

Új lehetőség a daganatok immunkezelésében

BAKÁCS TIBOR DR.¹, BÁNHIDY FERENC DR.², TUSNÁDY GÁBOR¹

¹Magyar Tudományos Akadémia Rényi Alfréd Matematikai Kutatóintézet Valószínűségszámítási és Statisztika Osztály, Budapest

²Semmelweis Egyetem II. Sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

E-posta: tiorbakacs@gmail.com

■ ÖSSZEFOGLALÁS

A daganatkezelés új csodagyógyszerének tekintett ipilimumab (Yervoy; anti-CTLA4-ellenanyag) – a várakozásoknak megfelelően – az előrehaladt melanomás betegekben képes áttörni az immuntűrést. A fejlesztők azt remélték, hogy az ipilimumab felszabadítja a daganatra fajlagos T-sejteket a daganatsejtek gátlása alól, és így azok tartós támadásba lendülnek a ráksejtek ellen. Tizennégy, 1-3. szakaszú klinikai vizsgálatot végeztek 1498 előrehaladt melanomás beteg részvételével. A betegek 64,2%-ában immuneredetű mellékhatások jelentkeztek az immuntűrés áttörésének következményeként. Az azonban nem volt bizonyítható, hogy a daganatsejteknek az ipilimumab által kiváltott CTLA4-zárlattal előidézett elpusztítását a ráksejtek elleni fajlagos T-sejtek okozták. Több klinikai vizsgálat mégis arra utal, hogy van kölcsönös összefüggés a 3-as és 4-es fokú autoimmun mellékhatások és a klinikai hatékonyság között; vagyis a daganat visszafejlődése összefüggésben áll az autoimmunitás kifejlődésével.

Ezért javasoltunk a kezelés biztonságosságának és hatékonyságának növelésére egyféle új szemléletet, úgymond kezelési korszakváltást. Lényege: a nyiroksejtek általános gerjesztését (panlymphocyt-aktiváció) az úgynevezett pretargeting módszerrel előnyössé lehet tenni. Ezt a módszert a daganatok izotópos kórismezésében és kezelésében már régóta sikerrel alkalmazzák. Először a streptavidin (StAv) molekulával egyésített ellenanyagot adunk; ezek a daganatsejtekhez kötődnek. Ezt követi a biotinnal jelzett anti-CTLA4-ellenanyag alkalmazása. Az anti-CTLA4-ellenanyaggal a T-sejtek működése hosszan fenntartható: így azok elérik és elpusztítják a daganatsejteket mielőtt a tervezett sejthalál áldozatai lennének. Ugyanakkor, mivel az StAv rendkívüli érzékenységgel (K_D 10^{-15}) köti a biotint, szinte valamennyi aktív T-sejt a daganatsejtekhez kötődik, az ép sejtekhez jószereivel nem, ezért nem alakul ki autoimmunitás.

A tömeghatás törvényt alkalmazva kiszámítottuk, hogy >1 mg/l ipilimumabbal (ez 70 kg-os betegnél ~ 5 mg) az immunrendszer felszabadított erejét lézerpontossággal lehetne a daganatsejtekre irányítani. Így a szabályos sejteket ért támadást és a mellékhatásokat el lehet kerülni.

Kulcsszavak: a tolerancia áttörése, a hatékonyság és biztonság javítása, ipilimumab, Yervoy

■ ABSTRACT

Ipilimumab (Yervoy; anti-CTLA-4 antibody), the new ‘wonder drug’ of cancer therapy was able to breakdown immune tolerance in advanced melanoma patients, as it was predicted. The developers hoped that tumor specific T cells will be released from tumor induced immune suppression such that they will attack cancer cells. However, the fact is that in 14 phase I-III trials 64.2% of the 1498 advanced melanoma patients suffered from immune-related adverse events (irAEs). These irAEs demonstrate the breakdown of tolerance. There is, however, no evidence that the CTLA-4 blockade induced anti-tumor activity is caused by tumor specific T cells. Several trials suggested that there is a correlation between clinical efficacy and grade 3 and 4 irAEs. In other words, tumor regression seems to be associated with the development of autoimmunity.

In order to increase the safety and efficacy of ipilimumab therapy here we suggest a new therapeutic paradigm. The panlymphocytic activation should be exploited by the so-called pretargeting technology. The latter has been successfully used in cancer radioimmunodetection and radioimmunotherapy since many years. First, an anti-tumor mAb conjugated with streptavidin (StAv) should be administered to be followed by the delivery of biotin-labeled anti-CTLA-4 mAb. This schedule has the virtue of endowing T cells with the ability to travel to tumor sites without prematurely succumbing to apoptosis, while streptavidin’s ultra-high affinity for biotin (K_D , 10^{-15} M) ensures capturing all T cells binding biotin labeled anti-CTLA-4. Using the law of mass action, we calculated that following administration of ipilimumab at >1 mg/L concentration (~ 5 mg per patient ~ 70 kgbw), the immense forces of the immune system liberated by the anti-CTLA-4 antibody blockade would then be focused with laser sharp accuracy on tumor cells without collateral damage to normal host cells.

Key words: breakdown, efficacy, improve, ipilimumab, tolerance, safety, Yervoy

„Az igaz az egész.” Hegel

■ BEVEZETÉS

Daganatok, járványok, oltások, immunológia, daganatimmunológia, „The big picture” Rosszindulatú daganatban szenvedő betegekről több ezer éve tudunk. Hippokratész már leírt több daganatfajtát. Az immunológia kicsit lassabban született meg. A történelemformáló erejű járványokat az ókorban még az istenek büntetésének tartották. A „Fekete halál”, a pestis, a XVII. század végéig állandóan jelen volt Európában, kb. 10 évente pusztított és 25–30 millió ember haláláért felelős. Már ekkor felismerték, hogy a betegség emberről emberre terjed, és hogy megvédjék magukat a pestistől, a tengerparti városok már a XIV. században elrendelték, hogy a tengerészek és az utasok a hajók érkezésétől számított 30 nap várakozási idő után léphettek partra. Ezt később 40 napra terjesztették ki (olaszul: quaranta giorni); a karantén kifejezés innen származik.

Ugyanakkor a 18. században már általánosan ismert volt, hogy a tehénfejő lányok általában nem kapták el a fekete himlőt. Erre a megfigyelésre alapozva Edward Jenner angol sebész elméletet dolgozott ki, hogy a lányokat a tehénhimlő hólyagból származó genny védte meg a fekete himlőtől. Elméletét 1796. május 14-én tesztelte. Kertészének 8 éves fiát egy fejőlány tehénhimlő hólyagjából lekapart gennyel oltotta be, aki később ellenállt a fekete himlőnek. Jenner felfedezését a Londoni Királyi Társaság kétkedve utasította el:

„A Társaság Tagjának óvatosnak kellene lennie, és nem volna szabad kockára tennie megbecsültségét azáltal, hogy olyasmit nyújt be a tanult testület elé, ami ennyire eltér az elfogadott ismeretektől, ráadásul ennyire hihetetlen.”

A Jenner által kidolgozott oltást máig alkalmazzák. A vakcinázás elnevezést *Louis Pasteur* használta először, így tisztelgett Jenner munkássága előtt.

A mikrobák elleni védekezés kidolgozása tekinthető a korszerű immunológia kezdetének. A kórokozó mikrobáktól az immunrendszer védi meg a saját sejteket, ugyanakkor – az immunfelügyelet elmélet szerint (lásd lejjebb) – védekezik a saját sejtekből folyamatosan keletkező daganatcsírák ellen is (1). Ez az alapja annak a kezelési törekvésnek, miszerint a védőoltásokhoz hasonlóan az immunrendszert a daganatok elleni védekezésre is meg lehet „tanítani”.

Annak ellenére, hogy ma is az immunológiától várják a daganatok valóban hatékony kezelését, a rosszindulatú daganatok működési folyamatait és az immunrendszer elméleti leírása, valamint a kettő viszonya még mindig kiforratlan. Az egyre pontosabb kórismézési eszközök (például az új generációs szekvenálás) még sok meglepetést tartogatnak. Közben elméletek születnek, és adják át helyüket várhatóan újabbknak a jövőben is. Az egyes elképzelések inkább a részletekben térnek el.

