

Anna Markowska¹, Stefan Sajdak², Jolanta Lubin³, Janina Markowska⁴

Znaczenie PD-1 – receptora programowanej śmierci-1 – i jego ligandów w immunoterapii raka jajnika

The role of PD-1 – a programmed cell death receptor 1 – and its ligands in ovarian cancer immunotherapy

¹ Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

² Klinika Ginekologii Operacyjnej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

³ Wielkopolskie Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii im. Eugenii i Janusza Zeylandów, Poznań, Polska

⁴ Katedra i Klinika Onkologii, Oddział Ginekologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań, Polska

Adres do korespondencji: Prof. dr hab. n. med. Anna Markowska, Klinika Perinatologii i Chorób Kobiety, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, ul. Polna 33, 60-535 Poznań

¹ Department of Perinatology and Women's Diseases, Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland

² Department of Gynecological Surgery, Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland

³ Wielkopolska Centre of Pulmonology and Thoracic Surgery, Poznan, Poland

⁴ Department of Oncology, Division of Gynecological Oncology, Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland

Correspondence: Professor Anna Markowska, MD, PhD, Department of Perinatology and Women's Diseases, Poznan University of Medical Sciences, Polna 33, 60-535 Poznan

Streszczenie

Układ immunologiczny odgrywa istotną rolę zarówno w rozwoju raka, jak i jego destrukcji. Komórki nowotworu wykształciły mechanizmy pozwalające im uniknąć skutecznej reakcji immunologicznej. Jednym z nich jest wykorzystanie szlaków immunologicznych punktów kluczowych (*immune checkpoint*), które modulują nasilenie i czas trwania tej odpowiedzi. Najlepiej poznane są dwa receptory immunologicznych punktów kluczowych: antygen 4 CTLA (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*) i białko programowanej śmierci komórki 1 – PD-1 (*programmed cell death protein 1 pathway*), uczestniczące w odpowiedzi regulatorowych limfocytów T. Przeciwciała przeciwko cząsteczce CTLA-4 stosowane jest w leczeniu wielu nowotworów złośliwych, w tym niedrobnokomórkowego raka płuca, raka prostaty i czerniaka. PD-1 i jego ligandy PD-L1 i PD-L2 stanowią oś immunologiczną, która chroni komórki nowotworowe przed działaniem limfocytów T regulatorowych (T cytotoksycznych CD8⁺ i pomocniczych CD4⁺). Przeciwciała monoklonalne niwolumab blokuje PD-1, a przez to połączenie z jego ligandami. W ten sposób odtwarzana jest aktywność przeciwiguzowa limfocytów T, która okazuje się obiecująca w próbach klinicznych u chorych na nowotwory złośliwe w wielu lokalizacjach, w tym na niedrobnokomórkowego raka płuca, czerniaka oraz raka jajnika, zwłaszcza jasnokomórkowego. Stosowanie niwolumabu nie jest pozbawione działań niepożądanych, które występują u około 40% leczonych na raka jajnika kobiet. Należą do nich między innymi arytmia, gorączka, niedokrwistość oraz obniżenie liczby limfocytów. Uważa się, że łączenie terapii blokującej kluczowe punkty immunologiczne z innymi czynnikami przeciwrakowymi, w tym chemioterapią, radioterapią, inną terapią celowaną, pozwoli uzyskać większą skuteczność w leczeniu nowotworów złośliwych, w tym raka jajnika.

