ИНСТИТУТ ИММУНОЛОГИИ
ФМБА РОССИИ

ФГБУ “ГНЦ Институт иммунологии” ФМБА России

Проблемы и перспективы в иммунотерапии злокачественной меланомы.

Выполнил: *аспирант ФГБУ “ГНЦ Институт иммунологии” ФМБА России Горшенин Д. С.*

Научный руководитель: *дмн, доцент Жернов Ю. В.*

Москва
2021

Определение

Мелано́ма — злокачественная опухоль, развивающаяся из меланоцитов — пигментных клеток, продуцирующих меланины и происходящих из нервного гребня (нейроэктодермальное прохождение).

Наряду с плоскоклеточным ибазальноклеточным раком кожи относится к злокачественным опухолям кожи.

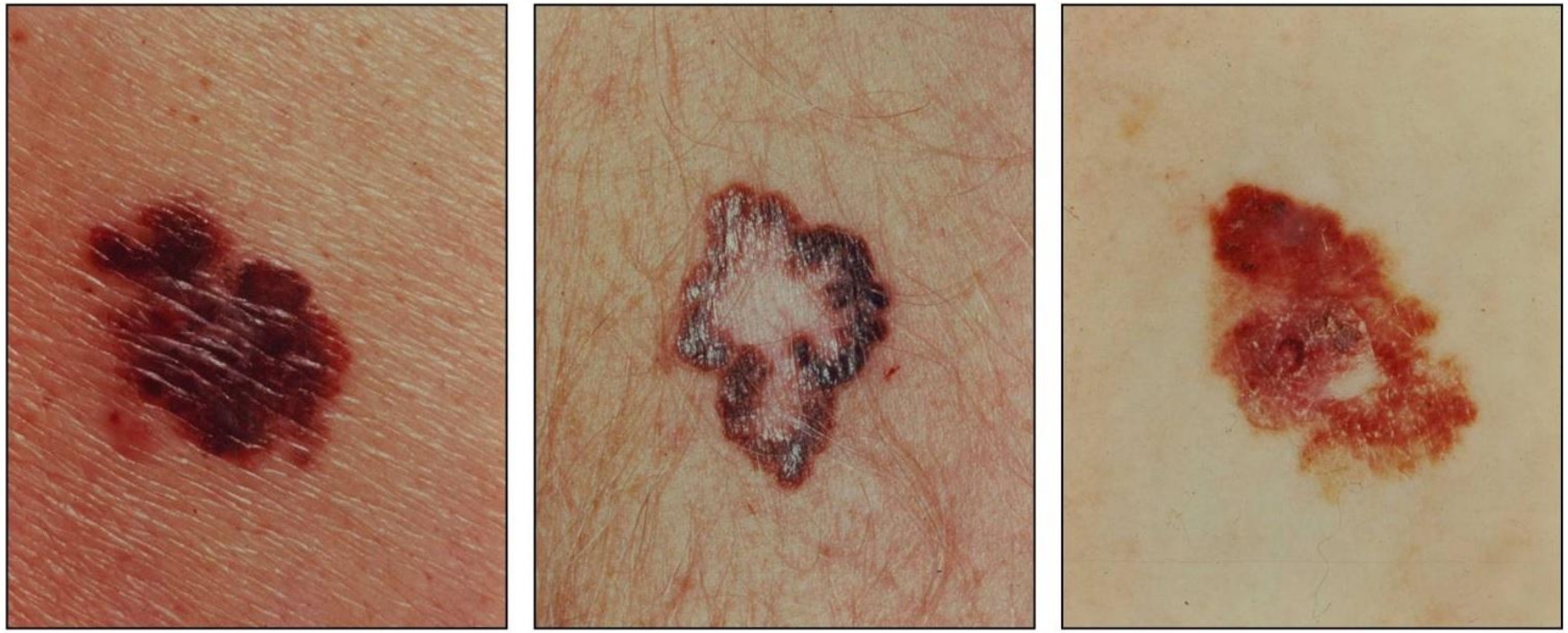


Рис. 1 Меланома кожи

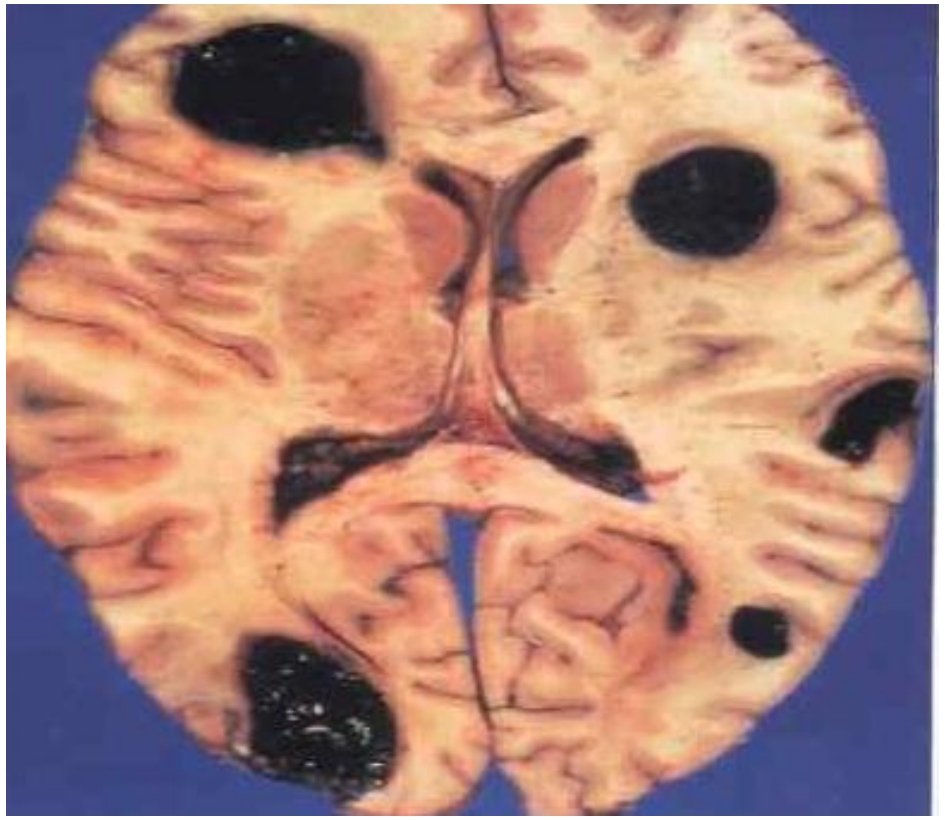
Актуальность

Меланома относится к наиболее опасным и агрессивным видам рака, обладающая высокой степенью
резистентности к проводимой фармакотерапии и крайне неблагоприятным прогнозом в случае начала
метастазирования.

Способна находить *метастатические ниши* практически во всех органах.

Диссеменированные формы отличаются высокой резистентностью к проводимой фармако- и иммунотерапии. Часто рецидивирует.

Актуальность



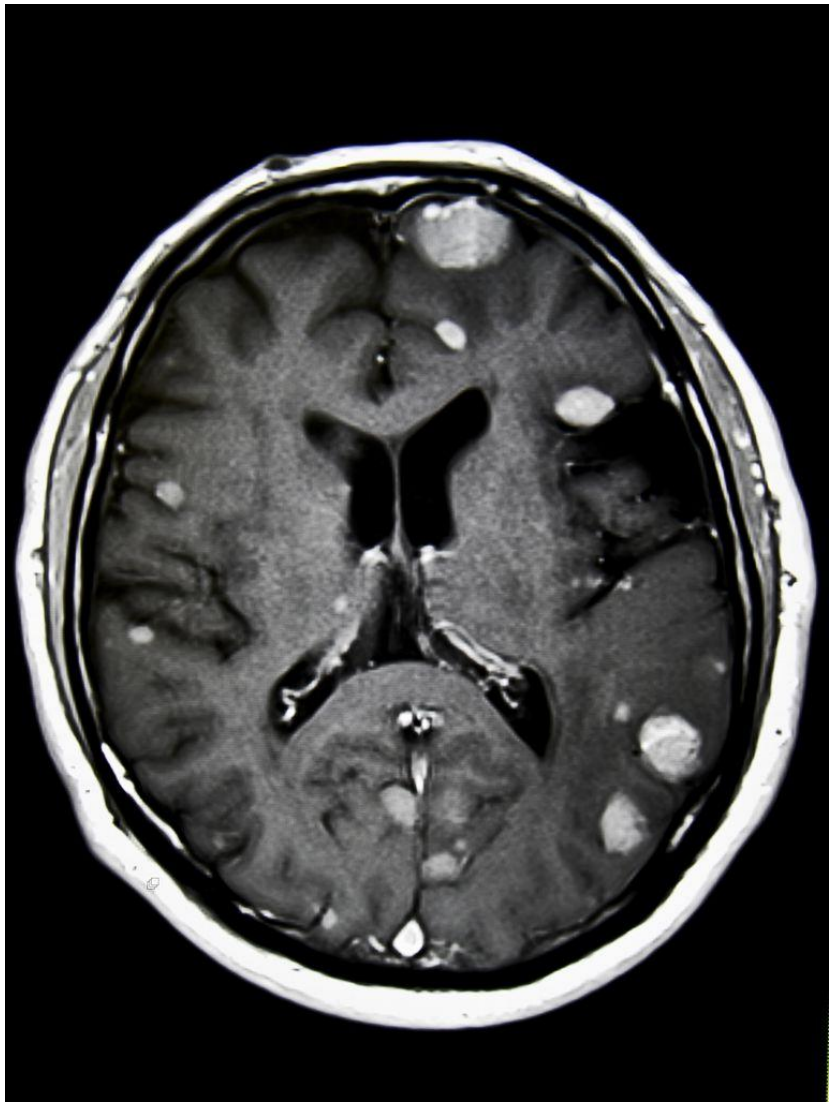


Рис. 2 Метастазы меланомы

Актуальность

Рис. 3 Метастазы меланомы

Эпидемиология

В 2017 г. в Российской Федерации меланомой кожи заболело **11 057** человек.
В 2018 г. в Российской Федерации меланомой кожи заболело **11258** человек.

В структуре онкопатологии заболеваемость меланомой кожи в 2016 г. составила **1,5 %** у мужчин и **2** % у женщин.

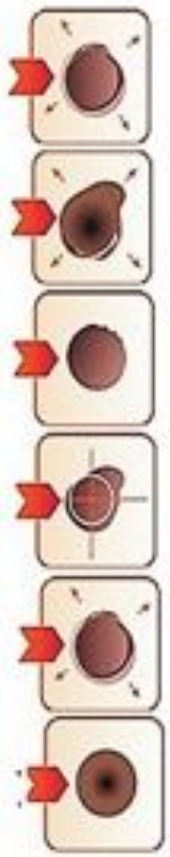
В 2017 г. от меланомы кожи в России умерло **1757** мужчин и **1956** женщин.

По оценке Американского общества лечения рака в 2019 году в Америке впервые выявлено **96,480** случаев меланомы, из которых **7230** закончились смертью пациента.

Исключительно настораживающий факт, по оценкам американских авторов меланома является наиболее распространенным онкологическим процессом в возрастной группе **25 - 29 лет.**

Фототипы кожи по Фицпатрику

Диагностика



Ф – форма

И – изменение размеров (ускорение роста)

Г – границы («изрезанные» края)

А – асимметрия

Р – размер (крупный, свыше 6 мм)

О – окраска (неравномерная)

Диагностика

Диагностика

Запомните:

Быстрый рост (недели, месяцы), внезапное появление невуса.

Неравномерность окраски (более 3х цветов).

Ассиметрия.

=

СИТУАЦИЯ ТРЕБУЕТ ВНИМАНИЯ

Проблемы патогенеза диссеменированной меланомы

Проблема опухолевой стволовой клетки.

Проблема метастазирования.

Проблема резистентности к фармако- иммунотерапии.

Проблема опухолевой стволовой клетки.
Cancer stem cell

Отдельная популяции клеток в пределах единичной опухоли, которая может быть выделена из опухолевой массы и обладает способностью к самоподдержанию и дифференцировке в гетерогенные линии дифференцированных опухолевых клеток.

Иммунобиологические свойства СОК:

1. Образуют самоподдерживающуюся популяцию, т.е. среди дифференцированных клеток, с определенным антигенным составом на поверхности, всегда существуют стволовые.

2. Они могут неограниченное количество раз делиться и давать любое число поколений потомков в течение жизни данного организма.

3. Потомки таких клеток могут дифференцироваться в разных направлениях

Проблема опухолевой стволовой клетки.
Cancer stem cell

Начиная с 1995 года во многих исследованиях сообщалось о наличии определенной субпопуляции
раковых клеток меланомы, характеризующихся самообновляемостью и способностью инициировать
метастазы в необычно высоком проценте случаев.

Первым случае[illegible] авторами.

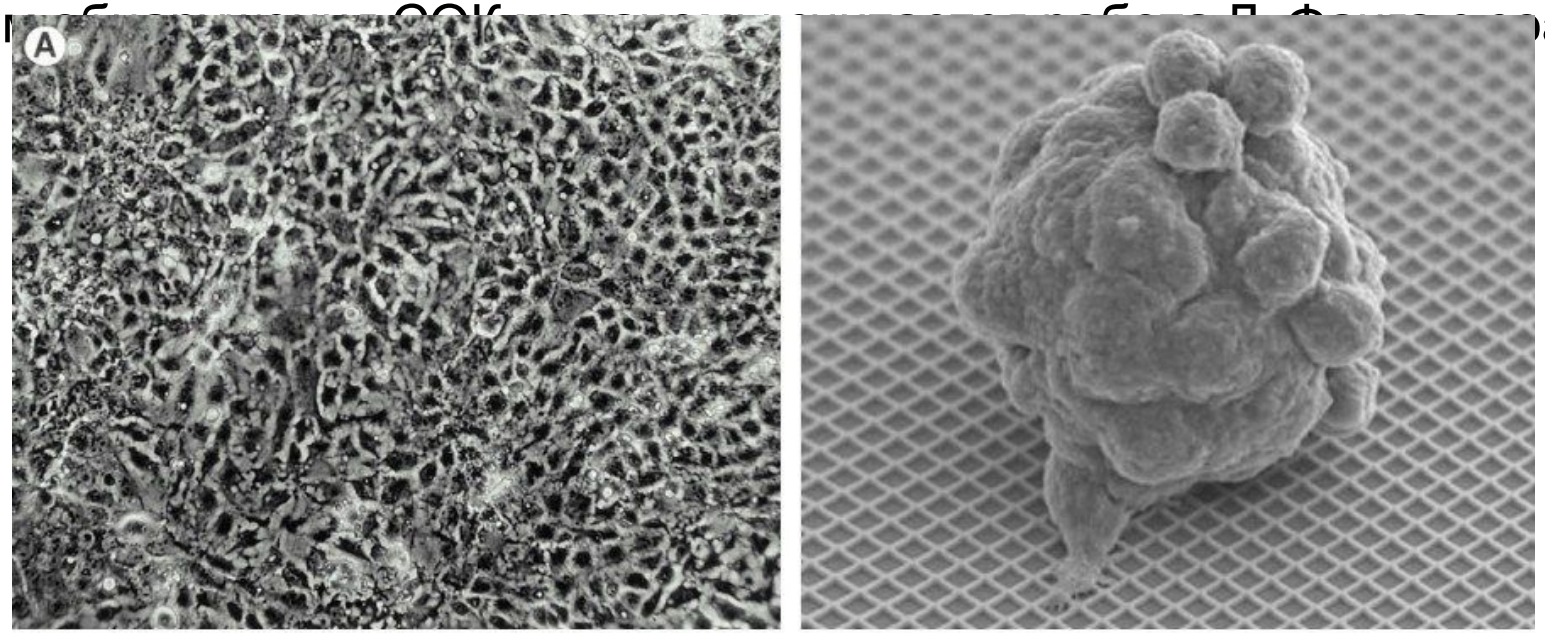
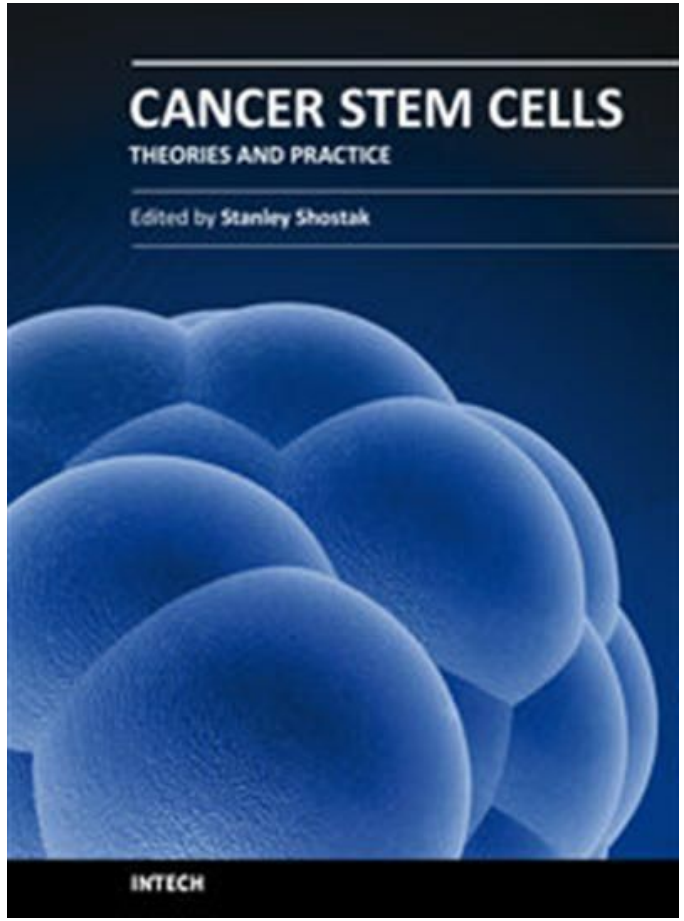
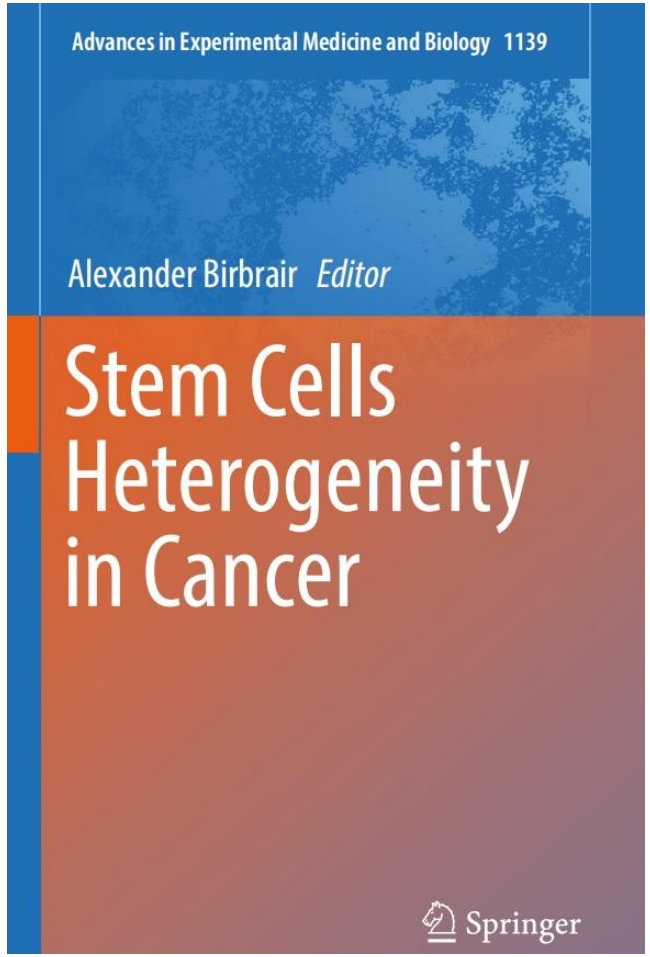


Рис. 3
Микрофотограф
ии
культуры клеток
меланомы

Проблема опухолевой стволовой клетки.
Cancer stem cell





Проблема опухолевой стволовой клетки.
Cancer stem cell

На данный момент нет единого мнения о происхождении СОК. Наиболее частой является теория о
накоплении мутаций и повреждение генетического аппарата нормальной стволовой клетки.

