

С.В. МИШУГИН¹, к.м.н., А.А. ГРИЦКЕВИЧ², к.м.н., И.Г. РУСАКОВ³, д.м.н., профессор¹ Городская клиническая больница им. Д.Д. Плетнева, Москва² Институт хирургии им. А.В. Вишневского, Москва³ Московский научно-исследовательский онкологический институт им. П.А. Герцена, Москва

ЭВОЛЮЦИЯ ИЗУЧЕНИЯ И КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИАНДРОГЕНОВ

В ЛЕЧЕНИИ РАСПРОСТРАНЕННОГО РАКА ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Рак предстательной железы (РПЖ) является гормончувствительной опухолью. Благодаря открытию андрогенного рецептора (АР) в клинической практике появились препараты группы антиандрогенов, воздействующие на связывание тестостерона с АР. На протяжении ряда лет появилось несколько поколений данных препаратов и значительно изменились возможности применения данных препаратов. Первые поколения препаратов данной группы (ципротерон, флутамид и бикалутамид) используются в основном при лечении распространенного гормончувствительного РПЖ в комбинации с кастрационной терапией. Однако применение данных препаратов не приводит к увеличению выживаемости у пациентов с РПЖ и не показано при наступлении кастрационной резистентности. Появление энзалутамида (антиандроген II поколения), действующего на уровне ядра опухолевой клетки, позволило достоверно увеличить выживаемость пациентов с метастатическим кастрационно-резистентным РПЖ (мКРРПЖ) и значительно улучшить результаты лечения пациентов с мКРРПЖ. В настоящее время идет изучение возможности применения энзалутамида вместе с кастрационной терапией у пациентов с гормончувствительным РПЖ.

Ключевые слова: метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы, андрогенный рецептор, антиандрогены, ципротерон, флутамид, нилутамид, бикалутамид, энзалутамид.

S.V. MISHUGIN¹, PhD in medicine, A.A. GRITSKEVICH², PhD in medicine, I.G. RUSAKOV³, MD, Prof.¹ City Clinical Hospital №57, Moscow; ² Vishnevsky Institute of Surgery, Moscow; ³ МНИОИ им. П.А. Герцена, Москва

DEVELOPMENT AND CLINICAL EFFECTIVENESS OF ANTIANDROGENS IN THE TREATMENT OF ADVANCED PROSTATE CANCER.

Prostate cancer (PCa) is a hormone-sensitive tumor. Due to the discovery of the androgen receptor (AR) it became possible to implement the antiandrogens as drugs blocking testosterone binding to the AR into routine clinical practice. There have been discovered several generations of the antiandrogens over the years and the possibility of using these drugs in clinical practice has significantly changed. First generations of the antiandrogens (cyproterone, flutamide, bicalutamide) are used mainly for the treatment of advanced hormone-sensitive PCa in combination with castration therapy. However these drugs do not increase survival in patients with PCa and are not indicated in terms of castration resistant PCa. Discovery of the enzalutamide (antiandrogen of 2nd generation), acting on the nuclear level of the tumor cell, allowed to increase significantly survival in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) and improve treatment results in patients with mCRPC. At the moment enzalutamide is being studied in combination with castration therapy in patients with hormone-sensitive PCa.

Keywords: metastatic castration-resistant prostate cancer, androgen receptor, antiandrogens, cyproterone, flutamide, bicalutamide, nilutamide, enzalutamide.

В начале прошлого века была обнаружена физиологическая связь между функциями гипофиза, яичек и предстательной железы. Американский врач Чарльз Брентон Хаггинз сделал открытие, установив, что кастрация или применение эстрогенов приводят к обратимой атрофии предстательной железы. Функция и рост железы возобновляются при применении андрогенов. В 1941 г. доктор Хаггинз начал свое знаменитое исследование по лечению мужчин, больных доброкачественной гиперплазией и раком предстательной железы (РПЖ) с помощью андрогенной абляции, совершаемой путем хирургической кастрации или назначением эстрогенов. Тогда же был открыт положительный клинический эффект андрогенной депривации в лечении метастатического РПЖ. За это открытие в 1966 г. доктор Хаггинз был удостоен Нобелевской премии в области физиологии и медицины [1].

