

Vloga imunskega sistema in imunoterapija pri trojno negativnem raku dojk

The role of the immune system in triple-negative breast cancer

Grašič Kuhar Cvetka¹

¹Onkološki inštitut Ljubljana, Zaloška cesta 2, 1000 Ljubljana
Korespondenca: doc. dr. Cvetka Grašič Kuhar, dr. med.
E-mail: cgrasic@onko-i.si
Poslano / Received: 30.3.2020
Sprejeto / Accepted: 1.5.2020
doi:10.25670/oi2020-006on

IZVLEČEK

Interakcija med tumorskimi celicami in imunskimi celicami v tumorski stromi je pomembna za nastanek, razvoj in napredovanje raka. Pri raku dojk je najbolj preučena vloga tumorskega limfocitnega infiltrata (TIL) in izraženosti liganda za programirano smrt-1 (PD-L1). Večja izraženost TIL je neodvisni napovedni dejavnik za popolno patološko remisijo po neoadjuvantni sistemski terapiji pri HER2+ in trojno negativnem podtipu raka dojk ter za celotno preživetje pri trojno negativnem raku dojk. Največ raziskav z zaviralniki kontrolnih točk (imunoterapijo) poteka pri trojno negativnem metastatskem raku dojk. V klinični praksi se že uporablja atezolizumab v kombinaciji z nabpaklitakselom pri primarno metastatskih bolnicah in tistih s progresom več kot 12 mesecev po adjuvantni terapiji, če imajo čezmerno izražen PD-L1. Še vedno pa se raziskuje, kateri mehanizmi in biomarkerji so udeleženi pri odzivu imunskega sistema na tumor, saj ima le majhen delež bolnikov dolgotrajno dobrobit od imunoterapije.

Ključne besede: trojno negativen rak dojke, PD-L1, limfocitna infiltracija tumorja, imunoterapija

ABSTRACT

The interaction between tumour and immune cells in tumour stroma is very important for the formation, development and progression of cancer. The most evaluated interactions are tumour lymphocyte infiltration (TIL) and programmed death ligand 1 (PD-L1) expression. Higher TIL density is an independent prognostic factor for the achievement of complete pathologic remission (pCR) after neoadjuvant systemic treatment in HER2-positive and triple-negative breast cancer. In triple-negative breast cancer, TIL is also prognostic for overall survival. Many studies with immunotherapy (checkpoint inhibitors) are ongoing in triple-negative breast cancer. In routine clinical practice, patients can be treated with atezolizumab+Nab-paclitaxel in primary metastatic breast cancer and those with progression after more than 12 months after the end of adjuvant treatment, if their tumours express PD-L1. Many studies addressing the mechanisms of the immune system and biomarkers are ongoing to reveal why only a subset of patients profit from immunotherapy.

Keywords: triple-negative breast cancer, PD-L1, tumour lymphocyte infiltration, immunotherapy

UVOD

K nastanku in napredovanju raka prispevajo posebne sposobnosti rakavih celic, kot so stalno spodbujanje rasti, izogibanje zaviralnikom rasti, genomska nestabilnost, sposobnost invazije, angiogeneze in tvorjenja oddaljenih zasevkov, nenehna delitev in nesmrtnost rakavih celic, poleg tega pa tudi spodbujanje obtuskega vnetja ter izogibanje delovanju imunskega sistema (1).

Interakcija tumorskih in imunskih celic poteka v obliki tako imenovanega protitumorskega imunskega cikla. Dendritične celice

prepoznajo tumorske antigene, ki so telesu tuje, in jih v bezgavkah predstavijo T-celicam, kar povzroči nastanek citotoksičnih T-celic CD8+, ki prek krvnega obtoka prispejo v tumor, prepoznajo tumorske celice in jih uničijo (2). Vendar je potek takšen le na začetni stopnji razvoja raka, to je v fazi eliminacije, ko imunski sistem še uspe prepoznati in izločiti (eliminirati) rakave celice. V naslednji fazi, fazi ravnotežja, postanejo tumorske celice manj imunogene, s tem se izognejo prepoznavi strani imunskih celic, vendar je tumor še (lokalno) omejen. V fazi pobega pa se tumor povsem izogne vplivu imunskih celic in nenadzorovano napreduje (3).

VLOGA LIMFOCITNEGA INFILTRATA V TUMORJU

Mikrookolje tumorja je zelo kompleksna mreža različnih celic in faktorjev, ki imajo pomembno vlogo pri razvoju in progresu tumorja. Najbolj preučena je vloga limfocitnega infiltrata v tumorju (angl. tumor infiltrating lymphocytes), ki ga označimo s TIL. TIL je skupek celic CD4+ (T-celic pomagalk), celic CD8+ (citotoksičnih T-celic) in B-celic (4).