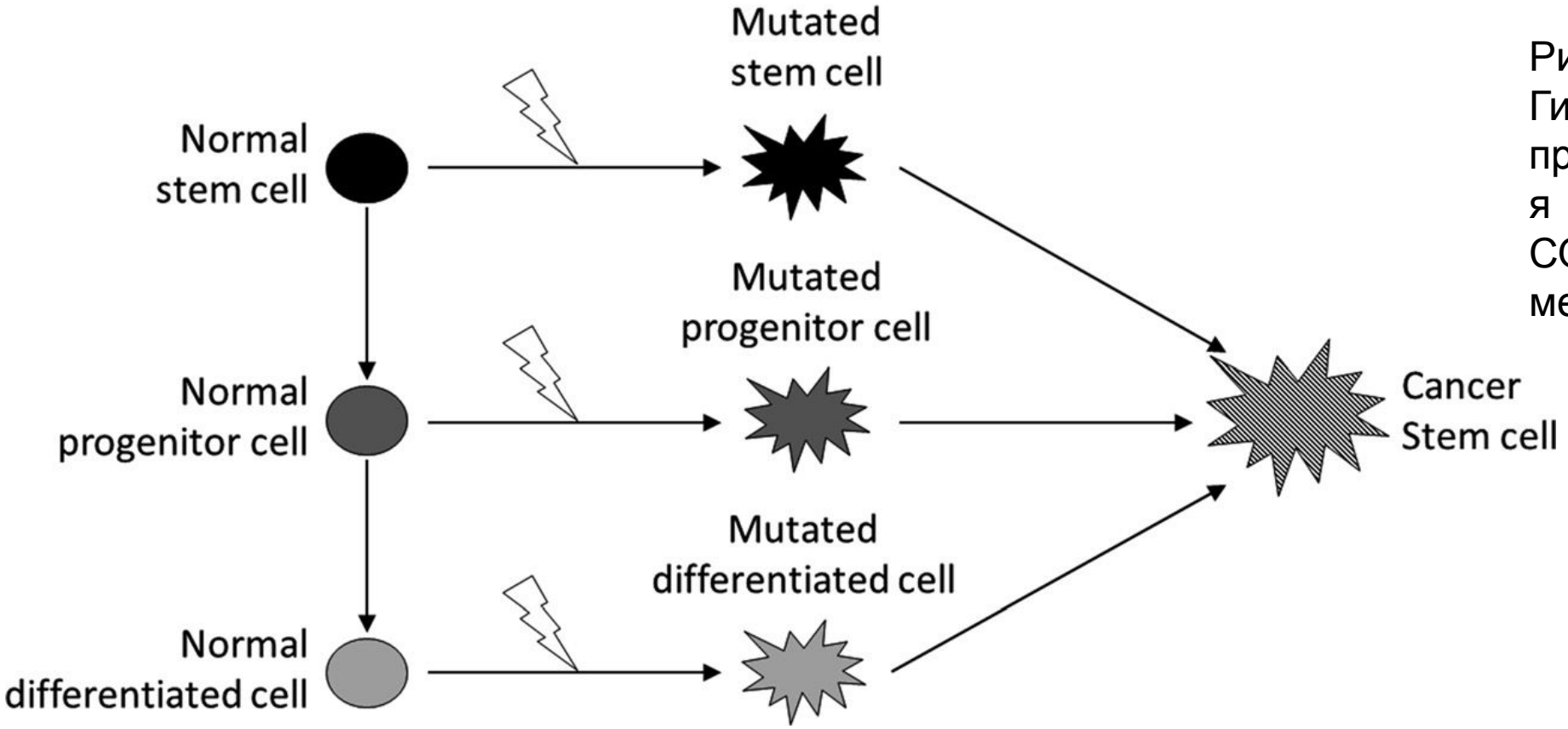


Рис. 4
Гипотезы
происхождени
я
СОК
меланомы

Прикладные аспекты изучения СОК

Метастазирование

Резистентность к терапии

Диагностика

Таргетная терапия

Онкогенез и прогноз

Проблема опухолевой стволовой клетки.
Cancer stem cell

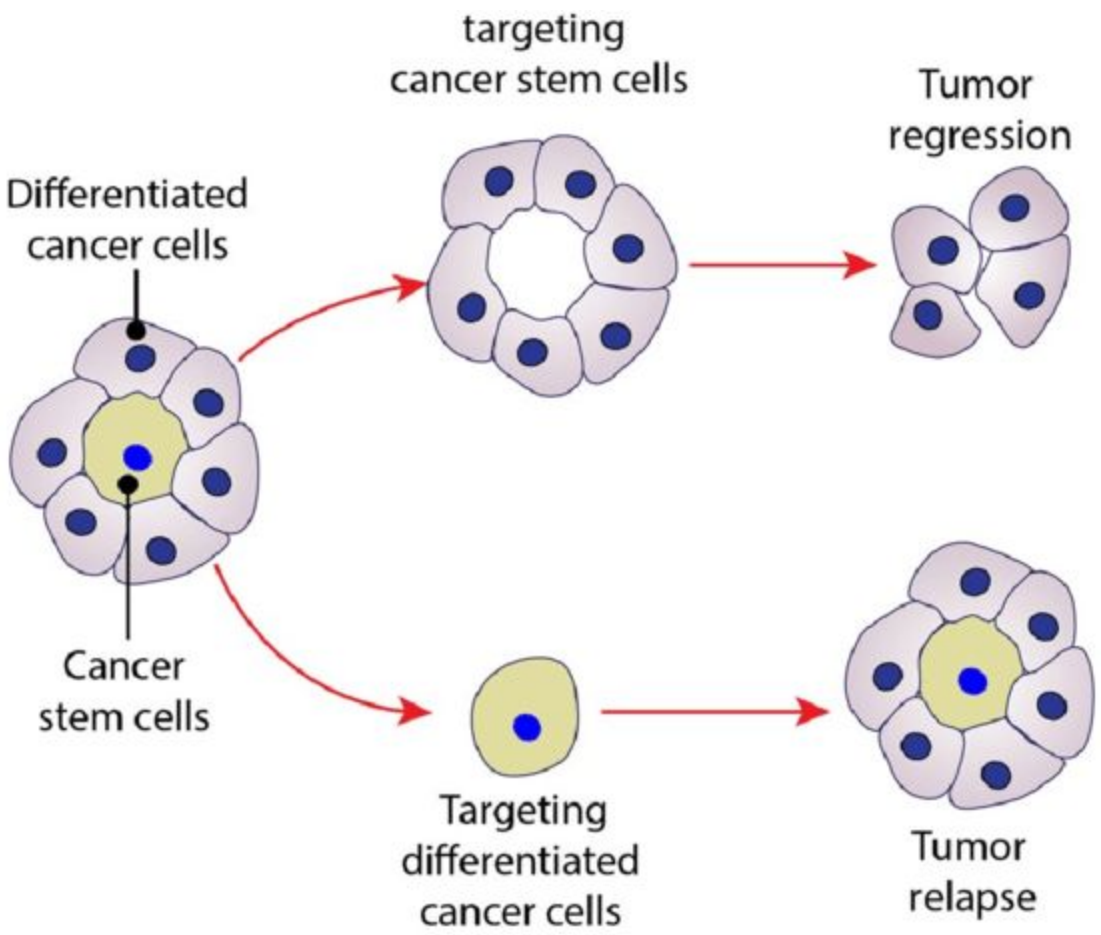


Рис. 5
Возможности
терапии с
учетом СОК

Проблема опухолевой стволовой клетки.
Cancer stem cell

Антигенные детерминанты стволовой клетки меланомы:

Компоненты клеточной мембраны, поверхностные клеточные рецепторы (CD271, CD133, CD20, CD44, CD34, IL-3R, CD184, EpCAM)

Компоненты сигнальных и метаболических путей клетки (Hedgehog, Notch, Wnt/β-катенин, BMI, BM1, PTEN, CATENIN\CADGERIN, WNT5A, PI3K, EGFR-сигнальные пути)

Эпитопы, связанные с сигнальными путями или рецепторами ниш стволовых клеток (PD-1/PDL-1, CTLA-4, VEGF и др.;)

Клетки и сигнальные пути, ответственные за создание иммуносупрессивного окружения опухоли (CD4+CD25+FOXP3+ Т-клетки, CD8+CD28– Т- клетки, CD3+CD8+CD16+ NKT-клетки 2 типа, миелоидные супрессорные клетки (М2Мф и др.)

Белки, участвующие в энергозависимом транспорте веществ из клетки(ABC-белки, альдегид-дегидрогеназа, ALDH1, JARID1)

Современный взгляд на проблему метастазирования

На стадии in situ меланоцитарные образования не несут непосредственной угрозы жизни, однако
появлениеединственного удаленного метастаза, а точнее циркулирующих опухолевых клеток,
решительно меняет ситуации на более серьезную по прогнозу и плану лечения.

При адекватно проведенном лечении при меланоме in situ 5 летняя выживаемость прилижается к 100%.
При выявлении 3 стадии инвазии 5 летняя выживаемость не превышает 25%.

Современный взгляд на проблему метастазирования

Уровни инвазии по Кларку.

- **Уровень инвазии I:** меланома в пределах эпидермиса - “меланома in situ”.
- **Уровень инвазии II:** меланома пересекает эпидермис и проникает в сосочковый слой дермы.
- **Уровень инвазии III:** опухоль заполняет область сосочкового слоя дермы. Такие опухоли вступают в фазу вертикального роста.
- **Уровень инвазии IV:** опухолевые клетки преодолевают барьер между сосочковым и сетчатым слоями дермы и распространяются в сетчатом слое дермы.
- **Уровень инвазии V:** опухоль распространяется в подкожную клетчатку.

Современный взгляд на проблему метастазирования

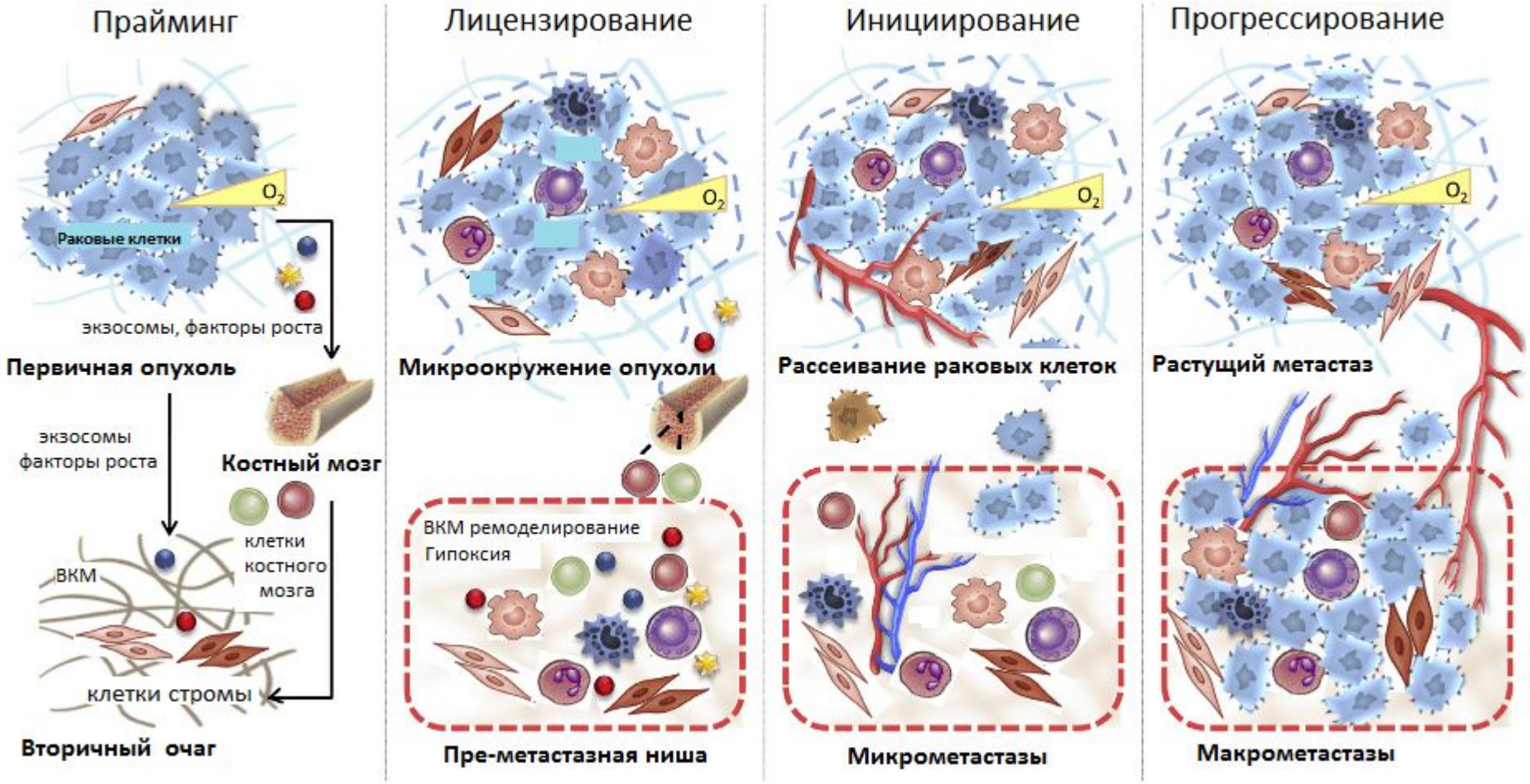


Рис. 6
Схема метастазирования опухоли

Современный взгляд на проблему метастазирования

По экспериментальным оценкам в системный кровоток может поступать около 2 500 000 циркулирующих опухолевых клеток (ЦОК) в день в зависимости от обьема поражения.

При перевивании подопытным мышам меланимы линии B16 выявилась зависимость, что введение
100 000 клеток опухоли вызывает метастазы в большинстве органов, 10 000 – костном мозге и яичниками, 1000 – только костный мозг.

Метастатическая ниша (МН) — зона с подходящим микроокружением (в том числе дистанционно «подготовленная» первичной опухолью посредством сигнальных молекул), в которую уже попала или может потенциально закрепиться ЦОК.