Однако впоследствии стало очевидно, что андрогенная абляция является недостаточной для лечения больных с

распространенными формами рака. Этот факт заставлял ученых и клиницистов продолжать поиски потенциальных точек приложения терапии, и в конце 60-х годов прошлого века был открыт андрогенный рецептор (АР) [2].

Поиск различных молекул, способных заблокировать АР, привел к открытию первого антиандрогена – ципротерона. Впоследствии химическая структура была стабилизирована добавлением ацетатной группы, и появился препарат ципротерона ацетат.

В 70-х гг. был открыт другой препарат уже нестероидного вида – флутамид. И в 1989 г. американская организация FDA одобрила флутамид для лечения распространенных форм рака предстательной железы.

В 1995 г. был одобрен еще один нестероидный антиандроген бикалутамид и годом позже – препарат нилутамид [3–5].

Андрогенный рецептор принадлежит к группе стероидных рецепторов, суперсемьи ядерных рецепторов.

Его функция регулируется путем связывания с андрогенами, которые инициируют последовательное конформационное изменение рецептора, затрагивающее взаимодействие рецептора с белками и прямое взаимодействие рецептора с ДНК. Эндогенные андрогены в основном представлены тестостероном и дигидротестостероном (ДГТ). Помимо первичных и вторичных половых органов, АР экспрессируется клетками различных тканей организма [6].

Были обнаружены две функции АР, которые играют ключевую роль в регуляции трансактивации гена мишени, – это активация функции N-терминального домена 1 (AF1) и активация C-терминального домена 2 (AF2). AF1 является лиганд-независимым сигнальным путем и играет первичную роль в трансактивации гена-мишени. AF2 является лиганд-зависимым сигнальным путем и выполняет ограниченные функции [7].

Несвязанный андрогенный рецептор в основном находится в цитоплазме, как и любой типичный стероидный рецептор. АР ассоциирован с комплексом т. н. белков теплового шока (Heat Shock Proteins) через взаимодействие с лиганд-связывающим доменом (ЛСД). Андрогены, агонисты или антагонисты располагаются в лиганд-связывающем кармане цитозольного АР и прикрепляются к его лиганд-связывающему домену. Далее рецептор проходит через серию конформационных изменений, в результате чего белки теплового шока диссоциируют от АР. После этого трансформированный АР проходит димеризацию, фосфорилируется и транслоцируется в ядро. Транслоцированный рецептор далее прикрепляется к элементам андрогенного ответа на промоторе гена, ответственного за ответ на андрогенное воздействие. Вовлечение других транскрипционных ко-факторов (включая ко-активаторы и ко-репрессоры) дополнительно способствует трансактивации АР-регулируемой экспрессии генов. Все эти сложные процессы инициируются путем лиганд-индуцированного конформационного изменения в лиганд-связывающем домене. Лиганд-специфическое вовлечение ко-регуляторов может быть ключевым звеном усиления

агонистической или антагонистической активности лигандов андрогенного рецептора в результате применения антиандрогенов [7].

Ципротерон – это стероидный антиандроген, который конкурентно блокирует связывание тестостерона или ДГТ с АР. Ципротерон блокирует АР, который экспрессируется клетками предстательной железы, а также АР, экспрессируемый гипоталамусом и гипофизом. Таким образом, ципротерон блокирует обратное действие андрогенов на уровне гипоталамо-гипофизарной оси, тем самым приводя к повышению уровня лютеинизирующего гормона (ЛГ). Экспрессия ЛГ приводит к усилению синтеза тестостерона и в итоге снижает способность ципротерона конкурировать за АР и блокировать андрогенную стимуляцию.

Ципротерона ацетат был разработан именно вследствие данного свойства ципротерона. Препарат имеет двойной механизм действия, он конкурирует с ДГТ за связывание с АР, а также ингибирует секрецию гонадотропинов. Таким образом, снижается уровень циркулирующих андрогенов и эстрогенов, наряду с уровнем ЛГ.

