biomarker in cancer patients. *Int Immunol* 28:373–382, 2016.
59. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science* 348:124–128, 2015.
60. Templeton AJ, McNamara MG, Seruga B, et al. Prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 106:dju124, 2014.
61. Moore EC, Clavijo PE, Davis R, et al. Established T-cell inflamed tumors rejected after adaptive resistance was reversed by combination STING activation and PD-1-pathway blockade. *Cancer Immunol Res* 4:1061–1071, 2016.
62. Demaria S, Coleman CN, Formenti SC. Radiotherapy: changing the game in immunotherapy. *Trends Cancer* 2:286–294, 2016.
63. Murciano-Goroff YR, Warner AB, Wolchok JD. The future of cancer immunotherapy: microenvironment-targeting combinations. *Cell Research*. 2020;30(6):507–19.
64. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, et al. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018;379(22):2108–21.
65. Pitt JM, Vetizou M, Daillere R, et al. Resistance mechanisms to immune-checkpoint blockade in cancer: tumor-intrinsic and -extrinsic factors. *Immunity* 44:1255–1269, 2016.
66. Diaz-Montero CM, Finke J, Montero AJ. Myeloid-derived suppressor cells in cancer: therapeutic, predictive, and prognostic implications. *Semin Oncol* 41:174–184, 2014.
67. Gebhardt C, Sevko A, Jiang H, et al. Myeloid cells and related chronic inflammatory factors as novel predictive markers in melanoma treatment with ipilimumab. *Clin Cancer Res* 21:5453–5459, 2015.
68. Kaneda MM, Messer KS, Ralainirina N, et al. PI3Kgamma is a molecular switch that controls immune suppression. *Nature* 539:437–442, 2016 56.
69. De Henau O, Rausch M, Winkler D, et al. Overcoming resistance to checkpoint blockade therapy by targeting PI3Kgamma in myeloid cells. *Nature* 539:443–447, 2016.
70. Lentsch EJ. Thyroid Cancer Treatment Protocols: Treatment Protocols. Emedicine. medscape.com. 2021.
71. Dierks C, Seufert J, Aumann K, Ruf J, Klein C, Kiefer S, et al. Combination of Lenvatinib and Pembrolizumab Is an Effective Treatment Option for Anaplastic and Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma. *Thyroid*. 2021;31(7):1076–85.
72. Dierks C, Ruf J, Seufert J, Kreissl M, Klein C, Spitzweg C, et al. 1646MO Phase II ATLEP trial: Final results for lenvatinib/pembrolizumab in metastasized anaplastic and poorly differentiated thyroid carcinoma. *Ann Oncol*. 2022 Sep;33:S1295.
73. Gubbi S, Vijayvergia N, Yu JQ, Klubo-Gwiedzinska J, Koch C. Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Neuroendocrine Tumors. *Horm Metab Res*. 2022;795–812.
74. Wang T-W, Johmura Y, Suzuki N, Omori S, Migita T, Yamaguchi K, et al. Blocking PD-L1–PD-1 improves senescence surveillance and ageing phenotypes. *Nature*. 2022;611(7935):358–64.
75. Makker V, Colombo N, Casado Herráez A, Santin AD, Colomba E, Miller DS, et al. Lenvatinib plus Pembrolizumab for Advanced Endometrial Cancer. *N Engl J Med*. 2022 Jan; 386(5):437–48.
76. Wahner A. Cabozantinib/Atezolizumab Elicits Durable, Tolerable Clinical Activity in Advanced HNSCC. *OncLive*, Nov 29, 2022.
77. Rottey S, Santoro A, Arnold S, Khan S, Cohn A, Fang B, et al. Cabozantinib plus atezolizumab in advanced head and neck cancer previously treated with platinum-containing chemotherapy: Results from cohort 17 of the COSMIC-021 study. In: *Journal for ImmunoTherapy of Cancer*. 2022. p. A597 LP-A597.
78. Khair DO, Bax HJ, Mele S, Crescioli S, Pellizzari G, Khiabany A, et al. Combining immune checkpoint inhibitors: Established and emerging targets and strategies to improve outcomes in melanoma. *Front Immunol*. 2019;10(MAR):1–20.
79. Atkins MB, Lee SJ, Chmielowski B, Tarhini AA, Cohen GI, Truong TG, et al. Combination Dabrafenib and Trametinib Versus Combination Nivolumab and Ipilimumab for Patients with Advanced BRAF -Mutant Melanoma: The DREAMseq Trial - ECOG-ACRIN EA6134. *J Clin Oncol*. 2023;41(2):186–97.
80. Benteibibel S-E, Johnson D, Amariae R, et al. Intratumoral CD40 agonist sotigalimab with pembrolizumab induces broad innate and adaptive immune activation in local and distant tumors in metastatic melanoma. Presented at: American Association for Cancer Research Annual Meeting; April 8-13, 2022; New Orleans, LA. Abstract CT039.

Az immunellenőrzőpont-gátlók terápiás jelentősége, általános és endokrin mellékhatásai I: hatásmechanizmus, terápiás alkalmazás

Kun Imre Zoltán¹, Kun Ildikó², Hadnagy Margit³, Kolcsár Melinda⁴

¹Marosvásárhelyi "George Emil Palade" Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológiai Egyetem, Doktori Iskola, ²Dentalin Bt., Budapest, ³sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Maros Megyei Klinikai Kórház, ⁴Marosvásárhelyi "George Emil Palade" Orvosi, Gyógyszerészeti, Tudomány és Technológiai Egyetem, Farmakológia és Klinikai Gyógyszerészet Tanszék

Kivonat • A daganatok mikrokörnyezetének alapvető szerepe van abban, hogy a ráksejtek idővel kiszabadulnak az immune surveillance, azaz a gazdaszervezet immunológiai védekező mechanizmusai alól. A ráksejtek ugyanis olyan anyagokat termelnek, amelyek a cytotoxicus T-lymphocytákon és más immunkompetens sejteken expresszált, gátló jellegű immunellenőrző pontokhoz (CTLA-4, PD-1 stb.) kötődnek és ezeket aktiválják, megbénítva így az immunvédekezést. A terápiába 2011-ben bevezetett immunellenőrzőpontgátlók (immune checkpoint inhibitors – ICI-k), amelyek humán, vagy humanizált monoklonális antitestek, blokkolják az immunellenőrző pontokat, s ezzel feloldják a gátlást, helyreállítva az antitumorális immunvédekezést. Ezek bizonyultak eddig az egyik leghatékonyabb rákellenes immunterápiának. Az ICI-k általános hatásmechanizmusának ismertetése után az anti-CTLA-4 monoklonális antitestek, így az ipilimumab és tremelimumab, az anti-PD-1-antitestek, azaz a nivolumab és a pembrolizumab, majd az anti-PD-L1-antitestek klinikai alkalmazásának részletezése következik. Az ICI-k rendszerint inoperabilis és előrehaladott daganatok esetén kerülnek alkalmazásra, de ez nem szigorú szabály, és a legtöbbjük indikációs köre bevezetésük óta egyre bővül és még bővülni fog. A következő rész az új kutatási irányokat foglalja össze, amelyekre azért is szükség van, mert nem ritka az ICI-k iránt eleve fennálló, vagy a terápia során kialakuló, ún. adaptív rezisztencia. Szelektálatlan betegpopulációban az ICI-k az esetek csak kb. 20–30%-ában hatékonyak, de akiknél hatnak, azok tartós túlélők lesznek; nem ritkán átmeneti pszeudoprogresszió előzi meg a terápiás választ. Sokkal jobban választanak ICI-kezelésre a magas mutációs terhelésű daganatok (melanoma, tüdő- és hólyagrák), mert bennük több neoantigén képződik, valamint a „hot” tumorok, mert ezekben a daganatinfiltráló immunsejtek fokozott mértékben vannak jelen. Alkalmazásukhoz szükség lenne megbízható prediktív biomarkerekre, de ilyen egyelőre kevés van, pl. a PD-L1 expresszió vizsgálata, ill. az egyes ICI-khez társított diagnosztikai tesztek. A referátum jelen, első része a terápiarezisztenciával kapcsolatos problémákkal és lehetséges megoldásaikkal zárul.