Современный взгляд на проблему метастазирования

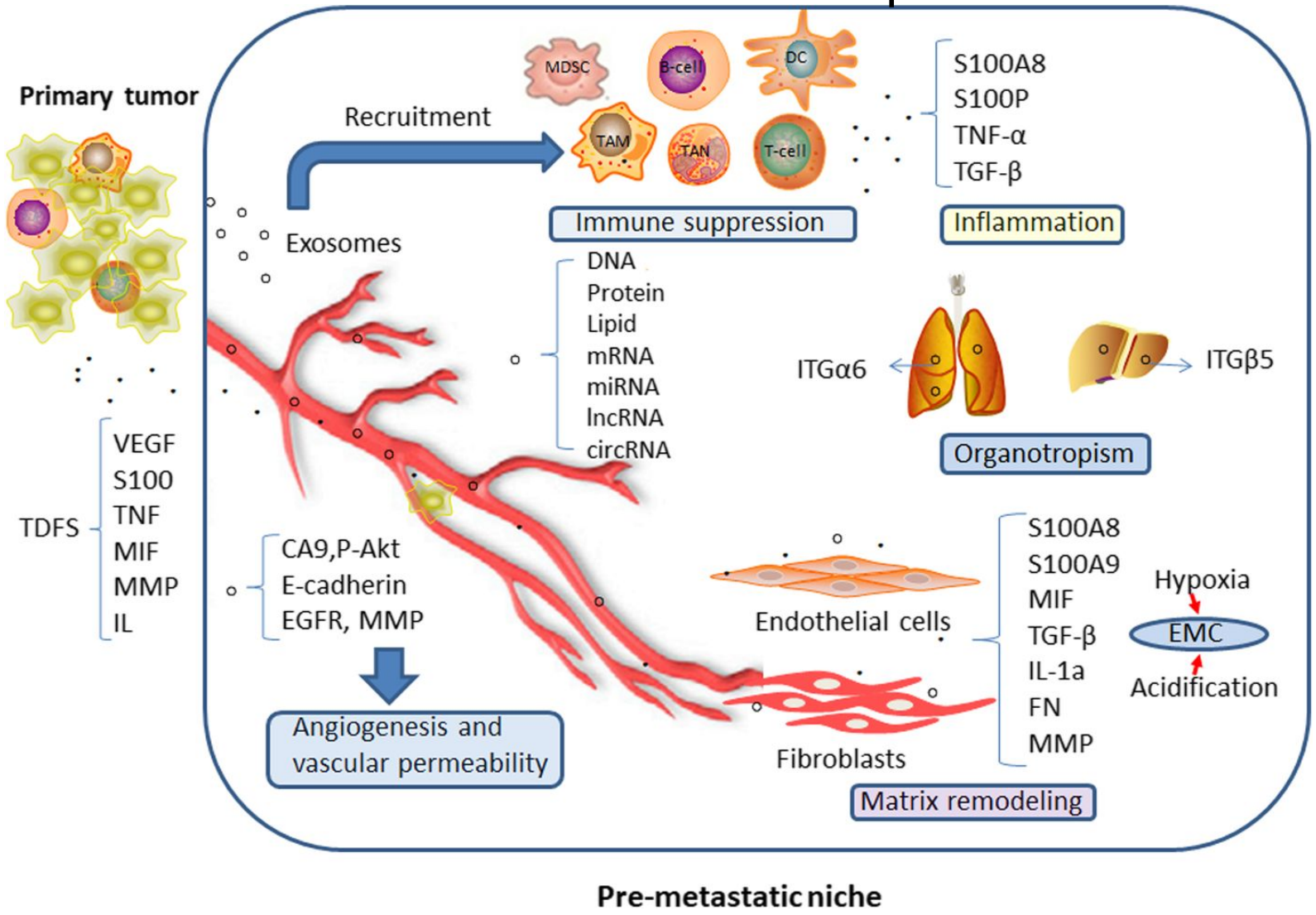


Рис. 7
Схема формирования метастатических ниш

Современный взгляд на проблему метастазирования

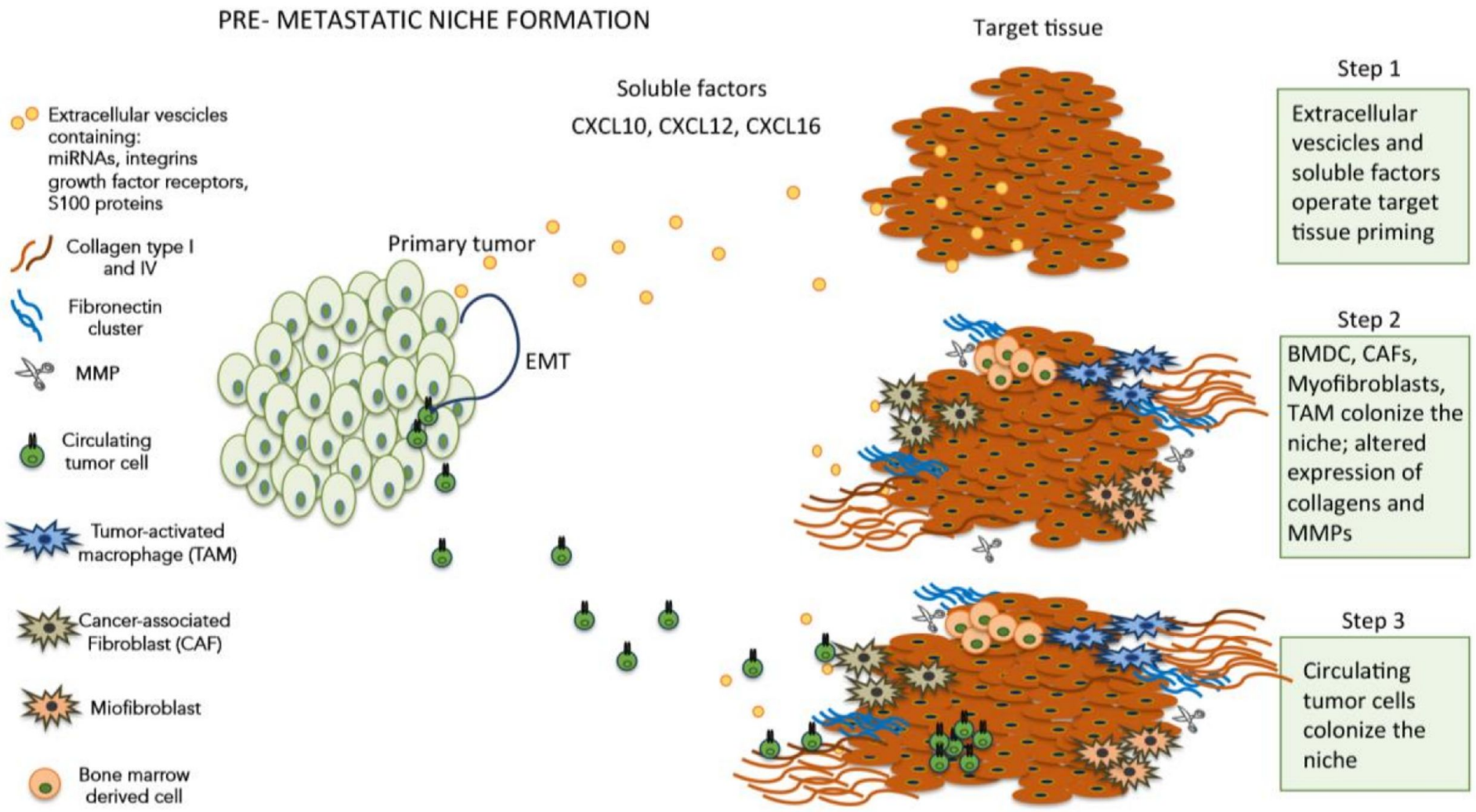
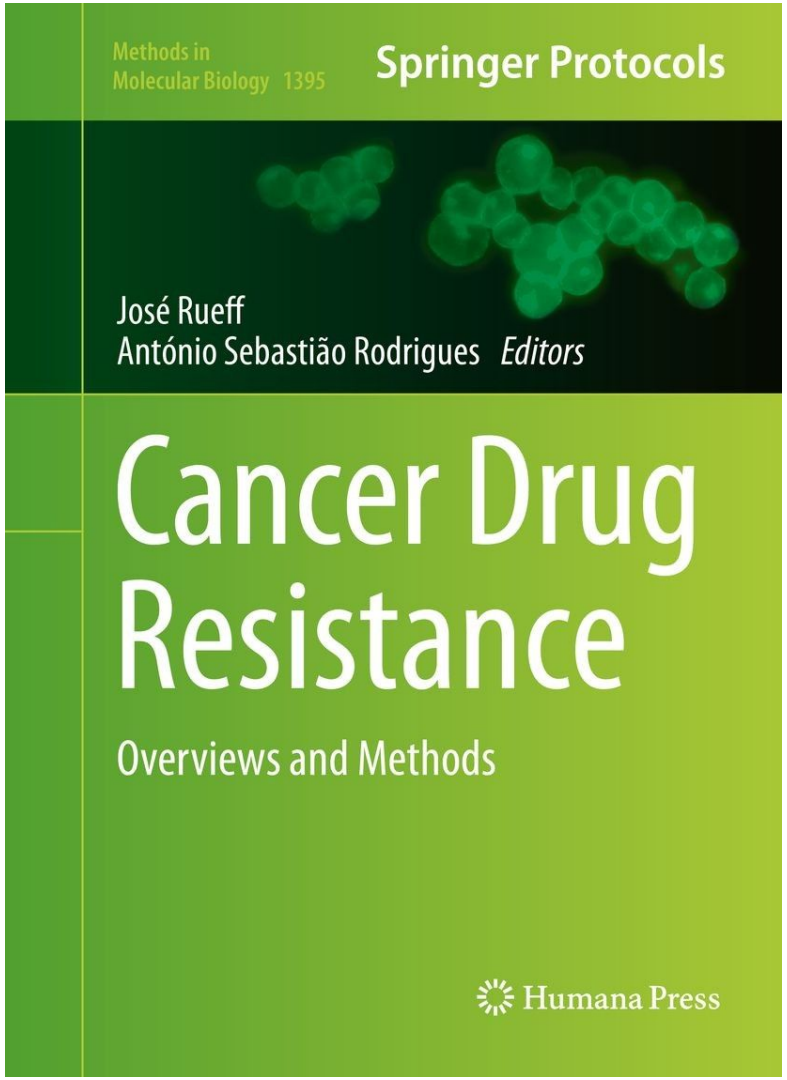


Рис. 8
Схема метастазирования опухоли

Проблема резистентности меланомы к химио- и иммунотерапии.



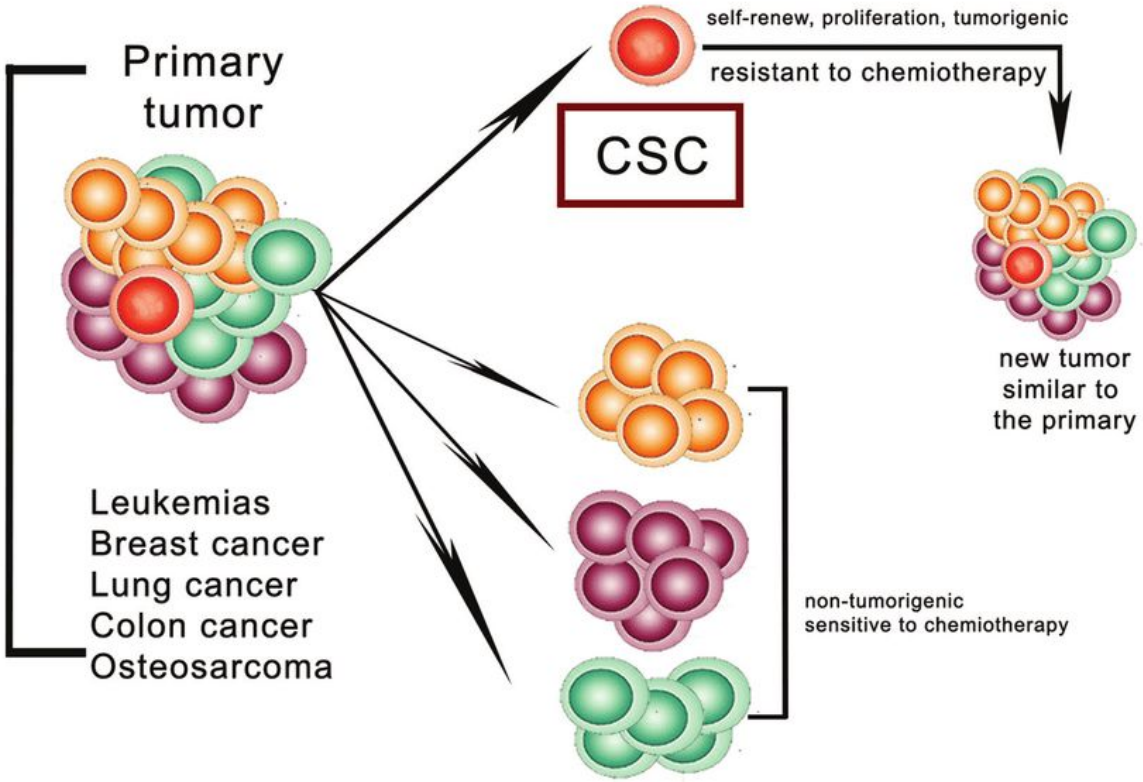


Рис. 9
Схема формирования резистентности к терапии

Проблема резистентности меланомы к химио- и иммунотерапии.

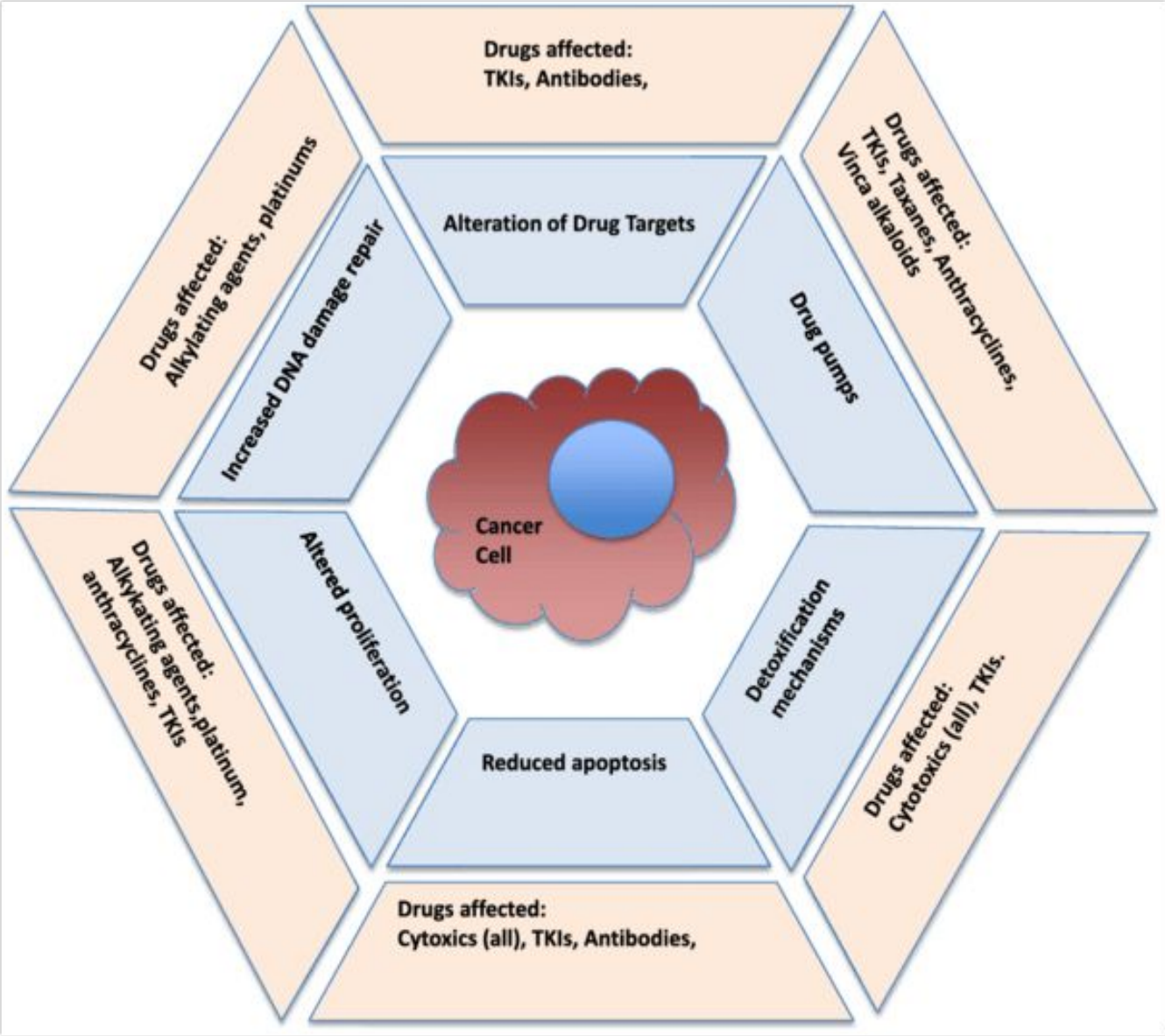


Рис. 6
Схема
путей
опухолевой
резистентности

ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ. 2008, ТОМ 54, № 3

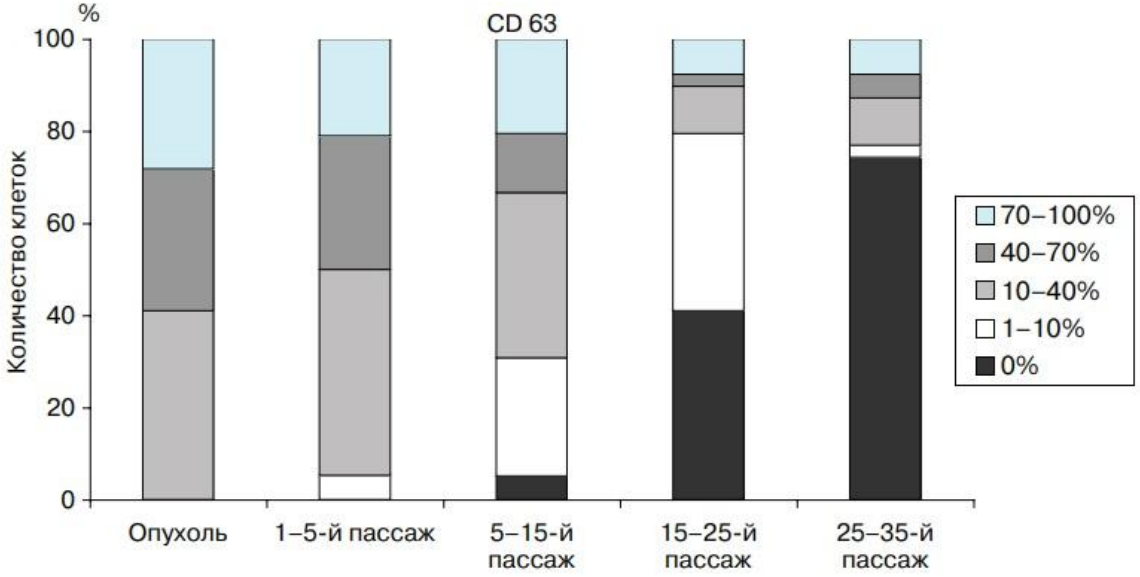
© Коллектив авторов, 2008
УДК 616.5-006.6.81-097

Вопросы онкологии, 2008, том 54, № 3

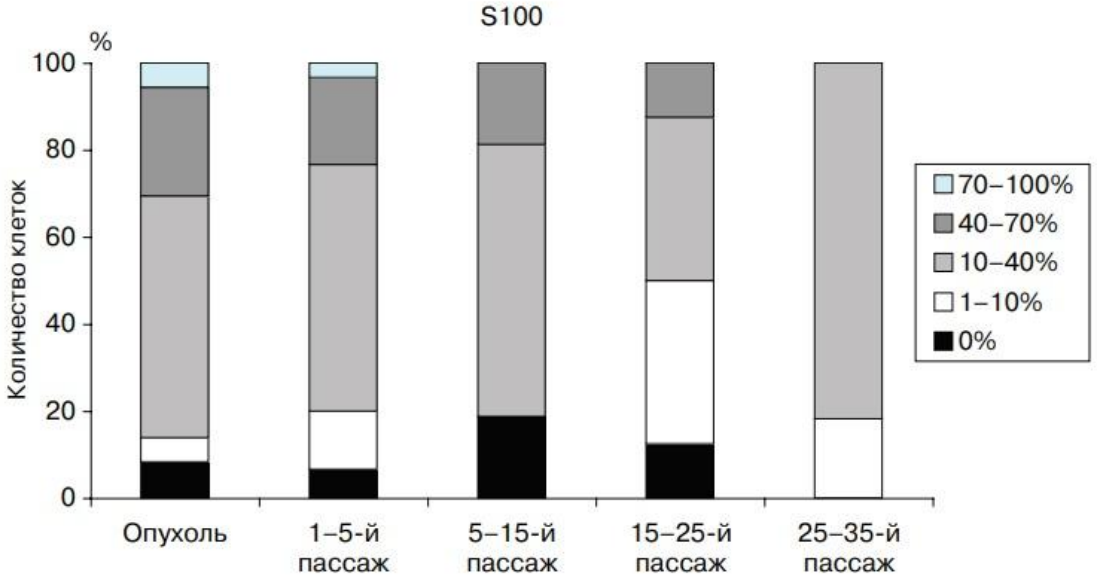
В.М.Моисеенко, А.Б.Данилова, А.О.Данилов, Е.А.Туркевич, И.А.Балдуева, Д.Е.Мацко

ИММУНОЦИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ КЛЕТКАМИ МЕЛАНОМЫ КОЖИ, КУЛЬТИВИРУЕМЫМИ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ВАКЦИН

ФГУ НИИ онкологии им. Н.Н.Петрова Росмедтехнологий, Санкт-Петербург



а



б

Активация Win
Чтобы активировать

Проблема резистентности меланомы к химио- и иммунотерапии.

