

Immunoterapia w rakach głowy i szyi

Immunotherapy for head and neck cancer

Mirosław J. Szczepański^{1,2,3}, Theresa L. Whiteside¹

¹Immunologic Monitoring and Cellular Products Laboratory at the University of Pittsburgh Cancer Institute, Pittsburgh, Pennsylvania, USA

²Katedra i Klinika Otolaryngologii i Onkologii Laryngologicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³Zakład Immunologii Katedry Immunologii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Immunoterapia raków głowy i szyi jest nowym, obiecującym sposobem leczniczym, które znajduje zastosowanie głównie w leczeniu resztkowych chorób nowotworowych. Pięcioletnie przeżycia chorych wynoszą mniej niż 50% i dane te nie zmieniły się od ponad 30 lat. Dodatkowo, u chorych na raka głowy i szyi występuje zjawisko głębokiej immunosupresji, co może być przyczyną braku kontroli układu immunologicznego gospodarza nad progresją nowotworu. Celem immunoterapii jest odwrócenie immunosupresji indukowanej przez nowotwór i aktywowanie odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko antygenom związanym z nowotworami, ulegającym ekspresji na komórkach rakowych. Aby osiągnąć powyższy cel, stosuje się wiele strategii immunoterapeutycznych, np. transfer autologicznych komórek dendrytycznych, adoptywny transfer limfocytów T i komórek NK, terapie genowe, podaż peptydów nowotworowych, cytokin, a także przeciwciał. Szczepionki przeciwnowotworowe, w ścisłym tego słowa znaczeniu, stanowią jedną z form aktywnej immunoterapii. Opracowanie optymalnej immunoterapii zastosowanej wraz z konwencjonalnym leczeniem może znacznie poprawić czas przeżycia chorych na raka głowy i szyi. Większość immunoterapii stosowanych obecnie w rakach głowy i szyi jest w I lub II fazie badań klinicznych. W artykule omówiono podstawy teoretyczne immunoterapii, strategie, zaawansowanie badań klinicznych, a także trudności związane z tym podejściem terapeutycznym.

Słowa kluczowe: immunoterapia, szczepionki przeciwnowotworowe, raki głowy i szyi.

Abstract

Immunotherapy is a new approach to treatment of patients with head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC), which is most effective in patients with minimal residual disease. Only 50% of these patients treated with conventional therapies achieve five-year survival. Further, HNSCC patients are immunosuppressed and thus unable to control tumor progression. The goal of immunotherapy is to reverse the suppressive effects induced by the tumor, and to activate anti-tumor response directed against tumor-associated antigens (TAA) expressed by tumor cells. Current immunotherapies for head and neck cancer utilize many strategies to achieve these goals, i.e., transfer of autologous dendritic cells, adoptive transfer of T cells or NK cells, gene therapy, tumor derived proteins, cytokines and monoclonal antibodies. Anti-tumor vaccines represent one form of immunotherapy. Developing of optimal immunotherapy for HNSCC used along with conventional treatments may improve patients' overall survival. Most of the currently used anti-cancer vaccines for HNSCC are in phase I/II clinical trials. This review briefly describes a theoretical basis for immunotherapy, immunotherapeutic strategies currently being in clinical trials, as well as hurdles to successful immunotherapy in HNSCC patients.

Key words: immunotherapy, anti-cancer vaccines, head and neck cancer.

(Postępy w chirurgii głowy i szyi 2009; 3: 45–55)



Wprowadzenie

Raki głowy i szyi (*head and neck squamous cell carcinoma* – HNSCC) zajmują 6. miejsce pod względem częstości występowania wśród nowotworów u ludzi. Ponad 90% tych guzów jest pochodzenia nabłonkowego, dlatego – mówiąc o nowotworach tego regionu – mamy na myśli przede wszystkim raki. W Stanach Zjednoczonych diagnozuje się corocznie ponad 44 tys. nowych zachorowań na HNSCC [1, 2]. W Polsce każdego roku odnotowuje się ponad 7 tys. nowych zachorowań i ok. 3,5 tys. zgonów z powodu tego raka. Głównym nowotworem w polskiej populacji jest rak krtani [3, 4].

Pięcioletnie przeżycie chorych na HNSCC wynosi poniżej 50% i odsetek ten nie zmienił się na przestrzeni ostatnich kilku dekad, mimo postępów w metodach wczesnej diagnostyki, technik chirurgicznych i leczeniu uzupełniającym [5]. Główne przyczyny tej niezadowolającej statystyki wynikają z nawrotów choroby, przerzutów do lokalnych węzłów chłonnych i występowania wtórnych pierwotnych nowotworów tego regionu [6]. Wydaje się więc, że leczenie chirurgiczne połączone z radioterapią i chemioterapią nie jest odpowiedzią na pytanie o skuteczne leczenie HNSCC. W związku z brakiem przełomu w terapii tego raka nadal poszukuje się nowych metod leczenia uzupełniającego. Jednym z nowatorskich i obiecujących sposobów jest immunoterapia, która znajduje zastosowanie przede wszystkim w leczeniu zmian miejscowych i minimalnych chorobach resztkowych [7].

Termin „aktywna immunoterapia” często stosuje się zamiennie z terminem „szczepionka przeciwnowotworowa”. Jest to o tyle mylące, że w przeciwieństwie do chorób zakaźnych, gdzie szczepienia używa się profilaktycznie, w chorobach nowotworowych szczepienie ma na celu wyleczenie z już istniejącego schorzenia. Należy wspomnieć, że prowadzone są również badania nad profilaktycznymi szczepionkami przeciwnowotworowymi. Najlepszym przykładem może być szczepionka przeciw wirusowi brodawczaka ludzkiego, będącego przyczyną nowotworów szyjki macicy i – jak się okazuje – znacznego odsetka HNSCC.

Szczepionki przeciwnowotworowe leżą w sferze intensywnego zainteresowania badaczy od ponad 20 lat. Za twórcę immunoterapii uznaje się Williama B. Coleya, żyjącego na początku XX w. w Stanach Zjednoczonych. Zauważył on, że u części chorych na nowotwór dochodzi do regresji zmian i wydłużenia czasu przeżycia po przebyciu infekcji spowodowanej przez *Streptococcus pyogenes*. Na podstawie tych obserwacji Coley podawał podskórnie żywe bakterie chorym z różnymi typami nowotworów. Efektem tego była indukcja ostrego stanu zapalnego połączonego z gorączką i w następstwie częściowa regresja zmian nowotworowych. Ten sposób immunoterapii nowotworów,

podobnie jak użycie prątków gruźlicy i *Corynebacterium parvum*, był niczym innym, jak indukcją wstrząsu septycznego w wyniku uwalniania mediatorów ostrego stanu zapalnego. Można sądzić, że przeciwnowotworowy efekt szczepionki Coleya był również wynikiem aktywacji niedawno odkrytych receptorów toll-podobnych (*toll-like receptors* – TLR) [8]. Aktywacja TLR przez produkty pochodzenia bakteryjnego prowadzi m.in. do przyspieszenia dojrzewania komórek dendrytycznych (KD, *dendritic cells*). To z kolei wiąże się ze skuteczniejszym uczuleniem przeciwnowotworowych limfocytów T-cytotoksycznych [9, 10].

Przesłanką do stosowania immunoterapii jest fakt, że odpowiedź immunologiczna gospodarza może być swoiście skierowana przeciwko nowotworowi. Wykazano, że we krwi obwodowej chorych na HNSCC występują nowotworowo swoiste limfocyty T, a także przeciwciała wiążące się z antygenami nowotworowymi [11, 12]. Sugeruje to, że – mimo występowania immunosupresji w przebiegu choroby nowotworowej – układ odpornościowy jest w stanie rozpoznać nowotwór, a odpowiedź immunologiczna może być wzmocniona. Z tych powodów HNSCC mogą być modelem do biologicznej interwencji, szczególnie we wczesnych etapach choroby, kiedy immunosupresja indukowana przez nowotwór nie jest tak nasilona. Dane z piśmiennictwa sugerują również, że gdy nowotwór jest już ustalony, dochodzi do zjawiska głębokiej immunosupresji, którą trudno jest następnie odwrócić [7]. Istotnym elementem immunoterapii okazuje się identyfikacja tzw. antygenów związanych z nowotworami (*tumor associated antigens* – TAA). Ostatnio odkryto wiele nowych TAA, a ich obecność w komórkach nowotworowych daje teoretyczną podstawę do wytworzenia swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej gospodarza [13]. Duże zainteresowanie w immunoterapii HNSCC budzą takie TAA, jak: CASP-8, CEA, MAGE, p53, EGFR, ALDH1A1 i CSPG4 [14, 15, dane nieopublikowane].

