

סגן מנהל המערך האונקולוגי ומנהל מכון "אלה" לטיפול ומחקר במלנומה, המרכז הרפואי שיבא, תל השומר

הקדמה

הטיפול במלנומה עורית מתאפיין בדינמיקה מהירה, הן מבחינת הטיפול הכירורגי במלנומה ראשונית והן מבחינת הטיפול האונקולוגי במלנומה מתקדמת. בדומה לשאתות אחרות, גם כאן אין אחידות דעים בקשר לטיפול במחלה בשלבים השונים, אך הידע והניסיון שנצברו בשנים האחרונות עוזרים לנו להבין את מהלך המחלה בשלבים השונים, ולפתח אסטרטגיות טיפוליות ייחודיות לממאירות זו.

בסקירה זו יוצגו החידושים בטיפול החיסוני (אימונותרפיה) במלנומה מתקדמת, שמהווים גם פלטפורמה לפיתוח טכנולוגיות דומות בממאירויות שונות אחרות.

התפתחות הטיפול החיסוני במלנומה

מספר תצפיות רומזות על הפוטנציאל של מערכת החיסון בפעילות הנגד-גידולית במלנומה:

1. תצפיות קליניות על נסיגה עצמונית (שלמה או חלקית) של מלנומה ראשונית או של אתרי מחלה גורתיים (בעיקר בעור).
2. בהרת (Vitiligo) המתלווה למלנומה היא מדד תחזיתי (פרוגנוסטי)

חיובי בהקשר לתוחלת החיים של החולה.

3. נוכחות לימפוציטים משופעלים באזור הגידול (הראשוני או הגורתי).

יישום טכנולוגיות אימונותרפיות במלנומה ידוע זה מספר עשרות שנים. זכור השימוש בחומרים כמו BCG

או PPD הידועים כזרזים בלתי ספציפיים של מערכת החיסון. ההתקדמות המהותית בפיתוח הטכנולוגיות החל בשנות ה-80 עם העבודות החלוציות של ד"ר סטיב רוזנברג וקבוצתו ממכון הסרטן הלאומי (NCI) בארה"ב, שהראו שניתן להביא לנסיגה של גרורות מקרוסקופיות של מלנומה בשימוש באינטרלוקין 2 (IL-2). ה-IL-2 הוא תוצר טבעי של לימפוציטים מסוג T-Helper (CD4 Positive) הנוצר כתגובה של מערכת החיסון לאנטיגן זר (כמו גידול סרטני) ופועל ע"י הפעלה של אוכלוסיות שונות של לימפוציטים ציטוטוקסיים. בתהליך הפעלה זה יש גם ייצור של ציטוקינים שונים, כגון TNF (Tumor Necrosis Factor) או INF- γ (Interferon Gama) שגם הם משתתפים בתגובה החיסונית נגד הגידול. שיעור התגובה הכולל ל-IL-2 בחולי מלנומה גורתית איננו גבוה ושיעורו סביב 20%. חשובה יותר משיעור תגובה צנוע זה היא העובדה, שבחלק מהחולים שטופלו ב-IL-2 הושגה נסיגה

מלאה וארוכת טווח של מחלתם הגורתית, והם למעשה נרפאו ממחלתם. מתוך 182 חולי מלנומה גורתית שטופלו במינונים גבוהים של IL-2 ב-NCI, ב-9% נצפתה נסיגה חלקית של הגרורות וב-7% נצפתה נסיגה מלאה - CR (Complete Response) - של האתרים הגורתיים. במעקב חציוני של קרוב ל-12 שנה לא נשנתה המחלה ברוב החולים שנצפתה בהם היעלמות שלמה של המחלה הגורתית בעקבות הטיפול, והם בעצם הבריאו.

מיהם ה"שחקנים הראשיים" במערכת שמנהלת מערכת החיסון נגד התאים הסרטניים?

במערכת קיימים 2 כוחות עיקריים. הכוח הראשון הוא ה"אויב" או תאי הגידול הסרטני, המתאפיינים באנטיגנים ספציפיים שמזכירים ע"י תאי מערכת החיסון - הלימפוציטים מסוג T - וגורמים להפעלת מערכת זו ולהרס תאי הגידול. ההכרה הזו היא יחידנית (ספציפית), כאשר הקולטן (הרצפטור) על פני תאי ה-T מכיר את הקומפלקס המכיל את האנטיגן הגידולי ה"יושב" על מולקולת MHC (Major Histocompatibility Complex). הכרה זו, בשילוב מערכות הפעלה או דיכוי משניות, גורמת להפעלת תאי ה-T ולהרג של התא הגידולי הנידון.