Kulcsszavak • immunellenőrzőpont-gátlók, ipilimumab, nivolumab, pembrolizumab

DOI: 10.2478/orvtudert-2022-0010

Orvostudományi Értesítő 2022, 95(2): 145–166

Bevezetés

A rákos megbetegedések prognózisa az utóbbi 50 évben jelentősen javult, ennek ellenére világviszonylatban most is vezető halálokok maradtak. Ennek főbb okai a daganatok recidívára és metasztázisképzésre való hajlama, valamint mikrokörnyezete – ezeket a tényezőket ugyanis csak kis mértékben tudjuk befolyásolni. A daganat terápiás rezisztenciája fennállhat kezdettől, vagy a kezelés során alakul ki [1]. A szerzett rezisztencia egyik oka a daga-

natsejtek rendkívüli plaszticitása, mely főleg fenotípusuk változékonyságából adódik [2], a másik pedig az, hogy a daganatsejteket körülölelő mikrokörnyezet védőfészkét biztosíthat számukra, megakadályozván a konvencionális kezelések eredményességét [1]. Mindezek alapján érthető, hogy az említett tényezők kutatása az utóbbi években nagyon felértékelődött.

A *daganat mikrokörnyezete* (tumour microenvironment – TME), vagyis a daganat *strómája*, magába foglalja a tumorsejtek közelében található nem-rákos eredetű komponenseket, így a fibroblastokat, makrofágokat,

lymphocytákat, a tumorasszociált neutrofil granulocytákat (TAN) [3]; a myeloid-eredetű szuppresszor-sejteket (myeloid-derived suppressor cells – MDSC), az extracelluláris matrixot (ECM), s az endothelsejtekből és pericytákból felépülő ereket [1]. Stimulációra ezek a daganattal kapcsolt stróma-sejtek helyi terjeszkedésre képesek. A felsoroltak közül legszámosabbak a rákos sejtekhez társult *fibroblastok* (cancer-associated fibroblasts – CAF), de fontosak a tumorhoz társult *makrofágok* (tumor-associated macrophages – TAM) is, amelyek a TME más immunkompetens sejteivel együtt a daganathoz kapcsolódó gyulladást szabályozzák. Ezeken kívül a TME-nek más komponensei is lehetnek. Így pl. az emlőráksejtek mesenchima-szerű granulocytá-makrofág kolónia-stimuláló faktort (GM-CSF) szekretálnak, melynek hatására a TAM-ok aktiválódnak, s a belőlük származó CC-chemokine ligand 18 (CCL18) a ráksejtek epithel-mesenchimális transzdifferentiációját váltja ki, ami elősegíti az emlőrák metasztatizását. A nem-sejtes komponensek közül meg kell még említeni az indolamin 2,3-dioxigenázt (IDO) is, ami a patológiás immunfolyamatokat támogatja, gátolja többek között a T- és NK-sejtek funkcióját, serkenti a *szabályozó T-sejtek* (Treg-ek) és az MDSC-k aktivációját, proliferációját [4].

A daganatot beszűremítő *cytotoxicus T-lymphocyták* dominálják a *daganatellenes* immunválaszt, míg a szabályozó *T-sejtek* és a myeloid-eredetű szuppresszor-sejtek a daganatos *immunszuppressziót* okozzák.

A ráksejt-eredetű vasculo-endothelialis growth factor (VEGFA) hatására a közeli erek *endothelsejtjei* behatolnak az ECM-ba, neovascularizációt hozva létre, mely a növekvő daganatszövet vérellátását biztosítja. Az endothelsejtekből származó, thrombocytá-eredetű növekedési faktor beta (platelet-derived growth factor-beta – PDGF-beta) a *pericytákat* rekrutálja a daganatot ellátó erek képzéséhez, a pericyták pedig az endothelsejtek túlélését segítik elő a microvascularisatio stabilizációjának fenntartására. Ezeken kívül a strómasejtek még sokféle ECM-fehérjét képeznek, így kollagéneket, fibronektineket, laminineket, melyek a ráksejteket fizikailag támogatják, ill. olyan *növekedési faktorokat* és *matrix metalloproteinázokat* koncentrálnak, melyek az ECM remodelálását segítik elő. Így a strómasejtek együtt fejlődnek a rákos sejtekkel, szinergista módon segítve ezek evolúcióját [1,3].

A daganat tehát elkerüli az immunrendszert (*cancer immunoediting*), melynek létrejöttében – az említett *immuntoleráns mikrokörnyezet* kialakulása mellett – több más mechanizmust is feltételeznek, így az antigén-pre-

zentáció zavarát (pl. az MHC1 expresszió elvesztését a tumorsejt felszínén, az antigén sejt felszínre történő transzportjának zavarát), az *immunellenőrzőpontok upregulációját* a daganatban, a proliferációt elősegítő onkogén jelátviteli útvonalakat – ezek mindannyian elősegítik az *immune escape*-t.

Az előbb vázoltakból következik, hogy a gazdaszervezet immunológiai védekezését a legátolt *cytotoxicus T-lymphocyták* daganatellenes *immunválaszának helyreállításával*, ill. az aktív daganatos *immunszuppresszió* (Treg, MDSC-k) *mérséklésével* fokozhatjuk, de ezek mellett léteznek más terápiás lehetőségek is (pl. a makrofágok – TAM, s a fibroblastok – CAF befolyásolása), amelyek nem képezik dolgozatunk tárgyát.

Az immunválasz helyreállítása útján ható, a daganat okozta T-sejt-szuppressziót feloldó *immunellenőrzőpont-gátlók* (*immune checkpoint inhibitors* – ICI) bizonyultak az egyik leghatékonyabb rákellenes immunterápiának. Jelentőségük talán csak a génmódosítással előállított kiméra antigénreceptort expresszáló T-sejtek (CAR-T) terápiás alkalmazásával mérhető össze. Az ICI-k súlyát és aktualitását bizonyítja, hogy a 2018. évi élettani vagy orvosi kutatásokért járó Nobel-díjat James P. Allison amerikai és Hondzso Taszuku japán tudósoknak ítelték oda, a gátló immunszabályozás felfüggesztésén alapuló daganatterápia felfedezéséért [5]. Az 1990-es évek elején Allison a cytotoxicus T-lymphocytá antigén-4-et (CTLA-4) vizsgálva, felismerte ennek immun-gátló jellegét, melynek blokkolásával felszabadítható az immunrendszer daganatsejteket támadó és pusztító képessége. Allisonnal egyidőben, Taszuku felfedezett egy új fehérjét az immunsejteken, a programozott sejthalál fehérje-1-et (PD-1), ami ugyancsak gátló jellegű, s ez a gátlás is – hasonló céllal – felfüggeszthető [6]. A klinikai vizsgálatok alapján az ICI-k alkalmazása nagyon ígéretes, néhány kórképben – például melanómában és nem-kissejtes tüdőrákban (NSCLC) – hatékonyságuk felülmúlja mind a hagyományos kemoterápia, mind a célzott terápia eredményeit [7,8].