Bár abban egyetértés van, hogy a T-sejtek feladata felismerni, ki a saját (barát) és ki az idegen (ellenség), még nem tisztázott, hogy ennek a felismerő képességnek mi a pontos molekuláris biológiai alapja. Két elméleti tábor áll szemben egymással. Az egyik szerint az idegen antigének valamilyen teljes jegyzéke jön létre az immunrendszerben. Ha ezen az immunrendszer valakit azonosít, akkor boldogan felkiált, aha, te vagy az ellenség. El kell téged pusztítani. A másik tábor szerint ennek semmi valóságalapja nincs. Arról nem is beszélve, hogy nincs is szükség erre, hiszen ha valaki nem saját és kárt okoz, az csak ellenség lehet. Az a gondolat, hogy az immunrendszer elsődleges feladata a saját antigén-környezetének megismerése („ismerd meg önmagad!”), egyidős az immunológiával.

Tíz évvel a Human Genom ismertetése után a genom működéséről még nagyon keveset tudunk. A Major Histocompatibility Complex (MHC) rendszer talán a kivétel; ezt azonban már jóval a Human Genom megszületése előtt is jól ismertünk. Az MHC úgy képzelhető el, mint egy virágváza, amelybe a sejtek 10–12 aminosavból álló peptideket tesznek ki a sejtthártyára. A T-sejtek dolga ezek felügyelete, ugyanis a bemutatott peptidek alapján különböztetik meg a T-sejtek a sajátot és az idegent. Nem tartjuk hihetőnek azt a feltevést, hogy minden T-sejt minden MHC-molekulában megjelenő peptidet felismerne.

Tíz éve jelentek meg az első elméleti munkák (2, 3), amelyek feldolgozták az időközben összegyűlt kísérleti megfigyeléseket, és bizonyították, hogy a T-sejtek és a saját MHC-molekulák folyamatos kapcsolatára életbevágó szükség van. Viszont mi gondoltuk végig először azt, hogy miként ellenőrizhet egy bonyolult rendszert egy olyan ellenőrköből álló rendszer, amelynek a tagjai csak töredékét ismerik annak, amit ellenőrizniük kell (4-6).

Azt tudjuk, hogy a T-sejtek a csecsemőmirigyben kétféle (pozitív és negatív) kiválogatódáson mennek keresztül. Ennek eredményeként a nyirokkeringésbe csak olyan T-sejtek kerülhetnek, amelyek bizonyos saját peptideket képesek felismerni. A saját peptidek felismerésének jelentősége azonban sokáig rejtély maradt. Az immunológiával először találkozók számára már az is meglepetést jelenthet, hogy az immunrendszernek miért a méhen belüli fejlődés 8–10. hetében kell megtanulni a sajátot *peptidek* alapján felismerni. Ugyanis a saját benne van a DNS-ben. Miért nem képes a szervezet, mint tiszta forrásból, közvetlenül a DNS-ből levezetni, hogy mi a saját és mi nem az? Természetesen a biológiai rendszerek működését nem szabad saját észjárásunk alapján értelmezni. Itt és most nem a mi dolgunk a tiszta ész kritikája épp az immunológiával kapcsolatban, de érintőlegesen megjegyezzük, hogy az idegsejtek és az immunsejtek viselkedésében sok a párhuzamoság (és persze legalább annyi a különbség is). Ma még homályos, hogy a két rendszer között milyen kapcsolat van. Természetesen az emberi testet csak teljes rendszerként szemlélhetjük. Mindenféle merev elválasztás tévedésekre vezethet.

A szervezetet folyamatosan érik génhibát okozó káros hatások. Ennek során állandóan keletkeznek daganatsejtek. Ezeknek

néha sikerül az ellenőrzésen átcúszniuk, és ezért elszaporodnak. Külső segítség nélkül az immunrendszer ilyenkor már tehetetlen. Ezért igyekeznek már több mint 100 éve az immunrendszert a daganatok ellen serkenteni. A legújabb immunösztönző molekula a Bristol-Myers Squibb által kifejlesztett, CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) elleni antitest (Ipilimumab, Yervoy), amelyet távoli áttéteket adó melanomák kezelésre alkalmaznak. A tömegtájékoztató földindulás méretű áttörésről ír (<http://www.msnbc.msn.com/id/37514210/ns/health-cancer/>). Az új kezelés jelentőségét azonban csak a daganatimmunológia korábbi kísérleteivel összevetve ítélni tudjuk meg.

■ FEJEZETEK A DAGANATIMMUNOLÓGIA TÖRTÉNETÉBŐL

A szövetátültetés törvényszerűségeit daganatokkal végzett immunizálás során fedezték fel A védőoltások sikerein felbuzdulva a kutatók már a 20. század elején megpróbálták a daganatok ellen immunizálni. Mivel a kialakuló daganatok ellen ez általában nem sikerült, daganatok átültetésével kísérelték meg, hogy létrehozzanak a daganatra fajlagos ellenszérumot. Beltenyészett állatok hiányában azonban „csak” a transzplantáció törvényeit fedezték fel. Kiderült ugyanis, hogy az átvitt daganatok sorsát az antigének genetikai (és nem szöveti) eredete dönti el (7).

Beltenyészett egerekben a kémiai rákkeltők és a vírusok daganatfajlagos antigének képződését váltották ki Beltenyészett egerekben az immunrendszer válaszol a daganatfajlagos és a daganattársult antigénekre is. Az előbbieket csak a daganatsejteken, az utóbbiak viszont az ép sejteken is megtalálhatók. Rákkeltőkkel létrehozott daganatokban a szabályos gének átalakulása miatt hibás fehérjék, a daganatra fajlagos antigének jelennek meg, és előidézik az immunitást. A vírusok hatására keletkezett daganatok olyan vírusfajlagos antigéneket hordoznak, amelyek daganatantigénként működnek. Ilyenek például a méhnyakrák kóroki tényezőjének, az emberi papillomavírus E6-os és E7-es génjeinek termékei, vagy az EBNA1, az Epstein-Barr-vírus nukleáris antigénje is, amely a Burkitt-lymphoma és az orrgarati ráksejteken található (8–10).

Monoklonális antitestekkel az emberi daganatokban is találtak fajlagos antigéneket A monoklonális ellenanyagok felfedezése (a hibridoma technológia) (11) tette lehetővé, hogy emberi daganatokon is keressenek fajlagos antigéneket (12–14). A monoklonális ellenanyagokat ma már számos betegség kezelésében alkalmazzuk, mindenekelőtt a daganatos és az immunológiai betegségeknél. A gyógyszerrel vagy izotóppal egyesített ellenanyagokat az irányított rakétákhoz szokták hasonlítani, amelyekben egy irányító egységet és egy hatékony végrehajtó molekulát kapcsolnak össze; ezek ma már a leg-sikeresebb új kezelési lehetőségek közé tartoznak. Az Amerikai Élelmiszer- és Gyógyszerellenőrző Hatóság (US Food and Drug Administration, FDA) 2010-ig 28 monoklonális ellenanyag klinikai alkalmazását engedélyezte (15–18).

A daganatok több mint 85%-a azonban tömött (solid) növedék; ezekbe, anatómiai helyzetük és rossz vérellátásuk

következtében, a beadott ellenanyagok csupán 0,01%-a jut (19, 20). A hatékonyabb immunkezeléshez ezért további lehetőségeket kellett keresni.

Az immunfelügyelet elmélete szerint az immunrendszer nemcsak a mikrobák, de a daganatok ellen is védelmet biztosít Az 50-es években kidolgozott immunfelügyelet- (immunosurveillance) elmélet feltételezése szerint az immunrendszer sejtjei nemcsak a mikrobákat, de a daganatsejteket is idegen ágensként ismerik fel és pusztítják el (1). Hosszú ideig azonban nem tudták az elméletet kísérletesen igazolni. Csak a T-sejtek tenyésztésére szolgáló módszerek kifejlesztése tette lehetővé, hogy daganatos betegekben daganatfajlagos T-sejteket keressenek (21). Ez a módszer áttörést eredményezett: sikerült ugyanis egy olyan melanomafajlagos antigént (MAGE1) kimutatni, amelyik tenyésztésben működésbe hozta az emberi T-sejteket. Az antigént kódoló MAGE1-gént is azonosították (22). Ezek a vizsgálatok bizonyították, hogy az emberi immunrendszer is képes a daganatok antigénjeire kapcsolódni. A daganatantigének téra egyre bővül, és ezek az antigének hasznos célpontok lehetnek a daganatok kezelésben (14, 23).

