

Genska imunoterapija pri bazalno celičnem karcinomu: klinična študija faze I

Gene immunotherapy of basal cell carcinoma: phase I clinical trial

Maja Čemažar in Gregor Serša

Povzetek

Namen faze I kliničnega preskušanja je preučiti varnost in sprejemljivost zdravila za gensko terapijo, plazmida pHIL12, pri zdravljenju bazalnoceličnih karcinomov v predelu glave in vratu. Študija je zasnovana kot študija s povečevanjem odmerka z namenom ugotavljanja varnosti in sprejemljivosti zdravljenja. Poleg tega želimo ugotoviti kateri odmerek plazmida pHIL12 je varen in hkrati izzove biološko aktivnost interlevkina 12 (IL-12). Rezultati te študije bodo osnova za nadaljnje klinične študije, kjer bi gensko terapijo kombinirali s standardnimi lokalnimi terapijami, kot je radioterapija.

Ključne besede: bazalno celični karcinom, interlevkin 12, elektroporacija, genski elektroprenos, klinična študija faze I

Genska imunoterapija

Imunoterapije se v zadnjem času močno uveljavljajo pri zdravljenju različnih vrst raka in pri nekaterih prihajajo v prve linije zdravljenja. Trenutno so največji uspehi doseženi z zaviralci imunskih kontrolnih točk, razvijajo pa se tudi nove imunoterapije, ki temeljijo na celičnih terapijah (CART terapije), onkolitičnih virusih, tumorskih vakcinah in citokinih. Terapije, kjer so bili uporabljeni rekombinantni citokini so zelo veliko obetale zaradi izjemnih predkliničnih rezultatov, ki se pa žal niso potrdili v kliničnih študijah zaradi hudih neželenih učinkov.

Razvoj terapij s citokini se je zato razvijal predvsem v obliki genske imunoterapije, ki temelji na tem, da v organizem vnesemo gen za imunostimulatoren citokin, ki se potem v celicah izraža v nizkih količinah, ter dalj časa. To ne vodi v povišane serumske koncentracije in s tem povezano toksičnostjo in neželene učinke. Ker pa je za vnos genov v celice potreben vnosni sistem, se genska zdravljenja razvijajo v večih smereh. Vnosni sistemi lahko temeljijo na virusnih vektorjih (predvsem adeno, lenti in z adenovirusi povezani virusni vektorji) ali pa na nevirusnih vnosnih sistemih, ki so lahko kemični (različni polimerni nosilci) ali fizikalni kot je elektroporacija. Genska imunoterapija z IL-12, ki je bila posredovana z elektroporacijo (genski elektroprenos – GET), se je v mnogih predkliničnih študijah izkazala za uspešno na različnih tumorskih modelih. V kombinaciji z radioterapijo ali elektrokemoterapijo pa so bili doseženi še boljši protitumorski učinki, ki so vodili v ozdravitve primarnega tumorja in tudi v razvoj imunskega spomina. Kombinacija elektrokemoterapije in imunske genske terapije z IL-12 se že uporablja v veterinarski onkologiji za zdravljenje mastocitomov in oralnih melanomov.

V humani onkologiji se trenutno izvajajo klinične študije v ZDA za zdravljenje melanoma, karcinoma Merklvih celic in trojno negativnega raka dojke z uporabo GET plazmidne DNA z zapisom za humani IL-12.

Klinična študija faze I pri bazalno celičnem karcinomu

Bazalno celični karcinom obsega heterogene histološke različice, od zelo dobro omejenih in površinsko rastočih tumorjev do agresivnih, infiltrativno rastočih ali globoko invazivnih lezij. Zaradi zapletenih anatomskih stanj v nekaterih področjih glave (nos, orbitalni predel, ušesa) v kombinaciji z morebitno agresivnejšo obliko rasti lahko neustrezno prvo zdravljenje predstavlja resen terapevtski problem in vodi do ponovitve bolezni. Ponavljajoče se zdravljenje, bodisi kirurško bodisi obsevalno, je povezano z zmanjšano učinkovitostjo in/ali funkcionalno disfunkcijo na zdravljenem območju. Zato je s kliničnega vidika pomembno iskanje novih terapevtskih alternativ. V zadnjem času je imunoterapija postala pomembna tudi pri zdravljenju