Większość immunoterapii prowadzonych obecnie w HNSCC jest w I/II fazie badań klinicznych. Na tych etapach badań ocenia się bezpieczne dawki szczepionek i wstępne wyniki odpowiedzi klinicznej chorych. Dotychczas immunoterapia nie przyniosła przełomu w leczeniu chorób nowotworowych [16]. Wynika to przede wszystkim z immunosupresji indukowanej przez nowotwór i braku optymalnych TAA. Intensywnie prowadzone badania dają jednak dużą nadzieję, a immunoterapia wydaje się najbardziej skuteczna w leczeniu chorób resztkowych i kontrolowaniu przerzutów nowotworu do węzłów chłonnych [7]. Pozostaje więc pytanie, dlaczego układ immunologiczny, który sprawnie chroni gospodarza przed chorobami infekcyjnymi, nie jest w stanie efektywnie zwalczyć choroby nowotworowej. Prowadzi ono do wielu dyskusji naukowych i klinicznych.



W artykule omówiono zaawansowanie badań klinicznych w immunoterapii HNSCC, a także przeszkody napotymane przy tym podejściu terapeutycznym.

Immunosupresja w przebiegu nowotworów

Wiele obserwacji przemawia za istotnym udziałem układu immunologicznego w odporności przeciwnowotworowej. Od dawna znany jest fakt, że w przebiegu HNSCC występuje zjawisko osłabienia odpowiedzi immunologicznej (immunosupresja), a w szczególności odpowiedzi typu komórkowego [7, 17]. Raki głowy i szyi, a także inne nowotwory wytworzyły wiele mechanizmów pozwalających im uniknąć odpowiedzi immunologicznej gospodarza (*immune escape*) [18–21]. Okazuje się również, że najbardziej agresywne i klinicznie zaawansowane nowotwory indukują najsilniejszą immunosupresję. Brak dotychczas przełomu w immunoterapii HNSCC może być spowodowany m.in. tymi zjawiskami [7].

Najważniejszymi komórkami w zwalczaniu nowotworu są limfocyty T-cytotoksyczne (Tc) (*cytotoxic T cells*) CD8+ i wspomagające je limfocyty T-pomocnicze (Th) (*helper T cells*) CD4+. Wiele danych z piśmiennictwa potwierdza, że nowotwór bezpośrednio hamuje przeciwnowotworową odpowiedź komórek T, używając do tego celu wielu mechanizmów. Nowotwór realizuje efekt immunosupresyjny poprzez produkcję cytokin, np. prostaglandyny E2 (PGE2), interleukiny 10 (IL-10), IL-6 i transformujący czynnik wzrostu β (*transforming growth factor β* – TGF- β 1) [22–25]. Stwierdzono również, że u chorych na HNSCC dochodzi do zwiększonej apoptozy limfocytów T w mechanizmie Fas-FasL-zależnym [26–28]. Dodatkowo, HNSCC produkują i wydzielają do mikrośrodowiska nowotworu i krwi obwodowej tzw. egzosomy (*microvesicles* – MV), które są nośnikiem białek immunosupresyjnych i proapoptotycznych [26, 29, 30]. Innym mechanizmem używanym przez HNSCC w indukowaniu immunosupresji jest hamowanie dojrzewania KD, które odgrywają kluczową rolę w prezentacji antygenów nowotworowych limfocytom T i w ich uczulaniu [31]. Kolejnym, bardzo istotnym sposobem ucieczki guza spod kontroli układu immunologicznego jest „ściągnięcie” do mikrośrodowiska raka komórek immunologicznych o silnym potencjale immunosupresyjnym. Należą do nich mieloidalne komórki supresyjne (*myeloid derived suppressor cells* – MDSC) i limfocyty T-regulatorowe (*regulatory T cells* – Treg) [32, 33]. Dodatkowo, nowotwór „ukrywa” własne antygeny i staje się częściowo niewidoczny dla układu odpornościowego, a w szczególności dla limfocytów T-cytotoksycznych [34, 35]. Aby nowotwór mógł być rozpoznany przez limfocyty T, musi on prezentować na powierzchni komórki własne antygeny w komplek-

sie z białkami głównego układu zgodności tkankowej klasy I (*human leukocyte antigens* – HLA). Stwierdzono, że w komórkach nowotworowych dochodzi do zaburzeń mechanizmów prezentacji antygenów, co manifestuje się obniżoną ekspresją m.in. białek TAP1/TAP2 i HLA klasy I [35]. Nowotwór wykazuje również obniżoną ekspresję cząsteczek kostymulujących na powierzchni, co również jest niezbędne do prawidłowej aktywacji limfocytów cytotoksycznych [36]. W związku z immunosupresyjnymi cechami HNSCC, immunoterapia stosowana jako leczenie uzupełniające z dużym prawdopodobieństwem może zakończyć się sukcesem. Warunkiem tego sukcesu wydaje się jednak konieczność wcześniejszego usunięcia głównego „źródła” immunosupresji, czyli guza. Zastosowana w kolejnym etapie leczenia immunoterapia może poprawić czynność komórek immunologicznych i w rezultacie wytworzyć skuteczną odpowiedź przeciwnowotworową w celu zniszczenia choroby resztkowej [37]. Na ryc. 1. zilustrowano mechanizmy używane przez nowotwór w celu wywołania immunosupresji i ucieczki spod nadzoru układu odpornościowego.

Antygeny związane z nowotworami

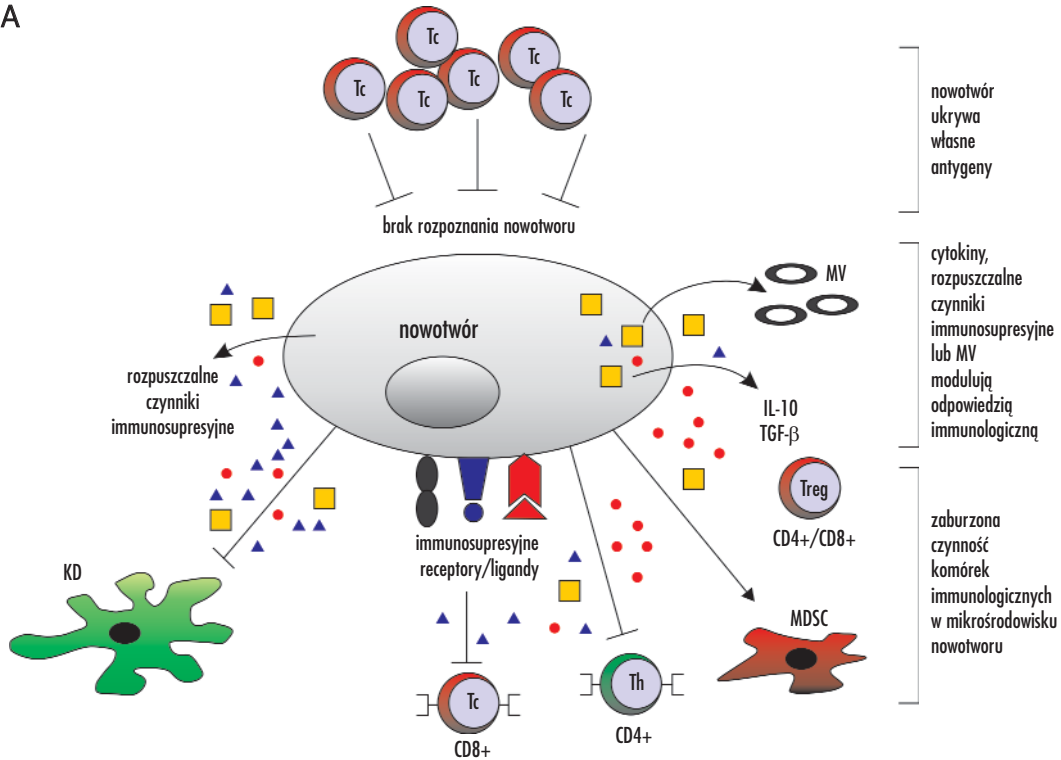
Bardzo istotnym elementem immunoterapii jest identyfikacja wcześniej wspomnianych TAA. Nowotwory głowy i szyi, podobnie jak inne raki, wykazują ekspresję pewnych antygenów, które mogą być swoiście rozpoznane przez limfocyty T. Dotychczas wiele takich antygenów scharakteryzowano przy użyciu metod biochemicznych, genetycznych, a także bioinformatycznych. Do najważniejszych metod zalicza się:

- 1) elucję antygenów nowotworowych z kompleksu HLA na powierzchni guza i ich charakteryzację [38],
- 2) bioinformatyczną predykcję potencjalnych antygenów nowotworowych, które mogą być zakotwiczone w rowku białek HLA klasy I lub II [39, 40],
- 3) metody serologiczne połączone z technikami klonowania antygenów (np. metoda SEREX) [41],
- 4) metody genetyczne z użyciem bibliotek cDNA nowotworów i następnie sprawdzanie transfekowanych komórek na możliwość stymulowania limfocytów CD8+ [42].

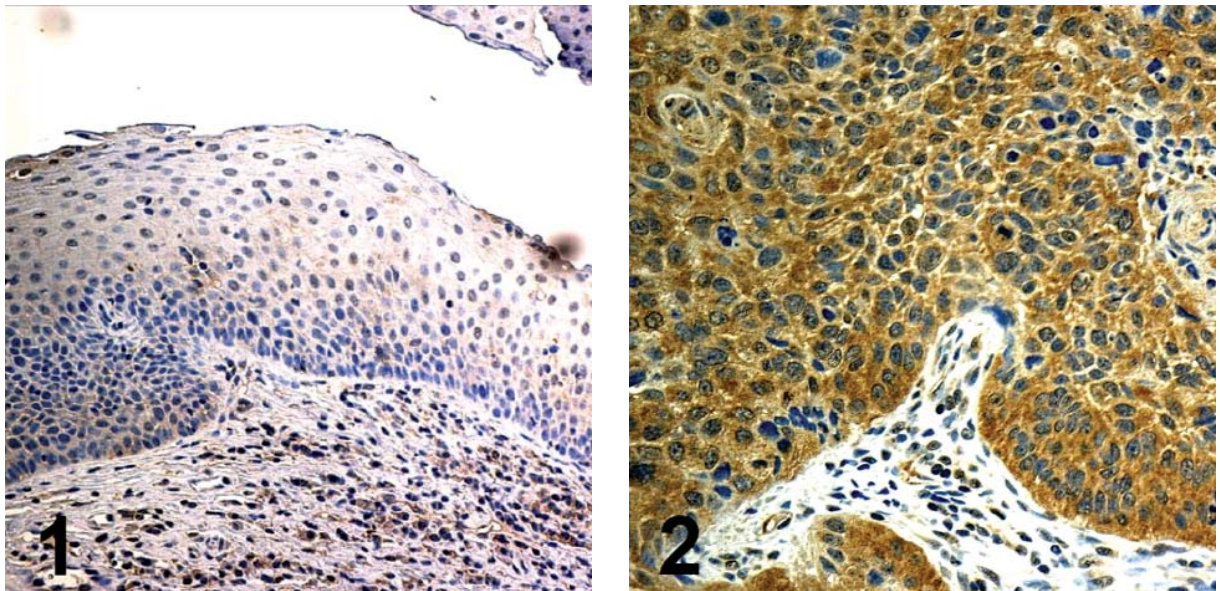
Optymalny TAA powinien być niefunkcyjnym białkiem, ulegającym ekspresji wyłącznie w komórkach nowotworowych, który w dodatku powinien wykazywać cechy antygenowości i immunogenności. Większość poznanych TAA daleko odbiega jednak od ideału. Antygeny związane z nowotworami są krótkimi sekwencjami aminokwasowymi (długości ok. 8–11 aminokwasów), które powstają w wyniku biochemicznej obróbki białek występujących w komórkach nowotworowych [14]. Mogą one być prezentowane limfocytom T przez same komórki nowotworowe. Mechanizm ten jest jednak niekorzystny z punktu



A



B



Ryc. 1. Mechanizmy ilustrujące ucieczkę nowotworu spod kontroli układu immunologicznego. A) Nowotwór indukuje supresję układu immunologicznego, eliminację immunologicznych komórek cytotoksycznych, a także ukrywa własne antygeny przed układem odpornościowym (wg Whiteside [71], zmodyfikowane). B) Reakcja immunohistochemiczna na obecność TGF-β1. B1) zdrowa błona śluzowa jamy ustnej, słabo dodatnia reakcja immunohistochemiczna na części komórek (100×), B2) rak krtani, silna dodatnia reakcja (400×). Jądra komórkowe wykontrastowano hematoksyliną
 MV – microvesicles, KD – komórka dendrytyczna, Treg – limfocyt T-regulatorowy, Tc – limfocyt T-cytotoksyczny, Th – limfocyt T-pomocniczy, MDSC – mieloidalna komórka supresyjna, ⊥ efekt hamujący



widzenia nowotworu i najprawdopodobniej takie komórki nowotworowe są niszczone przez układ odpornościowy jako jedne z pierwszych. Antygeny związane z nowotworami są również pobierane z mikrośrodowiska nowotworu przez KD, należące do komórek profesjonalnie prezentujących antygeny (*antigen presenting cells* – APC). Komórki dendrytyczne mają na powierzchni antygeny zgodności tkankowej klasy I i II (HLA klasy I i II), tworzące kompleks z TAA [34]. Następnie w węzłach chłonnych kompleks HLA–TAA uczula, w sposób klasyczny lub w mechanizmie prezentacji (*cross-presentation*), limfocyty T na obecność antygenów nowotworowych [7]. Uczulanie limfocytów na obecność nowotworu odbywa się podobnie jak w przebiegu chorób infekcyjnych, z tą jednak różnicą, że w przypadku procesu nowotworowego uczulone limfocyty niejednokrotnie nie są w stanie rozpoznać nowotworu ze względu na obniżoną ekspresję białek HLA na komórkach rakowych. W związku z tym, mimo że chory ma limfocyty T-cytotoksyczne nowotworowoswoiste, są one bezużyteczne. Okazuje się również, że jedynie niewielka część TAA jest charakterystyczna wyłącznie dla komórek nowotworowych, a dodatkowo są one słabo immunogenne. Większość zdefiniowanych TAA służących jako cel ataku układu immunologicznego są niezmiennymi lub w niewielkim stopniu zmienionymi własnymi białkami, ulegającymi zwiększonej ekspresji w komórkach nowotworowych. Z tego powodu przy planowaniu immunoterapii bardzo istotne jest ominięcie zjawiska tolerancji na własne antygeny, bez jednoczesnego wyindukowania chorób autoimmunizacyjnych [43, 44]. Wśród obiecujących TAA wymienia się m.in.: antygen MAGE, białko p53, cyklinę B1, SART-1, SART-3, surniwinę, antygeny pochodzenia nabłonkowego, takie jak HER-2 (EGF-R), CEA i MUC-1 [7, 14, 45]. Prawie wszystkie kryteria stawiane optymalnym TAA spełniają białka E6 i E7 wirusa brodawczaka ludzkiego (*human papilloma virus* – HPV). Dodatkowo, E6 i E7 ulegają ekspresji w komórkach nowotworowych u chorych na HNSCC HPV+, stanowiących ok. 25% wszystkich HNSCC [46], a wg opublikowanych ostatnio danych na stronach internetowych *American Association for Cancer Research* (AACR) (<http://www.aacr.org>) nawet 50–60%.