Основные молекулярные механизмы, ответственные за развитие резистентности:

Белки транспортеры семейства ABC

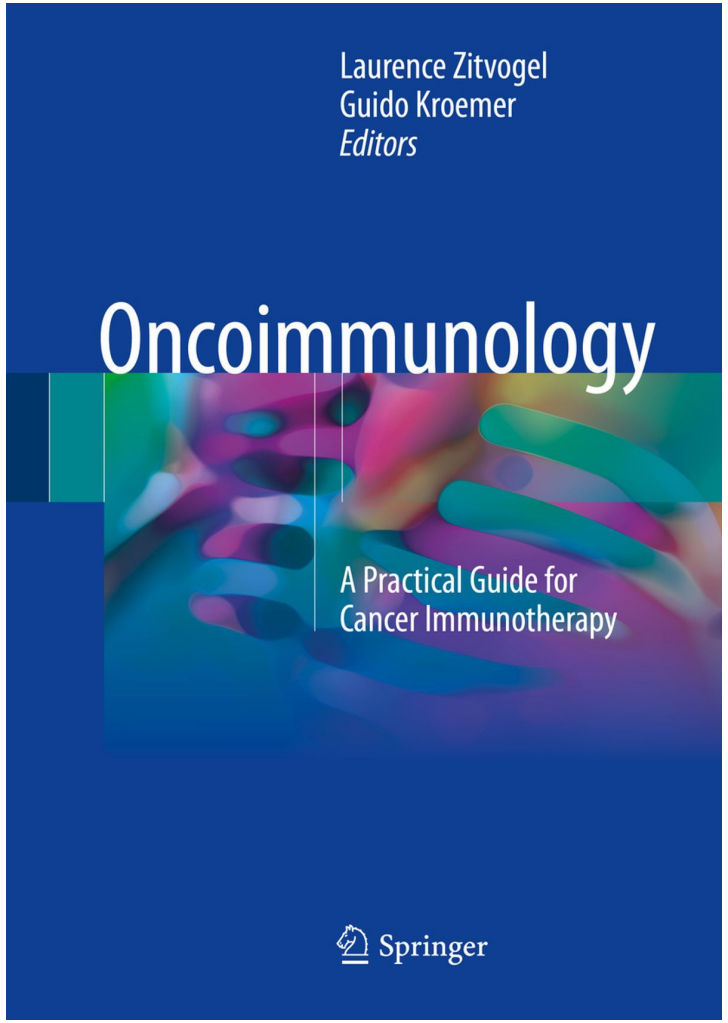
Активность V-АТФаза – протонных помп

Меланосомальный транспорт

Семейство антиапоптотических белков BCL2 (B-cell lymphoma 2)

Фактор NFкB

Механизмы противоопухолевого иммунитета



Меланома - иммуноактивная опухоль!

Концепция иммунного надзора

1909

Пауль Эрлих: опухоли как потенциальные носители соматических мутаций, должны вызывать иммунную реакцию отторжения

1953

Эдвард Фоли. Обоснование идей Пауля Эрлиха в эксперименте.

1957

Люис Томас: уничтожениие опухолевых клеток - те же механизмы, которые отторгают чужеродный трансплантат. Основная функция клеточного иммунитета состоит в защите от новообразований

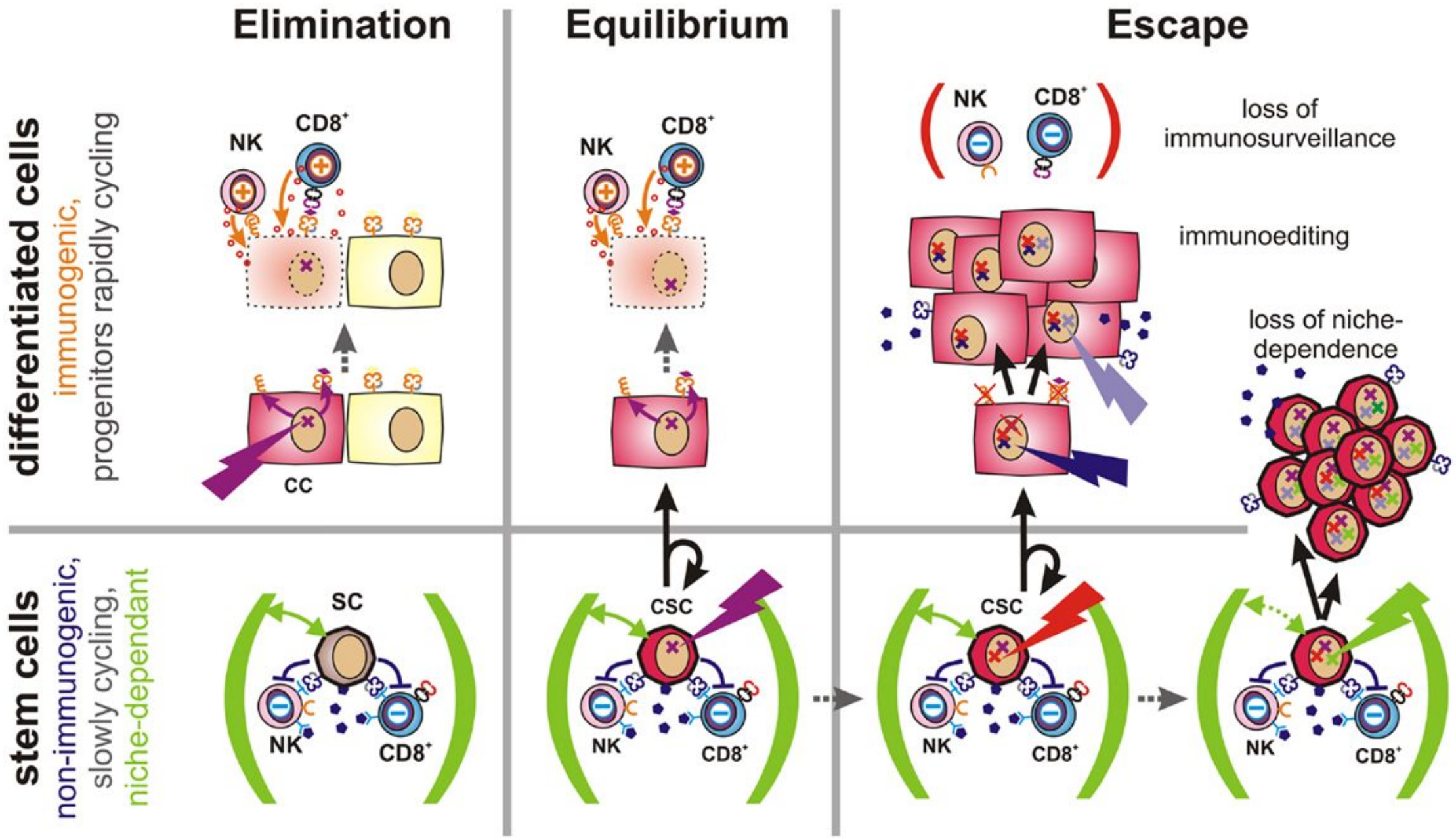
1970

Фрэнк Макфарлейн Бернет.

Развил идеи Томаса и предшественников в стройную концепцию иммунного надзора.

2002

Роберт Шрайбер сформулировал теорию иммунного редактирования: роль иммунной системы в развитии и прогрессии рака.


Elimination
Equilibrium
Escape
differentiated cells
immunogenic,
progenitors rapidly cycling
stem cells
non-immunogenic,
slowly cycling,
niche-dependant
NK
CD8+
CC
SC
CSC
loss of
immunosurveillance
immunoediting
loss of niche-
dependence

Механизмы противоопухолевого иммунитета

Принципиально, эффективный иммунный ответ реализуется при согласованной работе трех составляющих:

1. Что будет атаковано = индуктивная фаза.

2. Как и чем будет атаковано = эффекторная фаза.

3. **Регуляция** процесса.

Механизмы противоопухолевого иммунитета

”there is something unique about a cancer cell that distinguishes it from normal cells, and that this difference can be recognized by the body’s immune system”

professor Lloyd J. Old, pioneer of cancer immuno-oncology

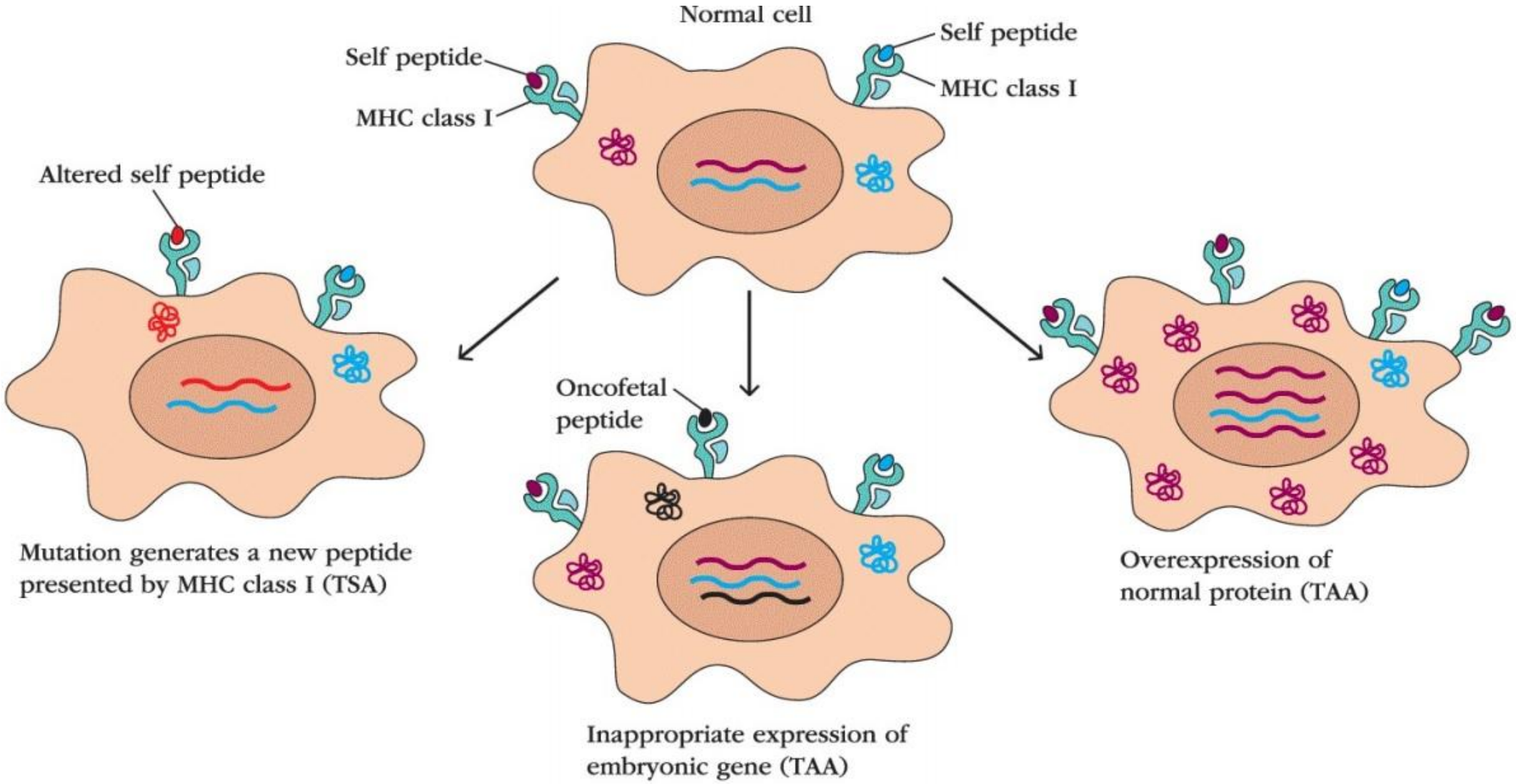
Functional classification of cancer-associated genes

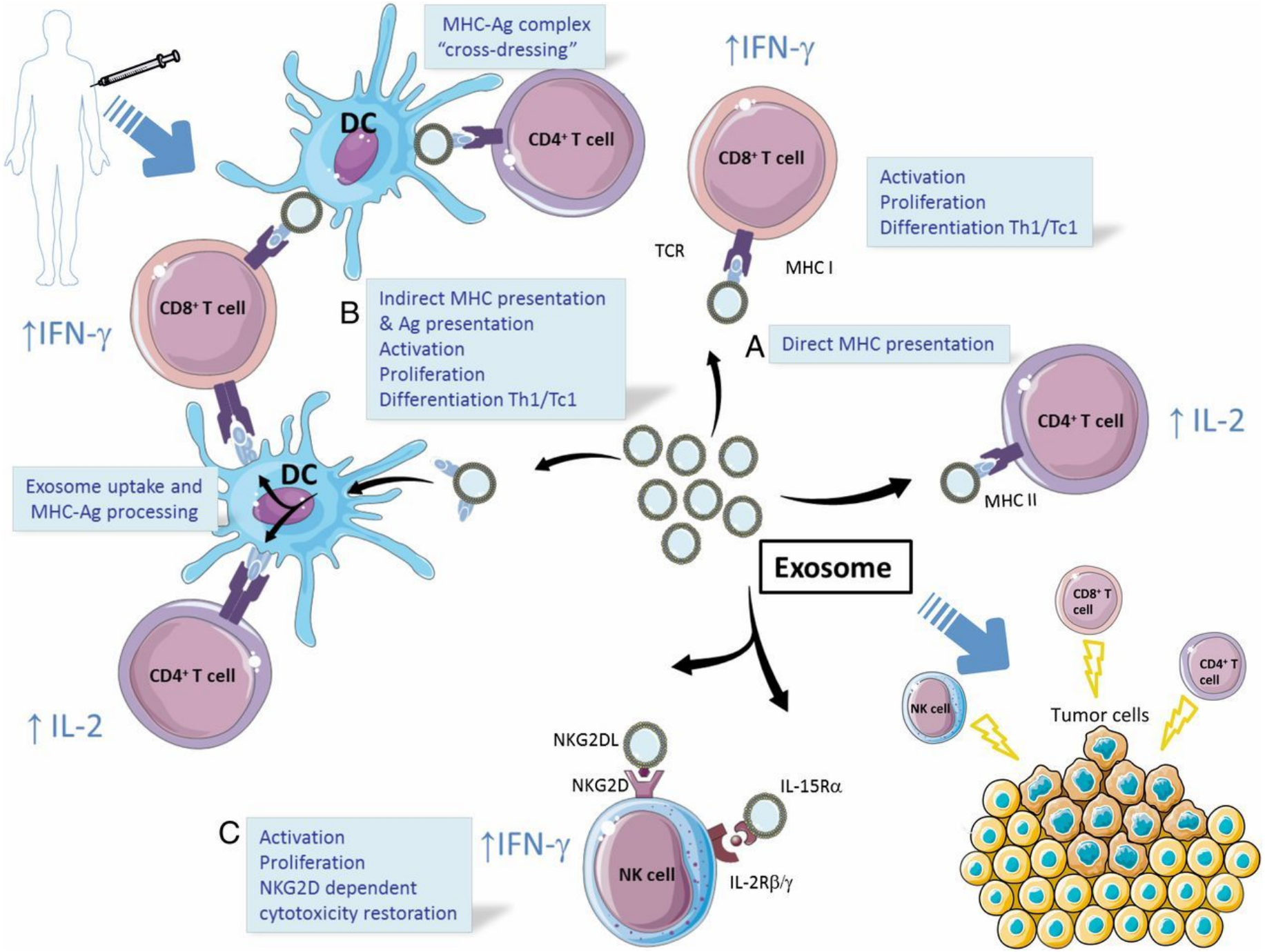
CATEGORY I: PROTO-ONCOGENES THAT INDUCE CELLULAR PROLIFERATION

CATEGORY II: TUMOR SUPRESSOR GENES, INHIBITORS OF CELLULAR PROLIFERATION

CATEGORY III: GENES THAT REGULATE PROGRAMMED CELL DEATH OR APOPTOSIS

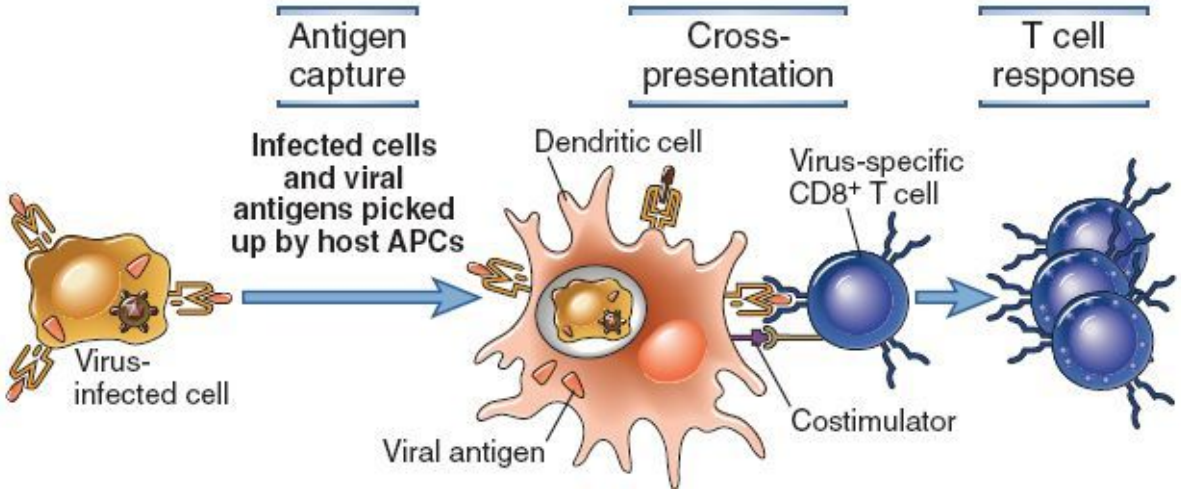
Tumor-specific antigens **(TSAs)** and Tumor-associated antigens **(TAAs)**

