

# Kompletní léčebná odpověď po anti-PD1 terapii u pacientky s pokročilým melanomem a rezistencí na cílenou terapii BRAF inhibitory

Ondřej Kodet<sup>1,2,3</sup>, Kristýna Němejcová<sup>4</sup>, Lukáš Lacina<sup>1,2,3</sup>, Ivana Krajsová<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN, Praha

<sup>2</sup>Anatomický ústav 1. LF UK, Praha

<sup>3</sup>BIOCEV – Biotechnologické a biomedicínské centrum Akademie věd a Univerzity Karlovy ve Vestci u Prahy

<sup>4</sup>Ústav patologie 1. LF UK a VFN, Praha

Tento klinický případ popisuje pacientku s metastatickým melanomem, která progredovala po prvním měsíci cílené terapie BRAF a MEK inhibitory. Terapeutický efekt se dostavil krátce po zahájení terapie anti-PD1 pembrolizumabem s kompletní terapeutickou odpovědí po 4 měsících terapie, která nyní trvá již 30 měsíců. V diskuzi jsou popsány možné mechanismy tzv. primární rezistence cílené terapie BRAF inhibitory.

**Klíčová slova:** metastazující melanom, cílená terapie, primární rezistence, anti-PD1 terapie.

## Complete therapeutic response to anti-PD1 therapy in patient with advanced melanoma and resistance to targeted therapy of BRAF inhibitors

This clinical case describes patient with metastatic melanoma, who progressed after the first month of targeted therapy with BRAF and MEK inhibitors. The therapeutic effect came shortly after initiation of treatment with anti-PD1 therapy pembrolizumab with a complete response after 4 months. The complete response now takes over 30 months. Possible mechanisms of so-called primary resistance of targeted BRAF inhibitors are described in discussion.

**Key words:** metastatic melanoma, targeted therapy, primary resistance, anti-PD1 therapy.

## Popis případu

Pacientkou je 67letá žena, která byla poprvé vyšetřena na našem pracovišti v červenci 2012 po neširoké excizi nodulárního melanomu v centru zad, Breslow 4,9 s ulcerací. Následně byla provedena radikální reexcize jizvy na zádech s 20mm lemem a mapování sentinelové uzliny, která byla detekována v pravé axile bez průkazu metastatického postižení. Vzhledem ke klinickému stadiu (IIC) byla pacientce nabídnuta adjuvantní imunoterapie interferonem alfa, kterou však odmítla a souhlasila jen s následnou dispenzarizací. V lednu 2013 při kontrolním vyšetření PET/CT a následně sonograficky

byly detekovány suspektní infiltrované uzliny v pravé axile. Proto byla provedena radikální chirurgická exenterace pravé axily s detekcí 3 metastaticky postižených uzlin (z 29 zastižených v exenterátu). Vzhledem k uzlinovému relapsu onemocnění bez jiného dalšího postižení byla u pacientky zahájena imunoterapie interferonem alfa (10 MIU s.c., v indukční fázi 5x týdně 4 týdny, následovaná 3x týdně). Po 3 měsících terapie byla léčba snížena na 5 MIU s.c. 3x týdně vzhledem k výraznější únavě pacientky a mírné, ale progredující trombocytopenii. Imunoterapie interferonem alfa byla ukončena po 1,5 roce terapie, po snížení dávky již bez dalších výraz-

nějších komplikací. Asi 2 měsíce (říjen 2014) po ukončení terapii interferonem alfa byla detekována dle PET/CT suspektní uzlinová metastáza v pravé axile. Vzhledem k pouze jedné suspektní metastáze přístupné chirurgickému řešení byl zvolen postup exstirpace uzliny, kde byla následně potvrzena metastáza melanomu. Při časně kontrole v prosinci 2014 byla detekována progresse onemocnění s metastatickým postižením uzlin, podkoží nadklíčku vpravo, plic a jater. Vzhledem ke generalizaci onemocnění bylo provedeno vyšetření BRAF mutace z metastázy pravé axily, které prokázalo přítomnost mutace BRAF V600E. Následně byla u pacientky