Az immunellenőrzőpont-gátlók hatásmechanizmusa

Mint minden élő sejt, a daganatsejtek is a túlélésre vannak berendezkedve. Így, mintegy „megszervezik” önvédelmüket a gazdaszervezet védekező mechanizmusaival szemben, olyan anyagokat termelve – pl. interleukin-10-et

(IL-10), tumor növekedési faktor-betát (tumor growth factor-beta – TGF-beta), programozott sejthalál-fehérje 1 és 2-ligandot (PD-L1,2) és sok más [9] –, amelyek megbénítják az immunvédekezést. Ezek az anyagok az immunellenőrző pontokhoz kötődnek és meggátolják a T-lymphocyták és más immunkompetens sejtek működését.

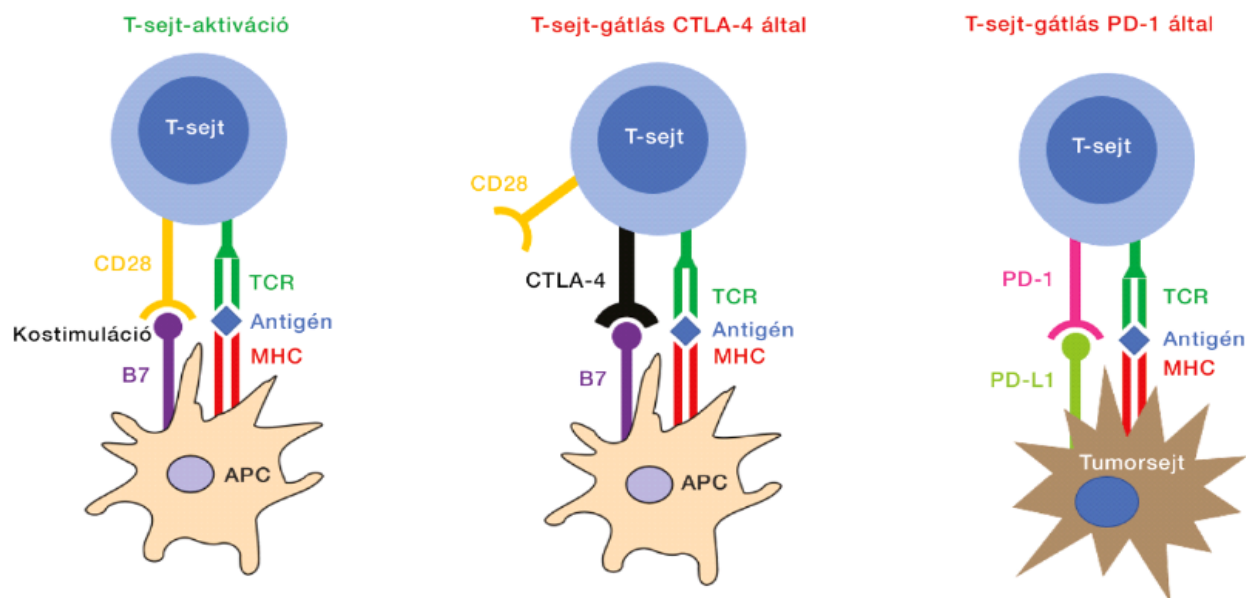
Az immunellenőrző pontok főleg a T-lymphocyták (és egyéb immunkompetens sejtek) felületén elhelyezkedő kis fehérjemolekulák (receptorok), amelyeknek alapvető szerepe van az immunválasz szabályozásában (a serkentésben és gátlásban egyaránt), s a saját sejtek iránti tolerancia fenntartásában. Egyesek a T-lymphocyták (és más immunkompetens sejtek) aktivitását fokozzák (pl. a CD28, ICOS, CD137, OX40, CD27), mások viszont a gátlásukat okozzák – ilyenek a *cytotoxicus T-lymphocytá-antigen 4* (cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 – CTLA-4) és a *programozott sejthalál-fehérje 1* (programmed cell death protein 1 – PD-1) [10].

A T-sejtek aktiválódásához – a TCR (T-sejt receptor), az antigén és az MHC (major hisztokompatibilitási komplex) összekapcsolódása mellett – szükséges még egy második jel is, vagyis egy *kostimuláció*: a B7 fehérje kötődése a CD28 receptorhoz. A B7-et az antigénprezentáló sejtek (APC) szolgáltatják (1. ábra). Az APC (más néven

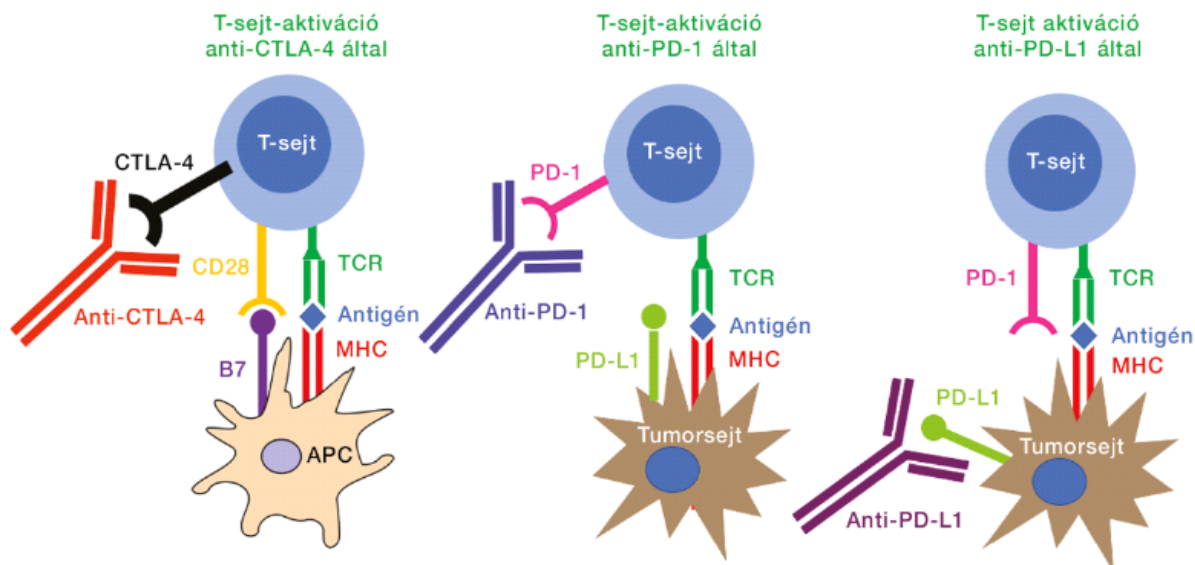
dendritikus sejtek) veszik fel a daganatok antigénjeit és eljutva a nyirokcsomókban található T-sejtekhez, prezentálják nekik ezeket. Az APC–T-sejt kapcsolat kimenetelét, azaz az aktiválódást vagy gátlást, a stimuláló CD28–B7 és a gátló CTLA-4–B7 interakciók aránya határozza meg. Aktiválódás esetén (szerencsés esetben a daganatképződés kezdetén) a T-sejtek elhagyják a nyirokcsomót, és a keringéssel a tumorszövetbe jutnak, ahol felismerik a tumorsejteket és tumorspecifikus effektor és memória T-sejttekké alakulnak, majd egyéb immunsejtekkel, valamint a párhuzamosan létrejövő humorális immunválaszsal együttműködve elpusztítják a daganatot [11–13].