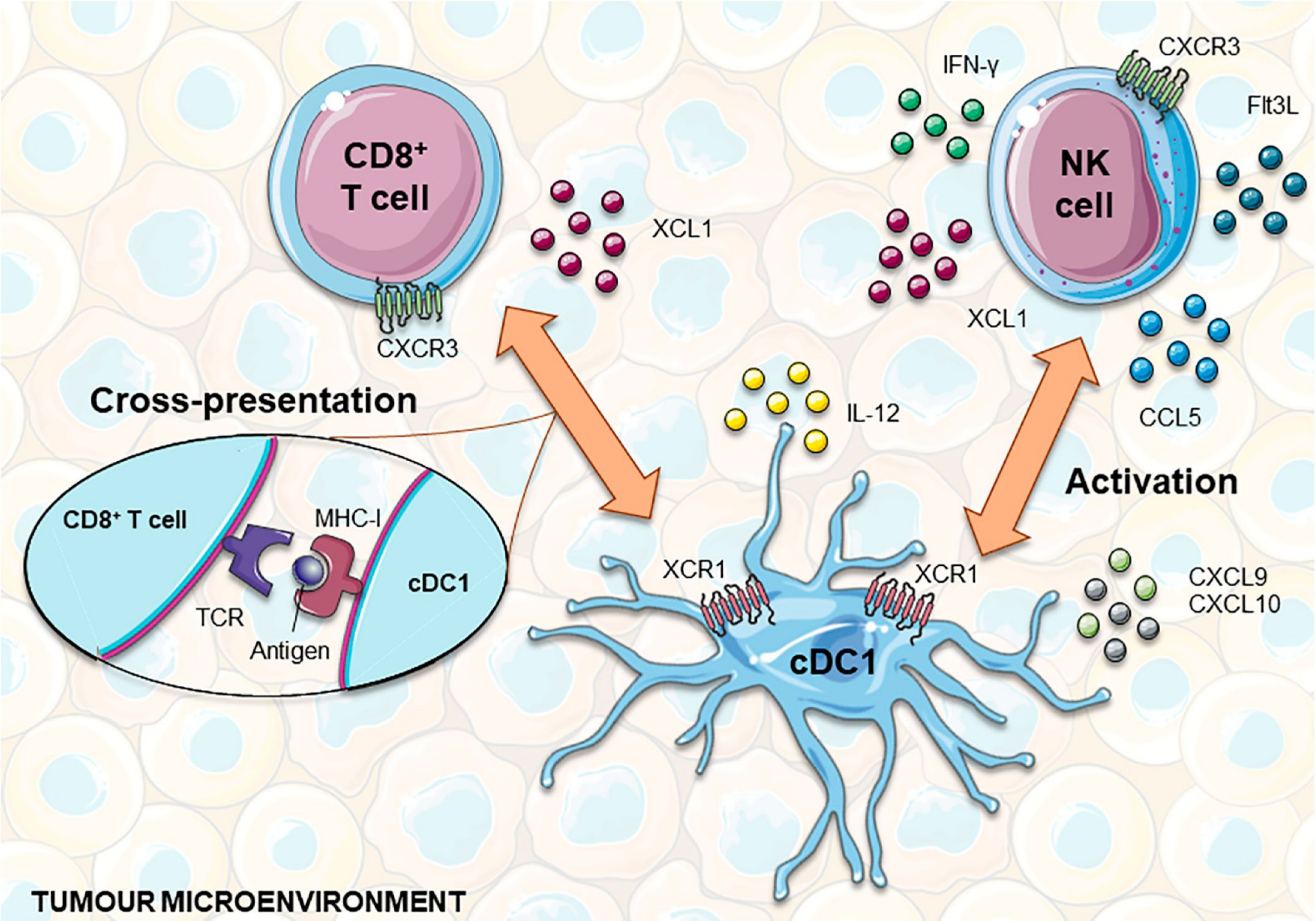



MHC-Ag complex
"cross-dressing"
DC
CD4+ T cell
↑IFN-γ
CD8+ T cell
TCR
MHC I
Activation
Proliferation
Differentiation Th1/Tc1
A
Direct MHC presentation
CD8+ T cell
↑IFN-γ
B
Indirect MHC presentation
& Ag presentation
Activation
Proliferation
Differentiation Th1/Tc1
CD4+ T cell
↑ IL-2
MHC II
Exosome uptake and
MHC-Ag processing
DC
Exosome
CD4+ T cell
↑ IL-2
CD8+ T cell
CD4+ T cell
NK cell
Tumor cells
NKG2DL
NKG2D
IL-15Rα
C
Activation
Proliferation
NKG2D dependent
cytotoxicity restoration
↑IFN-γ
NK cell
IL-2Rβ/γ

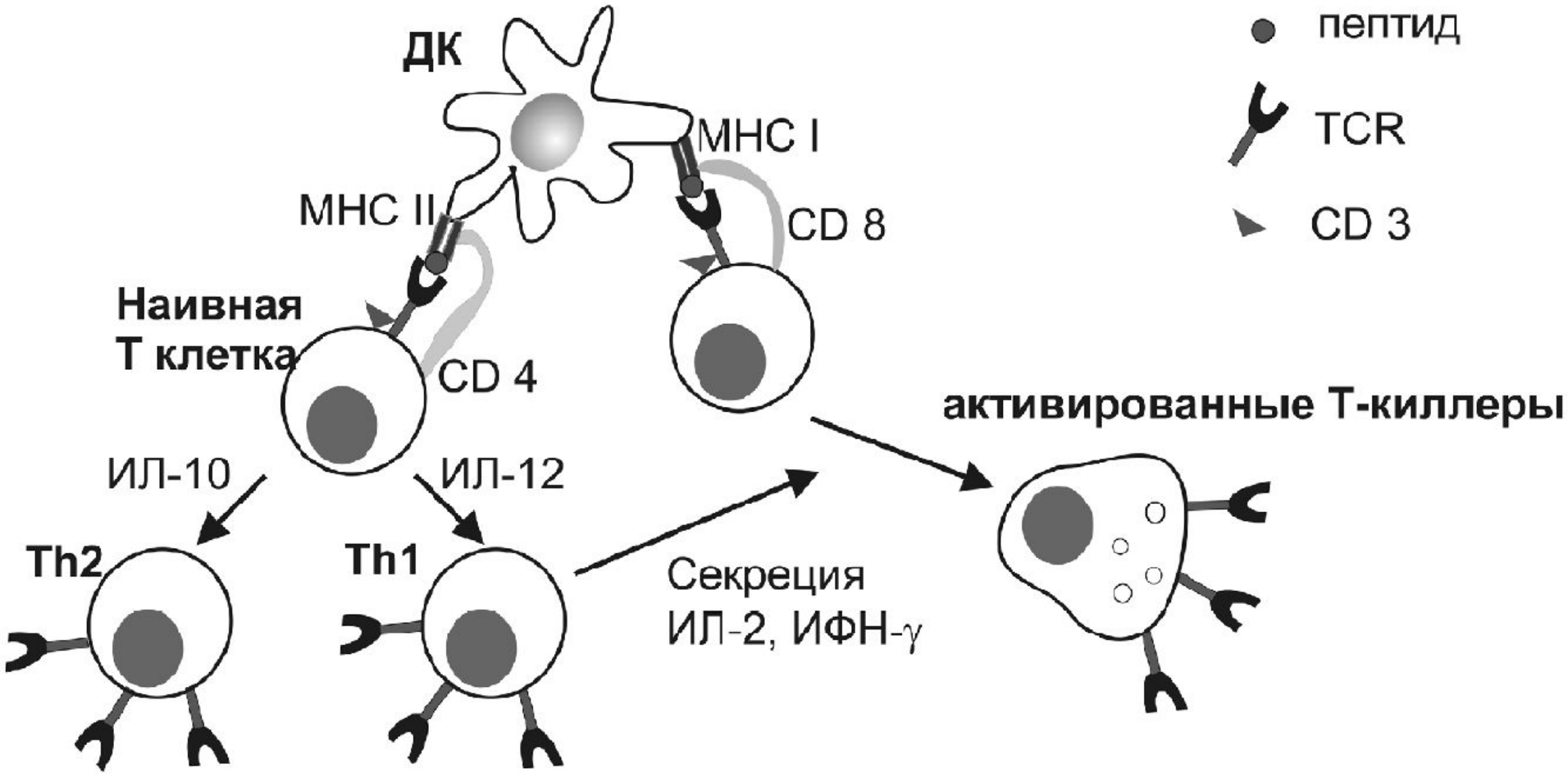
Cross-presentation

- Class I MHC molecules present exogenous Ags to $CD8^+$ T cells
- Class II MHC molecules present endogenous Ags to $CD4^+$ T cells
- Cross-presentation of Ags by DC plays an important role in anti-viral infection and anti-tumor immunity.

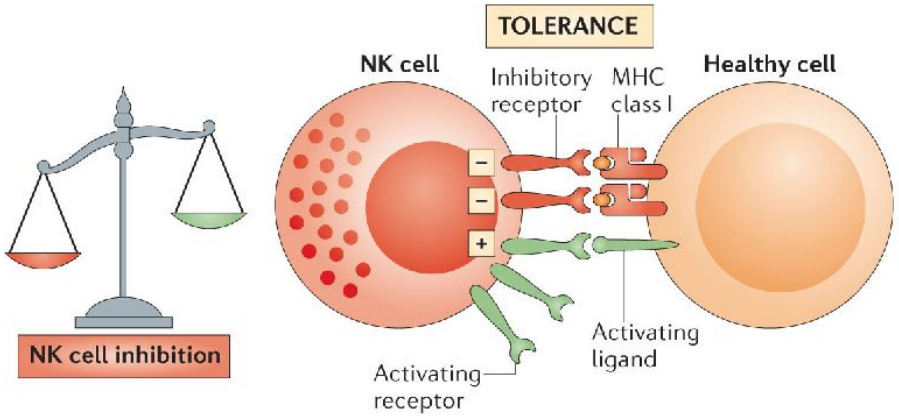


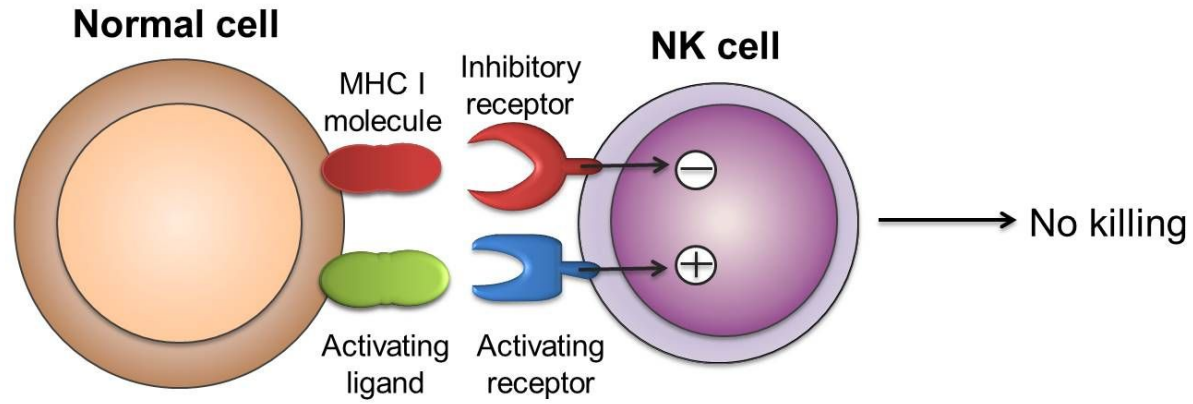

CD8+
T cell
CXCR3
XCL1
IFN-γ
CXCR3
Flt3L
NK
cell
XCL1
CCL5
Cross-presentation
IL-12
Activation
CD8+ T cell
MHC-I
TCR
Antigen
cDC1
XCR1
XCR1
cDC1
CXCL9
CXCL10
TUMOUR MICROENVIRONMENT