Leta 2015 so bila objavljena prva priporočila za določevanje TIL na hematoksilin-eozinskih preparatih pri raku dojč, ki jih je pripravila mednarodna delovna skupina za TIL (International TIL Working Group) (5). Priporočajo oceno TIL na operativnem preparatu raka dojč, saj je to bolj zanesljivo kot na vzorcu debeloigelne biopsije, vendar se tudi slednje izvaja v primerih, ko se zdravljenje raka začne z neoadjuvantno sistemsko terapijo. Leta 2018 so bila objavljena posodobljena priporočila, vključno s priporočili za oceno TIL na morebitnem rezidualnem tumorju po neoadjuvantni sistemski terapiji (6). Gostota TIL se ocenjuje kot kontinuirana, in ne kot kategorična vrednost. Za visoko vrednost gostote TIL velja vrednost nad 50–60 %, za srednjo 10–50 % in nizko manj kot 10 %. Pri visokem TIL govorimo o limfocitno predominantnem raku dojč. Rak dojč kot celota ima visok TIL le v 19 %. Pri trojno negativnem (TN) podtipu raka dojč je visok TIL pri 30 % bolnic (7).

TIL je prediktivni in prognostični biomarker. V združeni analizi, ki je vsebovala podatke o 3771 bolnicah, ki so bile zdravljene v okviru 6 neoadjuvantnih raziskav v Nemčiji (German Breast Cancer Group), je bil višji TIL povezan z večjih odstotkom popolne patološke remisije (angl. pathologic complete remission – pCR), in to pri vseh podtipih raka dojč. Pri luminalnem HER2-negativnem podtipu je bil dosežena pCR v 6 %, 11 % in 28 % (nizek, srednji, visok TIL). Pri HER2-pozitivnem podtipu je bil pCR dosežen v 32 %, 39 % in 48 % (nizek, srednji, visok TIL). Pri trojno negativnem podtipu je bil dosežen pCR v 31 %, 31 % in 50 % (nizek, srednji, visok TIL). Visok TIL je bil v multivariatni analizi neodvisni prediktivni dejavnik za doseg pCR po neoadjuvantni sistemski terapiji pri trojno negativnem in HER2-pozitivnem podtipu raka dojč. V omenjeni analizi so dokazali tudi, da je vsako zvečanje TIL za 10 % pri trojno negativnem in HER2-pozitivnem podtipu povezano z daljšim preživetjem brez ponovitve bolezni. Visok TIL pri trojno negativnem raku dojč je bil tudi neodvisen ugoden prognostični dejavnik za celotno preživetje, medtem ko je bil visok TIL pri luminalnem HER2-negativnem raku dojč celo neugoden napovedni dejavnik za celotno preživetje (7). Loi in sod. so objavili združeno analizo 9 ameriških raziskav pri trojno negativnem raku dojč, ki je vključevala 2148 bolnic. Te so bile operirane in so nato prejele adjuvantno kemoterapijo z antraciklini s taksani ali brez njih. Povprečna vrednost TIL je bila 23 %. TIL je bil neodvisen prognostični dejavnik za preživetje brez invazivne ponovitve, oddaljene ponovitve in celotno preživetje. Vsako zvečanje TIL za 10 % je za okoli 15 % zmanjšalo relativno tveganje invazivne in oddaljene ponovitve ter celotno preživetje (7). Bolnice z visokim TIL in zgodnjim rakom dojč imajo po dopolnilni kemoterapiji odlično preživetje. Priporočajo vključitev TIL v model z drugimi kliničnopatološkimi dejavniki za bolnice s trojno negativnim rakom dojč (8). Ta model lahko najdete na spletni povezavi: www.tilsinbreastcancer.org. Tako bi se nekatere bolnice s trojno negativnim rakom dojč z majhnimi tumorji (< 1 cm) in/ali brez zasevkov v pazdušnih bezgavkah lahko izognile dopolnilni kemoterapiji ali prejele manj intenzivno (denimo 4 cikli doksorubicina + ciklofosfamida ali 4 cikli docataksela + ciklofosfamida) namesto 6 do 8 običajnih ciklov kemoterapije z antraciklini in taksani (8).

Raziskave tudi podrobneje preučujejo sestavo TIL. Raziskovalci so ugotovili, da je zvišana infiltracija s T-celicami CD8+

napovedni dejavnik za izboljšano specifično preživetje pri trojno negativnem raku dojč. Nasprotno pa prisotnost celic FoxP3+ zavira učinek T-celic CD8+. FoxP3 je pomemben negativni regulator, ki vpliva na izločanje nekaterih citokinov in ekspresijo kemokinov. Tako je višje razmerje med T-celicami CD8+ in regulatornimi T-celicami FoxP3+ povezano z večjim odstotkom pCR pri agresivnih rakih in z izboljšanim preživetjem brez bolezni in celotnim preživetjem. (9–11) Sestava TIL tako pomeni endogeno protitumorsko imunost.