A T-sejtek aktiválódását követően fokozódik az interleukin-2 (IL-2) termelődése, a klonális expansio és beindul az effektor funkció. A T-sejt aktiválása kezdetben CTLA-4 expressziót vált ki, majd utóbbi verseng a CD28-cal, és a B7 fehérjét nagyobb affinitással köti. Ez az új interakció megszünteti a T-sejtek aktiválását, így biztosítva a túlzott immunválasz elkerülését, megvalósítva az immunegyensúlyt. Úgy látszik, hogy a CTLA-4 gátló hatása ligandjainak – a CD80 (B7-1) és a CD86 (B7-2) – jelenlététől és hozzáférhetőségétől függ [10].

A CTLA-4 az effektor T-sejteken, valamint a Treg-sejteken helyezkedik el. Blokkolásával az immunrendszer kezdeti, ún. „priming” fázisát serkentjük a nyirokcsöve-



1. ábra. T-sejt-aktiváció és -gátlás (CTLA-4, ill. PD-1 útján); TCR: T-sejt-receptor; MHC: fő hisztokompatibilitási komplex; APC: antigénprezentáló sejt; CTLA-4: cytotoxicus T-lymphocytá-antigén 4; PD-1: programozott sejthalál-fehérje-1; PD-L1: programozott sejthalál-ligandum-1. L. a szöveget. (Ábra forrása: [13], a szerző írásbeli engedélyével).



2. ábra. T-sejt-aktiváció anti-CTLA-4, anti-PD-1 és anti-PD-L1 monoklonális antitestek alkalmazásával. TCR: T-sejt-receptor; MHC: fő hisztokompatibilitási komplex; APC: antigénprezentáló sejt; CTLA-4: cytotoxicus T-lymphocyt-antigén 4; PD-1: programozott sejthalál-fehérje-1; PD-L1: programozott sejthalál-ligandum-1. A T-sejtek működését gátló szignálok gátlása antitestekkel a T-sejtek aktivációját eredményezi. (Ábra forrása: [13], a szerző írásbeli engedélyével).

tekben, így az effektor T-sejtek aktivációs és proliferációs rátája TCR-specifitástól függetlenül megnő, ugyanakkor csökken a Treg-sejtek T-sejt-válaszra kifejtett gátló hatása. Így a perifériás T-sejtek száma, s a T-sejt-pool diverzitása megnő [14].

A PD-1 receptorok az aktivált T- és B-lymphocyták és a monocyták felületén expresszálódnak; ezek az immunoglobulinok szupercsaládjába tartoznak. A PD-1 ligandjai (PD-L1 és PD-L2) jelen vannak az antigénprezentáló sejtek felszínén, de egyes nem-lymphoid sejtek felületén is, így a Langerhans-szigetek beta-sejtjein, a thyreocytákon, endothelsejteken, cardiomyocytákon és a rákos sejteken [10]. A PD-L1/PD-L2 tehát a perifériás szövetekben és a tumorszövetekben felel a T-sejtek túlzott aktivációjának gátlásáért, így az immuntolerancia kialakulásáért, fenntartásáért [3] (1. ábra). A daganatsejteken lévő PD-L1 kötődése a T-lymphocytákon található PD-1-hez blokkolja ezen lymphocyták működését és proliferációját, leállítván az antitumorális immunvédekezést, míg a PD-L2 kötődése a PD-1-hez csökkenti a pro-inflammatoricus cytokinek (IL-2, interferon gamma) termelődését [10].

Összefoglalva, a ráksejtek termékei, ezen gátló receptorokhoz (CTLA-4, PD-1) kötődve, képesek expressziójukat, vagy hatásukat fokozni, s ezzel a ráksejteket gátló immunválaszt felfüggeszteni, elősegítve a daganatsejtek iránti toleranciát.

A gátló receptorok ellen monoklonális antitesteket (mAbs), így anti-CTLA-4-et, anti-PD-1-et, anti-PD-L1-et létrehozva, kapcsolhatjuk a ráksejtek okozta immungátlást, visszaállítva a természetes immunitást a daganatsejtek elpusztítására (2. ábra). Így pl. az anti-CTLA-4 mAb ipilimumab, kötődve a CTLA-4-hez, meggátolja a B7 kapcsolódását ehhez, s így a T-sejt-aktivitás upregulációját eredményezi. Az anti-PD-1 (pembrolizumab, nivolumab) és az anti-PD-L1 (atezolizumab, avelumab, durvalumab) antitestek blokkolják a PD-1 összekapcsolódását a PD-L1-gyel, ill. PD-L2-vel, lehetővé téve, hogy az immunkompetens sejtek felszabaduljanak a gátlás alól és elpusztítsák a daganatsejteket [10]. Az anti-PD-1 és az anti-PD-L1-antitestek az immunválasz későbbi, ún. „effektor” fázisában hatnak [3]. A terápia finomítható, ha specifikusan a PD-L1-et blokkoló antitestet alkalmazunk, így ugyanis megmarad a PD-1 és a PD-L2 közti kapcsolat,

ami megőrzi a saját struktúrák iránti toleranciát. További előnye a PD-L1 blokádnak, hogy mivel a PD-L1 a CD80-hoz is tud kötődni, blokkolásával a PD-L1-CD80 kapcsolatot által közvetített T-sejt-gátlás is csökken [15].

A két részletezett immunellenőrzési pont blokkolása különböző, egymást nem átfedő génexpresszió- és funkcióbeli változásokat eredményez, elsősorban a T-sejteken (34). A CTLA-4-blokád dominánsan az átmeneti memória T-sejtek proliferációját serkenti, míg a PD-1-blokád a T-sejt-közvetített citolízist és az NK-sejtek funkcióját szabályozó géneket érinti [3].

Többször kihangsúlyoztuk már, hogy az immunellenőrző pontoknak fontos szerepe van a természetes immunválaszok egyensúlyának biztosításában is, így a saját sejtek iránti *perifériás tolerancia fenntartásában*, beleértve az autoimmun betegségek megelőzését. Utóbbiak akkor jönnek létre, amikor az immunrendszer túlzott, kóros működése miatt a saját szervek és szövetek ellen is immunfolyamatok indulnak be. Ezen folyamatok serkentésével az ICI-k *autoimmun betegségeket* válthatnak ki, vagy súlyosbíthatnak, ez képezvén legfontosabb mellékhatásaik alapját [10]. A periférián található Treg-sejtek konstitutívan, nagy mennyiségben expresszálják a CTLA-4-et [16]. Ilyen magas CTLA-4-koncentrációjú környezetben szinte lehetetlenné válik a T-sejt-aktiváció, így a T-sejtek anergiás állapotba jutnak, az APC-k felszínén pedig csökken a B7-fehérje mennyisége [17] (**1. ábra**).

Az is említve volt, hogy a CTLA-4 a T-sejt-aktiváció kezdeti fázisában, a lymphoid szövetekben gátolja az immunválaszt, míg a PD-1 ellenőrzési pont az immunválasz későbbi, „effektor” fázisában felel a T-sejtek gátlásáért (a PD-1-PD-L1 és PD-1-PD-L2 tengelyek útján) a lymphocytákkal infiltrált perifériás szövetekben.