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Ondřej Kodet, Ondrej.Kodet@vfn.cz

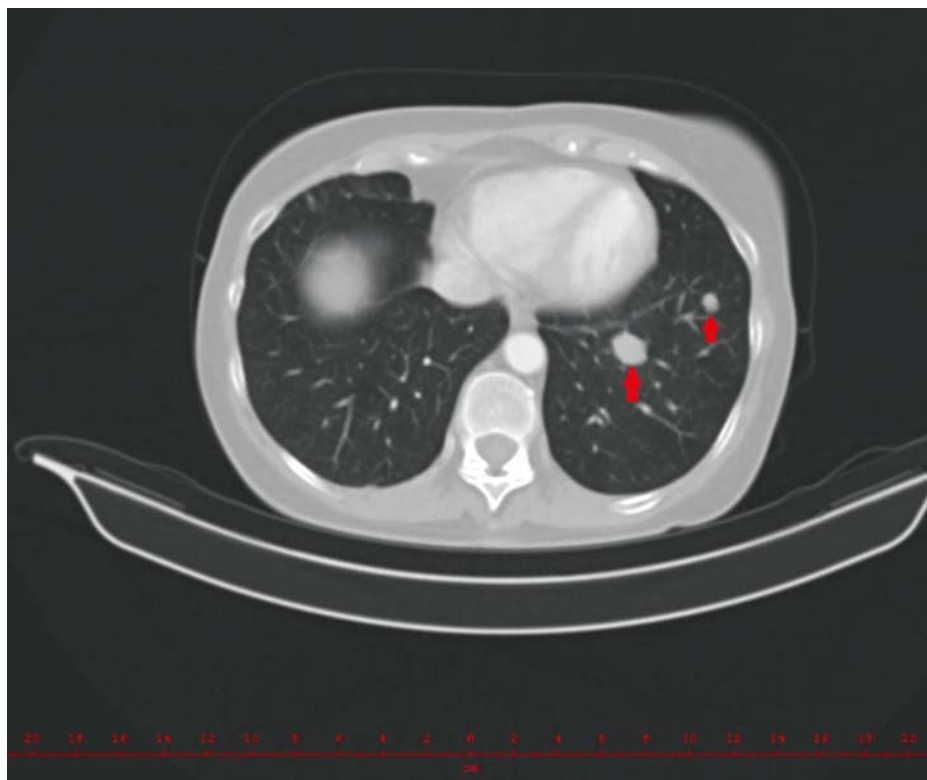
Dermatovenerologická klinika 1. LF UK a VFN, U Nemocnice 2, 128 08 Praha 2