TIL in s tem vloga različnih limfocitov je sicer najbolj preučena, vedno več pa je raziskav, ki preučujejo še vplive drugih imunskih celic v tumorski stromi (angl. tumor infiltrating immune cells – TIIC). Delovanje TIIC lahko razdelimo v dve skupini: kot antitumorska in protumorogena. Nekatere imunske celice imajo lahko obe vlogi, odvisno od mikrookolja oziroma njihovega funkcionalnega programa (tabela 1) (4). Glavni rivali so torej celice, ki nasprotujejo obstoju tumorja (T-celice pomagalk podtipa Th1, citotoksični limfociti CD8+, makrofagi M1, nevtrofilci N1 in dendritične celice), proti celicam, ki spodbujajo obstoj tumorja (makrofagi M2, nevtrofilci N2, mieloidne supresorske celice in regulatorni limfociti T) (4).

VLOGA IZRAŽENOSTI PD-L1 NA IMUNSKIH IN TUMORSKIH CELICAH

Imunski odgovor na tumor vključuje imunske kontrolne točke, ki preprečujejo preveč buren odziv na tumor in avtoimunski odziv. Med njimi sta najbolj preučeni kontrolni točki CTLA-4 (angl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4*) in PD-1 (receptor za programirano celično smrt-1, angl. programmed death). CTLA-4 je izražen na regulatornih T-celicah. PD-1 je prisoten na T-limfocitih CD4+ in CD8+ in spodbuja apoptozo antigensko specifičnih T-celic v bezgavkah ter zmanjšuje apoptozo regulatornih T-celic. Nanj se lahko vežeta liganda PD-L1 ali PD-L2. Afiniteta vezave PD-1/PD-L2 je 2- do 6-krat močnejša kot vezava PD-1/PD-L1. PD-L1 izražajo imunske celice in s tem regulirajo imunski odziv. Tudi tumorske celice v tretji fazi (fazi pobega) izražajo PD-L1 ali PD-L2. V kontekstu tumorskih celic ta vezava pomeni, da se tumor izogne uničenju z efektorskimi imunskimi celicami, saj tumorskih celic ne prepoznajo kot nevarne. (12–14) Tukaj imajo vlogo tako imenovani zaviralniki kontrolnih točk (imunoterapija) (13). Zaviralniki kontrolnih točk so monoklonska protitelesa, uperjena proti PD-1, PD-L1 ali CTLA-4. Njihova vezava na PD-1 ali PD-L1 omogoči, da se ponovno zažene zavrt imunski odziv na tumor.

Opravljen je bila metaanaliza raziskav, ki so preučevale prognostični pomen izražanja PD-L1 na tumorskih celicah raka dojč na preživetje brez bolezni in celotno preživetje. Ugotovili so, da imajo bolniki s tumorji PD-L1+ slabše preživetje brez ponovitve bolezni (razmerje tveganj 1,43; 95 % interval zaupanja (IZ) 1,21–1,70) in slabše celotno preživetje (razmerje tveganj 1,58; 95 % IZ 1,14–2,20) kot s tumorji, ki so PD-L1 negativni. Kazala se je tudi tendenca k slabši pCR po neoadjuvantni kemoterapiji pri tumorjih PD-L1+ (razmerje tveganj 1,65; 95 % IZ 0,99–2,73). V isti metaanalizi so opravili še eksploratorno analizo na raziskavah, kjer so imeli podatke o izražanju PD-L1 na imunskih celicah (na TIL). Ugotovili so, da imajo tumorji s PD-L1 pozitivnim TIL boljše preživetje brez ponovitve bolezni (razmerje tveganj 0,45 (95 % IZ 0,28–0,78) in celotno preživetje (razmerje tveganj 0,41; 95 % IZ 0,27–0,43) kot s PD-L1 negativnim TIL (15).

Tabela 1: Dvojna vloga imunskih celic v mikrookolju tumorja

Imunske celice v tumorju	Vloga, ki nasprotuje tumorju	Vloga, ki spodbuja tumor
CD 4+	Th1: prepoznavanje tumorskih antigenov Th17:	Th17: aktivacija angiogeneze imunosupresivna funkcija
CD 8+	prepoznavanje tumorskih antigenov citotoksičnost proti celicam, ki izražajo tumorske antigene nima te vloge	nima te vloge
Regulatorna T-celica (FoxP3+)	nima te vloge B-celica tvorba protitumorskih protiteles	zavira T-celice CD8+ zmanjšuje izraženost molekul, vključenih v aktivacijo T-celic
B-celica	tvorba protitumorskih protiteles neposredno ubijanje tumorskih celic indukcija odgovora Th1	tvorba regulatornih T-celic tvorba regulatornih B-celic (različne zaviralne funkcije)
NK-celice (celice naravne ubijalke)	citotoksične za tumorske celice sproščanje citotoksičnih citokinov	podpirajo angiogenezo v tumorju
Dendritične celice Zrele:	Zrele: predstavitev tumorskih antigenov T- in B-celicam in stimulacija T- in B-celic sproščanje citotoksičnih citokinov	Nezrele: okvarjena predstavitev tumorskih antigenov zavirajo T-celice spodbujajo ekspanzijo regulatornih T-celic
Makrofagi (M)	M1: predstavitev antigena T-celici aktivacija odgovora Th1	M2: sekrecija citokinov, kemokinov in supresorskih encimov ekspanzija regulatornih T-celic zaviranje celic CD8+ aktiviranje odgovora Th2
MDSC (myeloid derived supresor cell)	nima te vloge	zavirajo celice CD8+ prek številnih mehanizmov rekrutirajo supresivne imunske celice pospešujejo polarizacijo makrofagov v obliko M2
Nevtrofilci	N1: ubijanje tumorskih celic sekrecija imunostimulatornih citokinov	N2: rekrutacija regulatornih T-celic in s tumorjem povezanih makrofagov pospešujejo invazijo, angiogenezo in metastaziranje
Fibroblasti (CAF-cancer associated fibroblast)	omejena vloga	aktivirajo imunosupresivne celice izločajo imunosupresivne faktorje