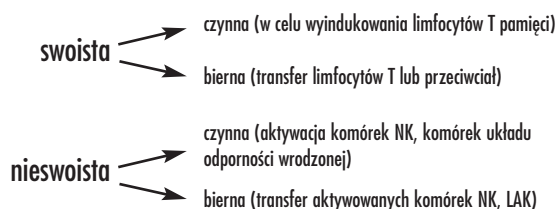
W laboratorium autorów niniejszej pracy prowadzi się intensywne badania nad immunoterapią skierowaną przeciwko TAA, które ulegają ekspresji na komórkach macierzystych nowotworów (*cancer stem cells* – CSC). Do antygenów tych należą enzym dehydrogenaza aldehydowa 1A1 (ALDH1A1) i powierzchniowe białko CSPG4 (*chondroitin sulphate proteoglycan 4*). Jedną z najnowszych teorii wyjaśniających przyczyny niepowodzeń terapii onkologicznych jest teoria CSC. Według niej jedynie niewielka populacja komórek nowotworowych ma potencjał nowotworzenia i samood-

nowy. Właśnie te komórki są odporne na konwencjonalnie stosowaną radioterapię i chemioterapię, ale można przeciwko nim wytworzyć swoistą odpowiedź immunologiczną. Wyniki badań własnych na modelu mysim HNSCC (dane przygotowane do publikacji) są obiecujące i pokazują możliwość wytworzenia skutecznej łączonej immunoterapii opartej na adoktywnym transferze limfocytów T skierowanych przeciw ALDH1A1, przeciwciałach monoklonalnych skierowanych przeciwko CSPG4 w połączeniu z małą dawką chemioterapii, która ma za zadanie zniszczyć unaczynienie guza.

Formy immunoterapii nowotworów

Immunoterapia nowotworów może być podzielona w zależności od sposobu aktywacji układu odpornościowego. Można tu wyróżnić immunoterapię: bierną, czynną, swoistą i nieswoistą [7]. W immunoterapii czynnej efekt leczniczy uzyskuje się poprzez pobudzenie układu immunologicznego, podając choremu odpowiednio zmodyfikowane antygeny nowotworowe (TAA, martwe komórki nowotworowe lub lizaty z komórek nowotworowych) [47, 48]. W immunoterapii biernej podaje się odpowiednio zmodyfikowane przeciwciała skierowane przeciw antygenom nowotworowym, nowotworowoswoiste limfocyty lub cytokiny [49]. Immunoterapia swoista oznacza natomiast wytworzenie swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej chorego w sposób czynny lub bierny. Część szczepionek opiera się na równoległej aktywacji układu immunologicznego w sposób bierny lub czynny [50]. Szczepionki przeciwnowotworowe, w ścisłym tego słowa znaczeniu, reprezentują jedną z form czynnej swoistej immunoterapii (ryc. 2.).

W odpowiedzi immunologicznej gospodarza na obecność nowotworu bierze udział wiele składowych układu odpornościowego. Najważniejszą rolę przeciwnowotworową przypisuje się jednak odpowiedzi swoistej mediowanej przez limfocyty Tc [7]. Obok komórek T, ważną funkcję pełnią również komórki APC i NK (*natural killers*), które mają zdolność do rozpoznania i zniszczenia komórek nowotworowych bez wcześniejszego uczulenia [51]. Stosowanie różnych form immunoterapii ma na celu przede wszystkim aktywację wymienionych komórek, tak aby ich



Ryc. 2. Schemat przedstawiający sposoby immunoterapii w przebiegu nowotworów



Tabela 1. Immunoterapia HNSCC – badania kliniczne*

Rodzaj immunoterapii	Faza
bierna nieswoista:	
IRX-2® mieszanka cytokin podawanych w okolicę guza i węzłów chłonnych	II
GM-CSF (Filgrastim®) + RT/CHT	II
autologiczne komórki NK aktywowane IL-2	I
bierna swoista:	
przeciwciało anti-EGFR ± RT/CHT	II
przeciwciało anti-EGFR ± inhibitor kinazy tyrozynowej EGFR	I
przeciwciało anti-IL-6 (CNTO 328)	I/II
autologiczne limfocyty T EBV-swoiste + przeciwciało anti-CD45	I
autologiczne limfocyty T EBV-swoiste + przeciwciało anti-CD45 u chorych ze wznową raka nosogardła	I
autologiczne limfocyty T LMP1/LMP2-swoiste	I
autologiczne limfocyty T EBV-swoiste	I
autologiczne limfocyty T EBV-swoiste ± CHT	II
czynna nieswoista:	
śródguzowe podanie wirusa PV701	I
śródguzowe podanie wirusa Coxsackie	I
śródguzowe podanie wirusa wDD-CDSR	I
czynna swoista:	
peptydy MAGE-A3/HPV-16	II
peptydy wirusa EBV: LMP-2:340-349 i LMP-2:419-427	I/II
peptyd wirusa EBV: LMP-2	I
autologiczne KD transfekowane DNA z guza	I/II
autologiczne KD podawane śródguzowo	I
autologiczne KD pulsowane zmutowanym białkiem p53	I
antygeny bakteryjne (MBV) u chorych na raka wykazujące ekspresję NY-ESO-1	I
terapia genowa:	
śródguzowe podanie genu dla IL-2 + CHT	II
śródguzowe podanie genu dla IL-12	I/II
rekombinowana szczepionka z genem dla GM-CSF	I
wirus ptasiej ospy z genem kodującym cząsteczki kostymulujące B7-1, ICAM-1 i LFA-3	I
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> z genem dla antygeny CEA	I
plazmid z genami kodującymi HLA-B i β2 mikroglobulinę	I
inne:	
tadalafil – lek immunomodulujący	II
SCV-07 – peptyd immunomodulujący	II

* Obecnie prowadzone próby kliniczne w immunoterapii HNSCC (06.2009). Wybrane badania realizowane są głównie na terenie Stanów Zjednoczonych, ale nie tylko. Badania finansowane są z grantów naukowych lub przez koncerny farmaceutyczne. Część wymienionych immunoterapii stosuje się także w leczeniu innych niż HNSCC nowotworów litych. Informacje uzyskano z bazy danych na stronie internetowej NIH (<http://www.clinicaltrials.gov>) po wprowadzeniu hasła do wyszukiwania: „immune, head and neck cancer”. Wykluczono z wyszukiwań immunoterapię w rakach tarczycy, przełyku, rozrostach nowotworowych układu chłonnego, nowotworów mózgu i gałki ocznej. W Polsce są obecnie rekrutowani chorzy do II fazy badań klinicznych oceniających skuteczność przeciwciał anti-EGFR + RT w leczeniu HNSCC

RT – radioterapia, CHT – chemioterapia, GM-CSF – czynnik stymulujący tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów, IL – interleukina, EGFR – receptor naskórkowego czynnika wzrostu, EBV – wirus Epsteina-Barr, MAGE – human melanoma antigen, CEA – antygen kanceroembrionalny, ICAM-1 – intracellular adhesion molecule 1, LFA-3 – lymphocyte function-associated antigen 3

czynność była wzmocniona i swoiście skierowana przeciwnowotworowo.

W tab. 1. zestawiono przykłady immunoterapii HNSCC, będące w trakcie badań klinicznych. Dane o aktualnie prowadzonych badaniach uzyskano ze strony internetowej Narodowego Instytutu Zdrowia Stanów Zjednoczonych (*National Institute of Health* – NIH) (<http://www.clinicaltrials.gov>).

Immunoterapia w rakach głowy i szyi

Jak wcześniej wspomniano, HNSCC należą do nowotworów powodujących wyjątkowo silny efekt immunosupresyjny. W związku z tym immunoterapia na obecnym etapie powinna być traktowana jako leczenie uzupełniające, które ma na celu zwalczanie choroby resztkowej i kontrolowanie przerzutów nowotworowych do węzłów chłonnych [7]. Do stosowania



immunoterapii w HNSCC zachęca stosunkowo łatwa dostępność do nowotworu, a także węzłów chłonnych tego regionu [52], co wynika z ich anatomicznej lokalizacji. Stwarza to wyjątkową możliwość wykorzystania lokalnej immunoterapii oraz łatwej oceny zmian w środowisku nowotworu i węzłów chłonnych zarówno przed leczeniem, jak i po leczeniu [7].