Az immunellenőrzőpont-gátlók különböző IgG-alsztályokhoz tartoznak. Az IgG1-hez tartozók (ipilimumab, durvalumab, atezolizumab, avelumab) *antitest-dependens sejt-mediált cytotoxicitást* (ADCC-t) váltanak ki és aktiválják a klasszikus *komplement-rendszert*. Az IgG4-alcsoport tagjai (nivolumab, pembrolizumab) kevésbé aktiválják az ADCC-t és nem serkentik a komplement-rendszert. Ezt leszámítva, az *autoimmun mellékhatások pontos mechanizmusa* nem ismert [10]. Az ICI-terápia egyik nagy előnye, hogy nemcsak az erősen immunogén daganatokban (melanoma, vesesejtes rák) képes az antitumor immunválasz kiváltására és fokozására, hanem számos kevésbé immunogén típusnál is (pl. petefészekrák) [19].

Klinikai alkalmazásuk

Az immunellenőrzőpont-gátlók olyan rekombináns humán vagy humanizált monoklonális antitestek, amelyek a T-sejt-gátló szignálokat blokkolva, fokozzák a T-sejt mediált immunválaszt (**2. ábra**). Terápiás alkalmazásuk 2011-től kezdődött.

A **CTLA-4-gátló ipilimumab** volt az első ICI, amelyet az FDA (az Egyesült Államok Élelmiszerbiztonsági és Gyógyszerügyi Hivatala) áttétes melanomában törzskönyvezett, s amelyet az EMA (Európai Gyógyszerügynökség) is engedélyezett [3,13] (**1. táblázat**). Európában jelenleg előrehaladott melanomában adható felnőtteknek, a teljes túlélésre (OS) gyakorolt hatékonyságát egy fázis III-as vizsgálat (MDX010-20) bizonyította. A 676 beteget magában foglaló vizsgálatban az ipilimumab-monoterápia szignifikáns túlélési előnyt jelentett a kontroll gp100-monoterápiával szemben, az egyéves OS az ipilimumab-karon 45,6%, míg a gp100-karon 25,3%, 2 év múlva 23,5% vs. 16,7%, 3 év múlva 24,5% vs. 10,0% volt [20]. Alkalmazási területe az utóbbi időben megnőtt (**1. táblázat**), gyakran nivolumabbal társítják [21].

A másik anti-CTLA-4 mAb, a **tremelimumab**, ún. orphan drug, melyet pár éve malignus mesotheliomában engedélyezett az FDA. Újabban, durvalumabbal társítva, inoperabilis és előrehaladott májrákban bizonyult hatékonynak, erre a célra 2020-ban elnyerve az FDA jóváhagyását is [22–24] (**1. táblázat**).

A **PD-1-blokkoló nivolumab** és a **pembrolizumab** indikációja néhány év alatt robbanásszerűen bővült [25], amint azt az **1. táblázat** mutatja.

A **nivolumabot** kezdetben szintén *melanoma* kezelésére alkalmazták. Először 2014 végén engedélyezte az FDA, inoperabilis, vagy metasztatikus melanomában, mely ipilimumab, ill. BRAF-gátló (BRAFV600 mutáció esetén) kezelés után progrediált. Ma már számos más daganat esetében engedélyezett, így *fej-nyaki laphámsejtes rákban, kissejtes és nem-kissejtes tüdőrákban, pleurális mesotheliomában, klasszikus Hodgkin-lymphomában, vesesejtes és urothelsejtes rákban, tápcsatornai daganatokban (nyelőcső-, gyomor-, máj- colorectalis rákban), mikroscatellita instabil, vagy DNS-hibajavító fehérje deficiens (MSI-H/dMMR) szolid tumorokban* [13,21,26].

A **pembrolizumabot** az FDA már 2014-ben engedélyezte *inoperabilis vagy áttétes melanoma, nem-kissejtes tüdőrák, fej-nyaki laphámsejtes rákok és klasszikus Hodgkin-lymphoma* kezelésére. 2017. májusában gyorsí-

1. táblázat. Európában és az AEÁ-ban engedélyezett immunellenőrzőpont-gátlók (3, 10, 26 adatai alapján, módosítva)

Gyógyszer	Hatás-mechanizmus	FDA engedély	FDA indikáció	EMA engedély	EMA-indikáció
Ipilimumab	anti-CTLA-4	2011- 2020	melanoma, NSCLC, RCC, MSI-H/dMMR colorectalis rák, PM	2011- 2020	melanoma, NSCLC, RCC, MSI-H/dMMR colorectalis rák, PM
Tremelimumab	anti-CTLA-4	2015- 2020	(orphan drug), PM, májrák	2020	májrák
Nivolumab	anti-PD-1	2014-2020	melanoma, NSCLC, RCC, cHL, HNSCC, UCC, főleg a TMB-H-tumorok, PM, SCLC, nyelőcső-, gyomor-, máj-, MSI-H/dMMR colorectalis rák	2015- 2020	melanoma, NSCLC, RCC, cHL, HNSCC, UCC, PM, nyelőcső-, gyomor-rák, MSI-H/dMMR colorectalis rák
Pembrolizumab	anti-PD-1	2014	melanoma, NSCLC, HNSCC, cHL	2015	melanoma, NSCLC
		2017-2020	MSI-H/dMMR colorectalis rák és más szolid tumorok, nyelőcső-, gyomor-, májrák, UCC, RCC, PMBCL, méhnyak- és endometrium rák, tripla negatív emlőrák, TMB-H daganatok, CSCC, MCC	2017- 2021	MSI-H/dMMR colorectalis rák, cHL RCC, HNSCC, UCC, endometrium rák, nyelőcsőrák, tripla negatív emlőrák
Atezolizumab	anti-PD-L1	2016	UCC, NSCLC	2017- 2021	UCC, NSCLC
		2016-2021	SCLC, melanoma, májrák, tripla negatív emlőrák		SCLC, májrák, tripla negatív emlőrák
Avelumab	anti-PD-L1	2017	MCC, UCC	2017- 2020	MCC, UCC
		2019	RCC	2020	RCC
Durvalumab	anti-PD-L1	2017	UCC	2018	NSCLC
		2018	NSCLC		
		2020	ES-SCLC, májrák	2020	ES-SCLC

PD-1: programozott sejthalál fehérje 1; PD-L1: programozott sejthalál ligandum 1; CTLA-4: cytotoxicus T-lymphocytá antigén 4; FDA: Food and Drug Administration; EMA: European Medicines Agency; RCC: vesesejtes rák; HNSCC: fej-nyaki laphámsejtes rák; SCLC: kissejtes tüdőrák; ES-SCLC: extensive-stage small cell lung cancer – előrehaladott kissejtes tüdőrák; NSCLC: nem-kissejtes tüdőrák; cHL: klasszikus Hodgkin-lymphoma; UCC: urothelsejtes rák; MCC: Merkel-sejtes karcinóma; CSCC: laphámsejtes bőrrák; MSI-H/dMMR: microsatellite instability-high (MSI-H) or mismatch repair-deficient (dMMR) – mikroszatellita instabil, vagy DNS-hibajavító fehérje deficiens szolid tumorok; TMB-H: tumor mutation burden-high – magas mutációs terhelésű daganatok; PMBCL: primér mediastinalis nagy B-sejtes lymphoma; PM: pleurális mesothelioma;

tott eljárással törzskönyvezte inoperábilis vagy metasztatikus *mikroszatellita instabil, vagy DNS-hibajavító fehérje deficiens szolid tumorokban*, beleértve a *colorectalis* rákokat is, az előző terápia hatástalansága esetén, gyermekek-nél és felnőtteknél egyaránt. Ez volt az első olyan engedélyezés, amely független a daganat szövettani típusától és kiindulási helyétől [27]. A korábbi, szöveti altípusok szerinti törzskönyvezéssel szemben ez az első, molekuláris profilra alapozott jóváhagyás [27,28]. A pembrolizumab alkalmazható *nyelőcső- gyomor- és májrákban, urothelsejtes* (beleértve a BCG-re nem válaszoló formát is) és *vesesejtes karcinómákban, méhnyak és endometrium rákban, laphámsejtes bőrrákban és Merkel-sejtes karcinómában*

(MCC), mely egy ritka, de nagyon agresszív bőrrák [29]. Javallt még *primér mediastinalis nagy B-sejtes lymphomában* és újabban alkalmazzák *tripla negatív emlőrák* kezelésére is. Az FDA feltételesen engedélyezte előrehaladott, irreszekábilis, magas mutációs terhelésű daganatok (TMB-H: *tumor mutation burden-high*) kezelésére, ha ezek más *terápiára nem reagálnak*. A jóváhagyás feltétele az, hogy ezekben az esetekben klinikailag hasznosnak bizonyuljon [26,30,31].