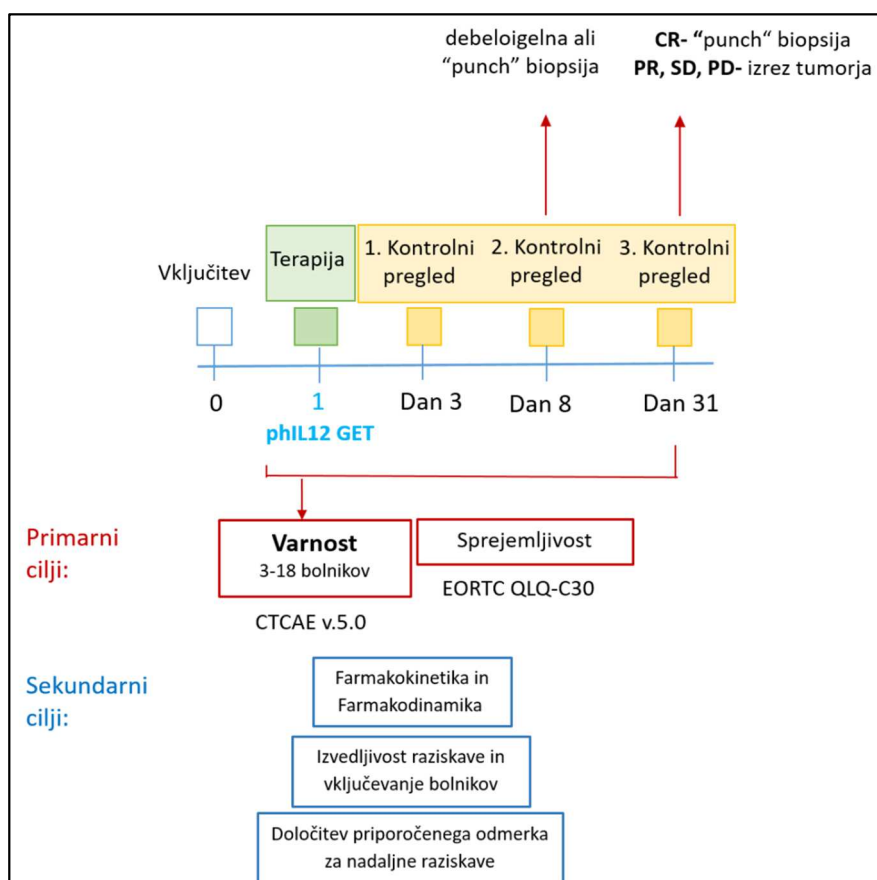
lokalno napredovalega ali metastatskega bazalno celičnega karcinoma s prvim odobrenim zaviralcem imunske kontrolne točke cemiplimabom, ki je postavil temelje za raziskave drugih imunoterapij.

Bazalno celični karcinom ima največje mutacijsko breme v primerjavi z drugimi kožnimi raki, kar pomeni, da je prisotnih veliko tumorskih neoantigenov, ki lahko povzročijo aktivacijo lokalnega imunskega odziva in s tem upočasni rast primarnega tumorja in metastaz. Rezultati kliničnih študij elektrokemoterapije različnih histoloških tipov kožnih tumorjev so pokazali, da je elektrokemoterapija učinkovitejša pri bazalnoceličnem karcinomu kot pri drugih histoloških tipih, kar je verjetno posledica dodatnega sproščanja tumorskih antigenov v tumorsko mikrookolje iz celic, ki so umrle zaradi delovanja elektrokemoterapije. Ti dodatno sproščeni tumorski antigeni lahko vodijo v povečano aktivacijo imunskega sistema in eliminacijo tumorskih celic.

V skladu s temi ugotovitvami smo zasnovali klinično študijo GET plazmidne DNA z zapisom za IL-1 2 (phIL12), ki bi jo izvedli lokalno na tumorju z namenom stimulacije imunskega odziva. Klinično študijo smo zasnovali kot nerandomizirano študijo faze 1 za testiranje varnosti in sprejemljivosti naraščajočega odmerka plazmidne DNA phIL12 pri zdravljenju operabilnih bazalno celičnih karcinomov v področju glave in vratu.

Primarna cilja študije sta oceniti varnost in sprejemljivost genske imuno terapije. Sekundarni cilji pa so določiti farmakokinetiko, farmakodinamiko, izvedljivost raziskave in predvsem določiti odmerek plazmida, ki vodi v produkcijo proteina IL-12, ki je biološko aktiven, povzroči infiltracijo imunskih celic v tumor in ni toksičen, kar bo osnova za nadaljnje klinične raziskave.

Študijo sta odobrili Komisija Medicinske etike Republike Slovenije (RS) (0120-524/2020-12) in Javna agencija za zdravila in medicinske pripomočke RS. Študijo smo registrirana v podatkovni bazi ISRCTN (ISRCTN15479959) in Clinical Trials (NCT05077033), kjer so navedeni tudi vsi vključitveni in izključitveni kriteriji. Shema zdravljenja in kontrolni pregledi so predstavljeni na sliki 1.



Slika 1: Shema poteka klinične raziskave.

