

TUMORSKA VAKCINA V KOMBINACIJI Z LIMFOCITI CAR-T ZA ZDRAVLJENJE GERMINALNO-CELIČNIH TUMORJEV, ODPORNIH PROTI PLATINI

Dr. Breda Škrbinc, dr. med.

Sektor za internistično onkologijo, Onkološki inštitut Ljubljana

Povzetek

Onkofetalni protein claudin6 (CLDN6) je površinski celični protein, ki se v veliki meri nahaja na celičnih površinah v času razvoja zarodka, v zdravih zrelih tkivih pa te proteinske komponente medceličnih tesnih stikov ni več. CLDN6 se lahko ponovno pojavlja na celicah različnih tumorskih tkiv in kot tak predstavlja idealno tarčo za zdravljenje po metodi celic CAR-T. Raziskava faze 1/2 BNT211-01 pri različnih vrstah raka proučuje izvedljivost, toksičnost in učinkovitost zdravljenja celicami CAR-T, usmerjenimi proti CLDN6, v monoterapiji ali v kombinaciji s tumorsko RNA-vakcino (CARvac). Vmesne analize zlasti pri napredovalem recidivantnem GCT po že izčrpanem standardnem zdravljenju s pripravki platine nakazujejo zelo obetavne rezultate sistemskega zdravljenja s celicami CAR-T, usmerjenimi proti CLDN6.

Uvod

Limfociti CAR-T so vnesli pomembno novo dimenzijo v zdravljenje nekaterih recidivnih hematoloških malignomov, v zdravljenju solidnih tumorjev pa je bila doslej glavna prepreka za zdravljenje s celicami CAR-T nepoznavanje visoko specifičnih tarčnih antigenov, ki bi se nahajali na površini tumorskih celic, v normalnih tkivih pa ne. Dodatna ovira za učinkovito zdravljenje razširjenih solidnih rakov s celicami CAR-T je tudi šibka antigenska izpostavljenost rakavih celic v perifernih tkivih, torej šibka imunogenost tumorskih celic, ki so pred raznimi vrstami imunskega delovanja pogosto dobro zavarovane tudi z imunosupresivnim delovanjem mikrookolja, v katerem se rakave celice nahajajo.

CLDN6, ki sodi med primitivne proteine, ki tvorijo medcelične tesne stike, je onkofetalni protein, ki je bil spoznan kot potencialna idealna antigenska tarča celic CAR-T v zdravljenju solidnih rakov. Gre za protein, ki je v veliki meri izražen na celičnih površinah v času fetalnega razvoja

posameznika, izražanje gena CLDN6, ki kodira ta protein, pa po koncu prenatalne organogeneze praktično ugasne. V tkivih odraslih je gen CLDN6 povsem zavrt, ponovno pa se protein CLDN6 lahko pojavi na celičnih površinah nekaterih solidnih tumorjev. Visoko izraženost proteina CLDN6 so dokazali na celičnih površinah germinalno-celičnih tumorjev (GCT), epitelijskih ovarijskih karcinomov, endometrijskega karcinoma telesa maternice ter pri nekaterih drugih vrstah raka, vključno z nekaterimi redkimi raki.

Po intenzivnih predkliničnih raziskavah je bil razvit model celic CAR-T z bifaznimi visoko specifičnimi receptorji za protein CLDN6, za preseganje šibke imunogenosti tumorskih antigenov pa je bila kot spodbujevalec imunskega odziva dodatno razvita še tumorska vakcina. Gre za mRNA-vakcino, imenovano CARvac, ki kodira ustrezen antigen proteina CLDN6, ki ga celice CAR-T prepoznajo kot tarčo. Vloga vakcine CARvac je sistemska razporeditev tumorskega antigena in njegova široka predstavitev APC (antigen predstavitvenim celicam), kar ima za končno posledico dodatno pomnožitev celic CAR-T, usmerjenih zoper tumorske celice, nosilke proteina CLDN6. Predklinični modeli so potrdili, da CARvac omogoča intenzivirano in kontrolirano pomnožitev celic CAR-T, inducira nastanek spominskih T-limfocitov, ojača tarčno občutljivost in tako kljub morebitnim suboptimalnim odmerkom celic CAR-T omogoči dober nadzor tumorja.