A daganatok elleni immunválasz in vitro szemléltetése Az ép és a daganatsejtek egyaránt rövid peptidláncokra bontják a fehérjéket. Ezeket a peptideket az MHC-molekulák az antigénbemutató sejtek (APC-k) felszínén bemutatták a daganatsejtet elpusztító T-sejteknek. A daganatok hibás géntermékeiből vagy megváltozott fehérjéiből is az MHC-molekulák jelenítik meg a peptideket (24). Daganatfajlagos antigének kimutatására meghatározták a daganatsejtek MHC-molekuláiban megmutatott peptid aminosav-összetételét (25–27). Mivel az APC-k (például a dendritikus sejtek) is tenyészthetők (28), lehetőség nyílt az immunreakció in vitro szemléltetésére. Az APC-k a daganatsejtekből származó peptidekkel feltölthetők és T-sejtekkel együtt tenyészthetők. Így a tenyésztésekben utánozhatjuk az immunválaszt: amelyik peptid hatására a T-sejtek osztódnak, azokat a daganatra fajlagosnak tekintik (29). A vizsgálatok már több mint 100 ilyen peptidet ismertek fel. Ezek kis része egyedi génhibák fehérjeterméke, zömükben azonban a szokványos fehérjékből származnak, de a daganatsejtek megváltozott formában mutatják be őket.

Hatékony fajlagos T-sejt-válasz csak két jeladással váltható ki Az antigén felismerését követően a T-sejt-jelfogón (TCR [T cell receptor]) keresztül, a fajlagos antigénre keletkezik az első jelzés. A T-sejtek gerjesztéséhez azonban egy második jeladásra, az ún. társjelzésre, is szükség van. A mikrobák, illetve a természetes immunválasznál felszabaduló citokinek hatására ilyen kiegészítő jelmolekulák jelennek meg az APC-k felszínén (például a B7-1/B7-2 [CD80/86]). Ha a második jelzés elmarad, nem termelődik megfelelő mennyiségű IL2, és a T-sejtek nem osztódnak. Helyette az „anergiának” nevezett állapot alakul ki, amelyben a T-sejtek érzéketlenek az antigénre. Ennek következtében leáll az IL2-es gén átírása, és az érintett T-sejtek az IL4-re sem válaszolnak (30).

A B7-es jelmolekulák hatása attól függ, hogy a T-sejtek melyik jelfogójához kötődnek:

- A CD28-jelfogóhoz kapcsolódva sejtosztódást indítanak és gerjesztik is a T-sejteket, így gerjesztett T-sejt-halmazok (klónok) jönnek létre,
- A CTLA4-jelfogóhoz kötődve leállítják a T-sejtek működését, a CTLA4 tehát a T-sejtek negatív szabályozója. Szokták mondani, hogy a CD28-jelfogó a T-sejtek gázpedálja, a CTLA4-jelfogó pedig a T-sejtek fékje. A CTLA4-jelfogók csak az érett (az antigénnel már érintkezett) működő T-sejteken jelennek meg; ezek akadályozzák meg, hogy a T-sejt – saját antigén kölcsönhatásokból autoimmunitás alakuljon ki (31–37).

Ha genetikai hiba vagy orvosi beavatkozás miatt a CTLA4-jelfogók nem működnek, a CD28-jelfogók korlátozás nélkül fejthetik ki hatásukat. Ez végül is az immuntűrés áttöréséhez vezet, ezért meghatározó a CD28- és a CTLA4-molekulák kiensúlyozott működése az egészség megőrzésében.

■ VALÓBAN EGYÉRTELMŰ ÁTTÖRÉS A DAGANATOK KEZELÉSÉBEN A CTLA4-JELFOGÓ GÁTLÁSA IPILIMUMABBAL?

Ritkán fordul elő, hogy egy orvosi elképzelést több ezer beteg adatai alapján, rövid időn belül, egyértelműen sikerül igazolni. A CTLA4-jelfogó-gátlás esetében pontosan ez történt, jóllehet az ipilimumab jelenlegi kezelési elve számos megfigyeléssel nem egyeztethető össze.

Az ipilimumab fejlesztői azt remélték, hogy a CTLA4 gátlása csak a daganatfajlagos T-sejtek immuntűrését szünteti meg; feltételezték ugyanis, hogy a daganatos betegben csak a daganatfajlagos T-sejtek gerjesztődnek. Ez a feltételezés azonban nem egyeztethető össze a kezelés alatt fellépő autoimmun mellékhatásokkal, amelyek az adag emelésével súlyosbodnak. Ahogy emelték a gyógyszer adagját 0,3 mg/kg-ról 3 mg/kg-ra, majd 10 mg/kg-ra, az autoimmun mellékhatások is egyre gyakoribbá váltak: 26,4%-ról 64,8%-ra, majd 70,4%-ra emelkedtek (38). Tizennégy befejezett, 1-3. szakaszú klinikai vizsgálatban a betegek 64,2%-ában fordultak elő immuneredetű mellékhatások. Ezekben a vizsgálatokban 1498 előrehaladt melanómás beteg vett részt. A vizsgálatok zömében életveszélyes mellékhatásokat is észleltek, sőt előfordult (<0,1%) a gyógyszerrel összefüggő halálozás is (39). A CTLA4 gátlása tehát a nem daganatfajlagos T-sejtek immuntűrését is módosította, legalábbis az alkalmazott ipilimumab mennyisége mellett.

Kétségtelen a CTLA4-zárlat daganatellenes hatása, de nem bizonyított, hogy ez a daganatfajlagos immunreakció következménye, mint ahogy az sem, hogy az ipilimumab hatására a daganatfajlagos T-sejtek feldúsulnának. Ezzel szemben több klinikai vizsgálatban találtak összefüggést a 3-as és 4-es fokú immuneredetű mellékhatások és a kezelés hatékonysága közt

(40, 41). Ez arra utal, hogy a daganat visszafejlődése összefüggésben áll az autoimmunitás kialakulásával, és ezért a hatékonyság növelése csak a biztonságosság rovására történhet. Összesen egy olyan közleményt találtunk az irodalomban, ahol a daganatos betegség javulása és az immuneredetű mellékhatások között nem volt szignifikáns kapcsolat. De még itt is eredményesebb volt a kezelés az autoimmun mellékhatásokat elszenvedő betegekben, mint akikben nem jelentkeztek autoimmun mellékhatások (42).

A CTLA4-jelfogó-zárlat veszélyét egyelőre csak mi ismertük fel
Úgy tűnik, hogy az irodalomban található 548 ipilimumab témájú cikk szerzői között ma még egyedül csak mi figyelmeztünk a zárlat veszélyeire (43) (PubMed irodalomkutatás 2013. július 3.-án készült, már a 43-as irodalom megjelenése után). A nehézség ugyanis az, hogy a CTLA4-jelfogó egyaránt megtalálható a daganatra fajlagosan és a nem fajlagosan gerjesztett T-sejteken. Ilyen körülmények között az ipilimumab adagjának növelése azért veszélyes, mert az ellenanyag-mennyiség növelésével egyre több nem daganatfajlagos, serkentett T-sejt is megköti az ellenanyagot (44). Valójában a második 3-as szakaszú ipilimumab klinikai vizsgálat (45) mutatta meg egyértelműen, hogy félelmünk megalapozott: a betegek csaknem 80%-ában alakultak ki autoimmun mellékhatások, ezek 42%-a sajnos 3-as és 4-es fokú volt.

Első ipilimumabról szóló cikkünket követően (43), *Curran és munkatársainak* (46) gondolatébresztő megjegyzései nyomán, új kezelési elvet kidolgozva ajánlottunk gyakorlati megoldást, amellyel az ipilimumab biztonságosságát és hatékonyságát egyaránt lehet növelni. Véleményünk szerint ugyanis a T-sejtek mindegyikének serkentésekor, nem az a feladat, hogy kétségbeesett immungátló kezeléssel kíséreljük meg a szellemet visszagyömöszölni a palackba. Sokkal inkább arra lenne szükség, hogy a T-sejteknek a CTLA4-zárlat által felszabadított hatalmas erejét megzabolázza állítsuk a T-sejteket a kezelés szolgálatába. Reméljük, hogy javaslatunk megvalósításával nő a gyógyuló betegek aránya, miközben a kezelés biztonsága is fokozódik.