Cit. zkr: Onkologie 2018; 12(1): 21–24

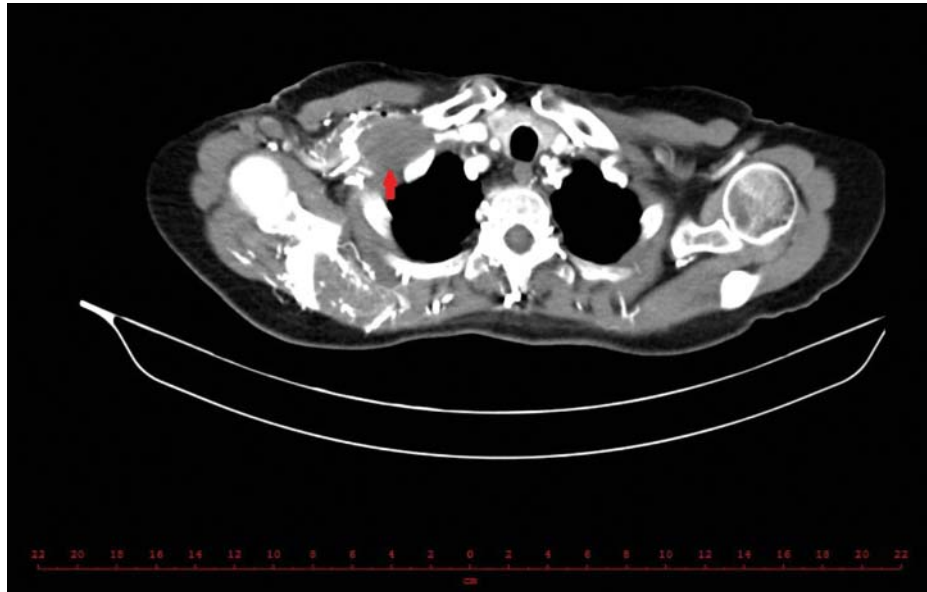
Článek přijat redakcí: 9. 1. 2018

Článek přijat k publikaci: 15. 2. 2018

**Obr. 1.** CT vyšetření plic, metastatické postižení levé plic, progresse onemocnění při cílené terapii BRAF a MEK inhibitory



**Obr. 2.** CT vyšetření hrudi a krku, metastatické postižení supraklavikulárně vpravo



zahájena terapie BRAF inhibítorem (dabrafenib 300 mg/den) v kombinaci s MEK inhibítorem (trametinib 2 mg/den). Vzhledem ke klinické progresi po jednom měsíci terapie (progrese postižení uzlin pravé supraklavikulární oblasti s výraznou bolestivostí postižené oblasti), která byla následně potvrzena i na CT vyšetření trupu (obrázky 1 a 2) a břicha (progrese uzlinového a plicního postižení) byla léčba BRAF a MEK inhibitory ukončena po 6 týdnech. U pacientky se koncem února 2015 podařilo zahájit terapii

anti-PD1, pembrolizumabem. Terapie byla již po první dávce s dobrým efektem (standardní dávkování 2 mg/kg každé 3 týdny), postupnou regresí metastatického postižení nadklíčku a zmírněnou bolestivostí postižené oblasti. Dle kontrolního vyšetření s kompletní terapeutickou odpovědí po 4 měsících terapie (obrázky 3 a 4), bez známek toxicity terapie a jiných nežádoucích účinků s dobrou tolerancí terapie pacientkou. Pacientka celkově podstoupila do skočení specifického léčebného programu 42 aplikací,

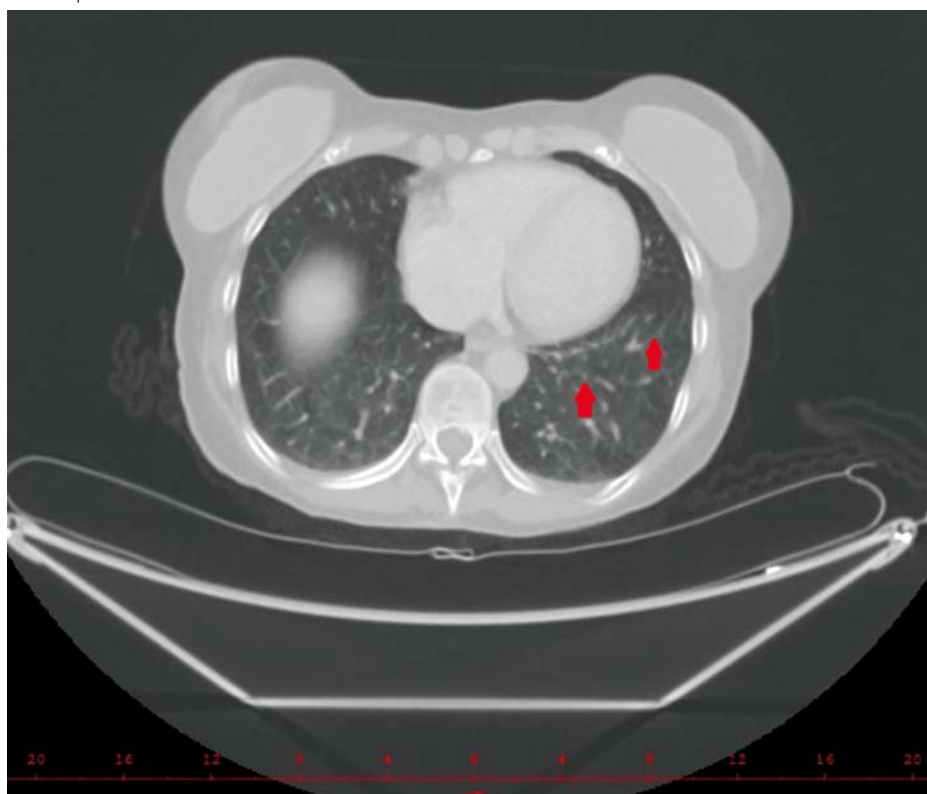
v současné době je pacientka pouze dispenzarizovaná s kompletní terapeutickou odpovědí (CR, complete response) trvající již 30 měsíců.