CD – angl. cluster of differentiation; odgovor Th1: spodbujanje celično posredovanega imunskega odgovora; odgovor Th2: spodbujanje humoralno (s protitelesi) posredovanega imunskega odgovora

IMUNOTERAPIJA (ZAVIRALNIKI KONTROLNIH TOČK) PRI TROJNO NEGATIVNEM RAKU DOJK

Raziskave z imunoterapijo so se najprej začele pri razsejanem trojno negativnem raku dojke. K temu sta pripomogli dve dejstvi: trojno negativni podtip ima največje mutacijsko breme (z mutacijami nastanejo novi antigeni, ki aktivirajo imunske T-celice) in največji delež tumorjev z visokim TIL (30 %) (16). Poleg tega ima trojno negativni podtip med vsemi podtipi raka dojke najslabšo prognozo (s srednjim preživetjem po ponovitvi 13 mesecev), kar terja iskanje novih mehanizmov zdravljenja. Čeprav je TIL pri metastatskem trojno negativnem raku dojke manj raziskan kot pri zgodnjem raku, so že znanji podatki, da je TIL v metastazah nižje gostote kot v primarnem tumorju.

Prve raziskave pri metastatskem trojno negativnem raku dojke so potekale kot monoterapija (samo zaviralnik kontrolnih točk PD-1 ali PD-L1, brez kombinacije s kemoterapijo). V tabeli 2 so prikazane nekatere zgodnje raziskave (faze I, II). (17–21) Razvidno je, da je bil odstotek objektivnih odgovorov na

zdravljenje majhen (5–23 %). Pri raziskavi s pembrolizumabom (Keynote-086) je višji TIL napovedoval večji odstotek objektivnega odgovora na imunoterapijo (18, 19). Pri raziskavah z atezolizumabom in avelumabom pa sta poleg TIL napovedovala višji odgovor na zdravljenje še večja izraženost celic CD8+ in izraženost PD-L1 (20, 21).

V nadaljnjih raziskavah pri metastatskem trojno negativnem raku dojke so zaviralnike kontrolnih točk preizkušali predvsem v kombinaciji s kemoterapijo, ki lahko deluje sinergistično z imunoterapijo. Kemoterapija namreč povzroči nekrozo tumorskih celic, pri čemer se sproščajo neoantigeni, kar sproži aktivacijo imunskega sistema. V tabeli 3 so prikazane pomembnejše raziskave faze III, ki potekajo z zaviralnikoma kontrolnih točk atezolizumabom in pembrolizumabom. (22–27) Zdravljenje poteka do progressa bolezni, pri kemoterapiji je omejitvev 4 do 6 ciklov (oziroma do pojava omejujočih neželenih učinkov), v roki z imunoterapijo pa se zdravljenje z imunoterapijo nadaljuje še po koncu kemoterapije, če ni prišlo do progressa bolezni.

Tabela 2: Zgodnje raziskave z imunoterapijo (monoterapija) pri metastatskem trojno negativnem raku dojk

Raziskava (referenca)	Faza raziskave	Število bolnikov	Podtip raka dojk	Zaviralnik kontrolnih točk	PD-L1 pozitivni (%)	Objektivni odgovor (%)
Keynote-012 (Ref. 17)	IB	32	TN	pembrolizumab	58,6	15,6
Keynote-086 Kohorta A (ref. 18)	II	170	TN	pembrolizumab	62	12
Keynote-086 Kohorta B (ref. 19)	II	52	TN	pembrolizumab	100	23,1
PCD4989 g (ref. 20)	IA	112	TN	atezolizumab	74	10
JAVELIN (ref. 21)	IA	168	različni	avelumab	63,2	4,8

TN: trojno negativni rak dojk; JAVELIN – ime raziskave; PD-L1: ligand 1 za vezavo na receptor PD-1 (angl. programmed death; programirana celična smrt)

Tabela 3: Raziskave faze III z imunoterapijo v kombinaciji s kemoterapijo pri metastatskem trojno negativnem raku dojk