Słowa kluczowe: PD-1/PD-L1, niwolumab, rak jajnika, immunoterapia

Abstract

The immune system plays an important role in both cancer development and destruction. Tumor cells have developed mechanisms to evade an effective immune response. One of these involves the use of immune checkpoint pathways, which modulate the intensity and duration of such responses. There are two immune checkpoint receptors that have been most thoroughly studied: CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) and PD-1 (programmed cell death protein 1 pathway), involved in regulatory T cell responses. The anti-CTLA-4 antibody is used in the treatment of many malignancies, including non-small-cell lung cancer, prostate cancer and melanoma. PD-1 and its ligands, PD-L1 and PD-L2, represent an immune axis protecting cancer cells against regulatory T cells (cytotoxic CD8⁺ cells and CD4⁺ helper cells). Nivolumab, a monoclonal antibody, blocks PD-1 and, as a result, its binding to its ligands. Consequently, T cell antitumor activity is restored, which appears promising in clinical trials involving patients with malignancies in multiple locations, including

non-small-cell lung cancer, melanoma and ovarian cancer, clear cell ovarian carcinoma in particular. Nivolumab therapy is not devoid of adverse effects, which affect about 40% of patients with ovarian cancer. These include e.g. arrhythmia, fever, anemia and decreased lymphocyte count. It is believed that combining a therapy that blocks the key immune checkpoints with other anticancer agents, including chemotherapy, radiation therapy or other targeted therapies, will improve treatment efficacy in malignancies, including ovarian cancer.

Key words: PD-1/PD-L1, nivolumab, ovarian cancer, immunotherapy

Układ immunologiczny odgrywa kluczową rolę w kontroli rozwoju nowotworu oraz w jego niszczeniu. Jednakże komórki raka rozwinęły szereg mechanizmów powodujących supresję immunologiczną, co pozwala im na uniknięcie skutecznej reakcji immunologicznej⁽¹⁾.

Od wielu lat stosowana jest immunoterapia bierna, polegająca na zastosowaniu przeciwciał monoklonalnych przeciwko specyficznym receptorom (np. HER2 lub VEGFR) obecnym na powierzchni komórek wielu nowotworów: raka piersi, żołądka, jelita grubego i niedrobnokomórkowego raka płuca^(2,3). Innym podejściem terapeutycznym jest immunoterapia adaptacyjna, polegająca na zniesieniu immunotolerancji w krytycznych punktach immunologicznych (*immune checkpoint*), w których kontrolowane są szlaki regulujące czas trwania odpowiedzi immunologicznej, jej nasilenie oraz hamowanie^(1,4,5).

W odpowiedzi przeciwnowotworowej biorą udział aktywowane limfocyty T efektorowe (cytotoksyczne CD8⁺ oraz pomocnicze CD4⁺) poprzez połączenie ich aktywnej cząsteczki CD28 z cząsteczkami CD80 i CD86 na powierzchni komórek raka lub komórek prezentujących antygen APC (*antigen presenting cells*), głównie komórek dendrytycznych^(6,7).

Komórki nowotworowe zapobiegają efektom immunosupresyjnym na drodze wielu mechanizmów, w tym wykorzystując szlaki inhibicyjne kluczowych punktów immunologicznych. Jednym z nich jest ekspresja antygenu 4 cytotoksycznych limfocytów T (*cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4*, CTLA-4), innym aktywność szlaku PD-1/PD-L1 i PD-L2 (*programmed cell death protein 1 pathway*) – białka 1 programowanej śmierci komórki i jego ligandów^(1,8). Cząsteczka CTLA-4 jest negatywnym regulatorem aktywowanych limfocytów T, należącym do rodziny CD28. Wykazuje ekspresję głównie na komórkach APC; jej ligandami – jak już wspomniano – są CD80 i CD86. Wykryte przeciwciała monoklonalne ipilimumab przeciwko CTLA-4 zwiększa aktywację limfocytów T regulatorowych. Stosuje się je w leczeniu wielu nowotworów, w tym niedrobnokomórkowego raka płuca, raka prostaty i czerniaka^(5,6).

PD-1 jest również negatywnym regulatorem limfocytów T; to receptor glikoproteinowy, po raz pierwszy opisany w 1992 roku⁽⁹⁾. Ulega ekspresji na limfocytach T efektorowych (CD4⁺ i CD8⁺), limfocytach B, monocytach, komórkach NK i komórkach dendrytycznych po ich aktywacji.