במלנומה ידועים מספר רב של אנטיגנים המזכירים באופן יחידני ע"י תאי ה-T הספציפיים וביניהם: MART-1, S-100, Tyrosinase, TRP-1.

בחלק מהחולים שטופלו ב-IL-2 הושגה נסיגה מלאה וארוכת טווח של מחלתם הגורתית, והם למעשה נרפאו ממחלתם

אנטיגנים כאלה קיימים כמובן גם בשאתות ראשוניות אחרות, כגון MUC-1 בשאת הריאה והמעי הגס, HER-2 בשאת השד ואחרים. הכוח השני במערכת, דהיינו ה"חיילים", הם תאי מערכת החיסון שהם לימפוציטים מסוג T הנקראים גם TIL (Tumor-Infiltrating Lymphocytes). היכולת של תאי ה-TIL לזהות את המטרה - תאי הגידול - להתבית אליה בצורה מדויקת, ולחסל את התאים הסרטניים, היא יכולת ספציפית המכוונת נגד האנטיגנים שנושא התא הסרטני. יכולת ההרג של תאי ה-T היא, אם כן, יכולת גבוהה ומכוונת מטרה. ב-21 חולים מה-NCI עם מלנומה גורתית שהתקדמה למרות טיפול ב-IL-2 וטופלו לאחר מכן בקו השני ע"י תאי TIL עם IL-2 נצפתה הקטנה או היעלמות של הגרורות בכשליש מהמטופלים, עובדה המדגישה את יכולת תאי ה-TIL לגרום להרג תאי הגידול גם בחולים שנכשלו בטיפול ב-IL-2.

- הגידול, או אי יכולת של התאים להפריש ציטוקינים שונים שתפקידם לגרום לתמס (Lysis) תאי הגידול.
- ירידה בביטוי הרצפטור של תאי ה-T שתפקידו להכיר את האנטיגן הגידולי הספציפי.
- מספר תאי ה-T הנוצרים בתהליך של חיסון קטן מדי מכדי להביא לנסיגה של מחלה גרורתית (מיקרוסקופית או מקרוסקופית). דהיינו, יש חשיבות גם לכמות ולא רק לאיכות.
- בתהליך ההפעלה של מערכת החיסון יש הפעלה גם של תאי T, שתפקידם לבצע בקרה של התגובה החיסונית. תאים אלה גורמים לדיכוי התגובה החיסונית היעילה. תאים אלה נקראים גם Regulatory T-Cells - T-REGS והתפקיד האבולוציוני שלהם הוא למנוע תגובת יתר חיסונית שיכולה לבוא לידי ביטוי קליני במחלות אוטואימוניות.
- הסיבות העיקריות להיעדר תגובה חיסונית יעילה *in vivo*, התלויות בתא הסרטני, גם הן מרובות, והעיקריות שבהן:
 - התא הגידולי מייצר גורמים מדכאי מערכת החיסון ומפריש אותם לסביבה. גורמים אלה (כגון TGF- β) מפריעים להפעלה תקינה של מערכת החיסון נגד הגידול.
 - ירידה בביטוי האנטיגן הגידולי שכלפיו מכוונים תאי ה-T הציטוטוקסיים, ואז התא הגידולי בעצם איננו נראה או מוכר ע"י מערכת החיסון.
 - ירידה בביטוי מולקולות MHC על פני מעטפת התא הגידולי שגם היא גורמת לאי יכולת של הצגת האנטיגן הגידולי למערכת החיסון בצורה יעילה.

Adoptive Immunotherapy

שיטת ה-Adoptive Immunotherapy פותחה כמענה לחלק מהבעיות שהוצגו לעיל.

בשיטה זו מופקות במעבדה כמויות גדולות של תאי TIL מגידול גרורתי המוצא באופן כירורגי מגופו של החולה. במקביל לתהליך ההפקה המעבדתי של כמויות גדולות של תאי TIL מהגידול שהוצא, מופקים גם תאי גידול של החולה. עובדה זו מאפשרת לבצע מבחן ציטוטוקסיות במעבדה, ולברור את תאי ה-TIL היעילים ביותר ביכולת ההרג של תאי הגידול הרלוונטיים של החולה.

בזמן ההכנה של תאי ה-TIL במעבדה, החולה עובר טיפול כימותרפי במינון תת-גבוה (ע"י ציקלופוספמיד ופלודרבין) שמטרתו לגרום להרג תאי ה-Regulatory T-Cells

לאחר שהגדרנו והכרנו את ה"חיילים", תאי ה-TIL, ואת ה"אויב", האנטיגנים על פני התא הסרטני, במערכה זו של מערכת החיסון נגד התא הסרטני, עלה הצורך לבדוק אם ניתן להפיק תאי TIL בגופו של החולה ע"י חיסון באנטיגנים הספציפיים, כדי שתאים אלה יפעלו נגד הגידול הממאי.