Так как ципротерона ацетат снижает уровень тестостерона, это приводит к снижению и последующей потере либидо и сексуальной функции. Известна роль ципротерона в развитии сердечно-сосудистых осложнений, гиперплазии печени – в 1989 г. было сообщено впервые о фатальном гепатите [8]. Эти негативные аспекты терапии ципротероном стимулировали поиск альтернативных нестероидных, или чистых, антиандрогенов, которые бы не обладали центральными блокирующими свойствами. Чистые антиандрогены блокируют АР без агонистических или антагонистических воздействий на синтез гормонов [9].

Флутамид стал первым нестероидным андрогеном, вовлеченным в клинические исследования. Впоследствии были разработаны нестероидные антиандрогены бикалутамид и нилутамид. Неоспоримым преимуществом этих молекул стал тот факт, что они лишены собственной гормональной активности и потому не влияли на либидо или потенцию. Однако впоследствии был доказан факт мини-



*Когда рак переходит в стадию мКРПН,
меняется только лечение*

- КСТАНДИ достоверно увеличивает общую выживаемость при сохранении качества жизни¹
- КСТАНДИ отодвигает время до начала химиотерапии с нескольких месяцев до нескольких лет¹
- КСТАНДИ хорошо переносится, его просто и удобно принимать^{1,2}

Кстанди
энзалутамид

То, что действительно имеет значение при мКРПН*

АО «Аstellас Фарма»
Россия, 109147, Москва,
ул. Марксистская, 16.
Тел.: +7 (495) 737-07-56

1. Beer TM et al. N Engl J Med 2014; 371: 424–33.
2. Инструкция по применению лекарственного препарата Кстанди для медицинского применения (ЛП-003605 от 04.05.2016).
Информация для специалистов здравоохранения с распространением на

специализированных мероприятиях.
Перед применением препарата Кстанди ознакомьтесь с инструкцией по медицинскому применению (доступна на www.gfb.gostminzdrav.ru).
Номер регистрационного удостоверения ЛП-003605, 04.05.2016.

ИМЕЮТСЯ ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ, ПЕРЕД ПРИМЕНЕНИЕМ ПРОКОНСУЛЬТИРУЙТЕСЬ СО СПЕЦИАЛИСТОМ

* для таргетной терапии метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (мКРПН)

RUS-06.2016/XTA/BORGES/004 XTD/2016/0003/RU

мального проникновения нестероидных андрогенов через гематоэнцефалический барьер и последующее повышение уровня тестостерона.

Флутамид является аналогом арилпропионамида, только с антиандрогенными свойствами. Он полностью всасывается в желудочно-кишечном тракте после перорального приема и проходит значительный метаболический переход до его активной формы – 2-гидроксифлутамида и продукта гидролиза 3-трифторметил-4-нитроанилина. Гидроксифлутамид имеет период полувыведения около 8 ч. Гидролиз амидных связей представляет собой основной метаболический путь выведения активных метаболитов. По своему механизму действия блокировать связывание с АР флутамид имеет в два раза больший потенциал, чем ципротерона ацетат [7].

В единственном исследовании было показано, что нет значимого различия в эффективности лечения флутамидом и кастрацией у больных с метастатическим РПЖ и ПСА менее 100 нг/мл. При более высоком уровне ПСА флутамид уступает кастрации [9]. В крупном рандомизированном исследовании (1 387 больных) по сравнительной оценке эффективности добавления флутамида к орхэктомии у больных метастатическим РПЖ не выявлено каких-либо преимуществ такого лечения с точки зрения противоопухолевого эффекта в сравнении с монотерапией. Отмечено развитие кишечных расстройств и анемии у больных, получавших флутамид.

Нилутамид – это аналог нитроароматической формы флутамида. Нилутамид выводится из организма только путем собственного метаболизма, в основном за счет редукции ароматической нитро-группы. Хотя гидролиз одной из карбонильных функций имидазолиндиона был определен, нилутамид менее подвержен метаболизму в печени, чем амидные связи гидроксифлутамида. Это приводит к более длительному периоду полувыведения нилутамида, составляющего около 2 дней. Однако нитро-анион-свободные радикалы, формирующиеся во время редукции, могут быть ассоциированы с гепатотоксичностью, особенно при использовании относительно высоких доз, необходимых при андрогенной блокаде. В целом нилутамид обладает рядом нежелательных явлений, которые ограничивают его использование, такие как пневмонит и отсроченная адаптация к темноте [10].