The immune system plays an important role in both cancer development and destruction. However, tumor cells have developed a number of immune suppression mechanisms to evade an effective immune response⁽¹⁾.

Passive immunotherapy, which involves the use of monoclonal antibodies against specific receptors (e.g. HER2 or VEGFR) present on the cancer cell surface, e.g. in breast, stomach, colon and non-small-cell lung cancer, has been used for many years^(2,3). Adaptation immunotherapy, breaking the immune tolerance in critical immune checkpoints that control pathways modulating immune response duration, intensity and inhibition, represents another therapeutic approach^(1,4,5).

An anticancer response involves activated effector T cells (cytotoxic CD8⁺ cells and helper CD4⁺ cells), which bind their active CD28 molecule to CD80 and CD86 molecules, which are present on the surface of cancer cells or antigen presenting cells, mainly dendritic cells^(6,7).

Cancer cells use a number of mechanisms to evade immunosuppressive effects, e.g. they use immune checkpoint inhibition pathways. One of these involves the expression of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4); another one is based on the activity of programmed cell death protein 1 pathway (PD-1/PD-L1 and PD-L2)^(1,8). CTLA-4 molecule is a negative modulator of activated T cells belonging to CD28 family. It is primarily expressed by APCs; as already mentioned, CD80 and CD86 are its ligands. Ipilimumab, a monoclonal antibody against CTLA-4, increases regulator T cell activation. It is used for the treatment of many cancers, including non-small-cell lung cancer, prostate cancer and melanoma^(5,6).

PD-1 is also a negative modulator of T cells; it is a glycoprotein receptor, first described in 1992⁽⁹⁾. It is expressed on effector T cells (CD4⁺ and CD8⁺), B cells, monocytes, NK cells and dendritic cells after their activation. PD-1 ligands include PD-L1 (B7-H1) and PD-L2 (B7-DC), whose expression has been demonstrated on a number of cells: T and B cells as well as many different malignant cells (melanoma, lung cancer, kidney cancer). They can be detected by immunohistochemistry. PD-L2 is mainly expressed by many lymphoid tumors. By triggering the PD-1/PD-L1/PD-L2 pathway, cancer cells evade immune responses by down-regulating effector T cells. This pathway is promising for anti-PD-1 antibodies; nivolumab, an anti-PD-1 antibody, proved effective in the treatment of patients with

Ligandami PD-1 są PD-L1 (B7-H1) i PD-L2 (B7-DC), których ekspresję wykazano na szeregu komórkach: limfocytach T i B oraz komórkach raka licznych nowotworów złośliwych (czerniak, rak płuca, rak nerki). Ich obecność można wykryć badaniami immunohistochemicznymi. Ekspresja PD-L2 dotyczy głównie licznych nowotworów limfoidalnych. Uruchomienie szlaku PD-1/PD-L1/PD-L2 pozwala uniknąć komórkom raka odpowiedzi immunologicznej poprzez negatywną regulację limfocytów T efektorowych. Szlak ten jest obiecujący dla przeciwciał przeciwko PD-1; niwolumab, przeciwciało przeciw PD-1, okazał się skuteczny w leczeniu chorych na czerniaka, niedrobnokomórkowego raka płuca, raka jelita grubego i raka jajnika. Jest to ludzkie przeciwciało zapobiegające wiązaniu się receptora PD-1 z jego ligandem PD-L1, przez co odtwarzana jest aktywność przeciwguzowa limfocytów T^(1,4,5,8).

Śród wszystkich nowotworów złośliwych narządów płciowych kobiet rak jajnika jest przyczyną najwyższej śmiertelności. W leczeniu tego raka dokonuje się w ostatniej dekadzie postęp, do którego przyczyniło się lepsze poznanie mechanizmów molekularnych decydujących o wzroście, podziale i przerzutowaniu komórek raka. Poznanie heterogenności raka jajnika i jego analiza genomowa związane są z wprowadzaniem nowych personalizowanych terapii celowanych^(2,10,11).