Az új, egyjelzések T-sejt-elmélet jobban magyarázza az ipilimumabnak a klinikai hatást, mint a hagyományos kétjelzések T-sejt-elmélet
Ebben a közleményünkben szeretnénk bemutatni, hogy az ipilimumab klinikai hatékonyságát jobban lehet magyarázni az általunk leírt új, ún. egyjelzések (egyszignális, one-signal) T-sejt-működési elmélettel (4–6), mint a hagyományos kétjelzések (two-signal) elképzeléssel. Továbbá azt, és ez talán még fontosabb, hogy az egyjelzések elméletre alapozott kezeléssel az autoimmun mellékhatások is jószereivel elkerülhetők. Ekként a jelenlegi kezelés ördögi köréből (a hatékonyság növelésével a mellékhatások is fokozódnak) is ki lehetne törni. Feltételezésünk szerint a csak mérsékelt autoimmun mellékhatásokat okozó, 0,3 mg/kg ipilimumabadagnál jóval kisebb mennyiséggel is hatékonyan gyógyíthatunk az általunk javasolt kezeléssel.

■ AZ IPILIMUMAB ÜGYÉBEN MÉG TÁRGYAL A ZSÚRI

Pardoll és Drake (47) szerint a gyakorló onkológusok nem tudományos elvek alapján ítélnék meg egyes kezelési módszereket, mivel csak azt figyelik, miként válaszol a betegség a kezelésre. Ezzel a megállapítással mi is egyetértünk. Ezért lesz hasznos az ipilimumab klinikai hatékonyságának és mellékhatásának arányát az alábbiakban közelebbről is megvizsgálni.

Az első 3. szakaszú vizsgálatban 3 mg/kg ipilimumabot adtak (48), és 643 beteget kezeltek. Ebben a vizsgálatban 14 gyógyszerrel összefüggő halálozás történt (2,2%), ezek közül 7 immuneredetű mellékhatások miatt. Ugyanakkor az ipilimumab–peptidvakcina-csoport 403 betegéből csak egy betegben (0,2%), míg az ipilimumabcsoport 137 betegéből pedig csak kettőben (1,5%) fejlődött vissza a daganat teljesen (complete response, CR).

A második 3. szakaszú vizsgálatban már 10 mg/kg ipilimumabot adtak (45). Itt az ipilimumab–dacarbazine-csoportban a 250 betegből négyben (1,6%) észleltek teljes hatást, ugyanakkor az immuneredetű mellékhatások viszont 59,7%-ról (N = 301) (47) 77,7%-ra (N = 192) (45) emelkedtek. A placebo–dacarbazine-csoportban a 252 betegből csak kettőnél (0,8%) figyeltek meg teljes választ.

Az első 3. szakaszú vizsgálatban észlelt 3-as és 4-es fokú mellékhatások 12,4%-ról (N = 58) a második vizsgálatban 41,7%-ra (N = 103) emelkedtek. Ahogy az várható volt, a több mint háromszorosra emelt ipilimumabadag csoportjában sokszor kellett megszakítani a kezelést. Az ipilimumab–dacarbazine-kezelési csoportban a 247 betegből (aki legalább egy kezelést kapott) 89 beteg (36,0%) hagyta abba a kezelést. Ugyanakkor a dacarbazine-csoportban a 251 betegből (aki legalább egy kezelést kapott) csak 10 beteg (4%) szakította félbe a kezelést. Fontos megjegyezni, hogy a placebo–dacarbazine-kezeléshez képest az ipilimumab–dacarbazine-kezelés csak 2,1 hónapos túlélési előnyt biztosított (45).

Több ezer beteg kezelése alapján megállapíthatjuk, hogy a gyógyszerfejlesztők legfontosabb elvárását nem igazolják az adatok. A fejlesztők szerint ugyanis a kísérőbetegségben nem szenvedő daganatos betegben a CTLA4-jelfogó-pozitív T-sejtek legnagyobb része vagy a daganat ellen ható fajlagos T-sejt, vagy a fajlagos T-sejteket szabályozó T-sejt (regulatory T cell). Utóbbiak leállítják a daganatfajlagos T-sejtek gerjesztését (46). *Maker és munkatársai* (49) ugyanakkor arról számoltak be, hogy növekvő mennyiségű anti-CTLA4-ellenanyaggal kezelt betegekből izolált CD4+ és CD8+ T-sejteken növekedett a HLA-DR (egyfajta T-sejt működési jelző) kifejeződése. Ezt a megfigyelést később *Sarnaik és munkatársai* (50) is megerősítették. A HLA-DR kifejeződése a CD4+CD25+ és a CD4+CD25- sejtekben egyaránt nőtt. Mindez arra utal, hogy az ipilimumab az aktív T-sejtek mindegyikére hat.

Ezért mi – egyelőre egyedül – kételkedtünk abban, hogy az immunológiai ellenőrzőpontok sikeres, anti-CTLA4-ellenanyag

(ipilimumab, Yervoy) adásával kiváltható gátlásával valaha is biztonságos lehet a daganatellenes kezelés (43). Kétkedésünk legfőbb oka az, hogy a CTLA4-jelfogó nemcsak a célba vett T-sejteken található meg, hanem azokon is, amelyekre nem irányul a kezelés. Mivel a gátlás mennyiségfüggő módon valamennyi CTLA4-pozitív T-sejten létrejön, nyilvánvaló, hogy a jelfogó gátlását nem lehet csak a daganat- (pl. melanoma-) fajlagos T-sejtekre korlátozni. Ahogy az ellenanyag adagja nő, egyre több T-sejt köti meg az anti-CTLA4-et. Ennek következtében ellenőrizhetetlenné válik a T-sejtek működése és szaporodása (44). Az utóbbit jól mutatja, hogy a betegek 77,7%-ában megszűnik az immuntűrés. Ezért figyelmeztettünk arra, hogy a mellékhatások súlyosságát és időtartamát nehéz lesz enyhíteni az immunrendszert visszafogó szerekkel. Ezzel ugyanis a gyógyszer hatékonyságát is csökkentjük. Ezen a helyzeten az sem változtat, hogy idővel az immuneredetű mellékhatások kezelésében klinikai tapasztalatot szerzünk (46).

■ AZ IPILIMUMABKEZELÉS AUTOIMMUN MELLÉKHATÁSAIT JÓL MAGYARÁZZA AZ ÚJ T-SEJT-ELMÉLET

Az ipilimumabkezelés hagyományos T-sejt-elméletének komoly nehézsége, hogy a sejtgerjesztéshez két jelzés szükséges. Ez az elvárás számos fontos kérdést figyelmen kívül hagy, ami csak a biológiai ésszerűség kárára történhet meg (4). Ezek közül is a legfontosabb, hogy a klónalapú immunrendszer nem képes hatékonyan versenyezni a bakteriális és vírusfertőzésekkel. Egy fertőzést megelőzően ugyanis rendkívül kevés olyan T-sejt-klón van, amely egy adott mikrobával fajlagosan képes kapcsolódni, 10^5 vagy 10^6 T-sejt közt lehet találni ilyet. A T-sejt osztódásához viszont legalább hat óra szükséges. Ugyanakkor a baktériumok már 20 perc alatt képesek kettőződni, a vírusok pedig 1000 utódot is létrehozhatnak néhány óra alatt. Ezért egy baktérium vagy vírusfertőzés néhány nap alatt képes a lassan osztódó T-sejt-klónokat túlbuzjantani. Tovább rontja a helyzetet, hogy a mikrobák nemcsak sokkal gyorsabban szaporodnak, de sokkal változékonyabbak is, mint a T-sejtek. Ugyanis az elősök genetikai állományának csak egy parányi (ráadásul nem a változékony) része található a T-sejtekben, miközben a mikrobáknak sokkal hatalmasabb DNS/RNS készletük van; ezek változékonyasága (mutációs rátája) a magasabb rendű sejtekénél akár hét nagyságrenddel is nagyobb lehet. Ezért is gondoljuk úgy, hogy ipilimumab adásával összefüggő, immuneredetű mellékhatások jobban megmagyarázhatók az egyjelzéses, mint a szokványos kétjelzéses szemlélettel (4, 46):

- Összhangban van az egyjelzéses elmélettel az az általános klinikai tapasztalat, miszerint az ipilimumab mennyiségfüggően okoz ellenőrizhetetlen T-sejt-működést.
- Az autoimmun tünetek viszont nehezen magyarázhatók a hagyományos kétjelzéses elmélet alapján, amely szerint egy fajlagos és egy segédjelzés szükséges a T-sejtek gerjesztéséhez. Ebben az összefüggésben lényeges, hogy már a legalacsonyabb (0,3 mg/kg) mennyiségben adott ipilimumab is enyhe-mérsékelt immuneredetű mellékhatásokat okozott.