Бикалутамид – аналог арилпропионамида. Он заменил флутамид и нилутамид в качестве антиандрогена в выборе метода лечения распространенного РПЖ. Бикалутамид не такой гепатотоксичный препарат, как флутамид и нилутамид, и обладает более длительным периодом полувыведения, равным приблизительно 6 сут, что позволяет принимать его в более низких дозах один раз в день. Бикалутамид обладает схожей с флутамидом химической структурой с наличием амидных связей. Такое отличие позволяет избежать нитроредукции, наблюдаемой с молекулой нилутамида. Пострегистрационные исследования открыли антиандрогенную активность, которая закреплена полностью за R-изомерами бикалутамида. (R)-бикалутамид имеет почти в 4 раза большую аффинность к АР предстательной железы, чем гидроксифлутамид, и имеет

наиболее предпочтительный профиль безопасности в сравнении с другими антиандрогенами.

Бикалутамид в дозе 150 мг/сут сравнивали с кастрацией в двух исследованиях (в общей сложности 1 435 больных) с местнораспространенным или метастатическим РПЖ. Выживаемость больных с метастатическим процессом оказалась меньше, чем при кастрации, хотя разница составила всего 6 нед. В случае местнораспространенного процесса достоверной разницы в эффективности лечения доказано не было. К настоящему времени не подтверждено существенной разницы с кастрацией по качеству жизни [11].

Бикалутамид, как и флутамид, относится к нестероидным антиандрогенам, т. е. реализует свой противоопухолевый эффект в результате взаимодействия с андрогенными рецепторами, однако с отличающимися механизмами активации и аффинитета. Показано, что опухоли, ставшие резистентными к терапии флутамидом в результате длительного лечения, остаются чувствительными к бикалутамиду. Отмечена более низкая токсичность бикалутамида в виде снижения либидо, развития диареи, но более частое появление развития гинекомастии и мастодинии [12].

Отсутствие удовлетворенности клиницистов в эффективности антиандрогенов и невозможность увеличить выживаемость пациентов при их использовании заставляло продолжать поиск в выявлении препаратов третьего поколения, активных в условиях гиперэкспрессии АР.

Энзалутамид – синтетический, нестероидный, чистый антиандроген, зарегистрированный для лечения метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы. Препарат был зарегистрирован в США в 2012 г. В Российской Федерации препарат зарегистрирован в мае 2016 г.

Энзалутамид был открыт и разработан Чарльзом Соьерсом из клиники MSKCC и Майклом Джангом из Калифорнийского Университета.

Энзалутамид имеет аффинность к АР примерно в 5–8 раз выше, чем бикалутамид. В отличие от бикалутамида энзалутамид не промотирует транслокацию АР в клеточное ядро и дополнительно блокирует связывание АР с ДНК и белками ко-активаторами. Таким образом, препарат не только является антиандрогеном, но и блокатором сигнальных путей АР.

В сравнительном доклиническом исследовании на моделях КРРПЖ энзалутамид подавлял связывание АР с ДНК и синтез ПСА и РНК, в то время как бикалутамид стимулировал эти процессы, а поскольку ПСА является геном-мишенью для АР и его синтез является маркером активности АР, то появилось теоретическое обоснование и последующее экспериментальное и клиническое подтверждение для возможности получения дополнительно клинического успеха [13–19].

Два больших клинических двойных слепых рандомизированных мультицентровых плацебо-контролируемых протокола III фазы AFFIRM и PREVAIL доказали клиническую эффективность энзалутамида в лечении метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы как до, так и после химиотерапевтического лечения. По данным этих исследований, энзалутамид

достоверно увеличивает выживаемость у мужчин с метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы как до, так и после химиотерапии [20–23].