W 2011 roku wprowadzono do leczenia raka jajnika antyangiogenne przeciwciało monoklonalne bewacyzumab (Avastin), aktywne przeciwko wszystkim izoformom VEGF. Obecnie stosować można inhibitor enzymów PARP (*poly-ADP-ribose polymerase*) Lynparza (olaparyb) u kobiet z mutacją w *BRCA1/2*⁽¹²⁾. Podejmowane są próby niszczenia komórek macierzystych raka – CSC (*cancer stem cells*), których obecność wiąże się z niepowodzeniem terapii: chemioopornością, radioopornością i nawrotami raka^(13,14). Istotną rolę w rozwoju i przebiegu raka jajnika odgrywa układ immunologiczny. Maine i wsp.⁽¹⁵⁾ badali ekspresję PD-L1 i PD-1 w guzach granicznych jajnika i guzach złośliwych; stwierdzili znamienne wyższą ekspresję w guzach złośliwych. Uważają, że ekspresja PD-1/PD-L1 może być markerem diagnostycznym w raku jajnika. Hamanishi i wsp.⁽¹⁶⁾ badali ekspresję PD-1 i PD-L1 w raku jajnika. Autorzy ci wykazali, że wyższa ekspresja PD-L1 związana była z gorszą prognozą w porównaniu z niższą ekspresją. Podobna zależność dotyczyła ekspresji PD-L2. Uznali, że oś PD-1/PD-L1 może być dobrą tarczą w terapii raka jajnika. Kontrowersyjne dane przedstawili Darb-Esfahani i wsp.⁽¹⁷⁾ Wysokie stężenia PD-1/PD-L1 były korzystnymi wskaźnikami prognostycznymi; towarzyszyło im znamienne wydłużenie zarówno czasu do wznowy (*progression-free survival*, PFS), jak i całkowitego przeżycia (*overall survival*, OS).

W innym badaniu Hamanishi i wsp.⁽¹⁸⁾ zastosowali niwolumab – przeciwciało blokujące PD-1/PD-L1 – u 22 pacjentek z platynoniewrażliwym rakiem jajnika. Całkowitą odpowiedź na leczenie odnotowano u 15% pacjentek⁽¹⁸⁾.

Tkanki 19 guzów raka jajnika zbadano metodą mikro-macierzy RNA zgodnie z oceną TCGA (atlas genomu).

melanoma, non-small-cell lung cancer, colon cancer and ovarian cancer. This is a human antibody that blocks PD-1 from binding to its ligand (PD-L1), thus restoring the anti-tumor activity of T cells^(1,4,5,8).

Of all gynecologic malignancies, ovarian cancer is the leading cause of death. A better understanding of molecular mechanisms underlying cancer cell growth, division and invasiveness has contributed to progress in the treatment of this cancer in the last decade. Understanding the heterogeneity of ovarian cancer and its genomic analysis has led to the development of new personalized targeted therapies^(2,10,11).

In 2011, bevacizumab (Avastin), a new anti-angiogenic monoclonal antibody active against all VEGF isoforms, was introduced. At present, PARP (poly-ADP-ribose polymerase) inhibitor, known under the name Lynparza (olaparyb), can be used in women with *BRCA1/2* mutation⁽¹²⁾. Attempts are made to destroy cancer stem cells (CSCs), which contribute to therapeutic failure: chemoresistance, radioresistance and cancer recurrence^(13,14). The immune system plays an important role in the development and the course of ovarian cancer. Maine *et al.*⁽¹⁵⁾ investigated PD-L1 and PD-1 expression in borderline ovarian tumors and malignant tumors. They found a significantly higher expression in malignant tumors. The authors believe that PD-1/PD-L1 expression may represent a diagnostic marker in ovarian cancer. Hamanishi *et al.*⁽¹⁶⁾ studied the expression of PD-1 and PD-L1 in ovarian cancer. The authors showed that higher PD-L1 expression was associated with worse prognosis compared to lower expression. A similar relationship was observed for PD-L2 expression. It was found that the PD-1/PD-L1 axis may be a promising therapeutic target in the treatment of ovarian cancer. Controversial data were presented by Darb-Esfahani *et al.*⁽¹⁷⁾ High PD-1/PD-L1 levels were favorable prognostic indicators; they were associated with both improved progression-free survival (PFS) and overall survival (OS).