Terapia peptydami/białkami nowotworowymi

Nowe możliwości terapeutyczne stwarza terapia antygenami nowotworowymi. Odpowiednio zaprojektowane peptydy, po podaniu choremu, mogą połączyć się z białkami HLA klasy I lub II na komórkach APC. Następnie kompleks ten pobudza powstanie odpowiedzi przeciwnowotworowej poprzez indukowanie limfocytów Th lub Tc. W fazie badań klinicznych dotyczących HNSCC znajdują się obecnie szczepionki zawierające takie białka, jak MAGE-A3, wirusa HPV-16 E7 i p53. Szczepionki peptydowe są bezpieczne i proste w produkcji na dużą skalę. Ograniczeniem stosowania szczepionek peptydowych, oprócz trudności w znalezieniu najbardziej optymalnego TAA, jest dobór chorego z odpowiednim układem alleli HLA-A2. W związku z tym szczepionki peptydowe wykazują stosunkowo słabą immunogenność w porównaniu ze szczepionkami opartymi np. na wektorach wirusowych. Z kolei zaletą tego rodzaju terapii jest możliwość monitorowania swoistej odpowiedzi immunologicznej chorego poddanego szczepieniu. W większości przypadków odpowiedź immunologiczna chorego nie koreluje jednak z odpowiedzią kliniczną [7, 14].

Terapia komórkami dendrytycznymi

Słaba immunogenność szczepionek zawierających tylko peptydy/białka pochodzące z nowotworu doprowadziła do opracowania szczepionek opartych na autologicznych KD chorego, które obładowane są peptydami nowotworowymi, lizatami z komórek nowotworowych lub DNA pochodzącym z nowotworu. Tak przygotowane KD podaje się choremu w iniekcji pod kontrolą ultrasonografii do węzłów chłonnych lub nawet w naczynia limfatyczne. W węzłach chłonnych dochodzi do uczulania limfocytów T i wytworzenia swoistej odpowiedzi przeciwnowotworowej.

Na Uniwersytecie w Pittsburghu bada się szczepionki oparte na autologicznych KD inkubowanych z napromieniowanymi komórkami nowotworowymi chorego lub obładowanych białkiem p53. Chociaż immunoterapia oparta na KD może być skuteczniejsza od immunoterapii tylko peptydami nowotworowymi, metoda ta ma również pewne ograniczenia. Dotyczą one przede wszystkim restrykcji HLA prezentowanego TAA, braku optymalnego

TAA, szybkiego „obrotu” egzogennych antygenów, a także indukowania limfocytów Treg [7, 14].

Terapia przeciwciałami monoklonalnymi

Bardzo obiecującym wariantem immunoterapii HNSCC jest leczenie przy użyciu odpowiednio zmodyfikowanych przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciwko receptorowi naskórkowego czynnika wzrostu (*epidermal growth factor receptor* – EGFR) [53, 54]. Stwierdzono, że EGFR ulega zwiększonej ekspresji u ponad 90% chorych na HNSCC [55]. Dwa preparaty – cetuksymab i panitumumab – zostały dopuszczone przez Agencję ds. Żywności i Leczenia (*Food and Drug Administration* – FDA) do badań klinicznych w Stanach Zjednoczonych. Na Uniwersytecie w Pittsburghu, a także w innych ośrodkach, preparaty te są w trakcie badań klinicznych (fazy I–III), w połączeniu z chemioterapią cisplatyną i radioterapią. W Polsce również rekrutuje się chorych do tej immunoterapii. Wykazano, że średni czas 3-letnich przeżyć chorych wynosi ok. 76% [56]. Istnieje kilka mechanizmów immunologicznych, dzięki którym terapia tymi przeciwciałami daje obiecujące wyniki. Po pierwsze, po przyłączeniu się przeciwciał do EGFR na komórce nowotworowej następuje hamowanie transdukcji sygnału mediowanego przez EGF i zahamowanie wzrostu guza. Po drugie, dochodzi do zaangażowania odpowiedzi immunologicznej przeciwnowotworowej w wyniku aktywacji białek układu dopełniacza, aktywacji cytotoksyczności zależnej od przeciwciał (*antibody dependent cellular cytotoxicity* – ADCC), indukowania swoistych limfocytów cytotoksycznych. Dodatkowo, przeciwciała te mogą służyć jako bardzo precyzyjne nośniki dla chemioterapeutyków (podsumowano w [14]).

Terapia przy użyciu komórek „natural killers”

Po raz kolejny komórki NK wzbudziły duże zainteresowanie w immunoterapii nowotworów. Jest to efekt poznania nowych mechanizmów regulacji czynności cytotoksycznej tych komórek. W ostatniej dekadzie odkryto nowe receptory aktywujące i hamujące czynności komórek NK. Jak podano w tab. 1., obecnie prowadzone są badania kliniczne fazy I z użyciem autologicznych komórek NK aktywowanych *ex vivo* za pomocą IL-2.

Terapia przy użyciu cytokin

Kolejne możliwości immunoterapeutyczne HNSCC niosą ze sobą cytokiny, które mogą być zastosowane w leczeniu lokalnym, jak i systemowym. Hadden i wsp. używali do immunoterapii HNSCC koktajlu cytokin (IRX-2®), które są produkowane przez leukocyty krwi



obwodowej zdrowych dawców, aktywowane mitogenami i fitohemaglutyniną. W immunoterapii tej oryginalne jest to, że stosuje się ją lokalnie w okolicę węzłów chłonnych spływu jeszcze przed planowanym zabiegiem chirurgicznym i leczeniem uzupełniającym. Głównym efektem działania IRX-2 jest mobilizacja i silna aktywacja limfocytów T w mikrośrodkowisku raka i węzłach chłonnych. Cytokiny IRX-2 przeszły obecnie przez I i II fazę badań klinicznych, gdzie wykazano odpowiedź kliniczną chorych, a także minimalny efekt cytotoksyczny [57–60]. Dodatkowo, chroni ona limfocyty T przed apoptozą indukowaną przez nowotwór, a także przyspiesza dojrzewanie KD [61, 62]. W trakcie badań klinicznych jest również immunoterapia uwzględniająca podawanie czynnika wzrostu GM-CSF (tab. 1.).

Terapia genowa

W immunoterapii są używane kwasy nukleinowe w postaci DNA/RNA. Ich zaletą jest stosunkowo łatwa produkcja, a także małe ryzyko wystąpienia powikłań u pacjentów chorych na nowotwór, będących wyjściowo w stanie głębokiej immunosupresji. Podanie DNA/RNA niesie ze sobą informację kodującą TAA i po wbudowaniu się w komórki gospodarza dochodzi do syntezy tych białek. Słabą stroną terapii opartej na DNA jest fakt, że wywołuje ona względnie słabą odpowiedź immunologiczną. Zdecydowanie silniejszą odpowiedź immunologiczną wywołują szczepionki zawierające plazmidowy DNA [63]. W immunoterapii HNSCC stosuje się również geny kodujące określone cytokiny. Jak podano w tab. 1., w trakcie badań klinicznych są testowane immunoterapie oparte na genach dla IL-2, IL-12, GM-CSF, CEA lub białkach HLA i cząsteczkach kostymulujących.

Terapia adoptywna z zastosowaniem swoistych nowotworowo limfocytów T

Na modelu zwierzęcym wykazano, że nowotworowo-swoiste limfocyty T mogą skutecznie odrzucić nawet słabo immunogenne nowotwory i wytworzyć pamięć immunologiczną [7, 64]. Wymienione powyżej sposoby immunoterapii mogą powodować silną stymulację swoistych nowotworowo limfocytów Tc *in vivo* u chorych poddanych szczepieniu. Nie oznacza to jednak, że duża liczba komórek Tc koreluje z obecnością aktywnych komórek efektorowych w mikrośrodkowisku nowotworu [65], co jest wynikiem skutecznej eliminacji przez nowotwór uczulonych *in vivo* komórek Tc. Problem ten może zostać częściowo ominięty poprzez adoptywny transfer uczulonych *ex vivo* komórek Tc. Immunoterapia adoptywna z użyciem limfocytów Tc ma najszersze zastosowanie w przypadku leczenia raków HNSCC HPV+. Obecnie kilkanaście projektów

immunoterapeutycznych opartych na adoptywnym transferze HPV-swoistych limfocytów Tc jest w trakcie badań klinicznych (tab. 1.).