Raziskava (referenca)	Število bolnikov	Red zdravljenja	Ekperimentalna roka	Kontrolna roka
Keynote-119 (ref. 22)	640	2. ali 3. red	pembrolizumab brez KT	KT (kapecitabin, gemcitabin, vinorelbin, eribulin)
Keynote-355 (ref. 23)	858	1. red	pembrolizumab +KT	KT (paklitaksel, nabpaklitaksel, karboplatin + gemcitabin)
Impassion 131 (ref. 24, 25)	540	1. red	atezolizumab + KT	KT (paklitaksel)
Impassion 130 (ref. 26)	452	1. red	atezolizumab + KT	KT (nabpaklitaksel)
Impassion 132 (Ref. 27)	350	1. red	atezolizumab + KT	KT (gemcitabin + karboplatin ali kapecitabin)

PFS: preživetje brez napredovanja bolezni (angl. progression-free survival); OS: celotno preživetje (angl. overall survival); KT: kemoterapija

Raziskava Impassion 131 je zaključena in je privedla do registracije prvega zaviralnika kontrolnih točk (atezolizumaba) pri trojno negativnem raku dojk (24, 25). Vključevala je bolnice z metastatskim ali lokalno napredovalim inoperabilnim rakom dojk brez predhodnega zdravljenja za metastatsko bolezen. Dovoljeno je bilo predhodno zdravljenje s kemoterapijo v okviru (neo) adjuvantnega zdravljenja zgodnjega raka, vendar je moral biti interval brez zdravljenja vsaj 12 mesecev. Vključevali so bolnice z zelo dobrim stanjem zmogljivosti (0 in 1 po lestvici ECOG). Raziskava (III. faze) je bila randomizirana (1 : 1) v roki atezolizumab + nabpaklitaksel v primerjavi z roko placebo + nabpaklitaksel. Bolnice so stratificirali glede na predhodno zdravljenje s taksani v (neo)adjuvantnem zdravljenju (da/ne), prisotnost jetrnih zasevkov (da/ne) in status PD-L1 (pozitiven/negativen). Raziskava je imela dva primarna cilja: preživetje brez progressa bolezni (angl. progression free survival; PFS) in celokupno preživetje (angl. overall survival; OS) v populaciji z namenom zdravljenja (angl. intention to treat population – ITT) in v populaciji PD-L1+ (slednje bi bilo testirano, če bi bilo preživetje v populaciji ITT značilno podaljšano). PD-L1 so določali na imunskih celicah z imunohistokemičnim barvanjem s pomočjo kita Ventana SPI42. Test je bil pozitiven, če je bila izražena imunskih celic v tumorju $\geq 1\%$. Po tej metodi je bilo v raziskavi 41 % tumorjev PD-L1+. PD-L1 so določali iz metastaz, če to ni bilo mogoče, pa iz preparata primarnega tumorja. V tabeli 4 so prikazani rezultati za PFS in OS v populaciji ITT, PD-L1+ in PDL1-. Interakcijski test nam potrjuje, da daljši PFS korelira z zdravljenjem z atezolizumabom, če gre za tumorje PD-L1+. PD-L1+ je torej napovedni

dejavnik za dobrobit zdravljenja z atezolizumabom. Po podatkih prve analize je bilo podaljšanje OS v ITT pri bolnicah, zdravljenih z atezolizumabom in nabpaklitakselom, daljše za 10 mesecev v primerjavi z bolnicami, ki so prejele samo nabpaklitaksel. V tem smislu je to po dolgem času prva raziskava, ki je podaljšala preživetje pri bolnicah z metastatskim trojno negativnim rakom dojk s sicer slabo prognozo. OS v populaciji ITT v roki z atezolizumabom v drugi vmesni analizi ni bil več statistično podaljšan.

Od imunsko pogojenih neželenih učinkov so bili v roki z atezolizumabom najpogostejši izpuščaji v obliki osipa (34 %), hipotiroidizem (18 %), hipertiroidizem (5 %), pneumonitis (4 %), hepatitis (2 %) in kolitis (1 %). Nekatere bolnice so zaradi imunsko pogojenih neželenih učinkov potrebovale sistemsko terapijo s kortikosteroidi. Preostali neželeni učinki so prikazani v tabeli 5.

Prikazani so neželeni učinki katerekoli stopnje (1–4), ki so se pojavili pri vsaj 20 % bolnic, in neželeni učinki stopnje 3–4, ki so se pojavili pri vsaj 3 % bolnic. V krepkem tisku so poudarjeni neželeni učinki z značilno različno pogostostjo pojavljanja med skupinama.

Preučevali so tudi kakovost življenja. Obe skupini bolnikov (imunoterapija v kombinaciji s kemoterapijo ali kemoterapijo in placebo) v analizi ITT sta imeli enak čas do poslabšanja globalne kakovosti življenja. Eksploratorna analiza pa je pokazala počasnejše poslabšanje v modulu fizično funkcioniranje in funkcioniranje v vlogi v podskupini tumorjev PD-L1+, če so prejeli atezolizumab in nabpaklitaksel v primerjavi s skupino, ki je prejela samo atezolizumab.