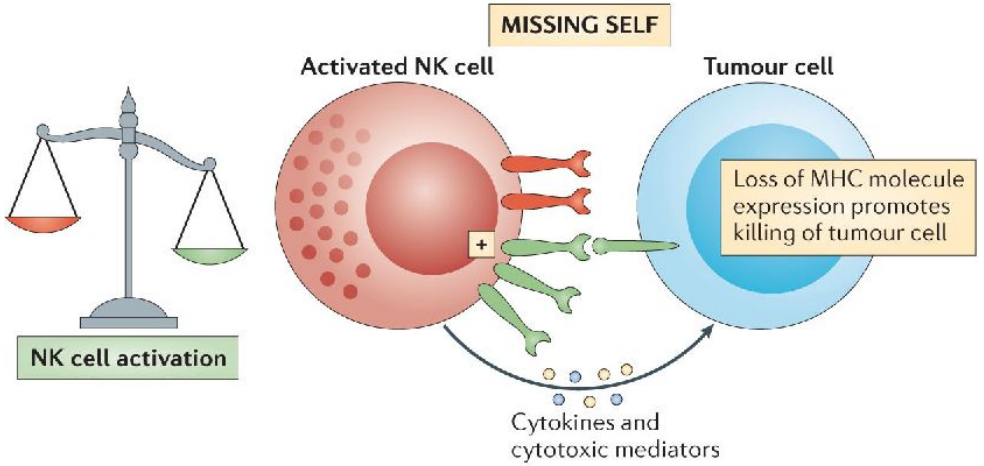
Механизмы противоопухолевого иммунитета

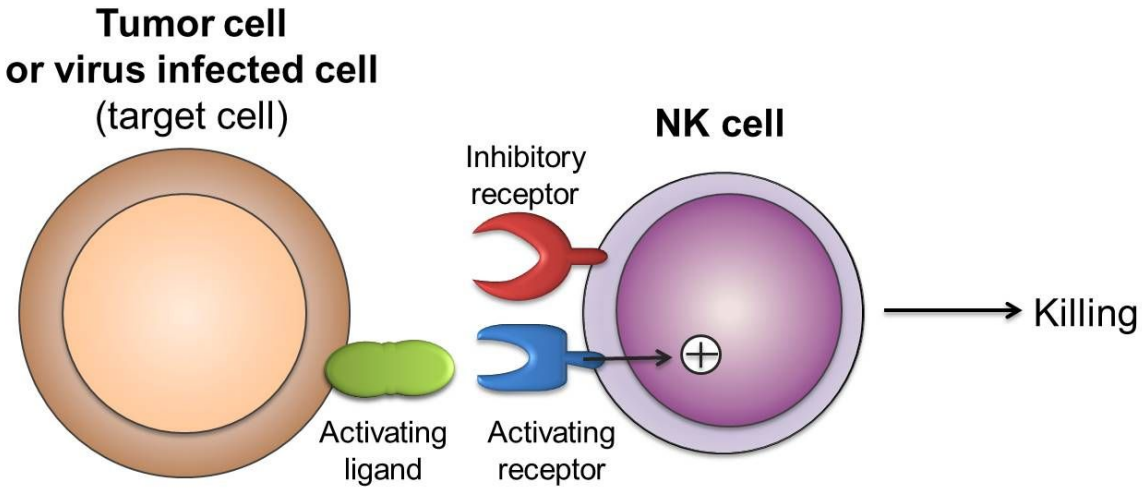


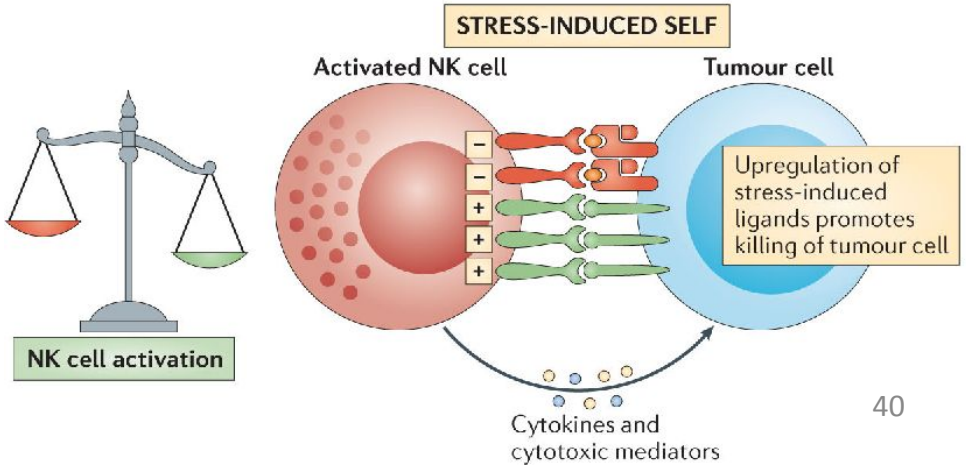
Механизмы противоопухолевого иммунитета











Механизмы противоопухолевого иммунитета

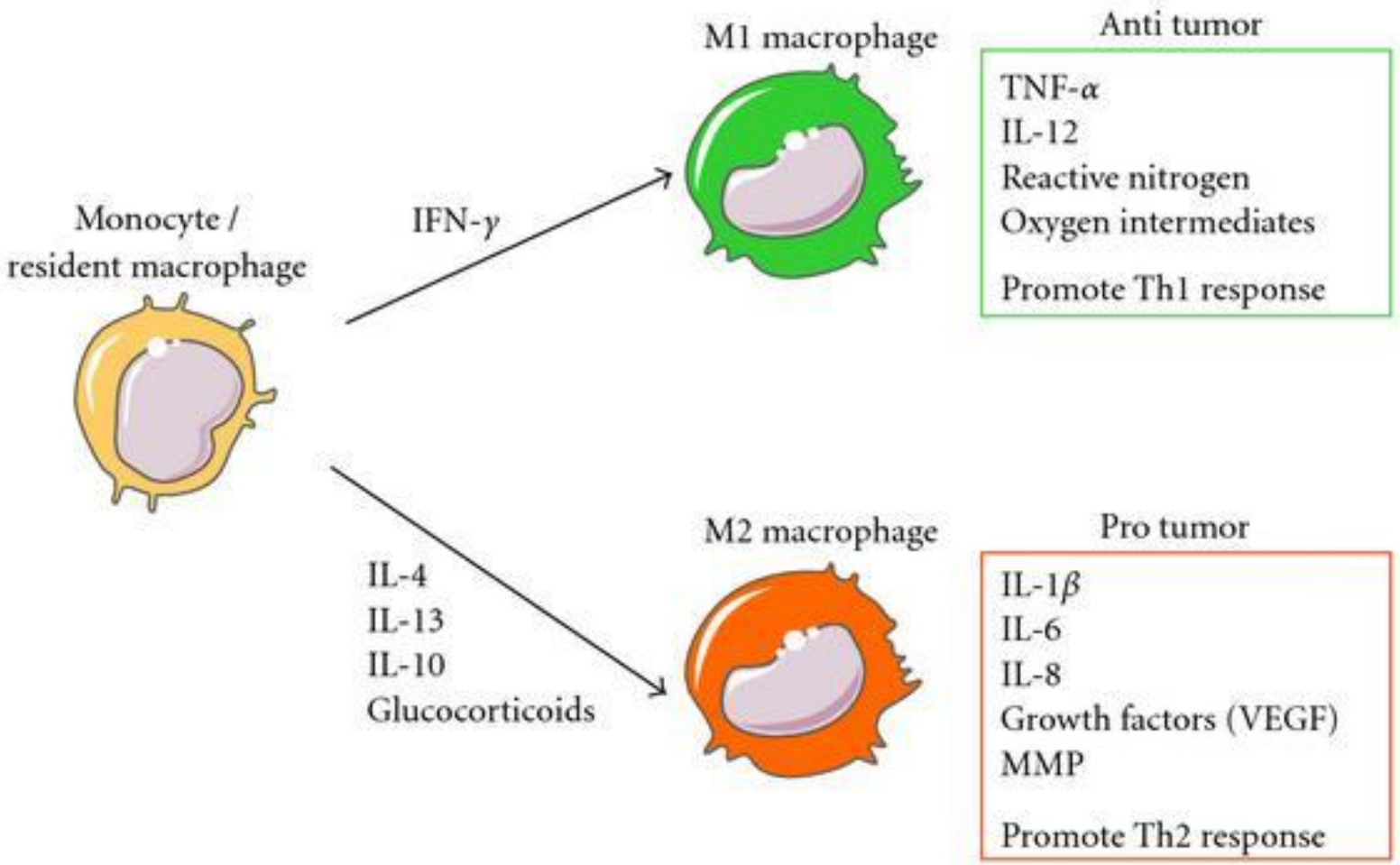
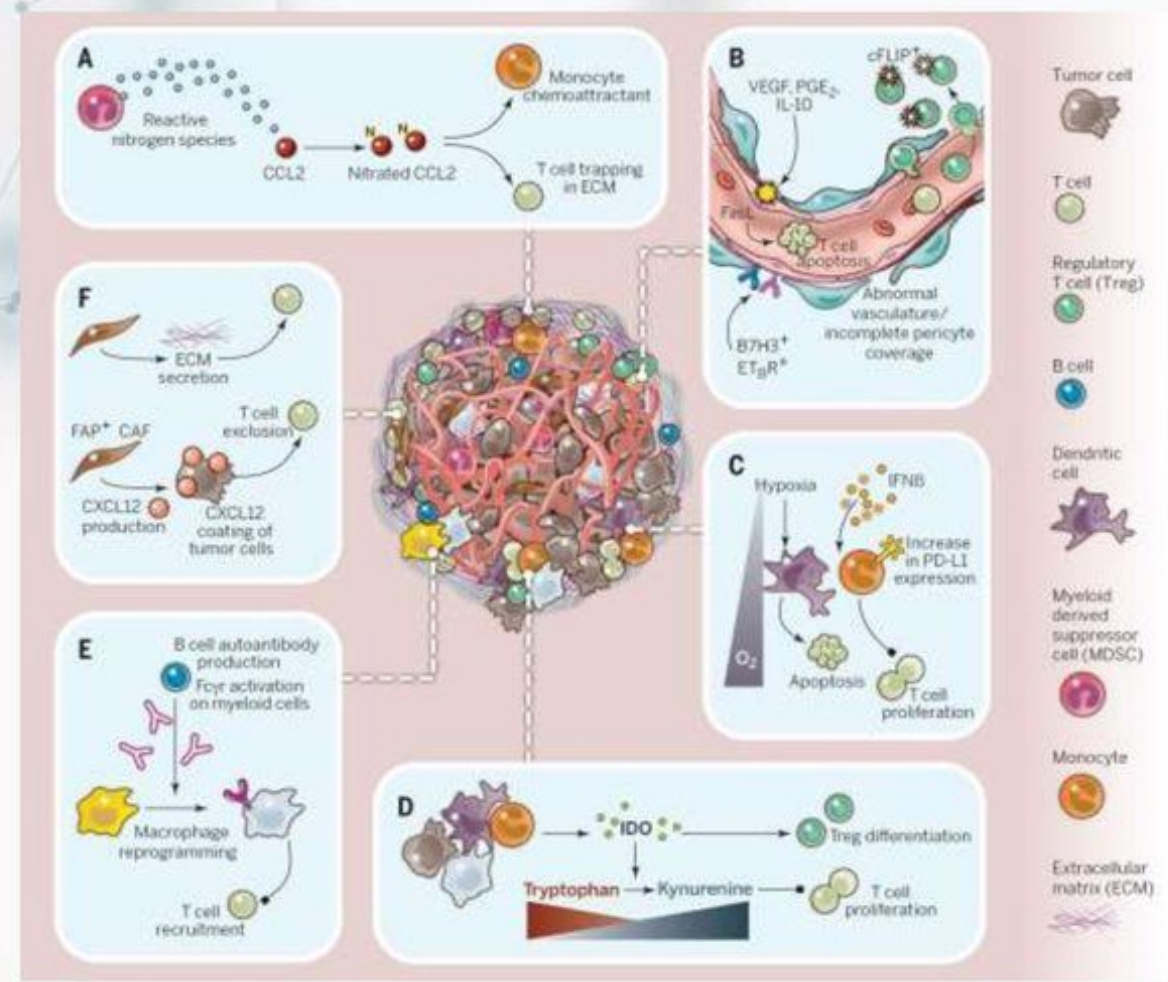


Рис. 10 Различные компоненты врожденного иммунитета могут вносить контр- и про-онкогенный эффект

Ускользание от иммунного надзора



<u>Факторы, ассоциированные с опухолевыми клетками:</u>

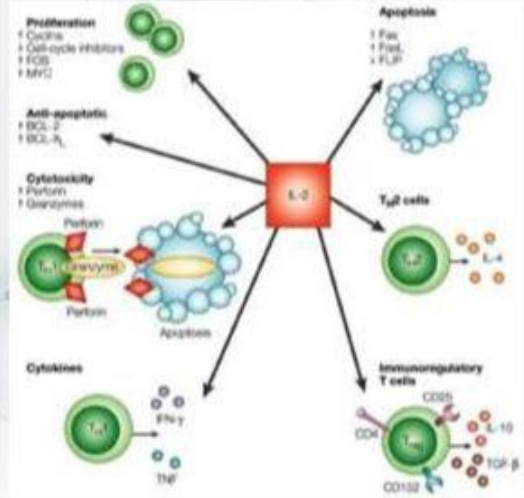
- Потеря антигенности/Экспрессия неклассических HLA и утрата классических.
- Нарушение ко-стимуляции и ко-ингибирования Т-лимфоцитов (PD-1, CTLA-4, 4-1BB, OX40)
- Индукция апоптоза (CD95/CD95L)

<u>Факторы, ассоциированные с микроокружением</u>

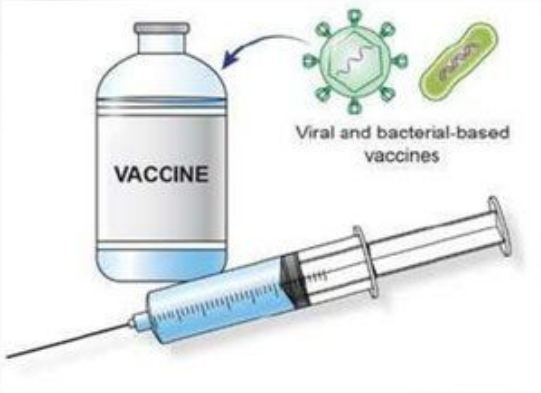
- Иммуносупрессорные клеточные популяции: Treg, TAM, MDSCs, CAF
- Выработка иммуносупрессивных молекул: IL-10, TGFβ, IL-35, IDO, аргиназа, NADPH-оксидазы и iNOS, CXCL12

Виды иммунотерапии ЗНО

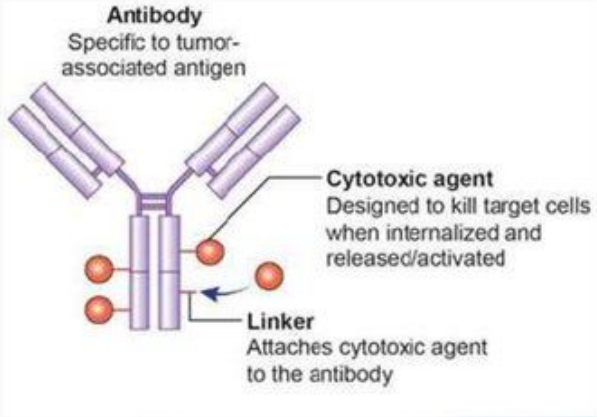
Цитокиновая терапия (INF, IL)



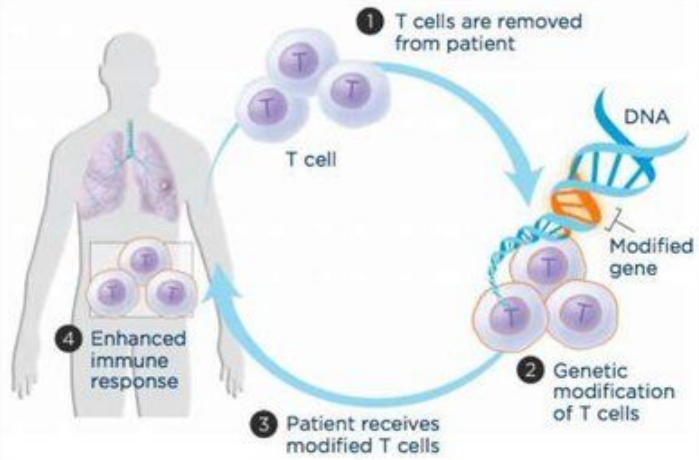
Противоопухолевые вакцины



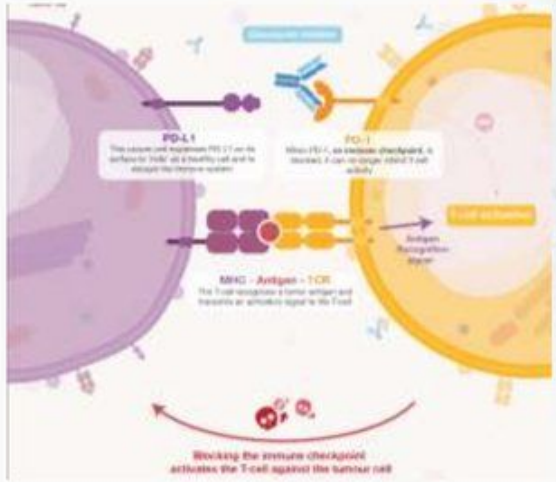
Моноклональные АТ(“голые”, биспицефические, конъюгированные)



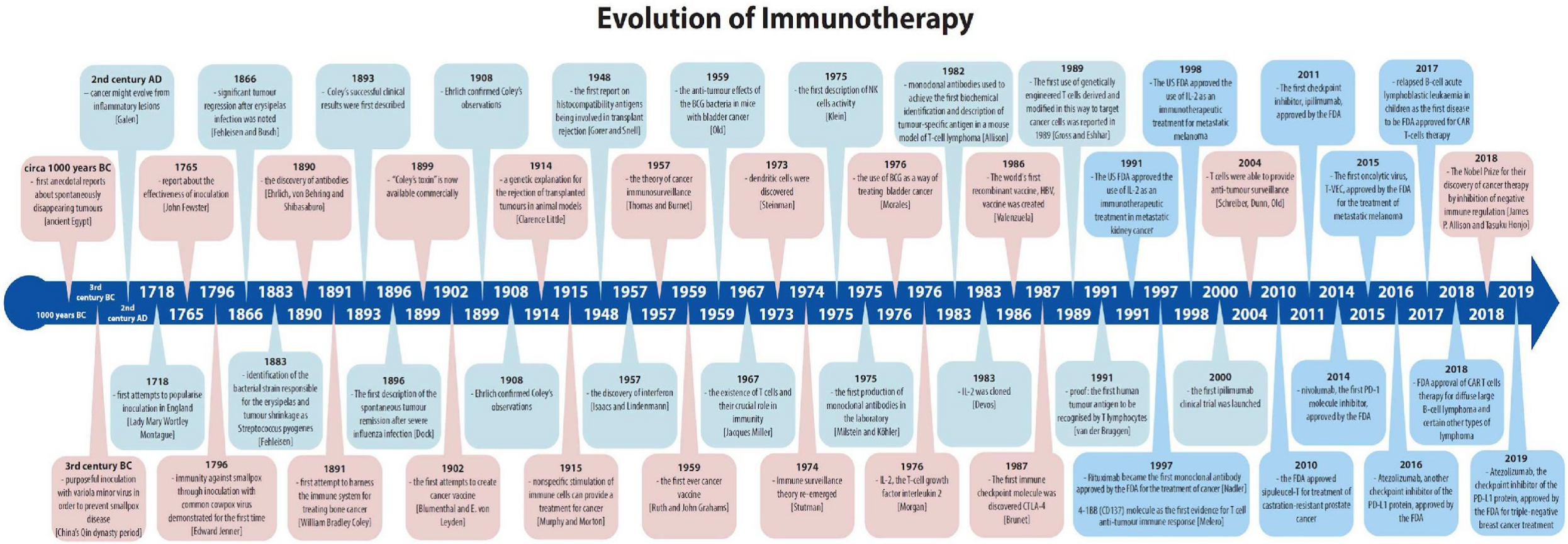
Адоптивная клеточная терапия(Алло-ТГСК, ИОЛ, CAR-T/TCR)



Ингибиторы ИКТ (PD-1/PD-1L, CTLA4.)



Иммунотерапия



Иммунотерапия
Цитокинотерапия

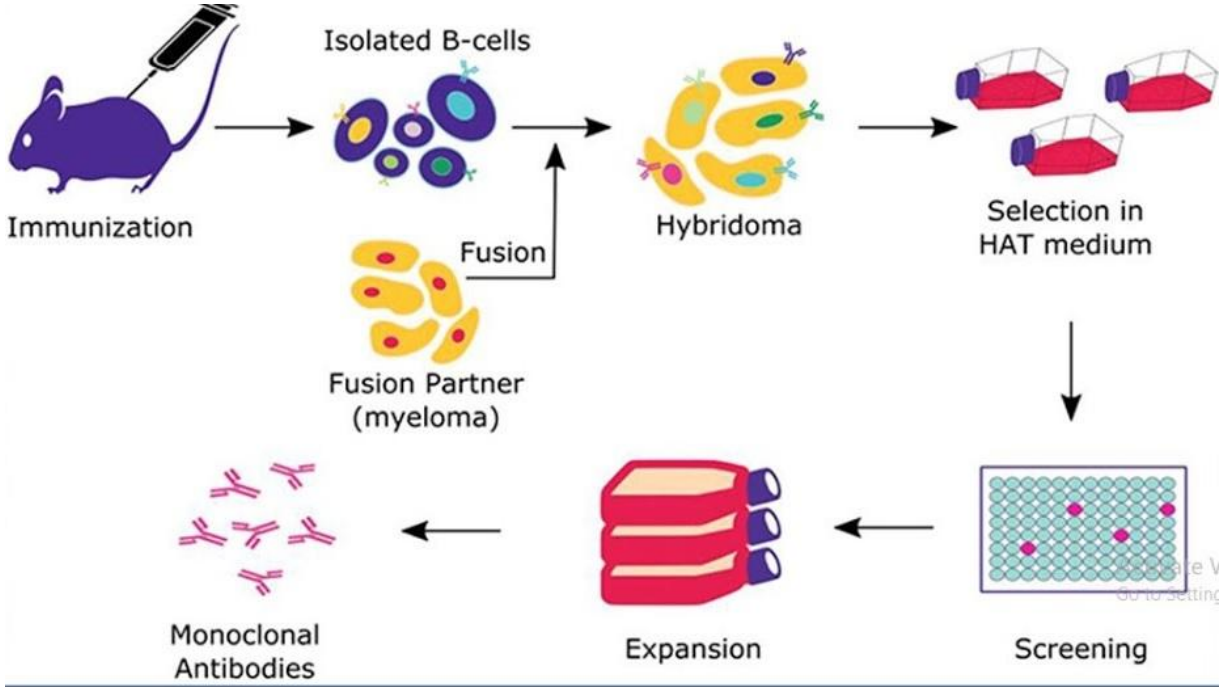
В соответствии с действующими клиническими рекомендациями рекомендовано лечение меланомы поздних стадий в режиме адьювантной терапии препаратами **ИЛ - 2 и ИНФ - альфа.**

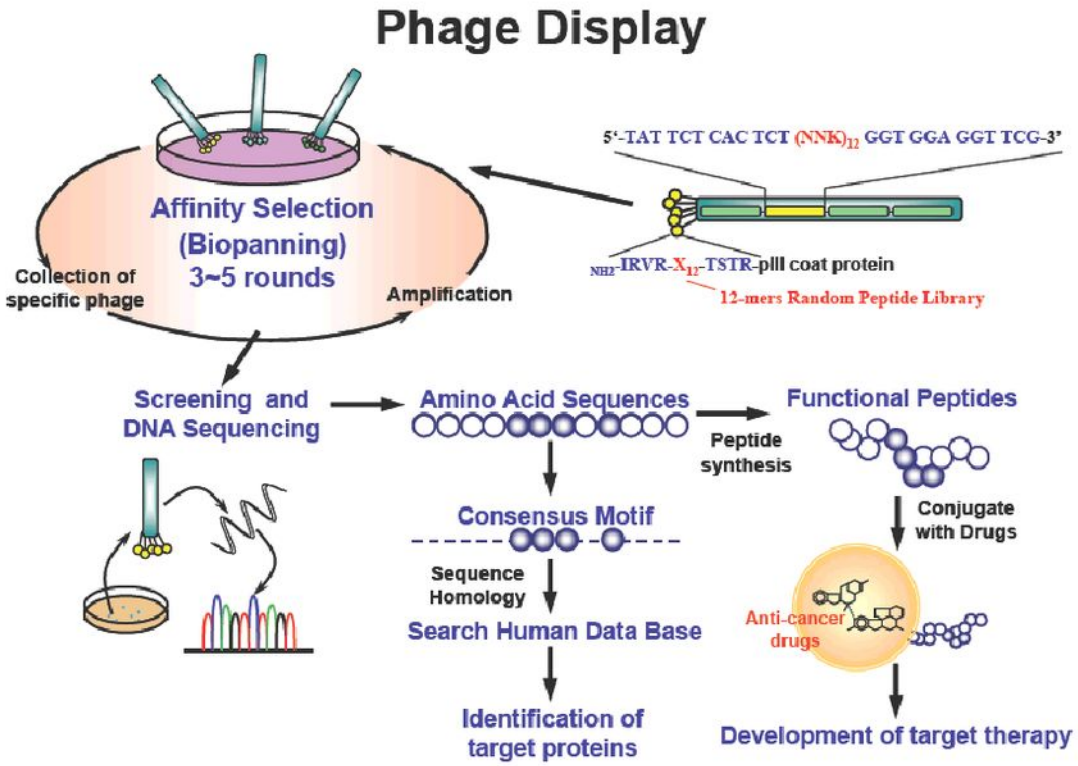
Первые попытки их применения были в начале 90х годов. После серии клинических исследований препарат интерлейкина 2 был одобрен FDA для терапии злокачественной меланомы в 1998 году, в 1995 году интерферон гамма.