Wyzwania i problemy stojące przed immunoterapią raków głowy i szyi

Wprowadzenie do praktyki lekarskiej dwóch profilaktycznych szczepionek przeciw wirusowi HPV (Gardasil MSD i Cervarix GSK) otworzyło nowy rozdział zapobiegania nowotworom szyjki macicy. Mając więc na uwadze, że część HNSCC wiąże się z infekcją HPV, można się spodziewać, że szczepionka ta przyczyni się również do zmniejszenia liczby zachorowań na HNSCC HPV+. Problem ze skutecznością szczepionek przeciwnowotworowych pojawia się, gdy immunoterapia ma za zadanie wyleczyć z procesu nowotworowego, a nie działać profilaktycznie – jak w przypadku wymienionej powyżej szczepionki anty-HPV. Brak pełnej skuteczności immunoterapii HNSCC wynika z mechanizmów wykształconych przez nowotwór, a określonych wspólną nazwą „ucieczka nowotworu spod kontroli układu immunologicznego”. Zaburzenia w prezentacji autoantygenów przez komórki nowotworowe uznaje się za główny mechanizm ucieczki guza. Obniżenie ekspresji białek TAP1/TAP2 i HLA klasy I na komórkach nowotworowych prowadzi do nieefektywnego rozpoznania nowotworu przez limfocyty Tc, które w takiej sytuacji stają się bezużyteczne [66]. Przywrócenie prawidłowej prezentacji antygenów przez komórki nowotworowe np. w wyniku podawania interferonu γ (IFN- γ) może być kluczowe z punktu widzenia immunoterapii, gdyż pozwoli to na rozpoznanie komórek nowotworowych przez Tc [67]. Drugim istotnym problemem stojącym przed immunoterapią jest wypracowanie sposobów eliminacji z mikrośrodkowiska nowotworu komórek układu immunologicznego o silnym potencjale immunosupresyjnym, tj. wcześniej wspomnianych Treg i MDSC, które nowotwór ściąga do swojego mikrośrodkowiska i przy ich użyciu wywołuje immunosupresję. Prowadzone obecnie intensywne badania nad biologią tych komórek, a także nad sposobami i skutkami ich usunięcia z mikrośrodkowiska nowotworu będą miały prawdopodobnie wpływ na poprawę skuteczności immunoterapii [68–70].

Badania dotyczące immunoterapii HNSCC powinny skupiać się nad możliwościami przywrócenia sprawnie działającego układu immunologicznego, przeciwdziałaniu mechanizmów immunosupresji i ucieczki guza spod kontroli układu odpornościowego. Aby uzyskać takie efekty, proponuje się kilka sposobów:

- 1) wygenerowanie komórek CD4+, które wzmocnią odpowiedź przeciwnowotworową i wspomogą cytotoksyczne limfocyty CD8+,
- 2) aktywację elementów odporności wrodzonej poprzez zastosowanie niektórych agonistów receptorów toll-podobnych (*toll-like receptors* – TLR),



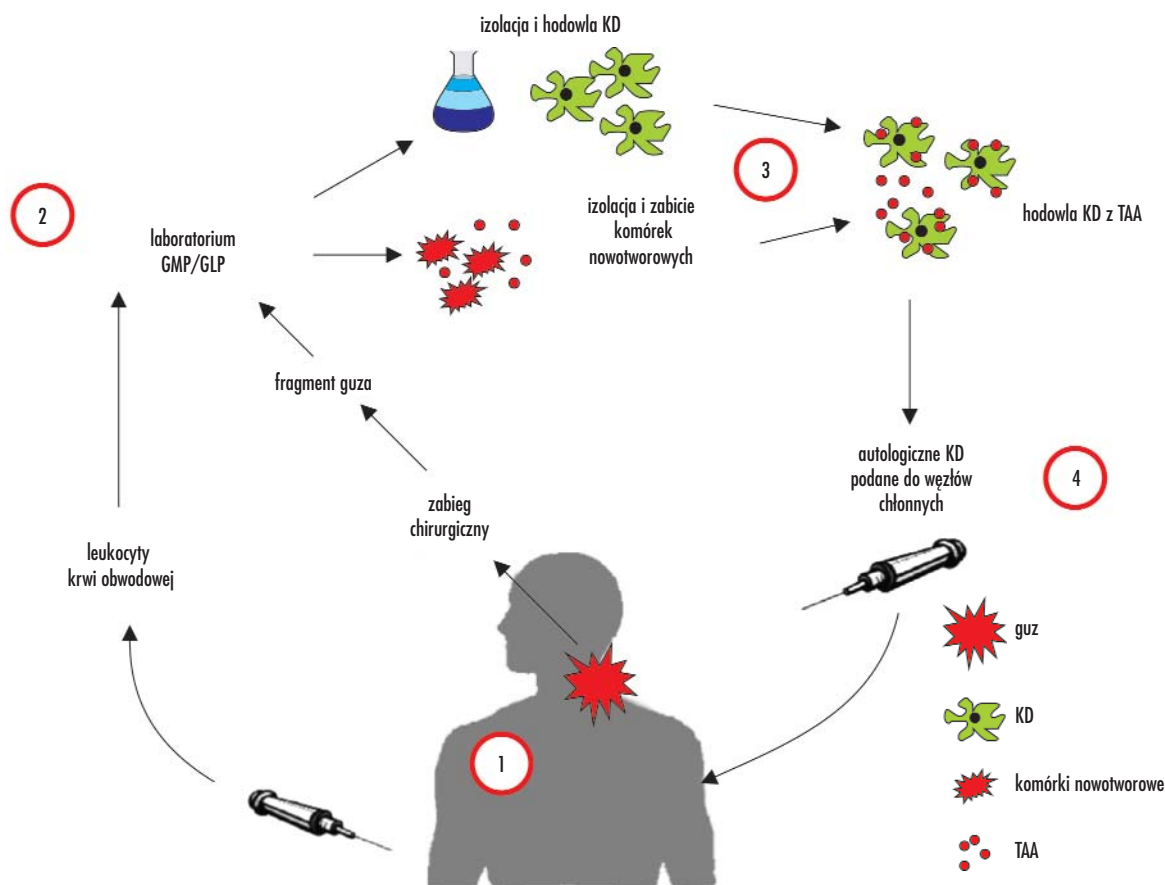
- 3) stymulowanie ostrego stanu zapalnego w mikrośrodowisku raka,
- 4) blokowanie białek ujemnie kostymulujących (np. CTLA-4),
- 5) skuteczną eliminację Treg z mikrośrodowiska nowotworu [65].

Aby stosować na szeroką skalę i następnie oceniać kliniczną skuteczność szczepionek przeciwnowotworowych opartych na adopcywnym transferze autologicznych komórek, potrzebna jest standaryzacja produkcji takich szczepionek. Dodatkowo, należy również wypracować bezpośrednie metody pozwalające na monitorowanie odpowiedzi immunologicznej chorego na stosowaną szczepionkę [7, 65].

Kolejnym ważnym wyzwaniem w immunoterapii HNSCC jest znalezienie optymalnego miejsca podania szczepionki. Wiadomo, że w zależności od drogi podania tego samego antygeny może on wywołać zupełnie różną odpowiedź immunologiczną. Stwierdzono, że podskórne podanie KD wywołuje odpowiedź limfocytów T, natomiast ich podanie dożylnie powoduje brak

takiego efektu. Podejmuje się nawet próby podawania KD bezpośrednio do naczyń limfatycznych. Sposób ten okazuje się dobry, jednak trudności przysparza dostarczanie KD do węzłów chłonnych. Podobna sytuacja występuje w przypadku szczepionek przeciwnowotworowych opartych na wektorach wirusowych. Wywołują one zupełnie inną odpowiedź immunologiczną, gdy podaje się je śródskórnie, podskórnie lub domięśniowo [14, 65]. Dodatkowo, przy planowaniu immunoterapii należy się liczyć z faktem, że przy doborze nieodpowiedniego TAA może dojść do zjawiska autoimmunizacji. Pozostaje więc problem znalezienia sposobów na ominięcie tolerancji immunologicznej na TAA, bez wywołania procesu autoimmunologicznego [7].