Tabela 4: Primerjava rezultatov preživetja brez progressa bolezni (PFS) in celotnega preživetja (OS) pri bolnicah s trojno negativnim rakom dojk, zdravljenih z imunoterapijo v kombinaciji s kemoterapijo (KT) nabpaklitaksel ali samo KT

	HR, 95 % IZ	p	Mediana (atezolizumab + KT proti KT)	Interakcijski test (PD-L1+ x zdravljenje); p
PFS ITT populacija	0,80 (0,69–0,92)	0,002	7,2 proti 5,5 meseca	
PFS PD-L1+ populacija	0,62 (0,49–0,78)	< 0,001	7,5 proti 5,0 mesecev	0,0055
PFS PD-L1- populacija	0,94 (0,78–1,13)	0,52	5,6 proti 5,6 meseca	
OS ITT populacija	0,62 (0,45–0,86)		25,0 proti 15,5 meseca	srednji čas spremljanja 12,9 mesecev (objavljeno 29. 11. 2018)
OS ITT populacija	0,86 (0,72–1,02)	0,078	21 proti 18,7 meseca	srednji čas spremljanja 17,5 in 18,5 meseca analiza 2. 1. 2019
OS PD-L1+ populacija	0,71 (0,54–0,94) (neformalni test)		25 proti 18 mesecev	analiza 2. 1. 2019
OS PD-L1- populacija	/	/	/	

PD-L1: ligand 1 za vezavo na receptor PD-1 (angl. programmed death; programirana celična smrt); OS: angl. overall survival, celotno preživetje; PFS - angl. progression-free survival, preživetja brez progressa bolezni ; *OS v populaciji ITT (angl. intention to treat) ni bil značilno daljši pri bolnikih, zdravljenih z atezolizumabom, zato formalni test v populaciji PD-L1+ ni bil narejen

Tabela 5: Neželene učinki zdravljenja v raziskavi Impassion 131 (raziskovalna roka: atezolizumab + nabpaklitaksel; kontrolna roka: placebo + nabpaklitaksel).

Neželene učinki (vse stopnje) ali ≥ 3 n(%)	Atezolizumab + nabpaklitaksel (n = 452)		Placebo + nabpaklitaksel (n = 438)	
	Katerakoli stopnja (pri ≥ 20 % bolnic)	Stopnja ≥ 3–4 (pri ≥ 3 % bolnic)	Katerakoli stopnja (pri ≥ 20 % bolnic)	Stopnja ≥ 3–4 (pri ≥ 3 % bolnic)
Alopecija	255 (56 %)	3 (1 %)	252 (58 %)	1 (< 1 %)
Oslabelost	211 (47 %)	18 (4 %)	196 (45 %)	15 (3 %)
Slabost	208 (46 %)	5 (1 %)	167 (38 %)	8 (2 %)
Diareja	147 (33 %)	6 (1 %)	150 (34 %)	9 (2 %)
Anemija	125 (28 %)	13 (3 %)	115 (26 %)	13 (3 %)
Obstipacija	113 (25 %)	3 (1 %)	108 (25 %)	1 (< 1 %)
Kašelj	112 (25 %)	0	83 (19 %)	0
Glavobol	105 (23 %)	2 (< 1 %)	96 (22 %)	4 (1 %)
Periferna nevropatija	98 (22 %)	25 (6 %)	97 (22 %)	12 (3 %)
Nevtropenija	94 (21 %)	37 (8 %)	67 (15 %)	36 (8 %)
Inapetenca	91 (20 %)	3 (1 %)	79 (18 %)	3 (1 %)
Hipertenzija	22 (5 %)	4 (1 %)	24 (5 %)	11 (3 %)

Pri raziskavah s pembrolizumamom (22, 23) je bil kriterij za PD-L1+, če je bil skupni pozitiven rezultat na imunskih in rakavih celicah (angl. combined positive score – CPS) večji od 1. Uporabljen je bil kit PD-L1 IHC 22C3 PharmDx. Raziskava Keynote-199, ki je potekala pri bolnicah po več redih terapije (ne prva linija metastatske bolezni) in ki je primerjala samo imunoterapijo s pembrolizumabom v primerjavi s kemoterapijo po izboru zdravnika, je bila negativna, saj primarni cilj (podaljšanje OS v populaciji ITT kot tudi v CPS > 1 in CPS > 10) ni bil dosežen. V eksploratorni analizi pa se je nakazovala dobrobit pembrolizumaba pri podskupini s CPS > 20 (22).