Ez aggodalomra ad okot, mivel 33-szor kisebb mennyiség, mint amennyit a második 3. szakaszú vizsgálatban alkalmaztak. Másként fogalmazva: az ipilimumab már olyan kis mennyiségben is immuneredetű mellékhatásokat vált ki, amelynek még nincs mérhető gyógyhatása (51).

■ A CTLA4-ZÁRLAT AUTOIMMUN MELLÉKHATÁSAIT A CSAK NEM KATASZTRÓFÁVAL VÉGZÖDÖTT ANTI-CD28-ELLENANYAGGAL VÉGZETT VIZSGÁLAT ELEMZÉSÉVEL ÉRTHETJÜK MEG

Farzaneh és munkatársai (44) hangsúlyozták, hogy a többfajta sejten is megtalálható molekuláris célpontok ellen irányuló ellenanyag-kezelések hatása függ az ellenanyagok töménységétől. Ezért tanulságos az anti-CTLA4-ellenanyag klinikai vizsgálatainak eredményeit az anti-CD28-ellenanyag-kezelés tapasztalataival összehasonlítani. Ennek alapja egyrészt az, hogy sem az anti-CTLA4-ellenanyag, sem az anti-CD28-ellenanyag kötődését nem lehet csak a célba vett T-sejtekre korlátozni. Másrészt az a megfigyelés, miszerint az antitesttöménység növekedésével a folyamat egyre inkább a T-sejtek ellenőrizhetetlen gerjesztődése felé tolódik el (44).

Az anti-CD28-ellenanyag és az anti-CTLA4-ellenanyag klinikai vizsgálata egyaránt megkérdőjelezi a jelenleg érvényes elképzelést, hogy tudnillik a T-sejtek működésének beindításához a két jelzés (egy TCR-fajlagos és egy nem fajlagos) feltétlenül szükséges. Az ipilimumabot kifejlesztők szerint a rendkívül erősen gerjesztő anti-CD28 (szuper agonista TGN1412) ellenanyag a szabályt erősítő kivétel. Szerintük csak a TGN1412-ellenanyag volt képes fajlagos TCR-jelzés nélkül is bekapcsolni a T-sejteket. E téves nézet miatt végződött csaknem katasztrófával a londoni 1. szakaszú klinikai vizsgálat (45). Vitetta és Ghetie (52) mutattak rá, hogy a kezelték sorsát előre lehetett volna látni, ha a vizsgálók a „teljes képet” nézték volna. Szerintük figyelembe kellett volna venni, hogy a CD28-jelfogó szinte valamennyi T-sejten megtalálható, következésképpen az anti-CD28-ellenanyag hatására csaknem az összes T-sejt termel citokineket és kemokineket. Az igaz, hogy az anti-CD28 szuper agonista antitest előszeretettel az úgynevezett szabályzó T-sejteket serkenti, nagyobb mennyiségben azonban, kevésbé hatékonyan, a többi T-sejtet is gerjeszti. Ez a megállapítás összhangban van az egyjelzéses T-sejt-elméletünkkel: a londoni klinikai vizsgálat elemzésével ugyanis megállapítottuk (53), hogy a CD28-jelfogót gerjesztő anti-CD28-ellenanyag telítő mennyiségben pótolta a TCR-jelzést (53).

■ AZ IPILIMUMABOT FEJLESZTŐK TÖBB FELTÉTELEZÉSE AZONOS AZ EGYJELZÉSES T-SEJT-ELMÉLET MEGÁLLAPÍTÁSAIVAL

Az ipilimumabot fejlesztők néhány kulcsfontosságú feltételezést azért tanulságos megismerni, mert azonosak az egyjelzéses T-sejt-elmélet tételeivel (46). Például a klinikai vizsgálatokban észlelt átmeneti, sokszor súlyos autoimmun mellékhatásokat nem újonnan keletkezett T-sejtklónok okozzák, hanem az, hogy a szervezetben jelen lévő, saját antigénekre fajlagos T-sejtek lefojtott (ellenőrzött) működését a CTLA4-jelfogó

gátlása átmenetileg felszabadítja az ellenőrzés alól. Curran és munkatársai (46) azt is megállapították, hogy az anti-CD28-ellenanyag (TGN1412) és a CTLA4-ellenanyag (ipilimumab) között az a különbség, hogy az előbbi a T-sejtek sokaságát serkentő molekula, míg az utóbbi csak a gerjesztett T-sejtek élettartamát nyújtja meg.

A fenti megállapításokkal egyetértünk, de hangsúlyozzuk, hogy a szervezeti egyensúlyt folyamatosan biztosító és a T-sejteket életben tartó TCR–MHC kölcsönhatások miatt sokkal több T-sejt gerjesztődik (ha csak átmenetileg is), mint ahány daganatfajlagos T-sejt van jelen a szervezetben. Jóllehet az ipilimumabot fejlesztők azt állítják, hogy a kezelés „csak a parkoló autók fékjét kapcsolja ki átmenetileg” (46), szerintünk a CTLA4-zárlat nagyon veszélyes:

- A CTLA4-jelfogó ugyanis csökkenti a T-sejtek és az APC-k közötti kapcsolódás időtartamát azáltal, hogy fokozza a T-sejtek mozgását (megszünteti a TCR által kiváltott, a T-sejtek mozgását leállító, úgynevezett stop szignált). A T-sejtek mozgásának leállítása szükséges ugyanis ahhoz, hogy a T-sejtek és az APC-k között stabil kapcsolat alakuljon ki (54). A T-sejtek mozgékonyasága következtében csökken az MHC-peptid bemutatásának hatékonysága; ez viszont emeli a T-sejtek gerjesztési küszöbét, és így véd az autoimmunitás ellen.
- A CTLA4-zárlat során viszont a saját antigénre fajlagos (közepes kötéseerősségű [affinitású]) T-sejtek a fiziológiásnál hosszabb ideig kötődnek az MHC-molekulákhoz, ami viszont fokozza a T-sejtek kötődésének erősségét. Ilyen körülmények között már a T-sejtek túlélését biztosító élettani jeladások is felerősödnek és gerjesztik a saját peptidekhez kötődő T-sejteket. Azt is mondhatjuk, hogy az ipilimumabkezelés nemcsak a daganatelleni fajlagos T-sejtek „szavatossági idejét” hosszabbítja meg, de a saját peptidekkel kapcsolatba lépő T-sejteket is. Ezzel zűrzavart okoz a szervezetben.

Hangsúlyozni kell, hogy a szervezetben jelen levő, a saját antigénnel kötődni képes T-sejtek beindítása az antitest kezelés következménye, mennyiségfüggő, és csak a CTLA4-zárlat fenntartása alatt érvényesül. Ha viszont a CTLA4-zárlat kiterjedt és hosszan tart, akár végzetes autoimmun betegség is kialakulhat. Utóbbit már kóros folyamat, mert egy újonnan kialakult „valódi” (erős kötődésű) autoimmun T-sejtklón okozza. Ez az állapot visszafordíthatatlan – ezért végzetes – és feltételezhetően a szteroidkezelésre is érzéketlen.

■ ÉRDEKES LEHETŐSÉGEK AZ IPILIMUMAB BIZTONSÁGOSÁGÁNAK ÉS HATÉKONYSÁGÁNAK JAVÍTÁSÁRA

A CTLA4-zárlat biztonságosabb és hatékonyabb, ha a kezeléssel allogén T-sejteket vesszünk célba, mintha saját T-sejteket. Véleményünk szerint a Bashey és munkatársai (55) vizsgálatának eredményei, legalábbis a visszatekintés előnyös helyzetéből értelmezve, alátámasztják az általunk javasolt új kezelési

módszert. Kiderült ugyanis, hogy már egyetlen 3,0 mg/kg mennyiségű ipilimumabin-fúzió fokozza az allogén T-sejtek által kiváltott, ún. graft-versus-tumor (GVT) immunválaszt. Ezt a kezelést olyan betegekben alkalmazták, akiknél egyedidegen vérképző őssejtátültetést (allo-HSCT [haematopoietic stem cell transplantation]) követően kiújult a daganat.

