

docházet k navození ztrátě především nádorových CD8⁺ T-lymfocytů (snížení efektorové části TILs) a infiltraci nádoru nádorově asociovanými makrofágy (CAMs), což může vést k navození rezistence na imunoterapii u metastatického melanomu (19, 20). V klinických studiích s BRAF inhibitory nebyl prokázán vliv na ovlivnění sekrece prozánětlivých cytokinů (IFN γ , TNF α , IL-2, IL-6, IL-8, IL-10) a jejich koncentraci v séru oproti zdravým dárčům (21), ale dochází k významné aktivaci MAP kinázové signalizace pomocí zvýšené fosforylace ERK kinázy u BRAF nemutovaných buněk (BRAF^{wt}), včetně CD4⁺ a CD8⁺ T-lymfocytů. Tato patologická aktivace se může odrazit v neadekvátní (paradoxní) diferenciaci a proliferaci T-lymfocytů (22). Navzdory těmto znalostem, mechanismy, kterými cílená léčba BRAF a MEK inhibitory ovlivňují fenotyp, funkci T-lymfocytů a formování samotných TILs v nádoru, nejsou zcela ještě pochopeny.

Imunomodulační účinek cílené terapie

Poměrně zajímavý je imunomodulační efekt BRAF a MEK inhibitorů, který je popsán v některých preklinických, ale i klinických studiích. Tyto studie poukazují na nízkou infiltraci T-lymfocytů u BRAF V600E mutovaných melanomů. Navíc byla prokázána i vyšší hladina imunosupresivních faktorů, které se podílejí na ochraně nádorových melanocytů před aktivitou imunitního systému (23–25). Kombinovaná terapie BRAF a MEK inhibitory může navodit změny v imunologickém chování melanomu, které v důsledku vedou k překonání poměrně zásadní imunologické tolerance nádoru (26). Wilmott a jeho kolegové našli překvapivě vyšší zánětlivý infiltrát TILs v biopsiích z melanomů odebraných již po týdnu léčby BRAF inhibitory ve srovnání s původní biopsií ze stejných ložisek před zahájením terapie. Navíc byl prokázán

vyšší peritumorózní infiltrát CD8⁺ T-lymfocytů, který koreloval i s redukcí nádorové tkáně při terapii BRAF inhibitory (27). Redukce nádorové tkáně při cílené terapii je spojena s apoptózou a nekrózou nádorových buněk a následným uvolněním nádorových neoantigenů, které mohou účinně stimulovat funkce imunitního systému v protinádorové imunitní odpovědi. Vedle uvolnění antigenů, jako jsou Melan-A/MART-1, glykoprotein-100 (gp100), nebo protein související s tyrozinázou 1 a 2, dochází ke zvýšení sérových hladin cytokinů INF-gama, TNF-alfa a snížení hladiny imunosupresivních cytokinů a chemokinů IL-8 a IL-6 (26, 28). Tyto poznatky podporují předchozí znalosti o podpoře TILs v melanomu při cílené terapii a snahu k možné kombinaci imunoterapie a cílené terapie BRAF a MEK inhibitory u melanomu (20). Bohužel se ukazuje, že efekt stimulující imunitní systém při použití cílené terapie se s délkou léčby neprohlubuje, ale naopak snižuje. To ukazují práce srovnávající léčbu BRAF a MEK inhibitory, kde pacienti léčení kombinovanou cílenou terapií při progresi měli v biotických vzorcích nižší infiltrát CD8⁺ T-lymfocytů ve srovnání se vzorky pacientů léčených anti-PD-1 terapií (29). Jednoznačný mechanismus není přesně znám, ale zvažuje se role nedostatečné imunitní odpovědi v důsledku snížené exprese antigenů diferenciaci melanocytů (tyrozináza, melan-A/MART-1 a CSPG4) (30). Je tedy zřejmé, že BRAF a MEK inhibitory významně modulují nádorové mikroprostředí melanomu, ale i samotné nádorové melanocyty. V důsledku cílené terapie tak dochází k významné změně fenotypu nádorových melanocytů a snížení exprese typických melanocytárních znaků diferenciaci.

