

EVROPSKI PROJEKT TWINNING ZA ODLIČNOST PRI RAZISKAVAH AKTIVACIJE PROTITUMORSKEGA IMUNSKEGA ODZIVA PO ELEKTROKEMOTERAPIJI V KOMBINACIJI Z GENSKIM ELEKTROPRENOSOM PLAZMIDNE DNA, KI KODIRAJO ZA ZAVIRALCE IMUNSKIH KONTROLNIH TOČK – ZAP CANCER

Boštjan Markelc

*Oddelek za eksperimentalno onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Biotehniška fakulteta, Univerza v Ljubljani, Jamnikarjeva ulica 101, 1000 Ljubljana*

Elektronski naslov: bmarkelc@onko-i.si

V zadnjem desetletju so zaviralci imunskih kontrolnih točk (ZIKT) bistveno spremenili zdravljenje raka, začevši z odobritvijo ipilimumaba, protitelesa proti CTLA-4, za zdravljenje metastatskega melanoma. Protitelesa, usmerjena proti CTLA-4, PD-1 in PD-L1, se danes široko uporabljajo pri različnih vrstah raka, vključno z melanomom in rakom debelega črevesa in danke. Kljub temu dolgotrajne remisije doseže le približno polovica bolnikov z melanomom, pri raku debelega črevesa in danke pa je učinkovitost še nižja, kar poudarja potrebo po novih terapevtskih pristopih in tehnologijah za izboljšanje imunoterapij.

Zdravljenje raka pogosto povzroči celično smrt, njen način pa pomembno vpliva na aktivacijo imunskega odziva. Imunogena celična smrt (ICD) sproži pridobljeno imunost proti tumorskim ali virusnim antigenom, izraženih v umirajočih celicah. ICD je značilna po sproščanju s poškodbo povezanih molekulskih vzorcev (DAMP). Konstitutivni DAMP (cDAMP), kot so kalretikulin, ATP, HMGB1 in nukleinske kisline, so normalno prisotne intracelularne molekule, ki se sprostijo ob poškodbi membrane. Inducibilni DAMP (iDAMP), kot so citokini, ki jih uravnava NF- κ B, interferoni tipa I in družina IL-1, nastanejo specifično med celično smrtjo. Koordinirano sproščanje obeh tipov DAMP je nujno za uvrstitev smrti med ICD. Poleg tega so za učinkovito aktivacijo T-celic potrebni še predstavitelji tumorskih antigenov, kostimulacija dendritičnih celic in diferenciacija v efektorske celice T. ICD lahko tudi sinergistično deluje v kombinaciji z ZIKT in poveča protitumorsko imunost. Le omejeno število terapij povzroča ICD, med njimi radioterapija, fotodinamična terapija ter nekateri kemoterapevtiki (antraciklini, cisplatin, oksaliplatin, bleomicin, bortezomib). Nedavno je bilo ugotovljeno, da tudi elektrokemoterapija (ECT), lokalna ablativna metoda, lahko sproži ICD. Najpogostejše uporabljena citostatika sta bleomicin (BLM) in cisplatin (CDDP), oksaliplatin (OXA) pa kaže velik potencial v predkliničnih študijah. Vsi trije učinkujejo kot sprožilci ICD, a časovni potek sproščanja DAMP ostaja slabo raziskan. Sam elektroporacijski postopek lahko sproži sproščanje cDAMP zaradi povečane prepustnosti membrane. Po ECT so bile opažene različne oblike celične smrti (apoptoza, nekroza, piroptoza, nekroptoza). Pri BLM celice odmrejo bodisi s hitro psevdopoptozo bodisi z mitotsko smrtjo, vendar ni jasno, kateri mehanizmi vodijo v ICD. Za CDDP in OXA pa to vprašanje ostaja neodgovorjeno. Natančna opredelitev tipov in kinetike celične smrti ter sproščanja DAMP je tako ključna za optimalno izrabo ICD, sprožene z ECT. Posredni dokazi kažejo, da ECT sproži tudi iDAMP in privabi antigen-predstavljaljoče celice (APC), saj je bila opažena infiltracija dendritičnih celic, aktivacija monocitov in limfocitov T ter migracija imunskih celic v tumorje. Kljub temu sistemskih protitumorskih učinkov v mišjih modelih in pri bolnikih skorajda ni bilo, kar predstavlja očitno neskladje z in vitro raziskavami. Kombinacija ECT z ZIKT bi lahko to omejitev premagala. Klinične raziskave kažejo, da je imela kombinacija ECT z BLM in pembrolizumabom pri melanomu boljše izide kot sama imunoterapija. Predklinične študije z dodatkom citokinov (IL-2, IL-12, TNF- α , GM-CSF) prav tako potrjujejo sinergistični potencial. To nakazuje, da imunosupresivno tumorsko mikrookolje (TME) omejuje sistemske učinke ECT in da

bi imunoterapije, vključno z ZIKT, lahko pomagale lokalni učinek spremeniti v sistemski.

Elektroporacija pa omogoča tudi vnos plazmidne DNA (pDNA) – postopek, imenovan genski elektroprenos (GET). Ta pristop omogoča tudi lokalno dostavo genov za monoklonska protitelesa, vključno z ZIKT, neposredno v tumor. V primerjavi s sistemskimi infuzijami intratumorski vnos zmanjša toksičnost zaradi visokih koncentracij v krvi in poveča lokalno prisotnost, čeprav so še vedno potrebna ponavljajoča odmerjanja. GET pa omogoča dolgotrajnejše izražanje. Predklinične študije so pokazale uspešen sistemski imunski odziv po GET pDNA, ki kodira za protitelesa proti CTLA-4 in PD-1 pri melanomu in raku debelega črevesa in danke, vendar kombinacija z ECT še ni bila izvedena. Kombinacija ECT z BLM, CDDP ali OXA ter GET pDNA, ki kodira za ZIKT, bi tako lahko potencialno spremenila lokalni protitumorski odziv v sistemski z aktivacijo protitumorskega imunskega odziva.