In another study, Hamanishi *et al.*⁽¹⁸⁾ used nivolumab, an antibody that blocks PD-1/PD-L1 interaction, in 22 patients with platinum-resistant ovarian cancer. A complete response to treatment was observed in 15% of patients⁽¹⁸⁾.

Tissue samples from 19 ovarian tumors were evaluated based on RNA microarray method in accordance with the Cancer Genome Atlas (TCGA). The proliferation signature of cancer was related to higher disease progression. Additional studies on the expression of PD-1/PD-L1 axis demonstrated that it is independent of the *BRCA* status. A complete cancer remission was observed in women with clear cell ovarian cancer after nivolumab therapy⁽¹⁹⁾. Therefore, the treatment strategy in ovarian cancer requires a selection of patients with other identified biomarkers or precise histological features consistent with the Cancer Genome Atlas^(20–22).

Nivolumab causes adverse effects, which occurred in 40% of women included in the study conducted by Hamanishi *et al.*⁽¹⁸⁾ Adverse effects grade 3 and 4, such as

Sygnatura raka proliferacyjnego dotyczyła pacjentek z większą progresją choroby. Dodatkowe badania ekspresji osi PD-1/PD-L1 wykazały, że jest ona niezależna od statusu *BRCA*. U kobiet z rakiem jasnokomórkowym jajnika po zastosowaniu niwolumabu stwierdzono całkowitą remisję raka⁽¹⁹⁾. Zatem strategia leczenia raka jajnika wymaga selekcji chorych, u których określone będą inne biomarkery lub precyzyjne cechy histologiczne zgodne z atlasem genomu^(20–22).

Stosowanie niwolumabu związane jest z objawami ubocznymi, które w badaniach Hamanishiego i wsp.⁽¹⁸⁾ wystąpiły u 40% kobiet. Stwierdzono objawy niepożądane 3. i 4. stopnia: niedoczynność tarczycy, arytmie, obniżenie liczby limfocytów, gorączkę, wysypkę, niedokrwistość i zmęczenie. Obecnie rozpoczęły się próby kliniczne z innym inhibitorem osi PD-1/PD-L1 – pembrolizumabem w nawrotowym zaawansowanym raku jajnika, jajowodu i otrzewnej po cytoredukcji i chemioterapii opartej na platynie⁽¹⁾.

Uważa się, że stosowanie przeciwciał blokujących immunologiczne punkty kluczowe w połączeniu z innymi terapiami przeciwnowotworowymi, na przykład chemioterapią, radioterapią, inną terapią celowaną, będzie bardziej skuteczne w leczeniu nowotworów złośliwych, w tym raka jajnika^(1,21).

Konflikt interesów

Autorzy nie zgłaszają żadnych finansowych ani osobistych powiązań z innymi osobami lub organizacjami, które mogłyby negatywnie wpłynąć na treść publikacji oraz rościć sobie prawo do tej publikacji.