Nie należy zapominać również o kosztach związanych z immunoterapią, które zależą przede wszystkim od rodzaju zastosowanej terapii. Najbardziej kosztowna jest immunoterapia oparta na autologicznych produktach komórkowych chorego. W tym przypadku leukocyty i/lub komórki nowotworowe pobiera się od chorego, a po wytworzeniu szczepionki komórki



Ryc. 3. Przykład pokazujący etapy produkcji i zastosowania szczepionki przeciwnowotworowej opartej na autologicznych komórkach dendrytycznych (KD) w HNSCC. 1) Pobranie leukocytów krwi obwodowej i fragmentu guza w trakcie leczniczego zabiegu chirurgicznego. 2) Materiał biologiczny zostaje przesłany do laboratorium spełniającego standardy GMP/GLP. 3) Hodowla autologicznych KD z lizatami z komórek nowotworowych chorego. 4) Przygotowane KD podaje się choremu w iniekcjach do węzłów chłonnych pod kontrolą USG, gdzie dochodzi do swoistego uczulania limfocytów T. Następnie monitoruje się odpowiedź immunologiczną chorego na podaną szczepionkę



immunokompetentne zwraca się choremu. Warto dodać, że koszty immunoterapii nie są większe niż koszty stosowania chemioterapii. Należy również pamiętać, że cały proces produkcji szczepionek i następnie monitorowania chorych po szczepieniu może odbywać się jedynie w laboratoriach spełniających światowe normy, tzw. dobrej praktyki laboratoryjnej (*good laboratory practice* – GLP) i dobrej praktyki produkcyjnej (*good manufactory practice* – GMP). Na ryc. 3. przedstawiono przykład produkcji szczepionki przeciwnowotworowej opartej na autologicznych KD chorego.

Wnioski

Trwające obecnie badania nad immunoterapią HNSCC skupiają się na stworzeniu nowych szczepionek przeciwnowotworowych lub usprawnieniu skuteczności już istniejących form immunoterapii. Zastosowanie tej terapii w HNSCC ma znaczenie przede wszystkim jako leczenie uzupełniające i może być obiecujące w leczeniu wczesnych stadiów choroby, a także stanów przednowotworowych. Najlepsze wyniki leczenia będą prawdopodobnie skutkiem połączenia konwencjonalnych metod z immunoterapią. Choć immunoterapia nie jest obecnie przyjętym standardem leczenia chorych na HNSCC, to wyniki badań z zakresu nauk podstawowych i przeprowadzanych prób klinicznych wykazały kompleksową biologię HNSCC, a także potwierdziły możliwość modulowania biologią nowotworu. Wciąż pozostaje jednak wiele nierozwiązanych problemów. Niemniej autorzy powyższego opracowania głęboko wierzą, że kolejne generacje szczepionek przeciwnowotworowych, zwłaszcza skierowanych przeciw CSC, przyniosą znaczną poprawę lub może przełom w terapii uzupełniającej HNSCC.

Piśmiennictwo

- Forastiere A, Koch W, Trotti A, Sidransky D. Head and neck cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 1890-900.
- Mao L, Hong WK, Papadimitrakopoulou VA. Focus on head and neck cancer. *Cancer Cell* 2004; 5: 311-6.
- Wojciechowska U, Didkowska J, Tarkowski W, Zatonski W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2003 roku. Biuletyn Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie. Warszawa 2005.
- Wojciechowska U, Didkowska J, Zatonski W. Nowotwory złośliwe w Polsce w 2006 roku. Biuletyn Centrum Onkologii – Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie. Warszawa 2008.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* 2007; 57: 43-66.
- Chin D, Boyle GM, Porceddu S, et al. Head and neck cancer: past, present and future. *Expert Rev Anticancer Ther* 2006; 6: 1111-8.
- Whiteside TL. Anti-tumor vaccines in head and neck cancer: targeting immune responses to the tumor. *Curr Cancer Drug Targets* 2007; 7: 633-42.
- Wiemann B, Starnes CO. Coley's toxins, tumor necrosis factor and cancer research: a historical perspective. *Pharmacol Ther* 1994; 64: 529-64.
- Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2001; 1: 135-45.
- Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124: 783-801.
- Hoffmann TK, Donnenberg AD, Finkelstein SD, et al. Frequencies of tetramer+ T cells specific for the wild-type sequence p53 (264-272) peptide in the circulation of patients with head and neck cancer. *Cancer Res* 2002; 62: 3521-9.
- Bourhis J, Lubin R, Roche B, et al. Analysis of p53 serum antibodies in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1228-33.
- Dougan M, Dranoff G. Immune therapy for cancer. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 83-117.
- Davidson HC, Leibowitz MS, Lopez-Albaitero A, Ferris RL. Immunotherapy for head and neck cancer. *Oral Oncol* 2009; 45: 747-51.
- Visus C, Ito D, Amoscato A, et al. Identification of human aldehyde dehydrogenase 1 family member A1 as a novel CD8+ T-cell-defined tumor antigen in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Res* 2007; 67: 10538-45.
- Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004; 10: 909-15.
- Hadden JW. Immunodeficiency and cancer: prospects for correction. *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 1061-71.
- Whiteside TL. The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth. *Oncogene* 2008; 27: 5904-12.
- Ferrone S, Whiteside TL. Tumor microenvironment and immune escape. *Surg Oncol Clin N Am* 2007; 16: 755-74.
- Whiteside TL. The role of death receptor ligands in shaping tumor microenvironment. *Immunol Invest* 2007; 36: 25-46.
- Whiteside TL. Immunobiology of head and neck cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2005; 24: 95-105.
- Kim J, Modlin RL, Moy RL, et al. IL-10 production in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. A mechanism for evading the local T cell immuneresponse. *J Immunol* 1995; 155: 2240-7.
- Snyderman CH, Klapan I, Milanovich M, et al. Comparison of in vivo and in vitro prostaglandin E2 production by squamous cell carcinoma of the head and neck. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 111: 189-96.
- Szczepanski MJ, Czystowska M, Szajnik M, et al. Triggering of Toll-like receptor 4 expressed on human head and neck squamous cell carcinoma promotes tumor development and protects the tumor from immune attack. *Cancer Res* 2009; 69: 3105-13.
- Hagedorn H, Elbertzhagen A, Ruoss I, et al. Immunohistochemical analysis of major TGF-beta isoforms and their receptors in laryngeal carcinomas. *Virchows Arch* 2001; 439: 531-9.
- Kim JW, Wieckowski E, Taylor DD, et al. Fas ligand-positive membranous vesicles isolated from sera of patients with oral cancer induce apoptosis of activated T lymphocytes. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1010-20.
- Hoffmann TK, Dworacki G, Tsukihito T, et al. Spontaneous apoptosis of circulating T lymphocytes in patients with head and neck cancer and its clinical importance. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 2553-62.
- Reichert TE, Strauss L, Wagner EM, et al. Signaling abnormalities, apoptosis, and reduced proliferation of circulating and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with oral carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3137-45.
- Wieckowski E, Atarashi Y, Stanson J, et al. FAP-1-mediated activation of NF-kappaB induces resistance of head and neck cancer to Fas-induced apoptosis. *J Cell Biochem* 2007; 100: 16-28.
- Wieckowski EU, Visus C, Szajnik M, et al. Tumor-derived microvesicles promote regulatory T cell expansion and induce apoptosis in tumor-reactive activated CD8+ T lymphocytes. *J Immunol* 2009; 183: 3720-30.
- Whiteside TL, Stanson J, Shurin MR, Ferrone S. Antigen-processing machinery in human dendritic cells: up-regulation by maturation and down-regulation by tumor cells. *J Immunol* 2004; 173: 1526-34.
- Bergmann C, Strauss L, Wang Y, et al. T regulatory type 1 cells in squamous cell carcinoma of the head and neck: mechanisms of suppression and expansion in advanced disease. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3706-15.
- Strauss L, Bergmann C, Szczepanski MJ, et al. Expression of ICOS on human melanoma-infiltrating CD4+CD25highFoxp3+ T regulatory