Klinična raziskava faze 1/2 BNT211-01

Izsledki prvega dela klinične raziskave BNT211-01 faze 1/2 so bili objavljeni v jeseni l. 2023. Gre za prve objavljene rezultate izvedljivosti, varnosti in učinkovitosti zdravljenja s celicami CAR-T z dodatkom tumorske vakcine ali brez, ki so bili pridobljeni v klinični raziskavi pri bolnikih z različnimi vrstami solidnih tumorjev z recidivantno oz. na standardno zdravljenje neodzivno boleznijo.

V okviru prve faze raziskave je z zdravljenjem pričelo 22 bolnikov, ki so zadoščali vsem vključitvenim in izključitvenim kriterijem. Poleg klasičnih vključitvenih kriterijev je bil za sodelovanje v raziskavi BNT211-01 ključen kriterij CLDN6-pozitivna bolezen, kar je bilo definirano kot imunohistokemično (IH) potrjena prisotnost proteina CLDN6 na površini ≥ 50 % tumorskih celic s srednje (2+) ali močno (3+) izraženo IH-reakcijo. Delež bolnikov, ki so dosegli predefiniran prag IH-izraženosti CLDN6, je bil najvišji pri germinalno-celičnih tumorjih (90 % bolnikov) in pri epitelijskih ovarijskih karcinomih (29 % bolnic). Pomembna je bila tudi ugotovitev, da IH-izraženost CLDN6 ni bila odvisna od starosti tkivnega vzorca. Enako zanesljiva IH-reakcija je bila dosežena na starih

parafinskih vzorcih kot na novejših tkivnih odvzemih, ne glede na to, ali je bil vzorec pridobljen iz primarnega tumorja ali iz zasevkov. Med 22 bolniki, ki so pričeli z zdravljenjem, je imelo 13 bolnikov (59 %) germinalno-celični tumor, pri tem je šlo izključno za bolnike z neseminomskim tipom (NSGCT), ali pa za bolnike s kombiniranim seminomskim in neseminomskim germinalno-celičnim tumorjem. Vsi bolniki z germinalno-celičnim tumorjem so bili predhodno že intenzivno zdravljeni, vsi so predhodno prejeli tudi že zdravljenje z visokodozno kemoterapijo s podporo perifernih krvotvornih matičnih celic (PKMČ). Srednji čas od prvega obiska do zdravljenja s prenosom celic CAR-T (angl. adoptive cell transfer, ACT) je znašal 5,9 tedna, v tem času je del pacientov, ki so bili na splošno v izrazito napredujajočih fazah bolezni, prejemal t. i. premostitveno kemoterapijo, s katero so zavirali hitro napredovanje bolezni, ki bi bolnikom poslabšala psihofizično stanje do stopnje, ko ne bi bili več zmožni za sodelovanje v raziskavi.

Kot kaže tudi slika 1, je bila pri bolnikih po zaključenem presejanju napravljena citafereza in T-celice poslane v ustrezno laboratorijsko obdelavo, 5. do 3. dan pred predvideno ACT je bila pri večini bolnikov s kombinacijo ciklofosfamida in fludarabina izvedena limfocitna deplecija (razen pri 2 bolnikih, za katera je obstajala bojazen za podaljšano limfopenijo). Bolniki so nato 1. dan zdravljenja po protokolu prejeli infuzijo celic CAR-T (ACT) v odmerku 1×10^7 celic (angl. dose level 1, DL1), odmerek celic CAR-T je bil v naslednji stopnji zvišan na 1×10^8 celic (angl. dose level 2, DL2). Bolniki iz kohorte DL1/CARvac so 4. dan zdravljenja prejeli tudi 1. odmerek vakcine CARvac, s katero so nato nadaljevali po prespecificiranem protokolu. Bolniki iz kohorte DL2/CARvac pa so CARvac prejeli z zamikom, to je 23. dan zdravljenja ali kasneje. S tem zamikom so se raziskovalci želeli izogniti morebitnemu hitremu razvoju intenziviranega sindroma sproščanja citokinov. Bolniki v kohorti z DL1/CARvac so prejeli povprečno 3,5 odmerke CARvaca (1-6 odmerkov), bolniki iz kohorte DL2/CARvac pa povprečno 5 odmerkov (2-9 odmerkov)