Pri raku dojke potekajo številne raziskave z različnimi zaviralniki kontrolnih točk (največ s pembrolizumabom, sledita atezolizumab in durvalumab, nato pa še nivolumab, avelumab in drugi) (28). Raziskave se iz konteksta metastatske bolezni širijo tudi na zgodnji rak dojke (neoadjuvantna in adjuvantna terapija). Poleg morebitnega vpliva na podaljšanje časa brez progressa bolezni in celotnega preživetja je zelo pomembno spremljanje morebitnih trajnih posledic zdravljenja predvsem na endokrine žleze (ščitnico, hipofizo).

ZAKLJUČEK

Trenutno je raziskovalcem uspelo odkriti le del zapletenega prepletanja vlog med tumorjem in imunskimi celicami. Rezultati prvih raziskav z zaviralniki kontrolnih točk pri metastatskem trojno negativnem raku dojke so obetajoči, vendar bo treba vložiti še veliko napora, da bi ugotovili dodatne biomarkerje za napoved odgovora na zdravljenje. Pričakujemo tudi nova spoznanja glede drugih celic v mikrookolju tumorja (stromi) in kombinacije s terapijami, ki ciljajo še na druge mehanizme, ki omogočajo rakavim celicam nesmrtnost.

LITERATURA

1. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell* 2011; 144: 646–674.
2. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 2013; 39(1): 1–10.
3. García-Aranda M, Redondo M. Immunotherapy: A Challenge of Breast Cancer Treatment. *Cancers*. 2019; 11(12): 1822.
4. Baxevanis CN, Fortis SP, Perez SA. The balance between breast cancer and the immune system: Challenges for prognosis and clinical benefit from immunotherapies. *Semin Cancer Biol*. 2019 Dec 24. pii: S1044-579X(19)30418-3. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.12.018. [Epub ahead of print]
5. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* 2015;26:259–71. doi:10.1093/annonc/mdu450.
6. Dieci MV, Radošević-Robin N, Fineberg S, van den Eynden G, Ternes N, Penault-Llorca F, et al. International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. Update on tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer, including recommendations to assess TILs in residual disease after neoadjuvant therapy and in carcinoma in situ: A report of the International Immuno-Oncology Biomarker Working Group on Breast Cancer. *Semin Cancer Biol* 2018; 52(Pt 2): 16–25. doi: 10.1016/j.semcancer.2017.10.003.
7. Denkert C, von Minckwitz G, Darb-Esfahani S, Lederer B, Heppner BI, Weber KE, et al. Tumour-infiltrating lymphocytes and prognosis in different subtypes of breast cancer: a pooled analysis of 3771 patients treated with neoadjuvant therapy. *Lancet Oncol* 2018;19:40–50. doi:10.1016/S1470-2045(17)30904-X.
8. Loi S, Drubay D, Adams S, Pruneri G, Francis PA, Lacroix-Triki M et al. Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Prognosis: A Pooled Individual Patient Analysis of Early-Stage Triple-Negative Breast Cancers. *J Clin Oncol* 2019; 37(7): 559–569. doi: 10.1200/JCO.18.01010.
9. Asano Y, Kashiwagi S, Goto W, Kurata K, Noda S, Takashima T et al. Tumour-infiltrating CD8 to FOXP3 lymphocyte ratio in predicting treatment responses to neoadjuvant chemotherapy of aggressive breast cancer. *Br J Surg*. 2016 Jun;103(7):845–54. doi: 10.1002/bjs.10127.
10. Papaioannou E, Sakellakis M, Melachrinou M, Tzoracoleftherakis E, Kalofonos H, Kourea E et al. Standardized Evaluation Method for FOXP3+ Tregs and CD8+ T-cells in Breast Carcinoma: Association With Breast Carcinoma Subtypes, Stage and Prognosis. *Anticancer Res*. 2019 Mar;39(3):1217–1232. doi: 10.21873/anticancer.13232.
11. Blackley EF, Loi S. Targeting immune pathways in breast cancer: review of the prognostic utility of TILs in early stage triple negative breast cancer (TNBC). *The Breast* 2019; 48S1: S44–S48.
12. Spellman S, Tang SC. Immunotherapy for breast cancer: past, present and future. *Cancer Metastasis Rev* 2016; 35(4): 525–546.
13. Elezov DS, Kudryavtsev IV. PD-1 receptor on immune cells, its expression and potential role in cancer therapy.