- cells: implications and impact on tumor-mediated immune suppression. *J Immunol* 2008; 180: 2967-80.
34. Ferris RL, Whiteside TL, Ferrone S. Immune escape associated with functional defects in antigen-processing machinery in head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3890-5.
 35. Meissner M, Reichert TE, Kunkel M, et al. Defects in the human leukocyte antigen class I antigen processing machinery in head and neck squamous cell carcinoma: association with clinical outcome. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2552-60.
 36. Lang S, Whiteside TL, Lebeau A, et al. Impairment of T-cell activation in head and neck cancer in situ and in vitro: strategies for an immune restoration. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 125: 82-8.
 37. Gross S, Walden P. Immunosuppressive mechanisms in human tumors: why we still cannot cure cancer. *Immunol Lett* 2008; 116: 7-14.
 38. Grizapis AD, Sotiriadou NN, Papamichail M, Baxevanis CN. Generation of human tumor-specific CTLs in HLA-A2.1-transgenic mice using unfractionated peptides from eluates of human primary breast and ovarian tumors. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53: 1027-40.
 39. Rammensee H, Bachmann J, Emmerich NP, et al. SYFPEITHI: database for MHC ligands and peptide motifs. *Immunogenetics* 1999; 50: 213-9.
 40. Cohn M. The TritoPe Model for restrictive recognition of antigen by T-cells II. Implications for ontogeny, evolution and physiology. *Mol Immunol* 2008; 45: 632-52.
 41. Manji M, Senju S, Nakatsura T, et al. Head and neck cancer antigens recognized by the humoral immune system. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 294: 734-41.
 42. Wu AA, Niparko KJ, Pai SI. Immunotherapy for head and neck cancer. *J Biomed Sci* 2008; 15: 275-89.
 43. Gross S, Geldmacher A, Sharav T, et al. Immunosuppressive mechanisms in cancer: Consequences for the development of therapeutic vaccines. *Vaccine* 2009; 27: 3398-400.
 44. Ferris RL. Progress in head and neck cancer immunotherapy: can tolerance and immune suppression be reversed? *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2004; 66: 332-40.
 45. Ito D, Visus C, Hoffmann TK, et al. Immunological characterization of missense mutations occurring within cytotoxic T cell-defined p53 epitopes in HLA-A*0201 + squamous cell carcinomas of the head and neck. *Int J Cancer* 2007; 120: 2618-24.
 46. Badaracco G, Venuti A. Human papillomavirus therapeutic vaccines in head and neck tumors. *Expert Rev Anticancer Ther* 2007; 7: 753-66.
 47. Hoffmann TK, Nakano K, Elder EM, et al. Generation of T cells specific for the wild-type sequence p53 (264-272) peptide in cancer patients: implications for immunoselection of epitope loss variants. *J Immunol* 2000; 165: 5938-44.
 48. Hoffmann TK, Meidenbauer N, Dworacki G, et al. Generation of tumorspecific T-lymphocytes by cross-priming with human dendritic cells ingesting apoptotic tumor cells. *Cancer Res* 2000; 60: 3542-9.
 49. Lee SC, Lopez-Albaitero A, Ferris RL. Immunotherapy of head and neck cancer using tumor antigen-specific monoclonal antibodies. *Curr Oncol Rep* 2009; 11: 156-62.
 50. Hoffmann TK, Bier H, Whiteside TL. Targeting the immune system: novel therapeutic approaches in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53: 1055-67.
 51. Caligiuri MA. Human natural killer cells. *Blood* 2008; 112: 461-9.
 52. Tandon S, Shahab R, Benton JI, et al. Fine-needle aspiration cytology in a regional head and neck cancer center: comparison with a systematic review and metaanalysis. *Head Neck* 2008; 30: 1246-52.
 53. Boshoff C, Posner M. Targeting EGFR in head and neck cancer: a decade of progress. *Nat Clin Pract Oncol* 2009; 6: 123.
 54. Harari PM, Wheeler DL, Grandis JR. Molecular target approaches in head and neck cancer: epidermal growth factor receptor and beyond. *Semin Radiat Oncol* 2009; 19: 63-8.
 55. Pomerantz RG, Grandis JR. The role of epidermal growth factor receptor in head and neck squamous cell carcinoma. *Curr Oncol Rep* 2003; 5: 140-6.
 56. Pfister DG, Laurie SA, Weinstein GS, et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline for the use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 3693-704.
 57. Barrera JL, Verastegui E, Meneses A, et al. Combination immunotherapy of squamous cell carcinoma of the head and neck: a phase 2 trial. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2000; 126: 345-51.
 58. Hadden JW. The immunopharmacology of head and neck cancer: an update. *Int J Immunopharmacol* 1997; 19: 629-44.
 59. Verastegui E, Barrera JL, Zinser J, et al. A natural cytokine mixture (IRX-2) and interference with immune suppression induce immune mobilization and regression of head and neck cancer. *Int J Immunopharmacol* 1997; 19: 619-27.
 60. Hadden JW, Endicott J, Baekey P, et al. Interleukins and contrasuppression induce immune regression of head and neck cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1994; 120: 395-403.
 61. Czysowska M, Han J, Szczepanski MJ, et al. IRX-2, a novel immunotherapeutic, protects human T cells from tumor-induced cell death. *Cell Death Differ* 2009; 16: 708-18.
 62. Egan JE, Quadrini KJ, Santiago-Schwarz F, et al. IRX-2, a novel in vivo immunotherapeutic, induces maturation and activation of human dendritic cells in vitro. *J Immunother* 2007; 30: 624-33.
 63. Devaraj K, Gillison ML, Wu TC. Development of HPV vaccines for HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Crit Rev Oral Biol Med* 2003; 14: 345-62.
 64. Eberlein TJ, Rosenstein M, Rosenberg SA. Regression of a disseminated syngeneic solid tumor by systemic transfer of lymphoid cells expanded in interleukin 2. *J Exp Med* 1982; 156: 385-97.
 65. Venuti A. Progress and challenges in the vaccine-based treatment of head and neck cancers. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 69.
 66. Ferris RL, Hunt JL, Ferrone S. Human leukocyte antigen (HLA) class I defects in head and neck cancer: molecular mechanisms and clinical significance. *Immunol Res* 2005; 33: 113-33.
 67. Lopez-Albaitero A, Nayak JV, Ogino T, et al. Role of antigen processing machinery in the in vitro resistance of squamous cell carcinoma of the head and neck cells to recognition by CTL. *J Immunol* 2006; 176: 3402-9.
 68. Szczepanski MJ, Szajnik M, Czysowska M, et al. Increased frequency and suppression by regulatory T cells in patients with acute myelogenous leukemia. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3325-32.
 69. Strauss L, Bergmann C, Szczepanski MJ, et al. A unique subset of CD4+CD25highFoxp3+ T cells secreting interleukin-10 and transforming growth factor-beta1 mediates suppression in the tumor microenvironment. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 4345-54.
 70. Nizar S, Copier J, Meyer B, et al. T-regulatory cell modulation: the future of cancer immunotherapy? *Br J Cancer* 2009; 100: 1697-703.
 71. Whiteside TL. Immune suppression in cancer: effects on immune cells, mechanisms and future therapeutic intervention. *Semin Cancer Biol* 2006; 16: 3-15.

Adres do korespondencji:

lek. med. Mirosław J. Szczepański
Katedra Immunologii Klinicznej
Uniwersytet Medyczny
im. Karola Marcinkowskiego
ul. Rokietnicka 5D
60-806 Poznań
tel. +48 61 854 71 74
faks +48 61 854 71 73
e-mail: szczepanskim@upmc.edu,
mszczep@ump.edu.pl