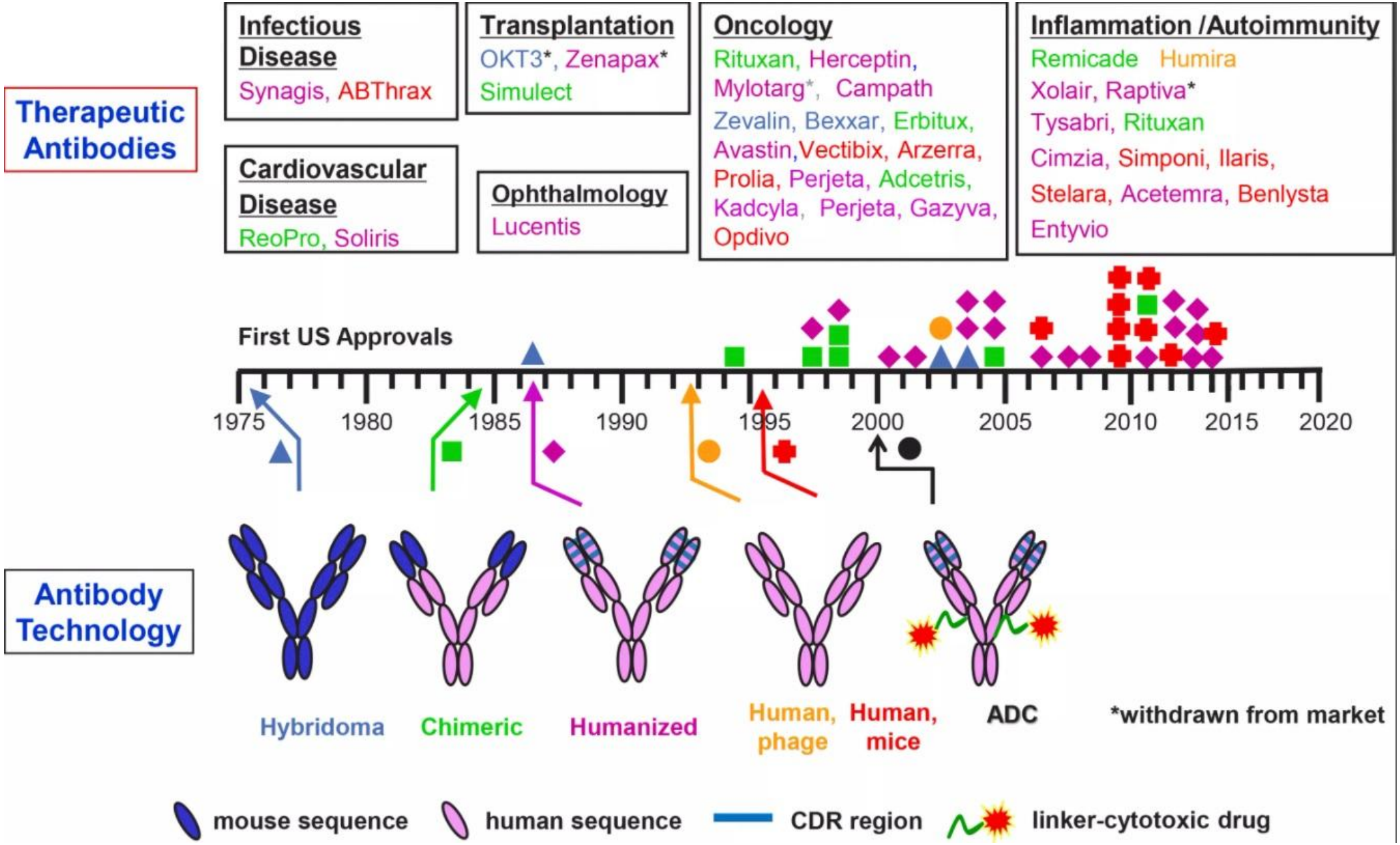
Основные проблемы применения этих средств в практике – недостаточная частота объективного ответа (по данным разных источников и исследований от 4 -6% до 40 – 100%) и высокая частота побочных эффектов. Основные побочные эффекты – лихорадочный синдром, головная боль, кишечные расстройства, цитопения и т. д.

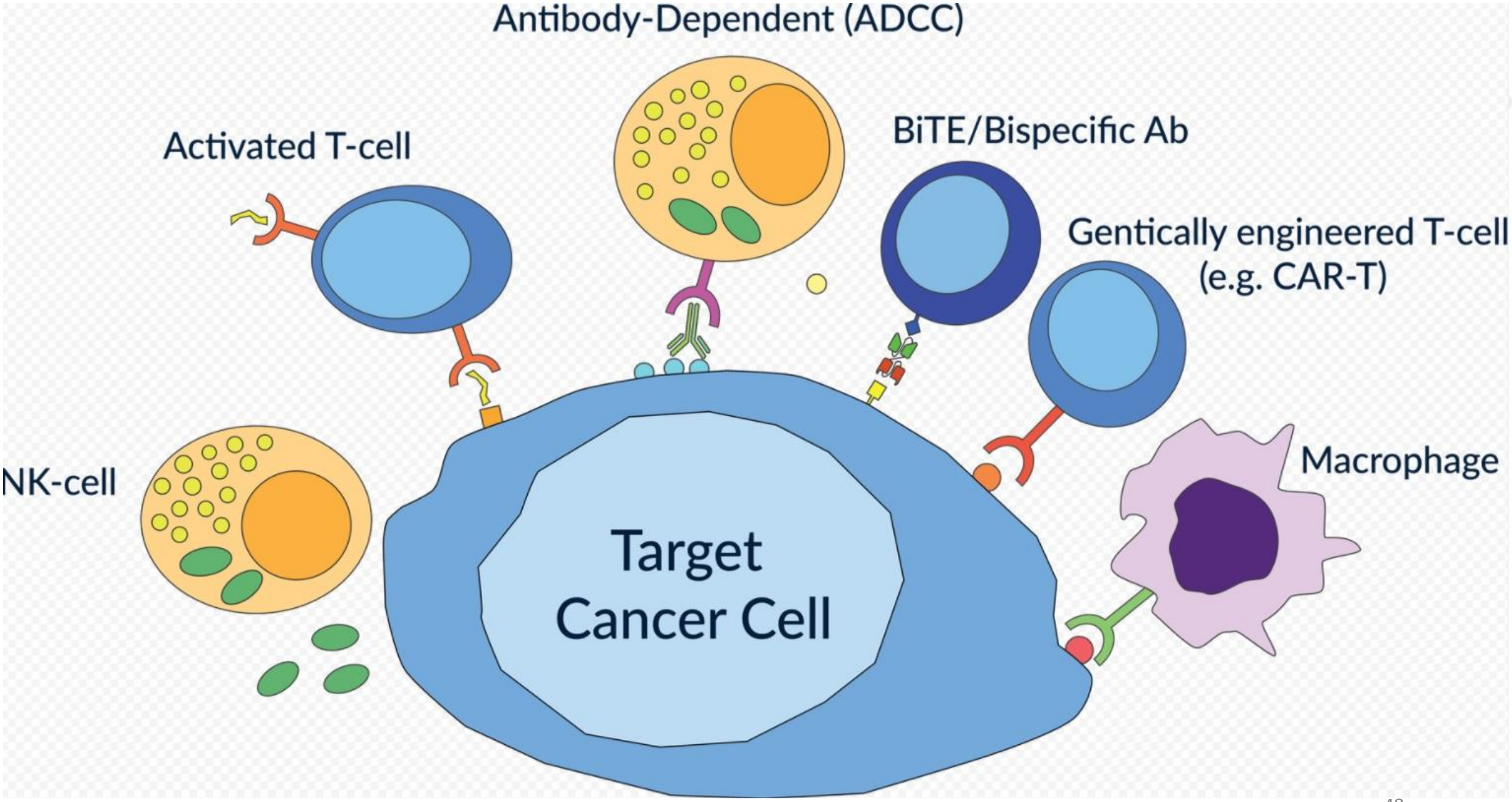
Иммунотерапия
Использование антител

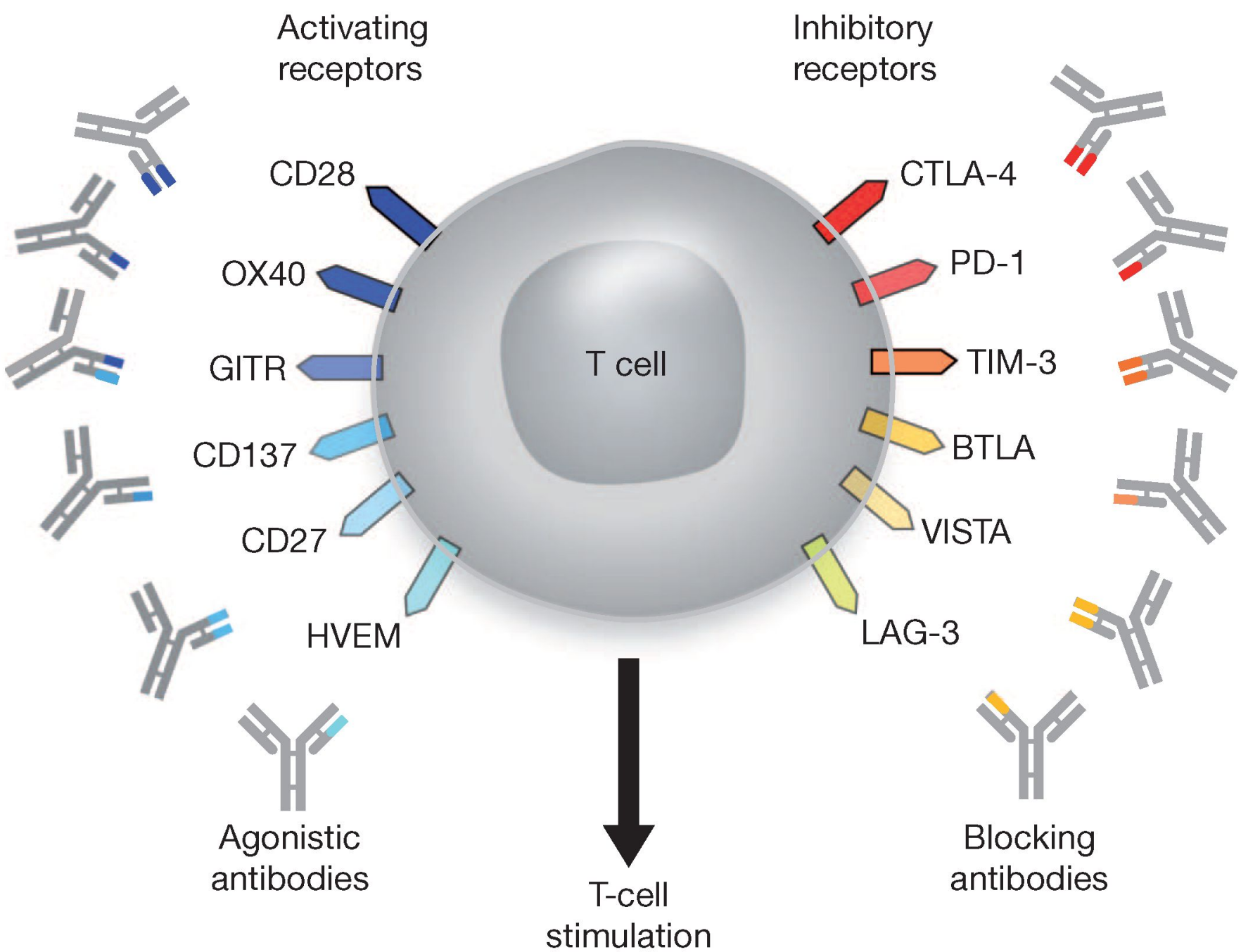
Спустя несколько лет после открытия в Мельштейном и Келером (Milstein and Köhler) в 70х годах прошлого века гибридомной технологии и получения первых моноклональных антител в 1997 FDA одобряет Рутуксимаб - моноклональные антитела к CD20. В настоящий момент синтезированы сотни препаратов моноклональных антител, используемых при терапии рака.

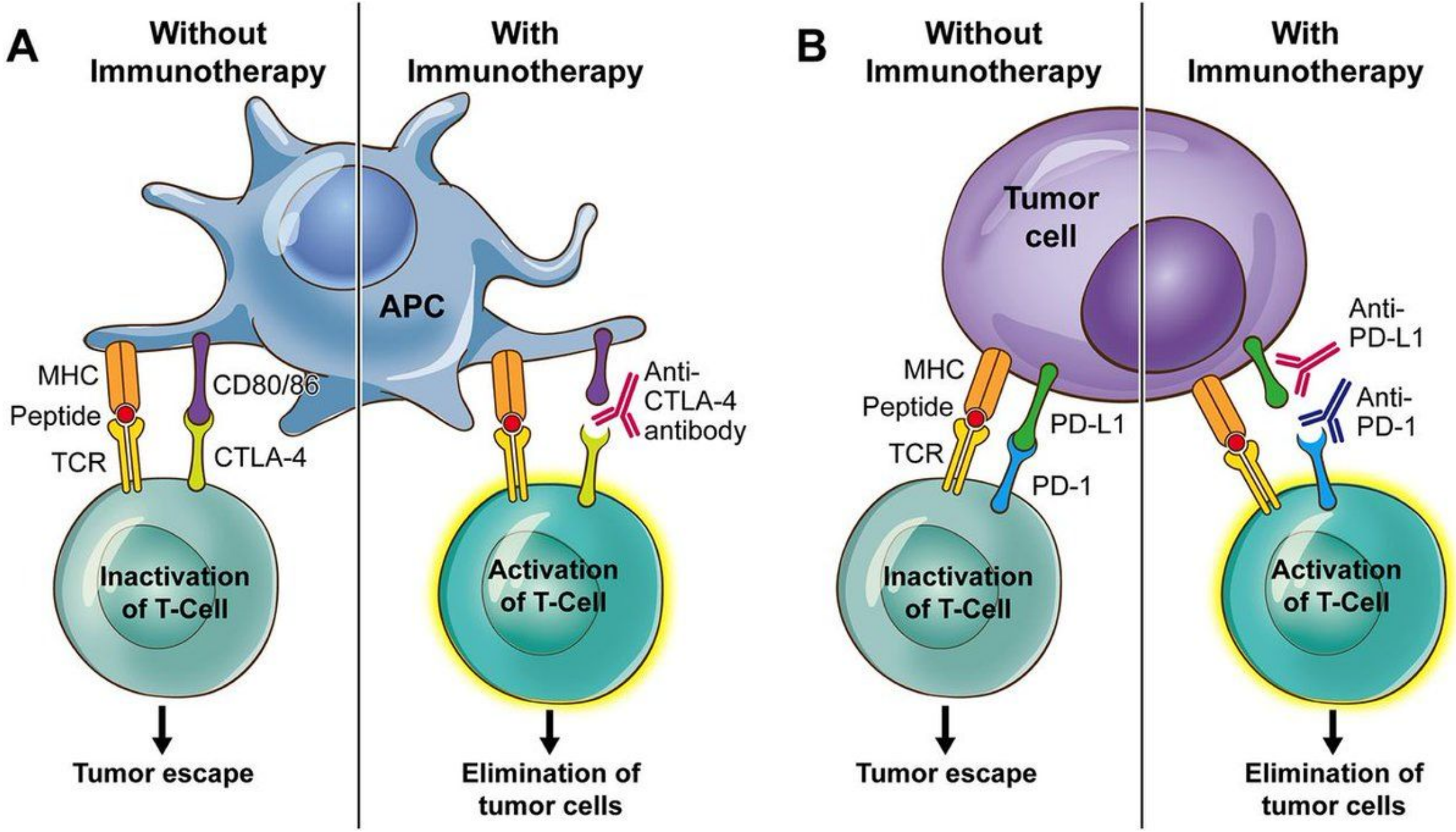





Therapeutic Antibodies
Infectious Disease
Synagis, ABThrax
Transplantation
OKT3*, Zenapax*
Simulect
Oncology
Rituxan, Herceptin,
Mylotarg*, Campath
Zevalin, Bexxar, Erbitux,
Avastin,Vectibix, Arzerra,
Prolia, Perjeta, Adcetris,
Kadcyla, Perjeta, Gazyva,
Opdivo
Inflammation /Autoimmunity
Remicade Humira
Xolair, Raptiva*
Tysabri, Rituxan
Cimzia, Simponi, Ilaris,
Stelara, Acetemra, Benlysta
Entyvio
Cardiovascular Disease
ReoPro, Soliris
Ophthalmology
Lucentis
First US Approvals
1975
1980
1985
1990
1995
2000
2005
2010
2015
2020
Antibody Technology
Hybridoma
Chimeric
Humanized
Human, phage
Human, mice
ADC
*withdrawn from market
mouse sequence
human sequence
CDR region
linker-cytotoxic drug


Antibody-Dependent (ADCC)
Activated T-cell
BiTE/Bispecific Ab
Gentically engineered T-cell
(e.g. CAR-T)
NK-cell
Macrophage
Target
Cancer Cell

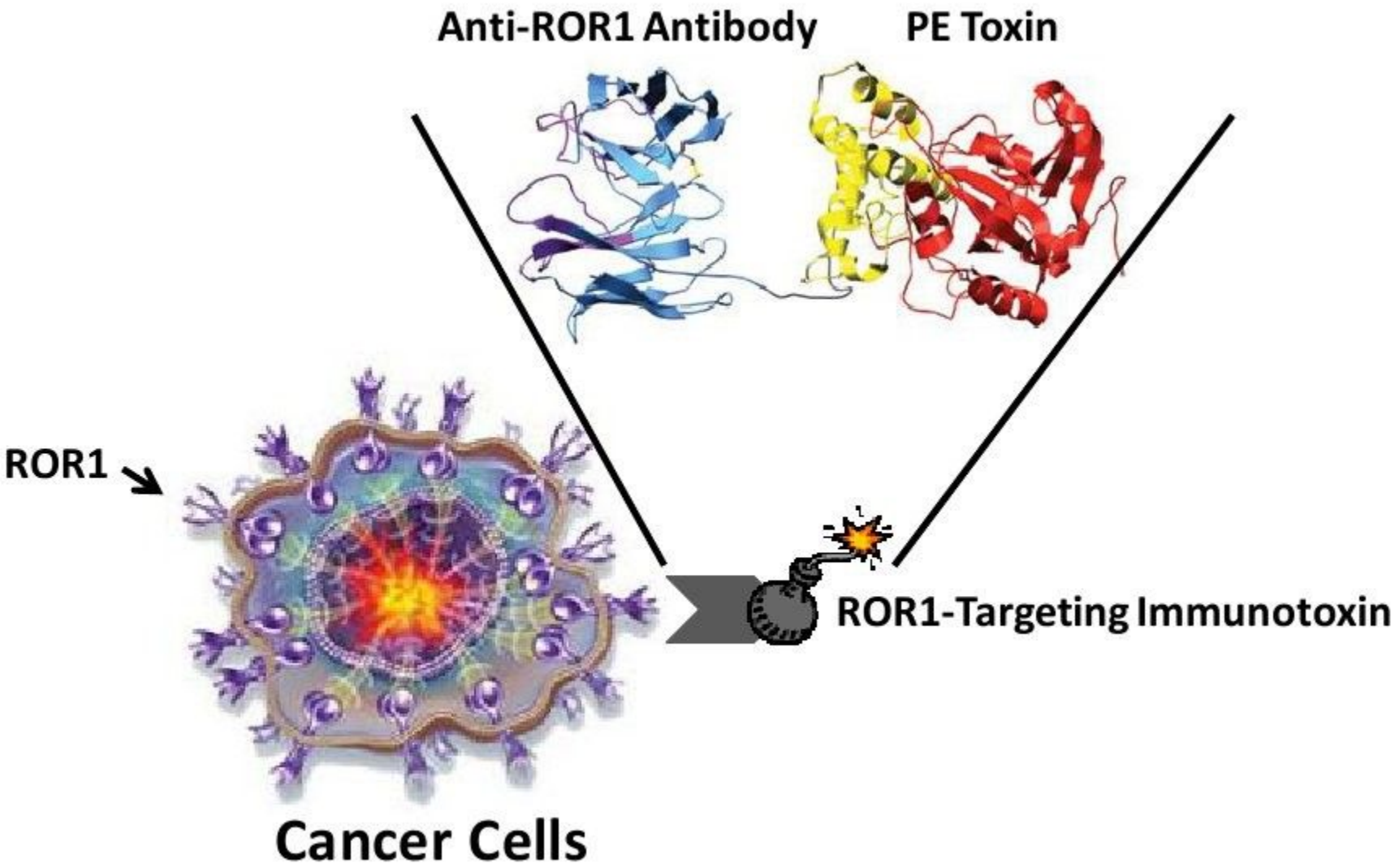

Activating receptors
Inhibitory receptors
CD28
OX40
GITR
CD137
CD27
HVEM
CTLA-4
PD-1
TIM-3
BTLA
VISTA
LAG-3
T cell
Agonistic antibodies
T-cell stimulation
Blocking antibodies