## Diskuze

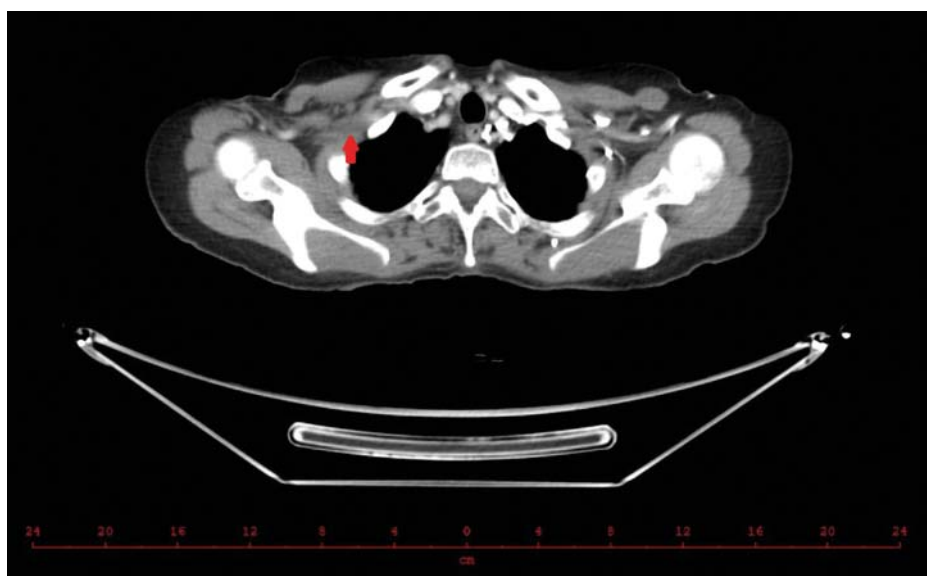
Léčba metastazujícího melanomu od roku 2010 zaznamenala významný rozvoj a radikálním způsobem ovlivnila prognózu pacientů s metastatickým postižením. Do roku 2010 byla pro pacienty s metastatickým postižením základní léčbou pouze chemoterapie s omezenou terapeutickou odpovědí okolo 10–20 %. Medián přežití u těchto pacientů se v roce 2009 pohyboval mezi 6–9 měsíci (1, 2). Současné léčebné možnosti metastazujícího (pokročilého) melanomu jsou ustáleny na dvou pilířích terapeutické strategie a to na cílené terapii BRAF a MEK inhibitory a protinádorové imunoterapii anti-CTLA-4 a zejména pak anti-PD1. Díky těmto novým schémům je prognóza pacientů s metastatickým onemocněním lepší a medián přežití s metastatickým postižením je odhadován okolo 20–23 měsíců (3).

Významným zlomovým mezníkem v terapii metastazujícího melanomu byl rok 2011, který přinesl první zhodnocení efektu BRAF inhibitorů v podobě cílené protinádorové léčby (4). BRAF inhibitory cíleně inhibují mutovaný Braf protein, který je součástí signální dráhy MAPK (mitogen-activated protein kinase). Dysregulace MAP kinázové signalizační dráhy je odpovědná za mechanismy proliferace, invaze a přežívání nádorových buněk a je popsána u řady nádorů (5). Braf protein je intracelulární podjednotkou této signalizační dráhy a jeho mutace je zastoupena asi v 50 % melanomů. Jeho role v patogenezi melanomu není doposud zcela objasněna, jelikož se hojně nachází i v benigních melanocytárních névech (až okolo 83 %) aniž by tyto névy měly tendenci k maligní transformaci (6). Vedle melanomu lze BRAF mutaci detekovat i u kolo- rektálního karcinomu, papilárního karcinomu štítné žlázy nebo u leukemie z vlasatých buněk (7, 8). První BRAF inhibitor vemurafenib, již v klinických studiích fáze I a II poukázal na do té doby nevídanou terapeutickou odpověď (80 % resp. 53 %). Zásadní byla studie **BRIM3**, kde celkové přežití (overall survival, OS) pacientů léčených vemurafenibem bylo významně vyšší, 13,6 měsíce proti 9,7 měsíce u pacientů léčených chemoterapií dakarbazinem (míra rizika [Hazard Ratio, HR]: 0,70, 95 %; interval spolehlivosti [confidence