Az újabb PD-1-gátló, a **cemiplimab**, 2018 őszén lett törzskönyvezve áttétes, vagy olyan lokálisan előrehaladott után laphámsejtes daganat kezelésére, melynél kuratív műtét, vagy sugárkezelés nem jön szóba [26,32].

A **PD-L1-blokkolók** képezik az immunellenőrzőpont-gátlók új alcsoportját; ide tartozik az *atezolizumab*, *avelumab* és *durvalumab*. Az **atezolizumab** előrehaladott, ciszplatin kezelésre alkalmatlan vagy rezisztens *hólyagrákban*, metasztatikus *nem-kissejtes tüdőrákban* [3], újabban *kissejtes tüdőrákban*, *melanomában*, *májrákban* és 2019 márciusától már *tripla negatív emlőrákban* is használható [13,26,33–35].

Az **avelumab** előrehaladott, platinatartalmú kezelés során progrediáló *urotheliális karcinómában*, *vesesejtes rákban* és *áttétes MCC-ben*, a **durvalumab** pedig platinarezisztens, előrehaladott *urotheliális rákban*, *nem-kissejtes tüdőrákban* és *előrehaladott kissejtes tüdőrákban* alkalmazható [24,26,29,36–42].

Az anti-CTLA-4 csoportba tartozó ICI-eket gyakran **kombinálják** anti-PD-1- vagy anti-PD-L1-antitestekkel. Az *ipilimumab* plusz *nivolumab* kombinációját inoperábilis vagy áttétes melanomában, vesesejtes karcinómában és MSI-H/dMMR metasztatikus, korábbi kezelésen progrediáló colorectalis daganatokban alkalmazzák [43–45]. Mint már említettük, a *tremelimumab* plusz *durvalumab* előrehaladott és inoperábilis májrákban lett frissen engedélyezve az AEÁ-ban, szignifikánsan megnövelve a túlélést ebben a nehezen kezelhető és rossz prognózisú kórképben [22,23,46].

A közeljövőben a már alkalmazott gyógyszerek indikációs területének kiterjesztése ugyancsak várható [3,13]. Az ICI-k indikációit, valamint az FDA és EMA engedélyeit az **1. táblázat** foglalja össze.

Újabb alkalmazások – egyes endokrin daganatokban

Gyakori endokrin mellékhatásaik alapján – amelyek főleg autoimmun destruktív mechanizmusok következményei, s melyeket egy elkövetkező tanulmányban fogunk részletezni – logikus volt a feltételezés, hogy egyes endokrin daganatokban terápiás célra is felhasználhatók lehetnek. Ez a felismerés jelenleg intenzív kutatási fázisban van.

Az *anaplasztikus* és a *gyengén differenciált pajzsmirigyrák* egyes formáiban (magas PDL-1 expresszió és magas mutációs terhelés esetén) a *pembrolizumab* jön számításba. Egy friss, fázis I/II tanulmány szerint a *pembrolizumab* lenvatinibbel, egy tirozinkináz-gátlóval (TKI-vel), társítva a metasztatizált *anaplasztikus* és a *gyengén differenciált pajzsmirigyrák* egyik hatékony és biztonságos

kezelése lehet; e nagyon rossz prognózisú betegség szerény, de szignifikáns javulását észlelték [70–72].

Neuroendokrin daganatok kezelésére főleg 2020-tól folynak klinikai vizsgálatok. Eddig az objektív válaszok aránya (objective response rates - ORR) 10% alattinak, azaz alacsonynak vagy nagyon szerénynek bizonyult. Pozitív egyedi esetbeszámolók vannak pl. egyes invazív, más kezelésekre refrakter hypophysisdaganatok esetén, anti-PD-1, illetve *ipilimumab*+*nivolumab* kezelés kapcsán. Vannak próbálkozások társításukra VEGF-gátlókkal, TKI-vel, platina-alapú kemoterápiás szerekkel, stereotacticus besugárással, ¹⁷⁷Lu-DOTATATE-val [73].

Új kutatási irányok

Tesztelés alatt állnak más immunellenőrző pontokon (*TIM-3*, *LAG-3*, *TIGIT*) ható ICI-k is.

A **TIM-3 (T cell immunoglobulin and mucin domain-containing-3)** gátló jellegű receptor, mely az IFN- γ -termelő *CD4+* és *CD8+* T-sejteken, a *FoxP3+* Treg-sejteken, a veleszületett immunsejteken (a makrofágokon és a dendritikus sejteken) expresszálódik, gátolva ezek válaszát a ligandaikkal történő interakcióik során. Tekintve, hogy a PD-1-blokkád a TIM-3 upregulációjára vezethet, s így a PD-1-gátlók, vagy más ICI-k iránt *adaptív rezisztenciát* okozhat, ennek legyőzésére a *TIM-3 gátlása* a jövőben *kombinációs* kezelések forrása lehet [47].

A **LAG-3 (lymphocyte-activation gene-3)** egy másik immunellenőrző pont, mely gátolja gazdaszövetének aktiválódását, és általában fokozza a szuppresszív jellegű immunválaszt. Így pl. a T-sejtek szintjén a LAG-3 csökkenti a citokinek és a granzymek (apoptosist kiváltó szerin-proteázok, melyek a cytotoxicus T-sejtekből és az NK-sejtekből szabadulnak fel) termelődését és ezen sejtek proliferációját, ugyanakkor elősegíti a T-sejtek Treg sejtekké történő differenciálódását [48]. Nagyon biztatóak a LAG-3 blokkolásával elért előzetes eredmények melanomában és egyéb tumorokban, főleg más ICI-vel (PD-1-gátlókkal) *kombinálva* és/vagy *ICI-rezisztens* esetekben [49,50]. A *relatlimab*, mely egy anti-LAG3 antitest, *nivolumab*bal társítva 43,1%-ra növelte az utóbbi 32,6%-os válaszadási arányát (sőt, PD-L1- és LAG-3-pozitív tumorokban 50% fölé) *terápiatípus* melanomás betegeknél (RELATIVITY 047-es vizsgálat). Az új kombinációs készítmény elsővonalbeli alkalmazását metasztatikus melanomában 2022 márciusában az FDA jóváhagyta [73].

A **TIGIT (T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains)**, jelenleg szintén intenzíven kutatott immunellenőrző pont, mely kizárólag a lymphocytaon, így a CD8+ T-sejteken, a memória és szabályozó CD4+ T-sejteken, a follicularis CD4+ T-sejteken, valamint az NK-sejteken található. Az ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) domén a receptor intracelluláris részében helyezkedik el. A TIGIT nagy affinitással képes kötődni a makrofágokon, dendritikus sejteken és egyéb sejteken található CD155-höz, és kisebb affinitással a CD112-höz. A CD155 fokozottan expresszálódik számos daganatszövetben is, és serkenti az illető daganatok növekedését és progresszióját. Elvesztése viszont nemcsak a daganatok növekedését gátolja, hanem növeli érzékenységet PD-L1-gátlók iránt is, egértumor modellekben. Ugyanakkor, a metasztatikus melanómában szenvedő betegeknek észlelt magas CD155 expresszió anti-PD-1 kezelés iránti rezisztenciával társul. Ezek alapján érthető, hogy ígéretesnek mutatkozik a TIGIT és a PD-L1 *kombinált* blokkolása szolid tumorok kezelésében [51].