Piśmiennictwo / References

1. Postow MA, Callahan MK, Wolchok JD: Immune checkpoint blockade in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2015; 33: 1974–1982.
2. Birrer MJ: Ovarian cancer: targeting the untargetable. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2014: 13–15.
3. Wahid M, Mandal RK, Dar SA *et al.*: Therapeutic potential and critical analysis of trastuzumab and bevacizumab in combination with different chemotherapeutic agents against metastatic breast/colorectal cancer affecting various endpoints. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 104: 124–130.
4. Mellman I, Coukos G, Dranoff G: Cancer immunotherapy comes of age. *Nature* 2011; 480: 480–489.
5. Pardoll D, Drake C: Immunotherapy earns its spot in the ranks of cancer therapy. *J Exp Med* 2012; 209: 201–209.
6. Roth BJ, Krilov L, Adams S *et al.*: Clinical Cancer Advances 2012: Annual Report on Progress Against Cancer from the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* 2013; 31: 131–161.
7. Finn OJ: Immuno-oncology: understanding the function and dysfunction of the immune system in cancer. *Ann Oncol* 2012; 23 Suppl 8: viii6–viii9.
8. Welz JA: The promise of PD-1 pathway blockade in the treatment of metastatic cancer. *MOP Magnifier* 2014; 1: 1–7.
9. Ishida Y, Agata Y, Shibahara K *et al.*: Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* 1992; 11: 3887–3895.
10. Cancer Genome Atlas Research Network: Integrated genomic analyses of ovarian carcinoma. *Nature* 2011; 474: 609–615.

hypothyroidism, arrhythmia, decreased lymphocyte count, fever, rash, anemia and fatigue, were observed. Currently, clinical trials with another PD-1/PD-L1 axis inhibitor, known as pembrolizumab, in recurrent advanced ovarian, fallopian tube and peritoneal cancer after cytoreduction and platinum-based chemotherapy, have began⁽¹⁾.

It is believed that combining antibodies that block the key immune checkpoints with other anticancer agents, including chemotherapy, radiation therapy or other targeted therapies, will be more efficacious in the treatment of malignancies, including ovarian cancer^(1,21).

Conflict of interest

Authors of this publication do not report any financial or personal connections with other people or organizations which would have bad influence on the content of the publication or which would claim the rights to this publication.

11. Hansen JM, Coleman RL, Sood AK: Targeting the tumour microenvironment in ovarian cancer. *Eur J Cancer* 2016; 56: 131–143.
12. Banerjee S, Kaye SB: New strategies in the treatment of ovarian cancer: current clinical perspectives and future potential. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 961–968.
13. Lengyel E: Ovarian cancer development and metastasis. *Am J Pathol* 2010; 177: 1053–1064.
14. Zhang B, Wang X, Cai F *et al.*: Antitumor properties of salinomycin on cisplatin-resistant human ovarian cancer cells *in vitro* and *in vivo*: involvement of p38 MAPK activation. *Oncol Rep* 2013; 29: 1371–1378.
15. Maine CJ, Aziz NH, Chatterjee J *et al.*: Programmed death ligand-1 over-expression correlates with malignancy and contributes to immune regulation in ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2014; 63: 215–224.
16. Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M *et al.*: Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8⁺ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 3360–3365.
17. Darb-Esfahani S, Kunze CA, Kulbe H *et al.*: Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 1486–1499.
18. Hamanishi J, Mandai M, Ikeda T *et al.*: Safety and antitumor activity of anti-PD-1 antibody, nivolumab, in patients with platinum-resistant ovarian cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33: 4015–4022.
19. Webb JR, Milne K, Kroeger DR *et al.*: PD-L1 expression is associated with tumor-infiltrating T cells and favorable prognosis in high-grade serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2016; 141: 293–302.
20. Festino L, Botti G, Lorigan P *et al.*: Cancer treatment with anti-PD-1/PD-L1 agents: is PD-L1 expression a biomarker for patient selection? *Drugs* 2016; 76: 925–945.
21. Weiss L, Huemer F, Mlineritsch B *et al.*: Immune checkpoint blockade in ovarian cancer. *Memo* 2016; 9: 82–84.
22. Zhu X, Lang J: The significance and therapeutic potential of PD-1 and its ligands in ovarian cancer: a systematic review. *Gynecol Oncol* 2016; 142: 184–189.