A szerzők az első szakaszú vizsgálatban mutatták ki, hogy a CTLA4-zárlat biztonságosabb és hatékonyabb az allogén T-sejtek ellen, mint a melanomafajlagos saját T-sejtek ellen. Az ipilimumabzárlat ugyanis nem súlyosította a graft-versus-host (GVH-) reakciót, miközben erősítette a GVT hatást. Csak olyan betegeket választottak be, akiknél a donor T-sejtek száma 50% felett volt, ugyanakkor a korábbi kezelésnél nem alakult ki jelentős GVH-betegség. Az ipilimumab adagját előre tervezetten emelték (0,1 – 0,33 – 0,66 – 1,0 – 3,0 mg/kg), amíg el nem érték a CTLA4-jelfogók telítését. Egyetlen ipilimumabin-fúzió (3,0 mg/kg) nem váltott ki GVH-reakciót, illetve nem súlyosította azt, de szervfajlagos immuneredetű mellékhatásokat okozott négy betegben (14%), ugyanakkor a daganat három esetben visszaféldött (17%). Utóbbiak közé tartozott két olyan Hodgkin-betegségben szenvedő beteg, akinél teljes és egy refrakter köpenysejtes lymphomában szenvedő beteg, akinél részleges daganat-visszafejlődést tapasztaltak. Szignifikánsan nőtt a CD4+HLA-DR+ T-sejtek száma, és növekedett a sejtekben a CTLA4-kifejeződése is, ugyanakkor nem változott szignifikánsan a Treg-sejtek száma. Ez a vizsgálat bizonyította, hogy a CTLA4-zárlat biztonságosabb és hatékonyabb az allogén T-sejtekkel szemben, mint saját melanomafajlagos T-sejtek ellen (a hatásosan kezelt betegekben 80% felett volt az allogén T-sejtek száma).

Pretargeting: a streptavidinnal (StAv) egyesített daganatellenes ellenanyagokkal a daganatsejtek felszínéhez lehet kötni a biotinnal kapcsolt anti-CTLA4-ellenanyagot hordozó gerjesztett T-sejteket Sok ezer beteg kezelésével vált nyilvánvalóvá, hogy az ipilimumab mennyiségfüggően fenntartja a CTLA4-pozitív T-sejtek működését. Ráadásul eközben nem vált ki citokin „vihart” (életveszélyes mértékű citokin felszabadulást); ez a CD28-jelfogót serkentő TGN1412-ellenanyaggal szemben klinikailag nagyon előnyös (46). Nagy hátránya viszont, hogy a T-sejtekből, a CTLA4-zárlattal felszabadított hatalmas erőt egyelőre nem lehet szabályozni, amely így súlyos autoimmun mellékhatásokat okoz. Ezt az erőt kellene gyógyításra kihasználni. Ebben a genetikailag módosított T-sejtekkel szerzett újabb tapasztalat segíthet. *Porter és Kalos* (56, 57) ugyanis genetikai változtatással olyan kettős (kiméra) T-sejt antigén jelfogót hoztak létre, amellyel elvileg tetszés szerint lehet a gerjesztett T-sejteket irányítani, és működésüket fenntartani. A kettős antigén jelfogó két jelmolekulából áll:

- Az egyik a B-sejtek CD19-antigénjével szembeni ellenanyag; ez a T-sejtek új fajlagosságát biztosítja.
- A másik a TNF-családba tartozó CD137 társjelző molekula; a T-sejtek megfelelő szaporodásáért felelős (58, 59).

A kettős jelfogót hordozó T-sejtek mindaddig megtartják gerjesztett állapotukat, amíg eléri és elpusztítják a daganatot. Ezek ugyanis ellenállnak az idő előtti tervezett sejthalálnak. *Poter és Kalos* (57) a szokványos kezelésre nem válaszoló krónikus lymphocita leukaemiában (CLL) szenvedő beteg genetikai változtatással módosított, kettős jelfogót hordozó saját T-sejtjeit kis mennyiségben ($\sim 1,5 \times 10^5$ sejt/testsúly kg) visszajutatták a betegbe, és megfigyelték, hogy azok több mint ezerszeresre szaporodtak fel, és körülbelül 10^{12} daganatsejtet pusztítottak el. Utóbbi mintegy 1 kg daganatszövetnek felel meg. Az ilyen T-sejtek tartós jelenléte hosszú időre biztosít daganatmentességet, ezért ismételt ellenanyag-infúzióra nincs szükség (57).

A genetikailag módosított T-sejt-kezelés nehézsége, hogy minden beteg számára lényegében egy új reagenst kell kifejleszteni. Ezért a módosított T-sejt-kezelést az engedélyező hatóságok egyedileg bírálják el. Ez nagyon munkaigényes, és komoly laboratóriumi felszerelést és módszereket kíván következképpen ennek a kezelésnek sem az ipari előállítás, sem a kereskedelmi hasznosítása nem megoldott (60). Ugyanis a gyógyszergyárak és a biotechnológiai cégek sorozatban gyártható termékek előállítására törekednek.

Ezzel szemben a monoklonális ellenanyagot (mAb) könnyű iparilag gyártani, és a kezeléshez szükséges hatékony mennyiségük is kiszámítható. A mAb-alapú gyógyszereket bármilyen T-sejt „átirányítására” fel lehet használni. Ebből adódóan olyan, kereskedelmi forgalomba hozható kezelési módszerre lenne szükség, amellyel a gerjesztett T-sejteket, súlyos mellékhatások nélkül lehetne ráksejtekhez irányítani. Az alábbiakban egy olyan „polcrol levehető” ellenanyag-kezelési módszert javasolunk, amellyel a serkentett poliklonális T-sejteket a B-sejtes daganatokra lehetne irányítani (61). Ezt a módszert számos másfajta, TAAA-t hordozó daganatsejt elpusztítására is lehetne alkalmazni.

Javaslatunk lényege, hogy az izotópvizsgálatokra és -kezelésre kidolgozott, széles körben alkalmazott, úgynevezett pretargeting módszert (két-lépcsős célba juttatás) a T-sejtek irányítására használjuk fel (62, 63). Az elképzelés bizonyítására egy megvalósítható gondolat kísérletet dolgoztunk ki, amelyben a gerjesztett T-sejteket a CLL-sejtekre irányítjuk. A módszer két lépcsője a következő:

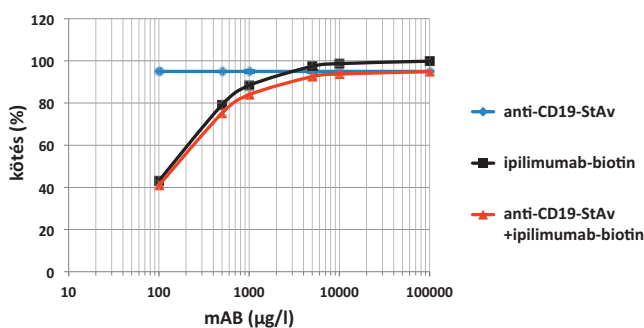
- Először a streptavidinnal (StAv) egyesített anti-CD19-ellenanyagot alkalmazzuk; ezek a CLL-sejtekhez kötődnek.
- Ezt követően adjuk a biotinnal összekapcsolt anti-CTLA4-ellenanyagokat, amelyek a gerjesztett T-sejtekhez kötődnek, és meghosszabbítják azok működési idejét. Az anti-CTLA4-ellenanyagok ugyanis megakadályozzák, hogy idő előtti tervezett sejthalál induljon be a T sejtekben.

Mivel az StAv és a biotinmolekulák egymás iránti vonzása rendkívül magas (K_D , 10^{-15}), a biotinnal kötődött anti-CTLA4-

ellenanyagon keresztül valamennyi gerjesztett T-sejt a StAv-anti-CD19-antitesteket hordozó CLL-sejtek felszínéhez tapad. Így az immunrendszerből, a CTLA4-zárlattal felszabadított hatalmas erőt a daganatsejtekre lehet zúdítani, miközben az ép sejteket nem éri károsodás.

A T-sejtek erejére jellemző, hogy a szervátültetési folyamatokban még a nagyméretű szervek (máj, vese) kilökésére is képesek. Ha figyelembe vesszük, hogy az egészséges egyének körülbelül háromszor annyi T-sejttel rendelkeznek, mint ahány természetes ölü sejt (NK-sejt) van a szervezetben, akkor feltételezhető, hogy megfelelő irányítással a T-sejtek képesek lennének valamennyi daganatsejtet eltávolítani a szervezetből.

A tömeghatás törvényét, valamint ismert K_D -értékeket használva (64, 65), egy korábban leírt módszerrel (43, 53) számítottuk ki a T-sejtek irányításának hatékonyságát. Számításaink szerint számottevően kevesebb biotinnal kötődött anti-CTLA4-ellenanyag szükséges a T-sejtek mozgósításához, mint az anti-CTLA4-ellenanyag egyedüli alkalmazásakor (1. ábra).