Izsledki prve vmesne analize raziskave BNT2011-01

Prva analiza izvedljivosti, varnosti in učinkovitosti zdravljenja je bila narejena po srednji opazovalni dobi petih mesecev (interval 29–416 dni) in je pri bolnikih s pozitivno CLD6 boleznijo tudi po številnih linijah predhodnega zdravljenja potrdila izvedljivost zdravljenja s celicami CAR-T, usmerjenimi proti CLDN6, z dodatkom vakcine CARvac ali brez. Vsi bolniki so med zdravljenjem doživeli neželene učinke zdravljenja, v 85 % primerov je šlo za neželen učinek gradusa ≥ 3 . Poleg porasta telesne

temperature so bili najpogostejši neželeni učinki hematološki, kar do določene mere pripisujejo tudi limfocitni depleciji. Pogosto so bili zabeleženi porasti serumskih vrednosti lipaze in transaminaz, vendar praviloma brez klinične korelacije. Večinoma so ta laboratorijska odstopanja opazovali pri bolnikih, ki so utrpeli sindrom sproščanja citokinov. Sindrom so zabeležili pri 46 % bolnikov, 80 % teh bolnikov je bilo iz kohort DL2. Sindrom sproščanja citokinov se je tipično pojavil 4. do 10. dan po ACT, večina je šlo za gradus 1–2, ki ga je bilo moč uspešno zamejiti z antipiretiki, v posameznih primerih je bil potreben tudi zaviralec receptorja za IL-6 tocilizumab. Največji tolerančni odmerek CAR-T (dose level toxicity, DLT) je bil dosežen pri 2 bolnikih iz kohort DL2, v enem primeru je šlo za monoterapijo CAR-T, v drugem pa za kombinacijo s CARvac. Pri prvem pacientu bila ugotovljena hemofagocitna limfohistiocitoza gradusa 4, pojavila pa se je pri bolniku, pri katerem je bila ugotovljena največja pomnožitev CAR-T celic ($5,8 \times 10^9$ celic). Pri tem bolniku je bil 5. dan po ADC ugotovljen sindrom sproščanja citokinov gradusa 2, ki je bil nadalje učinkovito zamejen s tocilizumabom, 23. dan pa je prišlo do pojava hemofagocitne limfohistiocitoze, ki se je klinično izražala z visoko vrednostjo transferina in aplazijo kostnega mozga. Hemofagocitna limfohistiocitoza je bila učinkovito in brez trajnih posledic zamejena z visokimi odmerki kortikosteroidov, aplikacija CARvac je bila zamaknjena do 51. dneva. Razen ene epizode podaljšane pancitopenije gradusa 4, ki je bila razrešena s podporo avtolognih perifernih krvotvornih matičnih celic, drugih dogodkov DLT ni bilo. Glede na to je bilo sklenjeno, da z raziskavo največji tolerančni odmerek ni bil dosežen, nadaljnje višanje odmerka celic CAR-T je bilo predvideno po tehnoloških dopolnitvah proizvodnje celic CAR-T.

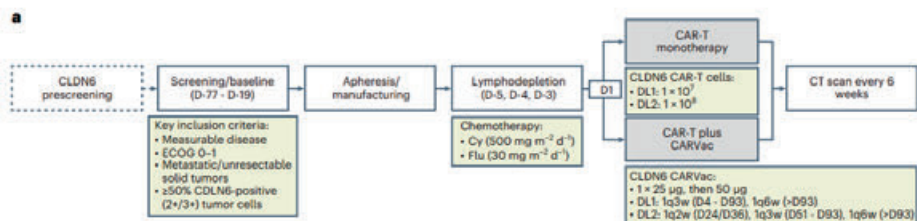
Izsledki učinkovitosti zdravljenja v klinični raziskavi BNT211-01 v kohorti bolnikov z germinalno-celičnim tumorjem