Érdekességként még megemlítjük, hogy az ICI-k vizsgálata – egyelőre állatkísérletekben – *más célokra* is beindult, így egy esetleges *antiaging* hatás irányába. Azt találták, hogy a PD-L1-t expresszáló öregedő sejtek képesek elkerülni az immune surveillance-t, és felszaporodva gyulladást okozni, ami elősegíti az öregedést. Anti-PD-1 kezelés kedvezően befolyásolta az említett folyamatokat és javította a nem-alkoholos steatohepatitis (NASH) patológiáját is egér-kísérletekben [74].

Terápiás válasz

Az immunterápia jelenti az egyik legnagyobb áttörést az elmúlt évek rákkezelésében. A hagyományos kezelésekhez képest kedvezőbb, tartós hatást érhetünk el, de csak a betegek egy részében. Szelektálás nélküli betegpopulációban ez 20% körül van [13]. A válasz kialakulása, időbeni alakulása más, mint kemoterápia, vagy célzott terápia esetében. A terápiás válasz megjelenése lassúbb, mint a kemoterápia esetén és gyakran átmeneti progresszió (méretbeli, számbeli *pseudoprogressio*) előzi meg a terápiás választ. Objektív válasz helyett, a betegség hosszú távú, klinikailag szignifikáns stabilizálódása alakulhat ki [52].

Általánosságban az immunterápia hatását az immunaktivitás, a keringő és a tumort beszűrő immunsejtek mennyisége, valamint a daganatban detektálható mutá-

ciók mértéke befolyásolja. A hagyományos kezelésekhez képest az immunterápia túlélési görbéjére jellemző, hogy az életben lévő betegek számát jelölő vonal egy idő után már nem süllyed tovább, hanem vízszintes lesz. Azok a betegek, akiknél hat az immunterápia, *tartós túlélők* lesznek. Az ICI-kezelések egymással és más modalitásokkal való kombinációja tovább javíthatja az eredményeket, a jövő a kombinációs kezelésekre lesz [53].

Az immunterápia főleg a *magas mutációs rátájú (magas mutációs terhelésű)* daganatok esetén lehet hatékony. A magas mutációs ráta következtében keletkező kóros fehérjék részben neoantigénekké válhatnak, amelyek fokozzák a daganatellenes immunválaszt. A megváltozott fehérjék közül csak azokból lehetnek neoantigének, amelyek rendelkeznek antigéntulajdonságokkal és MHC-kötő képességgel [54]. A legmagasabb szomatikus mutációs ráta *melanomában, tüdő-, és hólyagrákban* igazolódott. Ezeknél a daganatoknál elsősorban exogén tényezők, így az UV-sugárzás és dohányzás hatására fokozódik a mutációs aktivitás [55]. Nem véletlenül ezekben a daganatokban kezdődtek el a legelső klinikai vizsgálatok. De vannak olyan daganatok (vastagbél, endometrium, petefészek, gyomordaganat) is, ahol a DNS-hibajavító rendszer vagy rendszerek károsodása az elsődleges és meghatározó [56]. A *DNS-hibajavító fehérje mutációja vagy inaktivációja* következtében fokozódik a mutációs ráta, ez megnöveli a neoantigének mennyiségét és ezáltal fokozódik az immunrendszer aktivitása [13].

Prediktív biomarkerek

Az ICI-kezelés többnyire szelektálatlan betegpopuláción történik. Szükség lenne megbízható, könnyen alkalmazható prediktív biomarkerekre, melyek kimutatnák azokat, akik leginkább profitálhatnak e kezeléssel [3,13,26]. PD-1-gátlók esetén jelenleg az egyik legmegbízhatóbb prediktív biomarker a daganatban immunhisztokémiával kimutatható és mérhető *PD-L1-expresszió*, pozitív esetben ugyanis – az eddigi eredmények alapján – az anti-PD-1/anti-PD-L1 kezelés sokkal hatékonyabb [3]. Ezt a *CPS* (combined positive score – kombinált pozitív pontszám) jellemzi, ami e receptor jelenléte esetén ≥ 1 , és minél nagyobb, annál jobb válasz tételezhető fel. Használható a *TPS* (tumour proportion score) is, ami %-ban fejezi ki a PD-L1-expressziót. A PD-1 és PD-L1 dinamikusan változó markerek, expressziójuk nagyban függ a lokális cytokin környezettől és egyéb faktoroktól is. Így a pozitív/

negatív *küszöb* meghatározása vitatott. De pl. az NSCLC TPS $\geq$ 50% PD-L1 expresszióval szignifikánsan jobban reagált pembrolizumabra, mint az alacsony expresszálók. Új NSCLC-ban ez már rutin diagnosztika. Ugyanakkor, szerencsére úgy tűnik, hogy a PD-L1-negatív tumoroknál tapasztalt gyengébb hatás anti-CTLA-4 kombinációjával kiküszöbölhető [3]. Azt is fontos megjegyezni, hogy a biomarker (pl. a PD-L1 expresszió) hiánya nem lehet kontraindikációja klinikailag megalapozott döntés alapján javasolt immunterápiának.

Az anti-CTLA-4 kezelés esetén hasonló prediktív biomarkerünk nincs, így csak a tumorspecifikus mutációk és neoantigének mennyiségéből, az abszolút lymphocytaszámból és az LDH-szintből következtethetünk a terápia sikerességére [57–60].

Egyéb, a terápiás válasz előrejelzését segítő paraméterek lehetnek a *neutrofil-lymphocyta arány* (NLR), a tumorinfiltráló immunsejtek jelenléte és a tumorszövetben expresszált molekulák [57,58,60]. A magas immunoscore-ú „*hot*” tumorok sokkal jobban reagálnak ICI-terápiára. A *tumorinfiltráló immunsejtek* fokozott jelenléte a kezelés előtt, tehát a korábbi tumorelles immunválasz, az ICI-terápia sikerességének előfeltétele; ha ez hiányzik – tehát nincs immunsejtes infiltrátum –, a daganatok kevésbé reagálnak. Ma már ilyen esetekben is próbálkozhatunk, pl. *bekapcsoló mechanizmus* azonosításával az immunrendszerben, mellyel kezdeti lépésként immunválaszt váltunk ki, amit az ICI alkalmazása követ. Ilyen például a *STING* (*stimulator of interferon genes*) aktiválása, ami a „*cold*” tumorokban is sikeressé teheti a PD-1-gátlást [61]. Másik lehetőség az *előzetes sugárterápia*, mely a beteg tumorából in situ „vakcinát készít”, ami ellen kialakulhat immunválasz [62].