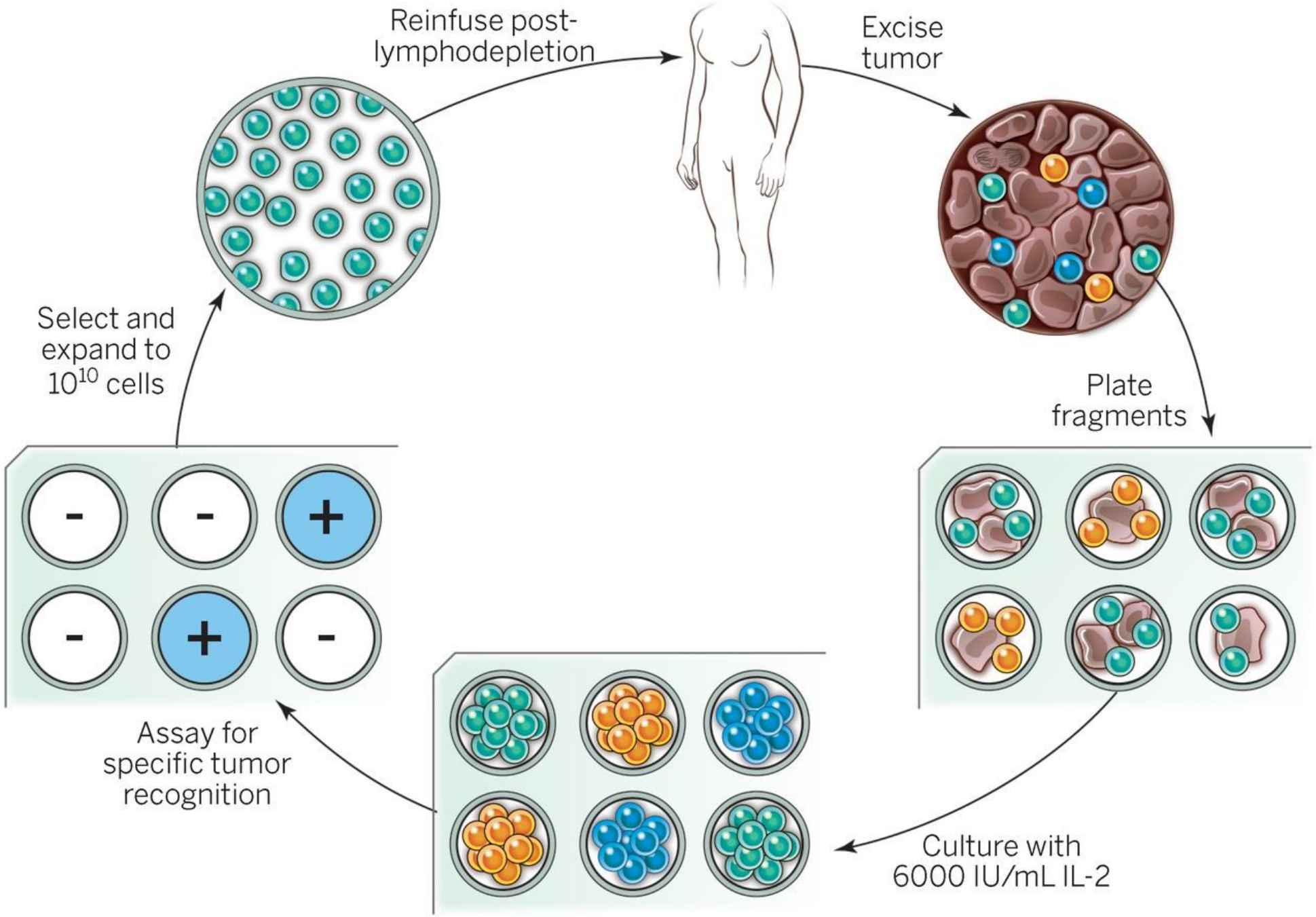

A
Without Immunotherapy
With Immunotherapy
APC
MHC
Peptide
TCR
CD80/86
CTLA-4
Anti-CTLA-4 antibody
Inactivation of T-Cell
Activation of T-Cell
Tumor escape
Elimination of tumor cells
B
Without Immunotherapy
With Immunotherapy
Tumor cell
MHC
Peptide
TCR
PD-L1
PD-1
Anti-PD-L1
Anti-PD-1
Inactivation of T-Cell
Activation of T-Cell
Tumor escape
Elimination of tumor cells

Иммунотерапия

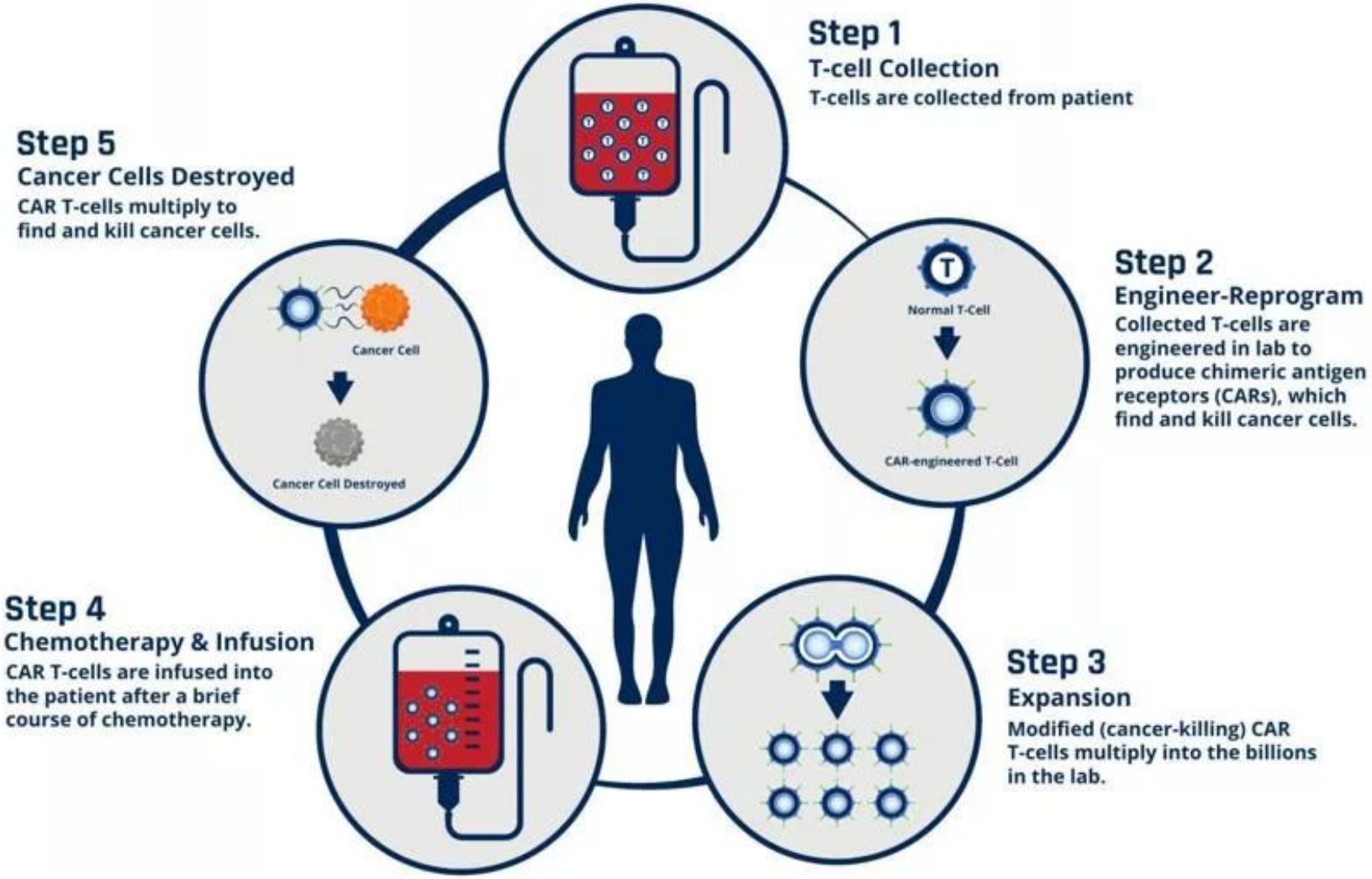
Использование антител.

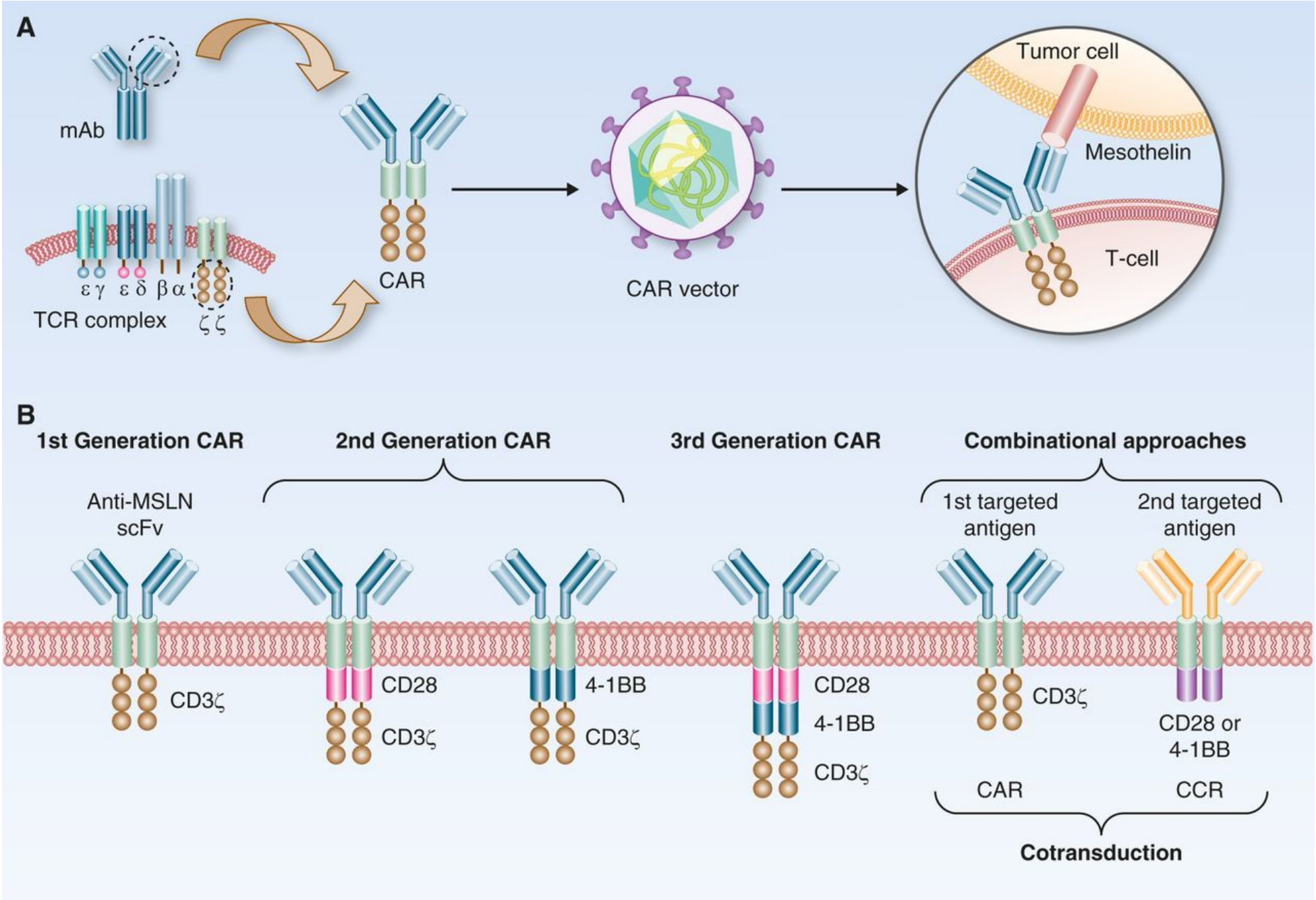
Иммунотоксины




Reinfuse post-
lymphodepletion
Excise
tumor
Select and
expand to
10^{10} cells
Plate
fragments
Assay for
specific tumor
recognition
Culture with
6000 IU/mL IL-2

How Does CAR T-Cell Therapy Work?




A
mAb
TCR complex
ε γ ε δ β α
ζ ζ
CAR
CAR vector
Tumor cell
Mesothelin
T-cell
B
1st Generation CAR
2nd Generation CAR
3rd Generation CAR
Combinational approaches
Anti-MSLN scFv
CD3ζ
CD28
CD3ζ
4-1BB
CD3ζ
CD28
4-1BB
CD3ζ
1st targeted antigen
2nd targeted antigen
CD3ζ
CD28 or 4-1BB
CAR
CCR
Cotransduction

Иммунотерапия
Онковакцины

Пептидные вакцины

Клеточные вакцины

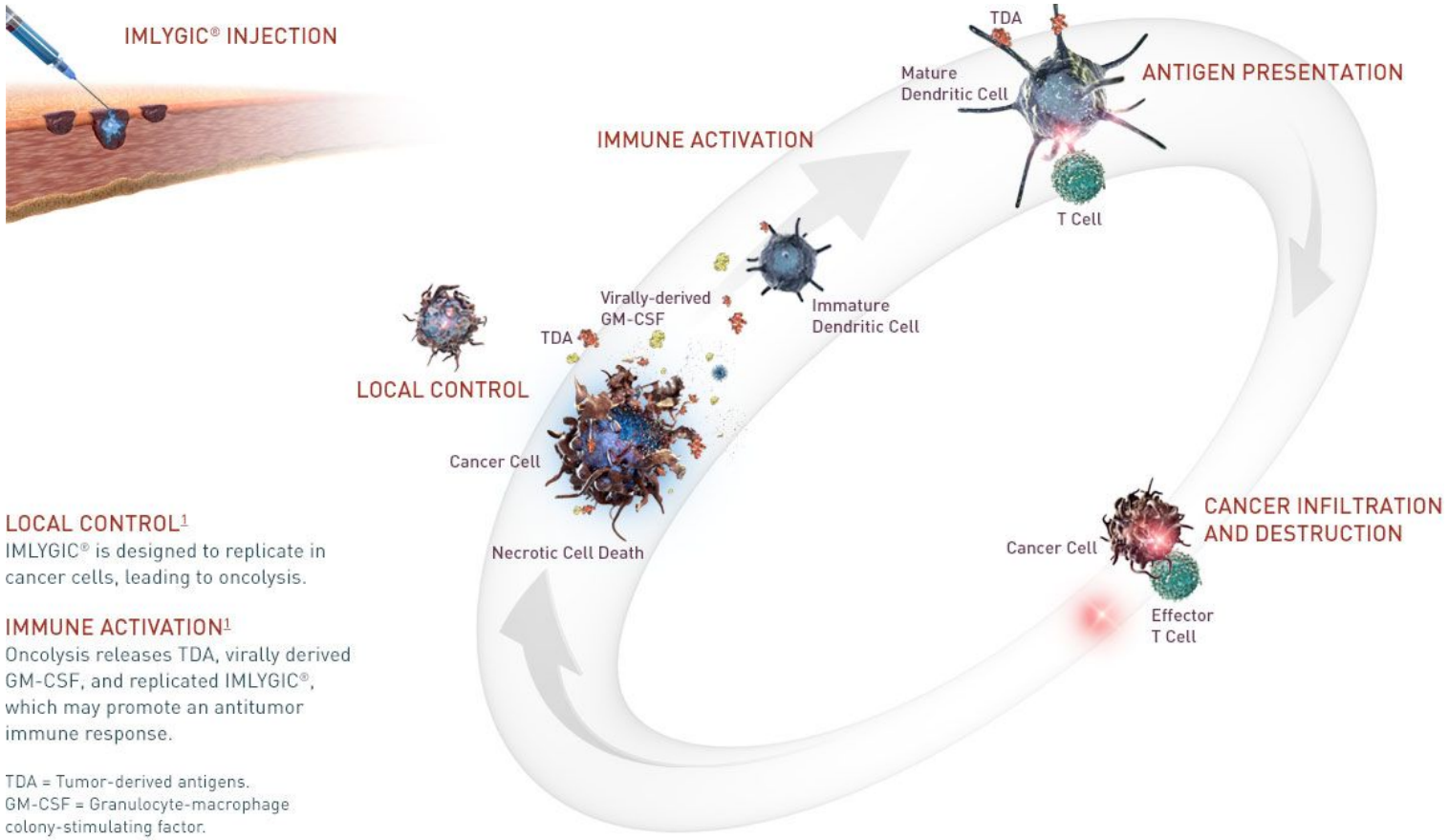
ДНК - вакцины

Дендритно-клеточные вакцины

Вакцины на основе полноразмерных раковых
антигенов и искусственных иммуногенов

Вакцины на основе неоантигенов

Иммунотерапия
Онколитические вирусы



LOCAL CONTROL[1]
IMLYGIC® is designed to replicate in cancer cells, leading to oncolysis.

IMMUNE ACTIVATION[1]
Oncolysis releases TDA, virally derived GM-CSF, and replicated IMLYGIC®, which may promote an antitumor immune response.

TDA = Tumor-derived antigens.
GM-CSF = Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.

IMLYGIC®
(talimogene laherparepvec)
INTRALESIONAL INJECTION

Благодарю за внимание