Skoraj 60 % bolnikov (13/22), ki so sodelovali v raziskavi BNT211-01, je imelo napredovali, recidivni germinalno-celični tumor. Pri teh bolnikih je bil ob primarni analizi v celoti dosežen 38-% objektivni delež odziva na zdravljenje (angl. objective response rate, ORR). Kasnejše analize so pri bolnikih iz kohort DL2 z limfocitno deplecijo pokazale celo 57-% objektivni odziv ter 85-% stopnjo nadzora bolezni (angl. disease control rate, DCR). Od sedmih pacientov, ki so se ugodno odzvali na zdravljenje, je pri enem pacientu prišlo do popolnega odgovora na zdravljenje (angl. complete response, CR), v treh primerih do delnega odgovora (angl. partial response, PR), pri dodatnih dveh bolnikih pa je bila dosežena

dolgotrajna stabilizacija bolezni (angl. stable disease, SD), preživetje brez napredovanja bolezni (angl. progression-free survival, PFS) je bilo po 6 mesecih od ACT 42 %, pri nekaterih bolnikih so v krvi beležili dolgotrajno prisotnost celic CAR-T, tudi preko 6 mesecev (> 200 dni).

Zaključek

Primordialni protein celičnih tesnih stikov CLDN6 sodi med onkofetalne proteine, ki so izraženi na celičnih površinah v času razvoja zarodka, v diferenciranih zdravih tkivih odraslih oseb pa tega proteina ni več. V patoloških razmerah CLDN6 zasledimo na površini tumorskih celic nekaterih vrst solidnih rakov, intenzivno pa je protein CLDN6 izražen na celičnih površinah germinalno-celičnega tumorja, kar predstavlja zlasti v zdravljenju recidivantnega germinalno-celičnega tumorja zelo obetavno tarčo za učinkovito zdravljenje z metodo CAR-T. Klinična raziskava faze 1/2 BNT211-01, ki v prvi fazi proučuje izvedljivost, toksičnost in učinkovitost različnih odmerkov celic CAR-T, usmerjenih proti CLDN6, pri različnih vrstah raka, hkrati proučuje tudi spodbujevalni učinek dodatka tumorske RNA-vakcine (CARvac) na končni rezultat adoptivnega zdravljenja s celicami CAR-T. Prve analize raziskave BNT211-01 zlasti pri recidivantnih germinalno-celičnih tumorjih kažejo zelo ugodne klinične učinke ob sicer sprejemljivem in dobro obvladljivem toksičnem profilu zdravljenja.



Slika 1: Protokol raziskave BNT211-01

Povzeto po Mackensen A et al (Nature Medicine 2023)

Literatura

1. Skowron MA, Kotthof1 M, Bremmer F, Ruhnkeet K al. Targeting CLDN6 in germ cell tumors by an antibody-drug-conjugate and studying therapy resistance of yolk-sac tumors to identify and screen specific therapeutic options *Molecular Medicine* (2023) 29:40
2. Rivière I, Sadelain M. Chimeric Antigen Receptors: A Cell and Gene Therapy Perspective *Molecular Therapy* Vol. 25 No 5 May 2017
3. Mackensen A, John B.A.G. Haanen JBAG, Koenecke C, Alsdorf W et al. 6 CLDN6-specific CAR-T cells plus amplifying RNA vaccine in relapsed or refractory solid tumors: the phase 1 BNT211-01 trial. *Nature Medicine*(Vol 29) November 2023: 2844–2853.2.
4. Mackensen A. LBA38 - BNT211-01: A phase I trial to evaluate safety and efficacy of CLDN6 CAR T cells and CLDN6-encoding mRNA vaccine-mediated in vivo expansion in patients with CLDN6-positive advanced solid tumours. *Annals of Oncology* (2022) 33 (suppl_7): S808-S869. 10.1016/annonc/annonc1089