**Obr. 3.** Kompletní terapeutická odpověď při anti-PD1 terapii. CT vyšetření plic, bez průkazu metastatického postižení



**Obr. 4.** Kompletní regrese metastatického postižení pravé supraklavikulární oblasti při anti-PD1 terapii



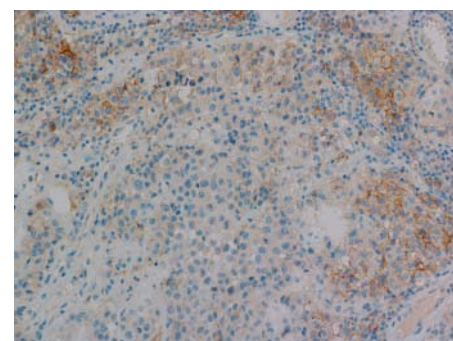
interval, CI]: 0,57–0,87,  $p = 0,0008$ ). Významné bylo i zhodnocení přežití bez progresu onemocnění (PFS, progression free survival) 6,9 měsíce proti 1,6 měsíce u chemoterapie (HR: 0,38, 95 % CI: 0,32–0,46,  $p = 0,0001$ ) (4). Poměrně záhy byla zveřejněna klinická data i druhého BRAF inhibitory dabrafenibu, který zaznamenal podobnou terapeutickou účinnost jako vemurafenib (9). Klinická studie fáze III **BREAK-3** potvrdila v roce 2013 prodloužení PFS při léčbě dabrafenibem (medián PFS 6,9 proti 2,7 při chemoterapii da-

karbazinem) (10). Tato studie však neprokázala statisticky významné prodloužení OS při léčbě dabrafenibem proti chemoterapii (18,2 proti 15,6 měsíce), vzhledem k poměrně rychlému vzniku získané (sekundární) rezistence při monoterapii BRAF inhibitory (6–9 měsíců) (10). Z tohoto důvodu byla hledána cesta k potencování cílené protinádorové terapie u metastazujícího melanomu a oddálení mechanismů rezistence (11). Výsledkem bylo zavedení kombinované terapie BRAF a MEK (MEK1/2, trametinib, cobi-

metinib) inhibitory. Trametinib a cobimetinib patří mezi selektivní reverzibilní MEK1/2 inhibitory, kdy trametinib zaznamenal významnou účinnost v kombinaci s dabrafenibem, i když byl testován i v monoterapii u BRAF mutovaných melanomů (12, 13). Cobimetinib byl zkoušen pouze v kombinaci s vemurafenibem (14). Obě kombinace byly testovány ve studiích **COMBI-V**, **COMBI-D** a **coBRIM**, kde poukázaly na statisticky významné zlepšení celkového přežití a přežití bez progresu proti monoterapii (**coBRIM**; OS 22,3 měsíce oproti 17,4 měsíce u monoterapie vemurafenibem (HR: 0,70, 95 % CI: 0,55–0,90,  $p = 0,005$ ) a medián PFS 12,3 měsíce u kombinované léčby oproti 7,2 měsíce u monoterapie (HR: 0,58, 95 % CI: 0,46–0,72,  $p < 0,0001$ ) (15).