V študiji bomo testirali 3 odmerke phIL12 (0,5 mg/mL, 1 mg/mL and 2 mg/mL). Odmerke plazmidne DNA, protokol elektroporacije in število ponovitev terapije smo določili v ne-kliničnem delu študije, ki smo jo izvedli z mišjim ortologom phIL12 (pmIL12). Zdravljenje bomo izvedli v splošni anesteziji ali sedaciji,

odvisno od presoje anesteziologa. Plazmidna DNA bo injicirana intratumorsko in 5 minut za tem bomo na tumor dovedli električne pulze, ki se uporabljajo za elektrokemoterapijo, z generatorjem električnih pulzov Cliniporator. Po koncu terapije bo rana oskrbljena s standardnimi postopki. Ko se bodo bolniki prebudili iz anestezije, bo ocenjena toksičnost in morebitni neželeni učinki ter bolečina po zdravljenju (VAS lestvica). O času odpusta in potrebi po analgeziji se odloči glavni raziskovalec. Kontrolni pregledi so predvideni 3, 8, in 31 dan, kjer bomo bolnikom jemali brise iz mesta aplikacije plazmida, kri in bioptični vzorec za določitev farmakodinamike (koncentracija IL-12 in interferona γ v tumorju, število kopij plazmida v tumorju) in farmakokinetike (koncentracija IL-12 v serumu). Varnost terapije se bo ocenila po kriterijih CTCAEv5.0. Sprejemljivost terapije se bo spremljala z vprašalnikom o kakovosti življenja EORTC QLQ-C30. Če 31. dan po terapiji ne bo dosežen popolni odgovor tumorja, bo le-ta kirurško odstranjen. Odgovor tumorja se bo določal po RECISTv1.1 kriteriju.

Do sedaj smo v študijo vključili dva bolnika, ki sta bila zdravljenja z najnižjim odmerkom plazmida (0,5 mg/ml). Pri obeh smo ugotovili, da je študija varna, sprejemljiva, izvedljiva in da neželenih učinkov ni bilo. Pri obeh bolnikih je bila izvedena tudi kirurška odstranitev tumorja po 31. dnevu, ker sama genska imunska terapija z IL-12 pri uporabi najnižjega odmerka pHIL12 ni vodila v popolni odgovor tumorja.

Literatura

1. Bhatia S, Longino N V., Miller NJ, Kulikauskas R, Iyer JG, Ibrani D, Blom A, Byrd DR, Parvathaneni U, Twitty CG, et al. Intratumoral delivery of plasmid IL12 via electroporation leads to regression of injected and noninjected tumors in Merkel cell carcinoma. *Clin Cancer Res* (2020) 26:598–607. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-19-0972
2. Cemazar M, Jarm T, Sersa G. Cancer Electrogene Therapy with Interleukin-12. *Curr Gene Ther* (2010) 10:300–311. doi: 10.2174/156652310791823425
3. Daud AI, DeConti RC, Andrews S, Urbas P, Riker AI, Sondak VK, Munster PN, Sullivan DM, Ugen KE, Messina JL, et al. Phase I trial of interleukin-12 plasmid electroporation in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* (2008) 26:5896–5903. doi: 10.1200/JCO.2007.15.6794
4. Gehl J, Sersa G, Matthiessen LW, Muir T, Soden D, Occhini A, Quagliano P, Curatolo P, Campana LG, Kunte C, et al. Updated standard operating procedures for electrochemotherapy of cutaneous tumours and skin metastases. *Acta Oncol* (2018) 57:874–882. doi: 10.1080/0284186X.2018.1454602
5. Kos S, Bosnjak M, Jesenko T, Markelc B, Kamensek U, Znidar K, Matkovic U, Rencelj A, Sersa G, Hudej R, et al. Non-Clinical In Vitro Evaluation of Antibiotic Resistance Gene-Free Plasmids Encoding Human or Murine IL-12 Intended for First-in-Human Clinical Study. *Pharmaceutics* (2021) 13:1739. doi: 10.3390/PHARMACEUTICS13101739
6. Stratigos AJ, Sekulic A, Peris K, Bechter O, Prey S, Kaatz M, Lewis KD, Basset-Seguín N, Chang ALS, Dalle S, et al. Cemiplimab in locally advanced basal cell carcinoma after hedgehog inhibitor therapy: an open-label, multi-centre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol* (2021) 22:848–857. doi: 10.1016/S1473-2045(21)00126-1
7. Telli ML, Nagata H, Wapnir I, Acharya CR, Zablotsky K, Fox BA, Bifulco CB, Jensen SM, Ballesteros-Merino C, Le MH, et al. Intratumoral Plasmid IL12 Expands CD8 + T Cells and Induces a CXCR3 Gene Signature in Triple-negative Breast Tumors that Sensitizes Patients to Anti-PD-1 Therapy. *Clin Cancer Res* (2021) 27:2481–2493. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-20-3944