В дополнение в марте 2011 г. был начат клинический протокол II фазы, сравнивающий энзалутамид и бикалутамид у пациентов, давших прогрессию на терапии аналогами ЛГРГ или хирургической кастрации. В исследовании фазы 2 TERRAIN энзалутамид по сравнению с бикалутамидом продемонстрировал достоверное увеличение выживаемости без прогрессии – медиана выживаемости без прогрессии составила 15,7 мес. для энзалутамида по сравнению с 5,8 мес. для бикалутамида (ОР = 0,44 (95% ДИ: 0,34–0,57); $p < 0,0001$); увеличение на 9,9 месяца. Таким образом, энзалутамид достоверно снижает риск прогрессии у пациентов с мКРПЖ на 56% по сравнению с бикалутамидом. Также достоверное превосходство над бикалутамидом было продемонстрировано в отношении всех дополнительных показателей эффективности: пропорция пациентов со снижением уровня ПСА на 50% и больше (82 против 21%, $p < 0,001$), пропорция пациентов со снижением уровня ПСА на 90% и больше (56 против 5%, $p < 0,001$), время до ПСА-прогрессирования (19,4 против 5,8 мес.; ОР = 0,28; $p < 0,0001$), выживаемость без рентгенологической прогрессии (медиана не достигнута против 16,4 мес.; ОР = 0,51; $p < 0,001$). Таким образом, данные исследования TERRAIN подтверждают целесоо-

бразность применения энзалутамида по сравнению с бикалутамидом у пациентов с метастатическим, кастрационно-резистентным раком предстательной железы [24].

Энзалутамид обладает схожим с другими нестероидными антиандрогенами хорошо корректируемым профилем безопасности. Период полувыведения энзалутамида составляет примерно 6 дней.

В течение трех последних десятилетий антиандрогены являются важной и неотъемлемой частью комплексной медикаментозной терапии распространенного РПЖ, однако в связи с появлением новых дополнительных возможностей медикаментозного влияния на андрогенную ось и дополнительными возможностями цитостатической терапии роль антиандрогенов первого поколения практически полностью нивелировалась. В ногу с открытиями современной науки в области молекулярной биологии и генетики шло и продолжает свое движение развитие новых препаратов данной группы.

На сегодняшний день, как показывают результаты доклинических исследований, рандомизированных протоколов, а также на основе современных международных клинических рекомендаций и большого клинического опыта, мы можем утверждать, что энзалутамид – наиболее эффективный и безопасный антиандроген для лечения распространенного кастрационно-рефрактерного рака предстательной железы.