1. ábra. A gyógyszerfeltétési görbéket a tömeghatás törvényét alkalmazva számoltuk ki, ahogy azt korábban leírtuk (43, 53). 1. lépés: a CLL-sejtek CD19-es antigénjét streptavidinnel (StAv) jelölt anti-CD19-ellenanyaggal telítjük. 2. lépés: a le nem kötődött anti-CD19-ellenanyag kiválasztását követően következik a biotinnal jelölt anti-CTLA4-ellenanyag (Yervoy) alkalmazása, amellyel a gerjesztett T-sejtek CTLA4-jelfogóját telítjük. 3. lépés: az anti-CD19-ellenanyaggal fedett CLL-sejtek és az anti-CTLA4-ellenanyaggal fedett T-sejtek között kialakulnak a kölcsönhatások. Az nyilvánvaló az ábrából, hogy 1 mg/l anti-CTLA-4 ellenanyag töménység felett (ami 70 kg testsúlyú betegenként hozzávetőlegesen 5 mg) a streptavidinnel jelölt anti-CD19 antitesttel fedett CLL-sejtek több mint 80%-a biotinnal jelölt anti-CTLA4 antitesttel fedett T-sejthez kötődik.

Ha feltételezzük, hogy a T-sejtek 10%-a CTLA4-pozitív, akkor – számításaink szerint >1 mg/l ipilimumab hatására (ez körülbelül 5 mg ellenanyag betegenként) az anti-CD19-StAv-ellenanyaggal érzékenyített B-sejteknek több mint a 80%-a a biotinnal kapcsolódott anti-CTLA4-ellenanyaggal egyesített T-sejthez kötődik. Számításaink egy klinikailag fontos szempontot is feltártak, nevezetesen: az elméleti telítési görbe lényegében akkor sem tolódik el, ha a CTLA4-pozitív sejtek aránya 10%-ról 100%-ra emelkedik.

Az általunk javasolt módszer alkalmazásának nagy előnye, hogy a betegenkénti ~ 5 mg ipilimumab lényegesen kevesebb az ipilimumabkezeléseknél alkalmazott legkisebb mennyiségnél

(0,3 mg/kg [~ 18 mg betegenként]) is. Ismert, hogy már a 0,3 mg/kg ipilimumab adásakor is fellépnek autoimmun mellékhatások. Amennyiben az általunk javasolt pretargeting módszer hatékonyságát a laboratóriumi, az állatkísérleti és a klinikai vizsgálatok is megerősítik, akkor a módszert minden valószínűség szerint számos daganatos betegségben lehet majd alkalmazni, köztük a melanomás betegekben is. Kimutatták ugyanis, hogy az ipilimumab növeli a rák/here fajlagos NY-ESO1-antigén iránti immunitást; ez az antigén a melanomás betegek egy csoportjában megtalálható (66). Ha a pretargeting során először egy StAv-anti-NY-ESO1-antitestet használnak, akkor az ezt követően beadott biotinnal egyesített anti-CTLA4-ellenanyag biztonságossága és hatékonysága javítható.

■ ÖSSZEGEZÉS

Az ipilimumabbal szerzett tapasztalatok alapján megállapíthatjuk, hogy a hagyományos kezelésre nem válaszoló, előrehaladt melanomás betegek elenyészően kis részének állapota ipilimumabkezelésre drámaian javult (a kezelt betegek 0,2%-a) (48), túlnyomó többségükben azonban csak súlyos mellékhatások jelentkeztek. Nyilvánvaló tehát, hogy az ipilimumab immunserkentő hatásának legjobb kihasználásához további vizsgálatok szükségesek (39). Az egyik járható út az általunk javasolt kezelési módszer lehet. Egyetértünk az Amerikai Klinikai Onkológus Társaság (American Society of Clinical Oncology – ASCO) irányelveivel, miszerint, amíg hatékonyabb kezelés nem áll rendelkezésünkre, az előrehaladt daganatban szenvedő betegek kezelésében az életminőség javításának kell elsőbbséget adni (67).

IRODALOM

1. Burnet M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control. Br Med J 1957;1(5022):779–86.
2. Stefanova I, Dorfman JR, Tsukamoto M, Germain RN. On the role of self-recognition in T cell responses to foreign antigen. Immunol Rev 2003;191:97–106.
3. Davis MM, Krogsgaard M, Huse M, Huppa J, Lillemeier BF, Li QJ. T cells as a self-referential, sensory organ. Annu Rev Immunol 2007;25:681–95.
4. Szabados T, Bakacs T. Sufficient to recognize self to attack non-self: Blueprint for a one-signal T cell model. Journal of Biological Systems 2011;19(2):299–317.
5. Bakacs T, Mehrishi JN, Szabados T, Varga L, Szabo M, Tusnady G. T Cells Survey the Stability of the Self: A Testable Hypothesis on the Homeostatic Role of TCR-MHC Interactions. Int Arch Allergy Immunol 2007;144(2):171–82.
6. Bakacs T, Mehrishi J, Szabados T, Varga L, Tusnady G. Some aspects of complementarity in the immune system. A bird's eye view. Int Arch Allergy Immunol 2001;126(1):23–31.
7. Silverstein AM. Transplantation and Immunogenetics. A History of Immunology. New York: Academic Press; 1989: 275. oldal
8. Srivastava PK, Old LJ. Individually distinct transplantation antigens of chemically induced mouse tumors. Immunol Today 1988;9(3):78–83.
9. Melief CJ, Vasmel WL, Offringa R, Sijts EJ, Matthews EA, Peters PJ, et al. Immunosurveillance of virus-induced tumors. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1989;54(1):597–603.