Navzdory těmto terapeutickým pokrokům je skupina pacientů, kteří z terapie BRAF inhibitory neprofitují a dochází k progresi onemocnění již během prvních několika týdnů a měsíců léčby. V současné době jsou již poměrně dobře zdokumentovány mechanismy tzv. primární ale i získané rezistence (16). Na procesech rezistence se podílí celá řada různorodých mechanismů, které jsou identifikovány na podkladě řady *in vitro* i *in vivo* modelů melanomu (17). Relativně velké a různorodé množství mechanismů vedoucích k nádorové rezistenci lze vysvětlit nádorovou heterogenitou bez ohledu na jejich mutačním a epigenetickým profilem. Rezistentní nádorové buňky mohou získat vlastní odolnost (primární rezistence) jako důsledek selektivního tlaku samotné terapie z preexistujícího rezistentního klonu nebo sekundárně jako důsledek nádorové plasticity a reakce nádorových buněk na léčbu (16). Významnou roli v utváření rezistence hrají i mechanismy interakcí s nádorovým mikroprostředím, tedy i se složkami nádorového stromatu (18). Nádorové mikroprostředí mimo jiné pomáhá podporovat nádorový růst a podílí se

**Obr. 5.** Exprese anti-PD-L1 (clone 22C3) v uzlinové metastáze, pozitivita v periférii nádoru v blízkosti zánětlivého infiltrátu, zvětšeno 200x



na udržování pomalu cyklicky se dělících buněk (s vlastnostmi nádorových kmenových buněk) a buněk se schopností přecházet do epitelově mezenchymového přechodu (který např. usnadňuje invazivitu nádorových buněk) (16).

Mechanismy primární rezistence jsou odpovědné za selhání léčby BRAF inhibitory během prvních týdnů léčby, podobně jak tomu mohlo být v prezentovaném případě. Jedním z mechanismů je ztráta exprese PTEN genu, který se vyskytuje asi u 10–35 % melanomů, především s mutací NRAS, ale vzácněji i s koexistencí BRAF mutace. PTEN patří mezi tumor supresorové geny a je jedním z hlavních regulátorů PI3K (fosfatidylinositol-3-kináza, PI3K) (19). Aktivace této kinázy může vést k aberantní stimulaci nádorové proliferace bez nutné účasti Braf a MEK 1/2 proteinu MAP kinázy, což může vysvětlit selhání i kombinované terapie BRAF a MEK inhibitory. Samotná mutace PTEN však pravděpodobně není pro vznik okamžité primární rezistence rozhodující. Klinické studie s BRAF inhibitory, kde je sledována i mutace PTEN s návazností na terapeutickou odpověď poukazují na prakticky dvojnásobnou PFS u PTEN nemutovaných melanomů (32,1 týdnů PTEN wild-type vs. 18 týdnů PTEN mutovaný melanom;  $p = 0,066$ ) (20). Na primární rezistenci se podílí i nádorové mikroprostředí. Buňky nádorového stromatu např. nádorově asociované fibroblasty, které produkují řadu faktorů, včetně hepatocytárního růstového faktoru (HGF) a HGF receptoru c-MET. Tyto molekuly jsou schopny aktivovat proliferaci a růst nádorových buněk prostřednictvím PI3K (18, 21). Mechanismus rezistence je poté obdobný jako u mutace PTEN genu. Dalším popsáným mechanismem je dysregulace cyklin-dependentní kinázy 4 (CDK4). V buněčném cyklu, cyklin D1 reguluje buněčnou proliferaci pomocí vazby s CDK4 a CDK6, která ná-

sledně aktivuje retinoblastomový protein. Mutace CDK4 a amplifikace cyklin D1, která se nachází až u 20 % melanomů je spojena se silnou rezistencí na BRAF inhibitory (22). V současné době jsou CDK4 inhibitory zkoušeny v kombinaci s BRAF inhibitory v klinických studiích fáze II (23).

Nespornou výhodou imuno-onkologické terapie je její dlouhodobá terapeutická odpověď, která byla pozorována jak u použití anti-CTLA4 tak při použití novější terapie anti-PD1. Pembrolizumab, který byl použit v prezentovaném případě je humanizovaná IgG4 monoklonální protilátka anti-PD1 (anti-programmed death 1). PD1 je inhibičním receptorem T-lymfocytů, který se specificky váže na PD-L1 (ligand PD) s následnou anergií T-lymfocytů a inhibicí protinádorové imunitní reakce (24).