Tyto studie by mohly vést i k lepšímu načasování kombinace cílené terapie a imunoterapie s návazností na období největší imunitní aktivity. Možnost kombinace cí-

lené terapie a terapie *checkpoint* inhibitory podporuje i detekce vyšší exprese PD-L1 v melanomech po cílené terapii. Na druhé straně ale dochází k aktivaci signalizace c-Jun a STAT3, která se může podílet na imunitně zprostředkované rezistenci na terapii BRAF inhibitory (31, 32).

Závěr

I když se zdá, že imunoterapie *checkpoint* inhibitory je ideální formou léčby po selhání cílené terapie, jednoznačný efekt nemusí být vždy patrný, a především dostatečně predikovatelný. To je dáno horším celkovým stavem pacienta a často i vyšší mírou generalizace onemocnění po selhání jedné léčebné modality. Tyto poznatky a hypotézy lze opřít i o poslední výsledky studie CPDR (COMBI-I) s kombinací BRAF a MEK inhibitorů a terapie anti-PD-1 spartalizumabem, kde překvapivě nebylo potvrzeno signifikantního prodloužení PFS oproti kombinaci cílené terapie s placebem (10). Kriticky je nutné dodat, že samotný spartalizumab (na rozdíl od nivolumabu a pembrolizumabu) nebyl testován v monoterapii u metastazujícího melanomu a jeho efekt je tedy jen odhadován dle zkušeností s anti-PD-1 protilátkami v terapii melanomu. Určitou možností budoucí kombinované cílené léčby a imunoterapie nabízí provedení sekvenční terapie, která je např. využívána u antibiotické léčby k snížení vzniku antimikrobiální rezistence.

Práce je podpořena:

Centrum nádorové ekologie – výzkum nádorového mikroprostředí v organismu podporujícího růst a šíření nádoru.

Registrační číslo:

CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_019/0000785.

LITERATURA

- Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *N Engl J Med*. [Internet]. 2011;364(26):2507-2516. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa1103782>.
- Chapman PB, Robert C, Larkin J, et al. Vemurafenib in patients with BRAF V600 mutation-positive metastatic melanoma: final overall survival results of the randomized BRIM-3 study. *Ann Oncol*. 2017;28:2581-2587.
- Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. Dabrafenib in BRAF-mutated metastatic melanoma: A multicentre, open-label, phase 3 randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;380(9839):358-365.

- Villanueva J, Vultur A, Herlyn M. Resistance to BRAF inhibitors: unraveling mechanisms and future treatment options. *Cancer Res* [Internet]. 2011 Dec 1 [cited 2020 Feb 29];71(23):7137-7140. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22131348>.
- Kakadia S, Yarlagadda N, Awad R, et al. Mechanisms of resistance to BRAF and MEK inhibitors and clinical update of US Food and Drug Administration-approved targeted therapy in advanced melanoma. *Oncol Targets Ther*. [Internet]. 2018 [cited 2020 Feb 17];11:7095-7107. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30410366>.
- Robert C, Grob JJ, Stroyakovskiy D, et al. Five-year outcomes with dabrafenib plus trametinib in metastatic melano-

ma. *N Engl J Med*. 2019;381(7):626-636.

- Dummer R, Ascierto PA, Gogas HJ, et al. Overall survival in patients with BRAF-mutant melanoma receiving encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. [Internet]. 2018 Oct 1 [cited 2020 Feb 29];19(10):1315-1327. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30219628>.
- Long GV, Grob JJ, Nathan P, et al. Factors predictive of response, disease progression, and overall survival after dabrafenib and trametinib combination treatment: a pooled analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet Oncol*. 2016;17(12):1743-1754.