- Cellular Therapy and Transplantation 2019; 8 (2): 6-16. doi: 10.18620/ctt-1866-8836-2019-8-2-8-16
14. Vranic S, Cyprian FS, Gatalica Z, Palazzo J. PD-L1 status in breast cancer: Current view and perspectives. *Semin Cancer Biol* 2019. pii: S1044-579X(19)30397-9. doi: 10.1016/j.semcancer.2019.12.003. [Epub ahead of print]
 15. Huang W, Ran R, Shao B, Li H. Prognostic and clinicopathological value of PD-L1 expression in primary breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2019; 178(1): 17-33. doi: 10.1007/s10549-019-05371-0.
 16. de la Cruz-Merino L, Palazón-Carrión N, Henao-Carrasco F, Nogales-Fernández E, Álamo-de la Gala M, Vallejo-Benítez A, Chiesa M, Sánchez-Margalet V; GEICAM (Spanish Breast Cancer Research Group) and GÉTICA (Spanish Group for Cancer Immuno-Biotherapy). New horizons in breast cancer: the promise of immunotherapy. *Clin Transl Oncol* 2019; 21(2): 117-125. doi: 10.1007/s12094-018-1907-3.
 17. Nanda R, Chow LQ, Dees EC, Berger R, Gupta S, Geva R et al. Pembrolizumab in patients with advanced triple-negative breast cancer: phase Ib KEYNOTE-012 study. *J Clin Oncol*. 2016;34(21): 2460-7. doi: 10.1200/JCO.2015.64.8931.
 18. Adams S, Schmid P, Rugo HS, Winer ER, Loirat D, Awada A, et al. Phase 2 study of pembrolizumab (pembro) monotherapy for previously treated metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): Keynote-086 cohort A. *J Clin Oncol*. 2017;35(15suppl):abstr 1008.
 19. Adams S, Loi S, Toppmeyer D, Cescon DW, De Laurentiis M, Nanda R, et al. Phase 2 study of pembrolizumab as first-line therapy for PD-L1-positive metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC): Preliminary data from Keynote-086 cohort B. *J Clin Oncol*. 2017;35(15_suppl):abstr 1088.
 20. Schmid P, Cruz C, Braiteh FS, et al: Atezolizumab in metastatic TNBC: Long-term clinical outcomes and biomarker analysis. 2017 AACR Annual Meeting. Abstract 2986. Presented April 3, 2017
 21. Dirix LY, Takacs I, Jerusalem G, Nikolinos P, Arkenau HT, Forero-Torres A et al. Avelumab, an anti-PD-L1 antibody, in patients with locally advanced or metastatic breast cancer: a phase Ib JAVELIN Solid Tumor study. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Feb;167(3):671-686. doi: 10.1007/s10549-017-4537-5.
 22. Winer EP, Dang T, Karantza V, Su SC. Keynote-119: a randomized phase III study of single-agent pembrolizumab (MK-3475) vs single-agent chemotherapy per physician's choice for metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC). *J Clin Oncol*. 2016;34((15_Suppl.)):abstr TPS1102. https://doi.org/10.1200/jco.2016.34.15_suppl.tps1102.
 23. Cortés J, Guo Z, Karantza V, Aktan G. KEYNOTE-355: Randomized, double-blind, phase III study of pembrolizumab (pembro) + chemotherapy (chemo) vs placebo (PBO) + chemo for previously untreated, locally recurrent, inoperable or metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC). *J Clin Oncol*. 2018;36((5_Suppl.)):abstr TPS18. https://doi.org/10.1200/jco.2018.36.5_suppl.tps18.
 24. Schmid P, Adams S, Rugo HS, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, Diéras V, Hegg R, Im SA, Shaw Wright G, Henschel V, Molinero L, Chui SY, Funke R, Husain A, Winer EP, Loi S, Emens LA; IMpassion130 Trial Investigators. Atezolizumab and Nab-Paclitaxel in Advanced Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2018; 379(22): 2108-2121. doi: 10.1056/NEJMoa1809615.
 25. Schmid P, Rugo HS, Adams S, Schneeweiss A, Barrios CH, Iwata H, Diéras V, Henschel V, Molinero L, Chui SY, Maiya V, Husain A, Winer EP, Loi S, Emens LA; IMpassion130 Investigators. Atezolizumab plus nab-paclitaxel as first-line treatment for unresectable, locally advanced or metastatic triple-negative breast cancer (IMpassion130): updated efficacy results from a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2020; 21(1): 44-59. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30689-8
 26. Emens LA, Adams S, Loi S, Schneeweiss A, Rugo HS, Winer EP, et al. IMpassion130: a Phase III randomized trial of atezolizumab with nab-paclitaxel for first-line treatment of patients with metastatic triple-negative breast cancer (mTNBC). *J Clin Oncol*. 2016; 34(15_Suppl):abstr TPS1104. https://doi.org/10.1200/jco.2016.34.15_suppl.tps1104.
 27. Hoffmann-La Roche. A Phase III, multicenter, randomised, double-blind, placebo-controlled study of atezolizumab (Anti-Pd-L1 Antibody) in combination with paclitaxel compared with placebo with paclitaxel for patients with previously untreated inoperable locally advanced or metastatic triple negative breast cancer. In: *ClinicalTrials.gov*. U.S. National Library of Medicine. 2017. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03125902>
 28. Esteva FJ, Hubbard-Lucey VM, Tang J, Pusztai L. Immunotherapy and targeted therapy combinations in metastatic breast cancer. *Lancet Oncol*. 2019;20(3):e175-e186. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30026-9.

© Avtor(ji). To delo je objavljeno pod licenco Creative Commons Priznanje avtorstva 4.0.

© The author(s). This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>