תהליך החיסון האפקטיבי ביותר נעשה ע"י האנטיגנים הספציפיים הידועים (כגון: אנטיגן gp-100 במלנומה) כשהוא נתון בתוך Adjuvant (כגון: Montanide-ISA-51). ניתן להגביר את האפקטיביות של החיסון ע"י מודיפיקציה זעירה באנטיגן הספציפי, פעולה המגבירה את האימונוגניות של החיסון. ואכן, לאחר 2 סדרות של חיסון ע"י gp-100 בחולי מלנומה, כ-2% מתאי ה-T בדם פיתחו יכולת הרג ספציפית נגד תאי המלנומה. הבעיה הקלינית העיקרית היא שלהפקה של תאים אלה *in vivo* לא התלוותה גם פעילות קלינית אנטי גידולית. ב-51 חולים עם מלנומה גרורתית שטופלו ע"י החיסון הנ"ל (ללא תוספת IL-2) נצפתה תגובה קלינית של הקטנת הגרורות בחולה אחד בלבד. דהיינו, להופעה של תאי T ציטוטוקסיים בדמו של החולה בעקבות החיסון לא היה אפקט קליני מהותי. ואכן, בטיפול בחיסון (Vaccine) בטכנולוגיות שונות, ב-422 חולי מלנומה גרורתית ב-NCI, נצפתה תגובה רק ב-2.6% מהחולים. בסיכום הנתונים מ-35 ניסויים קליניים שנערכו במקומות שונים בעולם בטכנולוגיות שונות של חיסון (סה"כ 765 חולים עם מחלה גרורתית) נצפתה תגובה קלינית ב-3.8% מהמטופלים. חיסון (Vaccine) כטיפול מסייע (Adjuvant) בחולי מלנומה בסיכון גבוה להישנות מחלתם לא הראה גם הוא תוצאות חיוביות במספר רב של ניסויים קליניים מבוקרים.

מהן הסיבות לכך שלתאי ה-T הנוצרים בתהליך החיסון אין אפקט הבא לידי ביטוי באופן קליני?

- את הסיבות יש לחפש ב-2 המרכיבים של המערכת: בתאי ה-T ובתאי הגידול.
- יש סיבות רבות לכך שהלימפוציטים מסוג T לא פעילים נגד התא הסרטני באופן יעיל. הסיבות העיקריות הן:
 - תאי ה-T עוברים Tolerance כלפי התא הסרטני. יש תרופות בתהליכי פיתוח מתקדמים, הנותנות מענה לבעיה זו, כגון Anti-CTLA-4 ואחרות, כפי שיוסבר בהמשך.
 - אי יכולת של תאי ה-T לחדור את הסטרומה (Stroma) של

שיש להם יכולת להכיר בצורה יחידנית את התא המלנוטי. תהליך "הדבקה" כזה הופך למעשה את הלימפוציט מסוג T בדם הפריפרי לתא TIL בעל יכולת לזהות את התא הגידולי ולגרום להרג שלו. לאחר תהליך ה"הדבקה" התאים עוברים ריבוי ומוחזרים לחולה. במאמר דלעיל מתוארים שני חולים שעברו את התהליך, ואשר נצפתה בהם נסיגה ניכרת במחלה הגרורתית.

הפלטפורמה שתוארה מאפשרת, בעצם, לטפל בטכנולוגיה הזאת במגוון רחב של שאתות סולידיות, ע"י "הדבקת" הלימפוציט מהדם ההיקפי של החולה בגן האחראי לייצור הקולטן (TCR) הספציפי לגידול הרלבנטי. ניסויים קליניים במגוון ממאירויות נמצאים בתהליכי תכנון ופיתוח, ואין ספק שהם מבשרים פתיחה של עידן חדש בטיפול אימונולוגי במגוון גדול של ממאירויות.

טכנולוגיות חכמות אחרות הבנויות גם הן על הבנה עמוקה של פעולת מערכת החיסון תוקפות את הבעיה מכיוון אחר. כפי שהוסבר לעיל, תאי ה-T הספציפיים נגד התא הגידולי עוברים שפעול, והקולטן המצוי על פני התא מכיר באופן יחידני את הקומפלקס המכיל את האנטיגן הגידולי היושב על מולקולת ה-MHC. לתאי ה-T הציטוטוקסיים יש גם מנגנון רגולטורי שתפקידו למנוע פעילות יתר של מערכת החיסון. מנגנון זה בנוי על קולטן המצוי גם הוא על פני מעטפת התא ונקרא CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte Antigen-4). הפעלתו גורמת ל"שיתוק" התגובה החיסונית או ל-Tolerance. מתברר שאחת הסיבות החשובות ל"שיתוק" של מערכת תאי ה-T כלפי התא הסרטני היא הפעלה של הקולטן CTLA-4. בתהליכי ניסוי קליני מתקדמים נמצאים שני נוגדנים נגד CTLA-4. האחד פותח ע"י חברת Pfizer והשני ע"י חברת BMS. ביכולתם של נוגדנים אלה להיצמד באופן יחידני למולקולה, ובעצם לעכב את העיכוב. התוצאה הסופית היא הפעלה של תאי ה-T נגד התא הגידולי. תופעת הלוואי העיקרית של נוגדנים אלה היא כמובן תופעות אוטואימוניות שונות עקב הביטול הגורף של ה-Tolerance של מערכת החיסון גם נגד המרכיבים העצמיים.