I když je v současné době v rámci úhradových mechanismů z veřejného zdravotnictví počítáno s anti-PD1 terapií pouze v první linii léčby, byl efekt pembrolizumabu původně testován i ve druhé linii terapie. V případě pembrolizumabu byla jedna z prvních studií fáze Ib **Keynote-001**, která srovnávala efekt léčby u pacientů po selhání terapie anti-CTLA4 (ipilimumabem, 52 % pacientů) a bez této předchozí terapie (z toho jen 25 % pacientů bez jakékoliv předchozí terapie).

Do tohoto klinického sledování bylo zařazeno 655 pacientů, kteří byli léčeni pembrolizumabem v dávce 2 mg/kg a 10 mg/kg v intervalu 3 týdnů. Výsledkem byl medián OS 23,8 měsíce (95 % CI 20,2–29,0) podobný při srovnání obou podávaných dávek a především i při srovnání pacientů léčených v předchozí terapii ipilimumabem a bez této terapie, což poukazuje na možnost léčby anti-PD1 i ve druhé terapeutické linii (25).

Neméně významnou otázkou je hledání nových biomarkerů, které by účinně prediko-

valy terapeutickou odpověď imuno-onkologické terapie i vzhledem k doposud ne zcela vysvětlenému významu rozdílné exprese PD-L1 při efektu a účinnosti léčby anti-PD1 u pacientů s metastazujícím melanomem. Ukazuje se, že terapeutickou odpověď u metastazujícího melanomu (na rozdíl od jiných nádorů) lze očekávat i u pacientů bez exprese PD-L1 v nádoru, i když pozitivita je spojena s lepší terapeutickou odpovědí a delší dobou celkového přežití (26). U pacientky byla retrospektivně vyšetřena exprese PD-L1 z uzlinové metastázy 2 měsíce před zahájením terapie BRAF a MEK inhibitory, která poukazovala na pozitivitu asi 15 % nádorových buněk (obrázek 5). Jsou však práce vycházející z *in vitro* modelů melanomu, které poukazují na zesílení exprese **PD-L1 u nádorových buněk** po terapii BRAF a MEK inhibitory, která navíc zvyšují zastoupení nádor infiltrujících makrofágů a infiltraci T regulačními lymfocyty (Treg) (27).

## Závěr

Zavedení anti-PD1 terapie významně ovlivnilo imunoterapii nádorů v celé onkologii, v případě metastazujícího melanomu došlo k významnému posunu a vzhledem k terapeutické odpovědi okolo 40 % došlo k částečnému vyláčení terapie anti-CTLA4, ipilimumabem. Z výše uvedeného je zřejmé, že za poslední roky došlo k dříve nevídanému pokroku v onkologické péči o pacienty s metastatickým melanomem, ale i přes tyto úspěchy zůstává prognóza pacientů s metastatickým postižením vážná a nejistá.

*Podpořeno grantovým projektem:*

*Grantová agentura ČR, GAČR 16-05534S,*

*Ministerstvo zdravotnictví ČR, Agentura*

*zdravotnického výzkumu AZV 16–30954A,*

*PROGRES UK, BIOCEV CZ.1.05/1.1.00/02.0109.*

## LITERATURA

- Krajsová I. Současné trendy a nové možnosti v léčbě melanomu. *Čes-slov Derm* 2010; 85: 189–195.
- Sandru A, Voinea S, Panaiteescu E, Blidaru A. Survival rates of patients with metastatic malignant melanoma. *J Med Life*. 2014; 7(4): 572–576.
- Ascierto PA, Agarwala SS, Cilibrto G, et al. Future perspectives in melanoma research "Melanoma Bridge", Napoli, November 30th–3rd December 2016. *J Transl Med*. 2017; 15(1): 236.
- Chapman PB, Hauschild A, Robert C, et al. Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation. *N Engl J Med*. 2011; 364(26): 2507–2516.
- Flaherty KT, McArthur G. BRAF, a target in melanoma: implications for solid tumor drug development. *Cancer*. 2010; 116(21): 4902–4913.
- Kumar R, Angelini S, Snellman E, et al. BRAF mutations are