10. Hislop AD, Taylor GS, Sauce D, Rickinson AB. Cellular responses to viral infection in humans: lessons from Epstein-Barr virus. *Annu Rev Immunol* 2007;25:587–617.
11. Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256(5517):495–7.
12. Hellstrom KE, Hellstrom I, Brown JP. Human tumor-associated antigens identified by monoclonal antibodies. *Springer Semin Immunopathol* 1982;5(2):127–46.
13. Finn OJ. *Cancer Immunology*. New England Journal of Medicine 2008 June 19;358(25):2704–15.
14. Graziano DF, Finn OJ. Tumor antigens and tumor antigen discovery. *Cancer Treat Res* 2005;123:89–111.
15. Li J, Zhu Z. Research and development of next generation of antibody-based therapeutics. *Acta Pharmacol Sin* 2010;31(9):1198–207.
16. Weiner LM, Murray JC, Shuptrine CW. Antibody-Based Immunotherapy of Cancer. *Cell* 2012;148(6):1081–4.
17. Scott AM, Wolchok JD, Old LJ. Antibody therapy of cancer. *Nat Rev Cancer* 2012;12(4):278–87.
18. Steiner M, Neri D. Antibody-radionuclide conjugates for cancer therapy: historical considerations and new trends. *Clin Cancer Res* 2011;17(20):6406–16.
19. Adams GP, Weiner LM. Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nat Biotechnol* 2005;23(9):1147–57.
20. Beckman RA, Weiner LM, Davis HM. Antibody constructs in cancer therapy: protein engineering strategies to improve exposure in solid tumors. *Cancer* 2007;109(2):170–9.
21. Gillis S, Baker PE, Ruscetti FW, Smith KA. Long-term culture of human antigen-specific cytotoxic T-cell lines. *J Exp Med* 1978;148(4):1093–8.
22. van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De PE, Van den Eynde B et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991;254(5038):1643–7.
23. Renkvist N, Castelli C, Robbins PF, Parmiani G. A listing of human tumor antigens recognized by T cells. *Cancer Immunol Immunother* 2001;50(1):3–15.
24. Rock KL, Shen L. Cross-presentation: underlying mechanisms and role in immune surveillance. *Immunol Rev* 2005;207:166–83.
25. Appella E, Loftus DJ, Sakaguchi K, Sette A, Celis E. Synthetic antigenic peptides as a new strategy for immunotherapy of cancer. *Biomed Pept Proteins Nucleic Acids* 1995;1(3):177–84.
26. Chesnut RW, Sette A, Celis E, Wentworth P, Kubo RT, Alexander J et al. Design and testing of peptide-based cytotoxic T-cell-mediated immunotherapeutics to treat infectious diseases and cancer. *Pharm Biotechnol* 1995;6:847–74.
27. Slingluff CL, Jr., Hunt DF, Engelhard VH. Direct analysis of tumor-associated peptide antigens. *Curr Opin Immunol* 1994;6(5):733–40.
28. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392(6673):245–52.
29. Kao H, Amoscato AA, Ciborowski P, Finn OJ. A new strategy for tumor antigen discovery based on in vitro priming of naive T cells with dendritic cells. *Clin Cancer Res* 2001;7(3 Suppl):773s–80s.
30. Abbas AK, Lichtman AH. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 2 ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2004.
31. Brunet JF, Denizot F, Luciani MF, Roux-Dosseto M, Suzan M, Mattei MG et al. A new member of the immunoglobulin superfamily-CTLA-4. *Nature* 1987;328(6127):267–70.
32. Linsley PS, Brady W, Urnes M, Grosmaire LS, Damle NK, Ledbetter JA. CTLA-4 is a second receptor for the B cell activation antigen B7. *J Exp Med* 1991;174(3):561–9.
33. Freeman GJ, Borriello F, Hodes RJ, Reiser H, Hathcock KS, Laszlo G et al. Uncovering of functional alternative CTLA-4 counter-receptor in B7-deficient mice. *Science* 1993;262(5135):907–9.
34. Lenschow DJ, Su GH, Zuckerman LA, Nabavi N, Jellis CL, Gray GS et al. Expression and functional significance of an additional ligand for CTLA-4. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(23):11054–8.
35. Linsley PS, Wallace PM, Johnson J, Gibson MG, Greene JL, Ledbetter JA et al. Immunosuppression in vivo by a soluble form of the CTLA-4 T cell activation molecule. *Science* 1992;257(5071):792–5.
36. Lenschow DJ, Zeng Y, Thistlethwaite JR, Montag A, Brady W, Gibson MG et al. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islet grafts induced by CTLA4lg. *Science* 1992;257(5071):789–92.
37. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY, Linsley PS, Freeman GJ, Green JM et al. CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 1994;1(5):405–13.
38. Robert C, Ghiringhelli F. What is the role of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma? *Oncologist* 2009;14(8):848–61.
39. Graziani G, Tentori L, Navarra P. Ipilimumab: A novel immunostimulatory monoclonal antibody for the treatment of cancer. *Pharmacological Research* 2012;65(1):9–22.
40. Attia P, Phan GQ, Maker AV, Robinson MR, Quezado MM, Yang JC et al. Autoimmunity correlates with tumor regression in patients with metastatic melanoma treated with anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4. *J Clin Oncol* 2005;23(25):6043–53.
41. Beck KE, Blansfield JA, Tran KQ, Feldman AL, Hughes MS, Roy-al RE et al. Enterocolitis in patients with cancer after antibody blockade of cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4. *J Clin Oncol* 2006;24(15):2283–9.
42. J. Lutzky, J. Wolchok, O. Hamid, C. Lebbe, H. Pehamberger, G. Linette, V. de Pril, R. Ibrahim, A. Hoos, S. O’Day. Association between immune-related adverse events (irAEs) and disease control or overall survival in patients (pts) with advanced melanoma treated with 10 mg/kg ipilimumab in three phase II clinical trials. *J Clin Oncol* 2009;27:15(suppl.; abstr. 9034) (<http://meetinglibrary.asco.org/content/34815-65>)
43. Bakacs T, Mehrishi JN, Moss RW. Ipilimumab (Yervoy) and the TGN1412 catastrophe. *Immunobiology* 2012;217(6):583–9.
44. Farzaneh L, Kasahara N, Farzaneh F. The strange case of TGN1412. *Cancer Immunol Immunother* 2007;56(2):129–34.
45. Robert C, Thomas L, Bondarenko I, O’Day S, JW MD, Garbe C et al. Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2011;364(26):2517–26.
46. Curran MA, Callahan MK, Subudhi SK, Allison JP. Response to “Ipilimumab (Yervoy) and the TGN1412 catastrophe”. *Immunobiology* 2012;217(6):590–2.
47. Pardoll D, Drake C. Immunotherapy earns its spot in the ranks of cancer therapy. *J Exp Med* 2012;209(2):201–9.
48. Hodi FS, O’Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* 2010;363(8):711–23.
49. Maker AV, Attia P, Rosenberg SA. Analysis of the cellular mechanism of antitumor responses and autoimmunity in patients treated with CTLA-4 blockade. *J Immunol* 2005;175(11):7746–54.
50. Sarnaik AA, Yu B, Yu D, Morelli D, Hall M, Bogle D et al. Extended Dose Ipilimumab with a Peptide Vaccine: Immune Correlates Associated with Clinical Benefit in Patients with Resected High-Risk Stage IIIc/IV Melanoma. *Clin Cancer Res* 2011;17(4):896–906.
51. Wolchok JD, Neyns B, Linette G, Negrier S, Lutzky J, Thomas L et al. Ipilimumab monotherapy in patients with pretreated advanced melanoma: a randomised, double-blind, multicentre, phase 2, dose-ranging study. *Lancet Oncol* 2010;11(2):155–64.

52. Vitetta ES, Ghetie VF. Immunology. Considering therapeutic antibodies. *Science* 2006;313(5785):308–9.
53. Mehrishi JN, Szabo M, Bakacs T. Some aspects of the recombinantly expressed humanised superagonist anti-CD28 mAb, TGN1412 trial catastrophe lessons to safeguard mAbs and vaccine trials. *Vaccine* 2007;25(18):3517–23.
54. Schneider H, Downey J, Smith A, Zinselmeyer BH, Rush C, Brewer JM et al. Reversal of the TCR stop signal by CTLA-4. *Science* 2006;313(5795):1972–5.
55. Bashey A, Medina B, Corringham S, Pasek M, Carrier E, Vrooman L et al. CTLA4 blockade with ipilimumab to treat relapse of malignancy after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2009;113(7):1581–8.
56. Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A, June CH. Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med* 2011;25:365(8):725–33.
57. Kalos M, Levine BL, Porter DL, Katz S, Grupp SA, Bagg A et al. T cells with chimeric antigen receptors have potent antitumor effects and can establish memory in patients with advanced leukemia. *Sci Transl Med* 2011;3(95):95ra73.
58. Fisher TS, Kamperschroer C, Oliphant T, Love VA, Lira PD, Doyonnas R et al. Targeting of 4-1BB by monoclonal antibody PF-05082566 enhances T-cell function and promotes anti-tumor activity. *Cancer Immunol Immunother* 2012;61(10):1721–33.
59. Melero I, Shuford WW, Newby SA, Aruffo A, Ledbetter JA, Hellstrom KE et al. Monoclonal antibodies against the 4-1BB T-cell activation molecule eradicate established tumors. *Nat Med* 1997;3(6):682–5.
60. Rosenberg SA, Restifo NP, Yang JC, Morgan RA, Dudley ME. Adoptive cell transfer: a clinical path to effective cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2008;8(4):299–308.
61. Bakacs T, Mehrishi JN, Szabo M, Moss RW. Interesting possibilities to improve the safety and efficacy of ipilimumab (Yervoy). *Pharmacol Res* 2012;66(2):192–197.
62. Sharkey RM, Goldenberg DM. Cancer radioimmunotherapy. *Immunotherapy* 2011;3(3):349–70.
63. Goldenberg DM, Sharkey RM, Paganelli G, Barbet J, Chatal JF. Antibody pretargeting advances cancer radioimmunodetection and radioimmunotherapy. *J Clin Oncol* 2006;24(5):823–34.
64. Morse MA. Technology evaluation: ipilimumab, Medarex/Bristol-Myers Squibb. *Curr Opin Mol Ther* 2005;7(6):588–97.
65. Uckun FM, Jaszcz W, Ambrus JL, Fauci AS, Gajl-Peczalska K, Song CW et al. Detailed studies on expression and function of CD19 surface determinant by using B43 monoclonal antibody and the clinical potential of anti-CD19 immunotoxins. *Blood* 1988;71(1):13–29.
66. Yuan J, Adamow M, Ginsberg BA, Rasalan TS, Ritter E, Gallardo HF et al. Integrated NY-ESO-1 antibody and CD8+ T-cell responses correlate with clinical benefit in advanced melanoma patients treated with ipilimumab. *PNAS* 2011; 4;108(40):16723–8.
67. Peppercorn JM, Smith TJ, Helft PR, Debono DJ, Berry SR, Wolins DS et al. American society of clinical oncology statement: toward individualized care for patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(6):755–60.

„...az idegen szó dédelgetése nem szókincsbeli gazdagodást, hanem éppen ellenkezőleg, szegényedést jelent. Egy sereg magyar szót hagyunk figyelmen kívül, mikor idegen szót használunk.”

Szabó T. Attila (1906–1987)