במכון "אלה" לטיפול ומחקר במלנומה, במרכז הרפואי שיבא בתל השומר, נפתחה באוגוסט 2004 מעבדה "נקייה" להפקת תאי TIL במסגרת ניסוי קליני שהחל בינואר 2006 בחולים עם מלנומה גרורתית. במקביל נפתחו מספר ניסויים קליניים בשיתוף עם חברות מסחריות הכוללים גם שימוש במולקולות המתקדמות שתוארו לעיל (כגון: Tivolumab שהוא בעצם Anti CTLA-4). דיווח על תוצאות הניסויים הקליניים ורבים אחרים מופיעים ויופיעו בספרות המדעית בעתיד הקרוב.

(T-REGS) שעלולים להפריע ולעכב את פעילות תאי ה-TIL הציטוטוקסיים המופקים במעבדה ואשר מעורים בחזרה לדמו של החולה. כפועל יוצא של הטיפול הכימותרפי דלעיל, יש כמובן דיכוי זמני של מוח העצם הנמשך כשבועיים-שלושה, ובתקופה זו החולה זקוק לטיפול תמיכתי למניעת זיהומים, כגון פנוימוציטיס (PCP), זיהומים פיטרייתיים וזיהומים וירליים. החולה מקבל גם טיפול תמיכתי בפקטורי גדילה של גרנולוציטים (G-CSF), וכן טיפול תמיכתי בטסיות ובדם לפי הצורך.

כדי לשמר את פעילות תאי ה-TIL שהחולה מקבל, ניתן במקביל גם טיפול ב-IL-2. החולה המטופל בתוכנית הטיפול דלעיל חשוף אם כן לסיכונים כבדי משקל במספר דיסציפלינות:

- סיבוכים הנובעים מדיכוי ניכר (זמני) של מוח העצם, כגון זיהומים, דימומים ואנמיה. על רקע זה החולה נמצא גם בסיכון גבוה לפתח ממאירויות משניות (המטולוגיות).
- ההפרעות ההמודינמיות הקשורות למתן מינונים גבוהים של IL-2 הנובעות בעיקר מתסמונת Capillary Leak.
- סיבוכים הנובעים מפעילות נמרצת של תאי ה-TIL כאשר אין מערכת רגולטורית יעילה שתפקח על פעילות זו (T-REGS). תאי ה-TIL שהמטופל מקבל יכולים לגרום בין היתר ל-Uveitis (שם יש גם תאים מלנוציטים) והפרעות אוטואימוניות נוספות.

לפיכך, הטיפול בפרוטוקול זה הוא טיפול מערכתי המחייב שיתוף פעולה בין המחלקות השונות בבית החולים כדי להגיע לתוצאות מיטביות.

באפריל 2005 פורסמו התוצאות הראשוניות של 35 החולים הראשונים שטופלו בתוכנית הנ"ל ב-NCI, ושיעור התגובה (היעלמות שלמה או חלקית של הגרורות) היה כ-50%. יש לזכור שמדובר באוכלוסיית חולים קשה עם מלנומה גרורתית שקיבלו כבר את כל הטיפולים הידועים במחלה, כולל IL-2, כימותרפיה וכו' ומחלתם התקדמה.

עם הבנת התהליכים הבסיסיים הכרוכים בתפועל מיטבי של המערכת החיסונית, נעשה צעד נוסף בפיתוח הפלטפורמה הטיפולית שתוארה לעיל. במאמר שפורסם ב-Science בחודש אוקטובר 2006, מוצגת טכנולוגיה חדשנית, שבה נלקח דם פריפרי מחולה עם מלנומה גרורתית והופקו ממנו לימפוציטים מסוג T. זה תהליך מעבדתי פשוט שאינו מצריך תשתית מעבדתית מורכבת. לימפוציטים אלה עוברים במעבדה תהליך של "הדבקה" (טרנספקציה) של הגן האחראי לייצור אחד מהרצפטורים (TCR-T Cell Receptor)