ЛИТЕРАТУРА

- Denmeade SR, Isaacs JT. A history of prostate cancer treatment. *Nature reviews. Cancer*, 2002 May, 2(5): 389–96. doi:10.1038/nrc801. PMID 12044015.
- Gao W. Androgen receptor as a therapeutic target. *Advanced drug delivery reviews*, 2010, 62(13): 1277–84. doi:10.1016/j.addr.2010.08.002. PMID 20708648.
- Singh SM, Gauthier S, Labrie F. Androgen receptor antagonists (antiandrogens): structure-activity relationships. *Current medicinal chemistry*, 2000 Feb, 7(2): 211–47. doi:10.2174/0929867003375371. PMID 10637363.
- Williams L, Thompson LD, Seethala RR, Weinreb I, Assaad AM, Tuluc M, Ud Din N, Purgina B, Lai C, Griffith CC, Chiosea SI. Salivary duct carcinoma: the predominance of apocrine morphology, prevalence of histologic variants, and androgen receptor expression. *The American journal of surgical pathology*, 2015 May, 39(5): 70513. doi:10.1097/pas.0000000000000413. PMID 25871467.
- Haendler B, Cleve A. Recent developments in antiandrogens and selective androgen receptor modulators. *Molecular and cellular endocrinology*, 2011, 352(1–2): 79–91. doi:10.1016/j.mce.2011.06.002. PMID 21704118.
- Gao W. Peptide antagonist of the androgen receptor. *Current pharmaceutical design*, 2010, 16(9): 1106–13. doi:10.2174/138161210790963850. PMID 20030610.
- Gao W, Kim J, Dalton JT. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nonsteroidal androgen receptor ligands. *Pharmaceutical Research*, 2006 Aug, 23(8): 1641–58. doi:10.1007/s11095-006-9024-3. PMC 2072875. PMID 16841196.
- Kasper P. Cyproterone acetate, a genotoxic carcinogen? *Pharmacol. Toxicol.*, 2001, 88: 223–231.
- Eisenberg MA, Blumenstein BA, Crauford ED et al. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N. Eng. J. Med.*, 1998, 98: 1036–1042.
- Dijkman GA, Janket RA, De Reijke TM et al. Long-term efficacy and safety of nilutamide plus castration in advanced prostate cancer and significance of early prostatic antigen normalization. *J Urology*, 1997, 158: 160–163.
- Iversen P, Tyrrel CJ, Kaisary A et al. Bicalutamide monotherapy compared with castration in patients with non-metastatic locally advanced prostate cancer, 6.3 years of follow up. *J Urol*, 2000 Nov, 164(5): 1579–82.
- Рак предстательной железы. Под ред. Н.Е. Кушлинского, Ю.Н. Соловьева, М.Ф. Трапезникова. М., 2002, С. 427. 12. / Prostate gland cancer. Ed. by N.E. Kushlinsky, Y.N. Soloviev, M.F. Trapeznikova. M., 2002, p. 427.
- Kim TH, Jeong JW, Song JH, Lee KR, Ahn S, Ahn SH, Kim S, Koo TS. Pharmacokinetics of Enzalutamide, an Anti-prostate Cancer Drug, in rats. *Archives of Pharmacol Research*, 2015 Nov, 38(11): 2076–82. PMID 25956695.
- Medivation's MDV3100 Shown to Be Effective in a Preclinical Model of Hormone-Refractory Prostate Cancer. Press release. Medivation, Inc. 2007-02-26. Retrieved 2009-05-10.
- FDA approves new treatment for a type of late stage prostate cancer. Press release. United States Food and Drug Administration. 2012-08-31.
- Azvolinsky A. FDA Approves Enzalutamide (Xtandi) for Late-Stage Prostate Cancer. *Cancer Network*, 2012 September, 4.
- Tran C, Ouk S, Clegg NJ, Chen Y, Watson PA, Arora V et al. Development of a second-generation antiandrogen for treatment of advanced prostate cancer. *Science*, 2009 May, 324(5928): 787–90. doi:10.1126/science.1168175. PMC 2981508. PMID 19359544.
- Rodriguez-Vida A, Chowdhury S, Sternberg C, Rudman S, Galazi M. Enzalutamide for the treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer. *Drug Design, Development and Therapy*, 2015, 9: 3325–39. doi:10.2147/DDDT.S69433. ISSN 1177-8881. PMID 26170619.
- Antonarakis ES. Enzalutamide: The emperor of all anti-androgens. *Transl Androl Urol*, 2013, 2(2): 119–120. PMC 3785324. PMID 24076589. NCT01288911. ClinicalTrials.gov, United States National Institutes of Health. Retrieved 2011-11-06. A Study of MDV3100 Versus Bicalutamide in Castrate Men With Metastatic Prostate Cancer.
- NCT01288911. ClinicalTrials.gov, United States National Institutes of Health. Retrieved 2011-11-06. A Study of MDV3100 Versus Bicalutamide in Castrate Men With Metastatic Prostate Cancer.
- NCT00974311. ClinicalTrials.gov, United States National Institutes of Health. Retrieved 2009-10-29. Safety and Efficacy Study of MDV3100 in Patients With Castration-Resistant Prostate Cancer Who Have Been Previously Treated With Docetaxel-based Chemotherapy (AFFIRM).
- Scher HI, Fizazi K, Saad F, Taplin ME, Sternberg CN, Miller K et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N. Engl. J. Med.*, September 2012, 367(13): 1187–97. doi:10.1056/NEJMoa1207506. PMID 22894553.
- ClinicalTrials.gov, United States National Institutes of Health. Retrieved 2011-11-06. A Safety and Efficacy Study of Oral MDV3100 in Chemotherapy-Naïve Patients With Progressive Metastatic Prostate Cancer (PREVAIL). NCT01212991.
- Shore ND, Chowdhury S, Villers A, Klotz L, Siemens DR, Phung D, van Os S, Hasabou N, Wang F, Bhattacharya S, Heidenreich A, Phung. Efficacy and safety of enzalutamide versus bicalutamide for patients with metastatic prostate cancer (TERRAIN): a randomised, double-blind, phase 2 study. *Lancet Oncology*, 2016, 17(2): 153–163.