A terápiás válaszkészség felbecsülése a kezelés beindítása előtt és követése a kezelés során annyira fontos, hogy pl. az FDA az ICI-tartalmú szereket egy adott gyógyszertermékre engedélyezi (pl. a pembrolizumab esetében a Keytruda^R-t, a nivolumabnál az Opdivo^R-t, míg az atezolizumabnál a Tecentriq^R-et engedélyezte), s ugyanakkor – rendszerint – jóváhagy olyan kiegészítő szereket is, amelyeket a gyártó forgalmaz az illető gyógyszer hatásainak kimutatására és követésére. Az állandó követés alapvető fontosságú, mert ismert tény, hogy az ICI-k (így a PD-L1) expressziója megváltozik a különböző rákellenes kezelések (kemo-, radio-, célzott terápiák) hatására [63,64]. Különösen fontos felismerni, hogy a kezelés megváltoztatta-e a *daganat mutációs terhelését* (ha alacsony volt, megnövelheti), ill. változhat a

PD-L1-expresszió. Meghatározva a kombinációs kezelések optimális sorrendjét, az adagokat, valamint az adagolás időpontjait és tartamát, kedvezően befolyásolhatjuk a daganat mikrokörnyezetét, s ha fellep az escape, tovább szélesíthetjük az ICI-kezelést [26].

Terápiarezisztencia

Az ICI-terápiára adott válasz rendkívül heterogén, és gyakran jelentkezik rezisztencia, melynek tisztázása és mechanizmusainak visszafordítása egyre fontosabbá válik. Az ICI-rezisztencia hátterében a tumor szempontjából *intrinszik* és *extrinszik* faktorokat különböztetünk meg [65]. Előbbi csoportba a tumorsejtekben jelen lévő faktorok, mint az onkogén jelátviteli útvonalak, a mutációk mennyisége, a HLA-downreguláció, a PD-L1-expresszió tartoznak, továbbá a TME egyes immun-suppresszióért felelős alkotóelemei, például a *Treg-ek* és a *tumort infiltráló myeloid eredetű sejtek*, melyek többek között a *cytotoxicus T-sejtek* (CD8+) gátlásával az effektív T-sejt-válasz blokkolását okozzák [65–68]. Egy preklinikai egérmodellben például a tumorban felszaporodó TAM-ok állhatnak az ICI-rezisztencia hátterében, melyek egy myeloid PI3K γ -izoforomot nagy százalékban expresszálnak [69]. A PI3K γ fontos szerepet játszik a TAM-ok immun-suppresszív és immunstimuláló működése közötti átkapcsolásban, így ennek szelektív gátlásával a TAM-ban gazdag tumorokban az ICI-rezisztencia megszüntethető, ez a gátlás ugyanis az effektor T-sejtek működésének serkentésével csökkenti az immun-suppressziót, és visszaállítja az ICI-érzékenységet [69]. Ezt a hipotézist megerősítendő, egy *PI3K-inhibitor* (IPI549) monoterápiában, illetve a PD-1-gátló nivolumabbal kombinálva már tesztelés alatt van fázis I/Ib vizsgálatokban (NCT02637531) előrehaladott stádiumú szolid tumorokban.

Az *extrinszik* faktorok közül az immunrendszer előregedésének (*immunosenescence*) szerepe bizonyított, de feltehetően befolyásoló tényező a *diéta*, az inzulin PI3K-útvonalra kifejtett aktiváló hatásán keresztül, továbbá a fennálló *krónikus gyulladás*, mely gátolja a T- és NK-sejtek tumorba történő migrációját, és felmerült a *bélflóra* összetételének szerepe is, egy nem-immunogén *Bacteroides* sp. felszaporodása ugyanis teljes ipilimumab-rezisztenciát okoz, szemben az immunogén *Bacteroides* sp.-vel [65]. A bélflóra szerepére nézve egyre több új adat halmozódik fel.

ICI-társítások

Társíthatók egymással és más rákellenes kezelésekkel, így *műtéttel, sugárterápiával* (abscopalis hatás), *kemo-terápiával, egyéb immunstimuláló kezelésekkel* (pl. makrofág immunellenőrző-pontok gátlásával, onkolitikus vírusterápiával) és más rákellenes gyógyszerekkel. Egyre gyakrabban kombinálják az ICI-ket *VEGF-gátlókkal, tirozinkináz-gátlókkal* (TKI), pl. lenvatinibbel, vagy cabozantinibbel. Figyelembe véve egyrészt, hogy a társítások részletes ismertetése meghaladná összefoglalónk kereteit, másrészt, hogy a kombinálásokat kapcsolatos ismeretek most vannak kialakulóban és sok esetben ellentmondások, eltekintünk a részletektől és csak a fontosabb, többnyire kellően megerősített adatok közlésére szorítkozunk.

Az ICI-ket nem ritkán társítják egymással (pl. az anti-CTLA-4 antitesteket anti-PD-1, ill. anti-PD-L1 antitestekkel) szinergista hatás elérésére. Ez a lehetőség már ismertetésre került (az egyes ICI-k tárgyalása után és az újabban felismert immunellenőrző-pontokon ható ICI-k tárgykörében).

Említve volt már a *tirozinkináz-gátlókkal* (TKI) történő, nem ritka társítás is. Így, a *pembrolizumabot* gyakran kombinálják lenvatinibbel, pl. *anaplasztikus és gyengén differenciált pajzsmirigyrákokban, l. előbb*, [71,72] illetve előrehaladott endometriumrákban, melyben szignifikánsan megnövelte a PFS-t (progression-free survival) és az OS-t (overall survival) a kemoterápiához képest [75].

Az *atezolizumabot* cabozantinibbel (előrehaladott fejnyaki laphámsejtes rákokban – HNSCC) társították jó eredménnyel, gyors és tartós hatást érve el olyan betegeknél, akik előzetesen platina-alapú kezelést kaptak [76,77].

Kombinálhatók *célzott kezelésekkel*, pl. *BRAF-, vagy MEK-gátlókkal*, egymást követő terápiák formájában. Terápiáink, előrehaladott, metasztatikus, BRAFV600

mutációt hordozó melanomában egy fázis III vizsgálat összehasonlította az *ipilimumab+nivolumab* kombinációját *dabrafenib* (BRAF-gátló)+*trametinib* (MEK-gátló) kombinációjával – időrendben az egyik ágon előbb az egyik fajta társítást, a másik ágon a másik kombinációt alkalmazva [78]. Azt találták, hogy a betegek döntő többségénél előnyösebb ipilimumab+nivolumab társításával kezdeni a kezelést, – s ha szükséges – BRAF- és MEK-gátlókkal folytatni [79].

Új lehetőség az ICI-k társítása *stimuláló immunellenőrző-pontokat aktiváló* szerekkel. A *pembrolizumabot* társítva *sotigalimábbal*, mely egy *CD40-agonista* antitest, olyan metastaticus melanomás betegeknél, akik azelőtt nem kaptak ICI-kezelést, 50%-os objektív válasz-arányt (ORR – objective response rate) észleltek a távoli léziókra vonatkozóan és 67%-os betegségkontroll-arányt (DCR – disease control rate) a 30 vizsgált és kiértékelhető páciensnél (fázis I/II vizsgálat). A kezelést a betegek jól *tolerálták*, hatására fokozódott az öröklött és adaptív immunaktiváció, a klinikai javulással korreláltan. Az eredmény biztató, megérdemel egy nagyobb, randomizált prospektív tanulmányt [80].

Különösen fontos szempont a társításoknál a *mellékhatások* kérdése. Igen gyakran összeadódnak az egyes gyógyszerek toxikus hatásai, s így intenzitásuk elérheti a 3. vagy 4. fokozatot, ami nagyon megkérdőjelezi, vagy egyenesen elfogadhatatlanná teszi az adott kombinációt. A mellékhatásokat egy következő összefoglaló dolgozatban fogjuk részletesen ismertetni.

Irodalom

(lásd az angol nyelvű cikk végén)