- common somatic events in melanocytic nevi. *J Invest Dermatol*. 2004; 122(2): 342–348.
- Davies H, Bignell GR, Cox C, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. 2002; 417(6892): 949–954.
- Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med*. 2011; 364(24): 2305–2315.
- 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.
- Hauschild A, Grob JJ, Demidov LV, et al. An update on BREAK-3, a phase III, randomized trial: Dabrafenib (DAB) versus dacarbazine (DTIC) in patients with BRAF V600E-positive mutation metastatic melanoma (MM). *Journal of Clinical Oncology*. 2013; 31(15).
- Villanueva J, Vultur A, Herlyn M. Resistance to BRAF inhibitors: unraveling mechanisms and future treatment options. *Cancer Res*. 2011; 71(23): 7137–7140.
- Long GV, Stroyakovskiy D, Gogas H, Levchenko E, de Braud F, Larkin J, et al. Combined BRAF and MEK inhibition versus BRAF inhibition alone in melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371(20): 1877–1888.
- Flaherty KT, Robert C, Hersey P, et al. Improved survival with MEK inhibition in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2012; 367(2): 107–114.
- Larkin J, Ascierto PA, Dreno B, et al. Combined vemurafenib and cobimetinib in BRAF-mutated melanoma. *N Engl J Med*. 2014; 371(20): 1867–1876.
- Ascierto PA, McArthur GA, Dreno B, et al. Cobimetinib combined with vemurafenib in advanced BRAF(V600)-mutant melanoma (coBRIM): updated efficacy results from

a randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17(9): 1248–1260.

16. Manzano JL, Layos L, Buges C, et al. Resistant mechanisms to BRAF inhibitors in melanoma. *Ann Transl Med.* 2016; 4(12): 237.

17. Dummer R, Flaherty KT. Resistance patterns with tyrosine kinase inhibitors in melanoma: new insights. *Curr Opin Oncol.* 2012; 24(2): 150–154.

18. Fedorenko IV, Smalley KS. The complexity of microenvironment-mediated drug resistance. *Genes Cancer.* 2015; 6(9-10): 367–368.

19. Paraiso KH, Xiang Y, Rebecca VW, et al. PTEN loss confers BRAF inhibitor resistance to melanoma cells through the suppression of BIM expression. *Cancer Res.* 2011; 71(7): 2750–2760.

20. Trunzer K, Pavlick AC, Schuchter L, et al. Pharmacodyna-

mic effects and mechanisms of resistance to vemurafenib in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol.* 2013; 31(14): 1767–1774.

21. Straussman R, Morikawa T, Shee K, et al. Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature.* 2012; 487(7408): 500–504.

22. Smalley KS, Lioni M, Dalla Palma M, et al. Increased cyclin D1 expression can mediate BRAF inhibitor resistance in BRAF V600E-mutated melanomas. *Mol Cancer Ther.* 2008; 7(9): 2876–2883.

23. Martin CA, Cullinane C, Kirby L, et al. Palbociclib synergizes with BRAF and MEK inhibitors in treatment naive melanoma but not after the development of BRAF inhibitor resistance. *Int J Cancer.* 2017.

24. Achkar T, Tarhini AA. The use of immunotherapy in the treatment of melanoma. *J Hematol Oncol.* 2017; 10(1): 88.

25. Kang SP, Gergich K, Lubiniecki GM, et al. Pembrolizumab KEYNOTE-001: an adaptive study leading to accelerated approval for two indications and a companion diagnostic. *Ann Oncol.* 2017; 28(6): 1388–1398.

26. Wolchok JD, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, et al. Overall Survival with Combined Nivolumab and Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med.* 2017; 377(14): 1345–1356.

27. Hu-Lieskova S, Mok S, Homet Moreno B, et al. Improved antitumor activity of immunotherapy with BRAF and MEK inhibitors in BRAF(V600E) melanoma. *Sci Transl Med.* 2015; 7(279): 279ra41.